



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y
DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.**

**Estudio de bioequivalencia y evaluación farmacocinética de tabletas de
Paracetamol Vs. Paracetamol más Cafeína en voluntarios sanos
mexicanos**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

PRESENTA

M.S.P. NORA ANGÉLICA NÚÑEZ GUZMÁN

**Director de Tesis: Dr. Hugo Esquivel Solís
Co-Director de tesis: M.C. Daniel Ruiz Molina
Asesor: D.C. Jorge Eduardo Herrera Abarca**

GUADALAJARA, JALISCO, DICIEMBRE, 2017

Guadalajara, Jalisco a 15 de diciembre de 2017

CONSEJO INSTITUCIONAL DE POSGRADO
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO
DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.

P R E S E N T E

Los abajo firmantes miembros del jurado del Examen de Grado de la estudiante M.S.P. Nora Angélica Núñez Guzmán, una vez leída y revisada la tesis titulada “ESTUDIO DE BIOEQUIVALENCIA Y EVALUACIÓN FARMACOCINÉTICA DE TABLETAS DE PARACETAMOL VS. PARACETAMOL MÁS CAFEÍNA EN VOLUNTARIOS SANOS MEXICANOS“, aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por la estudiante para aspirar al grado de Maestra en Investigación Clínica durante el examen correspondiente.

Y para que así conste firmamos la presente a los 15 días del mes de diciembre del año 2017.

Dra. Ana Laura Márquez Aguirre
Presidente

D.C. Jorge Eduardo Herrera Abarca
Secretario

Dr. Hugo Esquivel Solís
Vocal

M.C. Daniel Ruiz Molina
Comité

Dedico esta tesis a mi esposo Luis y a mis hijos Sofía y mi bebé en camino, que han sido mi mayor motivación para seguir adelante y nunca rendirme, su amor es lo más valioso que tengo, ustedes son mi mayor logro, espero siempre estén orgullosos de mí.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por permitirme concluir una etapa más en mi formación profesional, por poner en mi camino a todas aquellas personas que han sido mi guía, mi soporte y compañía durante este periodo de estudio.

A mis padres por darme su apoyo incondicional y ser el ejemplo de esfuerzo y perseverancia que ha marcado siempre mi vida personal y profesional.

A todo el personal involucrado de CECYPE y CIATEJ por haber creado esta maestría y haberme dado la oportunidad de formar parte de ella.

A mi director de tesis Dr. Hugo Esquivel Solís y a mi asesor Dr. Jorge Eduardo Herrera Abarca, quienes dedicaron su tiempo y esfuerzo para mi aprendizaje y formación e hicieron posible la conclusión de esta tesis.

Quiero dar las gracias en especial a mi co-director de tesis y profesor M. en C. Daniel Ruiz Molina, a quien debo no sólo el conocimiento que desinteresadamente siempre me compartió, sino también el ser un gran amigo que a pesar de su corta edad, con su paciencia y dedicación, se ha convertido en una motivación y un verdadero ejemplo a seguir.

Agradezco también a todo el personal de la Clínica de Enfermedades Crónicas y de Procedimientos Especiales, S.C. que estuvo involucrado en el desarrollo del estudio que dio origen a mi proyecto de tesis (personal médico, de enfermería, personal de la unidad analítica, responsable de estadística, personal administrativo, de sistemas, vigilancia, limpieza).

Por último, pero no menos importante, agradezco a mi Director Médico Dr. Benigno Figueroa Núñez por todo el apoyo brindado para poder estudiar la maestría y por la información que pude obtener gracias a su gestión.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE PARA CUADROS, GRÁFICAS Y FIGURAS	VI
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	IX
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1. Fundamentos de la investigación clínica	5
3.1.1. Fundamentos éticos.....	5
3.1.2. Fundamentos científicos	6
3.1.3. Fundamentos normativos/regulatorios	7
3.2. Interacción de fármacos.....	8
3.3. Descripción farmacológica del paracetamol	9
3.3.1. Estructura de paracetamol	9
3.3.2. Parámetros farmacocinéticos del Paracetamol	11
3.3.3. Eventos adversos.....	11
3.3.4. Experiencia post-comercialización	13
3.3.5. Efectos de carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis y sobre la fertilidad	14
3.4. Descripción farmacológica de cafeína	15
3.4.1. Estructura química de cafeína.....	15
3.4.2. Parámetros farmacocinéticos de Cafeína	16
3.4.3. Eventos adversos.....	16
4. ANTECEDENTES	18
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21

6.	JUSTIFICACIÓN	23
7.	HIPÓTESIS	25
a.	Para la cantidad total de fármaco absorbido	25
b.	Para la velocidad de absorción	25
8.	OBJETIVOS	26
8.1.	Objetivo general	26
8.2.	Objetivos secundarios	26
9.	METODOLOGÍA	27
9.1.	Etapas clínicas	27
9.1.1.	Diseño experimental y plan del estudio	27
9.1.2.	Tamaño de muestra	27
9.1.3.	Selección de población de estudio	28
9.1.4.	Criterios de inclusión	28
9.1.5.	Criterios de no inclusión	30
9.1.6.	Criterios de exclusión	31
9.1.7.	Método de asignación de sujetos a la secuencia de tratamiento	32
9.1.8.	Selección y horario de administración de dosis para cada sujeto	32
9.1.9.	Medicamentos que se administraron	33
9.1.10.	Almacenamiento	33
9.1.11.	Criterios de aceptación de medicamentos de prueba y referencia:	34
9.1.12.	Criterios de rechazo de medicamentos de prueba y referencia:	34
9.1.13.	Muestras de retención	35
9.1.14.	Disposición final	35
9.1.15.	Métodos o procedimientos del estudio	35

Maestría en Investigación Clínica

9.1.15.1. Selección de sujetos.....	35
9.1.15.2. Periodos del estudio	35
a) Primer periodo de tratamiento.....	36
b) Periodo de lavado	37
c) Segundo periodo de tratamiento.....	37
d) Seguimiento clínico.....	38
e) Cronograma de toma de muestras sanguíneas	39
f) Selección de dosis en el estudio.....	40
g) Cegado	40
h) Terapia previa y concomitante	40
i) Apego con el tratamiento	40
j) Control de alimentos e ingesta de líquidos	40
k) Fluidos biológicos para el estudio	41
l) Variables de estudio	42
m) Períodos para evaluación de variables	43
9.1.16. Eventos Adversos.....	44
9.1.16.1. Definiciones.....	44
9.1.16.2. Relación del Evento Adverso con el producto de investigación	45
9.1.16.3. Severidad y gravedad del Evento Adverso	47
9.1.16.4. Documentación y reporte de los Eventos Adversos.....	47
9.1.17. Aspectos éticos y legales.....	48
9.1.18. Gestión de calidad.....	48
9.2. Etapa analítica	49
9.2.1. Envío de muestras	49

Maestría en Investigación Clínica

9.2.2. Recepción, inspección y almacenamiento de las muestras por la unidad analítica	49
9.2.3. Manejo de las muestras biológicas por la Unidad Analítica	50
9.2.4. Desecho de las muestras biológicas	50
9.2.5. Etiquetado de las muestras ultra congeladas.....	50
9.2.6. Análisis químico de las muestras biológicas	50
9.2.7. Condiciones cromatográficas e instrumentales	51
9.2.8. Condiciones del espectrómetro de masas	51
9.3. Etapa estadística	52
9.3.1. Análisis farmacocinético.....	52
9.3.2. Estadística descriptiva.....	53
9.3.3. Análisis estadístico para biodisponibilidad comparativa.....	53
9.3.3.1. Análisis de varianza	53
9.3.3.2. Análisis estadístico para la evaluación de la interacción farmacocinética	54
9.3.3.3. Desviación al Plan Estadístico	55
10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
10.1. Resultados etapa clínica	57
10.2. Resultados etapa analítica.....	61
10.2.1. Descripción del análisis de muestras	66
10.2.2. Criterios de aceptación de las corridas analíticas	67
10.3. Etapa estadística	71
10.3.1. Estadística descriptiva de la población de estudio.	71
10.3.2. Datos individuales de Concentración plasmática (Cp) Vs. Tiempo (t).....	72
10.3.3. Análisis de Varianza.....	79

Maestría en Investigación Clínica

10.4. Estadística de bioequivalencia	80
10.4.1. Análisis de áreas parciales	81
11. CONCLUSIONES	87
12. PERSPECTIVAS	89
13. REFERENCIAS	90
14. ANEXOS	93
14.1. Anexo 1. Cronograma de periodo total de estudio	93
14.2. Anexo 2. Gráficos individuales de la concentración plasmática (Cp) vs. tiempo	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Parámetros farmacocinéticos de Paracetamol	11
Tabla 2 Reacciones adversas de Paracetamol reportadas post-comercialización...	14
Tabla 3 Parámetros farmacocinéticos de Cafeína.....	16
Tabla 4 Programa para la administración del medicamento	32
Tabla 5 Registro de toma de signos vitales.....	36
Tabla 6 Horario de Alimentación	41
Tabla 7 Límites de equivalencia para estudios de interacción entre fármacos.....	55
Tabla 8 Datos demográficos.....	58
Tabla 9 Horario real de administración del medicamento	59
Tabla 10 Desviaciones al tiempo de muestreo.....	60
Tabla 11 Condiciones del método analítico.....	62
Tabla 12 Resumen de validación del método analítico	63
Tabla 13 Parámetros de las curvas de calibración y adecuabilidad del sistema de cada día de análisis	68
Tabla 14 Muestras control de cada día de análisis	69
Tabla 15 Precisión y exactitud del método para determinar Paracetamol en muestras plasmáticas	71
Tabla 16 Promedios y desviación estándar de los datos demográficos	71
Tabla 17 Concentraciones individuales correspondientes al medicamento de referencia	73
Tabla 18 Concentraciones individuales correspondientes al medicamento de prueba	74
Tabla 19 Datos individuales y estadística descriptiva de los parámetros farmacocinéticos de Paracetamol	77

Maestría en Investigación Clínica

Tabla 20 Resultados promedio de parámetros farmacocinéticos (media aritmética) 78	
Tabla 21 Resumen de los parámetros farmacocinéticos de paracetamol (media geométrica y media armónica)	78
Tabla 22 Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos transformados logarítmicamente (Ln) de Paracetamol	79
Tabla 23 Estadística para la determinación de bioequivalencia de Paracetamol	80
Tabla 24 Análisis de áreas Parciales	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Etapas del método científico	7
Figura 2 Estructura química del paracetamol	9
Figura 3 Estructura química de cafeína.....	15
Figura 4 Diseño cruzado 2 x 2 (NOM-177-SSA1-2013)	27
Figura 5 Cromatograma	65
Figura 6 Curva de calibración.....	66
Figura 7 Gráfico de concentración promedio vs tiempo en escala aritmética, tras la administración de medicamentos de prueba y referencia (barras de error estándar) 75	
Figura 8 Gráfico de concentración promedio vs tiempo en escala logarítmica, tras la administración de medicamentos de prueba y referencia (barras de error estándar) 76	
Figura 9 Gráficos de ABC parciales	82
Figura 10 Gráfico de cajas y bigotes del parámetro farmacocinético $t_{m\acute{a}x}$	83

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ABC	Área Bajo la Curva
$ABC_{0 \rightarrow \infty}$	Área Bajo la Curva del tiempo 0 al infinito
$ABC_{0 \rightarrow t}$	Área Bajo la Curva del tiempo 0 al último tiempo de muestreo
Cl	Depuración
$C_{\text{máx}}$	Concentración máxima
CNFV	Centro Nacional de Farmacovigilancia
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
C_p	Concentración plasmática
CV	Coefficiente de variación
°C	Grados centígrados
dL	Decilitro
E	Eliminación
EA	Evento adverso
ECG	Electrocardiograma
EDTA	Ácido etilendiamino tetraacético
FCI	Formato de Consentimiento Informado
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (Administración de Drogas y Alimentos)
FMN	Factor matriz normalizado
FRC	Formato de Reporte de Caso
g	Gramo (s) o Gravedades (ver contexto)
IC	Intervalo de confianza
IMC	Índice de masa corporal
IPP	Información para prescribir

Maestría en Investigación Clínica

K_{el}	Constante de eliminación
Kg	Kilogramo (s)
kv	Kilovoltio (s)
L	Litro
LIC	Límite inferior de cuantificación
Ln	Logaritmo natural
LSC	Límite superior de cuantificación
μg	Microgramo (s)
μL	Microlitro (s)
μm	Micrómetro (s)
m^2	Metro cuadrado
MCA	Muestra control alta
MCB	Muestra control baja
MCM	Muestra control media
mg	Miligramo (s)
min	Minuto (s)
mL	Mililitros
mmHg	Milímetros de Mercurio
MRM	Monitoreo de Reacción múltiple
MS/MS	Masas/Masas
NOM	Norma Oficial Mexicana
RAM	Reacción adversa a un medicamento
SSA	Secretaría de Salud
STD	Estándar

Maestría en Investigación Clínica

$t_{1/2}$	Vida media de eliminación
t	Tiempo
TGO	Transaminasa glutámico oxalacética
TGP	Transaminasa glutámico pirúvica
$t_{máx}$	Tiempo en el cual se obtuvo la concentración plasmática máxima
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> (cromatografía de líquidos de ultra eficacia)
V	Voltio (s)
Vd	Volumen de distribución
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory (Prueba serológica para Sífilis)
VHB	Virus de hepatitis B
VHC	Virus de hepatitis C
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana

1. RESUMEN

El objetivo de este estudio clínico fue establecer la bioequivalencia entre dos medicamentos que contienen paracetamol en dosis de 650 mg, uno de referencia (paracetamol) y otro de prueba (paracetamol más cafeína 65 mg), administrados por vía oral, tras un periodo estandarizado de ayuno, en voluntarios mexicanos sanos y determinar si la presencia de cafeína puede modificar la farmacocinética del paracetamol.

El estudio cumplió con los requerimientos de la normatividad nacional y los lineamientos de las Buenas Prácticas Clínicas. Ambos productos demostraron ser seguros, sólo se presentaron dos eventos adversos no serios, ninguno relacionado con el estudio.

Se tomaron muestras de sangre durante un período de 24 horas, para caracterizar el perfil farmacocinético de paracetamol en plasma. Las muestras de plasma se analizaron por cromatografía de líquidos acoplada a un detector de masas/masas.

Para determinar la bioequivalencia entre ambos productos, se calculó el intervalo de confianza al 90% del cociente prueba/referencia para los parámetros farmacocinéticos de concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$), área bajo la curva desde el tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo (ABC_{0-t}) y área bajo la curva desde el tiempo cero hasta el infinito ($ABC_{0-\infty}$).

Los valores de la media geométrica para $C_{m\acute{a}x}$ obtenidos con los productos de referencia y de prueba fueron 9.46 ± 34.21 y 9.72 ± 32.38 $\mu\text{g} / \text{mL}$, respectivamente, mientras que para el ABC_{0-t} los valores obtenidos fueron 34.93 ± 32.58 y 35.89 ± 31.03 $\mu\text{g}\cdot\text{h} / \text{mL}$ y los valores del $ABC_{0-\infty}$ fueron 36.22 ± 31.62 y 37.29 ± 29.52 $\mu\text{g}\cdot\text{h} / \text{mL}$ para los productos de referencia y de prueba, respectivamente.

Los intervalos de confianza al 90% promedio obtenidos, se encuentran dentro del rango de aceptación (80-125%) con lo que se concluyó que el producto de prueba es

Maestría en Investigación Clínica

bioequivalente al producto de referencia; sin embargo, al realizar el análisis de las áreas parciales, se observó una absorción más rápida durante los primeros tiempos de muestreo, con el producto de prueba en comparación con el producto de referencia, lo cual puede representar un efecto más rápido.

2. INTRODUCCIÓN

El Paracetamol, también conocido como acetaminofén es un medicamento con más de 129 años de uso clínico. Para 1970 llegó a ser el analgésico más popular en todo el mundo, recetado por la comunidad médica y auto-administrado por el público en general, para el alivio del dolor y la fiebre. Llegó a ser el analgésico más usado para el control de la fiebre en el niño de todas las edades, independientemente de la enfermedad de base (Hernández-Cortés, 2016).

Actualmente en México, existen en el mercado un gran número de productos que contienen paracetamol ya sea solo o en combinación con otros fármacos, en diferentes dosis y formas farmacéuticas. Todos estos medicamentos cuentan con un registro sanitario y por lo tanto, se puede asumir que fueron sometidos a diversas pruebas farmacológicas, mediante las cuales debieron demostrar su calidad, seguridad y eficacia, para poder ser administrados a los pacientes.

Sin embargo, a pesar de tantos años de uso clínico, del amplio conocimiento que hoy se tiene sobre este medicamento, su mecanismo de acción y demás características farmacocinéticas, así como de la gran variedad de productos que lo contienen, que son de venta libre y de fácil acceso para el público en general, no se dispone de literatura científica de estudios clínicos en los que se puntualice la farmacocinética del paracetamol, ni de estudios en los que se evalúe el posible efecto que ejerce la cafeína en los parámetros farmacocinéticos de paracetamol en población mexicana.

Es por esto que, el desarrollo de estudios clínicos controlados que nos permitan incrementar el nivel de conocimientos acerca de la biodisponibilidad del paracetamol y sus combinaciones con otros fármacos, principalmente en los mexicanos, es de suma importancia. Asimismo, dar a conocer a la comunidad médica, los resultados de este tipo de estudios, a fin de poder contar con mayor información, con bases científicas para poder lograr un uso más consiente de este medicamento.

3. MARCO TEÓRICO

Por las características farmacocinéticas particulares de cada fármaco, la biodisponibilidad variable que ellos presentan, la influencia de las diferencias en las técnicas y procesos farmacéuticos sobre su biodisponibilidad, incluidas las posibles diferencias en la calidad y tipo de excipientes en la formulación, resulta indispensable realizar estudios comparativos con nuevas formulaciones, a fin de poder evaluar los productos en desarrollo para que aporten evidencia de tener una absorción, distribución, metabolismo y eliminación, es decir una biodisponibilidad adecuada, de modo que se garantice que el nuevo medicamento o el intercambio de marca comercial o forma farmacéutica no sea en detrimento del tratamiento que sigue un paciente, además de cumplir con los requisitos legales exigidos por la autoridad sanitaria, para poder comercializarse y ser administrados a los seres humanos.

Es importante que el personal de salud conozca a detalle el desempeño de los medicamentos, así como el comportamiento de los fármacos en el cuerpo humano. La forma de obtener este conocimiento tan indispensable para quienes se encargan de recetar y administrar fármacos a los pacientes, es mediante el acceso a literatura científica que ponga a su alcance la información necesaria, real y confiable, para que puedan hacer un ejercicio más racional.

Para conocer y validar el comportamiento farmacocinético de los medicamentos, además de la publicación de estos en artículos científicos, se requiere realizar estudios clínicos controlados de bioequivalencia y/o biodisponibilidad comparativa. Se define como **Bioequivalencia**, a la relación entre dos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuando al ser administrados bajo condiciones similares producen biodisponibilidades semejantes y **Biodisponibilidad comparativa**, a la relación entre biodisponibilidades de dos diferentes formas farmacéuticas sólidas administradas por vía extravascular (NOM-177-SSA1-2013).

