



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**“Efecto del metileugenol sobre la farmacocinética
del ketorolaco en rata Wistar”**

TESIS

Que para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo

PRESENTA:

Robles Sánchez Aida

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Leticia Cruz Antonio

ASESOR DE TESIS

Dr. Gilberto Castañeda Hernández



Ciudad de México, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por permitirme alcanzar esta meta y brindarme la dicha de conocer grandes personas, sobre todo de compartir este logro con mis padres y hermana.

A la **Dra.** Lety Cruz por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo, principalmente por brindarme su confianza y por su constante apoyo durante el desarrollo de este proyecto porque gracias a su paciencia y sus buenos consejos fue más fácil la comprensión de los nuevos conocimientos adquiridos en esta gran experiencia. Ahora más que nunca la admiro por la calidad humana que tiene.

Al **Dr.** Gilberto Castañeda por sus buenos consejos que siempre me motivaron no sólo en el ámbito profesional, sino también de forma personal con sus anécdotas profesionales y personales para mí es un gran ejemplo de vida.

A la **Q.F.B** Lourdes González Flores por su participación técnica en el desarrollo de este proyecto además de su amistad incondicional y sus buenos consejos que en ocasiones llevaron consigo uno que otro regaño, lo cual me ayudo a trabajar de forma más responsable y consiente, te agradezco de corazón por la gran persona que eres y el amor con el que desempeñas tu trabajo.

A mis compañeros del **laboratorio 34** de farmacología del CINVESTAV por los buenos momentos compartidos y los consejos brindados lo cual hizo más agradable mi estancia.

Al **Q.F.B.** Bryan por su amistad y su apoyo incondicional.

A mis **queridos amigos** de generación de la universidad por su apoyo y amistad especialmente a Mariana, Tere, Monse, Cris, Nadia, Beto y Saldaña.

Al **CINVESTAV** por permitirme hacer uso de sus instalaciones durante el desarrollo de este proyecto.

A la **UNAM** y a la **FES Zaragoza** por brindarme la oportunidad de concluir mi carrera a base de buenas enseñanzas y el reconocimiento de la calidad de esta gran institución.

DEDICATORIAS

¡A la mejor madre que me pudo haber regalado la vida, porque sin ti jamás hubiese podido lograr nada, gracias por todos tus sacrificios, tu apoyo y tu confianza, TE AMO!

A mi padre aun con la distancia gracias por tu apoyo y tu confianza durante mis estudios.

A mi hermana Yazmin por su cariño y motivación en los momentos de desesperación.

A mi tía Asunción Sánchez por su constante apoyo y confianza, además ser un gran ejemplo a seguir.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE CUADROS	8
LISTA DE ABREVIATURAS	10
RESUMEN	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. MARCO TEÓRICO	13
2.1 <i>FARMACOCINÉTICA</i>	13
2.1.1 <i>ABSORCIÓN</i>	15
2.1.2 <i>DISTRIBUCIÓN</i>	18
2.1.3 <i>METABOLISMO</i>	19
2.1.4 <i>EXCRECIÓN</i>	21
2.1.5 <i>PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS</i>	22
2.2 <i>FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINES)</i>	23
2.2.1 <i>MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AINES</i>	23
2.3 <i>KETOROLACO TROMETAMINA</i>	25
2.4 <i>DAÑO GASTROINTESTINAL ASOCIADO A AINES</i>	28
2.5 <i>METILEUGENOL</i>	30
2.6 <i>INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS</i>	33
2.7 <i>MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE FÁRMACOS EN ESTUDIOS FARMACOCINÉTICOS</i>	35
2.8 <i>VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</i>	36
3. JUSTIFICACIÓN	39
4. HIPÓTESIS	41
5. OBJETIVOS	42
5.1 OBJETIVO GENERAL	42
5.2 <i>OBJETIVOS PARTICULARES</i>	42
6. MATERIAL Y MÉTODOS	43
6.2 <i>MÉTODO</i>	45

6.2.1	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS.....	45
6.2.1.1	PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.....	46
6.2.1.2	PREPARACIÓN DE CADA PUNTO DE CONCENTRACIÓN LA CURVA DE CALIBRACIÓN Y MUESTRAS CONTROL PARA SU ANÁLISIS EN PLASMA.....	47
6.2.1.3	PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.....	47
6.2.2	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	48
6.2.3.2	PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.....	50
7.	RESULTADOS	51
7.1	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	51
7.2	ESTUDIO FARMACOCINÉTICO.....	60
8.	CONCLUSIONES	68
9.	PERSPECTIVAS	68
10.	REFERENCIAS	69
11.	ANEXO	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interrelación entre la absorción, distribución, fijación, metabolismo y excreción de un fármaco y sus concentraciones en el sitio de acción.....	15
Figura 2. Mecanismo de acción de los AINES. Las prostaglandinas sintetizadas a partir del ácido araquidónico dependiendo del tipo de tejido en el que se encuentre producen inflamación, inflamación, protección de la mucosa gástrica, homeostasis en el flujo renal y función plaqueteria normal.	24
Figura 3. Estructura del ketorolaco trometamina	25
Figura 4. Estructura del metileugenol	31
Figura 5. Cromatograma que muestra señales generadas (1) a partir de un blanco de plasma de rata para la selectividad del método.	52
Figura 6. Cromatograma que muestra las señales generadas del ketorolaco trometamina (2) como analito de interés y el estándar interno (3) en plasma de rata.	52
Figura 7. Cada punto de la curva de calibración representa el promedio de tres determinaciones \pm su desviación estándar.	54
Figura 8. Concentraciones obtenidas de los promedios de las muestras control bajas (MCA 0.2 $\mu\text{g/mL}$) evaluadas por triplicado a las 0, 24, 48 y 72 h, cada punto muestra el promedio de tres determinaciones más su desviación estándar.	58
Figura 9. Concentraciones obtenidas de los promedios de las muestras control alta (MCA 7.5 $\mu\text{g/mL}$) evaluadas por triplicado a las 0, 24, 48 y 72 h, cada punto muestra el promedio de tres determinaciones mas su desviación estándar.	58
Figura 10. Estabilidad a largo plazo para muestra control baja, cada punto es el promedio de 3 determinaciones \pm Desviación Estándar.....	59
Figura 11. Estabilidad a largo plazo para muestra control alta, cada punto es el promedio de 3 determinaciones \pm Desviación Estándar.....	59
Figura 12. Perfil farmacocinético con el curso de las concentraciones plasmáticas del ketorolaco trometamina después de una administración por vía oral con una dosis de 10mg/Kg previa administración de vehículo Los datos representan la media de las 6 determinaciones \pm Desviación Estándar del grupo control.....	61
Figura 13. Perfil farmacocinético con el curso de las concentraciones plasmáticas del ketorolaco trometamina después de una administración por vía oral con una dosis de 10mg/Kg, treinta minutos después de administrar metileugenol a una dosis de 30 mg/Kg. Los datos representan la media de las 6 determinaciones \pm Desviación Estándar del grupo tratamiento.	61

<p>Figura 14. Comparación de los perfiles farmacocinéticos al administrar ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg con tween 80 al 0.5% como vehículo (negro) y con previa administración de metileugenol (gris). Los datos representan la media de 6 determinaciones \pm Desviación Estándar..... 62</p>
<p>Figura 15. Valores de C_{max} para el grupo control y el grupo tratamiento de ketorolaco a una dosis de 10 mg/Kg. Se observa como a comparación del grupo control (ketorolaco trometamina 10 mg/Kg) presenta mayor variación. Los datos expresan como el grupo tratamiento $*p \leq 0.05$ vs grupo control; n=6 ratas por grupo.....85</p>
<p>Figura 16. Se observa que el grupo control existe una mayor variación entre los resultados obtenidos de ABC en cada rata, mientras que en el grupo tratamiento en donde se administró ketorolaco trometamina 10mg/Kg con el compuesto herbolario metileugenol 30mg/Kg se tiene menor dispersión en cuanto a los resultados obtenidos. Entonces se obtuvo para el grupo control $*p \leq 0.05$ vs el grupo tratamiento.....86</p>
<p>Figura 17. Se observa que el grupo control existe una mayor variación entre los resultados obtenidos de tiempo de vida medio ($t_{1/2}$) en cada rata, mientras que en el grupo tratamiento en donde se administró ketorolaco trometamina 10mg/Kg con el compuesto herbolario .metileugenol 30mg/Kg se tiene menor dispersión en cuanto a los resultados obtenidos. Entonces se obtuvo para el grupo control $*p \leq 0.05$ vs el grupo tratamiento.....87</p>
<p>Figura 17. Se observa que en el grupo tratamiento no existe diferencia alguna con respecto al grupo control, por lo tanto no hay variación en los resultados obtenidos para t_{max} en cada rata.88</p>

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Factores que pueden alterar las variables fisiológicas.....	13
Cuadro 2. Parámetros farmacocinéticos del ketorolaco en rata.	27
Cuadro 3. Volumen de soluciones para la preparación de la curva de calibración.	47
Cuadro 4. Preparación de las muestras correspondientes a las muestras control.	47
Cuadro 5. Se muestran las concentraciones recuperadas individualmente en cada curva y el promedio para la construcción de la curva de calibración con sus respectivos porcentajes de desviación.	53
Cuadro 6. Resultados de repetibilidad del método. Se reportan las concentraciones recuperadas individualmente para el LIC, MCB, MCM y MCA, así como el promedio de las 5 repeticiones \pm Desviación Estándar y su respectivo porcentaje del coeficiente de variación.....	555
Cuadro 7. Se muestran los promedios de las concentraciones obtenidas experimentalmente de 5 repeticiones para el LIC, MCB, MCM y MCA en tres corridas analíticas mas su respectivo % C.V.....	56
Cuadro 8. Resultados que demuestran que el método es exacto.	56
Cuadro 9. Resultados del límite inferior de cuantificación para el método de cuantificación del ketorolaco trometamina.....	57
Cuadro 10. Parámetros farmacocinéticos de ketorolaco trometamina obtenidos en el grupo control y grupo con tratamiento. Cada valor representa el promedio de 6 determinaciones de \pm la Desviación Estándar. * $p \leq 0.05$	62
Cuadro 11. Se muestran los valores de las respuestas (área bajo la curva) individuales que son directamente proporcionales a cada punto de concentración de la curva y el promedio general para cada punto de la curva de calibración más su desviación estándar y su porcentaje de coeficiente de variación.	76
Cuadro 12. Concentraciones obtenidas en la estabilidad de la muestra a largo plazo, de las MCB y MCA por triplicado.	777
Cuadro 13. Concentraciones obtenidas en la estabilidad de la muestra procesada a largo plazo, de las MCB y MCA por triplicado.	777
Cuadro 14. Resultados de las concentraciones obtenidas para cada cinética, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo control, con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg, n=6.....	78
Cuadro 15. Resultados de las concentraciones obtenidas para cada cinética, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo	

tratamiento con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol a 30 mg/Kg, n=6.	79
Cuadro 16. Concentraciones promedio de cada punto de muestreo mas sus desviación estándar, para el grupo control y el grupo tratamiento.	80
Cuadro 17. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) obtenidas para cada punto del perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar para el grupo control, con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg, n=6.....	81
Cuadro 18. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) obtenidas para cada punto del perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo tratamiento con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol a 30 mg/Kg, n=6.....	82
Cuadro 19. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) total obtenidas para cada perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar para el grupo control, con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg, n=6.....	83
Cuadro 20. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) total obtenidas para cada perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo tratamiento con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol a 30 mg/Kg, n=6.....	83
Cuadro 21. Resultados de la concentración máxima obtenida en cada perfil farmacocinético para el grupo control con una administración por via oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y el grupo tratamiento con una administración por via oral concomitante con ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol (30 mg/Kg).....	84
Cuadro 22. Resultados individuales de el tiempo de vida media de eliminación para cada perfil farmacocinético, el promedio y su desviación estándar.	84

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC: Área Bajo la Curva

ABC_{0-∞}: Área Bajo la Curva de cero a infinito.

ABC_{0-t}: Área Bajo la Curva de cero a t.

ADME: Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción.

AINE'S: Antiinflamatorios no esteroideos.

°C: grados Celsius

CAS: Chemical Abstracts Service

CDER: Centro de Evaluación e Investigación de Fármacos

CINVESTAV: Centro de Investigación y Estudios Avanzados

CLAR: Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución.

cm: centímetro

cm³: centímetro cúbico

C_{max}: concentración máxima

Conc.: concentración

CONC. EXPER.: Concentración experimental

COX: Cicloxigenasa

CYP 450: Citocromo P450

CYP 2C6: Citocromo P450 2C6

CYP 2E1: Citocromo P450 2E1

C18: cadena recta de 18 carbonos

C₁₁H₁₄O₂: formula molecular de metileugenol

DL₅₀: Dosis letal para el 50% de la población

Desv. Est.: Desviación Estándar

E.I.: estándar interno

FDA: Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos

G.I.: gastrointestinal

g: gramos

h: hora(s)

H₂: histamina tipo 2

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

HVLP: High Volume Low Pressure

kd: constante de velocidad de eliminación

Kg: Kilogramos

L: litro

LIC: límite inferior de cuantificación

M: molar

MC: muestra control

MCA: muestra control alta

MCB: muestra control baja

MCM: muestra control media

MeOH: Metanol

mg: miligramos

µg: microgramo

min: minuto

mL: mililitro

μ L: microlitro

mm: milímetro

μ m: micrómetro

nm: nanómetro

NOM: Norma Oficial Mexicana

pH: Potencial de Hidrogeno

p-hidroxi-ketorolaco: para hidroxi
ketorolaco

r^2 : Coeficiente de determinación

rpm: revoluciones por minuto

SSA: Secretaria de Salud

SNC: Sistema Nervioso Central

$t_{1/2}$: Tiempo de vida media de eliminación

t: tiempo

t_{max} : tiempo máximo

UGT: Glucuronosiltransferasas

v/v: Volumen/ Volumen

UV: ultravioleta

% desv: por ciento de desviación

%C.V. : por ciento coeficiente de variación

μ : miu

K: kappa

δ : delta

RESUMEN

Por su amplio margen terapéutico los antiinflamatorios no esteroideos (AINE'S) constituyen uno de los grupos de fármacos más ampliamente utilizados principalmente en el tratamiento de la inflamación, dolor y edema, tanto en México como a nivel mundial. Sin embargo, para este tipo de medicamento se han reportado eventos adversos como el daño renal, cardiovascular y principalmente complicaciones gastrointestinales (GI), en donde el ketorolaco se destaca por tener alta incidencia de hemorragia en el tracto digestivo en comparación con otros AINE'S. Como alternativa para contrarrestar este problema se han fomentado terapias que incluyan fármacos gastroprotectores de origen sintético y/o a su vez derivados de plantas como el metileugenol, compuesto extraído de la *Peperomia hispidula*, al cual se le han demostrado, propiedades de gastroprotección. Ante esta evidencia y bajo el conocimiento de la existencia de interacciones fármaco-productos de origen natural que pueden cambiar la respuesta terapéutica, el presente estudio establece la administración conjunta de metileugenol con ketorolaco trometamina para evidenciar un posible cambio farmacocinético del principio activo. Se estableció la validez del método analítico de acuerdo a la NOM-177-SSA1-2013, por cromatografía líquida de alta resolución con un rango de concentraciones de 0.1 a 10 µg/mL que permitió la cuantificación de las concentraciones en plasma de rata con una longitud de 320 nm y con una fase móvil con buffer de fosfatos a 0.04M con pH 3.3: metanol a una proporción 53:47 v/v. Tras la administración oral de ketorolaco trometamina en presencia y ausencia de metileugenol a ratas wistar, se obtuvieron dos perfiles farmacocinéticos respectivos que permitieron el cálculo del C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$ y área bajo la curva (ABC). Los resultados obtenidos sugieren una posible interacción farmacocinética entre el metileugenol y el ketorolaco trometamina, al encontrarse alterados los parámetros de éste en presencia de metileugenol a las dosis estudiadas.

1. INTRODUCCIÓN.

La farmacocinética es una disciplina que estudia el curso temporal en función del tiempo, de un fármaco y sus metabolitos en diferentes fluidos, tejidos y excretas del cuerpo, por lo tanto su aplicación es muy importante para asegurar y mejorar el éxito terapéutico. ^(1,2)

Los estudios farmacocinéticos permiten evidenciar si un fármaco tiene potencial terapéutico así como también si existe la interacción fármaco-compuesto herbolario, debido a que en la actualidad el uso concomitante de fármacos con compuestos herbolarios cada vez es más popular y muchas plantas son una fuente importante de medicamentos, pero el uso tradicional de las plantas no siempre está científicamente justificado. ⁽¹⁾

Por esta razón es fundamental estudiar el tipo de interacción que está afectando la farmacocinética del ketorolaco trometamina al ser administrado en combinación con el compuesto herbolario gastroprotector metileugenol.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 FARMACOCINÉTICA.

