

00563

2

2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE QUIMICA**

**ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE FORMULACIONES
DE SUPOSITORIOS DE NAPROXEN Y CORRELACION
"IN VIVO" - "IN VITRO"**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRO EN FARMACIA
(Biofarmacia)**

**P R E S E N T A:
Q. F. B. JOSE SALVADOR NAMUR MONTALVO**

México, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1987



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.

RESUMEN

Se redujo la cantidad de excipientes de una formulación original de supositorios de Naproxén, y se desarrollaron otras formulaciones de acuerdo a las características físicas, químicas y fisicoquímicas de el fármaco y los vehículos.

Ocho voluntarios sanos participaron en el estudio de bioequivalencia siguiendo un diseño cuadrado latino. Diferentes formulaciones fueron utilizadas. Tres de ellas fueron nuevas formulaciones y se compararon contra una de referencia. Las muestras sanguíneas fueron obtenidas a las 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de administrado el supositorio. El Naproxén fue cuantificado utilizando un método de HPLC en fase inversa.

Se obtuvieron los siguientes parámetros farmacocinéticos: el área bajo la curva hasta las 4 horas después de administrado el supositorio, área bajo la curva total y el tiempo en que la concentración plasmática máxima fue alcanzada. Finalmente se hizo un análisis estadístico de los datos. Los resultados indican que las formulaciones son equivalentes.

A B S T R A C T

The amount of the excipient was reduced in an original formulation of Naproxen suppositories, and other formulations were developed according to the physical, chemical and physicochemical characteristics of the drug and its vehicle.

Eight healthy volunteers participated in the bioequivalence study using a Latin Square Design. Different formulations were used. Three of them were new formulations developed which were tested against the reference existing formulation. Blood samples were obtained at 0, .5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 8, 12, 24 and 48 hours after the suppository was administered. Naproxen was assayed using an HPLC reverse phase method.

The pharmacokinetics parameters that were obtained are the following: The area under the curve up to 4 hours after the suppository was administered, the area under the total curve and the time when the maximum concentration was reached. Finally, the statistical analysis was made. The results show that the formulations are equivalent.

INDICE GENERAL

	Pág.
1 INTRODUCCION	1
2 GENERALIDADES	
2.1 Propiedades fisicoquímicas	3
2.2 Aspectos farmacodinámicos del naproxén	4
2.3 Farmacocinética del naproxén	9
2.4 Formas farmacéuticas del naproxén	19
2.5 Métodos analíticos	27
3 PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 Estudio de reformulación	29
3.2 Estudio "in vivo"	33
4 RESULTADOS	
4.1 Estudio de reformulación	40
4.2 Estudio "in vivo"	48
4.3 Análisis estadístico	55
5 DISCUSION DE RESULTADOS	
5.1 Estudio de reformulación	58
5.2 Selección de las formulaciones	60
5.3 Estudio "in vivo"	61
5.4 Análisis estadístico	63
5.5 Correlación "in vivo"- "in vitro"	65
6 CONCLUSIONES	66
APENDICES	
apéndice 1. Tablas de concentración plasmática de cada voluntario a diferentes tiempos	67

	Pág.
apéndice 2. Curvas de concentración plasmática vs tiempo de cada voluntario	81
apéndice 3. Protocolo entregado a los voluntarios del estudio de bioequivalencia	95
apéndice 4. Hoja de consentimiento para participar en el estudio de bioequivalencia	98
BIBLIOGRAFIA	100

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA	Pág.
1 . Potencias molares relativas para la inhibición del 50 % de la síntesis de la PGE ₂	8
2 . Posibles maneras de estabilizar el tiempo de licuefacción de supositorios	24
3 . Temperaturas de fusión de supositorios con diferentes excipientes	41
4 . Tiempo de licuefacción de supositorios con diferentes excipientes (en minutos)	41
5 . Temperaturas de fusión de supositorios con diferentes (° C) a los 4 días de almacenamiento a 0° C	42
6 . Tiempo de licuefacción de supositorios con diferentes excipientes (en minutos) a los 4 días de almacenamiento a 0° C	42
7 . Temperaturas de fusión de supositorios <u>cl</u> ados a 0° y 45° C durante quince días (en ° C)	43
8 . Tiempos de licuefacción de supositorios <u>cl</u> ados a 0° y 45° C durante quince días (en minutos)	43
9 . Valores promedio de concentración plasmática de naproxén	49
10 . Parámetros farmacocinéticos del naproxén	51

TABLA

Pág.

11 . Areas bajo la curva del estudio de bioequivalencia	53
12 . Análisis de varianza: T_{max}	56
13 . Análisis de varianza: ABC_4	56
14 . Análisis de varianza: ABC_{48}	57

FIGURA

Pág.

1 . Niveles plasmáticos de naproxén como función de la dosis inicial y el tiempo	10
2 . El efecto del incremento de dosis en el área bajo la curva	11
3 . Incremento en el porcentaje de naproxén libre conforme aumenta la concentración	13
4 . Metabolismo del naproxén	15
5 . Excreción urinaria de naproxén al incrementarse la concentración plasmática	16
6 . Metodología analítica	36
7 . Temperatura de fusión de supositorios	44
8 . Tiempo de licuefacción de supositorios	44
9 . Perfiles de disolución de supositorios con diferentes excipientes	46
10 . Perfiles de disolución de las formulaciones utilizadas en el estudio de bioequivalencia	47

FIGURA

Pág.

11 . Curvas promedio de las formulaciones del
estudio de bioequivalencia

50

1 INTRODUCCION.

El naproxén es un analgésico, antipirético y antiinflamatorio no esterooidal usado ampliamente en la práctica médica. Es poco hidrosoluble y extensamente metabolizable (90 %), de aquí la necesidad de realizar estudios de biodisponibilidad para toda presentación desarrollada.

El naproxén se utiliza principalmente en formulaciones orales, aunque ha sido demostrado que los supositorios de naproxén pueden ser una buena opción terapéutica (54).

Actualmente existe en México una sola presentación farmacéutica de naproxén en forma de supositorio, la cual pesa dos gramos. En un intento por bajar el costo de la formulación, este trabajo pretende reducir la proporción de excipientes sin disminuir la calidad del medicamento.

Los excipientes utilizados son triglicéridos semisintéticos por las ventajas que presentan en relación a la manteca de cacao (1), especialmente mayor estabilidad y prácticamente la eliminación del problema de sobrefusión (formación de polimorfos metaestables cuando se funden los excipientes a una temperatura mayor a determinado valor).

Para asegurar la calidad de estos supositorios es necesario hacerles un estudio de bioequivalencia que compare los

productos a probar con una formulación de referencia.

Aunque esta forma farmacéutica no es muy popular en México y Latinoamérica, presenta ventajas con respecto a las otras ⁽¹⁷⁾ y puede llegar a tener mayor demanda.

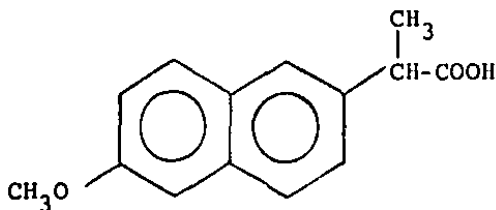
2 GENERALIDADES.

2.1. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

2.1.1. Nombres químicos y sinónimos: Ac (+)-6- metoxi- α -metil-2- naftalén acético; ácido (d)-2-(6-metoxi-2'-naftil) propiónico; ácido s-6-metoxi- α -metil-2-naftil acético; MNPA; RS- 3540; naprosine; naprosyn; naxen; proxen.

2.1.2. Fórmula condensada: $C_{14} H_{14} O_3$

2.1.3. Fórmula desarrollada:



2.1.4. Peso molecular: 230.26 g/ g-mol.

2.1.5. Descripción: polvo blanco cristalino.

2.1.6. Solubilidad.- Muy soluble en cloroformo y etanol, ligeramente soluble en éter y prácticamente insoluble en agua.

2.1.7. Temperatura de fusión: 155.3° C (68).

2.1.8. Rotación específica.- Entre + 63.0 y + 68.5°, determinada en una solución en cloroformo al 1 % (61).

2.1.9. Espectrofotometría de infrarrojo.- El espectro de absorción de una dispersión en bromuro de potasio (1:400) presenta los siguientes máximos:

asignación	longitud de onda (nm)
éster metílico aromático	1260
dobles ligaduras aromáticas	1600- 1625
grupos carbonilos	1725

2.1.10. Espectrofotometría de ultravioleta.- En buffer de fosfatos a pH 7.4 muestra picos de máxima absorción a 332 y 254 nm.

2.1.11. Pérdida al secado.- Secado a 105° C durante 3 horas, no debe perder más del 0.5 % de su peso (61).

2.1.12. Metales pesados: a lo más 0.002 %.

2.2. ASPECTOS FARMACODINAMICOS DEL NAPROXEN.

La experimentación con diversos modelos animales ha demostrado que el naproxén posee una importante actividad anti-

inflamatoria, siendo más activo que la aspirina o la fenilbutazona, pero ligeramente menos activo que la indometacina (14).

La potencia analgésica varía según el modelo usado, pero generalmente el naproxén es más activo que la aspirina y la fenilbutazona, y similar a la indometacina.

2.2.1. Actividad antiinflamatoria.- El naproxén suprime la inflamación inducida por carragena en la pata de la rata, así como la formación de granulomas provocados por pellets de algodón impregnados de carragena (43).

En un estudio realizado con 8 pacientes que padecían reumatismo, Tiselius (60) postula que un agente antiinflamatorio efectivo debe disminuir la excreción urinaria de hidroxiprolina e incrementar sus concentraciones plasmáticas; las variaciones en estos valores podrían ser un buen indicador del metabolismo colágeno y del efecto antiinflamatorio.

2.2.2. Actividad antipirética.- A un conjunto de ratas se les provocó fiebre por medio de una inyección subcutánea de levaduras, encontrándose que el naproxén tiene una mayor actividad que la aspirina o la fenilbutazona, e igual que la indometacina (43).

2.2.3. Efecto analgésico.- Roszkowski et al (43) demonstraron que el naproxén es más activo que la aspirina o la fenilbutazona.

tazona, y menos activo que la indometacina en una prueba de -
compresión de la pata inflamada en ratas ⁽⁴³⁾. La potencia a-
nalgésica del naproxén varió según el modelo utilizado.

2.2.4. Efecto en el tracto gastrointestinal.- Estudios
en animales ⁽⁴³⁾ demuestran que se presentan mucho menos efec-
tos adversos con el naproxén que con la indometacina en el -
tracto gastrointestinal. Cuando ratas en ayuno fueron some-
tidas a periodos breves de tensión (stress), la actividad ul-
cerogénica del naproxén fué menor que la de la aspirina, in-
dometacina, diclofenac, ketoprofén y tolmetina, pero mayor -
que la de el benorilato, sulindac y fenclofenac ⁽³⁸⁾.

Se llevó a cabo un estudio con 12 voluntarios, a los cua-
les les fué administrado aspirina durante dos semanas, segui-
do de naproxén o placebo también por dos semanas, a dosis de
naproxén de 500 mg/ día y de aspirina de 2.7 a 4.5 g/ día; la
pérdida de sangre asociada con el uso del naproxén fué sig-
nificativamente menor que la asociada con el uso de la aspi-
rina, y comparable a la asociada con el placebo ⁽²⁷⁾.

A una dosis de naproxén de 500 mg/ día, hubo notablemen-
te menor daño a la mucosa gástrica que con aspirina a 3.6 g/
día, sin embargo a 750 mg/ día no hubo diferencias signifi-
cativas. Este estudio gastroscópico se realizó con 40 volun-
tarios ⁽²⁴⁾.

2.2.5. Efecto en la coagulación sanguínea.- Experimentos
"in vivo" e "in vitro" han investigado los efectos del napro-
xén y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINE) en la

agregación plaquetaria inducida por colágena, trombina, ADP, adrenalina o ácido araquidónico.

Estos estudios muestran que el naproxén, la aspirina y otros AINEs prolongan el tiempo de sangrado e inhiben la agregación plaquetaria. El grado y duración de estos efectos puede variar con el fármaco o con el método de inducción usado.

Bruno y colaboradores ⁽⁶⁾ reportan que el efecto del naproxén en el tiempo de sangrado estuvo relacionado a la dosis en un intervalo de dosificación de 125- 1000 mg, y correlacionado con los niveles plasmáticos del fármaco. Debido a que la aspirina acetila las plaquetas, Nadell ⁽³²⁾ sugiere este mecanismo como el causante de un efecto más prolongado en el tiempo de sangrado, comparado a los otros AINEs.

2.2.6. Efectos adversos.- Las complicaciones gastrointestinales van desde la dispepsia leve, molestias gástricas y ardores hasta náuseas, vómitos y hemorragia gástrica. Los efectos secundarios en el sistema nervioso central son: somnolencia, cefalea, mareos, sudoración, fatiga, depresión y ototoxicidad.

Con menos frecuencia se presentan prurito y diversos problemas dermatológicos. Debe hacerse notar que estos efectos adversos son más ligeros que los presentados con otros AINEs ⁽¹⁴⁾.

2.2.7. Tolerancia.- El naproxén se tolera mucho mejor que la indometacina. Hasta dosis de 1000 mg/ día el naproxén se tolera muy bien. No se encontró una clara relación en-

tre los niveles séricos del naproxén y su toxicidad (11).

2.2.8. Mecanismo de acción del naproxén.

2.2.8.1. Efecto en las protaglandinas.- Aunque el mecanismo de acción del naproxén en la respuesta inflamatoria no está completamente elucidado, se sabe que inhibe la prostaglandín sintetasa, una enzima que actúa en un paso de la cascada araquidónica, que da por resultado la síntesis de prostaglandinas.

En un estudio "in vitro" realizado por Crook et al (10) con microsomas de líquido sinovial reumático de humanos, se encontró que el naproxén fué 45 veces más potente que la aspirina y 2 veces más potente que el ibuprofén en inhibir la actividad de la prostaglandín sintetasa (PGE_2), como se puede apreciar en la tabla 1.

TABLA 1 (10)
POTENCIAS MOLARES RELATIVAS PARA LA INHIBICION DEL 50 %
DE LA SINTESIS DE LA PGE_2 .

ASPIRINA	1
IBUPROFEN	22
NAPROXEN	45

2.2.8.2. Efecto en el sistema lisosomal.- Estudios "in vitro" con tejidos animales y humanos han mostrado que el naproxén inhibe el sistema lisosomal, el cual es necesario para el proceso inflamatorio. Esto ha sido demostrado por la inhibición de dos enzimas proteolíticas lisosomales: la catepsina B₁ (22) y la proteasa neutra (23), además de la inhibición de enzimas hidrolíticas (58) y la estabilización de las membranas de los eritrocitos (29).

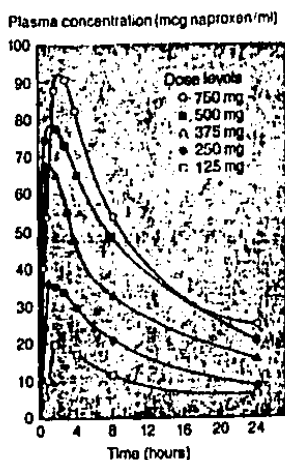
Arumughan y Bose (3) reportan que el naproxén y la indometacina inhiben la biosíntesis y degradación de los glicosaminoglicanos (GAG), y de esta manera se limita su acción protectora en las enzimas lisosomales.

2.3. FARMACOCINETICA DEL NAPROXEN.

2.3.1. Absorción.- Estudios realizados por Runkel (46,47) indican que el naproxén se absorbe completamente en el tracto gastrointestinal. En estudios con dosis múltiples administrando dos veces al día el naproxén (regímenes b.i.d.), se alcanzan los niveles plasmáticos máximos de 2- 4 horas (ver figura 1), y el estado estacionario en 2-3 días (45).

A dosis superiores a 500 mg b.i.d. (dos veces al día), se encontró un comportamiento no lineal (44,45). El área bajo la curva concentración plasmática- tiempo se incrementó de una manera no lineal, al incrementarse la dosis.

FIGURA 1. NIVELES PLASMATICOS DE NAPROXEN
 COMO FUNCION DE LA DOSIS INICIAL Y EL TIEMPO (45).



En la figura 2 se observan los valores de área bajo la curva para dosis individuales de 125 mg a 4 g de naproxén. La respuesta no lineal a dosis altas se puede atribuir a una depuración renal acelerada, la cual es el resultado de un incremento en los niveles de naproxén libre que ocurre cuando se saturan los sitios de unión a las proteínas plasmáticas (45).

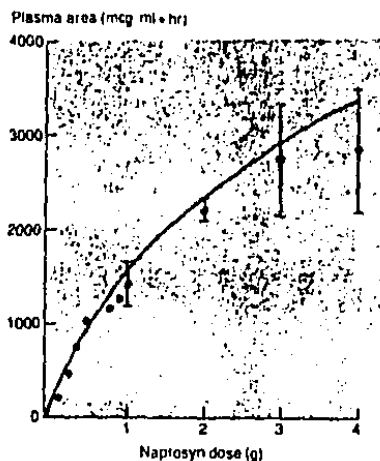
Este mecanismo puede limitar los niveles plasmáticos de naproxén aunque se administre una sobredosis.

El efecto que tiene una administración concomitante de antiácido en la velocidad y grado de absorción de naproxén depende de la formulación del antiácido. Segre et al (51) rea

lizaron un estudio con voluntarios sanos a los cuales administraron naproxén solo o con uno de varios antiácidos; demostraron que el bicarbonato de sodio y la preparación comercial Ma-lox aumentaron la velocidad de absorción del naproxén.