3.1. Fundamentos de la investigación clínica

Toda investigación clínica, debe tener como base los fundamentos éticos, científicos y normativos/regulatorios para que pueda asegurarse el bienestar de los sujetos que participan en el estudio, así como la calidad, tanto del proceso como del producto en investigación.

3.1.1. Fundamentos éticos

Todo estudio clínico que se realice en México debe cumplir con lo dispuesto en la Ley General de Salud, en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-177-SSA1-2013, NOM-012-SSA3-2012 y NOM-220-SSA1-2012), en las Buenas Prácticas Clínicas, así como también debe realizarse en estricto apego a los Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos de la *Declaración de Helsinki* emitidos por la 64ª Asamblea General de la *Asociación Médica Mundial*, Fortaleza, Brasil, octubre 2013 y las *Pautas Éticas Internacionales para la investigación biomédica en seres humanos, preparadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS), en colaboración con la Organización Mundial de la Salud, de Ginebra 2002.*

Toda investigación en seres humanos debe realizarse de acuerdo con tres principios éticos básicos: respeto por las personas, beneficencia y justicia. En forma general, se concuerda en que estos principios guían la preparación responsable de protocolos de investigación para la aplicación de estos principios en la investigación en seres humanos (CIOMS, 2002).

El respeto por las personas incluye, al menos, dos consideraciones éticas fundamentales (CIOMS, 2002):

- a) Respeto por la autonomía, que implica que las personas sean capaces de deliberar sobre sus decisiones, y tratadas con respeto por su capacidad de autodeterminación.

- b) Protección de las personas con autonomía disminuida o deteriorada, que implica que se debe proporcionar seguridad contra daño o abuso a todas las personas dependientes o vulnerables.

La beneficencia se refiere a la obligación ética de maximizar el beneficio y minimizar el daño. Este principio da lugar a pautas que establecen que los riesgos de la investigación sean razonables a la luz de los beneficios esperados, que el diseño de la investigación sea válido y que los investigadores sean competentes para conducir la investigación y para proteger el bienestar de los sujetos de investigación. Además, la beneficencia prohíbe causar daño deliberado a las personas; este aspecto de la beneficencia a veces se expresa como un principio separado, no maleficencia, es decir, no causar daño (CIOMS, 2002).

La justicia se refiere a la obligación ética de tratar a cada persona de acuerdo con lo que se considera moralmente correcto y apropiado, dar a cada uno lo debido. En la ética de la investigación en seres humanos el principio se refiere, especialmente, a la justicia distributiva, que establece la distribución equitativa de cargas y beneficios al participar en investigación (CIOMS, 2002).

3.1.2. Fundamentos científicos

Es indispensable que todo estudio clínico, se realice apegándose al método científico, el cual de forma general consta de cuatro etapas. La primera etapa corresponde a la observación, en esta etapa es en la que se hace el planteamiento del problema. En la segunda etapa se hacen suposiciones para tratar de explicar el problema, es decir se formulan objetivo e hipótesis, se plantea el diseño del estudio. En la tercera etapa se lleva a cabo el desarrollo experimental para que con base en los resultados, se contrasten y se pueda confirmar o descartar las hipótesis, controlando todas aquellas variables que puedan influir. En la cuarta etapa se aceptan o no se aceptan las hipótesis y se establecen las conclusiones.

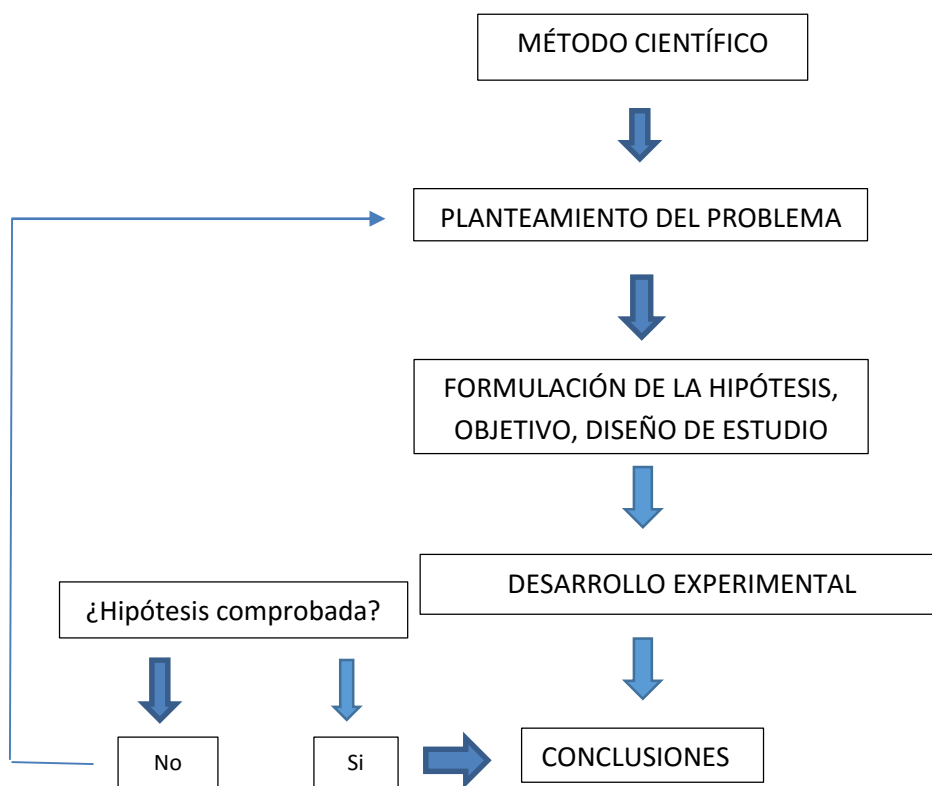


Figura 1 Etapas del método científico

3.1.3. Fundamentos normativos/regulatorios

A nivel nacional existen la Ley General de Salud (LGS) y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (RLGSMIS), en estos documentos se establecen los aspectos normativos a los cuales se debe apegar todo aquel que pretenda realizar un estudio de investigación clínica. De igual forma, existen documentos regulatorios que establecen la forma como se deben realizar, y los requisitos que se deben cumplir durante el desarrollo de un estudio clínico; en México, estos documentos son las Normas Oficiales (NOMs).

En un estudio de intercambiabilidad o biodisponibilidad, las normas a las que se debe dar cumplimiento son principalmente las siguientes:

- **NOM-012-SSA3-2012**, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.
- **NOM-059-SSA1-2015**, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos.
- **NOM-072-SSA1-2012**, Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios.
- **NOM-177-SSA1-2013** Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.
- **NOM-220-SSA1-2012**, Instalación y operación de la farmacovigilancia.

3.2. Interacción de fármacos

El administrar a los pacientes la mejor terapia posible, es una de las obligaciones de los profesionales sanitarios y de los Sistemas Nacionales de Salud. Para conseguir la máxima efectividad terapéutica es necesario en muchas ocasiones administrar varios medicamentos, aumentando el riesgo de aparición de efectos adversos, a veces a causa de la propia asociación como consecuencia de alguna interacción farmacológica (Girona-Brumós, 2013).

Una Interacción Farmacológica se produce cuando la actividad o el efecto de un fármaco, se ven alterados por la presencia o por la acción de otro. En todas las interacciones hay por lo menos un fármaco objeto, cuya acción es modificada por la de otro, el fármaco precipitante (Girona-Brumós, 2013).

Las interacciones farmacológicas se producen, en general, por dos mecanismos diferentes y, con base a ello, se clasifican en interacciones farmacodinámicas y en interacciones farmacocinéticas, aunque en ocasiones puede ocurrir que en una misma interacción confluyan mecanismos farmacodinámicos y farmacocinéticos (Girona-Brumós, 2013).

Las interacciones farmacodinámicas son relativamente previsibles ya que se relacionan con los principales efectos de los fármacos, terapéuticos y adversos. Suelen ser comunes a los componentes de un mismo grupo terapéutico, a los que tienen una estructura química parecida, o un perfil terapéutico o de toxicidad similar (Girona-Brumós, 2013).

Las interacciones farmacocinéticas son aquellas debidas a la influencia que tiene un fármaco sobre el ciclo de otro en el organismo. Incluye alteraciones de la absorción, distribución, metabolismo y excreción (Girona-Brumós, 2013).

Se llama sinergia medicamentosa al aumento en la acción de un fármaco como consecuencia de la administración de otro fármaco. Podemos tener **sinergia aditiva** o sinergia de suma, cuando la acción resultante es la suma de las acciones individuales de ambos fármacos, **sinergia de potenciación** cuando la acción resultante es mayor que la suma de las acciones individuales. Como consecuencia de la sinergia se pueden disminuir las dosis de fármacos administrados. En la sinergia aditiva ambos fármacos se unen al mismo receptor, mientras que en la sinergia de potenciación se unen a receptores diferentes (Girona-Brumós, 2013).

3.3. Descripción farmacológica del paracetamol

3.3.1. Estructura de paracetamol (PubChem – No. de identificación: 1983).

Fórmula molecular: $C_8H_9NO_2$

Peso molecular: 151.165 g/mol

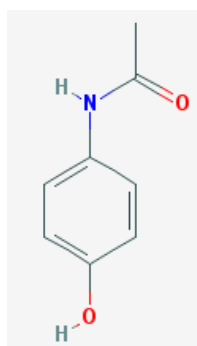


Figura 2 Estructura química del paracetamol (PubChem – No. de identificación: 1983)

El paracetamol es un analgésico, antipirético y antiinflamatorio que inhibe a la ciclooxigenasa - 3, evitando la síntesis de prostaglandinas (Liu *et al.*, 2011; Anderson y Holford, 2007; DrugBank DB00316). Su mecanismo de acción es similar a la aspirina, que también interfiere con la síntesis de las prostaglandinas, inhibiendo de forma irreversible la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) pero con menor potencia; sin embargo, este no afecta la agregación plaquetaria, no ejerce efectos cardiovasculares, acciones respiratorias ni daño a la pared gástrica (Liu *et al.*, 2011; Anderson y Holford, 2007; DrugBank DB00316; Ortega-Barrales *et al.*, 2002).

La absorción por vía oral es rápida y variable (DrugBank DB00316), los alimentos reducen su absorción final, el volumen de distribución (Vd) es 0.95 ± 0.12 L/Kg, cruza la barrera placentaria y puede aparecer en la leche materna. El paracetamol tiene un bajo porcentaje de unión a proteínas plasmáticas (aproximadamente 25%) (DrugBank DB00316). Su metabolismo hepático es extenso (95%), presenta un efecto de primer paso (Liu *et al.*, 2011; Anderson y Holford, 2007; DrugBank DB00316; Ortega-Barrales *et al.*, 2002; Shinoda *et al.*, 2007). La depuración de paracetamol es de 5 mL/min/Kg, la eliminación es principalmente por vía renal, sólo el 1- 4 % se elimina como fármaco inalterado, el resto se elimina en forma de metabolitos. Su vida media de eliminación es de aproximadamente 2 a 4 horas (Goodman & Gilman, 2011, 12^a. Edición: Tabla All-1, pag. 1899).

El paracetamol se utiliza para el manejo temporal de dolores leves o dolores asociados a un resfriado, cefalea, dolor dental y dolor de espalda. También se usa para dolores leves asociados a la artritis reumatoide, cólicos menstruales y para la reducción de la fiebre (Prior *et al.*, 2010).

En dosis de 1000 mg, el paracetamol es un efectivo y bien tolerado tratamiento para el manejo de los episodios moderados de migraña, además provee un efecto benéfico para los síntomas asociados como náusea, fotofobia, fonofobia y la discapacidad funcional (Gilmore y Michael, 2011).

El paracetamol solo, no es una terapia efectiva para la migraña aguda; sin embargo, la combinación de paracetamol con cafeína y aspirina, constituye la primera línea de tratamiento y es muy efectiva (Gilmore y Michael, 2011).

3.3.2. Parámetros farmacocinéticos del Paracetamol

Los parámetros farmacocinéticos del paracetamol, obtenidos en un estudio clínico de bioequivalencia entre dos formulaciones que contienen paracetamol simple en dosis de 650 mg, desarrollado en voluntarios sanos de la India, se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1 Parámetros farmacocinéticos de Paracetamol
(Tomado de Dhaneshwar *et al.*, 2010)

Parámetro	C _{máx} (µg/mL)	t _{máx} (h)	ABC _{0-t} (µg*h/mL)	ABC _{0-∞} (µg*h/mL)	t _{1/2} (h)	K _{el} (h ⁻¹)
Media	6.17	1.06	31.12	31.69	7.00	0.11
Desviación estándar	1.47	0.72	8.02	8.12	2.10	0.03

3.3.3. Eventos adversos

Se han reportado, con el uso de paracetamol, casos de reacciones cutáneas como: eritema, exantemas, pústulas y necrólisis epidérmica tóxica (incidencia < 0.1%), además de asma, neumonitis, anafilaxis, reacciones de hipersensibilidad que se manifiestan principalmente con signos cutáneos, insuficiencia renal, necrosis papilar y nefropatía, así como alteración de las pruebas de función hepática, principalmente elevación de las transaminasas. Se ha reportado insuficiencia hepática en asociación con el uso terapéutico de paracetamol en niños y en pacientes alcohólicos. La hepatotoxicidad con el uso de dosis altas o dosis crónicas de paracetamol, se ha manifestado en diversos reportes; en la mayoría de los casos existía susceptibilidad incrementada a complicaciones hepáticas como alcoholismo y dosis crónicas de 4 mg al día. El consumo de alcohol (3 o más bebidas por día) puede incrementar el riesgo de daño hepático o sangrado gastrointestinal (PDR, 2014 - Acetaminophen).

El paracetamol presenta efectos tóxicos dependientes de la dosis causando necrosis de los hepatocitos predominantemente en la región centrolobulillar, correspondiente a la zona 3 del acino hepático de Rappaport. Al ingerir dosis altas del fármaco el citocromo P450 (CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A) genera N-acetil p-benzoquinoneimina (NAPQI), un metabolito tóxico capaz de agotar las reservas hepáticas de glutatión. Este metabolito ejerce su toxicidad al unirse de forma covalente a macromoléculas y produciendo radicales libres, desarrollando necrosis hepática en tan sólo 12 horas (Sisamón, 2003). Cuando los niveles de glutatión caen por debajo del 30% de lo normal o hay un exceso de NAPQI que supera el sistema de desintoxicación, el NAPQI libre se adhiere a las membranas celulares de los hepatocitos generando la muerte celular y la consecuencia necrosis hepática (Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol, 2014). En mucha menor medida, el mismo proceso puede ocurrir en el riñón y contribuir a la nefrotoxicidad (Sisamón, 2003).

Existe una relación directa entre la concentración plasmática de paracetamol y el desarrollo de hepatotoxicidad (Sisamón, 2003). La dosis terapéutica de paracetamol es de 10 a 15 mg/Kg, cada 4 a 6 horas. La dosis máxima es de 90 mg/Kg/día en pediatría y 4 gramos/día en adultos. La dosis requerida para producir toxicidad varía en función de la actividad del citocromo P-450 (variable entre personas), cantidad de glutatión, y su capacidad de regeneración. Sin embargo, en varios estudios retrospectivos se sugiere que puede existir toxicidad con dosis mayores a 150-200 mg/kg en niños o 6-7 g en adultos. La dosis letal es de 13-25 g. La toxicidad crónica se presenta si se ingieren más de 4 g de paracetamol al día, luego de 2-8 días (Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol, 2014).

La toxicidad hepática puede presentarse, aunque ya de forma muy poco frecuente durante la ingestión crónica de dosis terapéuticas de paracetamol, sobre todo en pacientes alcohólicos, pero esta afirmación está muy discutida y se desconoce qué cantidad y que frecuencia en la dosis podría dar lugar a este tipo de toxicidad (Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol, 2014).

Maestría en Investigación Clínica

La toxicidad es mayor cuando se asocian inductores del citocromo P450 (etanol - CYP2E y CYP3A -fenobarbital -CYP2B y CYP3A-, carbamacepina, fenitoína, rifampicina, zidovudina) o aquellos que compiten en la conjugación (dicumarol, morfina, prednisona, salicilatos, estrógenos) incrementando la formación del metabolito tóxico (Sisamón, 2003).

Adicionalmente, se han reportado casos de anemia hemolítica y metahemoglobina con el uso de paracetamol, por lo que se debe tener precaución en pacientes con deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Por otro lado, es menos probable que el paracetamol cause complicaciones gastrointestinales que el ácido acetilsalicílico, sin embargo, el riesgo de sangrado gastrointestinal se incrementa en pacientes que consumen alcohol de manera crónica (PDR, 2014 - Acetaminophen).

En un estudio clínico controlado realizado en pacientes con dolor de rodilla asociado a osteoartritis, se demostró que en la población estudiada, el paracetamol en dosis de 3 gramos/ día, puede causar pérdida de sangre (reducción de los niveles de hemoglobina ≥ 1 g/dL), presuntamente asociado a sangrado gastrointestinal predominantemente asintomático, en grados similares al ibuprofeno en dosis de 1200 mg/día y que la combinación de ambos parece tener un efecto aditivo o incluso sinérgico, en términos del número de sujetos que presentaron reducción de los niveles de hemoglobina ≥ 2 g/dL (Doherty *et al.*, 2011).

El Paracetamol está catalogado obstétricamente como un medicamento tipo B, de acuerdo a la clasificación de riesgo durante el embarazo y lactancia de la FDA (PDR, 2014 – Acetaminophen).

3.3.4. Experiencia post-comercialización

Las siguientes reacciones adversas se han reportado durante la observación posterior a la comercialización, pero la incidencia (frecuencia) no se conoce (PLM, 2014 – Tempra[®] Forte):

Tabla 2 Reacciones adversas de Paracetamol reportadas post-comercialización

Clasificación órgano sistema (SOC)	Reacción adversa
Alteraciones del sistema sanguíneo y linfático	Trombocitopenia Neutropenia Leucopenia
Alteraciones gastrointestinales	Diarrea Dolor abdominal
Alteraciones hepatobiliares	Incremento de las enzimas hepáticas
Alteraciones del sistema inmunológico	Choque anafiláctico Edema de Quincke Reacción de hipersensibilidad
Investigaciones	Disminución del valor INR Incremento del valor INR
Alteraciones de la piel y tejido subcutáneo	Urticaria Eritema Exantema
Alteraciones vasculares	Hipotensión (como síntoma de anafilaxia)

3.3.5. Efectos de carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis y sobre la fertilidad

Se han evaluado por diversos autores, los efectos del paracetamol en la dieta de ratas y ratones a 0, 600, 3,000 y 6,000 ppm por 2 años. No hubo evidencia de actividad carcinogénica del paracetamol en ratas macho, así como en ratones macho y hembra. Se observó evidencia equívoca de actividad carcinogénica en ratas hembra, basándose en el incremento de leucemia celular mononuclear (PDR, 2014 - Acetaminophen).