Las variables fisiológicas del cuerpo humano determinan que varios parámetros farmacocinéticos estén relacionados unos con otros ⁽¹⁾, En ocasiones el paciente presenta un efecto diferente al esperado debido a la ingestión previa de alimentos

o bebidas, tener hábitos como consumo de tabaco o sustancias de abuso; otros factores relacionados son la formulación y vías de administración.⁽³⁾

FACTORES	VARIABLES FISIOLÓGICAS
<ul style="list-style-type: none"> • Estrés, fármaco y postura intestinal. • Alimentos y electrolitos. • Gasto cardiaco y enfermedad. • Concentración de componentes de unión. Plasma: albumina y globulinas, concentración del fármaco, unión de fármacos y otros fármacos. • fármacos: inhibición e inducción de enzimas y factores ambientales. • Dieta, ingreso de líquidos y temperatura. 	<ul style="list-style-type: none"> • Flujo de sangre en el sitio de absorción. • Vaciamiento gástrico, motilidad. • Flujo de sangre hepático. • Flujo de sangre renal. • Fracción libre en sangre y en tejido. • Actividad de enzimas hepatocelulares. • Sistema de transporte renal, pH urinario y flujo urinario.

Cuadro 1. Factores que pueden alterar las variables fisiológicas.⁽³⁾

La comprensión y utilización de los principios farmacocinéticos pueden incrementar la probabilidad de éxito terapéutico y reducir la aparición de eventos adversos farmacológicos en el cuerpo. ⁽⁴⁾



Figura 1. Interrelación entre la absorción, distribución, fijación, metabolismo y excreción de un fármaco y sus concentraciones en el sitio de acción. ⁽⁴⁾

El proceso farmacocinético involucra cambios simultáneos y complejos a los que se enfrenta un fármaco una vez que ha sido administrado (Figura 1), conocidos como ADME por que involucran la absorción, distribución, metabolismo y eliminación. Una breve descripción de estos se mencionan a continuación: ⁽⁵⁾

2.1.2 ABSORCIÓN.

Consiste en el desplazamiento de un fármaco desde el sitio de su administración hasta el compartimento central y la medida en que esto ocurre. La absorción en el tubo digestivo se rige por factores como el área de superficie para absorción, la corriente sanguínea en el sitio de absorción y el tipo de formulación en el que se

encuentra el fármaco (solución, suspensión o producto sólido), hidrosolubilidad y concentración del fármaco en el sitio en que se absorbe, para que la absorción pueda llevarse a cabo requiere de mecanismos que transporten al fármaco a través de membranas como:

Transporte pasivo. La molécula de fármaco penetra por difusión siguiendo un gradiente de concentración gracias a su solubilidad en la bicapa lipídica. Este tipo de transferencia es directamente proporcional a la magnitud del gradiente de concentración a través de la membrana, al coeficiente de reparto entre lípidos y agua del fármaco y a la superficie de la membrana que tiene contacto con el fármaco. Entre mayor es el coeficiente de reparto, mayor será la concentración del fármaco en la membrana y más rápida su difusión. ⁽⁴⁾

Difusión pasiva. A través de la bicapa es el mecanismo predominante en la eliminación de casi todos los fármacos, aunque también pueden intervenir de modo importante mecanismos mediados por transportadores. ⁽⁴⁾

Transporte activo. Se caracteriza por la necesidad de energía, desplazamiento contra un gradiente electroquímico, capacidad de saturación, selectividad e inhibición competitiva por compuestos transportados en forma conjunta. ⁽⁴⁾

Difusión facilitada. Es un método de transporte a través de un portador en el que no existe aporte de energía y, por lo tanto, el desplazamiento de la sustancia implicada se realiza siguiendo el gradiente electroquímico. ⁽⁴⁾

Endocitosis y exocitosis. Son mecanismos mediante los cuales las macromoléculas y partículas pueden entrar en la célula o ser eliminadas de ella, conllevan la rotura de la membrana celular. ⁽⁶⁾

Absorción a nivel gastrointestinal. Las diferencias en la absorción de los fármacos dependen principalmente de:

a) Características fisicoquímicas del fármaco. Comprenden el peso molecular que condiciona el tamaño de la molécula, la liposolubilidad y su carácter ácido o alcalino que, junto con su pKa condicionan el grado de ionización. De estos factores depende el mecanismo por el cual se produce la absorción (difusión pasiva, filtración y transporte activo) y la velocidad a la que se realiza. ⁽²⁾

b) Características de la preparación farmacéutica. Para que el fármaco se absorba, debe estar disuelto. La preparación farmacéutica condiciona la velocidad con que el fármaco se libera, se disgrega y se disuelve. Algunas características son: la formulación (solución, polvo, cápsulas o comprimidos), el tamaño de las partículas, la presencia de aditivos y excipientes, y el proceso de fabricación. ⁽²⁾

c) Características del lugar de absorción. Dependen de la vía de administración (oral, intramuscular o subcutánea). En general, la absorción será tanto más rápida cuanto mayor y más prolongado sea el contacto con la superficie de absorción. Algunas de estas características son: la superficie y el espesor de la membrana, el flujo sanguíneo que mantiene el gradiente de concentración; en la administración oral, el pH del medio y la motilidad gastrointestinal, y en la administración intramuscular o subcutánea, los espacios intercelulares. ⁽²⁾

d) Fenómeno de primer paso. Por cualquier vía que no sea la intravenosa puede haber absorción incompleta porque parte del fármaco administrado sea eliminado o destruido antes de llegar a la circulación sistémica. Por ejemplo, por vía oral, un fármaco puede eliminarse por las heces antes que se complete su absorción, puede ser quelado, degradado por la acción del pH ácido del estómago o de las enzimas digestivas y metabolizado por las bacterias de la luz intestinal; una vez absorbido, puede metabolizarse en el epitelio intestinal, hígado (primer paso hepático) o en los pulmones antes de llegar a la circulación sistémica. ⁽²⁾

2.1.2 DISTRIBUCIÓN.

Un fármaco se distribuye en los líquidos intersticial e intracelular, los elementos que rigen la rapidez de “llegada” y la posible cantidad del fármaco que se distribuye en los tejidos son el gasto cardíaco, la corriente sanguínea regional, permeabilidad capilar y el volumen hístico. Al inicio de este proceso los órganos que reciben mayor parte del medicamento son: hígado, riñones, encéfalo y otros órganos con gran riego sanguíneo, en tanto que es mucho más lenta la llegada del mismo a músculos, vísceras, piel y grasa. Esta fase de “segunda distribución” quizá necesite de algunos minutos a horas para que la concentración del fármaco en los tejidos entre en una fase de equilibrio por distribución, con la que se encuentre en sangre. ⁽⁴⁾

Unión a proteínas plasmáticas: Las moléculas de los fármacos pueden circular por la sangre disueltas en el plasma como fármaco libre o fijado a proteínas plasmáticas. Únicamente la porción de fármaco libre puede distribuirse,

metabolizarse, eliminarse y por medio de difusión pasiva viajar a tejidos y zonas extravasculares para producir un efecto farmacológico.

Los fármacos con carácter de ácido débil tiene mayor afinidad por la albumina, mientras que los fármacos básicos a la glicoproteína ácida α -1. La fijación se lleva a cabo mediante enlaces iónicos y ocasionalmente por enlaces covalentes. ⁽²⁾

2.1.3 METABOLISMO.

Los fármacos y sustancias hidrosolubles pueden eliminarse sin sufrir transformación alguna, sin embargo las sustancias poco ionizadas son más liposolubles y estas suelen filtrarse en el riñón para después reabsorberse por difusión en túbulo renal, para eliminar estas sustancias, es necesaria una transformación previa en compuestos más polares, que son metabolitos más solubles y que pueden eliminarse mejor. ⁽²⁾ El proceso de metabolismo se lleva a cabo en dos fases.

Fase I. Son reacciones biosintéticas de oxidación y reducción que son llevadas a cabo por un sistema enzimático, ubicado en el retículo endoplásmico conocido como sistema de monooxigenasas del citocromo P-450, donde la oxidación permite la activación enzimática del oxígeno molecular para poderlo incorporar en una molécula orgánica, para después de una reducción obtener agua, esta molécula es útil en la conjugación de un compuesto hidrófilo para la fase II. ⁽⁷⁾

Algunos fármacos requieren de reacciones de hidrólisis en las que intervienen distintos tipos de enzimas como esterasa, amidasas y proteasas que actúan de forma inespecíficas sobre un sustrato. ⁽⁸⁾

Fase II. También llamadas reacciones de conjugación y se producen cuando las enzimas transferasas catalizan los metabolitos de la fase I, las más importantes son:

- a) *Glucuroniltransferasas (UGT)*: Se encuentran en el hígado en mayor proporción, en el epitelio intestinal y en el riñón, son responsables de la conjugación de fármacos como los opiáceos, así como los fármacos o metabolitos procedentes de la fase I que contengan aminas primarias o terciarias y grupos fenólicos.
- b) *Glutación-S-transferasas*: Por medio de la conjugación con el glutatión la célula inactiva sustancias potencialmente tóxicas, tanto endógenas como exógenas y está regulada por factores como hidrocarburos aromáticos policíclicos, especies reactivas de oxígeno y glucocorticoides.
- c) *Sulfotransferasas, metiltransferasas y acetiltransferasas*: son reacciones de sulfatación, metilación y acetilación que metabolizan diferentes tipos de fármacos para obtener metabolitos más hidrosolubles y fáciles de eliminar. ⁽⁸⁾

2.1.3.1 RECIRCULACIÓN ENTEROHEPÁTICA.

Los fármacos o metabolitos que son eliminados sin sufrir biotransformación en el intestino a través de la bilis o del epitelio intestinal, pueden reabsorberse

pasivamente en el intestino a favor de un gradiente de concentración, esto da lugar a una circulación enterohepática, aumentando así la exposición al fármaco y retrasando su eliminación, en consecuencia esto provoca un aumento en efecto terapéutico y en su toxicidad. Es muy común que las resinas de intercambio iónico como los adsorbentes intestinales pueden secuestrar fármacos y metabolitos, rompiendo el ciclo enterohepático y eliminando el fármaco del organismo. ⁽⁹⁾

2.1.4 EXCRECIÓN.

Se define como el paso del fármaco o de sus metabolitos desde el organismo hacia el exterior a través de líquidos biológicos como la orina y la bilis, también existen otras vías menos frecuentes como la vía pulmonar, leche materna, lágrimas y sudor.

Por medio de la filtración glomerular se eliminan fármacos pequeños por un proceso de difusión pasiva, pero si existe una patología que afecte la resistencia arteriolar aferente y eferente del glomérulo o flujo renal puede alterar la filtración. ⁽⁸⁾

La reabsorción tubular depende de la liposolubilidad del fármaco y del pH en la orina, está directamente relacionado con el carácter lipófilico del fármaco o del metabolito, por lo tanto será mayor la semivida y la duración del efecto. ⁽⁸⁾

2.1.5 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

La caracterización de la farmacocinética, suele llevarse a cabo mediante la medición de parámetros farmacocinéticos tales como: el tiempo de vida media, la constante de eliminación y el área bajo la curva, entre otros.

La vida media ($t_{1/2}$) indica tiempo requerido para que la cantidad de fármaco en el cuerpo se reduzca a la mitad durante la eliminación; la constante de velocidad de eliminación (K_d) representa la suma de las constantes individuales del metabolismo y de excreción e indica la probabilidad que tiene una molécula de eliminarse en la unidad de tiempo. El área bajo la curva (ABC) es un parámetro importante en la determinación de la biodisponibilidad, ya que es directamente proporcional a la dosis o a la fracción de la dosis absorbida y, por lo tanto, representa la cantidad total de fármaco que llega a la circulación sistémica. Para la mayoría de los fármacos, el ABC es proporcional a la dosis, pero en algunos casos se presentan desviaciones por saturación de los procesos de eliminación y el ABC aumenta desproporcionadamente con los aumentos de dosis. ^(1,4)

La biodisponibilidad se define en términos de velocidad y magnitud a las cuales un fármaco tiene acceso a la circulación sistémica, antes de llegar al metabolismo y solo se puede asegurar que se obtiene completamente cuando se administra un fármaco por vía intravenosa. Los factores que condicionan la biodisponibilidad son las propiedades fisicoquímicas del fármaco, formulación y vías de administración.⁽¹⁰⁾

2.2 FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINE´S)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE´S) son medicamentos muy utilizados en todo el mundo para tratar enfermedades como la artritis reumatoide y osteoartritis⁽¹¹⁾ debido a su múltiple acción antipirética, analgésica y antiinflamatoria. En Inglaterra, se estima que anualmente se dispensan 17 millones de recetas que incluyen al menos un AINE, cifra que se eleva a 111 millones en Estados Unidos.⁽¹²⁾ En México se reporta que el 51% de la población al menos consume un AINE .⁽¹³⁾

2.2.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AINE´S

Principalmente dirigido a la supresión de la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico en la respuesta inflamatoria que se lleva a cabo a nivel periférico cuando se inhibe a las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2 (COX-1 y COX-2),⁽¹²⁾ estas son proteínas que se encuentran situadas en la membrana de los microsomas y del retículo endoplasmático⁽¹⁴⁾ y las isoformas más comunes son la COX-1 que se expresa constitutivamente al generar prostanoïdes que están involucrados en el mantenimiento e integridad de la mucosa gastrointestinal y agregación plaquetaria,⁽¹¹⁾ por otro lado se encuentra la COX-2 que tiene como función mediar los procesos de dolor e inflamación que involucran la señalización por prostanoïdes en diversas células y tejidos (*Figura 2*).⁽¹⁴⁾

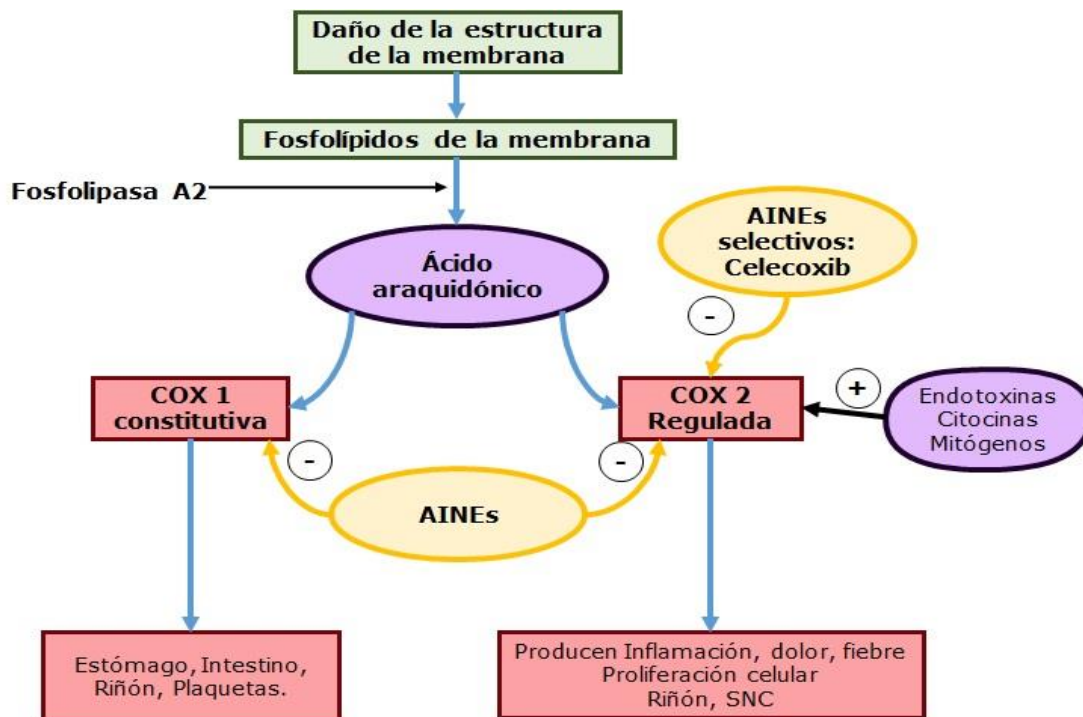


Figura 2. Mecanismo de acción de los AINE'S. Las prostaglandinas sintetizadas a partir del ácido araquidónico dependiendo del tipo de tejido en el que se encuentre producen inflamación, protección de la mucosa gástrica, homeostasis en el flujo renal y función plaquetaria normal. Modificado de "Emerging roles for cyclooxygenase-2 in gastrointestinal mucosal defense".⁽¹⁵⁾

A los AINE'S se les atribuyen diversos eventos adversos tales como: el daño renal, efectos cardiovasculares⁽¹⁶⁾ y complicaciones gastrointestinales (GI), que van desde leves hasta síntomas dispépticos graves, esta condición es una limitante para la utilización de estos fármacos.⁽¹⁷⁾

Los AINE'S tradicionales pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura química, acción farmacológica, tiempo de vida media y selectividad por la inhibición de las isoformas COX-1 y COX-2.