Por el contrario, el óxido de magnesio y el hidróxido de aluminio redujeron notablemente la velocidad de absorción del naproxén.

FIGURA 2. EL EFECTO DEL INCREMENTO DE DOSIS
EN EL AREA BAJO LA CURVA (44)



La presencia de alimentos tiene poco efecto en la absor-

ción total de naproxén por vía oral. La absorción fué más rápida en sujetos en ayunas, pero la diferencia no fué estadísticamente significativa (46).

En estudios de biodisponibilidad comparativa para tabletas y cápsulas se han obtenido curvas concentración plasmática-tiempo similares. Parece que la velocidad de absorción no se vé afectada por la naturaleza o proporción de los excipientes (46).

2.3.2. Distribución.- El naproxén se une extensamente a proteínas plasmáticas tanto en animales como en el hombre.

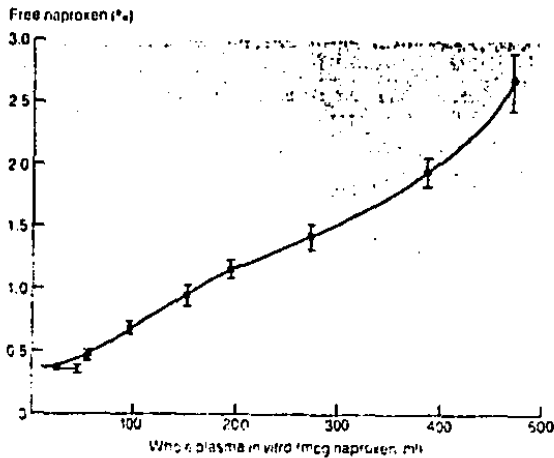
Runkel et al (47) encontraron que el 99.9 % de naproxén en plasma se encuentra unido a proteínas, lo cual fué caracterizado utilizando el volumen aparente de distribución (Vd).

Ellis y Martin (13) determinaron que la albúmina es la proteína plasmática a la que se une en mayor proporción el naproxén. Caracterizaron la unión a proteínas por medio de diálisis al equilibrio de naproxén marcado en plasma heparinizado, encontrando que en plasma más del 99.9 % de naproxén se encuentra unido.

El grado de unión a proteínas varía dependiendo del número de sitios de unión disponibles y la concentración de fármaco en plasma (ver figura 3). In vitro los niveles de naproxén libre aumentan al incrementarse la concentración total del fármaco (45). Es importante para la clínica conocer la distribución del naproxén en los tejidos de interés.

Jalava et al (20) determinaron las concentraciones de naproxén en suero, líquido sinovial y sinovioma (tumor) en 18 pacientes a una dosis de 250 mg b.i.d. de naproxén. Los niveles de naproxén en el líquido sinovial fueron 56 % de los niveles en suero 3-4 horas después de la ingestión, después de tres días de administración. 15 horas después de la dosis final, los niveles en el líquido sinovial y el sinovioma estuvieron a un 74 % y 30 % respectivamente, de el nivel en suero.

FIGURA 3. INCREMENTO EN EL PORCENTAJE DE NAPROXEN LIBRE CONFORME AUMENTA LA CONCENTRACION (45).



La menor cantidad de albúmina presente en el líquido sinovial limitó la cantidad de naproxén unido, de tal forma que aunque hubo menor cantidad de naproxén total en comparación al plasma, una mayor proporción de éste existió como fármaco libre. La eficacia clínica del naproxén es atribuida a un valor del radio naproxén libre- naproxén unido en el líquido sinovial superior a uno (64).

2.3.3. Metabolismo.- El metabolismo del naproxén en la especie humana es relativamente simple. Después de absorberse, está presente en sangre como fármaco inalterado, principalmente.

Mientras que un 10 % permanece inalterado, 60 % es conjugado en el hígado y el 30 % restante se desmetila en la posición 6- metoxi (64). Alguna proporción de este último 30 % sufre una posterior conjugación (ver figura 4).

A dosis terapéuticas los metabolitos del naproxén presentan poca o nula actividad farmacológica (53).

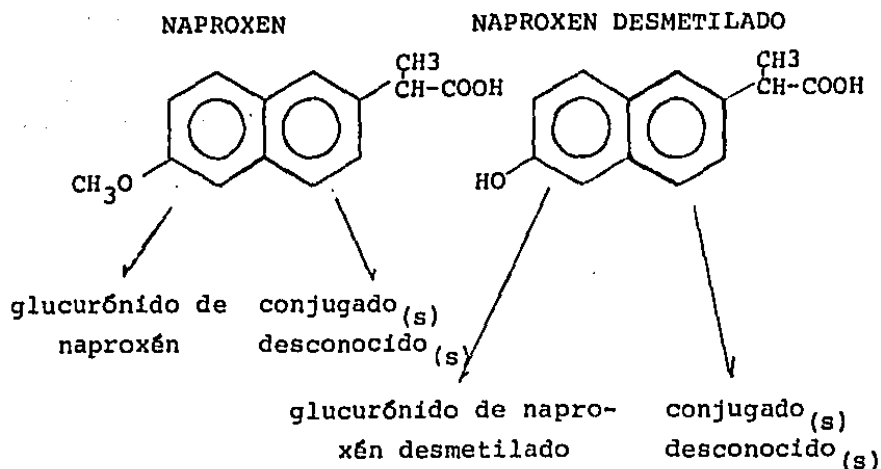
Administrando dosis de 1-4 g de naproxén no hubo alteración en el perfil metabólico, y ningún signo que la capacidad metabólica estuviera saturada (44).

2.3.4. Eliminación.- En humanos el naproxén se excreta un 1-2 % por heces y un 94 % por vía renal (47). Aproximadamente 1 % se excreta en la leche materna (5).

En individuos con función renal normal, la capacidad de conjugación y excreción no se ven afectadas aún a dosis de 1-4 g/ día (44). Conforme se aumenta la dosis, los sitios

activos de las proteínas plasmáticas se saturan y los niveles del fármaco libre crecen.

FIGURA 4. METABOLISMO DEL NAPROXEN (59).



Un incremento paralelo ocurre en la velocidad de excreción urinaria (ver figura 5) (45).

Anttila et al (2) hicieron un estudio en 8 voluntarios sanos y 16 pacientes con insuficiencia renal crónica, administrando una dosis oral única de 250 mg de naproxén. Obtuvieron

los siguientes resultados:

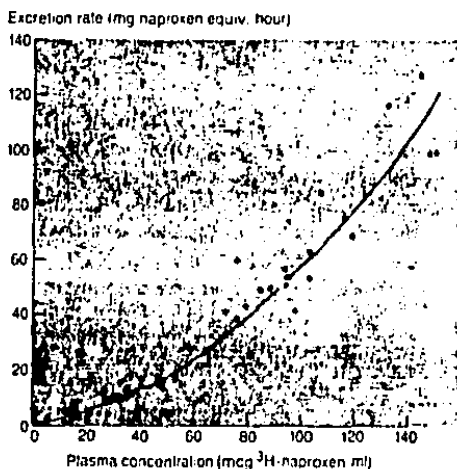
a) En pacientes con falla renal se observó una disminución en la unión del naproxén a proteínas.

b) Se encontró una buena correlación entre la concentración máxima del metabolito naproxén 6- desmetilado y la concentración de creatinina sérica.

El aumento en la concentración del metabolito fué proporcional a la severidad de la enfermedad.

Los autores concluyeron que no fué necesario cambiar el régimen de dosificación, debido a que la concentración de fármaco libre no cambió con la enfermedad. Sin embargo es preferible tomar precauciones y tener cuidados con pacientes que tengan una depuración de creatinina de menos de 20 ml/ min.

FIGURA 5. EXCRECION URINARIA DE NAPROXEN AL INCREMENTARSE LA CONCENTRACION PLASMATICA (14).



En una hemodiálisis efectuada a un paciente con glomerulonefritis, Weber et al ⁽⁶⁶⁾ reportan que el naproxén libre no es dializado, aunque sí su metabolito.

2.3.5. Interacción con otros fármacos.- Debido a que el naproxén no es un inductor enzimático, un esteroide o un narcótico, sus posibilidades de interacción con otros fármacos son de tipo farmacocinético.

Puede haber interferencia en la absorción y competencia en la unión a proteínas, conjugación hepática y en la depuración renal.

2.3.5.1. Interferencia en la absorción.- La absorción de naproxén puede ser mejorada o reducida con ciertos antiácidos, lo cual fué comentado en la sección 2.3.1.

2.3.5.2. Unión a proteínas.- El naproxén se une extensamente a proteínas plasmáticas y teóricamente puede competir con otros fármacos que ocupan los mismos sitios de unión, incrementando los niveles de fármaco libre al desplazarlos.

Cuando el naproxén es desplazado hay pocos problemas clínicos porque su margen de seguridad es amplio y porque un incremento en fármaco libre en sujetos normales lleva a un incremento en la depuración renal ⁽⁴⁵⁾. Por el contrario si el naproxén desplaza a algún fármaco con un índice terapéutico relativamente estrecho, como la warfarina, se puede llegar a niveles tóxicos del fármaco desplazado, lo cual tiene rele -

vancia clínica.

En un estudio realizado por Flores y Rojas ⁽¹⁵⁾ se muestra que el naproxén redujo la dosis establecida para la parametasona en un 57 %. Este efecto fué debido a un desplazamiento competitivo de las proteínas plasmáticas, lo cual incrementó los niveles de esteroide libre ⁽³⁹⁾.

Yacobi y Levy ⁽⁶²⁾ observaron un incremento lineal de warfarina libre al aumentar la concentración de naproxén.

En general los fármacos que pueden tener este tipo de interacción con el naproxén son: los salicilatos, los anticoagulantes del tipo de la coumarina, las sulfonilureas y los corticoesteroides.

2.3.5.3. Interacción renal y hepática.- Runkel et al ⁽⁵⁰⁾ encontraron que el probenecid indujo grandes alteraciones en la vida media, metabolismo y depuración renal del naproxén.

Similares resultados obtuvo Segre ⁽⁵²⁾ en un estudio con dosis única, en donde el probenecid incrementó la vida media del naproxén de 14 a 37 horas. También los niveles plasmáticos de naproxén se incrementaron en gran manera.

Se piensa que el probenecid compite tanto en las reacciones de conjugación como en la secreción tubular, lo que ocasiona un aumento en los niveles de naproxén libre y una disminución de su eliminación.

El naproxén y otros antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) inhiben la secreción tubular del metotrexato in vitro a menos del 18 % de los valores controles ⁽³³⁾; esto ocurre a concentraciones de naproxén de al menos 10^{-3} M.

2.3.5.4. Otras interacciones.- Los antiinflamatorios no esteroídales, incluyendo el naproxén reducen el efecto antihipertensivo de los diuréticos (63).

Mirouze et al (28) demuestran que el naproxén y la indometacina reducen de una manera importante la natriuresis en pacientes con ascitis, los cuales estuvieron tomando furose-mida o espironolactona como diuréticos. La interacción puede deberse a un antagonismo de la acción de los diuréticos (inhibición de la degradación de las prostaglandinas) o a la interferencia con el transporte de el diurético a su sitio de acción.

2.3.6. Vida media plasmática.- Independientemente de la vía de administración, la vida media plasmática del naproxén es de aproximadamente 13 horas. La vida media no fué afectada por la dosis, concentración plasmática o la administración continua (45).

2.4. FORMAS FARMACEUTICAS DEL NAPROXEN.

El naproxén se ha formulado en diferentes formas farmacéuticas, como son tabletas, cápsulas y supositorios.

La vía rectal presenta ciertas ventajas con relación a la vía oral, especialmente cuando el fármaco se metaboliza extensamente (17). El uso de supositorios está cobrando importancia.

Las características fisicoquímicas de los excipientes y su compatibilidad con el fármaco son importantes consideraciones en el desarrollo de alguna formulación de supositorios.

2.4.1. Supositorios.- El recto es la parte final del intestino grueso. Tiene una longitud de 11 a 14 cm. Se encuentra irrigado por las venas hemorroidales, las cuales se dividen en: superior, media e inferior.

Las venas hemorroidales media y superior se anastomosan y desembocan mediante la vena mesentérica inferior en la vena porta, llegando al hígado. La vena hemorroidal inferior, por medio de la vena ilíaca se une a la vena cava inferior, evitando pasar por el hígado (30).

Los supositorios pueden definirse como aquellas preparaciones medicamentosas sólidas, a las que se les dá por medio de excipientes lipófilos o hidrófilos, una forma o dureza que facilita su introducción en el recto, donde se funden, disuelven o disgregan a la temperatura corporal, liberando el principio activo (1,19).

La vía rectal se recomienda cuando existen problemas gástricos o para deglutir, náuseas, vómito, cuando el principio activo pueda descomponerse con los jugos gástricos, pueda absorberse demasiado rápido por vía parenteral o tenga un sabor desagradable. No se aconseja administrar supositorios cuando se tengan lesiones en el recto.

La eficacia de los supositorios se puede deber a una acción local o general. La acción local puede deberse a una influencia mecánica o a una acción tópica; en el primer caso se desencadena el reflejo de la defecación y como ejemplos se encuentran los supositorios de glicerina y de manteca de cacao.

Como ejemplo de acción tópica se encuentran los medicamentos antihemorroidales (acción astringente y antiinflamatoria). La acción general ocurre una vez que el principio activo se absorbe y pasa a la circulación general, por medio de la cual se distribuye y llega a los receptores farmacológicos adecuados para desencadenar la respuesta.

Es bien conocido que los fármacos, al absorberse pueden pasar al hígado y ser metabolizados antes de alcanzar la circulación general; esto se conoce como efecto del primer paso.

En el caso de supositorios, la única manera en que un principio activo no sufra el efecto del primer paso, es que se absorba por la vena hemorroidal inferior. Esto sucede si el supositorio funde en los dos centímetros inmediatos al ano, lo que generalmente no ocurre, pues el supositorio se desliza entre los 6 y 10 cm del recto (30).

Para que sea efectivo, el supositorio debe retenerse, por consiguiente, hay que evitar una fusión muy cercana al esfínter, o bien que sea eliminado por expulsión. Lo primero se evita seleccionando una base adecuada, y lo segundo dándole forma de torpedo.

No se puede prever el lugar de la región rectal en donde el supositorio va a fundir completamente; por este motivo los estudios con supositorios no son tan reproducibles como con otras formas farmacéuticas (19); la mayoría de las veces los niveles sanguíneos obtenidos con supositorios son diferentes a los obtenidos por vía oral.

2.4.2. Parámetros fisicoquímicos que afectan la biodisponibilidad y estabilidad de fármacos en los supositorios.

Tanto los parámetros fisicoquímicos de base oleosas (índice de yodo, índice de hidroxilo e intervalo de fusión) como el estado fisicoquímico del fármaco, pueden influir en la biodisponibilidad y estabilidad de una formulación de supositorios.

El índice de yodo nos indica la proporción de ácidos grasos insaturados, y por ende la susceptibilidad de las bases a la descomposición (enrraciamiento, oxidación). Se aconseja un valor de índice de hidroxilo de 30-50 ⁽¹⁹⁾. Si es menor o mayor a este intervalo la biodisponibilidad puede verse disminuida, porque no hay una buena diseminación de la masa fundida en el primer caso, o por un efecto de solubilización en el segundo.

Los triglicéridos semisintéticos como las masas novata y witepsol presentan un aumento en el punto de fusión debido a el fenómeno del polimorfismo. Se les ha caracterizado las formas α , β' y β , en donde la forma α corresponde a la de menor punto de fusión.

En la figura 7 se ven las estructuras simplificadas de las subcélulas de los diferentes polimorfos. Las temperaturas de transición son correlacionadas con las distancias de estas subcélulas, y el nivel de la temperatura depende de la longitud de la cadena hidrocarbonada.

El punto de fusión anormalmente bajo de la forma alfa puede ser explicado por la rotación de las cadenas en el en-

rejado hexagonal, mientras que en el ortorrómbico o monoclí nico este movimiento está restringido.

Estos polimorfos pueden ser detectados por el método _ DSC (differential scanning calorimetry), sin embargo los _ triglicéridos analizados deben ser de alta pureza ^(9,18) para que no haya superposición de picos.

El incremento en el tiempo de fusión (o licuefacción) puede estar influenciado por las condiciones de almacenamien to y por la selección de las bases. Se ha encontrado que los mayores cambios en los tiempos de fusión ocurren con las ba ses de mas alto intervalo de fusión, como es el caso de las bases witepsol, novata y supocire ⁽¹⁷⁾.

Una forma de modificar el tiempo de licuefacción de un supositorio es por medio de la adición de lecitina de soya, la cual retarda la recristalización de el glicérido.

El aumento en el tiempo de licuefacción y en el punto de fusión se debe al efecto de endurecimiento de los suposi torios. Hay tres hipótesis para explicar esta alteración ⁽¹⁷⁾:

1.- El endurecimiento está asociado con el polimor fismo de los triglicéridos.

2.- Se debe a un fenómeno de cristalización de la base. Aumenta el orden cristalino de la base solidificada.

3.- Durante el almacenamiento de la base ocurren cambios químicos. Esto se debe a una reesterificación de la _ base oleosa.

El polimorfismo ha sido demostrado experimentalmente por medio de la difracción por rayos X y el análisis térmico diferencial (DTA) (7,57).