Una revisión comparativa de la literatura sobre la genotoxicidad y carcinogenicidad del paracetamol demostró que los efectos genotóxicos del mismo, aparecen únicamente en dosis por encima del índice recomendado, dando como resultado efectos tóxicos graves, incluyendo una pronunciada toxicidad en hígado y médula ósea. El umbral para genotoxicidad no se alcanza con las dosis terapéuticas de paracetamol.

Los estudios en animales no indican un potencial carcinogénico en niveles de dosis no hepatotóxicas. Se han observado efectos neoplásicos del paracetamol, únicamente en administración de dosis citotóxicas muy altas (PDR, 2014 - Acetaminophen).

3.4. Descripción farmacológica de cafeína

3.4.1. Estructura química de cafeína (PubChem – No. de identificación: 2519)

Fórmula molecular: $C_8H_{10}N_4O_2$

Peso molecular: 194.194 g/mol

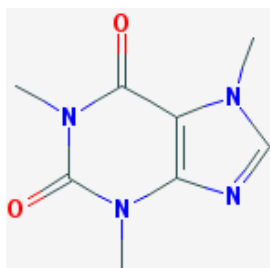


Figura 3 Estructura química de cafeína (PubChem – No. de identificación: 2519)

La cafeína es un efectivo adyuvante analgésico (Liu *et al.*, 2011), potencializa el efecto analgésico del paracetamol que administrado solo, requiere una dosis 40% mayor para alcanzar el efecto analgésico, comparado con la dosis requerida si se administra con cafeína. La cafeína actúa como un psicoestimulante leve, reestableciendo el estado de alerta y el rendimiento de los pacientes que sufren fatiga (Liu *et al.*, 2011; Anderson y Holford, 2007; DrugBank DB00316; Ortega-Barrales *et al.*, 2002; Shinoda *et al.*, 2007; Prior *et al.*, 2010; Gilmore y Michael, 2011; Shariq *et al.*, 2005). Su metabolismo hepático produce metabolitos activos (paraxantina, teofilina y teobromina) que contribuyen al efecto farmacológico de la cafeína (Shariq *et al.*, 2005).

La cafeína bloquea los receptores de adenosina, incrementando a su vez la actividad de los neurotransmisores como acetilcolina, adrenalina, noradrenalina, dopamina y glutamato (DrugBank, No. de acceso DB00201 [APRD00673]). La absorción de la cafeína administrada por vía oral es rápida y completa, requiere de aproximadamente una hora para alcanzar la concentración máxima en plasma ($C_{m\acute{a}x}$).

Tras una dosis oral de 1 mg/ Kg su biodisponibilidad es del 99%. Su Vd es de 0.55 L/Kg, alcanza todos los tejidos, cruza la barrera hematoencefálica y la placenta, se le encuentra en la leche materna y su unión a proteínas plasmáticas es de solo 35%. La cafeína tiene una vida media de eliminación de aproximadamente 3 a 5 horas (DrugBank, No. de acceso DB00201 [APRD00673]; PubChem – No. de identificación: 2519).

3.4.2. Parámetros farmacocinéticos de Cafeína

Los parámetros farmacocinéticos reportados para la cafeína, con dosis de 250 mg y 65 mg se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Parámetros farmacocinéticos de Cafeína

N	DOSIS	C _{máx} (ng/mL)	t _{máx} (h)	t _{1/2} (h)	ABC _{0-∞} (ng·h/mL)	Referencia
7	250 mg	5.81 µg mL ⁻¹ (0.49)	1.14±0.26	4.9±0.65	46.3 µg mL ⁻¹ h ⁻¹ (7.0)	Culm-Merdek, et al., (2005)
ND	65 mg	5 a 25 µg/ml	0.5-1.5	4-5	ND	PDR, 2014 – Citrato de cafeína

Datos reportados como media ± desviación estándar; ND: No disponible

3.4.3. Eventos adversos

Las reacciones adversas de la cafeína son, en general, consecuencia de sus efectos farmacológicos. Cuando se administra en dosis terapéuticas, la cafeína puede ocasionar temblores, agitación y taquipnea. Otras reacciones adversas incluyen diarrea, náusea, vómito, cefalea, excitación, irritabilidad, tics musculares y palpitaciones (PDR, 2014 – Citrato de cafeína).

La cafeína puede producir elevación de la presión arterial, eritema, sequedad de la piel, alteraciones de glucosa sérica, excitabilidad, insomnio, agitación psicomotriz y nerviosismo. La cafeína produce diuresis usualmente en dosis mayores a 250 mg/día. También produce taquicardia, extrasístoles, favorece otras arritmias, incrementa inotropismo y vasodilatación (Thomas JE, 2009).

Maestría en Investigación Clínica

La aparición de eventos adversos asociados con el uso de cafeína es dosis dependiente. Generalmente, dosis de hasta 400 mg/día de cafeína (equivalentes a 6 mg/Kg en un adulto de 65 Kg), no se asocian con la aparición de eventos adversos, excepto en mujeres en edad reproductiva y en niños, en quienes si se pueden presentar con esta dosis y por lo tanto, se recomienda un consumo ≤ 300 mg/día y ≤ 2.5 mg/Kg/día, respectivamente. La aparición de eventos adversos, además de ser dependiente de la dosis, puede variar entre consumidores habituales de cafeína y no consumidores (Nawrot *et al.*, 2003).

La categoría de la cafeína, según la clasificación de riesgo durante el embarazo y la lactancia de la FDA, es B (PDR, 2014 – Citrato de cafeína).

4. ANTECEDENTES

En el artículo de Renner *et al.*, (2007), se describe un estudio clínico cuyo objetivo fue determinar el efecto analgésico de paracetamol comparado con la combinación de paracetamol con cafeína o con cafeína sola, mediante la producción de dolor fásico y dolor tónico. También se realizó estudio farmacocinético de los medicamentos, en el que mediante el análisis de las áreas bajo la curva tempranas, se demostró que la cafeína acelera la absorción del paracetamol.

Este estudio se realizó en el Reino Unido, se utilizó una muestra de 24 sujetos sanos, 12 hombres y 12 mujeres, entre 18 y 45 años de edad, todos dentro del $\pm 20\%$ de su peso ideal, a los que se determinó su estado de salud mediante exámenes clínicos de rutina y pruebas de laboratorio realizados tanto al inicio como al final del estudio. Los anticonceptivos orales fueron los únicos medicamentos concomitantes permitidos. Los medicamentos en estudio, se administraron tras un periodo de ayuno de al menos 6 horas. Los sujetos se mantuvieron en ayuno pero se les permitió tomar agua, durante el estudio.

Este estudio fue unicéntrico, se utilizó un diseño de 4 periodos, cruzado, aleatorizado y doble ciego. Cada sujeto recibió en cada periodo, una de las siguientes opciones de tratamiento de acuerdo a una aleatorización previa:

- 1000 mg de paracetamol simple
- 130 mg de cafeína
- 1000 mg de paracetamol en combinación con 130 mg de cafeína
- Placebo

Cada tratamiento se administró por vía oral, con 150 mL de agua, después de un periodo de ayuno mínimo de 6 horas. Cada sesión en el estudio tuvo un periodo de lavado de al menos 6 días entre cada una de las cuatro sesiones.

A los sujetos de estudio se les produjo 5 periodos de dolor fásico en la fosa nasal izquierda con CO₂ y 4 periodos de dolor tónico en la fosa nasal derecha con aire seco aplicado directamente durante 16 minutos, ambos posteriores a la medicación. Durante los periodos de estudio, los sujetos se mantuvieron en cámaras acondicionadas libres de ruido para evitar distracciones. La percepción del dolor fue evaluada mediante el uso de escalas análogo-visuales.

Para la determinación de las concentraciones plasmáticas de paracetamol, se obtuvieron 12 muestras de sangre de 10 mL, por catéter intravenoso, las cuales se depositaron en tubos con anticoagulante EDTA antes de la administración y a los 20, 40, 60 y 90 minutos y a las 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5 y 6 horas después de la administración del medicamento correspondiente. Después fueron centrifugadas a ~1200 g, y el plasma fue congelado a 25°C bajo cero. Las concentraciones de paracetamol fueron analizadas por cromatografía de líquidos (HPLC), con detección UV.

El análisis farmacocinético se realizó utilizando el software WinNonlin Professional (versión 3.3), $C_{m\acute{a}x}$ y $t_{m\acute{a}x}$ fueron calculados mediante los datos plasmáticos individuales. Cada ABC_{0-t} fue calculada utilizando el método trapezoidal para las concentraciones ascendentes y el logaritmo para las concentraciones descendentes. Para la prueba de bioequivalencia, se utilizó el software SAS (versión 8.2), para la evaluación estadística.

La bioequivalencia para paracetamol en los parámetros de $C_{m\acute{a}x}$, ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$ se determinó si los intervalos de confianza al 90% se encontraban dentro del rango 0.80 – 1.25. Para las áreas tempranas, se construyeron intervalos de confianza al 95%, para buscar diferencias entre los tratamientos. La relación entre las concentraciones plasmáticas de paracetamol y los efectos estimados por potenciales evocados, fueron evaluados mediante un modelo compartimental farmacocinético-farmacodinámico. Se realizaron pruebas discriminatorias de disolución *in vitro* y de deconvolución de las concentraciones plasmáticas *in vivo*, de las formulaciones de prueba y referencia para explorar las diferencias en la absorción.

Maestría en Investigación Clínica

Los 24 sujetos completaron el estudio, se presentaron 5 eventos adversos reportados como dolor de cabeza de leve a moderado, 3 se presentaron con el paracetamol en dosis de 1000 mg, 1 con el paracetamol 1000 mg en combinación con cafeína 130 mg y 1 con el placebo.

No hubo diferencias en cuanto a la intensidad del dolor fásico, pero si las hubo en cuanto al dolor tónico con paracetamol en combinación con cafeína, comparado con paracetamol o cafeína solos y con placebo.

Se realizó una evaluación a las formulaciones que contenían paracetamol solo y paracetamol en combinación con cafeína para determinar su bioequivalencia, observándose que la formulación combinada, tuvo una absorción ligeramente más rápida que el paracetamol solo, ambos productos fueron bioequivalentes para ABC_{0-t} y ABC_{0-inf} (paracetamol 43.7mg•h•L y 53.1mg•h•L respectivamente y paracetamol + cafeína 46.7mg•h•L y 57.4mg•h•L respectivamente). Se observó diferencia significativa entre las formulaciones en favor de la combinación de paracetamol con cafeína, en el $ABC_{0-20 \text{ min}}$. El $ABC_{0-40 \text{ min}}$ numéricamente fue mayor para la combinación de paracetamol con cafeína, pero no alcanzó significancia estadística. No hubo diferencia en la t_{max} (0.67 h para ambos productos) y los productos no fueron bioequivalentes considerando el parámetro de C_{max} (paracetamol 17.1 mg/L y paracetamol + cafeína 18.9 mg/L), ya que el intervalo de confianza quedó fuera del rango definido de 80 – 125% (95.7 – 128.2 %).

En el perfil de disolución *in vitro* se observó una disolución más rápida para el paracetamol de referencia en comparación con el de prueba que incluye cafeína. La deconvolución *in vivo* de la concentración plasmática promedio para ambas formulaciones, indicó una mayor y más rápida absorción para la combinación de paracetamol con cafeína.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Bajo el concepto de que el efecto biológico de un fármaco depende de la concentración alcanzada en el órgano blanco y por su equilibrio con la concentración sanguínea, se acepta que la equivalencia farmacocinética de un medicamento de prueba con otro de referencia es evidencia de que se alcanzará la misma eficacia y seguridad clínica y por tanto, pueden ser productos intercambiables.

Por ello, se realizan estudios de biodisponibilidad comparada, los cuales deben apegarse a un protocolo clínico prediseñado y autorizado por la autoridad sanitaria, en cuyo diseño experimental se controlen al máximo las variables confusoras que afectan las dos características básicas en un estudio con formulaciones de administración oral: la velocidad y la magnitud de la absorción. Estas características del proceso de absorción, se miden a través de los parámetros farmacocinéticos de $t_{m\acute{a}x}$ y $C_{m\acute{a}x}$ para la velocidad y de ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$ para la magnitud de la absorción.

De acuerdo a la NOM-177-SSA1-2013, los parámetros a evaluar para establecer la conclusión acerca de la posible bioequivalencia entre dos productos, son $C_{m\acute{a}x}$ como indicativo de velocidad de absorción y ABC (ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$) como indicativo de la cantidad absorbida. Además de dar cumplimiento a la normatividad mexicana, se utiliza ABC y $C_{m\acute{a}x}$ porque son los parámetros que se pueden ver influenciados y por lo tanto que pueden modificarse por las diferentes formulaciones, evidenciando las diferencias en la biodisponibilidad entre dos productos, mientras que los otros parámetros no son lo suficientemente sensibles para evidenciar esta diferencia, es por eso que solo se muestran con carácter informativo.

En este estudio en particular, se hace una comparación entre la biodisponibilidad de paracetamol simple en dosis de 650 mg, como medicamento de referencia y paracetamol en dosis de 650 mg en combinación con cafeína en dosis de 65 mg, como medicamento de prueba.

Maestría en Investigación Clínica

Este estudio se encuentra fundamentado en los resultados del estudio de Renner *et al.*, (2007), en el que se observó que la $C_{máx}$ de la combinación de paracetamol y cafeína es mayor que la observada para paracetamol simple, quedando por arriba del rango de bioequivalencia de 80-125% (IC al 90% 95.7-128.2%). Teniendo como antecedente dicho estudio, se espera que la cafeína modifique la farmacocinética del paracetamol, incrementando la velocidad de absorción.

6. JUSTIFICACIÓN

El paracetamol es un medicamento de venta libre que ha sido utilizado de forma indiscriminada tanto por los médicos como por el público en general, sin embargo el conocimiento sobre la farmacocinética de este medicamento en la población mexicana, sigue siendo un tema poco conocido y en México no se cuenta con mucha información con suficiente valor científico.

Realizar estudios clínicos controlados en los que se evalúe el comportamiento farmacocinético del paracetamol resulta muy importante, para posterior a su ejecución, tener información relevante y de calidad que pueda darse a conocer a la comunidad científica y profesionales de la salud. El tener más información de carácter científico sobre este medicamento, puede ayudar a los médicos a realizar una prescripción más racional y a orientar mejor a los pacientes sobre su uso adecuado y sus riesgos. Tener evidencia de que combinar medicamentos puede modificar su biodisponibilidad, puede ayudar a los profesionales de la salud a crear consciencia y pensar mejor la conveniencia de indicar dichas combinaciones, si esto es lo más adecuado para el paciente o si por el contrario puede resultar contraproducente, evitando así, recetar por recomendación de la industria farmacéutica. De igual forma, la autoridad sanitaria al tener más información del medicamento y su comportamiento farmacocinético, puede solicitar más estudios para ampliar esta información y posteriormente, promover algún tipo de restricción para la venta, teniendo fundamentos científicos.

Todo medicamento debe ser evaluado y debe demostrar su seguridad, para poder ser comercializado. Dado que no existe un medicamento de referencia que contenga la combinación fija de paracetamol con cafeína en las mismas dosis o en dosis que puedan ser proporcionales al medicamento de prueba, ni tampoco hay un medicamento de referencia que contenga cafeína simple, se optó por realizar la comparación con el medicamento de referencia que contiene solo paracetamol a la misma dosis del medicamento de prueba (Tempra® Forte), buscando caracterizar la biodisponibilidad del paracetamol con y sin cafeína, para determinar la posible influencia de la cafeína sobre el comportamiento farmacocinético del paracetamol.

Para ello se propone realizar un estudio clínico controlado, el diseño experimental elegido es uno de los recomendados por la NOM-177-SSA1-2013, de tipo cruzado, abierto, de dos secuencias y dos periodos de tratamiento (esquema A – B, B – A), en dosis única, con un tiempo de muestreo de veinticuatro horas que permite caracterizar al menos el 80% del ABC, con un total de 14 muestras y un periodo de lavado de siete días, en 26 sujetos sanos de sexo indistinto, en condiciones de ayuno.

Se propone un diseño cruzado, en donde cada sujeto es su propio control a fin de reducir la variabilidad y poder caracterizar adecuadamente la farmacocinética de los medicamentos en estudio, considerando además que se trata de medicamentos que con las dosis a administrar en el estudio son seguros y que tienen vida media de eliminación corta, por lo que no requieren periodo de lavado prolongado.

7. HIPÓTESIS

a. Para la cantidad total de fármaco absorbido

H₀: La cantidad total de fármaco biodisponible (ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$) del producto de prueba (combinación fija de Paracetamol-Cafeína) no es equivalente a la del producto de referencia (Paracetamol), de acuerdo a los intervalos de equivalencia.

H₁: La cantidad total de fármaco biodisponible (ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$) del producto de prueba (combinación fija de Paracetamol-Cafeína) es equivalente a la del producto de referencia (Paracetamol), de acuerdo a los intervalos de equivalencia.

b. Para la velocidad de absorción

H₀: La velocidad de absorción ($C_{m\acute{a}x}$, $t_{m\acute{a}x}$, $ABC_{0-0.5}$, ABC_{0-1}) del producto de prueba (combinación fija de Paracetamol-Cafeína) no es mayor que para el producto de referencia (Paracetamol), de acuerdo a los intervalos de equivalencia.

H₁: La velocidad de absorción ($C_{m\acute{a}x}$, $t_{m\acute{a}x}$, $ABC_{0-0.5}$, ABC_{0-1}) del producto de prueba (combinación fija de Paracetamol-Cafeína) es mayor que para el producto de referencia (Paracetamol), de acuerdo a los intervalos de equivalencia.

Para la determinación de bioequivalencia se consideran los parámetros de $C_{m\acute{a}x}$ y las áreas totales (ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$) que son los parámetros normativos. Los parámetros de $t_{m\acute{a}x}$ y las áreas parciales ($ABC_{0-0.5}$, ABC_{0-1}) se evalúan para poder demostrar el efecto que la cafeína puede ejercer sobre la biodisponibilidad del paracetamol.

8. OBJETIVOS

8.1. Objetivo general

Determinar la biodisponibilidad de dos especialidades farmacéuticas, una de *referencia* (Tempra® Forte) y otra de *prueba* (Sedalmerck Max®), en sujetos Mexicanos de ambos géneros, con la administración por vía oral de una tableta, en condiciones de ayuno de una dosis de 650 mg de paracetamol simple (referencia) o combinado con 65 mg de cafeína (Prueba) y comparar sus características farmacocinéticas, para establecer su bioequivalencia.

8.2. Objetivos secundarios

- Determinar si existe interacción farmacológica entre el paracetamol y la cafeína en población mexicana, siendo congruente con lo observado en el estudio de Renner *et al.*, (2007).
- Evaluar la seguridad y tolerabilidad de los productos de prueba y referencia.