En general los factores que se deben de tomar en cuenta para la selección de un AINE son los siguientes: condición del paciente, incidencia de toxicidad

gastrointestinal, costo de adquisición, disponibilidad del fármaco y sus formas de dosificación. ⁽¹⁸⁾

2.3 KETOROLACO TROMETAMINA

EL ketorolaco trometamina es un AINE que no irrita los tejidos por lo tanto puede tener diferentes vías de administración (oral, intravenosa, etc.). Tiene una absorción rápida y total lo cual permite incluirlo en diferentes tratamientos contra dolor agudo de origen musculo esquelético, dolor postoperatorio y cólico renal. ^(19,20) Además por su actividad analgésica y anti-inflamatoria es eficaz en el tratamiento de dolor que abarca desde malestares causados por extracción dental y cáncer. ⁽²¹⁾

En base a su estructura molecular el ketorolaco trometamina (Figura 3), corresponde al nombre químico de: Ácido (±)-5-Bencil-2,3-dihidro-1H-pirrolizina-1-acido carboxílico compuesto con 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol (1:1).

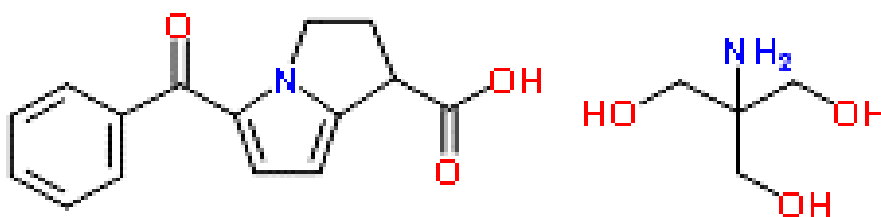


Figura 3. Estructura del ketorolaco trometamina. ⁽²²⁾

EL ketorolaco trometamina es un polvo cristalino blanco a blanquecino con un peso molecular de 376.4 g/mol, soluble en agua y en metanol, su pKa es de 3.54 y se comercializa como: Acular, ketorolaco trometamol o Toradol.⁽²³⁾ Este fármaco es administrado como sal de trometamina de ketorolaco para aumentar la solubilidad de la molécula en agua.⁽²⁴⁾

2.3.1 FARMACOCINÉTICA DEL KETOROLACO TROMETAMINA.

Es un fármaco de clase I en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica por que presenta alta solubilidad y alta permeabilidad.⁽²⁵⁾ La biodisponibilidad del ketorolaco es de aproximadamente del 80% al 100% en la administración por vía oral e intramuscular, las farmacocinéticas de ketorolaco son lineales para la dosis oral y parenteral. En humanos tras una administración oral de 10 mg/Kg se reporta una concentración máxima plasmática de 0.976 µg/mL a un tiempo máximo de 23.3 minutos, un área bajo la curva (ABC) de 3.5 µg/mL*h y una vida media es de 4.93 a 5.8 h en adultos⁽²⁶⁾ y 3.8 a 6.1 horas en pacientes pediátricos, ésta se prolonga en la presencia de insuficiencia renal de 9 a 10 horas y la insuficiencia hepática no afecta la vida media.⁽²²⁾ El ketorolaco está ligado a proteínas en un 99.2% con un volumen de distribución de 0.25 L/Kg y un aclaramiento plasmático de 0.55 mL/min/Kg.⁽²⁶⁾

En diversos estudios utilizando modelos experimentales en rata se reporta lo siguiente:

Dosis de Ketorolaco trometamina	0.3 mg/Kg	1 mg/Kg	1.8 mg/Kg	3.2 mg/Kg	5.6 mg/Kg
C_{max}	0.280 µg/mL	2.31µg/mL	1.927 µg/mL	4.831 µg/mL	8.090 µg/mL
t_{max}	0.38 h	0.25 h	0.50 h	0.75 h	0.39 h
ABC	1.652 µg*hr/mL	4.75 µg*hr/mL	12.037 µg*hr/mL	12.037 µg*hr/mL	15.989 µg*hr/mL

Cuadro 2. Parámetros farmacocinéticos del ketorolaco en rata.^(24,26)

2.3.2 METABOLISMO.

El ketorolaco se metaboliza en el hígado a través de reacciones de hidroxilación y glucuronidación, con el 96% del fármaco inalterado en circulación, el resto se encuentra inactivo en forma de su metabolito p-hidroxi-ketorolaco. En tanto para su eliminación, aproximadamente el 90% del fármaco consumido se elimina por la orina, lo cual indica que casi el 60% del fármaco es excretado como fármaco original y aproximadamente el 12% del fármaco se excreta como para-hidroxi-ketorolaco. El 28% del ketorolaco es metabolizado por circulación enterohepática formando un conjugado con el ácido glucurónico y alrededor del 6% al 8% se elimina en las heces.⁽²³⁾

2.3.3 MECANISMO DE ACCIÓN.

El ketorolaco es un potente analgésico no opiode inhibidor de la síntesis de prostaglandinas e inhibidor del factor de agregación plaquetaria, por lo tanto es eficaz para el alivio de dolor que va de moderado a severo.^(20, 21) Debido a que no puede unirse a los receptores opiodes miu (μ), kappa (K) y delta (δ), se reporta otro posible mecanismo de acción que tiene relación con el antagonista selectivo de los receptores kappa (nor-binaltorfimina) por que pueden antagonizar el efecto analgésico del ketorolaco.⁽²⁶⁾

2.3.4 EVENTOS ADVERSOS.

Los eventos adversos del ketorolaco trometamina son similares a los de otros AINES, los más frecuentes son de tipo gastrointestinal. La administración oral del fármaco puede provocar: úlcera péptica, perforación o hemorragia gastrointestinal que en ocasiones pueden llegar a ser mortales, en particular en ancianos. Otros síntomas que pueden presentarse son; náuseas, vómitos, diarrea, flatulencia, estreñimiento, dispepsia (trastorno de la digestión), gastritis (inflamación de la mucosa del estómago), dolor abdominal.⁽²⁷⁾ Las complicaciones más graves se asocian con relación a la dosis y al tiempo de exposición con el fármaco.⁽²²⁾

2.4 DAÑO GASTROINTESTINAL ASOCIADO A AINES

Los AINES dañan al tracto digestivo por efecto tópico y sistémico. El efecto tópico depende del grado de solubilidad de los AINES en un medio ácido, lo que causa un mayor daño local debido a que las moléculas del fármaco son más liposolubles,

y esto les da mayor facilidad para atravesar las membranas en el sitio de acción. En cambio el efecto sistémico depende de la inhibición de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) que es la responsable de la síntesis de las prostaglandinas protectoras de la mucosa digestiva,⁽²⁸⁾ por lo tanto, los efectos a nivel del tracto gastrointestinal se asocian con la inhibición de la isoforma COX-1 que conduce a una disminución en la producción y liberación de las prostaglandinas las cuales ejercen un efecto protector de la mucosa gastrointestinal debido a que en el estómago estas sustancias tienen un rol protector vital: mantienen el flujo sanguíneo, estimulan la secreción de mucus y bicarbonato y regulan el cambio y reparación celular.⁽²⁹⁾

Diversos aspectos se han considerado para la profilaxis y tratamiento de las complicaciones gastrointestinales atribuidas a los AINES, que van desde prescribir las dosis terapéuticas de acuerdo con la edad y estado físico del paciente, hasta el uso de:⁽³⁰⁾

- a) Antiácidos:** Son sales inorgánicas relativamente insolubles que al disolverse en el estómago neutralizan parcialmente el ácido clorhídrico, neutralizan los protones H^+ secretados por las células parietales, sin interferir directamente con los procesos de secreción. Los más utilizados son el Aluminio y el Magnesio.
- b) Inhibidores de la bomba de protones:** Son medicamentos cuya acción principal es la reducción de ácido en el jugo gástrico.
- c) Inhibidores de la secreción gástrica:** Antagonistas de receptores muscarínicos que reducen la motilidad gástrica y la secreción ácida en el estómago.

- d) *Antagonistas del receptor H₂*: Medicamentos utilizados para el bloqueo de las acciones de histamina a nivel de los receptores sobre las células parietales en el estómago, conllevando a una disminución en la producción de ácido gástrico.⁽³⁰⁾
- e) *Inhibidores de la COX-2*: Tienen menor toxicidad si se consumen en la fase cicatricial de la ulcera péptica, algunos ejemplos son el celecoxib y rofecoxib.⁽²⁹⁾
- f) *Extractos y/o infusiones de diversos productos naturales*: Los cuales se pueden administrar concomitantemente con un AINE, debido a que se les atribuye actividad gastroprotectora o anti-ulcerosa para contrarrestar o reducir el daño gástrico reducido por AINE.⁽³¹⁾

2.5 METILEUGENOL

El metileugenol es un componente natural que se encuentra en los aceites esenciales del clavo, la pimienta, la corteza de la canela, las nueces, la albahaca, la nuez moscada, el estragón, el anís estrellado, la hierba de limón, la jamaica, hinojo y *Peperomia hispidula*. La ingesta media diaria reportada para los seres humanos se estima en un rango de 0,3 a 10 mg/kg, por que se utiliza comúnmente de forma natural o sintético, como agente saborizante en muchos productos alimenticios o como fragancia en algunos perfumes y artículos de higiene personal.^(32,33,34)

2.5.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.

El metileugenol es un líquido incoloro a amarillo pálido, con un olor característico de clavo. Es insoluble en agua, glicol, y el glicol de propileno y soluble en etanol, éter etílico y cloroformo principalmente. Se oscurece y se evapora fácilmente a temperatura ambiente. Tiene un peso molecular igual a 178.23 g/mol, una densidad de 0,98 g/cm³ y su fórmula condensada es C₁₁ H₁₄ O₂.⁽³³⁾

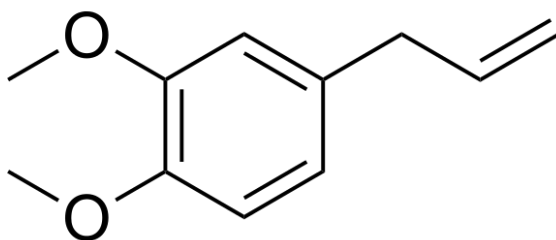


Figura 4. Estructura del metileugenol⁽³⁵⁾

2.5.2 METABOLISMO.

El metieugenol se metaboliza en el hígado a través de reacciones de hidroxilación dando como resultado el metabolito secundario 1-hidroxi-metileugenol, que tiene cierta relación con la toxicidad del metileugenol. La segunda vía metabólica, incluye reacciones de epoxidación, dando como resultado un cetoácido que es eliminado al poco tiempo de formarse.⁽³⁴⁾

Las dosis reportadas para la administración oral de metileugenol en ratas, va desde 37 a 150 mg/kg, en este rango las concentraciones plasmáticas son de aproximadamente 1 a 7 µg / mL.⁽³⁰⁾ El citocromo P450 (CYP) es la isoenzima que

cataliza la formación del 1-hidroxi-metileugenol que es el metabolito secundario del metileugenol, que es el responsable de los cambios asociados a la autoinducción en la enzimas microsomal cuando hay una repetida exposición de metileugenol. A bajas concentraciones el1-hidroxi-metileugenol es catalizado principalmente por el CYP2E1 y también lo atribuyen a el CYP 2C6. ⁽³⁴⁾

2.5.3 ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA.

El metileugenol produce efectos farmacológicos con beneficios potencialmente terapéuticos, que incluyen la inhibición de la liberación de histamina de los mastocitos los cuales tienen acción relajante y antiespasmódica sobre el músculo liso del tracto gastrointestinal, también se le atribuye actividad analgésica, anticonvulsiva y acción anestésica.⁽³⁴⁾ Estudios recientes realizados en el año 2015, avalan que el metileugenol, extraído de la planta *Peperomia hispidula* se le atribuye actividad gastroprotectora, tras la administración de dosis orales a partir de los 3 mg/kg hasta 100 mg/kg, cuyo mecanismo de acción gastroprotector no está relacionado con compuestos endógenos; que incluyen grupos sulfhídricos o prostaglandinas.⁽³¹⁾

2.5.4 EVENTOS ADVERSOS.

El uso prolongado de metileugenol produce efectos perjudiciales en animales, reportando una dosis letal (DL₅₀) en rata de 850-1560 mg/Kg, ⁽³³⁾ La exposición crónica de metileugenol en ratas tiene como consecuencia efectos patológicos y carcinogénicos en algunos órganos como el hígado y el estómago, también se incluyen daños menores en sangre, órganos reproductivos, ganglios, glándulas

mamarias, riñones, peritoneo y en piel.⁽³⁴⁾ Los efectos carcinogénicos en roedores atribuidos al consumo del metileugenol han sido cuestionados debido al uso de dosis de metileugenol por encima de los niveles consumidos por los seres humanos.^(36,37) Así también se ha indicado que las dosis perjudiciales reportadas son dosis mucho mayores a las usadas para la demostración de la actividad gastroprotectora.⁽³¹⁾

2.6 INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS.

Las interacciones farmacológicas se utilizan para designar los eventos adversos o las alteraciones en la efectividad de un fármaco que derivan de la administración previa o simultánea de otro fármaco o alimento.^(38,39)

Se reporta en diversos estudios que al menos un 10% de los ingresos hospitalarios presentan eventos adversos a medicamentos debido a que los pacientes son polimedcados con 2 o más fármacos con riesgo de interactuar; otro estudio cifra un 6% de acontecimientos mortales debidos a las interacciones fármaco- fármaco.⁽⁴¹⁾

Las causas más comunes de los eventos adversos de los fármacos, son las interacciones farmacológicas fármaco-fármaco, que cuando son del tipo farmacocinético involucran los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción, lo cual pueden influir en la reducción o el incremento de la eficacia clínica de los fármacos involucrados.⁽⁴¹⁾ El conocimiento de las interacciones fármaco-productos naturales es tan relevante como el de las interacciones

fármaco-fármaco. Ante la percepción de la población, de que los productos naturales son inofensivos, se ha incrementado el uso de los principios activos por la medicina alopática. No obstante, se han documentado diversas interacciones clínicamente importantes entre fármacos y productos herbolarios, que llevan a la alteración de la eficacia y/o toxicidad, provocando eventos adversos que pueden poner en peligro la vida de los pacientes.^(42,43,44)

Por ejemplo, las plantas con efectos laxantes (sen, cáscara sagrada, Planta goovata, frángula, anís verde) pueden aumentar el bolo intestinal y esto provoca una reducción en la absorción de ciertos fármacos (calcio, hierro, litio, digoxina y anticoagulantes orales). Existen extractos naturales provenientes de plantas con una actividad farmacológica concreta, que pueden interactuar debido al efecto aditivo con fármacos habituales, como antiagregantes plaquetarios o hipoglucemiantes.^(39,45) La absorción de algunos fármacos también puede verse afectada cuando los extractos herbolarios contienen hidrocoloides, fibras, linaza o mucilago, porque pueden unirse al fármaco y reducir su biodisponibilidad. Los laxantes herbales tales como el látex del áloe, el espino cerval, la cáscara sagrada y sena pueden causar pérdida de fluidos y elementos como el potasio produciendo riesgo de toxicidad con la digoxina. En fármacos con estrecho margen terapéutico como la warfarina provocan la reducción del efecto de los fármacos.^(42,46)

En la distribución los salicilatos contenidos en las hierbas de sauce negro pueden desplazar fármacos altamente unidos a proteínas como la carbamazepina aumentando así los eventos adversos y tóxicos. El metabolismo de algunos corticosteroides disminuye cuando se coadministra con la hierba regaliz, la acción

anticoagulante de la warfarina es potenciada por el ginkgo y posiblemente por muchas otras hierbas. En cambio en la depuración renal de un fármaco se inhibe la reabsorción tubular.^(42,46.47)

2.7 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA SEPARACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE FÁRMACOS EN ESTUDIOS FARMACOCINÉTICOS

El empleo de metodologías analíticas inicia en la etapa de investigación y desarrollo de un medicamento, para luego aplicarse en estudios farmacocinéticos. Diversos métodos pueden ser aplicados para la separación e identificación de sustancias de interés dependiendo del alcance que se pretenda.⁽⁴⁸⁾ La cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) es un ejemplo de éstos y es ampliamente utilizada como herramienta de separación y cuantificación en estudios farmacocinéticos. La CLAR provee mayores beneficios en la capacidad de detección, mejor resolución, aumento de sensibilidad y alta velocidad de análisis en tiempos de tan solo 2 min. La CLAR es un método físico que separa los componentes de una mezcla, en base a la migración diferencial de los mismos, en un sistema que consta de dos fases, una móvil, que fluye continuamente en una determinada dirección, y otra estacionaria, que permanece fija. El recobro de la muestra es fácil y las fracciones separadas se recolectan de forma sencilla, colocando un recipiente abierto al final de la columna. El recobro es usualmente cuantitativo (exceptuando la adsorción irreversible en la columna) y los componentes son fácilmente separados del disolvente de la fase móvil. Se realiza en una columna y por sus características particulares se ha convertido en una las técnicas de análisis de mayor rendimiento y eficacia.⁽⁴⁹⁾

Conocer y seguir una metodología bioanalítica para lograr la separación e identificación de un componente de interés en una muestra biológica de un estudio farmacocinético es importante para estimar el tiempo aproximado del estudio que va desde el periodo de administración del fármaco, ya sea de dosis simple o múltiple, la obtención de muestras en un fluido biológico (sangre, plasma, orina, etc.) de cada sujeto a diferentes tiempos, y el análisis de la mismas utilizando un método analítico validado, para determinar la concentración del fármaco y/(o) metabolitos y así obtener, para cada sujeto y producto, los parámetros farmacocinéticos resultantes y representativos de los perfiles concentración-tiempo.^(5, 50)

2.8 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Todos los métodos analíticos empleados para la cuantificación de muestras biológicas deben ser validados en el sitio de análisis y alcanzar el propósito para el que han sido desarrollados, independientemente si son metodologías desarrolladas por la unidad analítica o se adquieren comercialmente.