Dependiendo de la temperatura de solidificación durante el enfriamiento de la masa fundida, la base oleosa puede cristalizar en la forma α de simetría hexagonal o en la forma β' de simetría ortorrómbica. La forma α es muy inestable y a temperaturas superiores a 7° C se convierte a la forma β' .

El endurecimiento de los supositorios es causado por la conversión a una forma de transición llamada β_i . Esto puede llevar meses o años dependiendo de la temperatura de almacenamiento. La forma β_i tiene un punto de fusión $2-4^{\circ}$ C mas alto que la forma β' y un mayor grado de orden cristalino (17).

Algunas formas de estabilizar las formulaciones de supositorios se enlistan en la tabla 2.

TABLA 2. POSIBLES MANERAS DE ESTABILIZAR
EL TIEMPO DE LICUEFACCION DE SUPOSITORIOS (17).

- Uso de bases grasas de bajos puntos de fusión.
- Adición de excipientes como la lecitina de soya.
- Almacenamiento de supositorios a aproximadamente 4° C (formas α y β').
- Acondicionamiento de supositorios a 25° C durante varias semanas (forma β').

2.4.3. Algunos aspectos de formulación de supositorios.

Es muy importante que el punto de fusión de el supositorio no rebase la temperatura de 37.6°C , siendo la óptima de 36.5°C ⁽¹⁾; la viscosidad de la masa fundida no debe ser muy elevada (a esto puede contribuir un tamaño de partícula de el principio activo excesivamente pequeña), y debe tener una buena capacidad de extensión (que puede ser favorecida con el uso de agentes tensioactivos).

Un fármaco disuelto en el excipiente se libera mas lentamente, pero de una manera mas continúa que si se encuentra en suspensión ^(1,26).

Los principios activos liposolubles se disuelven primero en la base grasa antes que por difusión simple pasen a la interfase con el líquido rectal ⁽¹⁾. Posteriormente es liberado a el líquido rectal en virtud de su coeficiente de reparto_ excipiente- líquido rectal ^(67,35).

Pagay et al ⁽³⁴⁾ hicieron un estudio de absorción rectal de acetaminofén a partir de algunas formulaciones de supositorios de polietilenglicol y de una solución acuosa en 6 sujetos, midiendo la excreción urinaria. Se observó una relación entre la biodisponibilidad del acetaminofén y las propiedades dieléctricas de los vehículos utilizados. Sin embargo esto sólo se consigue si el principio activo está disuelto en el excipiente.

La elección de los excipientes se hace en función de las características fisicoquímicas del principio activo ⁽¹⁾:

- Si es hidrosoluble es preferible incorporarlo a una base grasa.

- Si es poco soluble, se puede utilizar en partículas muy pequeñas, modificar el pH del líquido rectal o inclusive modificar la constante dieléctrica del excipiente.

- Si es líquido, o si presenta un poder disolvente frente al excipiente, es necesario seleccionar un excipiente cuya consistencia (para un excipiente hidrosoluble), o cuyo punto de fusión (para un excipiente graso) permita esta adición.

- Si hay posibilidad de formar una mezcla eutéctica, es necesario utilizar masas de consistencia y punto de fusión convenientes.

- Si presenta cierta hidrofilia, o si está hidroglicerinado o en forma acuosa, se recomienda un excipiente con buen poder emulsionante.

- Si su densidad es alta, conviene un excipiente de velocidad de solidificación rápida.

2.5. METODOS ANALITICOS.

Se han reportado algunos métodos analíticos para la cuantificación del naproxén en suero o plasma por técnicas cromatográficas.

Runkel et al (49) ocuparon un método por cromatografía de gases, en donde previamente se debe formar un derivado esterificado.

Knie et al (21a) desarrollaron un método por cromatografía en capa delgada de alta resolución (HPTLC). La fase móvil fue una mezcla de cloroformo- metanol- ácido fórmico 95:7:7 v/v.

El naproxén eluido y separado de su metabolito en la placa cromatográfica, fue sometido a una fotorreacción a una longitud de onda de 254 nm. Fue cuantificado con un detector de fluorescencia a las longitudes de onda de excitación y emisión de 313 y 400 nm, respectivamente.

Lee (25) describe un método por cromatografía de líquidos de alta presión con detección por fluorescencia.

Se utilizó una columna μ Bondapak C 18 a temperatura ambiente. La fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo- agua acidificada (pH 2.75) 37:63 con una velocidad de flujo de 2.0 ml/ min.

Se efectuó primero una extracción con acetato de etilo en hexano al 30 %, y después de evaporar a sequedad la fase orgánica.

nica, se disolvió el naproxén en metanol- agua 90:10, se lavó con hexano y fué evaporada a sequedad la fase hidroalcohólica.

Se detectó el naproxén por fluorescencia con un filtro primario de 252 nm.

El artículo de Lee sirvió de referencia para el desarrollo de un método por cromatografía de líquidos de alta presión ⁽⁴⁾; el método es sencillo, rápido y confiable y solo utiliza una extracción.

En el presente trabajo se ocupa este método, el cual es descrito en la parte experimental.

3 PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. ESTUDIO DE REFORMULACION.

Se hizo una reformulación de supositorios de naproxén, disminuyendo la proporción de excipientes con relación a la única formulación que existe en el mercado farmacéutico nacional. Los excipientes utilizados fueron triglicéridos semisintéticos de ácidos grasos saturados de longitud de cadena de 12 a 18 carbonos.

3.1.1. Equipo.- Agitador mecánico Lightnin, parrilla eléctrica con agitador magnético, magnetos (agitadores), termómetros, aparato para determinar tiempo de licuefacción en supositorios marca Precision Scientific Co.

3.1.2. Procedimiento.- Se hicieron pruebas con tres cantidades de masas o excipientes : 1.25, 1.0 y 0.75 gramos, que aunados a la dosis de 500 mg de naproxén daban un peso total de 1.750, 1.5 y 1.250 g. Se escogieron 5 masas diferentes de supositorios en base a sus características físicoquímicas.

El experimento se planeó de la siguiente manera:

Cant.masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
1.250	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅

Cant.masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
1.00	L ₆	L ₇	L ₈	L ₉	L ₁₀
0.75	L ₁₁	L ₁₂	L ₁₃	L ₁₄	L ₁₅

El cual es un diseño factorial, dando un total de 15 lotes de 50 supositorios cada uno. A cada lote se le determinó por triplicado su punto de fusión y el tiempo de licuefacción. El punto de fusión por el método ascendente, y el tiempo de licuefacción ocupando un aparato marca Precision Scientific a una temperatura de 37° C.

Doce supositorios de cada lote se ciclaron a 0 y 45° C durante 15 días.

Otros 6 supositorios de cada lote se mantuvieron a 0° C durante una semana.

3.1.3. Selección de las formulaciones.

Tomando como base que la velocidad de disolución de un fármaco, en la mayoría de los casos es el paso limitante para la absorción, se probó, con algunas variantes, un método de disolución para tabletas de naproxén sódico ⁽⁶¹⁾ con los supositorios elaborados.

3.1.3.1. Equipo.- Aparato para disolución marca Aparatos de Laboratorio B.G., espectrofotómetro Beckman DU-8, termómetros, sistema de disolución Hewlett- Packard modelo HP 89026 para un aparato HP 8451 totalmente automatizado.

3.1.3.2. Método analítico.- Es un método espectrofotométrico a una longitud de onda en el ultravioleta de 330 nm. Aún leyendo directamente las muestras, se tiene una buena linealidad, con un valor de $r = 0.9944$.

3.1.3.3. Condiciones de disolución.- El método ocupa paletas y como medio de disolución una solución reguladora de fosfatos a pH 7.4, un volumen de 900 ml para cada vaso, velocidad de agitación de 50 rpm y el baño a $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

3.1.3.4. Procedimiento.- Se hicieron en general dos pruebas, en la primera se realizó la disolución de los lotes L₁₁

a L_{15} para ayudar a escoger las masas de supositorios que se ocuparían en las formulaciones del estudio de bioequivalencia; se muestreó cada 10 minutos durante una hora, y la lectura de las muestras se hicieron de manera manual en un espectrofotómetro Beckman DU-8.

En la segunda prueba se determinaron los perfiles de disolución de las formulaciones ocupadas en el estudio de bioequivalencia, con la intención de buscar alguna posible correlación "in vivo"-"in vitro". Se muestreó cada 5 minutos durante dos horas y se ocupó el sistema de disolución Hewlett-Packard.

3.2. ESTUDIO "IN VIVO".

3.2.1. METODO ANALITICO.

El método analítico utilizado para cuantificar naproxén en plasma fué desarrollado y validado por el departamento de Desarrollo farmacéutico de Syntex, S.A. (4).

3.2.1.1. Equipo.- Cromatógrafo de líquidos de alta presión Waters modelo 6 000 A, equipado con detector UV de longitud de onda fija (modelo 440 UV) e inyector (modelo U- 6K). Pre-columna C- 18 microbondapack Waters, columna C- 18 microbondapack Waters, microprocesador e integrador Hewlett Packard modelo 3380 A; centrifuga IEC, modelo CS, International Equipment Co.; agitador mecánico (mixer, Lab- Line Instruments Inc.), potenciómetro digital Beckman modelo 3500, aparato de ultrasonido Branson.

3.2.1.2. Reactivos.- Acido d-2- (6'-metoxi-2'-naftil) propiónico (naproxén), ácido (6'-hidroxi-2'-naftil) acético (estándard interno), ácido d-2- (6'-hidroxi-2'-naftil) propiónico (metabolito), isopropanol R.A. Baker, ácido fosfórico R.A. Baker, ácido acético glacial R.A. Monterrey, acetato de sodio R.A. Merck, cloruro de sodio R.A. Baker, cloroforno R.A. Merck, metanol uvasol Baker, acetonitrilo R.A. Baker.

3.2.1.3. Soluciones de referencia.

3.2.1.3.1. Solución I.- Naproxén en metanol R.A. a una concentración de 100 microgramos por mililitro.

3.2.1.3.2. Solución II.- Estándar interno en metanol R.A. a una concentración de 100 microgramos por mililitro.

3.2.1.4. Soluciones de trabajo:

- mezcla v/v de cloroformo-isopropanol 95:5
- mezcla v/v metanol-agua 1:1
- solución de acetato de sodio 0.5 M (pH 3)
- solución de ácido fosfórico al 85 %
- agua acidulada a pH 2.75
- fase móvil: mezcla v/v de agua acidulada (pH 2.75) y acetónitrilo 60:40

3.2.1.4.1. Soluciones de naproxén.- A partir de la solución de referencia I preparar soluciones de naproxén a las concentraciones de 2, 4, 6, 10, 20, 40 y 80 microgramos por mililitro en agua- metanol R.A. 1:1.

3.2.1.4.2. Solución de trabajo de estándar interno. A partir de la solución de referencia II preparar una solución de estándar interno en agua-metanol R.A. a una concentración de 30 microgramos por mililitro.

3.2.1.5. Procedimiento.

3.2.1.5.1. Preparación de las muestras.- Con pipetas volumétricas de 0.5 ml tomar por duplicado alícuotas de plasma, y transferir a un tubo de vidrio de 10 ml con rosca. Agregar 0.5 ml de agua destilada, 0.5 ml de la solución de trabajo de estándar interno, y 0.5 ml de la mezcla metanol-agua 1:1.

Acidular con 0.1 ml de la solución de acetato de sodio 0.5 M (pH 3); extraer con 5 ml de la mezcla clorofórmo-isopropanol 95:5; agitar dos minutos en un mixer, centrifugar durante 15 minutos a 2000 r.p.m.

Eliminar la fase acuosa superior, y con una pipeta Pasteur transferir la fase orgánica a otro tubo de ensaye. Evaporar a sequedad con ligero calentamiento y corriente de aire.

Reconstituir con 200 microlitros de metanol uvasol e inyectar de 10 a 25 microlitros al cromatógrafo de líquidos. La figura 6 presenta la metodología seguida.

Las condiciones cromatográficas son las siguientes:

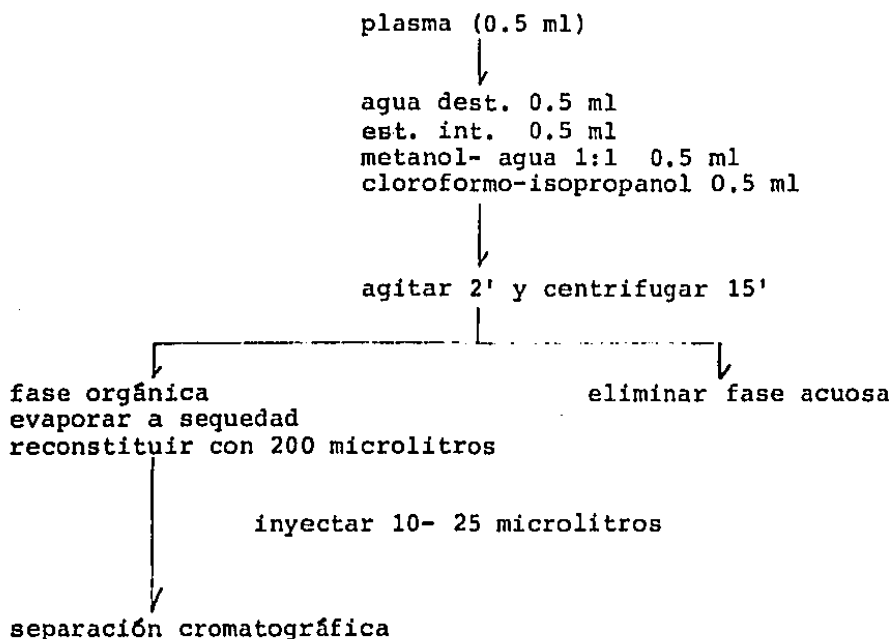
- velocidad de flujo: 2.0 ml/ min
- presión : 2500 [±] 500 psi
- detector : UV a 340 nm de longitud de onda
- velocidad de la
carta : 0.25 cm/ min
- atenuación : 4
- temperatura : ambiente

3.2.1.5.2. Cuantificación de naproxén en plasma.-Ocupando los parámetros de la línea recta obtenida con la curva de calibración de las soluciones de 3.1.4.1., se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Conc.Nap. (microg/ml)} = \frac{\text{relación de áreas} - \text{intercepto}}{\text{pendiente}}$$

en donde, relación de áreas= área del nap./área del est
int.

FIGURA 6. METODOLOGIA ANALITICA.



3.2.2. ESTUDIO EN VOLUNTARIOS.

3.2.2.1. Equipo.- Congelador American, centrífuga IEC modelo CS, International Equipment Co., balanza Ohaus de 2610 gramos de capacidad.

3.2.2.2. Diseño experimental.- Se ocupó un diseño experimental cuadrado latino para 8 voluntarios y 4 formulaciones (diseño cruzado). La azarización se hizo con tablas de números aleatorios para los tratamientos y los voluntarios.

La tabla del diseño quedó de la siguiente manera:

VOLUNTARIO	SEMANA			
	1	2	3	4
2,8	C	D	B	A
3,6	D	A	C	B
4,7	B	C	A	D
1,5	A	B	D	C

en donde los tratamientos corresponden a las formulaciones A, B, C y D (la de referencia). El estudio fué dividido en dos partes, habiendo un descanso de un mes entre la segunda y tercera semana del estudio.

3.2.2.3. Procedimiento.- Se hizo un estudio ciego con 8 voluntarios sanos, 4 hombres y 4 mujeres, a los cuales se les colocó un punzocat del # 18, tomándoseles muestras sanguíneas (7 ml cada una) a las 0 horas, y a las 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 8.0, 12.0, 24.0 y 48 horas después de administrado el supositorio. El punzocat fué retirado a las 12 horas; las dos últimas muestras se tomaron con el sistema vacutainer en tubos heparinizados.

Los tubos con sangre fueron centrifugados; posteriormente el plasma fué transferido a otros tubos y congelado hasta el momento del análisis por cromatografía de líquidos de alta presión, como se detalla en 3.2.1.

Fueron excluidos del estudio los sujetos con insuficiencia renal, hepática, gástrica, los fumadores, los que hubieran ingerido alcohol o fármacos una semana antes del estudio y los que tomaron algún principio activo inductor del metabolismo un mes antes de iniciar el estudio.

Los voluntarios estuvieron en ayuno desde las 21 horas del día anterior, es decir, 12 horas antes de la administración del supositorio. Se les proporcionó un ligero desayuno 4 horas después de iniciado el estudio.

Ocupando el programa "ajustes" del departamento de farmacia de la facultad de química de la U.N.A.M. se hizo un ajuste poliexponencial de los datos de concentración plasmática -

ca versus tiempo, se escogió el mejor modelo farmacocinético y se obtuvieron unos estimados iniciales de los interceptos y pendientes de la ecuación poliexponencial; estos estimados iniciales fueron utilizados en un programa de ajuste por regresión no lineal, perteneciente a un paquete estadístico de una microcomputadora Hewlett- Packard 9816. De esta forma fueron obtenidos los estimados finales de la ecuación poliexponencial que describe el comportamiento farmacocinético del na proxén.

Finalmente se calcularon los siguientes parámetros: tiempo en que se alcanza la concentración plasmática máxima (T_{\max}), Concentración plasmática máxima (C_{\max}), área bajo la curva de 0 a 4 horas después de administrado el fármaco, constante de absorción, área total bajo la curva y tiempo de vida media.