9. METODOLOGÍA

9.1. Etapa clínica

9.1.1. Diseño experimental y plan del estudio

Se utilizó un diseño de dosis única, con 26 sujetos en condiciones de ayuno, dos periodos, dos secuencias, abierto, cruzado con bloques esquema A–B y B–A, aleatorio, longitudinal, comparativo y prospectivo, con un periodo de lavado de siete días entre las dos sesiones del estudio. Los grupos de tratamiento fueron balanceados, teniendo igual número de sujetos, los cuales fueron asignados en forma aleatoria a las secuencias de administración de medicamentos en estudio.

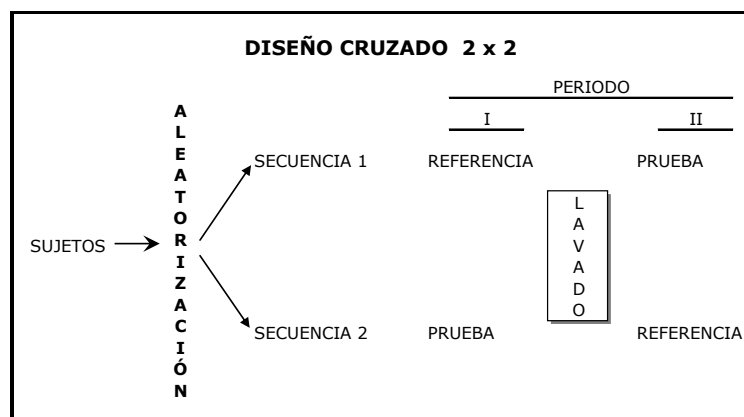


Figura 4 Diseño cruzado 2 x 2 (NOM-177-SSA1-2013)

9.1.2. Tamaño de muestra

En el estudio publicado por Renner *et al.* (2007), acerca de la evaluación de la farmacocinética y la farmacodinamia de la combinación fija de paracetamol con cafeína en comparación con paracetamol simple, realizado en 24 voluntarios, se observó con un intervalo de confianza al 90% de los parámetros farmacocinéticos $C_{m\acute{a}x}$ y ABC, que la variabilidad intrasujeto estimada de manera retrospectiva, es de 30.14% y 11.94% respectivamente, la elevada variabilidad intrasujeto de $C_{m\acute{a}x}$ se encuentra asociada con la diferencia en la velocidad de absorción, observada por el efecto que ejerce la cafeína sobre la cinética de absorción del paracetamol.

Para estimar el tamaño de muestra se utilizó el coeficiente de variación intrasujeto de ABC_{0-t} que es el parámetro relevante para realizar la comparación de la biodisponibilidad (11.94%), y en apego a la NOM-177-SSA1-2013, se consideró un error tipo I de 0.05, un error tipo II de 0.20, una diferencia mínima por detectar de 20%, asociado a una potencia estadística de 80% y una diferencia esperada de 90% para la relación Prueba/Referencia. Se empleó la ecuación de Chow & Wang (2001) para un diseño cruzado.

$$n \geq [t_{(\alpha, 2n-2)} + t_{(\beta, 2n-2)}] * \left(\frac{CV_{intra}}{\ln 0.80 - \ln \theta} \right)^2$$

El cálculo realizado proporcionó un tamaño de muestra de al menos 22 sujetos, los cuales serían suficientes para satisfacer las condiciones de error y diferencia por detectar para la variabilidad intrasujeto del parámetro de interés ABC_{0-t} . Sin embargo, con la finalidad de preservar el tamaño de muestra después de posibles abandonos asociados a eventos adversos o motivos personales de los sujetos del estudio, se consideraron 4 voluntarios más, por lo que el tamaño de muestra fue de 26 voluntarios.

9.1.3. Selección de población de estudio

- ✚ Reclutamiento por invitación a través de convocatoria abierta.
- ✚ Inclusión en el estudio de 26 sujetos de acuerdo a los criterios del protocolo.
- ✚ Hombres y mujeres.

9.1.4. Criterios de inclusión

- ✚ Edad entre 18 y 55 años.
- ✚ Clínicamente sano.
- ✚ Índice de masa corporal entre 18 y 27 Kg/m².
- ✚ Sin hallazgos anormales en la historia clínica.
- ✚ Signos vitales normales.
- ✓ Frecuencia cardíaca entre 50 y 100 latidos por minuto
- ✓ Frecuencia respiratoria entre 12 y 20 por minuto
- ✓ Presión sistólica entre 80 y 139 mmHg
- ✓ Presión diastólica entre 50 y 89 mmHg

- ✓ Temperatura corporal entre 36.0 y 37.0°C
- ✚ Electrocardiograma [ECG] normal o con variaciones sin relevancia clínica.
- ✚ Resultados de exámenes de laboratorio clínico dentro de los valores normales o con variaciones clínicamente no significativas en los siguientes:
 - ✓ Biometría Hemática Completa: hematocrito y hemoglobina obligadamente por encima del límite inferior, el límite superior puede tener una variación de hasta un 15%. El resto de resultados incluyendo la fórmula blanca puede tener una variación de un $\pm 15\%$ si el sujeto está asintomático.
 - ✓ Pruebas de Función Hepática que incluyan: bilirrubina directa e indirecta, TGO y TGP, proteínas totales, albúmina, globulina y relación albúmina/globulina. Bilirrubina total no mayor a 1.6 mg/dL ni bilirrubina directa mayor a 0.4 mg/dL. Pueden tener variaciones de hasta un 15% en el límite superior de las enzimas, el límite inferior no tiene restricciones para la inclusión de los sujetos.
 - ✓ Química Sanguínea que incluya por lo menos: glucosa, urea, creatinina y ácido úrico. En sujetos asintomáticos sin antecedentes familiares de diabetes o insuficiencia renal se pueden incluir con un $\pm 15\%$ de variación en los valores.
 - ✓ Perfil de Lípidos que incluya colesterol total y triglicéridos. En sujetos asintomáticos sin antecedentes familiares de dislipidemia, se pueden elegir con un 15% de variación en el límite superior. El límite inferior no tiene restricciones para la inclusión de sujetos.
 - ✓ Examen general de orina: en sujetos asintomáticos sin antecedentes de insuficiencia renal, se pueden elegir con variaciones dentro del $\pm 1\%$ en la densidad urinaria. El pH debe de estar entre 5 y 7.

Los sujetos que presentaron algunos datos aislados que estén reportados como fuera de rango y que no estén relacionados entre sí, pudieron ser incluidos en el estudio después de documentar que no tienen relevancia clínica de acuerdo al criterio del médico.

- ✚ Pruebas de bioseguridad con resultado negativo para detectar la presencia de virus de inmunodeficiencia humana [VIH], de Hepatitis B [VHB], de Hepatitis C [VHC] y prueba VDRL.
- ✚ Pruebas (cualitativa y cuantitativa) negativa de embarazo.

9.1.5. Criterios de no inclusión

- ✚ Sujetos con historia de hipersensibilidad al medicamento de estudio.
- ✚ Sujetos con antecedentes de padecimientos cardiovasculares, renales, hepáticos, metabólicos, gastrointestinales, neurológicos, endocrinos, hematopoyéticos (cualquier tipo de anemia), enfermedad mental u otras anormalidades orgánicas que pudieran afectar la farmacocinética del producto en estudio.
- ✚ Sujetos que requieren de cualquier medicamento durante el curso del estudio.
- ✚ Sujetos que hayan sido expuestos a agentes conocidos como inductores o inhibidores de sistemas enzimáticos hepáticos o que hayan tomado medicamentos potencialmente tóxicos dentro de los treinta días previos al inicio del estudio.
- ✚ Sujetos que previo a la dosificación del medicamento del estudio hayan tomado cualquier otro medicamento que tenga en su periodo de eliminación menos de siete vidas medias.
- ✚ Sujetos que hayan sido hospitalizados por cualquier razón dentro de los sesenta días previos al inicio del estudio o que hayan estado gravemente enfermos dentro de los treinta días previos al inicio del estudio.
- ✚ Sujetos que hayan recibido un medicamento en investigación dentro de los noventa días previos al inicio del estudio.
- ✚ Sujetos que hayan donado o perdido 450 mL o más de sangre dentro de los sesenta días previos al inicio del estudio.
- ✚ Sujetos que hayan fumado tabaco, ingerido alcohol, consumido bebidas o alimentos que contengan xantinas (café, té, cocoa, chocolate, mate, refrescos de cola, etc.) o consumido alimentos asados al carbón dentro de las veinticuatro horas previas a la administración de la dosis de medicamento, en cada una de las sesiones de internamiento (Fuhr, 1998).
- ✚ Sujetos con resultado positivo en las pruebas de detección de drogas de abuso como: anfetaminas, benzodiazepinas, cocaína, metanfetaminas, morfina y tetrahydro-cannabinoides.
- ✚ Prueba (cualitativa o cuantitativa) positiva de embarazo.

9.1.6. Criterios de exclusión

Los sujetos podían ser retirados del estudio, a consideración del investigador principal, por las siguientes razones:

- ✚ Si en opinión del investigador, la continuación en el estudio podía ser en detrimento de su salud.
- ✚ Presencia de signos y síntomas de hipotensión arterial que requirieran tratamiento farmacológico.
- ✚ Síncope o choque.
- ✚ Reacción adversa grave relacionada con la administración del medicamento.
- ✚ Evento Adverso Grave.
- ✚ Enfermedades o tratamientos concomitantes no permitidos en el protocolo.
- ✚ Indisciplina.
- ✚ Incumplimiento en la dieta.
- ✚ Pérdida de dos muestras dentro del periodo de absorción o alrededor de la $C_{máx}$.
- ✚ Si se presenta emesis dentro del tiempo establecido por la $t_{máx}$.
- ✚ Los datos de los voluntarios que presenten emesis durante el transcurso del estudio de bioequivalencia deberán suprimirse del análisis estadístico si el vómito ocurre en o antes de dos veces la mediana de $t_{máx}$.
- ✚ Si alguno de los sujetos participantes durante el período de lavado llega a tomar bebidas alcohólicas veinticuatro horas antes de ingresar a la segunda fase de internamiento o ingerir drogas de las conocidas que alteren el estudio.
- ✚ Prueba (cualitativa o cuantitativa) positiva de embarazo después de la administración del medicamento en estudio.
- ✚ Todos aquellos casos en que el investigador principal considerara falta de apego al protocolo y que pusiera en duda del resultado final.

Los sujetos participantes en el estudio pudieron decidir libremente el abandono del mismo en cualquier momento y en dicho caso, solo se les pidió informar el motivo de su retiro. El seguimiento se realizó de manera externa, en caso de cualquier eventualidad médica, con cita abierta durante un periodo igual al establecido en el periodo de lavado.

9.1.7. Método de asignación de sujetos a la secuencia de tratamiento

Conforme fueron ingresando al estudio los sujetos recibieron un número consecutivo en orden ascendente comenzando desde el número 1 y hasta el último caso (26). A cada uno de estos números correspondió una de las secuencias A-B o B-A de una lista de aleatorización generada previamente en el programa www.randomization.com. Esta lista de aleatorización fue generada el día previo a la administración de la dosis en el primer periodo del estudio.

9.1.8. Selección y horario de administración de dosis para cada sujeto

Después de un periodo de ayuno estandarizado, el medicamento se administró a todos los sujetos de las 08:00 a las 08:12 horas, en seis grupos de cuatro sujetos y uno de dos, con diferencia de dos minutos entre cada grupo, para la administración de la dosis y para cada una de las actividades.

Los sujetos se dividieron en grupos por cuestiones operativas y a fin de mantener organizadas todas las actividades a realizar durante la fase clínica del estudio.

La distribución de grupos, sujetos y horarios de dosis se muestra en la tabla 4.

Tabla 4 Programa para la administración del medicamento

Grupo	Nº de Sujetos	Horario de Administración
A	1-4	08:00 horas
B	5-8	08:02 horas
C	9-12	08:04 horas
D	13-16	08:06 horas
E	17-20	08:08 horas
F	21-24	08:10 horas
G	25 y 26	08:12 horas

9.1.9. Medicamentos que se administraron

- ✚ Denominación genérica del medicamento de estudio: Paracetamol/Cafeína.
- ✚ Medicamento de referencia: Tempra[®] Forte.
- ✓ Forma Farmacéutica: Tableta.
- ✓ Fórmula Cualitativa-Cuantitativa: Cada tableta contiene 650 mg de Paracetamol.
- ✓ Número de registro sanitario: 128M99, SSA VI.
- ✓ Fecha de caducidad: Julio 2015.
- ✓ Lote: 3G100331.
- ✓ Laboratorio Productor: BRISTOL-MYERS SQUIBB DE MÉXICO, S. de R.L. de C.V.
- ✓ Laboratorio Distribuidor: BRISTOL-MYERS SQUIBB DE MÉXICO, S. de R.L. de C.V.
- ✓ Laboratorio Dueño del Registro: BRISTOL-MYERS SQUIBB DE MÉXICO, S. de R.L. de C.V.
- ✚ Medicamento de prueba: Sedalmerck Max[®].
 - ✓ Forma Farmacéutica: Tableta.
 - ✓ Fórmula Cualitativa-Cuantitativa: Cada tableta contiene Paracetamol a 90% equivalente a 650 mg de paracetamol y Cafeína 65 mg.
 - ✓ Número de registro sanitario: 117M2009 SSA
 - ✓ Fecha de caducidad: Febrero 2015.
 - ✓ Lote: SM31344.
 - ✓ Laboratorio Productor: MERCK, S. A. de C. V.
 - ✓ Laboratorio Distribuidor: MERCK, S. A. de C. V.
 - ✓ Laboratorio Dueño del Registro: MERCK, S. A. de C. V.

Dosis administrada: una tableta de paracetamol 650 mg del medicamento de referencia y una tableta de Paracetamol/ Cafeína de 650/65mg del medicamento de prueba.

9.1.10. Almacenamiento

El medicamento se guardó en forma segura, en un lugar seco a temperatura no mayor a 30°C.

9.1.11. Criterios de aceptación de medicamentos de prueba y referencia:

Para poder realizar un estudio de bioequivalencia, se deben seguir una serie de lineamientos descritos en la NOM-177-SSA1-2013, entre los que se encuentran los siguientes puntos:

- ✚ Documentación completa:
 - ✓ Certificado de análisis avalados por el Responsable Sanitario del Patrocinador:
 - Uniformidad de dosis expresada como uniformidad de contenido
 - Valoración de contenido
 - Disolución (si aplica)
 - ✓ Carta bajo protesta de decir verdad avalada por el Responsable Sanitario del patrocinador donde avale que el lote de prueba sometido a la prueba de intercambiabilidad corresponde a la fórmula cuali-cuantitativa de la que se solicitará el registro.
 - ✓ Carta emitida por el Patrocinador en donde se especifica que el lote del medicamento de prueba cumple con la NOM-059 vigente, avalada por el Responsable Sanitario.
 - ✓ Copia de la factura de compra, del medicamento de referencia.
- ✚ Medicamento de prueba con una etiqueta que cumpla con lo mínimo requerido en la NOM-072-SSA1-2012 ETIQUETADO DE MEDICAMENTOS Y REMEDIOS HERBOLARIOS.
- ✚ Medicamento en cantidades suficientes (para poder realizar el estudio en una situación subsecuente, en caso de ser necesario, de lo contrario, los medicamentos son resguardados sin ser utilizados).
- ✚ Fecha de caducidad vigente al momento de ser utilizado en el estudio clínico.
- ✚ Medicamento en buenas condiciones físicas.

9.1.12. Criterios de rechazo de medicamentos de prueba y referencia:

- ✚ En el caso de blísteres, que hayan sido alterados.
- ✚ Medicamento recibido fuera de las condiciones de almacenamiento o transporte indicadas.
- ✚ Envase primario maltratado.

9.1.13. Muestras de retención

El medicamento no utilizado fue resguardado en el almacén de muestras de retención, en su empaque primario y secundario, bajo llave y almacenado por un periodo de un año a partir de la conclusión del estudio. El personal de procesamiento de muestras y farmacia de la unidad clínica, fue el encargado del resguardo de las muestras de retención.

9.1.14. Disposición final

Después de un año de concluido el estudio, los medicamentos se pusieron a disposición para su destrucción por una empresa autorizada.

9.1.15. Métodos o procedimientos del estudio

9.1.15.1. Selección de sujetos

Una vez firmado el *Formato de Consentimiento Informado*, se revisó la elegibilidad de los sujetos de acuerdo a los criterios de inclusión y no inclusión y se realizó la conformación del expediente clínico. Los sujetos contaban con:

- ✚ Estudios de laboratorio dentro de los noventa días previos al inicio del estudio.
- ✚ Electrocardiograma dentro de los noventa días previos al inicio del estudio.

9.1.15.2. Periodos del estudio

En el ingreso a cada período se efectuó una valoración clínica, que consistió en interrogatorio y exploración física, con objeto de verificar que el sujeto seguía siendo un candidato apto para el estudio. Se tomaron muestras de orina para la detección de drogas de abuso y de sangre para las pruebas de embarazo en el caso de las mujeres. Además se realizó una prueba de alcohol en aliento.

Al término de cada período se realizó una evaluación clínica que consistió en interrogatorio, exploración física, toma de signos vitales y seguimiento de eventos adversos.

Se solicitó a los sujetos reportar al personal médico responsable de la conducción del estudio, cualquier síntoma que presentaran. Asimismo, el personal médico preguntó a los sujetos en cada período del estudio acerca de síntomas presentados desde el ingreso al primer período y después de la dosificación, en caso de manifestarlo, proporcionó la atención al sujeto y se hicieron las anotaciones en los documentos correspondientes.

Dentro de las horas previas a la administración de la dosis, a cada sujeto se le tomó (sentado) la presión arterial, el pulso, la frecuencia respiratoria y la temperatura. Estos valores debieron estar dentro del intervalo de normalidad para que el sujeto continuara participando en el estudio. Las mismas mediciones se obtuvieron durante cada uno de los turnos después de administrada la dosis en cada periodo.

Los signos vitales se tomaron como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5 Registro de toma de signos vitales

Primera sesión	Segunda sesión
Ingreso	Ingreso
Pre-dosis	Pre-dosis
Turno matutino	Turno matutino
Turno vespertino	Turno vespertino
Turno nocturno	Turno nocturno
Egreso	Egreso

a) Primer periodo de tratamiento

- ✚ Internamiento el día previo a la sesión para asegurar ayuno de 10 horas.
- ✚ Cena antes del periodo de diez horas previas a la administración de la dosis.
- ✚ Colocación del catéter (a elección, sólo mujeres).

Primer día:

- ✚ A las 06:00 horas, aseo personal e ingesta de 250 mL de agua.
- ✚ Entre las 06:30 y las 07:30 horas, instalación del catéter.
- ✚ A las 08:00 horas, administración oral, del medicamento de prueba o de referencia con 250 mL de agua por vía oral.
- ✚ De las 08:15 a las 20:00 horas, toma de muestras de acuerdo al cronograma de toma de muestras sanguíneas.
- ✚ A partir de las 12:00 horas, desayuno.
- ✚ A partir de las 16:00 horas, comida.
- ✚ A partir de las 21:00 horas, cena.