La validación es la evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado, por lo tanto cuando se desarrolla una metodología bioanalítica debe garantizar la reproducibilidad y exactitud de los datos que se estén reportando en el estudio. En el año 2001 se publicó la primera guía oficial aplicada a estudios de farmacología clínica, biodisponibilidad y bioequivalencia que requieren la evaluación farmacocinética, cuya aplicabilidad se extiende a métodos bioanalíticos para estudios preclínicos

y/o estudios farmacológicos/toxicológicos en modelos animales.⁽⁵⁰⁾ En el rubro de la normatividad en México, se encuentra la NOM-177 SSA-1-2013, la cual indica los requerimientos necesarios para lograr demostrar que el método utilizado para la medición cuantitativa de analitos en una matriz biológica tales como sangre, plasma, suero u orina, es fiable y reproducible para el uso previsto.⁽⁴⁶⁾ La validación de un método bioanalítico incluye la evaluación de parámetros analíticos tales como:⁽⁵⁰⁾

- a) *Selectividad*. Capacidad de un método analítico para diferenciar y cuantificar el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos en la muestra.
- b) *Curva de calibración*. Capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener una respuesta proporcional a la concentración del compuesto en la muestra.
- c) *Límite de cuantificación*. Concentración más baja del analito que puede medirse cumpliendo con la precisión y exactitud, determinada en función de las necesidades de cuantificación del estudio.
- d) *Exactitud*. Concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.
- e) *Precisión*. Al grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea; se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad:
 - i) *Repetibilidad*: A la precisión bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo

- ii) *Reproducibilidad:* A la precisión bajo las variaciones que comúnmente pueden ocurrir dentro del laboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos
- f) *Estabilidad de la muestra.* A la capacidad de un fármaco o un medicamento de permanecer dentro de las especificaciones de calidad establecidas, en el envase que lo contiene durante su periodo de vida útil.

3. JUSTIFICACIÓN

Ensayos clínicos han mostrado que el riesgo de complicaciones gastrointestinales graves con el uso de AINES orales puede elevarse de 3.5 a 4.7% y va incrementando con la edad (mayor de 60 años). También se ha indicado que el riesgo anual de sangrado ocasionado por un AINE en pacientes mayores de 75 años es 1 de cada 110 pacientes y el riesgo de fallecer es de 1 en 650 pacientes, en comparación con pacientes de 16 a 45 años en quienes el riesgo anual fue de 1 en 2100 pacientes.⁽⁵¹⁾ En México se ha reportado un incremento de tratamientos que contienen al menos un AINE, como consecuencia es cada vez más común el desarrollo de enfermedades en el tracto gastrointestinal tóxicas que pueden llegar a sistémicas.⁽²⁸⁾ Ante esta situación, se han implementado nuevas terapias para tratar el dolor y/o evitar o disminuir el daño gastrointestinal, tales como el uso de fármacos antiácidos, antagonistas de los receptores para histamina tipo H₂, y los inhibidores de la bomba de protones, éstos últimos considerados como los de una mayor eficacia, sin embargo su uso se ha asociado a un déficit de absorción de vitamina B12, de calcio, así como un aumento en el riesgo de presentar infarto de miocardio y problemas renales.⁽³⁰⁾ En este contexto, las plantas medicinales son una fuente importante de sustancias químicas con efectos terapéuticos potenciales, ya que algunas plantas medicinales han presentado actividad analgésica y gastroprotectora. El metileugenol ha sido identificado como uno de los compuestos de *Peperomia hispidula* (planta originaria de Chiapas, México, conocida localmente como lenteja) que ejerce un efecto gastroprotector,⁽³¹⁾ y que por sus características, se hace susceptible de ser usado concomitantemente con

AINES. Ante el conocimiento que toda combinación de compuestos con actividad farmacológica, puede generar una interacción (farmacodinámica o farmacocinética) que eventualmente termine en una ineficacia clínica o la presencia potencial de eventos adversos,^(41,43) se justifica la realización de estudios fármaco-compuesto herbolario para sustentar y considerar el uso concomitante de moléculas de origen herbolario con características de gastroprotección como lo es el metileugenol, en tratamientos donde se prescriba algún AINE tal como el ketorolaco trometamina.

4. HIPÓTESIS.

La administración conjunta de un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) como el ketorolaco trometamina con el metileugenol como gastroprotector, manifestará alteración en el proceso de absorción de la farmacocinética de ketorolaco trometamina, dado que pueden presentarse debido a cambios de pH, solubilidad y/o vaciamiento gástrico por la presencia del producto natural antes de la administración oral de ketorolaco trometamina.

5. OBJETIVOS.

5.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar si la farmacocinética del ketorolaco trometamina se modifica al administrarlo en combinación con el metileugenol.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer las condiciones óptimas para la cuantificación de ketorolaco trometamina en plasma de rata Wistar, utilizando Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
- Determinar la confiabilidad del método de cuantificación de ketorolaco trometamina.
- Obtener el perfil farmacocinético del ketorolaco trometamina.
- Obtener el perfil farmacocinético del ketorolaco trometamina en combinación con el metileugenol.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 MATERIAL

6.1.1 BIOLÓGICO

Se usaron ratas Wistar macho de 200 a 250 g de peso, las cuales fueron manejadas de acuerdo con las directrices éticas de la Institución y los estándares NIH (National Institutes of Health de los Estados Unidos).

6.1.2 REACTIVOS

- Ketorolaco trometamina (Grado analítico, Sigma-Aldrich), pureza $\geq 99\%$.
- Naproxeno (Grado analítico, Sigma-Aldrich)
- Metanol HPLC (J.T. Baker)
- Ácido ortofosfórico al 85% (MERCK)
- Fosfato monobásico de potasio (J. T. Baker)
- Tween 80 (Synthese kwaliteit)
- H₂O desionizada MilliQ.

6.1.3 SOLUCIONES

- Vehículo: tween 80 a 0.5% v/v.
- Heparina: 0.2% p/v.
- Solución salina: 0.9% p/v.

- Metileugenol.

6.1.4 MATERIAL DIVERSO

- Matraz volumétrico de 5, 10, 20, 50 y 1000 mL.
- Vasos de precipitados de 10, 50, 100, 500 mL.
- Probeta graduada de 100, 250 y 1000 mL.
- Pipeta graduada de 1 mL.
- Puntas para Micropipeta electrónica multidosis de 0.5 y 2.5 mL.
- Puntas ajustables para pipeta multidosis de 100 y 1000 μ L.
- Tubos eppendorf de 1.5 mL.
- Viales
- Filtro tipo HVLP, 45 μ m.
- Gradilla para tubos eppendorf y viales.
- Espátulas.
- Guantes de nitrilo.
- Papel glassine, papel parafilm y papel aluminio.

6.1.5 EQUIPO

- a) Balanza analítica modelo Sartorius, modelo BL 210S.
- b) Potenciómetro marca BECKMAN 32 pH Meter.
- c) Micropipeta multidosis eppendorf.
- d) Pipeta de repetición electrónica marca Gilson, modelo Repetman.
- e) Pipeta de volumen variable de 10-100 μ L marca Dragon Lab.
- f) Pipeta de volumen variable de 100-1000 μ L marca Dragon Lab.

- g) Parrilla de agitación marca Beamstead/Thermolyne, modelo SP 46925.
- h) Bomba para vacío LIC modelo DDA-V152-AA.
- i) Agitador multi-tubo mecánico marca IKA, modelo MS 3 digital.
- j) Agitador Vórtex marca Scientific Industries, modelo Genie 2.
- k) Sonicador marca BRANSONIC, modelo 3510-R-MT.
- l) Sonicador marca Cole-Parmer, modelo 8845-40.
- m) Equipo de filtración Millipore.
- n) Centrifuga marca Ortoalresa, modelo bincen 22 R.
- o) Congelador marca Scien Temp, modelo 80-9.4.
- p) Refrigerador marca Metalfrio, modelo REB301.
- q) Sistema MilliQ Continental Waters Systems.
- r) Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución: Sistema HITACHI con un detector UV-visible (P-1410), Horno P-1310, automuestreador P-1210 y bomba P-1110 y una columna marca Agilent Technologies, ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 x 150 mm, 3.5 μ m.

6.2 MÉTODO

6.2.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS.

La velocidad de flujo de la fase móvil fue de 1.5 mL/min y consistió en una mezcla de fosfato monobásico de potasio 0.04 M a pH 3.3 con Metanol (57:43, v/v). La fase móvil se filtró usando una membrana con un poro de 0.45 μ m y se desgasificó

(5 minutos) antes de su uso. El volumen de inyección fue de 60µL, la longitud de onda para la detección se estableció en 320 nm, la temperatura fue de 40 °C, se empleó como estándar interno naproxeno sódico y el sistema cromatográfico usado fue HITACHI con una columna C18, marca Agilent Technologies, ZORBAX Eclipse Plus, 4.6 x 150 mm, 3.5 µm.

6.2.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.

- a) Solución de Fosfatos:** Se pesó 5.44 g de fosfato monobásico de potasio, y se disolvió en 500 mL de agua, se ajustó el pH con ácido ortofosfórico a 3.3 y se aforo a 1000 mL con agua.
- b) Solución de EI (Naproxeno) 30 µg/mL:** Se pesó 5 mg de Naproxeno y se disolvió en 5 mL con agua, se hizo una dilución tomando 600 µL de la solución anterior y se llevó a un aforo de 20 mL con agua.
- c) Solución de Ketorolaco de 5 µg/mL y 100 µg/mL:** Se pesó 5 mg de ketorolaco trometamina y se disolvió con 5 mL de agua, para obtener una concentración de 1 mg/mL. De esta solución se tomó 2 mL que se aforó a 20 mL con agua para obtener una concentración de 100 µg/mL, a sí mismo se tomó 1 mL y se aforó a 20 mL con agua para obtener una concentración de 5 µg/mL.
- d) Solución de lavado MeOH/agua (v/v, 50:50):** Se realizó una mezcla con un volumen de 250 mL de metanol y 250 mL de agua, se transfirieron a un frasco de vidrio con tapa de rosca de 500 mL, se filtró y se sónico.

6.2.1.2 PREPARACIÓN DE CADA PUNTO DE CONCENTRACIÓN PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN Y MUESTRAS CONTROL PARA SU ANÁLISIS EN PLASMA.

Concentración (µg/mL)	Plasma/ (µL)	Solución de Ketorolaco 5µg/mL (µL)	Solución de ketorolaco 100µg/mL (µL)	Solución de Naproxeno E.I 30µg/mL (µL)	Extrayente MeOH (µL)
0.1	100	20	-	200	680
0.3	100	60	-	200	640
1	100	-	10	200	690
3	100	-	30	200	670
5	100	-	50	200	650
10	100	-	100	200	600

Cuadro 3. Volumen de soluciones para la preparación de la curva de calibración.

Control	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Solución de Ketorolaco 5µg/mL (µL)	Solución de ketorolaco 100µg/mL (µL)	Solución de Naproxeno E.I 30µg/mL (µL)	Extrayente MeOH (µL)
MCB	0.2	100	40	-	200 µL	660 µL
MCM	2	100	-	20 µL	200 µL	680 µL
MCA	7.5	100	-	75 µL	200 µL	625 µL

Cuadro 4. Preparación de las muestras correspondientes a las muestras control.

6.2.1.3 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.

En un tubo eppendorf de 2 mL se colocaron 100 µL de plasma, se agregó 200 µL de la solución de 30 µg/mL del estándar interno, se adicionó el volumen indicado en el cuadro 3 y 4 de las soluciones de ketorolaco trometamina y el volumen de metanol como extrayente necesario para completar 1000 µL. De igual manera se prepararon las muestras provenientes del estudio farmacocinético omitiendo la

adición de las soluciones de ketorolaco trometamina. Las muestras se agitaron en vórtex por 5 min, se centrifugaron durante 35 min a 12,500 rpm y se tomaron 60 μ L del sobrenadante para inyectarlo al cromatógrafo.

6.2.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

- a) *SELECTIVIDAD*. Se analizó individualmente seis blancos de matriz biológica provenientes de diferentes ratas, las muestras a analizar se prepararon de acuerdo al inciso d. Por medio de este parámetro se verifico la existencia de alguna señal desconocida dentro de los tiempos de retención del ketorolaco trometamina o del estándar interno.
- b) *CURVA DE CALIBRACIÓN*. Se evaluó con 3 curvas de calibración en un intervalo de trabajo de 6 concentraciones de ketorolaco trometamina a partir de 0.1, 0.3, 1, 3, 5 y 10 μ g/mL, además se incluyó una muestra blanco y una muestra cero. Se definió un modelo matemático para demostrar la continuidad y reproducibilidad de la relación entre la concentración y la respuesta.
- c) *PRECISIÓN*.
- *REPETIBILIDAD*. Se analizó por quintuplicado en un mismo día, cuatro niveles de concentraciones LIC, MCB, MCM y MCA (0.1, 0.2, 2 y 7.5 μ g/mL de ketorolaco trometamina).
 - *REPRODUCIBILIDAD*. Se analizó en tres corridas analíticas en diferentes días por quintuplicado cuatro niveles de concentraciones LIC, MCB, MCM y MCA (0.1, 0.2, 2 y 7.5 μ g/mL de ketorolaco).

- d) *EXACTITUD*. Se determinó el porcentaje de desviación a las concentraciones recuperadas para repetibilidad y reproducibilidad respecto al valor nominal de cada nivel de concentración evaluado en precisión, con esto se asegura que los resultados obtenidos tienen un grado de concordancia con los valores reales.
- e) *ESTABILIDAD DE MUESTRA PROCESADA*. Se preparó por triplicado la muestra control baja y la muestra control alta y se almacenó a 4°C para su posterior análisis a las 24, 48 y 72 horas.
- f) *ESTABILIDAD A LARGO PLAZO*. Se analizó por triplicado la muestra control baja y la muestra control alta en los días 0, 5, 15, 30, 45 y 60, estas se encontraban almacenadas en condiciones de congelamiento a una temperatura de - 40°C.
- g) *LÍMITE INFERIOR DE CUANTIFICACIÓN*. Se analizó la concentración más baja de la curva de calibración por quintuplicado en un mismo día, cumpliendo con tiene los criterios de precisión y exactitud.

6.2.3 ESTUDIO FARMACOCINÉTICO.

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. Los animales fueron agrupados en 2 grupos de 6 animales cada uno, de los cuales uno fue identificado como grupo control y el otro como grupo tratamiento. Los grupos fueron sometidos a un ayuno de alimento por 24 horas. Se realizó una canulación de la arteria caudal aproximadamente a 3 cm de la base de la cola del animal, colocando a este en posición decúbito dorsal, se insertó una cánula de polietileno directo a la arteria y

en el extremo libre se colocó una jeringa para mantener la cánula heparinizada y esto facilitó la toma de las muestras durante todo el estudio.

6.2.3.1 TOMA DE MUESTRA.

Se tomó una muestra cero como control para ambos grupos, después se administró al grupo control una solución al 0.5 % de tween 80 por vía oral treinta minutos antes de la administración de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg por vía oral. Para el grupo tratamiento se administró metileugenol por vía oral a una dosis de 30 mg/Kg treinta minutos antes de la administración de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg. Se tomó cada muestra en los siguientes tiempos: 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 y 360. El volumen de cada muestra fue aproximadamente de 200 μ L, se depositó en tubos eppendorf que contenían 20 μ L de heparina como anticoagulante al 0.2 %, se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 minutos y al final se tomó 100 μ L de plasma para almacenarlo en congelación hasta el día de su análisis.

6.2.3.2 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

Se construyó un perfil farmacocinético para cada grupo evaluado y por medio del software Phoenix WinNonLin se determinó cada uno de los siguientes parámetros: C_{max} , t_{max} , ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$ y $t_{1/2}$ de eliminación.

6.2.3.3 ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó un análisis estadístico aplicando la prueba t-Student para los parámetros obtenidos en ambos grupos por medio del programa Graph Pad Prism versión 5.0 para determinar si existía diferencia significativa, en donde un valor de $p \leq 0.05$ se consideró como significativo.

7. RESULTADOS.

7.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

SELECTIVIDAD.

Después de evaluar individualmente 6 plasmas diferentes, se obtuvo el cromatograma de la *figura 5* en donde se observan algunas señales detectadas en la muestra blanco, sobresale una señal que no es lo suficientemente grande para interferir con los tiempos de retención del ketorolaco trometamina y del estándar interno los cuales se muestran en la *figura 6*.