El T_{\max} , el área bajo la curva de 0 a 4 horas, y el área total bajo la curva se ocuparon como variables de respuesta en el análisis estadístico, cuyo resultado indicó si fueron o no bioequivalentes las formulaciones propuestas con relación a la de referencia.

4. RESULTADOS.

4.1. ESTUDIO DE REFORMULACION.

En la tabla tres se muestran los resultados de la temperatura de fusión dados en grados centígrados, los cuales representan los valores promedio de tres determinaciones.

TABLA 3. TEMPERATURAS DE FUSION DE
SUPOSITORIOS CON DIFERENTES EXCIPIENTES (° C).

Cant.Masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
1.250	37.3	35.4	34.0	35.9	35.6
1.00	37.2	35.5	34.3	35.5	35.9
0.75	37.5	36.9	34.4	36.2	36.1

En la tabla 4 se presentan los resultados de tiempo de licuefacción en minutos.

También se hicieron por triplicado estas determinaciones.

TABLA 4. TIEMPO DE LICUEFACCION DE SUPOSITO-
RIOS CON DIFERENTES EXCIPIENTES (EN MINUTOS).

Cant.Masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
1.250	3.77	1.69	1.53	2.20	2.10
1.00	3.23	1.81	1.92	2.60	2.56
0.75	3.66	2.27	1.51	2.58	2.48

Los supositorios de los diferentes lotes fueron medidos en un congelador a 0° C, en la tabla 5 se muestran las temperaturas de fusión, y en la tabla 6 los tiempos de licuefacción a los 4 días de almacenamiento.

TABLA 5. TEMPERATURAS DE FUSION DE SUPOSITORIOS CON DIFERENTES EXCIPIENTES (° C), A LOS 4 DIAS DE ALMACENAMIENTO A 0° C .

Cant.Masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
1.250	36.8	35.2	34.0	36.5	35.7
1.00	37.0	36.3	35.4	36.8	35.8
0.75	38.2	37.0	36.0	37.0	37.5

TABLA 6. TIEMPO DE LICUEFACCION DE SUPOSITORIOS CON DIFERENTES EXCIPIENTES (EN MINUTOS) A LOS 4 DIAS DE ALMACENAMIENTO A 0° C.

Cant.Masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
1.250	8.47	3.23	2.28	6.33	5.9
1.00	7.53	5.48	2.48	5.47	4.23
0.75	10.33	5.45	2.03	5.03	3.18

El objetivo de la reformulación es reducir la cantidad de masa de supositorio, por lo que de acuerdo a los resultados expresados en las tablas 3 y 4 se decidió trabajar con los lotes L₁₁ a L₁₅ (0.75 g de masa).

Otro punto importante de este trabajo está en buscar una correlación "in vivo"- "in vitro". De acuerdo a los valores de las determinaciones físicas de las tablas 3-6 se pensó que de los lotes L₁₁ a L₁₅ podría obtenerse.

Los supositorios de los diferentes lotes fueron ciclados durante 15 días, 12 horas a 0°C y 12 horas a 45°C todos los días. Los resultados de las determinaciones físicas de los lotes L₁₁ a L₁₅ se muestran a continuación:

TABLA 7. TEMPERATURAS DE FUSION DE SUPOSITORIOS CICLADOS A 0° y 45° C DURANTE QUINCE DIAS (EN ° C).

Cant.Masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
0.75	37.1	36.2	33.15	35.55	35.5

TABLA 8. TIEMPOS DE LICUEFACCION DE SUPOSITORIOS CICLADOS A 0° y 45° C DURANTE QUINCE DIAS (EN MINUTOS).

Cant.Masa (g)	Masa				
	1	2	3	4	5
0.75	9.48	4.67	2.58	6.58	4.75

En las figuras 7 y 8 se representan gráficamente los valores de las tablas 3 y 4 respectivamente.

FIGURA 7. TEMPERATURA DE FUSION DE SUPOSITORIOS.

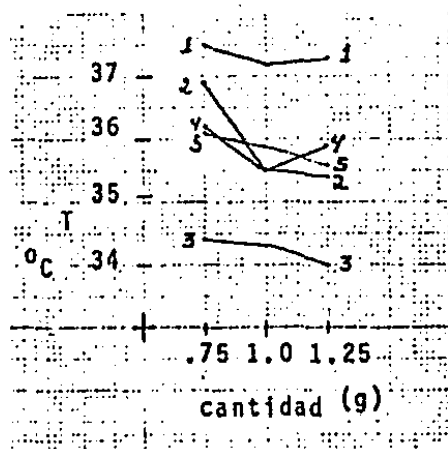
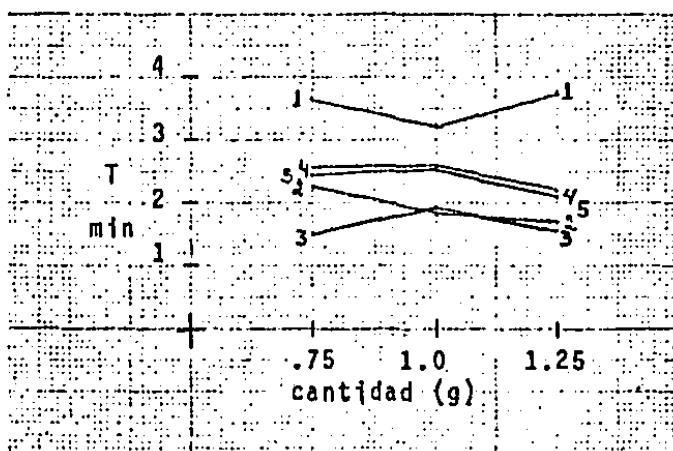


FIGURA 8. TIEMPO DE LICUEFACCION DE SUPOSITORIOS.



Se escogieron las masas de supositorios 1, 2 y 3 con una cantidad de 0.75 g por formulación, es decir, las formulaciones de los lotes L_{11} , L_{12} y L_{13} .

Finalmente se fabricaron los lotes de supositorios para ser utilizados en el estudio de bioequivalencia en voluntarios sanos. Las formulaciones A, B, y C se elaboraron con las masas 2, 3 y 1, respectivamente. La formulación D es la de referencia.

La fabricación de estos lotes estuvo supervisada por el departamento de control de calidad de la compañía en donde se realizó la tesis. A muestras de cada lote se les determinaron los siguientes análisis: apariencia, color, olor, contenido de agua, prueba de hermeticidad, punto de fusión y uniformidad de contenido.

Después de haber sido aprobado, también se supervisó que, de acuerdo al modelo estadístico del protocolo del estudio de bioequivalencia, se tuviera por separado, cada supositorio de bidamente etiquetado; la etiqueta indicaba el número de voluntario, la semana de estudio y la clave de la formulación (A, B, C o D).

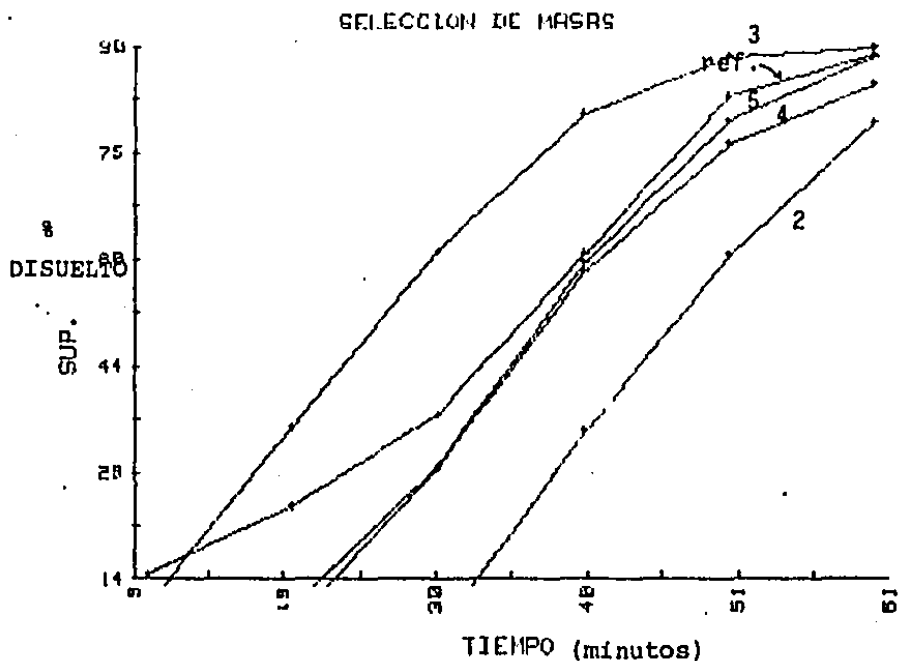
Después de todo esto, los supositorios fueron colocados en una caja, la cual fué sellada con una etiqueta de APROBADO.

4.1.1. SELECCION DE LAS FORMULACIONES.

La primera prueba de disolución sirvió para ayudar a escoger las masas de supositorios de las formulaciones del estudio de bioequivalencia. Fué un criterio adicional a los presentados en 4.2.

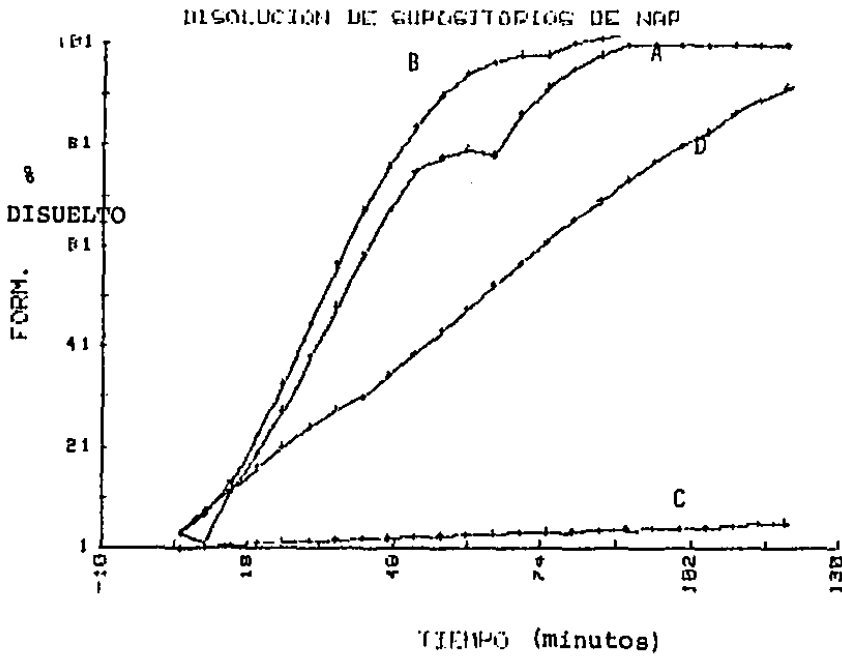
En la figura 9 se muestran los perfiles de disolución para los diferentes excipientes utilizados, excepto para la formulación con la masa 1, la cual liberó menos del 13 % del na - proxén contenido.

FIGURA 9. PERFILES DE DISOLUCION DE SUPOSITORIOS CON DIFERENTES EXCIPIENTES .



La segunda prueba de disolución se realizó con las formulaciones del estudio de bioequivalencia. Los perfiles de disolución se muestran en la figura 10.

FIGURA 10. PERFILES DE DISOLUCION DE LAS FORMULACIONES UTILIZADAS EN EL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA .



4.2. ESTUDIO " IN VIVO ".

4.2.1. METODO ANALITICO.

La validación del método analítico fué realizada ⁽⁴⁾de acuerdo a los criterios de linealidad, exactitud, precisión, repetibilidad, reproducibilidad y especificidad. Se efectuó una revalidación parcial para esta tesis, y los resultados concordaron con los reportados.

Los tiempos de retención son, de 8 minutos para el na-
proxén y de 6 minutos para el estándar interno.

Las muestras plasmáticas de los voluntarios del estudio de bioequivalencia no tardaron mas de 15 días en ser analiza-
das. Se reporta una estabilidad de seis semanas ⁽⁴⁾.

4.2.2. ESTUDIO EN VOLUNTARIOS.

Se calcularon las concentraciones plasmáticas de naproxén en cada voluntario para cada formulación. En la tabla 9 se muestran los valores promedio.

TABLA 9. VALORES PROMEDIO DE CONCENTRACION PLASMATICA DE NAPROXEN.

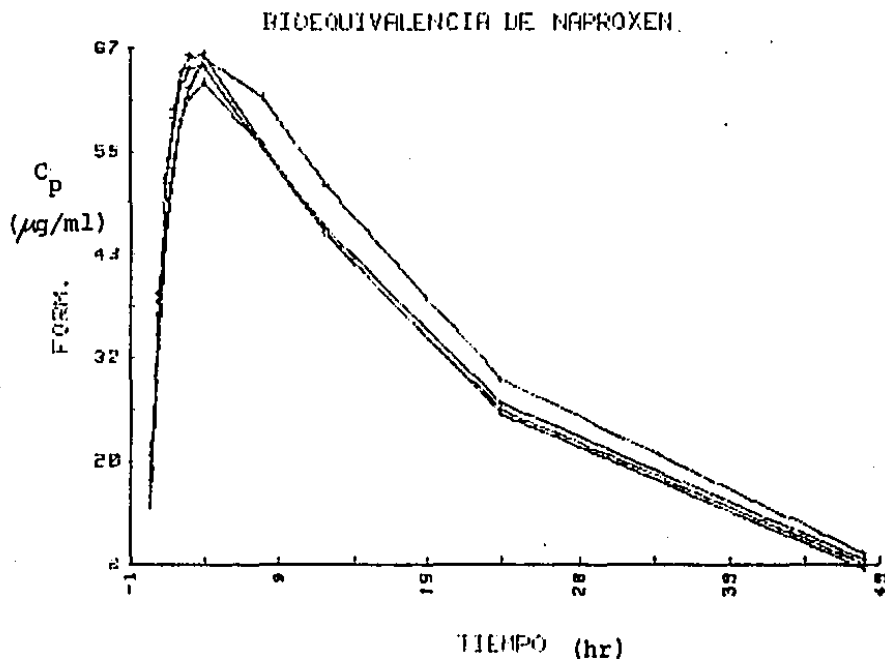
Tiempo (hr)	FORMULACIONES			
	A	B	C	D
0.5	17.04(6.62) ^a	18.43(11.13)	19.98(9.43)	14.10(5.34)
1.0	35.42(13.9)	38.05(16.09)	36.89(15.23)	38.47(13.58)
1.5	46.73(16.47)	50.84(18.10)	47.67(17.08)	52.10(18.06)
2.0	53.86(16.97)	58.84(18.12)	54.44(16.79)	59.71(19.47)
2.5	58.44(16.73)	63.49(16.92)	58.57(15.44)	63.83(19.37)
3.0	61.38(16.33)	65.85(15.05)	60.93(13.69)	65.86(18.50)
4.0	64.36(15.74)	66.40(10.63)	62.55(10.29)	66.51(15.69)
8.0	61.74(14.27)	54.22(1.46)	56.13(10.14)	56.53(6.66)
12.0	52.99(12.24)	43.82(4.12)	47.14(12.75)	45.77(6.57)
24.0	29.02(6.4)	26.20(2.86)	26.32(8.09)	24.84(4.85)
48.0	7.77(1.35)	10.04(1.85)	7.92(1.22)	7.58(2.31)

a: Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar

Los valores promedio de la tabla 9 fueron obtenidos de los voluntarios 1, 3, 7 y 8, los que participaron finalmente en el análisis estadístico. Los voluntarios 2, 5 y 6 tuvieron problemas de absorción en alguna de las formulaciones, y el voluntario 4 no terminó el estudio. El estudio se realizó en 6 semanas en lugar de cuatro.

En la figura 11 están graficados los valores promedio de la tabla 9.

FIGURA 11. CURVAS PROMEDIO DE LAS FORMULACIONES DEL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA.



Se encontró que el naproxén siguió un modelo farmacocinético de un compartimiento. Los estimados finales de pendientes e interceptos de la ecuación poliexponencial fueron ocupados para calcular los parámetros farmacocinéticos del naproxén, los cuales se enlistan en la tabla 10.

Las áreas bajo la curva estan calculadas a partir de las concentraciones estimadas por el ajuste no lineal, ocupando el método de los trapecios; en la tabla 11 se pueden observar los valores para áreas bajo la curva de 0 a 4 horas y de 0 a 48 horas. El T_{max} , la C_{max} , la constante de eliminación y la constante de absorción fueron calculados también a partir del ajuste no lineal.

TABLA 10. PARAMETROS FARMACOCINETICOS
DEL NAPROXEN.

Vol.	Formulación	$T_{1/2}$ (hr)	$T_{1/2}$ Abs. (hr)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	T_{max} (hr)
1	A	14.38	.6101	71.54	3.15
	B	20.62	1.336	70.25	3.45
	C	19.83	.9558	62.86	3.25
	D	14.71	.4783	58.00	2.70
3	A	12.09	1.619	86.02	5.75
	B	16.78	1.134	81.76	2.70
	C	15.96	.6813	69.40	2.50
	D	17.30	1.418	84.77	3.50

Vol.	Formulación	$T_{1/2}$ (hr)	$T_{1/2}$ Abs. (hr)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (hr)
4	B	17.77	1.236	48.28	5.10
5	A	11.81	.50	58.53	2.65
	B*	8.66	6.61	44.58	11.00
	C	10.17	1.00	52.52	4.10
	D	11.70	.589	72.24	3.10
6	B	16.91	.6446	53.83	3.45
	C	12.66	.812	57.77	3.85
	D	15.03	.5105	67.88	2.70
7	A	11.05	4.00	58.16	9.15
	B	14.69	1.90	56.71	6.65
	C	11.56	3.83	64.48	9.25
	D	13.57	2.58	59.39	7.80
8	A	13.11	.525	61.24	2.75
	B	17.89	1.09	67.86	3.75
	C	11.85	1.162	74.55	4.35
	D	10.79	.515	78.18	2.80

en donde $T_{1/2}$ y $T_{1/2}$ Abs. son los tiempos de vida media de eliminación y absorción respectivamente.