Segundo día:

- ✚ A las 08:00 horas, toma de muestra de las 24.0 horas.
- ✚ Aproximadamente a las 10:00 horas, alta temporal de la unidad clínica.

b) Periodo de lavado

El periodo de lavado tuvo una duración de siete días a partir de la administración del medicamento en el periodo previo. El periodo de lavado tiene la finalidad de eliminar la dosis anterior antes de administrar la siguiente y cumple con el criterio de la NOM-177-SSA1-2013 de tener una duración por lo menos igual a siete vidas medias del medicamento en estudio.

c) Segundo periodo de tratamiento

- ✚ Internamiento el día previo a la sesión para asegurar ayuno de 10 horas.
- ✚ Cena antes del periodo de diez horas previas a la administración de la dosis.
- ✚ Colocación del catéter (a elección, sólo mujeres).

Primer día:

- ✚ A las 06:00 horas, aseo personal e ingesta de 250 mL de agua.
- ✚ Entre las 06:30 y las 07:30 horas, instalación del catéter.
- ✚ A las 8:00 horas, administración oral del medicamento de prueba o de referencia con 250 mL de agua por vía oral.
- ✚ De las 08:15 a las 20:00 horas, toma de muestras de acuerdo al cronograma de toma de muestras.
- ✚ A las 12:00 horas, desayuno.
- ✚ A las 16:00 horas, comida.
- ✚ A las 21:00 horas, cena.

Segundo día:

- ✚ A las 08:00 horas, toma de muestra de las 24.0 horas.
- ✚ Aproximadamente a las 10:00 horas, alta de la unidad clínica.

d) Seguimiento clínico

El seguimiento se realizó de manera externa, en caso de cualquier eventualidad médica, a través de contacto telefónico y/o cita abierta durante un periodo de siete días posteriores a la administración del medicamento en estudio, en la segunda sesión.

e) Cronograma de toma de muestras sanguíneas

Fase Clínica

NÚMERO DE SUJETOS:	26	SEXO:	Femenino y masculino
MATRIZ BIOLÓGICA:	Plasma.	FORMA FARMACÉUTICA:	Tabletas
PRESENTACIÓN:	Paracetamol 650 mg y Paracetamol 650 mg/Cafeína 65 mg	Nº DE UNIDADES:	Una tableta
TIEMPO DE LAVADO:	07 días	ANTICOAGULANTE:	Heparina Sódica
VOLUMEN DE SANGRE EXTRAÍDO POR MUESTRA:	10 mL	TOTAL DE MUESTRAS POR SUJETO EN CADA PERIODO:	14

Intervalo de tiempos de muestreo

FASE	MUESTRA	TIEMPO	UNIDAD
A	0	0.0	h
A	1	0.25	h
A	2	0.50	h
A	3	0.75	h
~ C _{máx}	4	1.00	h
~ C _{máx}	5	1.50	h
~ C _{máx}	6	2.00	h
~ C _{máx}	7	2.50	h
E	8	4.00	h
E	9	6.00	h
E	10	8.00	h
E	11	10.00	h
E	12	12.00	h
E	13	24.00	h

NÚMERO TOTAL DE MUESTRAS			
Nº CASOS	MUESTRAS	PERIODOS	TOTAL
26	14	2	728

DIETA
Estandarizada por la unidad clínica

Cada sujeto tuvo una participación de 40 horas aproximadamente para cada uno de los periodos, con un intervalo de lavado de 7 días, contado a partir de la hora de toma de medicamento en el primer periodo.

f) Selección de dosis en el estudio

La dosis recomendada por los laboratorios productores es de hasta 4-6 tabletas al día. La dosis que se utilizó en el estudio fue de una tableta en dosis única del producto A o B que correspondía por periodo.

g) Cegado

Los códigos de asignación aleatoria a la secuencia de administración estuvieron bajo el resguardo del investigador principal del estudio. En la unidad analítica, el encargado del procesamiento de las muestras biológicas permaneció cegado durante el análisis de las mismas, de acuerdo a sus procedimientos normalizados de operación.

h) Terapia previa y concomitante

Se dio la indicación a todos los sujetos participantes en el estudio de no ingerir ningún medicamento durante su participación en el estudio y dentro de las siete vidas medias previas a la administración de la dosis del medicamento; esta restricción se siguió durante los dos períodos del estudio y en el período de lavado entre dosis.

i) Apego con el tratamiento

Se verificó durante el periodo de administración de la dosis, la toma completa de ésta y se registró la hora de dicha toma en los formatos establecidos para el caso.

j) Control de alimentos e ingesta de líquidos

Durante la conducción del estudio los sujetos debieron cumplir con un ayuno de al menos diez horas antes de la administración de la dosis y por lo menos cuatro horas después de administrada la dosis. El agua estuvo permitida *ad libitum* salvo el periodo comprendido entre una hora antes de la administración de la dosis y el primer alimento.

Durante el período de internamiento, los alimentos se sirvieron como se muestra en la tabla 6.

Tabla 6 Horario de Alimentación

ALIMENTOS	DÍA 0 y 7	DÍA 1 y 8
Desayuno	-----	A partir de las 12:00 horas
Comida	-----	A partir de las 16:00 horas
Cena	21:00 horas	A partir de las 21:00 horas

Los grupos estuvieron desfasados por dos minutos entre cada uno de ellos (después de la dosis) para la entrega de los alimentos correspondiente al orden e intervalo de administración del medicamento.

k) Fluidos biológicos para el estudio

➤ **Muestras de sangre**

- ✚ Se obtuvieron 14 muestras de sangre por periodo en los tiempos establecidos en el cronograma de toma de muestras sanguíneas, en tubos de ensayo específicamente diseñados para venopunción con heparina sódica.
- ✚ Cada muestra fue de aproximadamente 10 mL, con un volumen por sesión de alrededor de 140 mL de sangre extraída y un volumen total de 280 mL al final del estudio. La sangre extraída para limpiar el catéter se desechó antes de la obtención de la muestra de sangre (purgado).
- ✚ Se aceptó tolerancia de \pm un minuto para la toma de la muestra durante la fase de absorción y distribución y de hasta \pm tres minutos durante la fase de eliminación.
- ✚ Cada muestra se centrifugó a 2500 x g durante cinco minutos a 4°C ($\pm 2^\circ\text{C}$).
- ✚ El volumen de plasma resultante, fue depositado en tres criotubos de 2 mL cada uno.
- ✚ Los tubos con el plasma fueron perfectamente identificados con Nº de estudio (##), Nº de caso (C##), Nº de muestra (M##) y Nº de sesión (S#); mantenidos en congelación a una temperatura menor o igual a 40°C bajo cero de acuerdo a los procedimientos normalizados de operación correspondientes, hasta su entrega a la unidad analítica.

I) Variables de estudio

Las variables del estudio fueron divididas en los siguientes grupos:

✚ Variables de tipo demográfico

- Edad
- Sexo
- Peso
- Estatura
- Índice de masa corporal

✚ Variables de seguridad

Las variables de seguridad que se tomaron a los sujetos incluyen:

- Historia clínica completa, incluyendo uso de medicamentos y hábitos de tabaquismo y alcohol.
- Perfil de estudios de laboratorio clínico.
- Signos vitales.
- Eventos adversos.
- Pruebas de detección de drogas de abuso (al ingreso de cada sesión).
- Prueba de embarazo (al ingreso de cada sesión).

✚ Variables de bioseguridad

Seguridad para el personal que maneja las muestras biológicas tanto de la unidad clínica como de la unidad analítica.

- Detección de Hepatitis viral B, Hepatitis viral C, prueba de VDRL y VIH.

✚ Variables farmacocinéticas

Para la determinación del perfil concentración plasmática (C_p) vs tiempo (t) y de las variables farmacocinéticas: ABC_{0-t} , $ABC_{0-\infty}$ y $C_{m\acute{a}x}$, se obtuvieron 14 muestras por periodo y por sujeto, de aproximadamente 10 mL de sangre venosa por medio de catéter, en los siguientes tiempos: 0.00 (Pre-tratamiento, control), 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00, 12.00, 24.00 horas después de la administración del medicamento en estudio y se determinó la C_p del paracetamol.

Maestría en Investigación Clínica

Para la determinación de bioequivalencia se consideran los parámetros de $C_{m\acute{a}x}$ y las áreas totales (ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$). Los parámetros de $t_{m\acute{a}x}$ y las áreas parciales ($ABC_{0-0.5}$, ABC_{0-1}) se evalúan con fines informativos, para demostrar la presencia o ausencia de diferencias en la biodisponibilidad de paracetamol, que se puedan asociar a la cafeína.

La secuencia de dosificaciones y muestras de sangre entre los sujetos se mantuvo uniforme, de manera que los tiempos para todas las actividades fueron los mismos entre los sujetos.

La hora exacta en que se tomó la muestra fue registrada en los formatos correspondientes. Una vez que la muestra del último grupo fue tomada, éstas fueron llevadas al área de procesamiento de muestras y el plasma se obtuvo por centrifugación. Posteriormente, las muestras plasmáticas fueron congeladas y mantenidas a una temperatura no superior a 20°C bajo cero, hasta su envío a la unidad analítica.

m) Períodos para evaluación de variables

Para la conducción del estudio se programaron los siguientes períodos:

- **Selección:** Dentro de los treinta días previos a la administración de la dosis.
- **Primer período del estudio:** Desde doce horas previas a la administración de la primera dosis y al menos 24 horas post-dosis.
- **Período de lavado:** Siete días entre cada una de las dosis.
- **Segundo período del estudio:** Desde doce horas previas a la administración de la segunda dosis y al menos 24 horas post-dosis.
- **Salida de estudio:** Posterior a la toma de la muestra de 24 horas en el segundo período.
- **Seguimiento para Eventos Adversos:** Se reportaron los eventos adversos que se presentaron desde el inicio del estudio y hasta siete días posteriores a la administración de la dosis en el segundo período.

Maestría en Investigación Clínica

Para el período de lavado (eliminación del fármaco), tiempo en el que los sujetos estuvieron fuera de la unidad clínica, a cada uno de los sujetos se les leyó una hoja de indicaciones generales, que incluye indicaciones específicas de alimentación, el no uso de medicamentos e indicaciones de cuidados generales.

9.1.16. Eventos Adversos

Previo a la administración del medicamento de estudio, se tomó en cuenta la información señalada en la IPP provista (Información para Prescribir, autorizada por la SSA), relacionada con las reacciones adversas del fármaco. El investigador principal y los médicos involucrados en el estudio debieron conocer con anterioridad la información para prescribir.

Los sujetos fueron monitoreados cuidadosamente con respecto a la presencia de Eventos Adversos. Los EA se establecieron en términos de su gravedad (grave y no grave), severidad (leve, moderado y severo), desenlace y relación causal con el medicamento de estudio.

El reporte de EA, se realizó a partir de la administración de la primera dosis del medicamento en el primer periodo del estudio y hasta un periodo de siete días posteriores a la última toma del medicamento en estudio.

9.1.16.1. Definiciones

- Evento Adverso (EA) cualquier ocurrencia médica indeseable que pueda presentarse durante la etapa de investigación clínica de un medicamento pero que no necesariamente tiene una relación causal con el mismo.
- Reacción adversa a un medicamento (RAM) cualquier reacción nociva no intencionada que aparece a dosis normalmente empleadas en el ser humano para la profilaxis, el diagnóstico o el tratamiento o para la modificación de una función fisiológica.

- Sospecha de reacción adversa, cualquier manifestación clínica no deseada que dé indicio o apariencia de tener una relación causal con uno o más medicamentos.

9.1.16.2. Relación del Evento Adverso con el producto de investigación

La relación de los EA con el medicamento de estudio administrado, es una decisión clínica basada en toda la información disponible en el momento de la ocurrencia del EA. Las reacciones adversas se clasifican de acuerdo a la valoración de causalidad bajo las categorías probabilísticas siguientes:

- ✚ **Cierta.** Evento (manifestación clínica o una prueba de laboratorio anormal) que ocurre en un tiempo razonable posterior a la administración del medicamento y no puede explicarse por la evolución natural del padecimiento, una patología concomitante o la administración de otros medicamentos. La respuesta a la suspensión del medicamento debe ser clínicamente evidente.
- ✚ **Probable.** Evento (manifestación clínica o una prueba de laboratorio anormal) que sigue una secuencia de tiempo razonable posterior a la administración del medicamento y que difícilmente puede atribuirse a la evolución natural del padecimiento, patologías concomitantes o a la administración de otros medicamentos. Al suspender la administración del medicamento(s) sospechoso(s) se obtiene una respuesta clínica razonable.
- ✚ **Posible.** Evento (manifestación clínica o una prueba de laboratorio anormal) que sigue una secuencia de tiempo razonable posterior a la administración del medicamento, el cual también puede atribuirse a la evolución natural del padecimiento, patologías concomitantes o a la administración de otros medicamentos. No se dispone de la información relacionada con la suspensión de la administración del medicamento sospechoso o bien ésta no es clara.

- ✚ **Dudosa.** Evento (manifestación clínica o una prueba de laboratorio anormal) que sigue una secuencia de tiempo razonable posterior a la administración del medicamento que hace la relación de causalidad improbable (pero no imposible), lo que podría explicarse de manera aceptable por ser parte de la evolución natural del padecimiento o bien debido a la presencia de patologías concomitantes o a la administración de otros medicamentos.

- ✚ **Condicional-Inclasificable.** Evento (manifestación clínica o una prueba de laboratorio anormal) que no puede ser evaluado adecuadamente debido a que se requieren más datos o porque los datos adicionales aún están siendo analizados.

- ✚ **No evaluable-Inclasificable.** Consiste en un reporte sugerente de una reacción adversa que no puede ser evaluado debido a que la información recabada es insuficiente o contradictoria. El reporte no puede ser completado o verificado.

Otros factores a considerar para la evaluación de la relación causal del EA con el medicamento en estudio incluyen:

- ✚ Recuperación o discontinuación, recurrencia o reintroducción: La respuesta del sujeto después de discontinuar el medicamento o la respuesta del sujeto después de la re-administración debe ser considerada en la óptica del curso clínico usual del evento en cuestión.
- ✚ Patrón conocido de respuesta para esta clase de medicamento: Clínico/Pre-clínico.
- ✚ Exposición a estrés físico y/o mental: La exposición a estrés podría inducir cambios adversos en el receptor y proveer una lógica y mejor explicación para el evento.
- ✚ La farmacología y farmacocinética del medicamento de prueba: Las propiedades farmacocinéticas (absorción, distribución, metabolismo y excreción) del medicamento de prueba, junto con la farmacodinamia individual del sujeto, deben ser consideradas.

9.1.16.3. *Severidad y gravedad del Evento Adverso*

La intensidad o severidad de los eventos adversos debe clasificarse como sigue:

- ✚ Leves. Se presentan con signos y síntomas fácilmente tolerados, no necesitan tratamiento, ni prolongan la hospitalización y no necesariamente requieren de la suspensión del medicamento.
- ✚ Moderados. Interfieren con las actividades habituales (pudiendo provocar bajas laborales o escolares), sin amenazar directamente la vida del paciente. Requieren de tratamiento farmacológico y no necesariamente requieren la suspensión del medicamento causante del evento, reacción o sospecha de reacción adversa.
- ✚ Severos. Interfieren con las actividades habituales (pudiendo provocar bajas laborales o escolares). Requieren de tratamiento farmacológico y la suspensión del medicamento causante del evento, reacción o sospecha de reacción.

La gravedad de los EA debe clasificarse como sigue:

Graves (serios). Cualquier manifestación clínicamente importante que se presenta con la administración de cualquier dosis de un medicamento, y que:

- Causan la muerte del paciente.
- Ponen en peligro la vida del paciente en el momento mismo que se presentan.
- Hacen necesario hospitalizar o prolongar la estancia hospitalaria.
- Son causa de invalidez o de incapacidad persistente o significativa.
- Son causa de alteraciones o malformaciones en el recién nacido.
- Evento considerado como de relevancia médica.

No Graves (no serios). A las sospechas y reacciones adversas que no cumplan los criterios de gravedad especificados en el punto anterior (leves, moderadas y severas).

9.1.16.4. *Documentación y reporte de los Eventos Adversos*

Todos los EA que ocurrieron durante el periodo de estudio fueron registrados tanto en el expediente clínico como en el formato de reporte de caso del sujeto. Además cada EA fue registrado en el formato específico proporcionado por el patrocinador del estudio y reportado a la unidad de farmacovigilancia del patrocinador del estudio quien a su vez reportó al CNFV.

9.1.17. Aspectos éticos y legales

Este proyecto cumplió con lo estipulado en los reglamentos actuales de investigación clínica incluyendo: las Guías de la Buena Práctica Clínica, los principios éticos para investigaciones médicas en seres humanos de la Declaración de Helsinki emitidos por la 64ª Asamblea General de la Asociación Médica Mundial, Fortaleza, Brasil, octubre 2013, la Ley General de Salud y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, así como las Pautas Éticas Internacionales para la investigación biomédica en seres humanos, preparadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud, Ginebra 2002.

De acuerdo a lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en el Título Segundo, Capítulo I, Artículo 17, Fracción III y publicado en el Diario Oficial el 02 de Abril de 2014, este estudio se considera como una investigación con riesgo mayor al mínimo.

Este estudio se llevó a cabo bajo las disposiciones que determina la regulación en la NOM-177-SSA1-2013 que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.

9.1.18. Gestión de calidad

El área de Gestión de Calidad hizo un seguimiento al proceso de ejecución del estudio mediante el monitoreo de control de calidad para la verificación del apego al protocolo clínico, a los procedimientos normalizados de operación internos, a la normatividad aplicable y a las Buenas Prácticas Clínicas (ICH E6R1). Toda la información obtenida fue analizada para la elaboración y emisión del informe de *Aseguramiento de Calidad*.

9.2. Etapa analítica

9.2.1. Envío de muestras

Para garantizar que las condiciones de traslado de las muestras biológicas desde el área en donde fueron procesadas para su congelación y conservación, hasta la unidad analítica no afectaran la estabilidad de las muestras, fue indispensable cumplir con los siguientes lineamientos:

- ✚ El investigador principal definió la fecha y hora del traslado, así como el transporte a emplear y el tiempo aproximado para el recorrido.
- ✚ El responsable de la unidad analítica definió la temperatura y condiciones de traslado de las muestras. El mecanismo de control y seguridad para el traslado de muestras fue definido por el responsable del traslado en coordinación con el investigador principal.
- ✚ Se contó con un sistema de lectura de la temperatura interna en el congelador. Al menos cada 10 minutos se hizo una lectura con su registro correspondiente.
- ✚ Se registró además, la lectura en el momento de la salida del material del área de procesamiento de muestras, así como la lectura del momento de recepción en la unidad analítica.

9.2.2. Recepción, inspección y almacenamiento de las muestras por la unidad analítica

- ✚ El responsable del estudio del área analítica recibió las muestras (junto con su documentación) y realizó una revisión al 100% con el apoyo de los analistas y de Aseguramiento de Calidad, registrando las observaciones en el formato correspondiente. Una vez concluida la inspección, el Responsable del Estudio o personal asignado, almacenó las muestras en el ultra congelador, documentándolo en la bitácora del equipo.
- ✚ Aseguramiento de la Calidad de la Unidad Analítica se cercioró de la veracidad y confiabilidad de las operaciones.