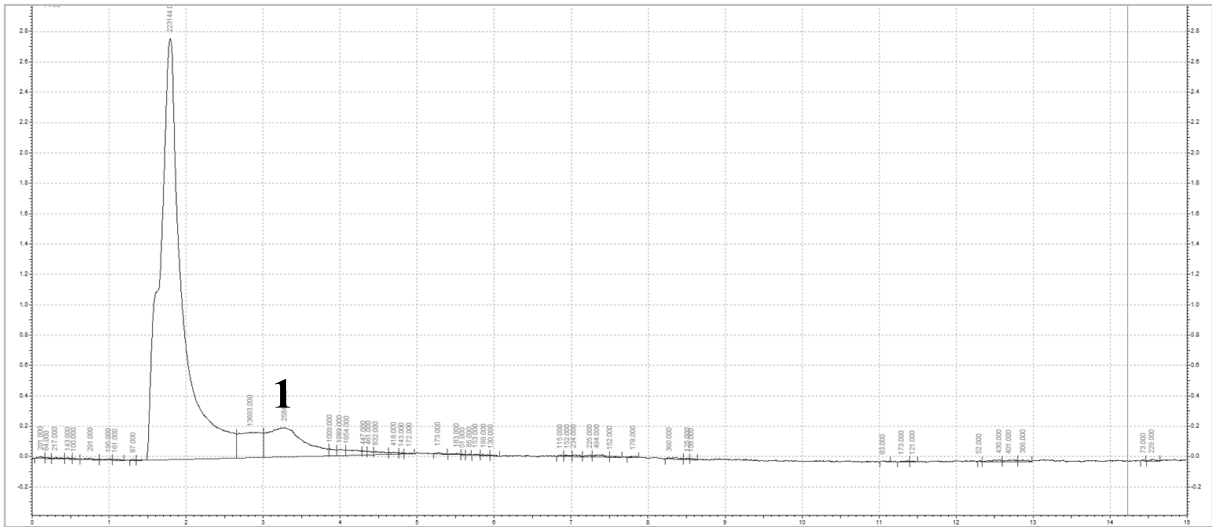


Figura 5. Cromatograma que muestra señales generadas (1) a partir de un blanco de plasma de rata para la selectividad del método.

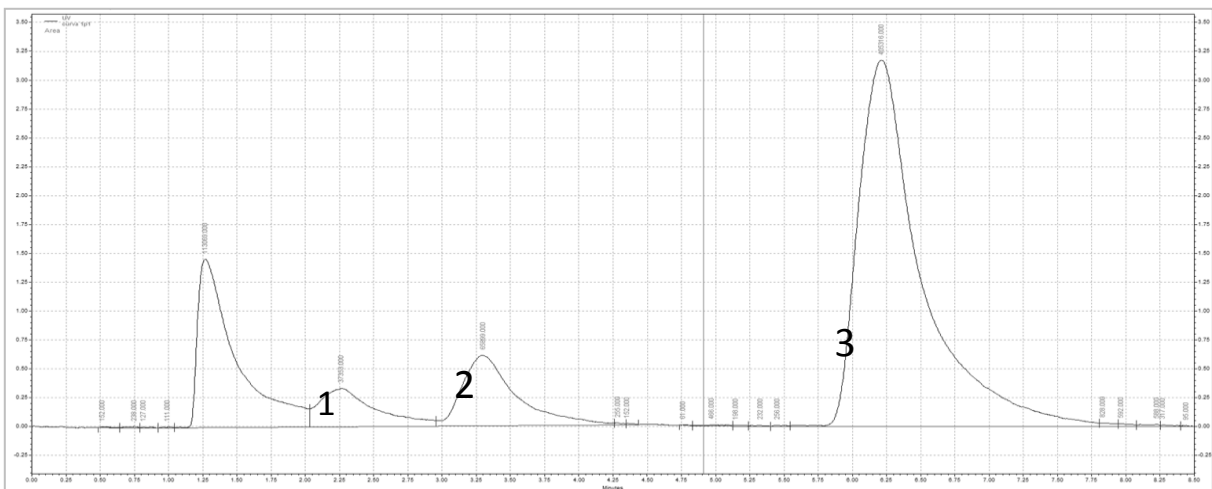


Figura 6. Cromatograma que muestra las señales generadas del ketorolaco trometamina (2) como analito de interés y el estándar interno (3) en plasma de rata.

CURVA DE CALIBRACIÓN.

La figura 7, presenta la curva de calibración obtenida en el intervalo de concentraciones de 0.1 a 10 $\mu\text{g/mL}$ de ketorolaco trometamina en plasma de rata, la cual tiene un comportamiento lineal tipo $y = 1.450x + 0.020$, con una $r^2 = 0.999$

(Anexo 12, numeral 1, inciso a). Los datos de concentración recuperada de la curva de calibración cumplen los criterios de aceptación requeridos por la normatividad como lo muestra el *cuadro 5*.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración recuperada ($\mu\text{g/mL}$)			Concentración recuperada promedio ($\mu\text{g/mL}$)	% Desviación
	Curva 1	Curva 2	Curva 3		
Blanco	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.00
0.1	0.0855	0.0863	0.0975	0.0897	-10.33
0.3	0.2914	0.2903	0.3066	0.2960	-1.34
1	1.0073	0.9635	0.9962	0.9890	-1.10
3	3.0590	3.0018	3.0309	3.0306	1.02
5	4.9498	5.1092	4.9557	5.0053	0.10
10	10.0071	9.9489	10.0131	9.9895	-0.10

Cuadro 5. Se muestran las concentraciones recuperadas individualmente en cada curva y el promedio para la construcción de la curva de calibración con sus respectivos porcentajes de desviación.

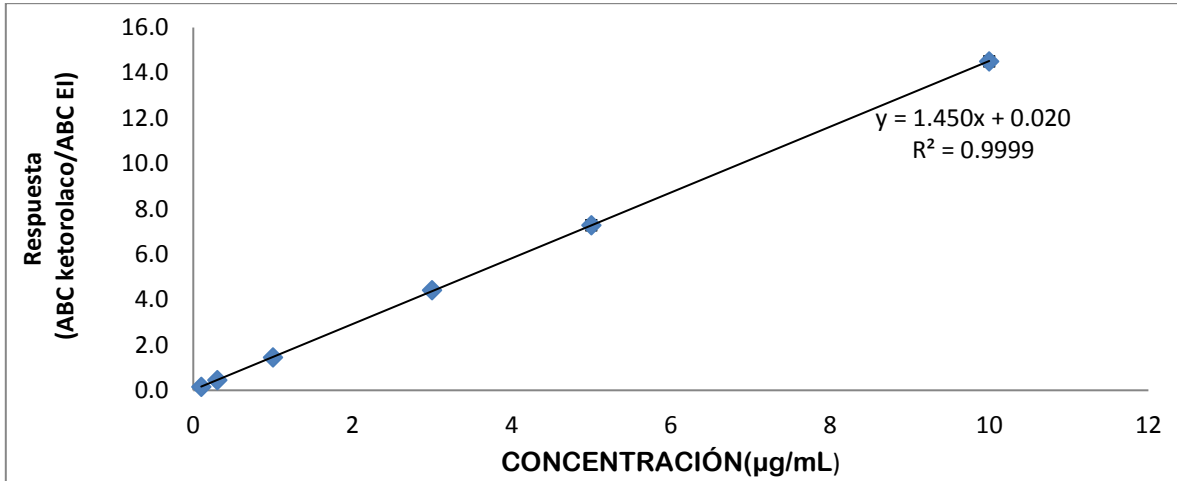


Figura 7. Cada punto de la curva de calibración para ketorolaco trometamina representa el promedio de tres determinaciones \pm su desviación estándar.

PRECISIÓN

Repetibilidad:

La precisión del método, evaluada en términos de repetibilidad, al analizar cuatro niveles de concentración (límite inferior de cuantificación 0.1 µg/mL, control bajo 0.2 µg/mL, media 2 µg/mL y alto 7.5 µg/mL) de ketorolaco trometamina, cada uno por quintuplicado el mismo día y en las mismas condiciones de trabajo, produjo los resultados presentados en el *cuadro 6*. El coeficiente de variación para cada nivel de concentración se encuentra dentro del criterio de aceptación menor o igual del 20% y para el límite inferior de concentración menor o igual al 15%.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentraciones recuperadas para cada muestra control ($\mu\text{g/mL}$)					Promedio de las concentraciones recuperadas ($\mu\text{g/mL}$) \pm Desv. Est.	% CV
	1	2	3	4	5		
0.1	0.1107	0.1056	0.1019	0.1153	0.1046	0.1076 \pm 0.0053	4.96
0.2	0.1877	0.1875	0.1921	0.2000	0.1850	0.1904 \pm 0.0059	3.10
2	1.9075	1.8842	1.8379	1.7536	1.8118	1.8390 \pm 0.0608	3.30
7.5	7.3342	7.5372	7.5884	7.3151	7.2767	7.4103 \pm 0.1419	1.91

Cuadro 6. Resultados de repetibilidad del método. Se reportan las concentraciones recuperadas individualmente para el LIC, MCB, MCM y MCA, así como el promedio de las 5 repeticiones \pm Desviación Estándar y su respectivo porcentaje del coeficiente de variación.

REPRODUCIBILIDAD.

Los resultados al analizar cuatro niveles de concentraciones (límite inferior de cuantificación, control bajo, medio y alto) de ketorolaco trometamina por quintuplicado bajo las mismas condiciones de análisis y en tres corridas diferentes, cumplen con el criterio de aceptación para la reproducibilidad del método (% CV menor o igual del 20% para el límite inferior de concentración, y menor o igual al 15% para el resto de las concentraciones, tal como puede observarse en el cuadro 7.

Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Corrida analítica 1	Corrida analítica 2	Corrida analítica 3	Promedio ($\mu\text{g}/\text{mL}$)\pm Desv. Est.	% CV
0.1	0.1076	0.0834	0.0924	0.0945 \pm 0.0121	12.77
0.2	0.1904	0.1842	0.1789	0.1845 \pm 0.0067	3.65
2	1.8390	1.7799	2.1554	1.9248 \pm 0.1788	9.29
7.5	7.4103	7.3579	7.4708	7.4130 \pm 0.1764	2.38

Cuadro 7. Se muestran los promedios de las concentraciones obtenidas experimentalmente de 5 repeticiones para el LIC, MCB, MCM y MCA en tres corridas analíticas más su respectivo % C.V.

EXACTITUD

El porcentaje de desviación respecto al valor nominal esperado de ketorolaco trometamina a los promedios de las concentraciones experimentales por quintuplicado obtenidas de las tres corridas analíticas del LIC y las muestras control, presentadas en el cuadro 8 están dentro del 85 al 115%. Considerado como criterio de aceptación.⁽⁴⁷⁾

Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Concentración experimental $\mu\text{g}/\text{mL} \pm$ Desv. Est.	Exactitud
0.1	0.0945 \pm 0.0121	94.4 %
0.2	0.1845 \pm 0.0067	92.2 %
2	1.9248 \pm 0.1788	96.2 %
7.5	7.4130 \pm 0.1764	98.8 %

Cuadro 8. Resultados que demuestran que el método es exacto.

LÍMITE INFERIOR DE CUANTIFICACIÓN.

El límite de cuantificación (0.1 µg/mL) cumple con la exactitud y precisión requerida como criterios de aceptación, como se observa en el *cuadro 9*.

Concentración (µg/mL)	Concentración Recuperada (µg/mL)	% de Desviación
0.1	0.1089	108.8739
	0.1071	107.0985
	0.1170	116.9939
	0.0906	90.6031
	0.1056	105.5756
Promedio	0.1058	105.8290
Desv. Est.	0.0095	
% C.V.	9.0563	
% Desviación		9.5842

Cuadro 9. Resultados del límite inferior de cuantificación para el método de cuantificación del ketorolaco trometamina.

ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

En la figura 8 y 9 se presentan los resultados obtenidos para la estabilidad de la muestra procesada a corto plazo (0, 24, 48 y 72 h) evaluada por triplicado en la MCB (0.2 µg/mL) y MCA (7.5 µg/mL), (*Anexo 13, numeral 1, inciso b*).

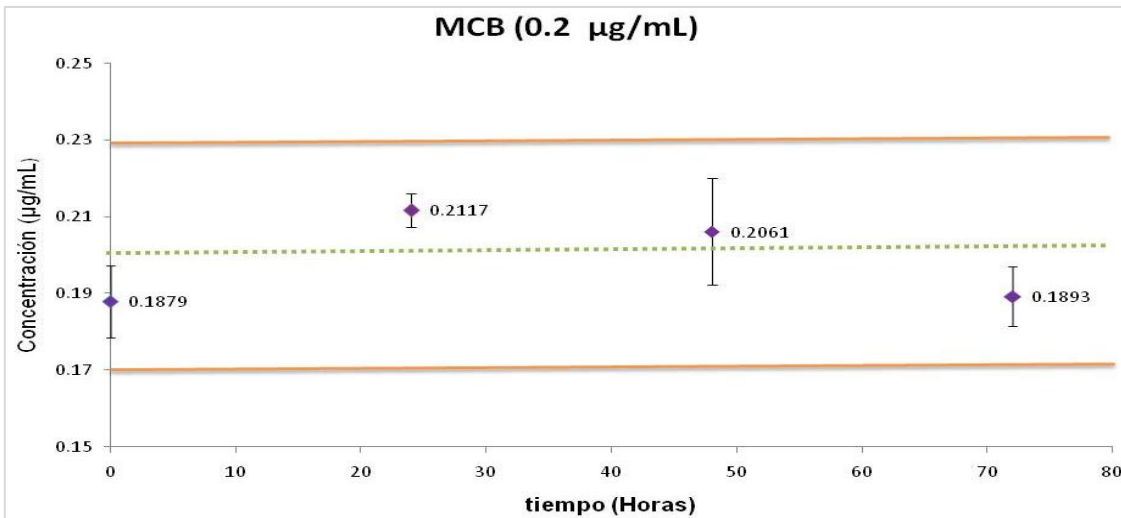


Figura 8. Concentraciones obtenidas de los promedios de las muestras control bajas (MCA 0.2 µg/mL) evaluadas por triplicado a las 0, 24, 48 y 72 h, cada punto muestra el promedio de tres determinaciones más su desviación estándar.

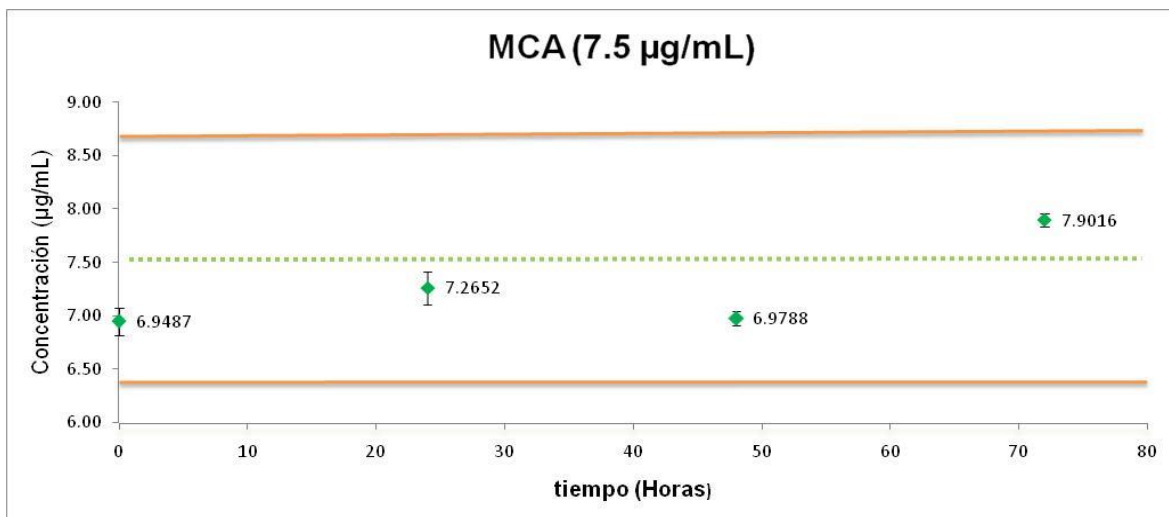


Figura 9. Concentraciones obtenidas de los promedios de las muestras control alta (MCA 7.5 µg/mL) evaluadas por triplicado a las 0, 24, 48 y 72 h, cada punto muestra el promedio de tres determinaciones más su desviación estándar.

Para la estabilidad a largo plazo, la MCB y MCA analizada por triplicado y almacenada en condiciones de congelamiento hasta por 60 días, los resultados

muestran la estabilidad de dichas muestras bajo las condiciones descritas, como puede observarse en la *figura 10 y 11 (Anexo 11, numeral 1, inciso c)*.