* Este voluntario enfermó de gripe durante el estudio con esta formulación.

TABLA 11. AREAS BAJO LA CURVA DEL ESTUDIO
DE BIOEQUIVALENCIA.

Vol.	Formulación	ABC ₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	ABC ₄₈ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)
1	A	222.9	1583.5
	B	209.5	1586.2
	C	192.8	1221.9
	D	186.4	1275.0
3	A	207.9	1974.1
	B	261.3	1469.5
	C	225.0	1349.8
	D	243.4	1566.2
4	B	133.4	1292.8
5	A	184.8	1124.2
	B*	67.95	1270.3
	C	140.3	999.6
	D	213.9	1401.8
6	B	161.5	1311.6
	C	158.7	1221.5
	D	222.4	1519.0

Vol. Formulación		ABC ₄ ($\mu\text{g.h/ml}$)	ABC ₄₈ ($\mu\text{g.h/ml}$)
7	A	107.9	1574.5
	B	124.2	1475.1
	C	111.6	1755.5
	D	121.4	1581.1
8	A	197.2	1264.2
	B	196.7	1427.8
	C	213.5	1597.5
	D	235.8	1417.7

en donde ABC₄ y ABC₄₈ son las áreas bajo la curva concentración plasmática- tiempo hasta las 4 y 48 horas, respectivamente.

* Este voluntario enfermó de gripe durante el estudio con esta formulación.

4.3. ANALISIS ESTADISTICO.

Se ocupó un diseño experimental cuadrado latino. Fueron escogidas como variables de respuesta en el análisis de varianza los siguientes parámetros: tiempo en que se alcanza la concentración máxima (T_{\max}), área bajo la curva hasta las 4 horas después de administrado el fármaco (ABC_4) y el área bajo la curva hasta las 48 horas (ABC_{48}).

Los dos primeros sirven para caracterizar la fase de absorción de las formulaciones, y el último (ABC_{48}) para calcular la cantidad total absorbida hasta las 48 horas.

En las tablas 12, 13 y 14 se muestran los análisis de varianza para las variables de respuesta: T_{\max} , ABC_4 y ABC_{48} , respectivamente.

TABLA 12. ANALISIS DE VARIANZA : T_{max} .

fuelle	g.l.	s.c.	c.m.	$f_{calc.}$ $\alpha = .01$	f_{tabla} $\alpha = .05$
SUJETOS	3	70.2969	23.4323		
SEMANAS	3	3.0956	1.0319	.8756	
FORMULACIONES	3	3.1606	1.0535	.8939	9.78 4.76
ERROR	6	7.0713	1.1785		
TOTAL	15	83.6244			

TABLA 13. ANALISIS DE VARIANZA : ABC_4

fuelle	g.l.	s.c.	c.m.	$f_{calc.}$ $\alpha = .01$	f_{tabla} $\alpha = .05$
SUJETOS	3	32004.00	10668.00		
SEMANAS	3	994.94	331.65	1.0037	
FORMULACIONES	3	632.64	218.88	0.6382	9.78 4.76
ERROR	6	1982.59	330.43		
TOTAL	15	35614.17			

TABLA 14. ANALISIS DE VARIANZA : ABC₄₈

fuerite	g.l.	s.c.	c.m.	$f_{\text{calc.}}$ $\alpha = .01$	f_{tabla} $\alpha = .05$
SUJETOS	3	117943.49	39314.50		
SEMANAS	3	234391.20	78130.40	3.119	
FORMULACIONES	3	46615.43	15538.48	0.6203	9.78 4.76
ERROR	6	150288.46	35048.08		
TOTAL	15	549238.57			

5. DISCUSION DE RESULTADOS.

5.1. ESTUDIO DE REFORMULACION.

En la tabla 3 se puede observar que las temperaturas de fusión mas altas corresponde a la serie de lotes con la cantidad de excipiente de 0.75 g (lotes L_{11} - L_{15}), correspondiendo el valor mas alto para la masa 1.

En la tabla 4 se nota en general que los supositorios - con masa 1 tardan mas en fundirse.

En las figuras 7 y 8 se tienen las representaciones gráficas de las tablas 3 y 4. Se puede ver que las formulaciones con la masa 1 son las que presentan valores más altos de temperaturas de fusión y de tiempo de licuefacción, mientras que las formulaciones con la masa 3 tienen los valores menores.

En las tablas 5 y 6 se muestran las temperaturas de fusión y el tiempo de licuefacción después de almacenar los supositorios a 0°C durante 4 días.

En general se nota un notable aumento en los lotes, tanto en las temperaturas de fusión como en los tiempos de licuefacción, sobre todo en los tiempos de licuefacción con la serie L_{11} - L_{15} y las formulaciones con masa 1. Probablemente hay un cambio polimórfico bajo estas condiciones de almacenamiento, pasando a una forma con mayor orden cristalino (qui-

zás la forma β_1) (17).

Supositorios de cada lote fueron ciclados a 0° y 45°C durante 15 días, los resultados para la serie L₁₁-L₁₅ se presentan en las tablas 7 y 8. También se nota un incremento en los valores de punto de fusión y tiempo de licuefacción, pero menor que los presentados en las tablas 5 y 6. Probablemente se induce la formación de un polimorfo de orden cristalino intermedio (posiblemente la forma β') (17). De nuevo el cambio mas notable sucede con la masa 1.

El naproxén sedimentó en la parte inferior de los supositorios, razón por la cual se tuvo cuidado de muestrear con capilares de vidrio en tres secciones diferentes de los supositorios, para la determinación del punto de fusión por el método ascendente.

Se comentó en las generalidades que es preferible formular supositorios con el principio activo en suspensión, lo cual se realizó con estas formulaciones.

El estudio de reformulación tuvo como finalidad la reducción de la cantidad de excipientes, por lo que, basado en los resultados de las tablas 3 y 4 se seleccionaron las masas 1, 2 y 3. La formulación de referencia (con un peso total de 2 g) está elaborada con la masa 2. Se puede observar que los cambios en las determinaciones físicas de las formulaciones con masa 2 están dentro de lo razonable.

5.2. SELECCION DE LAS FORMULACIONES.

Como no existe un método para disolución de supositorios de naproxén, se empleó un método para tabletas de naproxén sódico (61). Las pruebas de disolución sirvieron para ayudar a escoger las masas de supositorios para las formulaciones finales, y como un primer intento de correlación con un estudio de bioequivalencia.

En la figura 9 se ven los perfiles de disolución de los supositorios elaborados con las diferentes masas. La formulación con la masa 1 no aparece en la gráfica, pero liberó poco menos del 13 % de la dosis de naproxén, resultado que se relaciona bien con los de las tablas 3 y 4. Se observa la diferencia en los perfiles de disolución de la formulación de referencia y la fabricada con la masa 2 (ambas con el mismo excipiente).

Para la correlación se escogieron las formulaciones de perfiles de disolución mas alto y mas bajo: las formulaciones con las masas 1 y 3, además de la de referencia y la de masa 2 (la reformulación).

En la figura 10 se pueden ver los perfiles de disolución de las formulaciones finales. Se notan diferencias en los perfiles de disolución. Hay que recordar que la formulación C está elaborada con la masa 1.

5.3. ESTUDIO "IN VIVO".

En la tabla 9 se pueden ver las concentraciones promedio de naproxén a diferentes tiempos para las 4 formulaciones del estudio de bioequivalencia. En la figura 11 están graficados estos valores.

A simple vista las áreas bajo la curva se ven similares, pareciendo bioequivalentes.

Solamente se ocuparon los datos de los voluntarios 1, 3, 7 y 8. El voluntario 5 enfermó de gripe y fiebre en el transcurso de el estudio con la formulación B; como se puede apreciar en la tabla 10, sus parámetros farmacocinéticos se alteraron de manera significativa a consecuencia de la enfermedad.

El voluntario 4 no terminó el estudio. El voluntario 6 no presentó niveles plasmáticos de naproxén con la formulación A, y el voluntario 2 con ninguna.

En estos dos últimos voluntarios o bien, no se administraron el supositorio correspondiente o hubo algún problema de absorción con el naproxén. Esto último quizá pudo suceder con el voluntario 2, ya que no absorbió naproxén de ninguna de las formulaciones en estudio.

En la tabla 10 se tienen los parámetros farmacocinéticos del naproxén en todos los voluntarios para las diferentes formulaciones. El valor de tiempo de vida media promedio es de

13 horas, el cual coincide con el reportado (45). El voluntario 7 fué el que absorbió el naproxén con mayor lentitud de acuerdo con sus valores de constante de absorción y de T_{max} .

A excepción de los voluntarios 3 y 7, la C_{max} mas alta correspondió a la formulación de referencia. Basado en los antecedentes de determinaciones físicas (tablas 3 y 4) y perfiles de disolución (figura 10) se podría haber pensado que la formulación C tendría una marcada diferencia en sus parámetros farmacocinéticos en relación a las demás formulaciones, lo cual no sucedió.

Posiblemente las diferencias fisicoquímicas entre los triglicéridos semisintéticos no bastó para que hubiera una diferencia en la biodisponibilidad. El naproxén, en todas las formulaciones del estudio de bioequivalencia estuvo como suspensión, no como solución. El efecto fué parecido a lo reportado por Runkel et al (46) con formulaciones orales, en donde las distintas formulaciones no afectaron la biodisponibilidad del naproxén. Si se utilizaran otros excipientes químicamente diferentes como los polietilenglicoles en los cuales el naproxén se disuelve, seguramente la biodisponibilidad sería distinta.

Se reporta un comportamiento farmacocinético bicompartimental para el naproxén, sin embargo en el presente estudio el mejor ajuste correspondió a un modelo abierto de un compartimiento. Para las formulaciones orales se tiene un valor de

T_{\max} de alrededor de 2 horas (46), mientras que para los supositorios en este estudio se encontró de 4.28 horas (lo que concuerda con los valores reportados en (36)). La fase de distribución del naproxén es muy lenta (47) (valores de $k_{12} = 20.6 \text{ h}^{-1}$ y $k_{21} = .183 \text{ h}^{-1}$) y el tiempo de muestreo máximo fué de 48 horas. Si la formulación hubiera sido oral este tiempo de muestreo habría sido suficiente para caracterizar el modelo bicompartimental, considerando un T_{\max} de 2 horas. Sin embargo como el T_{\max} fué de 4.28 horas, la curva se desplazó hacia la derecha y el tiempo de muestreo no bastó para caracterizar el modelo de dos compartimientos.

En la tabla 11 se pueden ver los valores de áreas bajo la curva hasta las 4 y 48 horas (también ver figura 11). A simple vista no hay muchas diferencias entre los voluntarios 1, 3 y 8, excepto para ABC_4 del voluntario 7. La discusión estadística se hace en la siguiente sección.

5.4. ANALISIS ESTADISTICO.

Como se puede observar en las tablas 12, 13 y 14, al comparar los valores de F calculados a partir de los datos experimentales con el valor de F de tablas, no hay diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones, ni en la velocidad con que se absorbe el principio activo, ni en la cantidad total absorbida. Sin embargo el poder del diseño ex-

perimental fué bajo. Ocupando la ecuación 8-41 de la referencia (65) y la tabla A-13 de la referencia (12), se calculó la potencia del diseño para las variables de respuestas: T_{max} , ABC_4 y ABC_{48} , la cual tuvo un valor para las tres de aproximadamente 0.25. Esto quiere decir que el 25 % de las veces, el diseño es capaz de distinguir una diferencia de biodisponibilidad.

Obviamente es necesario tener una potencia mas alta, lo cual se consigue disminuyendo el error experimental ocupando un número mayor de voluntarios. El diseño estadístico seleccionado fué el cuadrado latino con replicación (diseño cruzado), el cual controla dos factores de confusión: semanas de estudio y sujetos, aunque tenga una potencia menor que por ejemplo, bloques al azar. El análisis de varianza de este diseño sólo indica si las variaciones son debidas a los tratamientos (formulaciones) o nó. Los altos valores de las sumas de cuadrados (sc) para los sujetos en las tablas 12, 13 y 14 sugieren que hay una fuerte variación de los parámetros farmacocinéticos (variables de respuesta) entre los diferentes voluntarios de el estudio de bioequivalencia.

5.5. CORRELACION "IN VIVO" - "IN VITRO".

Se intentó establecer una correlación ocupando el método de disolución de la sección 3.3. , pero debido a que las formulaciones no mostraron diferencias estadísticamente significativas bajo las condiciones del estudio, no fué posible establecer correlación alguna.

Chongsathien et al ⁽⁸⁾ encontraron una correlación significativa entre la absorción in vivo y la liberación in vitro, cuando supositorios de naproxén fueron colocados en una membrana de celofán (diálisis).

6 CONCLUSIONES.

La reducción de excipientes en los supositorios probados aumentó la viscosidad de la masa fundida durante el proceso de fabricación. Por otra parte, debido a que se mantuvo la misma dosis de 500 mg en los supositorios reformulados, la concentración del principio activo es mayor y por consiguiente es necesario tener mayor cuidado en la agitación, para evitar la sedimentación del naproxén. La temperatura de almacenamiento de los supositorios puede ser importante por su efecto en el fenómeno de endurecimiento.

Este estudio demuestra que las formulaciones elaboradas son bioequivalentes a la de referencia, sin embargo, el número reducido de voluntarios en el estudio le restó potencia al diseño estadístico. Se sugiere que a pesar de los problemas inherentes al trabajar con esta forma farmacéutica, se trate de contar con un número mayor de voluntarios.

**APENDICE 1. TABLAS DE CONCENTRACION
PLASMATICA DE CADA VOLUNTARIO A DIFERENTES TIEMPOS.**

VOLUNTARIO 1. FORMULACION A

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	25.02	22.10
1.0	41.31	47.25
1.5	54.85	60.67
2.0	77.68	67.47
2.5	76.28	70.54
3.0	70.39	71.50
4.0	66.36	70.45
8.0	39.87	59.04
12.0	44.70	48.69
24.0	26.80	27.29
48.0	14.50	8.57

VOLUNTARIO 1. FORMULACION B

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	18.86	17.48
1.0	38.77	39.52
1.5	50.66	53.77
2.0	61.93	62.53
2.5	67.73	67.44
3.0	74.54	69.73
4.0	68.95	69.59
8.0	49.62	54.62
12.0	48.36	44.15
24.67	27.29	27.95
48.25	12.38	12.66
24.0	-	28.59
48.0	-	12.77

VOLUNTARIO 1. FORMULACION C

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	20.35	20.67
1.0	38.46	39.27
1.5	55.84	50.87
2.0	53.38	57.68
2.5	60.09	61.28
3.0	63.61	62.72
4.0	62.68	61.83
8.25	46.19	45.75
12.0	34.14	34.97
24.167	19.45	18.97
48.0	7.72	7.93
8.0	-	46.65
24.0	-	19.1

VOLUNTARIO 1. FORMULACION D

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	19.83	20.34
1.0	44.33	42.56
1.5	51.60	52.56
2.0	56.04	56.67
2.5	57.49	57.93
3.0	57.15	57.83
4.0	55.98	56.06
8.0	50.85	46.67
12.0	36.49	38.66
24.083	20.58	21.88
48.25	8.21	7.01
24.0	-	21.97
48.0	-	7.09

VOLUNTARIO 3. FORMULACION A

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	18.52	13.60
1.0	28.75	32.90
1.5	46.50	47.86
2.0	59.27	59.34
2.5	48.12	68.02
3.0	96.18	74.46
4.0	83.87	82.32
8.0	-	81.91
12.0	63.38	68.10
24.0	35.65	34.67
46.17	12.39	9.73
48.0	-	8.76

VOLUNTARIO 3. FORMULACION B

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	32.65	33.74
1.0	60.35	57.77
1.5	71.33	71.68
2.0	78.71	78.83
2.5	78.31	81.54
3.0	81.50	81.43
4.0	80.00	76.79
8.0	50.41	52.51
12.0	40.93	39.93
24.0	23.73	23.39
46.083	8.92	9.39
48.0	-	8.68

VOLUNTARIO 3. FORMULACION C

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.583	35.28	34.32
1.0	48.73	52.00
1.5	66.54	63.30
2.0	69.08	68.16
2.5	67.77	69.39
3.0	67.24	68.64
4.0	66.03	64.62
8.0	47.34	48.12
12.0	39.57	38.42
23.5	21.60	22.79
46.833	9.11	8.27
0.5	-	29.54
24.0	-	22.30
48.0	-	7.86

VOLUNTARIO 3. FORMULACION D

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	16.85	16.69
1.0	44.28	43.95
1.5	61.08	62.16
2.0	73.06	73.74
2.5	81.63	80.51
3.0	85.04	83.85
4.0	82.92	84.02
8.0	61.41	61.34
12.0	44.33	44.41
22.883	25.91	25.71
46.583	9.74	9.89
24.0	-	24.55
48.0	-	9.35