9.2.3. Manejo de las muestras biológicas por la Unidad Analítica

Las muestras biológicas fueron manejadas y procesadas conforme a la técnica analítica correspondiente.

9.2.4. Desecho de las muestras biológicas

Según lo acordado con el patrocinador, las muestras fueron retiradas del ultracongelador al cumplirse un año de haberse realizado el estudio y fueron colocadas en el almacén temporal de Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos, posteriormente fueron recolectadas por la empresa contratada para tal fin.

9.2.5. Etiquetado de las muestras ultra congeladas

Los criotubos fueron identificados con etiquetas indicando el número de estudio, el número del sujeto, el período y número de muestra especificados en el protocolo clínico. Las etiquetas fueron diseñadas en computadora e impresas en una impresora térmica. El tipo de etiqueta e impresión aseguraron que la impresión y la adhesividad resistieran varios ciclos de congelación y descongelación.

9.2.6. Análisis químico de las muestras biológicas

Para la cuantificación del paracetamol se desarrolló un método analítico para cuantificarlo por Cromatografía de Líquidos acoplado a un detector masas/masas (UPLC MS/MS), en polaridad positiva, de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas y a lo reportado en la literatura científica internacional, adecuándolo a las condiciones del laboratorio y validado para que cumpla con los criterios de la NOM-177-SSA1-2013 y el Sistema de Calidad de la unidad analítica de la Clínica de Enfermedades Crónicas y de Procedimientos Especiales, S.C.

Se llevó a cabo un método por UPLC MS/MS para cuantificar paracetamol en plasma humano, siguiendo las condiciones que se describen a continuación.

9.2.7. Condiciones cromatográficas e instrumentales

Equipo: Cromatógrafo de Líquidos de Ultra Eficacia (UPLC Acquity Clase H, marca Waters) acoplado a un detector de Masas/Masas triple cuadrupolo (MS/MS XEVO TQD), calibrado y calificado.

Fase Móvil: Acetonitrilo: Ácido fórmico 10mM (85:15v/v).

- ✚ **Programa de Adquisición de datos:** MassLynx
- ✚ **Columna:** Cortecs C18, 4.6x100 mm, 2.7 µm
- ✚ **Velocidad de flujo:** 0.7 mL/min
- ✚ **Volumen de inyección:** 5 µL
- ✚ **Temperatura columna:** Temperatura Ambiente
- ✚ **Temperatura del automuestreador:** 6°C
- ✚ **Tiempo de corrida:** 1.5 minutos
- ✚ **Solución de lavado de sellos:** Acetonitrilo HPLC
- ✚ **Solución lavado de aguja:** Acetonitrilo HPLC

9.2.8. Condiciones del espectrómetro de masas

- ✚ **Fuente de ionización:** ESI (+)
- ✚ **Tipo de escaneo:** MRM
- ✚ **Voltaje del capilar:** 2400 V
- ✚ **Temperatura de la fuente:** 550°C
- ✚ **Transiciones de los iones:**

Analito	Ion precursor	Ion producto	Cono (V)	CE (V)
Paracetamol	152.0	110.0	35	16
*Zidovudina	268.0	127.0	14	8

*Estándar interno

- ✚ **Matriz biológica:** Plasma humano

Extracción líquido-líquido: para el análisis de las muestras plasmáticas se empleó una alícuota de los microtubos que se transfirió a un microtubo de procesamiento, se adicionó estándar interno (Zidovudina), a continuación se adicionó solución extrayente, se agitó vigorosamente, se centrifugó la muestra, se congeló y se decantó la fase orgánica posteriormente de evaporó, se reconstituyo y finalmente se tomó una alícuota del sobrenadante para inyectarla al sistema cromatográfico.

9.3. Etapa estadística

9.3.1. Análisis farmacocinético

Los parámetros farmacocinéticos fueron obtenidos utilizando un análisis no compartimental con apoyo del software Phoenix® WinNonlin® versiones vigentes.

Se determinaron los siguientes parámetros:

ABC_{0→0.5}: Área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo, desde el tiempo 0 hasta el tiempo de muestreo 0.5h, por medio de la regla de los trapecoides.

ABC_{0→1}: Área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo, desde el tiempo 0 hasta el tiempo de muestreo 1h, por medio de la regla de los trapecoides.

ABC_{0→t}: Área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo, desde el tiempo 0 hasta el último tiempo de muestreo, por medio de la regla de los trapecoides.

C_{máx}: Concentración plasmática máxima observada directamente de la curva de concentración-tiempo.

t_{máx}: Tiempo en el cual se obtuvo la concentración plasmática máxima.

ABC_{0→∞}: Área bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo, desde el tiempo cero hasta infinito. El ABC_{0→∞} se calcula como la suma del ABC_{0→t} más el cociente entre la última concentración plasmática medible y la constante de eliminación (K_{el}).

$$ABC_{0 \rightarrow \infty} = ABC_{0-t} + C_t / K_{el}$$

K_{el}: La constante de eliminación, calculado de la gráfica semilogarítmica de la concentración plasmática en función del tiempo. Se estima a través de análisis de regresión lineal simple de al menos las 3 últimas concentraciones plasmáticas distintas de cero.

T_{1/2}: Tiempo de vida media o vida media de eliminación terminal calculada como

$$\text{Ln}(2) / K_{el}$$

9.3.2. Estadística descriptiva

En apego a la normatividad, se tabularon las concentraciones por tratamiento y por tiempo de todos los sujetos, indicando el medicamento o formulación y su media aritmética.

También se presentó la estadística descriptiva, de las concentraciones plasmáticas de paracetamol, por tratamiento de manera global (media aritmética, desviación estándar, valor mínimo, valor máximo y coeficiente de variación).

Se determinó la estadística descriptiva de los parámetros farmacocinéticos individuales, por tratamiento, indicando el periodo, la secuencia, el cociente prueba referencia, así como el logaritmo del mismo para los parámetros farmacocinéticos empleados para determinar bioequivalencia (media geométrica, media aritmética, mediana, valor mínimo, valor máximo, desviación estándar y coeficiente de variación).

Se reportó la gráfica de la concentración plasmática contra tiempo individual y promedio en escala aritmética y semilogarítmica.

9.3.3. Análisis estadístico para biodisponibilidad comparativa

9.3.3.1. Análisis de varianza

Se utilizó el modelo lineal general del análisis de varianza que representa el diseño experimental para el análisis de los datos de las variables farmacocinéticas, considerando de manera aditiva las siguientes fuentes de variación:

- ✚ Secuencia de administración.
- ✚ Sujetos anidados en la secuencia de administración denominada variabilidad inter-sujeto o residual inter-sujeto.
- ✚ Periodo de administración.
- ✚ Tratamiento o formulación.
- ✚ Error experimental, denominado variabilidad intrasujeto o residual intrasujeto.

Maestría en Investigación Clínica

Dicho modelo lineal general, aplicado a diseños cruzados para determinar bioequivalencia, es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + G_k + S_{jk} + P_j + F_{(j,k)} + e_{ijk} \quad (\text{Chow \& Liu, 2009})$$

Dónde:

μ = Media general

G_k = Efecto fijo de la k-ésima secuencia

S_{jk} = Efecto aleatorio del i-ésimo sujeto en la k-ésima secuencia, donde $i = 1, 2, \dots, n_k$ y $k = 1, 2, \dots, K$

P_j = Efecto fijo del j-ésimo período, donde $j = 1, 2, \dots, J$ y $\sum_j P_j = 0$

$F_{(j,k)}$ = Efecto fijo directo de la formulación en la k-ésima secuencia, la cual es administrada en el j-ésimo periodo y $\sum F_{(j,k)} = 0$

e_{ijk} = Es el error aleatorio (intra-sujeto) en la observación Y_{ijk}

Se deben considerar las siguientes suposiciones: aleatorización, homogeneidad de varianzas, aditividad (linealidad) del modelo estadístico, independencia y normalidad de residuales.

El efecto de secuencia debe evaluarse usando la media de cuadrados del sujeto anidado en la secuencia como término de error. Todos los demás efectos principales deben evaluarse contra el error residual (media de cuadrados del error) y reportar los valores de F respectivamente. Además, se deberá indicar si la fuente de variación es significativa, cuando la p sea menor de 0.05 ($p < 0.05$).

9.3.3.2. Análisis estadístico para la evaluación de la interacción farmacocinética

Para evaluar la interacción farmacocinética se construyó el intervalo de confianza clásico al 90% para el cociente entre los promedios de los medicamentos de prueba y de referencia. El intervalo de confianza clásico al 90% fue calculado por medio de la siguiente ecuación para el límite inferior y superior respectivamente:

$$\left[\exp \left(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R - t_{1-\alpha, n_1+n_2-2} \hat{\sigma}_W \sqrt{\frac{1}{2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \right), \exp \left(\bar{Y}_T - \bar{Y}_R + t_{1-\alpha, n_1+n_2-2} \hat{\sigma}_W \sqrt{\frac{1}{2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \right) \right]$$

Dónde:

Y_T = Media poblacional del parámetro farmacocinético evaluado del medicamento de prueba
Y_R = Media poblacional del parámetro farmacocinético evaluado del medicamento de referencia
σ_w = Raíz cuadrada de la media de cuadrados del error del parámetro farmacocinético evaluado
$t_{(1-\alpha, N-2)}$ = Distribución <i>t</i> de <i>Student</i> con probabilidad α de 0.05 y N-2 grados de libertad para el número de grados de libertad (gl) = N – 2 con una probabilidad $\alpha = 0.1$
n_1 = Número de voluntarios en la secuencia 1
n_2 = Número de voluntarios en la secuencia 2

Los intervalos de confianza clásicos al 90% fueron calculados para los parámetros farmacocinéticos de $C_{m\acute{a}x}$, $ABC_{0-0.5}$ y ABC_{0-1} ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$. Los límites para evaluar la interacción farmacocinética de acuerdo con Chow y Liu, (2009) son:

Tabla 7 Límites de equivalencia para estudios de interacción entre fármacos

Interacción	% Límite Inferior	% Limite Superior
Inductor	<70	70
No interacción / Bioequivalencia	80	125
Inhibidor Débil	125	200
Inhibidor Moderado	200	500

Se realizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon Man Withney con un nivel de significancia de 0.05 para evaluar el parámetro farmacocinético de $t_{m\acute{a}x}$.

9.3.3.3. Desviación al Plan Estadístico

Todas las desviaciones deben estar justificadas en evidencia estadística o científica y reportarse cualquier cambio en el plan estadístico original en el archivo maestro del estudio y en el reporte farmacocinético estadístico e informe final del estudio. No se reemplazaron los datos de los sujetos, de igual forma no se eliminaron datos del análisis estadístico, salvo en los siguientes casos:

- ✚ Sujetos de investigación con concentraciones pre-dosis en la matriz biológica.

Si la concentración pre-dosis es igual o menor al 5% del valor de la $C_{m\acute{a}x}$ en ese sujeto de investigación, se pueden incluir los datos del sujeto de investigación sin ningún ajuste en todas las mediciones y los cálculos farmacocinéticos. En los casos en que el valor de la pre-dosis sea mayor al 5% de la $C_{m\acute{a}x}$, se debe eliminar al sujeto de investigación de todas las evaluaciones del estudio.

- ✚ Eliminación de datos debido a vómito o diarrea.

Los datos de los sujetos de investigación que experimenten vómito o diarrea durante el transcurso de un estudio de bioequivalencia para productos de liberación inmediata podrán eliminarse del análisis estadístico si el vómito o la diarrea ocurren antes de 2 veces la mediana del $t_{m\acute{a}x}$ o 2 veces el valor de $t_{m\acute{a}x}$ obtenido en el sujeto de investigación en un periodo dado.

- ✚ Un sujeto de investigación con concentraciones plasmáticas muy bajas para los medicamentos en estudio.

Así como lo establece la NOM-177-SSA1-2013, también los sujetos de investigación que en un diseño cruzado no proporcionen datos evaluables, tanto del medicamento de prueba como del medicamento de referencia, no deben ser incluidos en el análisis estadístico.

Un sujeto de investigación se considera que tiene concentraciones muy bajas, si el ABC es menor al 5% de la media geométrica del ABC del medicamento de referencia (debe ser calculada sin inclusión de valores atípicos). La exclusión de los datos debido a esta razón, sólo se acepta bajo justificación científica y previa revisión del caso por COFEPRIS.

- ✚ Finalmente se consideraron todos los datos que no presentaron valores extremos significativos de acuerdo a los criterios de datos extremos, la exclusión de valores extremos debe sustentarse con base en evidencia científica.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1. Resultados etapa clínica

La etapa clínica del estudio se condujo de acuerdo a lo establecido en el protocolo clínico y en total apego a la normatividad nacional y lineamientos éticos. En todo momento los sujetos que participaron en el estudio estuvieron bajo la vigilancia de personal médico y de enfermería capacitados, a fin de asegurar su bienestar, así como la identificación y atención de los eventos adversos que se pudieran presentar.

Se incluyeron un total de 26 sujetos sanos de nacionalidad mexicana, cumplieron con los criterios de inclusión y con ninguno de exclusión, en total 5 mujeres y 21 hombres, de los cuales sólo 25 concluyeron el estudio, ya que el sujeto con número de caso 10 (hombre) fue eliminado, por no acudir a la segunda sesión debido a un evento adverso, no relacionado con el estudio, presentado en el periodo de lavado, que fue atendido fuera de la unidad clínica, diagnosticado como alergia por alimentos, para el cual recibió tratamiento farmacológico con hidrocortisona, loratadina y clorfenamina.

Cada sujeto recibió el medicamento de prueba o referencia que le correspondía en cada sesión, de acuerdo a una lista de aleatorización generada previamente en el programa www.randomization.com. La dosis administrada fue de una tableta de paracetamol 650 mg del medicamento de referencia y una tableta de Paracetamol/ Cafeína de 650/65mg del medicamento de prueba, con 250 mL de agua, tras un periodo estandarizado de ayuno de 10 horas.

En la tabla 8 se muestran los datos demográficos individuales de todos los sujetos que fueron incluidos en el estudio, incluyendo su escolaridad, a fin de demostrar que son sujetos con capacidad suficiente para dar su consentimiento para participar en el estudio de forma libre y consciente.

Tabla 8 Datos demográficos

Caso	Sexo	Edad	Escolaridad (años)	Peso	Talla	IMC	Secuencia
1	H	24	11	60.8	1.62	23.2	B-A
2	M	19	10	53.7	1.47	24.9	A-B
3	M	22	12	44.2	1.44	21.3	B-A
4	H	19	12	51.0	1.65	18.7	A-B
5	H	20	12	54.7	1.65	20.1	A-B
6	H	22	15	56.3	1.62	21.5	A-B
7	H	22	15	58.8	1.71	20.1	A-B
8	H	28	14	68.0	1.69	23.8	A-B
9	H	22	14	73.8	1.76	23.8	B-A
10	H	21	15	56.1	1.67	20.1	A-B
11	H	22	13	68.0	1.70	23.5	B-A
12	H	23	15	70.4	1.62	26.8	B-A
13	H	45	17	60.3	1.67	21.6	B-A
14	M	18	12	66.1	1.66	24.0	B-A
15	H	25	15	59.8	1.62	22.8	B-A
16	H	25	17	54.5	1.61	21.0	A-B
17	M	21	13	46.5	1.49	20.9	B-A
18	H	27	17	82.1	1.75	26.8	A-B
19	H	23	15	73.6	1.66	26.7	A-B
20	H	21	14	62.9	1.68	22.3	A-B
21	H	28	17	66.7	1.71	22.8	A-B
22	H	27	16	62.3	1.62	23.7	B-A
23	H	24	15	63.0	1.57	25.6	B-A
24	H	26	16	54.3	1.59	21.5	B-A
25	H	22	16	55.1	1.55	22.9	B-A
26	M	26	16	44.5	1.53	19.0	A-B

El medicamento fue administrado a los sujetos por grupos de 4 sujetos y un último grupo de 2 sujetos (25 y 26). El horario real de administración de la dosis de medicamento a cada grupo y cada sujeto, se muestra en la tabla 9. La administración del medicamento se realizó de acuerdo a lo señalado en el protocolo clínico y fue homogéneo en ambos periodos del estudio.

Tabla 9 Horario real de administración del medicamento

Grupo	Nº de Sujetos	Horario de Administración
A	1 - 4	08:00 horas
B	5 - 8	08:02 horas
C	9 - 12	08:04 horas
D	13 - 16	08:06 horas
E	17 - 20	08:08 horas
F	21 - 24	08:10 horas
G	25 y 26	08:12 horas

Se presentaron un total de dos eventos adversos no serios durante el estudio:

Sujeto con número de caso 06: Presentó cuadro gripal como evento adverso no serio durante el seguimiento clínico, único, leve, no relacionado con el medicamento de estudio por que se presentó en fase de eliminación y se asoció a cambio climático, sin antecedentes en la historia clínica, se resolvió sin secuelas, se desconoce la duración del evento.

Sujeto con número de caso 10: Presentó alergia por alimento como evento adverso no serio, durante el periodo de lavado, intermitente, moderado, no relacionado con el medicamento de estudio, por presentarse en periodo de eliminación del fármaco, y atribuirse a una alergia por alimentos, sin antecedentes en la historia clínica, no se tomó ninguna acción respecto al medicamento en estudio, se resolvió sin secuelas teniendo duración de 90 horas con 30 minutos.

No se presentaron variaciones relevantes en los signos vitales de los sujetos participantes durante el estudio. Se realizó seguimiento clínico de manera externa a todos los sujetos durante un periodo de 7 días, contados a partir de la toma del medicamento en la segunda sesión, para descartar la presencia de eventos adversos adicionales a los presentados durante las dos etapas de internamiento y el periodo de lavado. Ningún evento adverso adicional se presentó en este periodo de seguimiento, concluyendo así la fase clínica del estudio.

Durante el estudio, se obtuvieron 14 muestras de sangre por periodo, en los tiempos establecidos en el protocolo clínico. Se aceptó tolerancia de ± 1 minuto durante el periodo de absorción y distribución (hasta la muestra 07) y de ± 3 minutos durante el periodo de eliminación, para la toma de muestra. Todos los tiempos dentro de ese margen, no se consideraron desviaciones. 14 muestras se tomaron fuera de este margen de tolerancia y fueron consideradas como desviaciones al tiempo de muestreo (Tabla 10). La desviación más amplia fue de 4 minutos (sujeto 3, sesión 1, muestra 9), durante la fase de eliminación. En general, las desviaciones en los tiempos de muestreo reportados, no afectaron el desarrollo, ni alteraron los resultados del estudio.