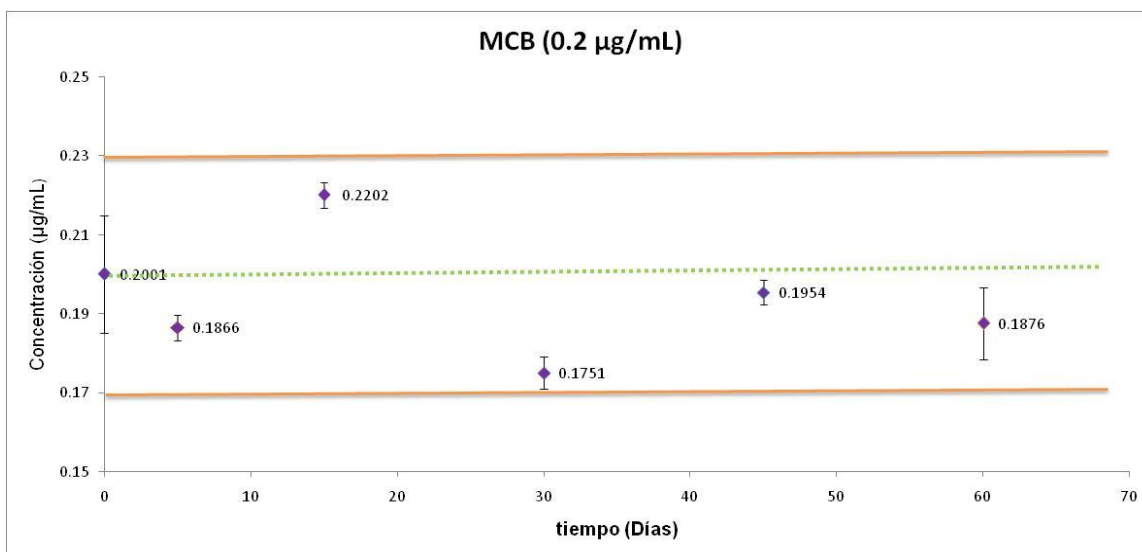


Figura 10. Estabilidad a largo plazo para muestra control baja, cada punto es el promedio de 3 determinaciones \pm Desviación Estándar.

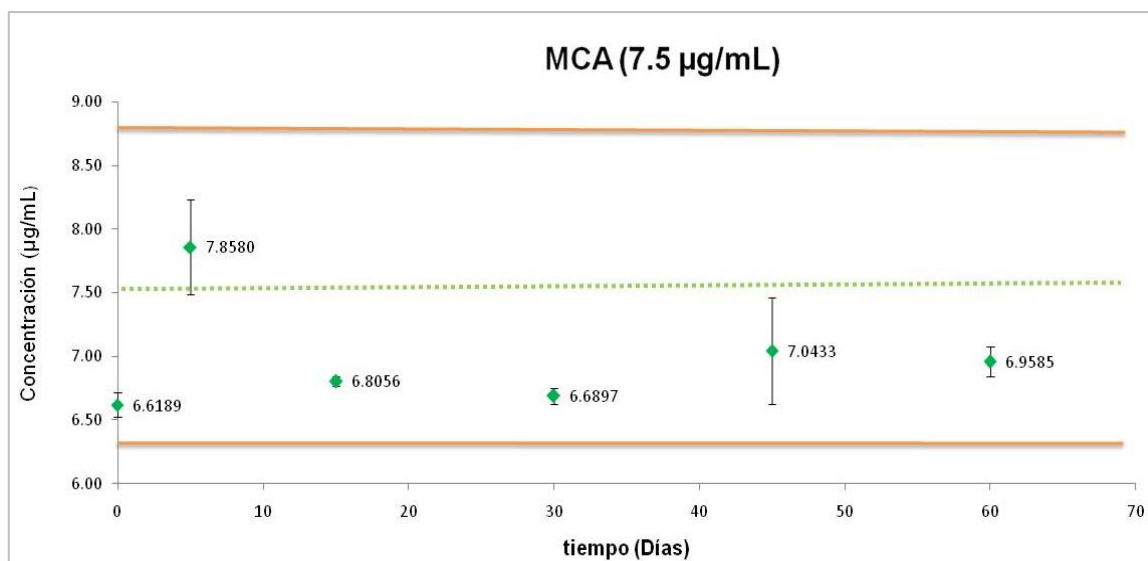


Figura 11. Estabilidad a largo plazo para muestra control alta, cada punto es el promedio de 3 determinaciones \pm Desviación Estándar.

7.2 ESTUDIO FARMACOCINÉTICO

PERFIL FARMACOCINÉTICO DEL KETOROLACO TROMETAMINA

En los perfiles farmacocinéticos promedio de ketorolaco obtenidos para el grupo control y grupo con tratamiento (*Figura 12 y 13*), se observa claramente que la absorción del fármaco se da en forma rápida al incrementarse las concentraciones plasmáticas de ketorolaco hasta alcanzar un máximo, para después descender, que con el paso del tiempo da origen a un pequeño incremento en las concentraciones plasmáticas, condición indicativa de una recirculación enterohepática que finalmente vuelve a descender de forma exponencial en función del tiempo.

Al comparar los perfiles plasmáticos se observa que la administración de metileugenol previa a la del ketorolaco trometamina (grupo tratamiento, *Figura 14*), originó una disminución considerable en las concentraciones plasmáticas del fármaco durante el periodo del estudio, que provoco cambios significativos en la biodisponibilidad del fármaco cuando el metileugenol es administrado previamente como puede observarse en el *cuadro 11* (*Anexo 11, numeral 2, inciso d, e, f, g, h, i, j*).

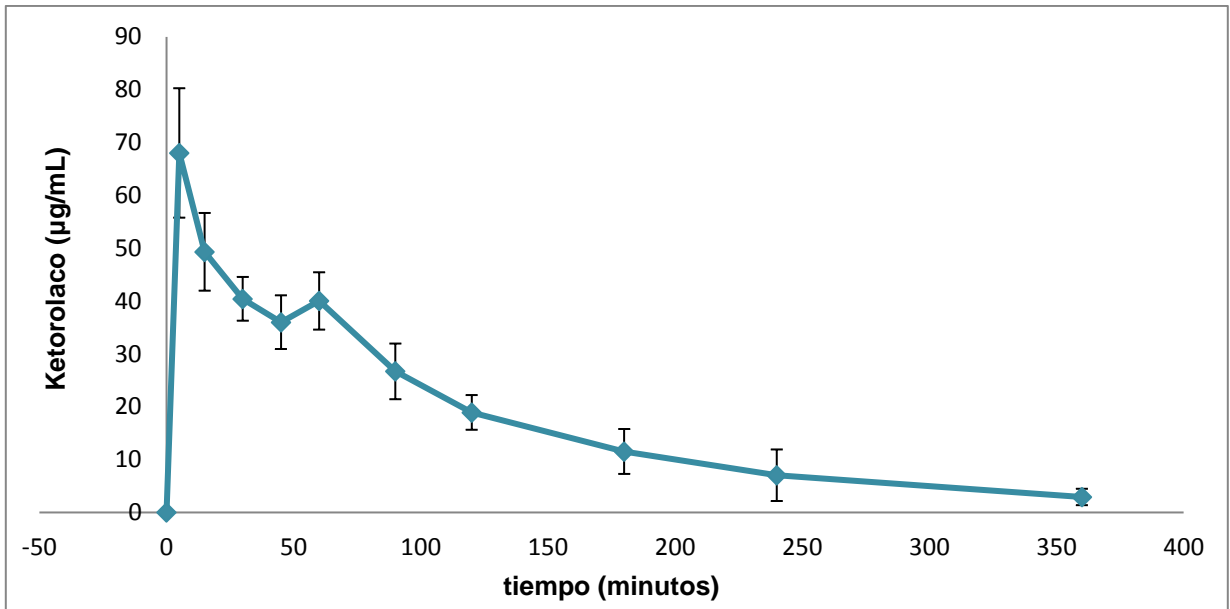


Figura 12. Perfil farmacocinético con el curso de las concentraciones plasmáticas del ketorolaco trometamina después de una administración por vía oral con una dosis de 10mg/Kg previa administración de vehículo. Los datos representan la media de las 6 determinaciones \pm Desviación Estándar del grupo control.

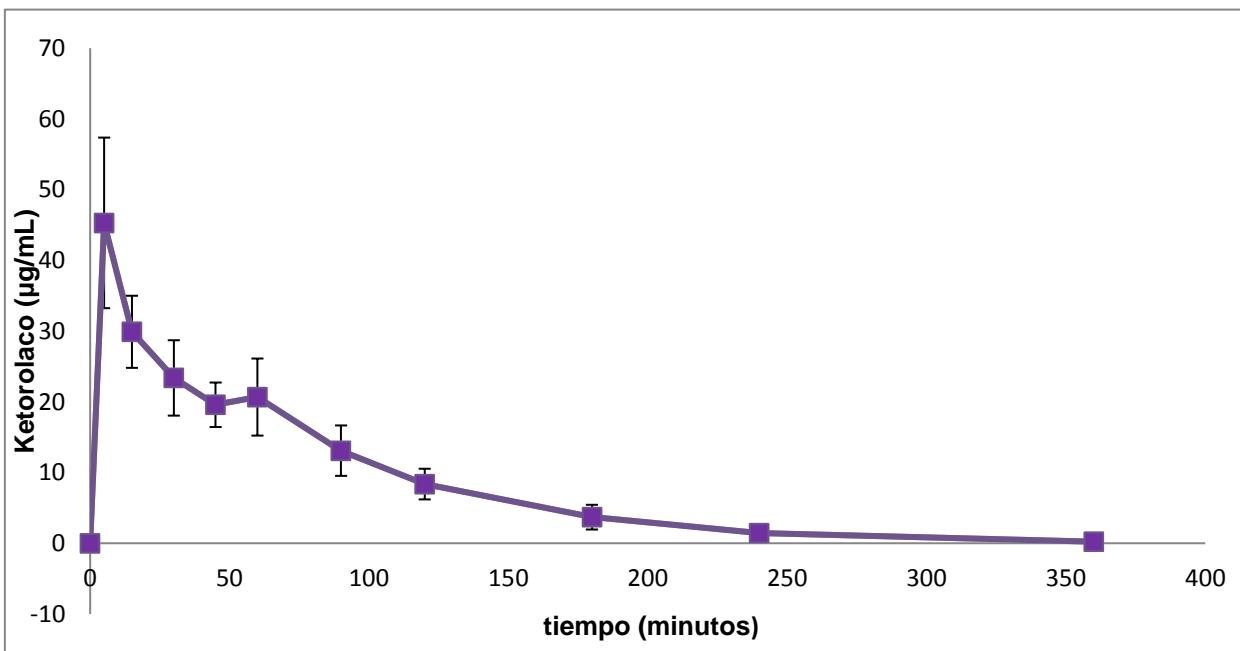


Figura 13. Perfil farmacocinético con el curso de las concentraciones plasmáticas del ketorolaco trometamina después de una administración por vía oral con una dosis de 10mg/Kg, treinta minutos después de administrar metileugenol a una dosis de 30 mg/Kg. Los datos representan la media de las 6 determinaciones \pm Desviación Estándar del grupo tratamiento.

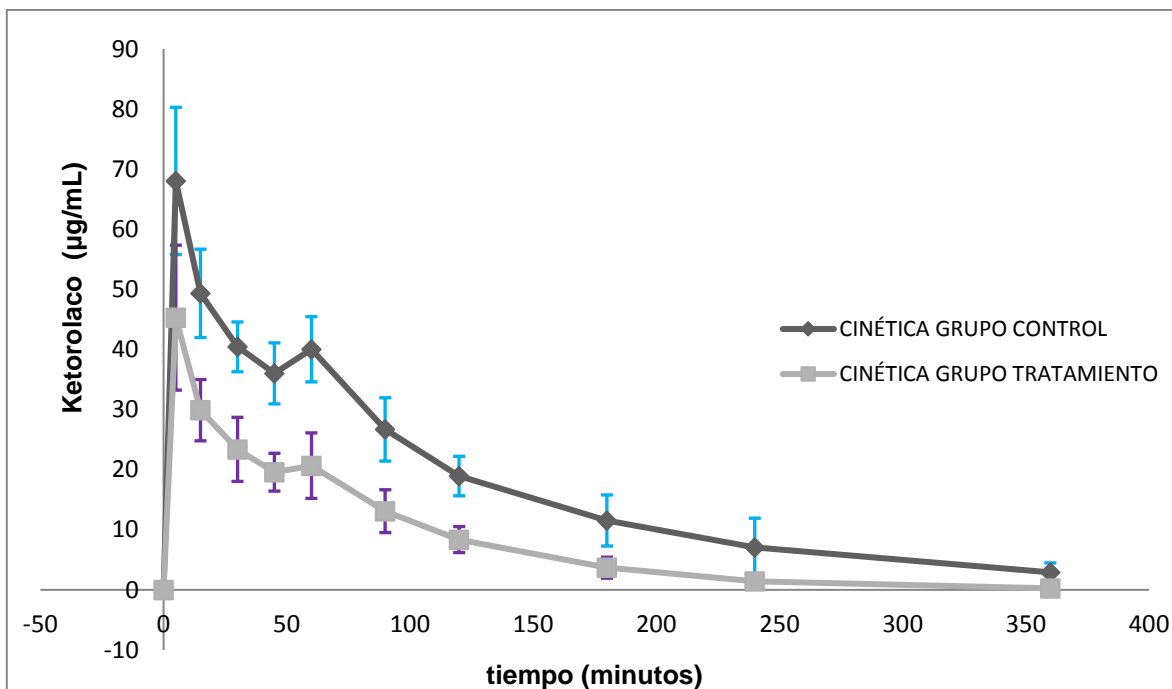


Figura 14. Comparación de los perfiles farmacocinéticos al administrar ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg con tween 80 al 0.5% como vehículo (negro) y con previa administración de metileugenol (gris). Los datos representan la media de 6 determinaciones \pm Desviación Estándar.

Parámetros	grupo control	grupo tratamiento
C_{max}	68.0422 \pm 12.2492 $\mu\text{g/mL}$	45.2944 \pm 12.0593* $\mu\text{g/mL}$
t_{max}	5 minutos	5 minutos
ABC_{0-t}	6329.9020 \pm 1164.65 $\mu\text{g mL}^{-1}$ min^{-1}	2931.554 \pm 597.9611 * $\mu\text{g mL}^{-1}$ min^{-1}
$t_{1/2}$ eliminación	83.59121 \pm 21.3919 min	50.2430 \pm 14.0608* min
$ABC_{0-\infty}$	6721.0379 \pm 1427.0893 $\mu\text{g mL}^{-1}$ min^{-1}	2989.122 \pm 634.6119* $\mu\text{g mL}^{-1}$ min^{-1}

Cuadro 10. Parámetros farmacocinéticos de ketorolaco trometamina obtenidos en el grupo control y grupo con tratamiento. Cada valor representa el promedio de 6 determinaciones de \pm la Desviación Estándar. * $p \leq 0.05$ (Anexo 11, numeral 2, inciso i).

8. DISCUSIÓN

Los métodos analíticos que se utilizan para la determinación de fármacos y sus metabolitos en muestras biológicas desempeñan un papel importante en la evaluación y la interpretación de datos de biodisponibilidad, bioequivalencia y farmacocinética.⁽⁵⁰⁾ Ante el conocimiento de que todo método analítico sufre constantemente cambios y mejoras nuestro estudio, primeramente se enfocó a reproducir de una técnica analítica por CLAR reportada previamente ⁽⁴⁸⁾ a partir de la cual, resultaron las condiciones cromatográficas reportadas en el apartado de la metodología. Bajo las condiciones descritas se logró la cuantificación del ketorolaco trometamina en plasma de rata en un rango de concentraciones de 0.1 a 10 µg/mL, Las corridas analíticas fueron de 8 minutos, donde el tiempo de retención para el ketorolaco trometamina se alcanzó a los 3.30 minutos y para el estándar interno (naproxeno sódico) a 6.35 minutos, indicando lo anterior una resolución adecuada para la separación de las respuestas.

Una vez establecido el método se procedió a validar el mismo, conforme lo indica la NOM-177-SSA1-2013.⁽⁵⁰⁾ Los cromatogramas presentados en la *figura 5 y 6*, indican que al no existir interferencias endógenas por parte de la matriz biológica que generaran señales en los tiempos de retención de las sustancias de interés, se puede inferir que el método analítico es selectivo para cuantificar ketorolaco trometamina. El método también presenta una respuesta proporcional entre la concentración y las respuestas medidas (ABC ketorolaco/ABC EI) al mostrar una linealidad y obtener un coeficiente de determinación $r^2 = 0.9999$, como puede observarse en la *figura 7*. La curva de calibración obtenida, también cumplió con el

criterio del por ciento de coeficiente de variación para los niveles de concentración, donde el porcentaje de CV para él para el límite inferior de cuantificación fue menor al 20% y en tanto para el resto de las concentraciones se encontró menor al 15%.