VOLUNTARIO 4. FORMULACION B

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.75	26.90	20.27
1.0	16.40	25.06
1.5	29.30	32.63
2.0	45.83	38.09
2.5	33.75	41.95
3.0	56.52	44.62
4.0	41.13	47.48
8.0	44.25	45.63
12.0	41.18	39.59
24.0	25.80	24.88
48.0	8.37	9.78
0.5		14.68

VOLUNTARIO 5. FORMULACION A

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	17.64	16.97
1.0	-	41.20
1.5	45.63	52.36
2.0	61.78	57.02
2.5	65.82	58.46
3.0	46.52	58.31
4.0	51.20	56.11
8.0	41.21	44.69
12.0	36.52	35.34
24.0	19.00	17.47
48.0	4.82	4.27

VOLUNTARIO 5. FORMULACION B

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	9.17	4.63
1.0	9.33	9.54
1.5	16.16	14.00
2.0	17.17	18.04
2.5	20.79	21.69
3.0	20.57	24.97
4.0	22.80	30.53
8.0	47.86	42.62
12.0	50.94	44.39
24.67	21.48	28.72
50.42	9.68	5.72
24.0	-	29.70
48.0	-	6.76

VOLUNTARIO 5. FORMULACION C

t tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	7.26	4.80
1.0	20.65	22.70
1.5	30.66	34.72
2.0	42.45	42.59
2.5	48.66	47.55
3.0	52.86	50.48
4.0	57.00	52.50
8.0	40.77	44.29
12.0	30.32	33.99
24.167	17.65	14.84
48.0	6.92	2.92
24.0	-	15.01

VOLUNTARIO 5. FORMULACION D

t tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	9.30	9.12
1.0	42.11	41.89
1.5	58.59	59.01
2.0	67.60	67.47
2.5	81.32	71.16
3.0	85.89	72.22
4.0	79.41	70.73
8.0	39.65	56.82
12.0	34.39	44.85
24.0	20.71	22.03
47.833	5.82	5.37
48.0	-	5.32

VOLUNTARIO 6. FORMULACION B

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	13.10	12.22
1.0	29.98	32.12
1.5	43.85	43.24
2.0	49.80	49.24
2.5	50.88	52.26
3.0	56.30	53.55
4.0	54.96	53.54
8.0	42.91	46.43
12.0	-	39.42
24.0	24.29	24.10
48.417	10.27	8.86
48.0	-	9.01

VOLUNTARIO 6. FORMULACION C

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.833	22.24	20.50
1.0	25.99	26.69
1.5	38.85	40.61
2.0	47.26	49.01
2.5	54.11	53.88
3.0	57.98	56.47
4.0	62.45	57.74
8.0	43.97	49.09
24.5	20.53	19.93
52.833	7.84	4.22
0.5	-	4.63
12.0	-	39.52
24.0	-	20.49
48.0	-	5.50

VOLUNTARIO 6. FORMULACION D

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	29.0	29.78
1.0	54.4	51.67
1.5	61.3	61.94
2.0	63.1	66.34
2.5	63.8	67.77
3.0	74.1	67.72
4.0	69.0	65.79
8.0	50.4	55.06
12.0	44.9	45.79
24.0	28.6	26.33
48.0	-	8.71

VOLUNTARIO 7. FORMULACION A

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	10.98	9.42
1.0	17.24	16.80
1.5	22.37	23.31
2.0	27.48	29.04
2.5	35.46	34.06
3.0	37.13	38.43
4.0	43.60	45.48
8.0	61.37	57.72
12.0	55.84	56.08
24.0	30.83	33.39
48.0	10.56	7.93

VOLUNTARIO 7. FORMULACION B

tiempo (h)	conc. plasm. observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc. plasm. calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	10.3	7.17
1.0	13.9	18.47
1.5	25.4	27.60
2.0	33.0	34.92
2.5	43.7	40.74
3.0	49.3	45.32
4.0	45.9	51.57
8.0	62.5	55.99
12.0	44.2	49.44
24.0	12.7	28.73
48.0	10.9	9.26

VOLUNTARIO 7. FORMULACION C

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	9.97	7.03
1.0	12.18	15.71
1.5	24.93	23.37
2.0	36.29	30.10
2.5	31.56	36.00
3.0	35.17	41.11
4.0	47.90	49.38
8.0	72.72	63.86
12.0	59.10	62.37
24.67	33.29	36.33
48.08	13.06	9.39
24.0	-	37.64
48.0	-	9.43

VOLUNTARIO 7. FORMULACION D

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	8.62	8.98
1.0	19.59	18.50
1.5	27.08	26.56
2.0	33.03	33.34
2.5	38.73	39.02
3.0	42.15	43.73
4.0	50.47	50.77
8.0	61.92	59.36
12.0	54.08	54.54
23.967	29.48	31.83
48.533	11.74	9.13
24.0	-	31.77
48.0	-	9.38

VOLUNTARIO 8. FORMULACION A

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	22.93	23.05
1.0	45.47	44.73
1.5	53.79	55.08
2.0	60.61	59.60
2.5	58.72	61.12
3.0	64.07	61.11
4.0	59.52	59.19
8.0	48.92	48.29
12.0	35.45	39.08
24.167	21.88	20.54
48.0	7.60	5.82
24.0	-	20.72

VOLUNTARIO 8. FORMULACION B

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	14.38	15.34
1.0	39.24	36.44
1.5	48.44	50.32
2.0	58.67	59.08
2.5	64.42	64.25
3.0	66.84	66.91
4.0	67.95	67.64
8.0	54.11	53.75
12.0	41.15	41.77
24.0	24.54	24.08
48.25	9.09	9.34
48.0	-	9.43

VOLUNTARIO 8. FORMULACION C

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	28.81	22.69
1.0	33.00	40.56
1.5	52.00	53.14
2.0	57.00	61.81
2.5	65.80	67.60
3.0	77.20	71.27
4.0	85.50	74.37
8.0	58.50	65.88
12.0	48.80	52.79
24.0	28.50	26.22
48.0	11.70	6.45

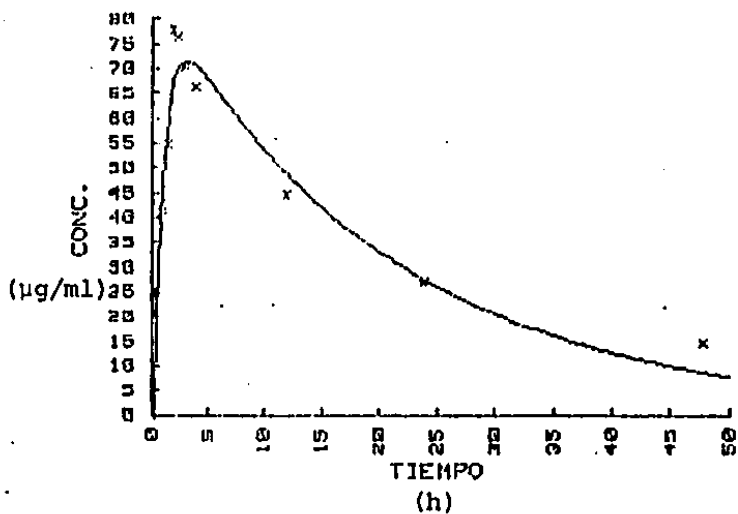
VOLUNTARIO 8. FORMULACION D

tiempo (h)	conc.plasm.observada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	conc.plasm.calculada ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.5	13.22	10.38
1.0	38.05	48.85
1.5	77.00	67.10
2.0	55.24	75.08
2.5	65.32	77.87
3.0	82.68	78.04
4.0	68.18	75.17
8.0	58.31	58.74
12.0	25.73	45.45
24.67	20.90	20.16
48.0	6.21	4.51
24.0	-	21.05

**APENDICE 2. CURVAS DE CONCENTRACION PLASMATICA
VS TIEMPO DE CADA VOLUNTARIO .**

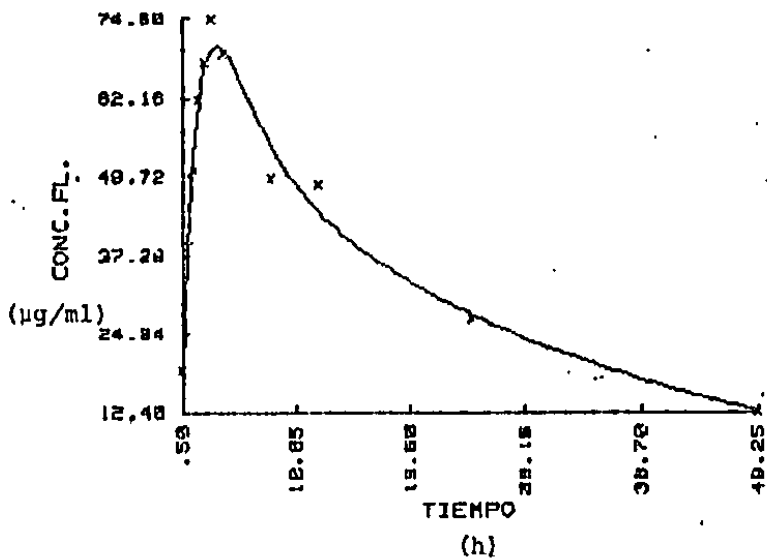
VOLUNTARIO 1 Form A

BIOEQUIVALENCIA DE NÁPROXEN

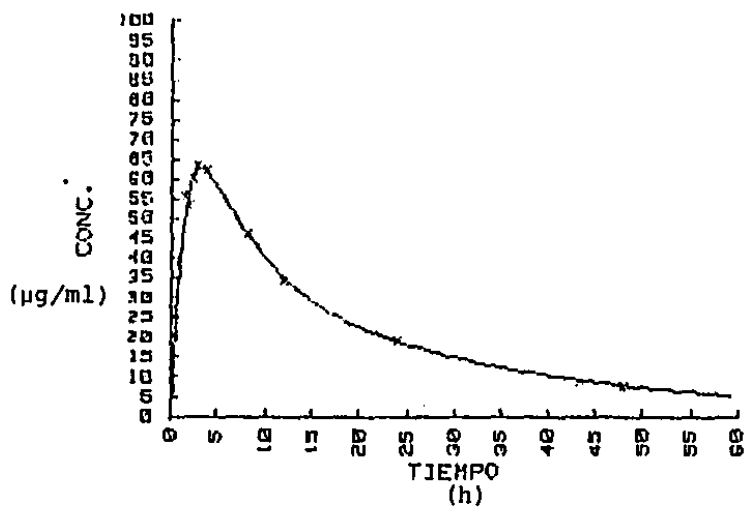


VOLUNTARIO 1 Form B

BIOEQUIVALENCIA DE NÁPROXEN

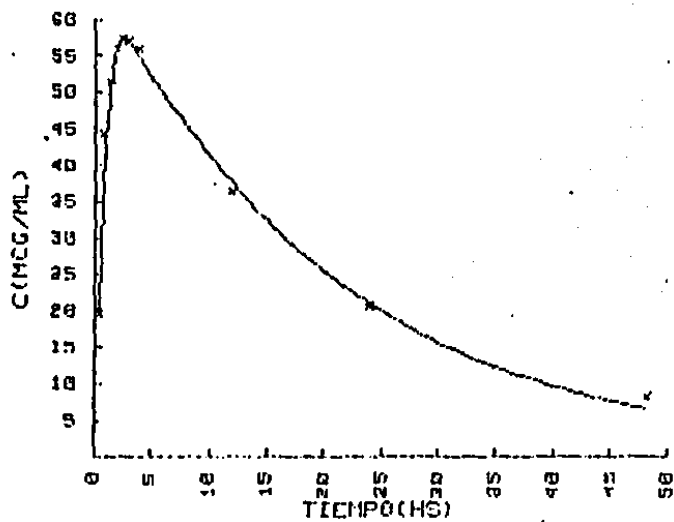


BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN

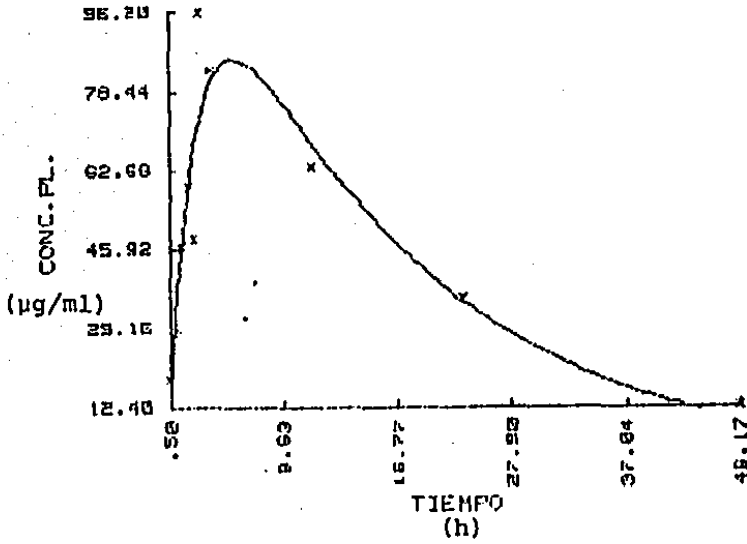


VOLUNTARIO 1 Form D

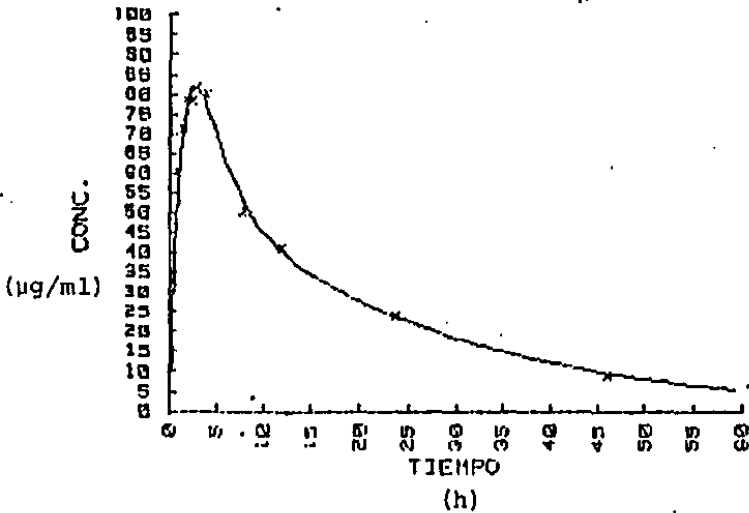
NAPROXEN



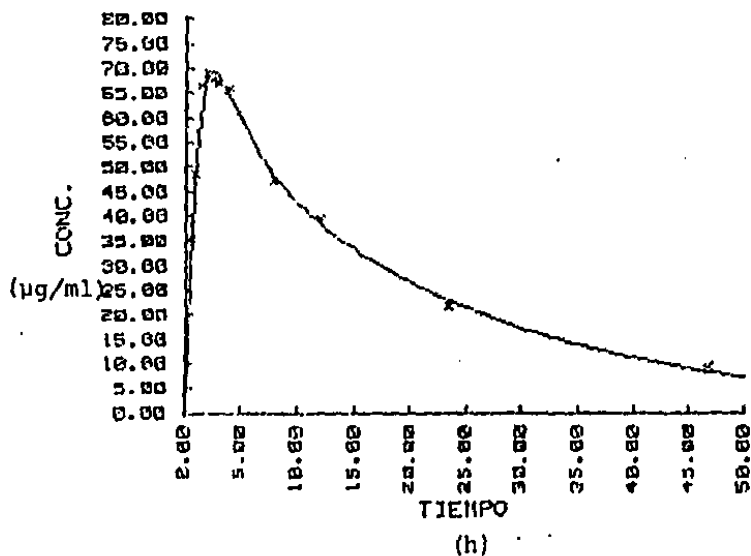
VOLUNTARIO 3 Form A
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



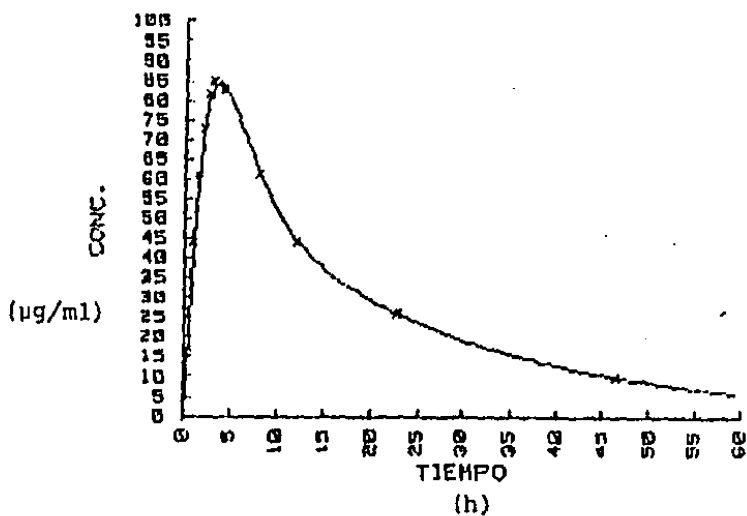
VOLUNTARIO 3 Form B
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