Tabla 10 Desviaciones al tiempo de muestreo

No de sujeto	Sesión	Muestra	Hora Programada	Hora Real
2	1	1	08:15	08:17
		2	08:30	08:31
		11	18:00	18:03
3	1	9	14:00	14:04
	2	1	08:15	08:16
7	2	2	08:32	08:33
		10	16:02	16:05
11	1	1	08:19	08:21
		2	08:34	08:35
16	1	5	09:36	09:39
	2	7	10:36	10:39
26	1	1	08:27	08:29
		1	08:27	08:28
	2	7	10:42	10:43

Las muestras sanguíneas, fueron obtenidas por medio de la instalación de un catéter venoso en el antebrazo, en tubos específicamente diseñados para venopunción con heparina sódica como anticoagulante. Cada muestra fue de aproximadamente 10 mL y el volumen de sangre que se extrajo por sesión fue alrededor de 140 mL de sangre y un volumen total de 280 mL al final del estudio. La sangre extraída para el purgado fue aproximadamente 0.5 mL por muestra.

Maestría en Investigación Clínica

Las muestras plasmáticas fueron obtenidas por centrifugación de las muestras sanguíneas extraídas a los sujetos de estudio, a 2500 x g durante cinco minutos a una temperatura de 4°C (\pm 2°C). Una vez obtenido el plasma, este se almacenó en microtubos de 2 mL, conteniendo cada microtubo aproximadamente 1.5 mL de plasma. Posteriormente las muestras plasmáticas fueron almacenadas durante 12 días (del 11 al 23 de febrero de 2015) en ultracongelación a una temperatura de 70°C bajo cero.

10.2. Resultados etapa analítica

Las muestras biológicas se enviaron a la unidad analítica de acuerdo a lo señalado en el protocolo clínico, con una temperatura de salida de 68°C bajo cero y fueron recibidas en la unidad analítica con una temperatura de recepción de 61.1°C bajo cero. Se entregaron en la unidad analítica un total de 728 muestras correspondientes a la primera sesión de la fase clínica y 700 muestras correspondientes a la segunda sesión, no se entregaron muestras del caso 10, correspondientes a la segunda sesión.

Se validó un método analítico para cuantificar paracetamol en plasma humano demostrando que es selectivo, que la presencia de fármacos concomitantes como naproxeno, diclofenaco, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno y cafeína, el uso de anticoagulantes como EDTA y heparina de sodio, así como el estado del plasma lipémico o hemolizado, no presentaron efecto alguno en la cuantificación del analito.

Se utilizó zidovudina como estándar interno, se realizó el análisis por cromatografía de líquidos acoplado a un detector de Masas/Masas (LC-MS/MS) y los datos fueron procesados usando el software MassLynx 4.1.

En la tabla 11 se muestran las condiciones empleadas en el método analítico para la cuantificación del paracetamol en plasma, con los parámetros correspondientes y su descripción.

Tabla 11 Condiciones del método analítico

Parámetro	Especificación
Columna	Cortecs C18 (4.6 x 100 mm, 2.7 µm, Waters)
Fase móvil	acetonitrilo:ácido fórmico (10 mM) 85:15 v/v
Velocidad de flujo	0.7 mL/min
Temperatura del automuestreador	6°C
Volumen de inyección	5 µL
Tiempo de corrida	1.5 min
Tiempo de retención (paracetamol)	1.18 min
Tiempo de retención (zidovudina)	1.19 min
Modo de operación	Monitoreo de Reacción Múltiple (MRM)
Modo de ionización	Electrospray
Temperatura de la fuente	550°C
Voltaje del capilar	2.4 kv
Energía de colisión (paracetamol)	15 V
Energía de colisión (zidovudina)	8 V
Gas de colisión	Argón

El método no presentó acarreo entre inyecciones y fue lineal en el rango de 0.1-30.0 µg/mL, con una ponderación $1 / x^2$, el método demostró ser repetible, reproducible, preciso y exacto. Asimismo, se demostró que las muestras plasmáticas son estables a temperatura ambiente por al menos 27 horas y al menos a 3 ciclos de congelación-descongelación.

Las muestras procesadas son estables en condiciones de automuestreador (6°C) al menos por 27 horas, en refrigeración al menos por 23 horas y las muestras son estables en congelación (-70 °C ± 10 °C), por al menos 62 días.

Las soluciones stock son estables durante 76 días para paracetamol y 195 días para el estándar interno (zidovudina), mientras que la solución de trabajo del estándar interno es estable al menos por 5 días en condiciones de refrigeración (2-8 °C). En la tabla 12 se muestra el resumen de los parámetros de validación del método analítico.

Tabla 12 Resumen de validación del método analítico

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado	Dictamen
Selectividad	Los blancos no deben presentar interferencia >20% para paracetamol y no >5% para el estándar interno (comparado con el LIC).	No hay interferencias en los tiempos de retención de paracetamol y zidovudina	Cumple
Efecto Matriz	El valor FMN obtenido debe ser reproducible; es decir con un CV menor al 15%.	FMN C.V. % (MCB) = 3.925 FMN C.V.% (MCA) = 3.512	Cumple
Efecto de acarreo	Los blancos no deben presentar interferencia >20% para los analitos y no >5% para el estándar interno.	No hay interferencias	Cumple
Bondad de ajuste	La suma de residuales, la r mayor de 0.99 y la r ² mayor de 0.98 serán los que describan el mejor modelo matemático a emplear	Lineal 1/x*x Suma = 1.774 r = 0.998889 r ² = 0.997778	Todas las curvas llevan ponderación lineal 1/x*x
Linealidad y rango de método	Al menos 75% de cada curva debe cumplir con ± 15% de Desv. Con excepción del LIC que es ± 20% de Desv., cada curva debe presentar una r > 0.99 y una r ² >0.98, al menos dos réplicas de cada nivel deben cumplir con los criterios de % Desv.	100% del total cumplen % Desv. r = 0.996640 r ² = 0.993292	Cumple El método es lineal de 0.1-30 µg/mL
Repetibilidad	El %CV del promedio de las muestras debe ser ≤15, excepto para el LIC en donde debe ser ≤ 20; el % Desv debe ser ≤15% para el promedio de las muestras, excepto para el LIC en donde puede ser ≤ 20%	LIC: C.V% = 6.7, %Desv = 7.3 MCB: C.V% = 11.5, %Desv = -0.2 MCM1: C.V% = 9.2, %Desv = 5.4 MCM2: C.V% = 5.0, %Desv = -6.3 MCA: C.V% = 6.2, %Desv = -3.7 MCD: C.V% = 5.2, %Desv = -3.0 Factor de dilución 1:5	Cumple
Reproducibilidad	El CV% del promedio de las muestras debe ser ≤15, excepto para el LIC en donde debe ser ≤ 20; el % Desv debe ser ≤ 15% para el promedio de las muestras, excepto para el LIC en donde puede ser ≤ 20%. Individualmente al menos dos terceras partes del total de las muestras control deben cumplir con el criterio de Exactitud.	Determinación 1 Analista 1: LIC: C.V% = 8.2, %Desv = -7.3 MCB: C.V% = 5.5, %Desv = -0.6 MCM1: C.V% = 5.5, %Desv = 5.9 MCM2: C.V% = 6.7, %Desv = 7.3 MCA: C.V% = 4.3, %Desv = 8.7 Determinación 2 Analista 1: LIC: C.V% = 9.4, %Desv = -0.5 MCB: C.V% = 6.1, %Desv = -0.1 MCM1: C.V% = 7.6, %Desv = -6.6 MCM2: C.V% = 3.9, %Desv = -0.5 MCA: C.V% = 6.0, %Desv = 3.9 Determinación 3 Analista 1: LIC: C.V% = 4.3, %Desv = 5.8 MCB: C.V% = 8.1, %Desv = 3.2 MCM1: C.V% = 4.2, %Desv = -6.4 MCM2: C.V% = 6.2, %Desv = 6.3 MCA: C.V% = 5.9, %Desv = 5.1	Cumple
Límite inferior de cuantificación (LIC)	El CV% del promedio de las muestras debe ser ≤ 20; el % Desv debe ser ≤ 20% para el promedio de las muestras.	LIC: C.V(%) = 9.0, Desv (%) = -0.7	Cumple

Prueba	Criterio de aceptación	Resultado	Dictamen
Reproducibilidad Extendida	Al menos 75% de cada curva debe cumplir con $\pm 15\%$ de Desv. Con excepción del LIC que es $\pm 20\%$ de Desv., cada curva debe presentar una $r > 0.99$ y una $r^2 > 0.98$, al menos la mitad de controles de cada nivel debe cumplir con un %Desv. $< 15\%$ y al menos 2/3 partes del total debe cumplir con %Desv. $< 15\%$	Corrida 1 (4 voluntarios) 90% de las muestras de la curva de calibración cumplen $r = 0.994996$ $r^2 = 0.990017$ 93.75 % de las muestras control cumplen Corrida 2 (4 voluntarios) 100% de las muestras de la curva de calibración cumplen $r = 0.998475$ $r^2 = 0.996952$ 93.75 % de las muestras control cumplen	Cumplen ambas corridas pueden llevarse a cabo corridas de 4 voluntarios
Estabilidades	Estabilidad tiempo cero Las muestras deben presentar un CV($\%$) ≤ 15 , un Desv ($\%$) ≤ 15 y al menos 2/3 partes del total deben cumplir	MCB: C.V% = 6.5 y Desv % = 5.7 MCA: C.V% = 5.5 y Desv % = 9.0 100% del total de controles cumplen	Cumple
	Estabilidad a Largo Plazo Las muestras deben presentar un CV ($\%$) ≤ 15 , Desv ($\%$) ≤ 15 y al menos 2/3 partes del total deben cumplir	MCB: C.V% = 4.1 y Desv % = 12.8 MCA: C.V% = 2.3 y Desv % = 9.0 100% del total de controles cumplen	Cumple Muestras estables en congelación al menos 62 días
	Estabilidad a temperatura ambiente Las muestras deben presentar un CV($\%$) ≤ 15 , un Desv ($\%$) ≤ 15 y al menos 2/3 partes del total deben cumplir	MCB: C.V% = 4.3 y Desv % = 2.2 MCA: C.V% = 5.4 y Desv % = 7.7 100% del total de los controles cumplen	Cumple Muestras estables en temperatura ambiente al menos 27h
	Estabilidad ciclos de congelación-Descongelación Las muestras deben presentar un CV($\%$) ≤ 15 , un Desv ($\%$) ≤ 15 y al menos 2/3 partes del total deben cumplir	MCB: C.V% = 7.9 y Desv % = -1.4 MCA: C.V% = 10.5 y Desv % = -4.4 100% del total de los controles cumplen	Cumple Muestras plasmáticas estables 3 ciclos de congelación descongelación
	Estabilidad muestra procesada en el automuestreador. Las muestras deben presentar un CV($\%$) ≤ 15 , un Desv ($\%$) ≤ 15 y al menos 2/3 partes del total deben cumplir	MCB: C.V% = 3.1 y Desv % = 3.6 MCA: C.V% = 8.5 y Desv % = 5.8 100% del total de los controles cumplen	Cumple Muestras procesadas en automuestreador (6°C) estables por 27 h
	Estabilidad muestra procesada en refrigeración. Las muestras deben presentar un CV($\%$) ≤ 15 , un Desv ($\%$) ≤ 15 y al menos dos terceras partes del total deben cumplir	MCB: C.V% = 1.9 y Desv % = 1.6 MCA: C.V% = 7.7 y Desv % = -1.1 100% del total de controles cumplen	Cumple Muestras procesadas en refrigeración (2-8°C) estables por 23 h
	Estabilidad Soluciones Stock (refrigeración 2-8 °C) El Desv ($\%$) debe ser ≤ 10	Paracetamol Desv.% = 0.2 C.V. % = 3.0 Zidovudina Desv.% = 1.1 C.V. % = 4.3	Cumple Soluciones Stock estables 76 días para paracetamol y 195 días para Zidovudina
Estabilidades	Estabilidad Soluciones de trabajo (refrigeración 2-8 °C) El Desv ($\%$) debe ser ≤ 10	Zidovudina Desv.% = 6.5 C.V. % = 4.0	Cumple Soluciones de trabajo estables 5 días para Zidovudina

En la figura No. 5 se muestra un cromatograma, el cual demuestra que el método es selectivo, ya que al evaluarse las muestras blanco con heparina de sodio y con EDTA, las áreas quedan a nivel de ruido (entre 1.02 y 1.19 con EDTA y entre 1.18 y 1.19 con heparina de sodio) comparándolas con las áreas del analito (2187) y del estándar interno (14165).

El tiempo de retención para el paracetamol fue de 1.18 y de 1.19 para la zidovudina. La transición de m/z fue de 152.0 – 110.0 para paracetamol y de 268.0 – 127.0 para zidovudina.

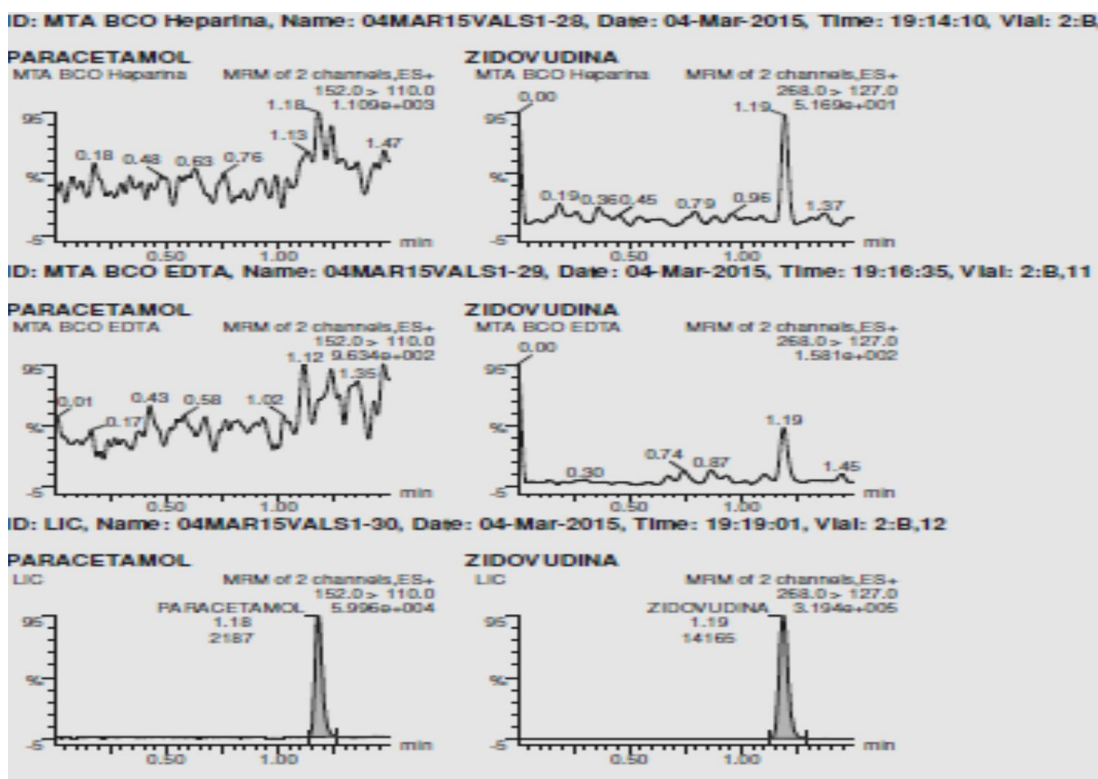


Figura 5 Cromatograma

En la Figura No. 6 se muestra la una curva de calibración en la que se demuestra que el método es lineal en el rango de 0.1 – 30.0 µg/mL. Los valores de r y r² se son de 0.99 por lo que cumplen con el criterio. La pendiente es de 1.67095 y la ordenada al origen de 0.00826539.

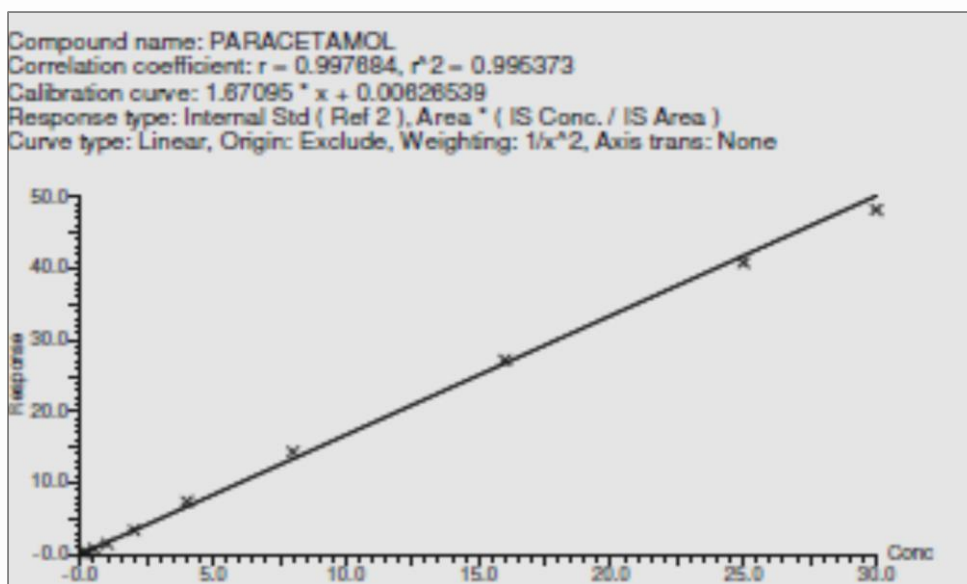


Figura 6 Curva de calibración

10.2.1. Descripción del análisis de muestras

De acuerdo a la información recabada durante la validación del método analítico, se demostró que las corridas analíticas pueden estar compuestas de máximo 4 sujetos y que por sesión se pueden realizar 2 corridas analíticas, de tal manera que se tienen corridas analíticas compuestas de tres y cuatro voluntarios, además de una corrida de reanálisis. Cada corrida contiene al menos dos series de puntos control; es decir al menos 8 muestras control intercaladas a lo largo de la corrida analítica, cada voluntario es acomodado en orden de los tiempos de muestreo e intercalando las sesiones.

Cada corrida analítica está compuesta por una muestra blanco, una muestra cero (muestra blanco adicionada con estándar interno), curva de calibración (compuesta por 10 estándares a distintas concentraciones) en el rango de 0.1-30 $\mu\text{g/mL}$ (paracetamol); posteriormente 8 muestras, la muestra control bajo (MCB), 8 muestras de voluntario siguiendo el consecutivo, la muestra control Medio-1 (MCM1), 8 muestras de voluntario, la muestra control Medio-2 (MCM2), las 6 muestras restantes de voluntario y la muestra control Alto (MCA), se sigue este orden por cada voluntario evaluado.

Previo a cada día de análisis se corre una adecuabilidad del sistema para demostrar que el sistema opera correctamente, en el caso de corridas de reanálisis se siguió el orden de 4 muestras seguidas de un control en orden creciente.

10.2.2. Criterios de aceptación de las corridas analíticas

Adecuabilidad: El factor de respuesta (área analito/área estándar interno) de 6 inyecciones consecutivas no deben tener más de 6% de CV.