Los resultados de precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad (*cuadro 7 y 8*), no denotaron una dispersión alta que denote que los errores sistemáticos que pudieran estar presentes en la metodología puedan afectar de forma negativa en la cuantificación de ketorolaco en plasma de rata. Condición que resulto en %CV para las MCB, MCM, MCA y límite inferior de cuantificación menor al 15%, cumpliendo el criterio de aceptación requerido para este parámetro.

La evaluación de la estabilidad de la muestra procesada, estabilidad a corto plazo (72 h) y estabilidad a largo plazo (60 días) resguardadas bajo condiciones de congelamiento, no mostro cambios significativos en la concentración de ketorolaco trometamina en ninguna condición de estudio con respecto al valor inicial, como puede observarse en las *figuras 8 a 11*, sugiriendo que las muestras plasmáticas conteniendo ketorolaco trometamina pueden ser cuantificadas con confiabilidad siempre y cuando sean resguardadas hasta un tiempo de 60 días bajo condiciones de congelamiento.

Los resultados obtenidos en el estudio farmacocinético del ketorolaco trometamina administrado a una dosis única oral de 10 mg/Kg de peso, para el grupo control se obtuvo una C_{max} fue de 68.04 μ g/mL con un t_{max} de 5 minutos lo cual indica que la absorción fue muy rápida y que no discrepa de estudios previos que indican que la

vida media de absorción del ketorolaco trometamina es de 3.8 min.⁽⁵¹⁾ También se observa una recirculación enterohepática a los 60 minutos evento característico del ketorolaco y que no discrepa de lo reportado en estudios previos realizados en ratas con este AINE.^(23, 27)

Para el grupo tratamiento donde fue administrado el ketorolaco trometamina a una dosis similar al grupo control, concomitantemente con metileugenol (30 mg/Kg) que administrado 30 minutos antes por vía oral, se observa un perfil similar al del grupo control, pero alcanzando una C_{max} de 45.29 $\mu\text{g/mL}$ con un t_{max} a los 5 minutos indicando que la absorción sigue siendo rápida, pero en menor concentración.

Considerando que los resultados en ambos perfiles farmacocinéticos tienen un comportamiento similar al presentar una absorción rápida y una recirculación enterohepática (*figura 14*), pero con una disminución significativa del 33% y 50 % en el C_{max} y ABC para el ketorolaco trometamina en el grupo tratamiento en comparación cuando la administración fue sin el compuesto herbolario (cuadro 11), los resultados sugieren cambios en la biodisponibilidad del fármaco. Aun cuando se reporta que para ketorolaco trometamina los alimentos pueden disminuir el C_{max} , retrasar el t_{max} , pero no reducir la cantidad total absorbida.^(24, 52)

En nuestro estudio no se presenta tal situación al no observar un retraso en el t_{max} pero si una disminución en el C_{max} y ABC. Existen diferentes factores fisiológicos que influyen para que se lleven a cabo los procesos farmacocinéticos^(2,3,6,8), por lo que no se puede descartar que la disminución de la cantidad de fármaco en el torrente sanguíneo, pueda ser indicativo de la unión del fármaco con el

metileugenol, evitando que el ketorolaco trometamina llegue a torrente sanguíneo desde el tracto gastrointestinal, o bien que el metileugenol haya provocado cambios de pH que impidieran la absorción del ketorolaco trometamina, esto respaldado por el hecho que metileugenol se ha reportado como un agente gastroprotector, cuyo mecanismo pudiera implicar alguna de las vías que regulan la secreción ácida en el tracto gastrointestinal, dado que se ha reportado que en su mecanismo de gastroprotección no están involucrados el óxido nítrico, grupos sulfhídricos o prostaglandinas.⁽³¹⁾

Una vez que el fármaco se encuentra en el compartimento sanguíneo necesita ser transportado para su posterior penetración a los tejidos por lo que la etapa de distribución es muy importante, en el caso del ketorolaco trometamina se tiene una gran afinidad por las proteínas plasmáticas de casi 99% en especial por la albumina y en el caso del metileugenol al tener carácter básico es más afín a las glucoproteínas, de esto depende que el fármaco llegue a tejidos y órganos, por lo tanto se descarta la disminución del fármaco en el torrente sanguíneo sea por la competición por el sitio de unión en el proceso de distribución. ^(19, 53)

El metabolismo es el proceso farmacocinético que evidencia la existencia de reacciones de fase I y fase II para transformar el fármaco en un compuesto más hidrosoluble y fácil de eliminar. El ketorolaco trometamina es metabolizado por las isoenzimas del citocromo P450: CYP 2C8 y CYP 2C9 y después sufre una oxidación para formar p-hidroxi- ketorolaco para dar lugar a una conjugación con ácido glucurónico.⁽²⁰⁾ Por otro lado el metileugenol se metaboliza por las isoformas del citocromo P450: CYP 2E y CYP 2C6, que después sufre una desmetilación y una oxidación para dar origen a su metabolito secundario para-hidroxi-

metileugenol.⁽³⁴⁾ Al comparar las vías metabólicas de ambos compuestos, se puede observar que estas son diferentes para cada compuesto, por tanto, la posibilidad de que se presente una competición por parte del metileugenol que impidiera el metabolismo del ketorolaco trometamina es mínima. Esta sugerencia es acorde con los perfiles farmacocinéticos obtenidos, donde se observa que en ambos grupos se presenta la recirculación enterohepática, aunque en menor medida en el grupo tratado con metileugenol, por tener una menor biodisponibilidad del fármaco.

Una vez que los fármacos han sido biotransformados se dirigen hacia los riñones específicamente al túbulo que tiene tres funciones principales que son las de filtrar, reabsorber y depurar sustancias de acuerdo a sus características como el pH y la liposolubilidad. El metileugenol se elimina como su metabolito secundario para-hidroxi-metileugenol que tiene un pka básico⁽¹⁹⁾ por lo que al llegar el ketorolaco trometamina⁽⁴⁸⁾ al túbulo proximal evitando que exista una reabsorción de este, por lo cual al tener un medio básico acelera la excreción del fármaco disminuyendo su estancia y efecto en el organismo.⁽⁸⁾

La interacción fármaco-metileugenol mostrada en este estudio por la modificación en la biodisponibilidad del ketorolaco se torna relevante ante la evidencia de reportes de que toda combinación de plantas medicinales o compuestos provenientes de éstas con actividad farmacológica eventualmente puede terminar en una ineficacia clínica,^(41,43) y ante el hecho de que se ha reportado que existe una relación directa entre los niveles sanguíneos del ketorolaco con su efecto analgésico.⁽²⁶⁾

8. CONCLUSIONES.

- Se establecieron las condiciones óptimas para la cuantificación de ketorolaco trometamina en plasma de rata utilizando Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
- Se logró la confiabilidad del método conforme a los criterios establecido en la NOM-177-SSA1-2013.
- La biodisponibilidad oral de ketorolaco trometamina disminuye en presencia de metileugenol.

9. PERSPECTIVAS

- Ante la modificación de la biodisponibilidad del AINE: ketorolaco trometamina, por metileugenol, es conveniente establecer si la interacción observada se presenta con otros AINES.

10. REFERENCIAS

1. Lares I. Farmacocinética y Farmacogenómica. México: Editorial Prado; 2005.
2. Armijo J. Absorción, distribución y eliminación de los fármacos. Farmacología humana. Masson, SA. Barcelona; 1997, p. 47-72.
3. Armenta Y., Ocampo A. Factores que afectan la absorción de los medicamentos en niños. Rev Mex Pediatría. 2005; 72 (3).
4. Brunton L. Goodman&Gillman's. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ªed. México: Mc. Graw Hill Interamericana Editores; 2011.
5. Flores F., Castañeda G., Medina R. Biodisponibilidad y Bioequivalencia en los medicamentos genéricos. Editorial Asclepius XXI; 2002.
6. Lorenzo P., Moreno A., Lizasoain I., Leza J., Moro M., Portolés A. Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2008.
7. Kane A., Kumar V. Patología ambiental y nutricional. Cap. 9 en: patología estructural y funcional. Ed. Saunders. 7ª. Ed. España, 2005, p. 421-422.
8. Ruiz M., Fernández A. Fundamentos de farmacología y clínica. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2013.
9. Girona L., Introducción a las interacciones farmacológicas:http://www.sefh.es/bibliotecavirtual/interacc2014/InteraccionesFarmacologicas_pr.pdf
10. Botana L., Farmacología veterinaria: fundamentos y aplicaciones terapéuticas. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2016.

11. Terán E., Miranda JM., Galván F. Riesgo cardiovascular derivado de los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 2008; 46 (3).
12. Farmacovigilancia y Farmacia comunitaria. Boletín de farmacovigilancia, nº6, Octubre 2015.
13. Gómez N. Se automedica 78% de los mexicanos. EL UNIVERSAL. 29 de julio del 2013; nación. Disponible: <http://archivo.eluniversal.com.mx/nacion-mexico/2013/se-automedica-78-de-mexicanos-938924.html>
14. Herrera L. Biota et Scientia: Biología y Ciencia [Internet]. Panamá: Biota et Scientia. 2016 [consulta el 02 de febrero del 2016] Disponible: <https://biotaetscientia.wordpress.com/>.
15. Wallace J., Devchand P. “Emerging roles for cyclooxygenase-2 in gastrointestinal mucosal defense”. Br J Pharmacol. 2005; 145 (3):275-82.
16. Takeuchi K., Tanaka A., Kato S., Amagase K., Satoh H., Roles of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. Clinica Chimica Acta. 2010; 411: 459–466.
17. Rafaniello C., Ferrajolo C., Giuseppa-Sullo M., Sessa M., Sportiello L., Balzano A., et al. Risk of gastrointestinal complications associated to NSAIDs, low-dose aspirin and their combinations: Results of a pharmacovigilance reporting system. Pharmacological Research. 2016.104, 108-114.
18. Selección de un AINE: entre el riesgo cardiovascular y el gastrointestinal. Liburukia; 2008, 16 (4).

19. López M., De Andres J., Grau F. Ketorolaco: Indicaciones terapéuticas y vías alternativas a las contempladas en ficha farmacológica. Rev. Soc. Esp. Dolor. 1998; 5(2): 159-165.
20. Sinha V., Kumar R., Singh G. Ketorolac tromethamine formulations: an overview. Expert Opin Drug Deliv. 2009; 6(9): 961-75.
21. Facultad de Medicina UNAM.
Recuperado:http://www.facmed.unam.mx/catalogo/imprime_todos.php?id_muestra=200306137
22. Vadivelu N., Gowda AM., Urman RD., Jolly S., Kodumudi V., Maria M., Taylor R., et al. Ketorolac Tromethamine-Routes and Clinical Implications. Review Article. 2015; 15(1): 175-193.
23. Mroszczak E., Lee F., Combs D., Sarnquist F., Huang B-L. Wu A., et al. Ketorolac tromethamine Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Pharmacokinetics in animals and humans. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1987; 15(5): 21-26.
24. Mroszczak E., Jung D., Yee J., Bynum L., Sevelius H., Massey I. Ketorolaco trometamina farmacocinética y metabolismo después de una administración intravenosa, intramuscular y oral en humanos y animales. Farmacoterapia. 1990; 10(6): 33S-39S.
25. Gordon S., Teck L., James P. Ketorolac tromethamine bioavailability via tablet, capsule, and oral solution dosage forms. Drug development and industrial pharmacy. 1995; 21(10): 1143-1155.
26. Granados V., Muñoz FJ., Hong E., Flores FJ. Relationship between Pharmacokinetics and the Analgesic Effect of Ketorolac in the Rat.

- The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1994; 272(1):352-356.
27. Huerta E., Analgesia postoperatoria con ketorolaco vía intravenosa versus morfina vía peridural en cirugía de abdomen [tesis]. Veracruz. Universidad Veracruzana; Febrero 2010.
28. Gastropatía por antiinflamatorios no esteroideos. Boletín de la Sociedad Peruana de Medicina Interna, Vol.10, N°3.1997.
29. Hall V., Murillo N., Rocha M., Rodríguez E., antiinflamatorios no esteroideos (AINE's). Centro Nacional de información de Medicamentos. Junio, 2001.
30. Arrieta J., "Participación del óxido nítrico, las prostaglandinas, las neuronas sensibles a capsaicina y los grupos sulfhídricos en el mecanismo de acción gastroprotector de los metabolitos activos de *Amphi pterigium adstringens* y de los productos naturales Estigmasterol, Astragalósido IV y β -Lupeol" [Tesis]. México D.F., Instituto Politécnico Nacional; 2006.
31. Sánchez ME., Cruz L., Arrieta D., Olivares IM., Gastroprotective Activity of Methyleugenol from *Peperomia hispidula* on Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. Indian Journal of Pharmacology of medicinal plants and natural products. 2015; 11 (7): 697-704.
32. Subeishi A., Spenkelnik B., Punt A., Boersma MG., van Bladeren PJ., Rietjens I. Physiologically based kinetic modeling of bioactivation and detoxification of the alkenylbenzene methyleugenol in human as compared with rat. Toxicology and Applied Pharmacology. 2012; 260: 271–284.

33. Robison, S.H. and D.B. Barr. Use of biomonitoring data to evaluate methyl eugenol exposure. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114: 1797-1801.
34. Ding W., Levy DD, Bishop ME, Lascelles E, Cook L., *et al.* Methyl eugenol genotoxicity in the Fischer 344 rat using the comet assay and pathway-focused gene expression profiling. *Toxicol. Sci.* 2011; 123: 103-112.
35. Chateauneuf R., Benavides M. *Plantas medicinales y medicina natural.* Editorial Ocho libros; 2014.
36. Waddell W.J., Ladrones N.H., Carmichael PL. Correlation of tumors with DNA adducts from methyl eugenol and tamoxifen in rats. *Toxicol. Sci.* 2004; 79: 38-40.
37. Schechter A., Lucier GW., Cunningham ML., Abdo KM., Blumenthal G., Silver AG., *et al.* Human Consumption of Methyl eugenol and Its Elimination from Serum. *Environmental health perspectives.* 2004; 112(6): 678.
38. Tomás E., Farriols A., Cantarell C., Juárez J. Interacciones entre plantas medicinales y fármacos inmunodepresores. *Medicina clínica.* 2006; 127(5): 177-184.
39. Moreale J., González T., Giménez A., Alfonso M. Evaluación de las interacciones farmacológicas de las hierbas medicinales en Uruguay. *Biomedicina.* 2012; 7(3), 6-21.
40. Morales F., Estañ L. Interacciones medicamentosas. Nuevos aspectos. *Medicina clínica.* 2006; 127(7): 269-275.
41. Caterina P., Antonello P., Chiara G., Giacomo L., Antonio S., Giovambattista S., *et al.* Pharmacokinetic drug-drug interaction and their

- implication in clinical management. *Journal of Research in Medical Sciences*. 2013; 18 :600-609.
42. Obodozie, O.O. Pharmacokinetics and Drug Interactions of Herbal Medicines: A Missing Critical Step in the Phytomedicine/drug Development Process. Nigeria; Readings in advanced pharmacokinetics-Theory, Methods and Applications. 2012.
43. Sparreboom A., Cox MC., Acharya MR., et al. Herbal Remedies in the United States: Potential Adverse Interactions with Anticancer Agents. *J Clin Oncology*. 2004; 22(24), 89–2503.
44. Montané E., López A., Costa J. Características y diseño de los estudios que evalúan interacciones farmacológicas. *Med Clin*. 2013; 141(2): 82-86.
45. agregar
46. Izzo A., Di Carlo G., Borrelli f., Edzard E. Cardiovascular pharmacotherapy and herbal medicines: the risk of drug interaction. *International journal of cardiology*. 2005; 98(1), 1-14.
47. PLA, Neus Rams. "El uso de plantas medicinales." (2003); 31-34.
48. Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation: DRAFT GUIDANCE.
49. Yost R.W., Ettre L.S., Conlon R.D. Introducción a la cromatografía líquida práctica. Pekin-Elmer. U.S.A., 1980.
50. NOM, N. O. M. 177-SSA1-2013, 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. México: Diario Oficial de la Federación, 7.

51. Vladislavovna S., Torres L., Reyes H., Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos en la terapia del dolor. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2006; 44 (6): 565-572.
52. Jallad N., Garg D., Martínez J., Mroszczak E., Weidler D. Farmacocinética del ketorolaco trometamina en jóvenes y ancianos. Clinical Pharmacology. 1990; 30(1): 76-81.
53. Fernández P., Velázquez. Farmacología y Clínica. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2008.

11. ANEXO.

1. RESULTADOS DE VALIDACIÓN.

a) DATOS PARA LA CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Relación de áreas ABC ketorolaco/ABC EI			Promedio de áreas	Desv. Est.	% C.V
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
Blanco	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.1	0.1372	0.1693	0.1453	0.1506	0.0167	11.0761
0.3	0.4390	0.4677	0.4426	0.4498	0.0156	3.4780
1	1.4884	1.4526	1.4234	1.4548	0.0325	2.2363
3	4.4959	4.4345	4.3170	4.4158	0.0909	2.0576
5	7.2675	7.5174	7.0543	7.2797	0.2318	3.1841
10	14.6806	14.5974	14.2466	14.5082	0.2303	1.5875
m	1.4658	1.4629	1.4221			
b	0.0119	0.0431	0.0066			
r²	0.9999	0.9998	0.9999			

Cuadro 11. Se muestran los valores de las respuestas (área bajo la curva) individuales que son directamente proporcionales a cada punto de concentración de la curva y el promedio general para cada punto de la curva de calibración más su desviación estándar y su porcentaje de coeficiente de variación.

b) CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES OBTENIDAS PARA LAS MUESTRAS SOMETIDAS A ESTABILIDAD A LARGO PLAZO.