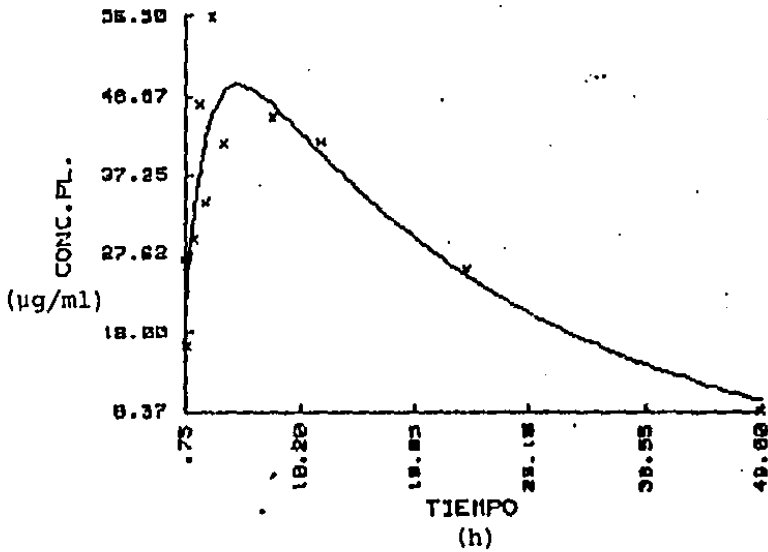
VOLUNTARIO 3 Form C
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



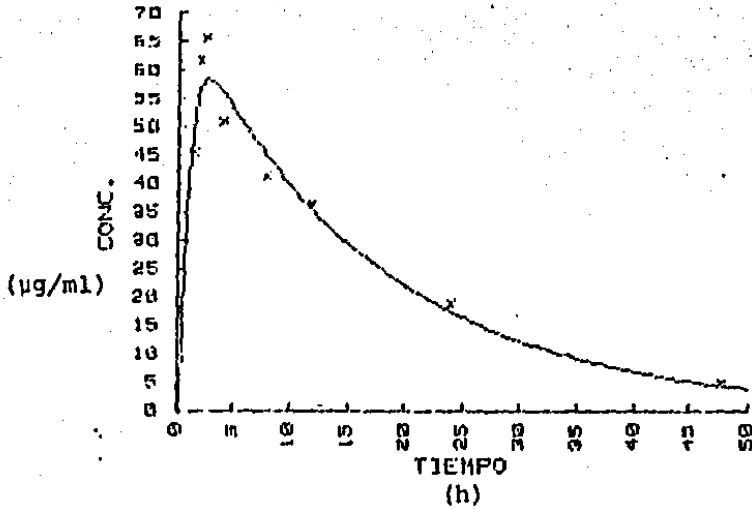
VOLUNTARIO 3 Form D
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



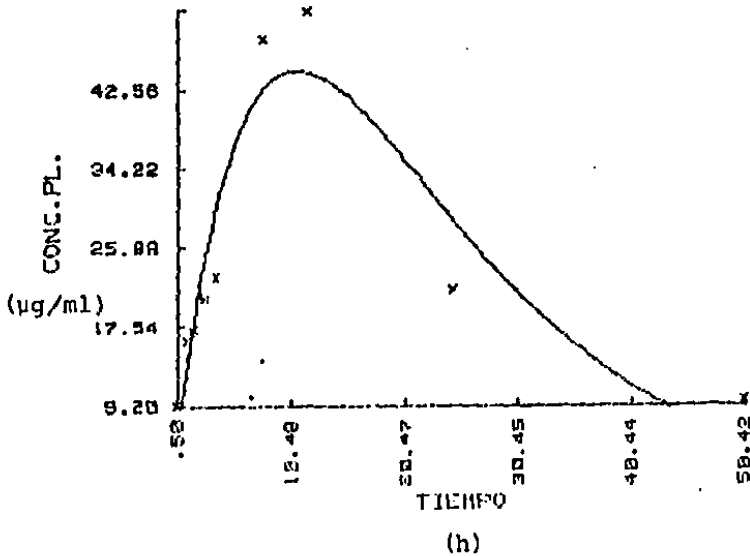
VOLUNTARIO 4 Form B
BIOEQUIVALENCIA DE NAFROXEN



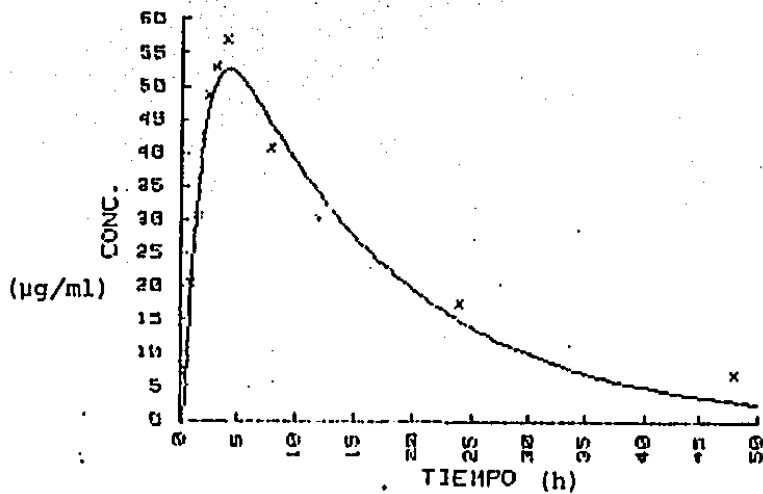
VOLUNTARIO 5 Form A
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



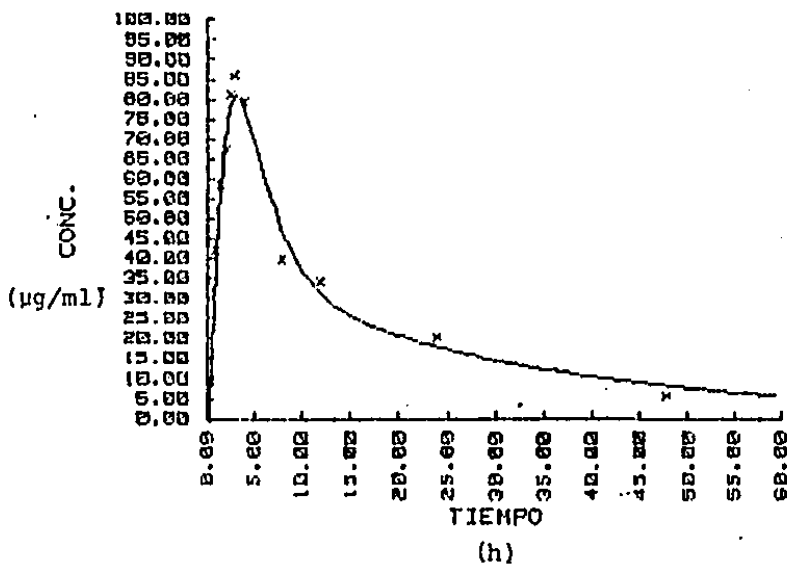
VOLUNTARIO 5 Form B
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



YOLUNTARIO 5 Form. C
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN

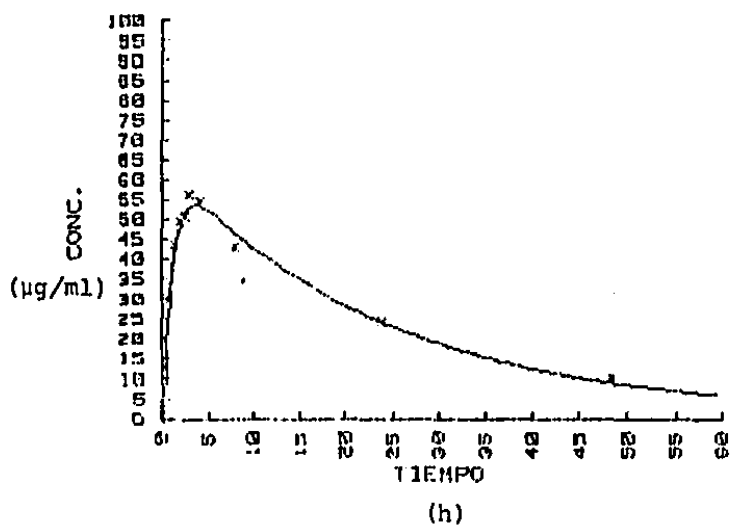


YOLUNTARIO 5 Form D
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



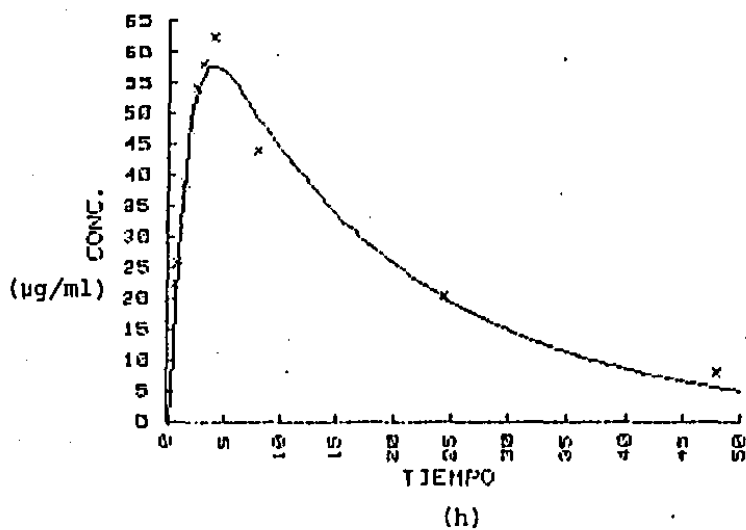
VOLUNTARIO 6 Form B

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN

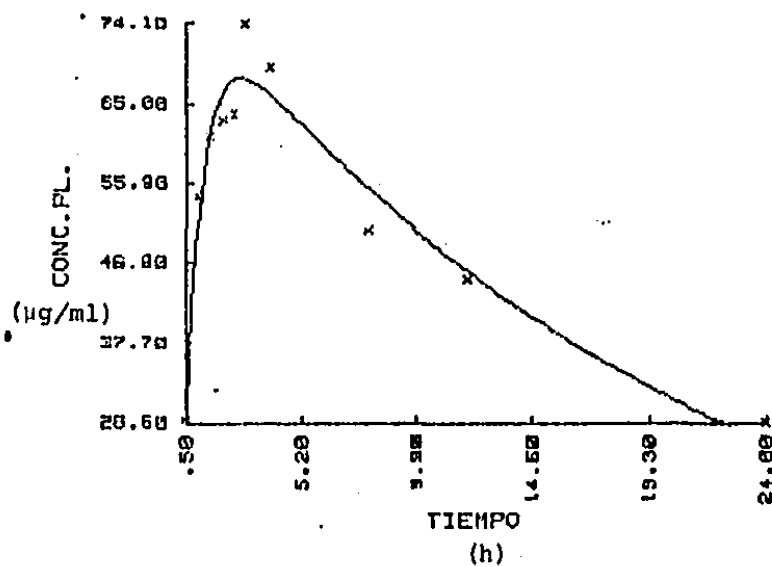


VOLUNTARIO 6 Form C

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN

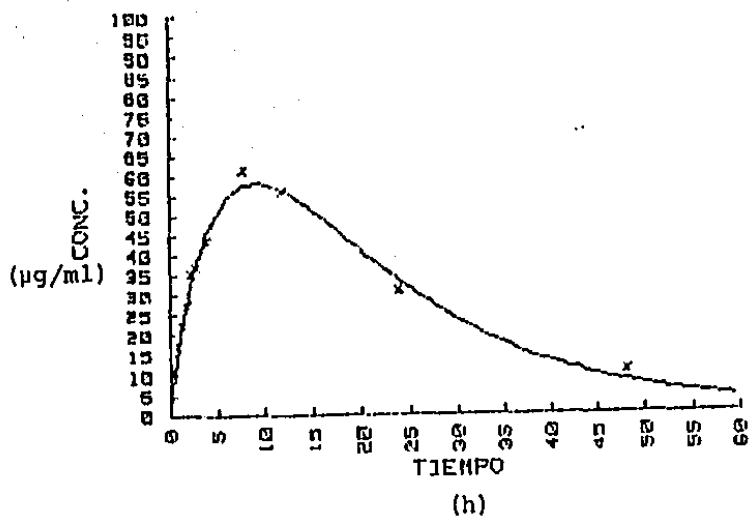


VOLUNTARIO 6 Form D
BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



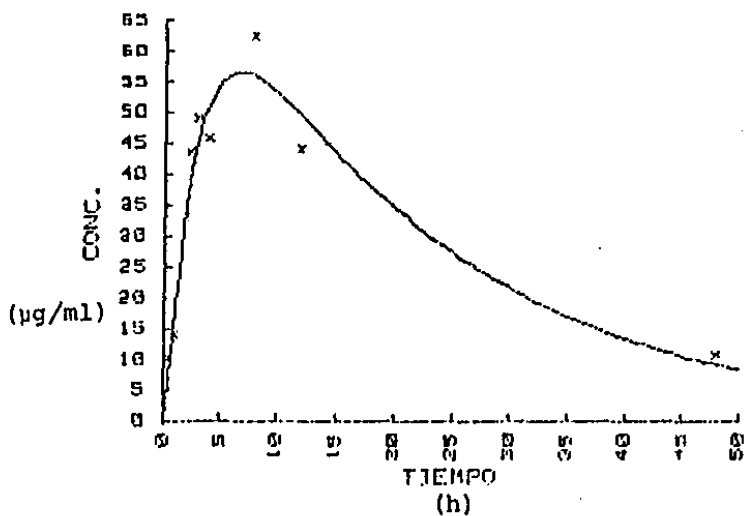
VOLUNTARIO 7 Form A

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



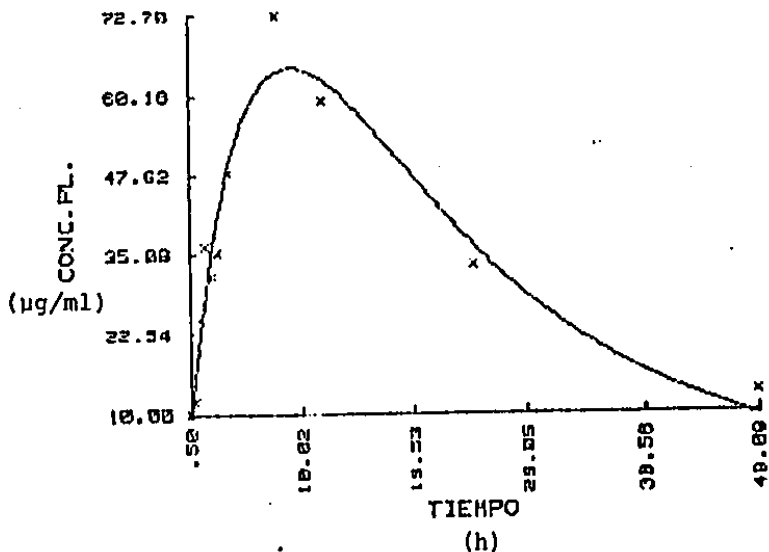
VOLUNTARIO 7 Form B

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



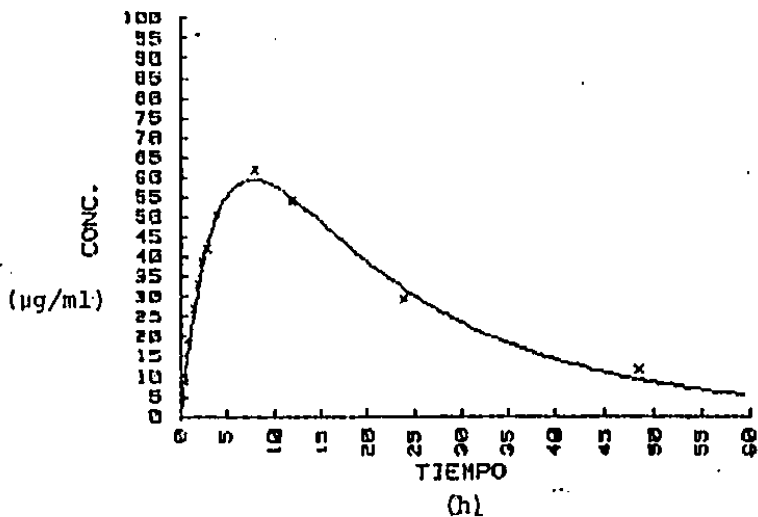
VOLUNTARIO 7 Form C

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



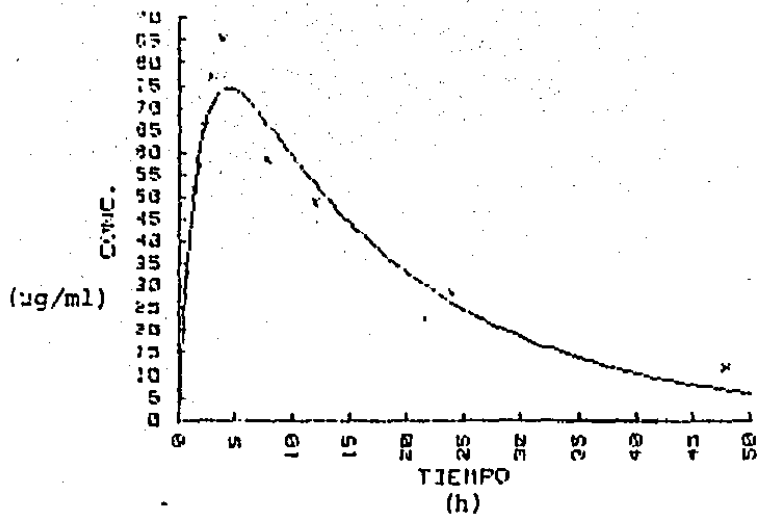
VOLUNTARIO 7 Form D

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



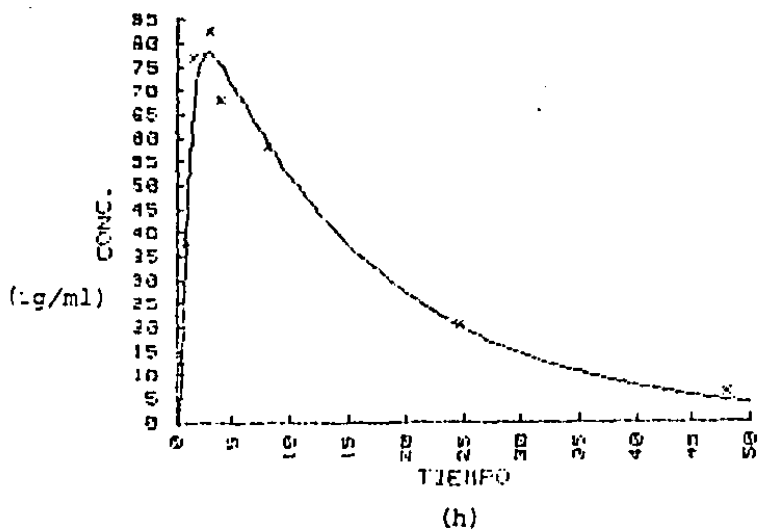
VOLUNTARIO 8 Form C

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



VOLUNTARIO 8 Form D

BIOEQUIVALENCIA DE NAPROXEN



**APENDICE 3. PROTOCOLO ENTREGADO A LOS
VOLUNTARIOS DEL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA .**

ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA DE FORMULACIONES DE
SUPOSITORIOS DE NAPROXEN Y CORRELACION "IN VIVO"-"IN VITRO".

1.- Efectos farmacológicos del naproxén.- El naproxén es un fármaco con potente actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética, con mayor actividad que la aspirina y la fenilbutazona.

2.- Selección de voluntarios.- Se incluirán en el estudio 12 voluntarios de ambos sexos de 18 a 40 años de edad de acuerdo al siguiente criterio:

Admisión:

- 1.- Estar dispuestos a tomar parte en el estudio.
- 2.- Tener buena salud.
- 3.- Funciones hepática y renal normales.
- 4.- Firmar una hoja de consentimiento.

Exclusión:

- 1.- Los sujetos que presentan hipersensibilidad a la aspirina y similares.
- 2.- Los sujetos que presenten insuficiencia renal, gástricas o hepáticas.
- 3.- Sujetos que hayan tomado alcohol o cualquier medicamento una semana antes del estudio.
- 4.- Fumadores.
- 5.- Quienes hayan tomado cualquier fármaco inductor

enzimático 15 días antes de iniciar el estudio.

3.- Método.- Se les pondrá un punzocat a cada voluntario, y se les tomará una muestra de sangre de 7 ml, inmediatamente se aplicarán un supositorio cada uno a las 8:00 horas; posteriormente se les tomarán otras muestras de sangre de 7 ml en tubos heparinizados (vacutainer tapón verde) a los siguientes tiempos:

0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de administrado el supositorio. El punzocat será retirado a las 12 horas. El estudio será realizado en 4 semanas, correspondiendo cada una a una formulación.

Los supositorios serán entregados el día que corresponda en una bolsa con una etiqueta que contenga la siguiente información: número de voluntario y semana de administración.

Entre la semana 2 y 3 habrá un descanso de un mes aproximadamente. Las comidas serán proporcionadas a los voluntarios en el siguiente horario:

desayuno a las 12 horas

comida a las 17 horas

Los voluntarios deben estar en ayuno total desde las 21 horas del día anterior.

4.- Efectos adversos.- Pueden presentarse ocasionalmente dolor de cabeza, náuseas, fiebre y molestias gastrointestinales.

Se contará con supervisión médica durante todo el estudio.

**APENDICE 4. HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA
PARTICIPAR EN EL ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA .**

HOJA DE CONSENTIMIENTO

Nombre : _____
Dirección : _____
Teléfono : _____
Peso : _____
Edad : _____

En forma voluntaria y en pleno uso de mis facultades mentales, por este medio, hago constar y así consigno mi firma, que he sido informado sobre los peligros en que puedo incurrir al participar en este estudio de bioequivalencia de formulaciones de supositorios de naproxén y correlación "in vivo"- "in vitro". La información recibida, la cual he leído cuidadosamente se anexa a este documento.

Igualmente hago constar que seguiré fielmente todas las instrucciones que he recibido con respecto a la toma del medicamento y a la recolección de muestras.

FIRMA

FECHA

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Aiache J.M., Devissaguet J.Ph y Guyot H. " Biofarmacia". Ed. El Manual Moderno, S.A. de C.V., México 1983.
- 2.- Anttila M., Haataja M., Kasanen A. " Pharmacokinetics of naproxen in subjects with normal and impaired renal function ". Eur J Clin Pharmacol 18/ 263-268 (1980).
- 3.- Arumugham R., Bose S.M." Effect of indomethacin and naproxen on the metabolism of glycosaminoglycans ". Scand J Rheumatol 11/ 225-229 (1982).
- 4.- Basilio García Raquel." Estudio de bioequivalencia de dos formas farmacéuticas conteniendo la sal sódica del ácido d-2-(6'-metoxi- 2'- naftil) propiónico ". Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México, México,D.F. 1984.
- 5.- Brogden RN, Hell RC, Speight TM et al. " Naproxen up to date: a review of its pharmacological properties and the therapeutic efficacy and use in rheumatic diseases and pain states ". Drugs 18/ 241-277 (1979).
- 6.- Bruno JJ, Ellis DJ, Brown CA et al." Effects of naproxen on bleeding time and platelet function in normal subjects ". Clin Pharmacol Ther 27/ 247 (1980).
- 7.- Chiou WL and Niazi S. " Phase diagram and dissolution rate studies on sulfathiazole- urea solid dispersions ". J Pharm Sci 60/9/ 1333- 1337 (1971).
- 8.- Chongsathien G and Plakogiannis FM. " Medicament release from suppositories bases II. Naproxen physicochemical characteristics and bioavailability in rabbits ". Drug Development and Industrial Pharmacy 6/3/ 225-278 (1980).
- 9.- Coben LJ and Lordi NG. " Physical stability of semisynthetic suppository bases ". J Pharm Sci 69/8/ 955-960 (1980).
- 10.-Crook D, Collins AJ, Bacon PA et al." Prostaglandin synthetase activity from human rheumatoid synovial microsome, effect of 'aspirin-like' drug therapy ". Ann Rheum Dis 35/ 327-332 (1976).

- 11.-Day RO, Furst DE, Dromgoole SH et al." Relationship of serum naproxen concentration to efficacy in rheumatoid arthritis ". Clin Pharmacol Ther 31/6/ 733-740 (1982).
- 12.-Dixon WJ and Massey FJ." Introduction to statistical analysis ". Mc Graw Hill 1957.
- 13.-Ellis DJ and Martin B." The plasma protein binding properties of a new non-steroidal anti-inflammatory agent, abstracted ". Fed Proc 30/ 1200 (1971).
- 14.-Fleming Virginia." Naprosyn (naproxen) . Clinical and technical review ". Syntex Laboratories, Inc. 1984.
- 15.-Flores JJ and Rojas SV." Naproxen: corticosteroid-sparing effect on plasma naproxen concentration ". Am J Hosp Pharm 36/ 1567-1569 (1979).
- 16.-Gamst OM, Vesje AK and Aarbakke J." Bioavailability of naproxen sodium suppositories ". Int J of Clin Pharm Ther and Toxicol 22/2/ 99-103 (1984).
- 17.-Glas B and Blaeys CJ." Rectal Therapy ". Proceedings of the symposium on the advantages and problems encountered in rectal therapy. Remy de Provence, 7-8 Oct 1983. J.R. Prous Publishers, Barcelona, Spain.
- 18.-Haleblan JK, Koda RT and Biles JA." Isolation and characterization of some solid phases of fluprednisolone ". J Pharm Sci 60/10/ 1485-1488 (1971).
- 19.-Helman Jose." Farmacotecnia teórica y práctica ".Tomo VII Compañía Editorial Continental, S.A., México 1981.
- 20.-Jalava S, Saarima H, Anttila M et al." Naproxen concentrations in serum, synovial fluid and synovium ". Scand J Rheumatol 6/ 155-157 (1977).
- 21.-Katona G., Burgos R and Ortega E." Pharmacokinetics of a single dose of naproxen in plasma and synovial fluid ". IX European Congress of Rheumatology. Wiesbaden, Germany Sept 1979.
- 21a.Knie U." Fluorometric determination of naproxen in serum by direct quantitative high performance thin-layer chromatography (German) ". J Chromatogr 275/ 255-257 (1983).
- 22.-Kruze D, Fehr K and Boni A." Effect of antirheumatic drugs on cathepsin B1 from bovine spleen ". Z Rheumatol 35/ 95-102 (1976).
- 23.-Kruze D, Fehr K, Menninger H et al." Effect of antirheumatic drugs on neutral protease from human leucocyte granules ". Z Rheumatol 35/ 3337-346 (1976).

- 24.-Lanza FL, Royer GL, Nelson RS et al." The effects of ibuprofen, indomethacin, aspirin, naproxen, and placebo on the gastric mucosa of normal volunteers ". Dig Dis Sci 24/ 823-828 (1979).
- 25.-Lee BL, Huang and Martin SB." A high performance liquid chromatographic method for the determination of naproxen in human plasma ". Analytical Method AMC 017.
- 26.-Lowenthal W and Borzelleca JF." Drug absorption from the rectum I ". J Pharm Sci 54/12/ 1790-1794 (1965).
- 27.-Lussier A, Mykal D, Camerlain M et al." Long-term clinical assessment of naproxen on rheumatoid arthritis patients and 51-Cr gastrointestinal bleeding on volunteers". Arzneimittel Forsch 25/ 294-298 (1975).
- 28.-Mirouze D, Zipser RD and Reynolds TB." Effects of inhibitors of prostaglandin synthesis on induced diuresis in cirrhosis". Hepatology 3/ 50-55 (1983).
- 29.-Mizushima Y, Ishii Y and Masumoto S." Physico-chemical properties of potent nonsteroidal anti-inflammatory drugs ". Biochem Pharmacol 24/ 1589-1592 (1975).
- 30.-Moolenaar F and Schoonen AJM." Biopharmaceutics of the rectal administration of drugs ". Pharmacy International 144-147 (July 1980).
- 31.-Muñiz Granados Aristeo." Estudio comparativo de dos métodos analíticos específicos para la determinación cuantitativa de la sal sódica del ácido d-2- (6-metoxi- 2'-naftil) propiónico en tabletas, cápsulas, soluciones y suspensiones ". Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1982.
- 32.-Nadell J, Bruno J, Varady J et al." Effect of naproxen and of aspirin on bleeding time and platelet aggregation ". J Clin Pharmacol 14/ 176-182 (1974).
- 33.-Nieremberg DW." Competitive inhibition of methotrexate accumulation in rabbit kidney slices by nonsteroidal anti-inflammatory drugs ". J Pharmacol Exp Ther 22/1-6 (1983).
- 34.-Pagay SN, Poust RI and Colaizza J." Influence of vehicle dielectric properties on acetaminophen bioavailability from polyethylene glycol suppositories ". J Pharm Sci 63/1/ 44-47 (1974).

- 35.-Parrot EL." Salicylate absorption from rectal suppositories ". J Pharm Sci 60/6/ 867-872 (1971).
- 36.-Pena et al." Naproxen- metoxipropiocien sódica. Estudios de biodisponibilidad ". Latino, departamento de investigación. Madrid, Esp., Junio de 1978.
- 37.-Puffer HW and Crowell WJ." Salicylate release characteristics of selected polyethylene glycol suppositories ". J Pharm Sci 62/2/ 242-245 (1973).
- 38.-Rainsford KD." The comparative gastric ulcerogenic activities of nonsteroid antiinflammatory drugs ". Agents Actions 7/ 573-577 (1977).
- 39.-Rae SA, Williams IA, English J et al." Alterations of plasma prednisolone levels by indomethacin and naproxen ". Br J Clin Pharmacol 14/ 459-461 (1982).
- 40.-Rieu JP, Boucherle A, Cousse H et al." Method for the synthesis of antiinflammatory 2- aryl propionic acids ". Tetrahedron 42/15/ 4095-4131 (1986).
- 41.-Román F, Gutiérrez CR, Ortega E. y Garzón A." Bioequivalencia de naproxén sódico ". Rev Soc Quím Mex. 23/2/ 62-68 (1979).
- 42.-Roszkowski AP, Rooks W, Tomolonis A et al." Pharmacological properties of naproxen ". Scand J Rheum, supp 2/ 12-19 (1973).
- 43.-Roszkowski AP, Rooks WH, Tomolonis AJ et al." Antiinflammatory and analgetic properties of d-2-(6'-methoxy-2'- naphtyl) propionic acid (naproxen)". J Pharmacol Exp Ther 179/ 114-123 (1971).
- 44.-Runkel R, Chaplin MD, Sevelius H et al." Pharmacokinetics of naproxen overdoses ". Clin Pharmacol Ther 20/ 3/ 269-277 (1976).
- 45.-Runkel R, Forchielli E, Sevelius H et al." Nonlinear plasma level response to high doses of naproxen ". Clin Pharmacol Ther 15/3/ 261-266 (1973).
- 46.-Runkel RA, Kreft KS, Boost G et al. " Naproxen oral absorption characteristics ". Chem Pharm Bull 20/7/ 1457-1466 (1972).

- 47.-Runkel R, Chaplin M, Boost G et al." Absorption, distribution, metabolism, and excretion of naproxen in various laboratory animals and human subjects ". J Pharm Sci 61/5/ 703-708 (1972).
- 48.-Runkel R, Forchielli, Boost G et al." Naproxen- metabolism, excretion and comparative pharmacokinetics ". Scand J Rheum, Supp 2/ 29-36 (1973).
- 49.-Runkel RA et al." Quantitative analysis of d-2- (6'-methoxy-2'-naphthyl) propionic acid in blood plasma ". Method No. 10, 123 A. Syntex Research, Dic 14 1976.
- 50.-Runkel R, Mroszczak E, Chaplin M et al." Naproxen- probenecid interaction ". Clin Pharmacol Ther 24/ 706-713 (1978).
- 51.-Segre EJ, Sevelius H, Varady J." Effects of antacids on naproxen absorption ". N Engl J Med 291/ 582-583 (1974).
- 52.-Segre EJ." Drug interactions with naproxen ". Eur J Rheumatol Inflamm 2/ 12-18 (1979).
- 53.-Segre EJ." Naproxen metabolism in man ". J Clin Pharmacol 15/ 316-323 (1975).
- 54.-Sevelius H, Runkel R, Pardo A et al." Naproxen suppository: tissue response and comparative bioavailability ". Europ J Clin Pharmacol 6/ 22-25 (1973).
- 55.-Smith RV and Stewart J." Textbook of biopharmaceutics analysis ". Lea and Febiger, Philadelphia 1981.
- 56.-Steel RG and Torrie J." Principles and procedures of statistics. A biometrical approach ". Mc Graw Hill International 1981.
- 57.-Sunwoo Ch and Eisen H." Solubility parameter of selected sulfonamides ". J Pharm Sci 60/2/ 238-244 (1971).
- 58.-Suzuki Y, Ito M and Yamagami I." Mechanism of action of a new anti-inflammatory agent, naproxen (II). Effects of naproxen on activities of mucopolysaccharase, acid protease and collagenolytic enzymes in inflamed tissues ". Jpn J Pharmacol 26/ 91-103 (1976).
- 59.-Thompson GF, Collins JM." Urinary metabolic profiles for choosing test animals for chronic toxicity studies : application to naproxen ". J Pharm Sci 62/ 937-941 (1973).

- 60.-Tiselius P." Hydroxyproline excretion in the urine as a measure of antiinflammatory effect in rheumatic patients using naproxen ". Scand J Rheumatol, Supp 2/ 109-112 (1973).
- 61.-The United States Pharmacopeial Convention, Inc." The United States Pharmacopeia ". Twenty- first revision. Mack printing company, Easton, Pa. 1985.
- 62.-Yacobi A and Levy G." Effect of naproxen on protein binding of warfarin in human serum ". Res Commun Chem Pathol Pharmacol 15/ 369-372 (1976).
- 63.-Yeung L and Mactier RA." Antagonistic effect of non-steroidal antiinflammatory drugs on furosemide- induced diuresis in cardiac failure ". Br Med J 283/ 714 (1981).
- 64.-Wanwimolruk S, Brooks PM and Birkett DJ." Protein binding of non-steroidal antiinflammatory drugs in plasma and synovial fluid of arthritic patients ". Br J Clin Pharmacol 15/ 91-94 (1983).
- 65.-Wagner JG." Fundamentals of clinical pharmacokinetics ". Drug Intelligence Publications, Inc, Illinois 1975.
- 66.-Weber SS, Troutman WG and Trujeque L." Effect of hemodialysis on plasma naproxen concentration ". Am J Hosp Pharm 36/ 1567-1569 (1979).
- 67.-Weiss AL and Sciarrone BY." Release rates of salicylates from cocoa butter I ". J Pharm Sci 58/8/ 980-982 (1969).
- 68.-Windholz M. Editer." The Merck Index .An encyclopedia of chemicals and drugs ". Ninth edition. Merck Co., Inc. Rahway, N.J., USA 1976.