	<i>Tiempo (Días)</i>	0	5	15	30	45	60
<i>tubo</i>	<i>concentración (µg/mL)</i>	Concentración obtenida(µg/mL)					
1	0.2 (MCB)	0.2068	0.1847	0.2239	0.1785	0.1975	0.1858
2	0.2 (MCB)	0.1830	0.1903	0.2175	0.1706	0.1919	0.1975
3	0.2 (MCB)	0.2105	0.1847	0.2191	0.1760	0.1969	0.1795
4	7.5 (MCA)	6.5170	7.4370	6.8333	6.7637	6.6781	6.8277
5	7.5 (MCA)	6.6331	7.9932	6.7627	6.6489	6.9529	7.0506
6	7.5 (MCA)	6.7067	8.1440	6.8209	6.6565	7.4988	6.9971
Promedio	0.2 (MCB)	0.2001	0.1866	0.2202	0.1751	0.1954	0.1876
Desviación Estándar		0.0149	0.0032	0.0033	0.0041	0.0031	0.0091
Promedio	7.5 (MCA)	6.6189	7.8580	6.8056	6.6897	7.0433	6.9585
Desviación Estándar		0.0956	0.3724	0.0377	0.0642	0.4178	0.1164

Cuadro 12. Concentraciones obtenidas en la estabilidad de la muestra a largo plazo, de las MCB y MCA por triplicado.

a) CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES OBTENIDAS PARA LA ESTABILIDAD DE LA MUESTRA PROCESADA A CORTO PLAZO.

	<i>Tiempo (horas)</i>	0	24	48	72
<i>tubo</i>		concentración (µg/mL)			
1	0.2	0.1812	0.2072	0.2109	0.1923
2	0.2	0.1839	0.2117	0.1905	0.1952
3	0.2	0.1987	0.2161	0.2170	0.1803
4	7.5	6.8102	7.3251	6.9789	7.8877
5	7.5	6.9696	7.3800	7.0429	7.8479
6	7.5	7.0662	7.0905	6.9145	7.9692
Promedio	0.2	0.1879	0.2117	0.2061	0.1893
Desviación Estándar		0.0094	0.0044	0.0139	0.0079
Promedio	7.5	6.9487	7.2652	6.9788	7.9016
Desviación Estándar		0.1292	0.1538	0.0642	0.0618

Cuadro 13. Concentraciones obtenidas en la estabilidad de la muestra procesada a largo plazo, de las MCB y MCA por triplicado.

2. RESULTADOS DEL ESTUDIO FARMACOCINÉTICO.

b) CONCENTRACIONES OBTENIDAS PARA CADA CINÉTICA DEL GRUPO CONTROL.

CINÉTICAS								
Tiempo (min)	CONC. EXPER.($\mu\text{g}/\text{mL}$)						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	76.4734	84.1820	61.0363	56.9333	54.2003	75.4282	68.0423	12.2492
15	49.8204	58.8481	57.1071	40.9854	43.0718	46.1359	49.3281	7.3528
30	39.7577	45.7947	43.7311	38.0301	34.1523	41.1280	40.4323	4.1421
45	37.0503	37.9093	43.9352	34.0495	28.5407	34.6079	36.0155	5.0813
60	39.5301	46.3907	44.5990	31.9898	35.8339	41.8522	40.0326	5.4251
90	19.4831	31.9896	30.2401	30.5516	21.1098	26.8122	26.6977	5.2668
120	17.5218	19.9264	21.9173	23.2101	15.9764	15.0543	18.9344	3.2852
180	8.3482	11.3193	17.1745	16.3928	8.1176	7.9074	11.5433	4.2531
240	3.1960	7.8384	11.3838	14.1059	2.7664	2.9818	7.0454	4.8773
360	1.7727	2.9559	4.6392	4.9488	1.2404	2.0301	2.9312	1.5493

Cuadro 14. Resultados de las concentraciones obtenidas para cada cinética, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo control, con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg, n=6.

c) CONCENTRACIONES OBTENIDAS PARA CADA CINÉTICA DEL GRUPO TRATAMIENTO.

CINÉTICAS								
Tiempo (min)	CONC. EXPER.($\mu\text{g}/\text{mL}$)						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	53.0772	31.7293	29.1831	54.5129	57.0013	46.2624	45.2944	12.0592
15	26.5639	30.8218	21.6137	35.9205	31.1584	33.2837	29.8937	5.0975
30	19.5410	22.8911	15.0473	28.9212	25.9611	27.8833	23.3742	5.3302
45	20.9753	21.1432	13.6128	21.5511	21.6780	18.5041	19.5774	3.1446
60	20.6157	25.6857	13.0782	27.9621	19.2181	17.4500	20.6683	5.4488
90	10.8143	13.6227	11.0712	19.3441	9.4185	14.2813	13.0920	3.5651
120	7.9088	10.2896	5.7631	9.5149	5.9675	10.7581	8.3670	2.1670
180	3.1668	5.0729	1.6960	4.1332	1.9552	6.1134	3.6896	1.7459
240	0.9593	2.1295	0.7822	1.6490	0.2830	2.8719	1.4458	0.9562
360	-0.2776	0.3947	0.1955	-0.0405	0.0702	1.1101	0.2421	0.4813

Cuadro 15. Resultados de las concentraciones obtenidas para cada cinética, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo tratamiento con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol a 30 mg/Kg, n=6.

d) CONCENTRACIONES GRAFICADAS PARA CADA CINÉTICA DEL GRUPO TRATAMIENTO.

Tiempo (minutos)	Promedio de las concentraciones Grupo control ($\mu\text{g/mL}$)	Desv. Est.	Promedio de las concentraciones Grupo tratamiento ($\mu\text{g/mL}$)	Desv. Est.
0	0	0		12.0592
5	68.0423	12.2492	45.294400	5.0975
15	49.3281	7.3528	29.8937	5.3302
30	40.4323	4.1421	23.3742	3.1446
45	36.0155	5.0813	19.5774	5.4488
60	40.0326	5.4251	20.6683	3.5651
90	26.6977	5.2668	13.092	2.1670
120	18.9344	3.2852	8.367	1.7459
180	11.5433	4.2531	3.6896	0.9562
240	7.0454	4.8773	1.4458	0.4813
360	2.9312	1.5493	0.2421	12.0592

Cuadro 16. Concentraciones promedio de cada punto de muestreo \pm su desviación estándar, para el grupo control y el grupo tratamiento.

3. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS.

e) **ÁREA BAJO LA CURVA (ABC).**

CINÉTICAS DEL GRUPO CONTROL								
Tiempo (min)	Área bajo la curva (ABC) min ⁻¹ * µg/mL						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
0	0	0	0	0	0	0	0	
5	191.1835	210.4550	152.5908	142.3333	135.5008	188.5705	170.1058	
15	631.4690	715.1505	590.7170	489.5935	486.3605	607.8205	586.8520	
30	671.8358	784.8210	756.2865	592.6163	579.1808	654.4793	673.2030	
45	576.0600	627.7800	657.4973	540.5970	470.1975	568.0193	573.3585	
60	574.3530	632.2500	664.0065	495.2948	482.8095	573.4508	570.3608	
90	885.1980	1175.7045	1122.5865	938.1210	854.1555	1029.9660	1000.9545	
120	555.0735	778.7400	782.3610	806.4255	556.2930	627.9975	684.4815	
180	776.1000	937.3710	1172.7540	1188.0870	722.8200	688.8510	914.3310	
240	346.3260	574.7310	856.7490	914.9610	326.5200	326.6760	557.6610	
360	298.1220	647.6580	961.3800	1143.2820	240.4080	300.7140	598.5960	
ABC_{0-t}	5505.721	7084.661	7716.929	7251.311	4854.246	5566.545	6721.0379	1427.0893

Cuadro 17. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) obtenidas para cada punto del perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar para el grupo control, con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg, n=6.

CINÉTICAS DEL GRUPO TRATAMIENTO								
Tiempo (min)	Área bajo la curva (ABC) $\text{min}^{-1} * \mu\text{g/mL}$						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
0	0	0	0	0	0	0	0	
5	132.6943	79.3233	72.9578	136.2823	142.5033	115.6560	113.2360	
15	398.2081	312.7555	253.9840	452.1670	440.7985	397.7305	375.9405	
30	345.7868	402.8468	274.9575	486.3128	428.3963	458.7525	399.5093	
45	303.8723	330.2573	214.9508	378.5423	357.2933	347.9055	322.1370	
60	311.9325	351.2168	200.1825	371.3490	306.7208	269.6558	301.8428	
90	471.4500	589.6260	362.2410	709.5930	429.5490	475.9695	506.4045	
120	280.8465	358.6845	252.5145	432.8850	230.7900	375.5910	321.8850	
180	332.2680	460.8750	223.7730	409.4430	237.6810	506.1450	361.6980	
240	123.7830	216.0720	74.3460	173.4660	67.1460	269.5590	154.0620	
360	0.0000	151.4520	58.6620	0.0000	0.0000	238.9200	101.2740	
ABC _{0-t}	2700.841	3253.109	1988.569	3550.040	2640.878	3455.885	2931.554	5979611

Cuadro 18. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) obtenidas para cada punto del perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo tratamiento con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol a 30 mg/Kg, n=6.

f) ÁREA BAJO LA CURVA (ABC) TOTAL.

CINÉTICAS DEL GRUPO CONTROL								
Tiempo (min)	Área bajo la curva (ABC) min⁻¹* µg/mL						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
ABC t-∞	165.9480	378.2553	650.3428	828.9486	114.1597	193.1585	388.4688	
ABC 0-t	5505.721	7084.661	7716.929	7251.311	4854.246	5566.545	6721.0379	
ABC 0-∞	5671.6688	7462.9163	8352.3126	8099.2734	4969.2245	5765.6724	6721.0379	1427.0893

Cuadro 19. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) total obtenidas para cada perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar para el grupo control, con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg, n=6.

CINÉTICAS DEL GRUPO TRATAMIENTO								
Tiempo (min)	Área bajo la curva (ABC) min⁻¹* µg/mL						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
ABC t-∞	54.5696	28.7798	13.7699	112.9007	12.5470	116.8482	56.56920	-
ABC 0-t	2700.841	3253.109	1988.569	3550.040	2640.878	3455.885	2931.554	-
ABC 0-∞	2759.177	3280.971	2004.944	3662.941	2653.903	3572.733	2989.122	634.611

Cuadro 20. Resultados de las áreas bajo la curva (ABC) total obtenidas para cada perfil farmacocinético, así como también el promedio y su desviación estándar, para el grupo tratamiento con una administración vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol a 30 mg/Kg, n=6.

g) CONCENTRACIÓN MÁXIMA (C_{max}).

CINÉTICAS								
Tiempo (min)	Concentración máxima (C_{max}), ($\mu\text{g/mL}$)						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
Grupo control	76.4734	84.182	61.0363	56.9333	54.2003	75.4282	68.04225	12.2492
Grupo tratamiento	53.0777	31.7293	29.1831	54.5129	57.0013	46.2624	45.2944	12.0593

Cuadro 21 . Resultados de la concentración máxima obtenida en cada perfil farmacocinético para el grupo control con una administración por vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y el grupo tratamiento con una administración por vía oral concomitante con ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol (30 mg/Kg).

h) $t_{1/2}$ ELIMINACIÓN

CINÉTICAS								
Tiempo (min)	$t_{1/2}$ eliminación (min)						PROMEDIO	Des. Est.
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Rata 6		
Grupo control	66.9052	88.6994	94.9333	118.7687	64.2514	67.9891	83.59121	21.3919
Grupo tratamiento	42.15067	48.92933	58.05935	47.4571	31.90166	72.96011	50.2430	14.0608

Cuadro 22 . Resultados del $t_{1/2}$ eliminación (min) para el grupo control con una administración por vía oral de ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y el grupo tratamiento con una administración por vía oral concomitante con ketorolaco trometamina a una dosis de 10 mg/Kg y metileugenol (30 mg/Kg).

i) RESULTADO AL APLICAR EL TRATAMIENTO ESTADÍSTICO UTILIZANDO UNA T-STUDENT.

t test		
1	Table Analyzed	CMAX
2	Column A	Control
3	vs	vs
4	Column B	Tratamiento
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0088
8	P value summary	**
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=3.242 df=10
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	68.04 ± 5.001 N=6
15	Mean ± SEM of column B	45.29 ± 4.923 N=6
16	Difference between means	22.75 ± 7.017
17	95% confidence interval	7.113 to 38.38
18	R squared	0.5124
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	1.032, 5, 5
22	P value	0.9735
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Figura 15. Valores de Cmax para el grupo control y el grupo tratamiento de ketorolaco a una dosis de 10 mg/Kg. Se observa como a comparación del grupo control (ketorolaco trometamina 10 mg/Kg) presenta mayor variación. Los datos expresan como el grupo tratamiento * $p \leq 0.05$ vs grupo control; $n=6$ ratas por grupo.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	ABC total grupo control
3	vs	vs
4	Column B	ABC total grupo tratamiento
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0002
8	P value summary	***
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=5.823 df=10
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	6713 ± 581.5 N=6
15	Mean ± SEM of column B	3001 ± 261.3 N=6
16	Difference between means	3712 ± 637.5
17	95% confidence interval	2292 to 5132
18	R squared	0.7722
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	4.953, 5, 5
22	P value	0.1038
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Figura 16. Se observa que el grupo control existe una mayor variación entre los resultados obtenidos de ABC en cada rata, mientras que en el grupo tratamiento en donde se administró ketorolaco trometamina 10mg/Kg con el compuesto herbolario metileugenol 30mg/Kg se tiene menor dispersión en cuanto a los resultados obtenidos. Entonces se obtuvo para el grupo control $*p \leq 0.05$ vs el grupo tratamiento.

t test		
1	Table Analyzed	Data 1
2	Column A	grupo control
3	vs	vs
4	Column B	grupo tratamiento
5		
6	Unpaired t test	
7	P value	0.0096
8	P value summary	**
9	Are means signif. different? (P < 0.05)	Yes
10	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
11	t, df	t=3.191 df=10
12		
13	How big is the difference?	
14	Mean ± SEM of column A	83.59 ± 8.733 N=6
15	Mean ± SEM of column B	50.24 ± 5.740 N=6
16	Difference between means	33.35 ± 10.45
17	95% confidence interval	10.06 to 56.63
18	R squared	0.5045
19		
20	F test to compare variances	
21	F,DFn, Dfd	2.315, 5, 5
22	P value	0.3784
23	P value summary	ns
24	Are variances significantly different?	No

Figura 17. Se observa que el grupo control existe una mayor variación entre los resultados obtenidos de tiempo de vida media ($t_{1/2}$) en cada rata, mientras que en el grupo tratamiento en donde se administró ketorolaco trometamina 10mg/Kg con el compuesto herbolario metileugenol 30mg/Kg se tiene menor dispersión en cuanto a los resultados obtenidos. Entonces se obtuvo para el grupo control $*p \leq 0.05$ vs el grupo tratamiento.

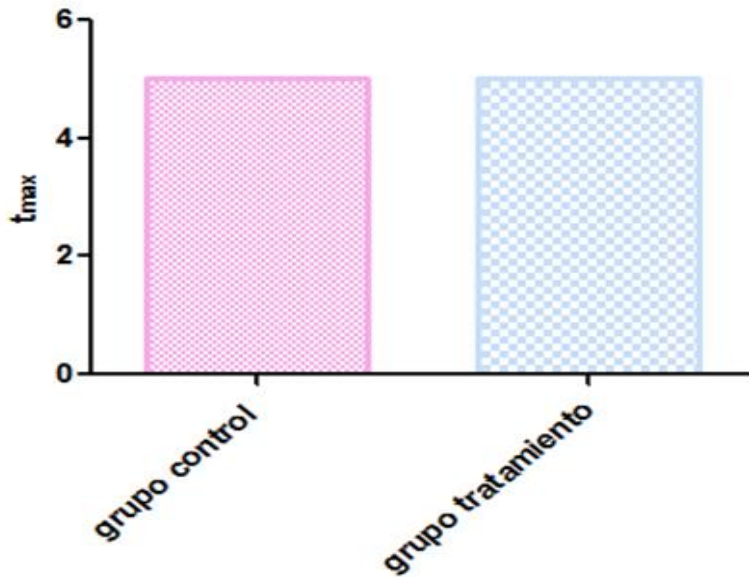


Figura 18. Se observa que en el grupo tratamiento no existe diferencia alguna con respecto al grupo control, por lo tanto no hay variación en los resultados obtenidos de t_{max} en cada rata.