Selectividad: Muestra blanco y muestra cero, la muestra blanco no debe presentar interferencia mayor al 20% para paracetamol y no más del 5% para el estándar interno, comparado con la muestra STD1; para la muestra cero no debe presentar interferencia mayor al 20% para paracetamol comparado con la muestra STD 1.

Curva de calibración: La curva debe presentar un coeficiente de correlación “ r ” ≥ 0.99 , un coeficiente de determinación “ r^2 ” ≥ 0.98 , al menos 75% de las concentraciones de la curva de calibración con un mínimo de 6 puntos deben estar dentro del $\pm 15\%$ de desviación con respecto de la concentración nominal en cada nivel de concentración, excepto para el límite inferior de cuantificación, ya que pueden ser del $\pm 20\%$.

Muestras control: Al menos el 50% de cada nivel de concentración evaluado (MCB, MCM1, MCM2, MCA y MCD (cuando aplique)) debe estar dentro de $\pm 15\%$ de desviación con respecto al valor nominal, al menos dos terceras partes del total de controles deben estar dentro de $\pm 15\%$ de desviación con respecto al valor nominal.

Tabla 13 Parámetros de las curvas de calibración y adecuabilidad del sistema de cada día de análisis

Paracetamol		
Día de análisis	Adecuabilidad	Parámetros curva de calibración
12-Mar-2015 Voluntarios 01, 04, 06, 17, 18 y 23	% CV 4.6	Voluntarios 01, 04 y 06 m = 2.32773 b = -0.042634 r = 0.998650 r ² = 0.997303 Voluntarios 17, 18 y 23 m = 2.0617 b = 0.00689904 r = 0.998858 r ² = 0.997718
13-Mar-2015 Voluntarios 05, 07, 14, 19, 24 y 26	% CV 3.6	Voluntarios 05, 07 y 14 m = 1.86841 b = 0.00168796 r = 0.995985 r ² = 0.991986 Voluntarios 19, 24 y 26 m = 2.04222 b = -0.00477949 r = 0.998557 r ² = 0.997115
17-Mar-2015 Voluntarios 02, 03, 08, 09, 11 y 12	% CV 4.7	Voluntarios 02, 03 y 08 m = 2.26251 b = -0.0473707 r = 0.996148 r ² = 0.992311 Voluntarios 09, 11 y 12 m = 2.07911 b = -0.00745522 r = 0.997768 r ² = 0.995540
18-Mar-2015 Voluntarios 15, 16, 20, 21, 22 y 25	% CV 5.5	Voluntarios 15, 16 y 20 m = 2.48185 b = -0.0631727 r = 0.996564 r ² = 0.993140 Voluntarios 21, 22 y 25 m = 2.75674 b = -0.0321724 r = 0.997377 r ² = 0.994760
19-Mar-2015 Reanálisis	% CV 5.2	m = 2.30099 b = -0.0093094 r = 0.997125 r ² = 0.994259

En la tabla 14, se muestra la consistencia de la respuesta de las pendientes obtenidas a través de las corridas analíticas, tenemos como valor más alto una $m = 2.75674$ y el valor más pequeño fue de $m = 1.86841$; los valores de la pendiente presentan un CV de 11.93%; además de que todos los parámetros de las curvas de calibración cumplen durante las corridas analíticas.

Tabla 14 Muestras control de cada día de análisis

Paracetamol					
Día de análisis	Muestras control				Dictamen
	MCB 0.3 µg/mL	MCM1 3.0 µg/mL	MCM2 15.0 µg/mL	MCA 23.0 µg/mL	
12-Mar-2015 Voluntarios 01, 04 y 06	0.276	2.869	13.749	22.617	Cumple
	0.286	2.681	15.277	21.277	
	0.292	2.742	14.487	20.999	
12-Mar-2015 Voluntarios 17, 18 y 23	0.260	2.882	15.520	23.056	Cumple
	0.272	2.990	15.286	23.640	
	0.293	2.833	14.532	23.406	
13-Mar-2015 Voluntarios 05, 07 y 14	0.297	2.972	15.825	24.579	Cumple
	0.315	3.401	*17.457	25.496	
	0.332	3.349	16.385	26.447	
13-Mar-2015 Voluntarios 19, 24 y 26	0.276	2.719	14.784	20.133	Cumple
	0.302	3.032	16.284	24.008	
	0.294	3.016	14.638	24.879	
17-Mar-2015 Voluntarios 02, 03 y 08	*0.240	2.581	15.188	24.891	Cumple
	0.272	2.608	15.420	22.540	
	0.296	2.572	14.228	23.994	
17-Mar-2015 Voluntarios 09, 11, 12 y 13	0.278	2.562	15.208	22.575	Cumple
	*0.253	2.711	14.234	23.779	
	0.282	2.809	14.662	24.032	
	0.274	2.650	14.762	21.735	
18-Mar-2015 Voluntarios 15, 16 y 20	0.286	3.356	13.974	24.610	Cumple
	0.307	*3.549	13.849	24.642	
	0.317	3.297	15.583	26.414	
18-Mar-2015 Voluntarios 21, 22 y 25	0.258	2.829	15.131	23.774	Cumple
	0.288	2.572	15.946	20.760	
	0.299	*2.521	14.179	20.618	
19-Mar-2015 Reanálisis	0.272	3.143	17.141	23.512	Cumple
	0.271	2.780	15.303	25.232	

*Muestras fuera de especificación

Maestría en Investigación Clínica

Se llevó a cabo un análisis para obtener el Coeficiente de Variación (CV) a partir de todos los datos recabados durante las corridas analíticas, este cálculo se realizó sin descartar aquellos valores fuera de especificación, para los puntos control de Paracetamol se presentó lo siguiente:

- Muestra control bajo (MCB) CV = 6.254%
- Muestra control medio-1 (MCM1) CV = 9.147%
- Muestra control medio-2 (MCM2) CV = 5.538%
- Muestra control alto (MCA) CV = 7.326%

Estos resultados demuestran la consistencia de los valores obtenidos en las corridas analíticas, que se ven reflejados en la aceptación de las mismas.

El método analítico fue lineal en el rango de 0.1 a 30 µg/mL, con un coeficiente de determinación de 0.98 y la ecuación $y = 1.64369 \cdot x + 0.00598735$, con una ponderación de $1/x^2$ que describe la línea recta.

En la tabla 15 se muestran los resultados de la evaluación de precisión y exactitud del método analítico, cumpliendo con los criterios de aceptación de $\pm 15\%$, mientras que para el límite inferior de cuantificación (LIC) el criterio de aceptación fue de $\pm 20\%$.

No se observó efecto matriz significativo para paracetamol ni para zidovudina. Las muestras fueron estables a temperatura del automuestreador, temperatura ambiente, temperatura de refrigeración, ciclos de congelación-descongelación y al menos 63 días de estabilidad a largo plazo.

Tabla 15 Precisión y exactitud del método para determinar Paracetamol en muestras plasmáticas

Identificación	Concentración nominal [µg/mL]	Reproducibilidad inter días (n=6)			Reproducibilidad inter días (n=18)		
		Promedio de la concentración obtenida [µg/mL]	Exactitud [%]	Precisión [%]	Promedio de la concentración obtenida [µg/mL]	Exactitud [%]	Precisión [%]
LIC	0.100	0.093	7.3	6.7	0.099	-0.7	9.0
MCB	0.300	0.301	-0.2	11.5	0.303	0.9	6.5
MCM 1	3.000	2.840	5.4	9.2	2.930	-2.3	8.2
MCM 2	15.000	15.946	-6.3	5.0	15.707	4.7	6.2
MCA	23.000	23.841	-3.7	6.2	24.365	5.9	5.5

LIC Límite inferior de cuantificación; MCB Muestra control baja; MCM Muestra control media; MCA Muestra control alta.

Las corridas analíticas cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, durante todo el estudio se llevó un monitoreo de los parámetros de la regresión lineal (pendiente, ordenada al origen, coeficiente de correlación y coeficiente de determinación), los cuales en cada corrida cumplieron con los criterios de aceptación establecidos, de igual forma en el seguimiento de los puntos control se observa que cumplen con las especificaciones.

10.3. Etapa estadística

10.3.1. Estadística descriptiva de la población de estudio.

En la tabla 16 se muestran los promedios y la desviación estándar de los datos demográficos de los sujetos que participaron en el estudio, dando cumplimiento a los requerimientos normativos.

Tabla 16 Promedios y desviación estándar de los datos demográficos

	Edad	Peso	Talla	IMC
Valor Medio	23.92	60.28	1.62	22.67
Desviación Estándar	5.12	9.25	0.08	2.28
% CV	21.40	15.35	4.98	10.08

Maestría en Investigación Clínica

El análisis farmacocinético de las concentraciones plasmáticas se realizó con el programa WinNonlin® versión 6.3, para lo cual se consideró un modelo no compartimental.

Los valores de $t_{\text{máx}}$ y $C_{\text{máx}}$ se obtuvieron directamente de las medidas tomadas. El área bajo la curva de las concentraciones plasmáticas desde t_0 (administración) hasta el t_n (ABC_{0-t}) se estimó con el método trapezoidal con interpolación lineal. Para extrapolar el área bajo la curva a infinito ($ABC_{0-\infty}$), se obtuvo la constante de eliminación a través de regresión lineal, usando los puntos de muestreo que daban el mejor ajuste. La constante de eliminación obtenida, fue utilizada para estimar el área bajo la curva desde el tiempo t a infinito.

La muestra señalada en el protocolo clínico fue de 26 voluntarios, por lo que la aleatorización fue realizada para 26 sujetos, de ambos géneros, la fase clínica del estudio fue concluida con 25 sujetos. El voluntario 10 fue eliminado del estudio, debido a que en el periodo de lavado recibió tratamiento farmacológico; por lo que finalmente el análisis farmacocinético y bioestadístico fue realizado con los datos de 25 voluntarios.

10.3.2. Datos individuales de Concentración plasmática (C_p) Vs. Tiempo (t)

Los datos de concentración plasmática (C_p) contra tiempo (t) de cada sujeto así como su valor medio se muestran en las siguientes tablas 17 y 18, para el medicamento de referencia y el medicamento de prueba, respectivamente.

Tabla 17 Concentraciones individuales correspondientes al medicamento de referencia

Forma	Voluntario	Tiempo (h)													
		0.000	0.250	0.500	0.750	1.000	1.500	2.000	2.500	4.000	6.000	8.000	10.000	12.000	24.000
A	1	0.000	4.825	5.799	7.387	6.350	6.372	5.534	4.556	2.602	1.424	0.821	0.564	0.412	0.107
A	2	0.000	0.110	1.007	1.250	1.999	2.308	3.375	3.901	6.585	2.696	0.790	0.783	0.390	0.110
A	3	0.000	6.634	12.276	14.529	10.748	10.500	8.187	7.359	4.381	2.020	1.234	0.707	0.568	0.110
A	4	0.000	0.000	0.514	2.690	4.062	4.260	4.469	4.856	3.515	1.485	0.882	0.694	0.418	0.000
A	5	0.000	0.928	17.436	14.249	9.888	8.252	6.002	6.291	3.792	2.383	1.238	0.867	0.552	0.000
A	6	0.000	0.000	0.434	1.008	2.190	3.796	4.048	5.247	3.919	1.909	1.038	0.463	0.420	0.000
A	7	0.000	1.776	11.994	9.974	9.153	8.085	6.212	5.951	4.201	2.103	1.093	0.863	0.489	0.000
A	8	0.000	0.193	4.965	7.563	10.458	5.831	5.487	3.954	2.656	1.069	0.722	0.374	0.293	0.117
A	9	0.000	0.418	8.935	7.046	6.700	5.501	4.103	3.525	2.083	1.194	0.627	0.371	0.255	0.000
A	11	0.000	1.015	5.059	6.057	6.452	6.085	4.870	4.441	2.918	1.529	0.801	0.572	0.356	0.000
A	12	0.000	0.208	4.556	7.377	7.761	5.756	4.178	3.608	1.987	1.155	0.788	0.485	0.259	0.000
A	13	0.000	2.118	14.435	10.931	9.600	7.325	5.853	5.324	3.347	2.128	1.452	1.064	0.644	0.116
A	14	0.000	8.067	10.930	9.948	9.207	7.905	6.133	5.321	3.388	1.717	0.809	0.595	0.357	0.000
A	15	0.000	1.573	6.608	10.246	12.601	6.873	8.027	5.770	4.391	2.927	1.466	1.386	0.921	0.219
A	16	0.000	0.170	12.613	10.028	13.436	10.636	8.076	9.733	4.892	3.967	2.173	1.380	1.029	0.270
A	17	0.000	0.000	0.998	4.879	5.730	8.615	10.441	10.287	8.737	4.421	2.660	1.632	1.099	0.124
A	18	0.000	1.948	12.207	7.092	6.790	5.102	4.962	4.147	2.609	1.536	0.776	0.588	0.356	0.133
A	19	0.000	0.000	0.581	1.567	2.179	2.909	3.454	7.251	3.843	1.697	1.065	0.558	0.389	0.120
A	20	0.000	0.101	3.856	4.927	5.968	5.898	6.917	6.791	3.325	2.506	1.295	0.935	0.637	0.128
A	21	0.000	0.000	4.992	6.879	7.340	5.719	5.550	3.993	3.005	1.472	0.780	0.497	0.294	0.103
A	22	0.000	0.673	5.864	7.803	4.730	5.214	4.503	3.807	2.573	1.178	0.900	0.432	0.252	0.000
A	23	0.000	0.000	1.020	9.855	7.378	8.214	5.658	4.805	3.046	1.890	1.065	0.810	0.561	0.104
A	24	0.000	0.678	8.080	11.042	10.994	7.208	6.678	5.482	4.033	2.464	1.600	0.877	0.569	0.134
A	25	0.000	1.547	11.999	11.558	8.811	7.886	4.794	5.101	2.603	1.283	0.942	0.502	0.409	0.000
A	26	0.000	4.026	10.626	10.590	10.781	11.113	10.596	10.333	5.611	4.103	1.903	1.434	0.800	0.189
Promedio		0.000	1.480	7.111	7.859	7.652	6.695	5.924	5.673	3.762	2.090	1.157	0.777	0.509	0.083

Tabla 18 Concentraciones individuales correspondientes al medicamento de prueba

Forma	Voluntario	Tiempo (h)													
		0.000	0.250	0.500	0.750	1.000	1.500	2.000	2.500	4.000	6.000	8.000	10.000	12.000	24.000
B	1	0.000	2.556	7.870	9.534	10.518	7.215	6.280	5.234	3.943	1.572	0.911	0.618	0.344	0.119
B	2	0.000	0.165	1.986	4.594	6.625	10.463	8.911	6.964	4.061	1.861	0.953	0.558	0.351	0.000
B	3	0.000	11.281	11.871	13.040	11.484	9.190	8.965	6.908	4.623	2.241	1.474	0.829	0.669	0.127
B	4	0.000	3.995	8.901	7.718	7.841	6.078	5.635	4.697	2.876	1.578	0.981	0.676	0.438	0.110
B	5	0.000	11.399	13.468	11.818	10.796	8.457	6.245	5.614	3.261	1.901	1.147	0.879	0.485	0.000
B	6	0.000	0.126	1.200	2.514	3.499	4.784	6.153	6.032	3.387	1.844	0.993	0.593	0.491	0.111
B	7	0.000	1.379	11.849	10.289	10.547	8.116	7.435	5.570	3.746	1.850	1.086	0.858	0.503	0.108
B	8	0.000	4.186	10.555	8.855	6.901	6.090	4.484	4.105	2.299	1.124	0.543	0.338	0.273	0.123
B	9	0.000	0.588	2.134	3.109	5.038	5.058	4.567	3.935	2.210	1.024	0.665	0.415	0.286	0.000
B	11	0.000	1.629	3.982	5.457	5.096	5.968	4.647	4.796	3.169	1.552	0.896	0.686	0.421	0.000
B	12	0.000	1.622	8.524	7.917	6.350	5.109	4.624	3.819	2.208	1.268	0.687	0.453	0.330	0.000
B	13	0.000	3.855	7.119	8.581	7.289	7.498	6.036	5.775	3.643	2.346	1.674	1.188	0.728	0.155
B	14	0.000	3.039	11.745	12.579	10.818	8.780	6.612	5.860	2.985	1.537	0.831	0.584	0.395	0.000
B	15	0.000	0.936	3.974	5.154	5.408	9.273	9.048	7.843	4.521	3.143	1.623	1.159	0.747	0.205
B	16	0.000	1.259	17.623	11.929	11.965	8.246	7.702	6.923	4.062	2.622	1.611	1.232	0.876	0.186
B	17	0.000	0.209	7.630	10.115	15.779	9.944	13.055	11.531	6.748	3.840	2.279	1.364	0.565	0.124
B	18	0.000	0.524	6.562	7.895	8.672	5.452	4.591	4.004	2.760	1.461	0.915	0.632	0.464	0.000
B	19	0.000	1.012	9.847	8.311	7.109	4.879	5.078	3.997	2.561	1.293	0.808	0.502	0.403	0.000
B	20	0.000	1.608	8.532	9.862	10.926	6.583	6.385	5.462	3.832	2.296	1.300	0.953	0.551	0.143
B	21	0.000	0.358	1.378	3.791	5.218	5.805	6.197	4.206	3.370	1.351	0.896	0.538	0.289	0.000
B	22	0.000	1.119	6.195	7.130	6.269	4.915	5.605	3.693	2.710	1.399	0.789	0.488	0.206	0.000
B	23	0.000	0.697	8.346	12.047	9.336	6.847	5.409	5.134	3.202	1.902	1.369	0.975	0.576	0.116
B	24	0.000	0.555	2.839	5.752	7.932	7.407	7.544	6.221	4.760	2.780	1.663	1.050	0.605	0.137
B	25	0.000	2.464	8.574	9.159	8.500	7.572	5.880	5.481	3.333	1.285	0.955	0.553	0.367	0.000
B	26	0.000	6.738	14.397	8.521	12.009	12.559	10.513	9.216	5.856	3.463	1.698	1.306	0.859	0.177
Promedio		0.000	2.532	7.884	8.227	8.477	7.292	6.704	5.721	3.605	1.941	1.150	0.777	0.489	0.078

Como puede observarse en las tablas 17 y 18, se incluyen todos los valores para todos los tiempos de muestreo señalados en el protocolo clínico. Al tiempo 0.00 h, los valores de concentración plasmática de paracetamol de todos los sujetos fueron de 0.000 µg/mL en ambas condiciones de administración, lo cual indica que el tiempo de lavado fue apropiado, porque no hay efecto de acarreo o presencia de concentraciones predosis. Además se muestra que el sujeto con número de caso 10, no fue incluido en el análisis.

En la figura No. 7 y en la figura No. 8 se muestran los gráficos de la concentración promedio vs. Tiempo en escala aritmética y logarítmica, respectivamente. En ambos se demuestra que se pudo caracterizar adecuadamente el área bajo la curva. En la figura No.7, se observa gran variabilidad en los primeros tiempos, que corresponden a la fase de absorción, motivo por el cual se realizó la determinación de las áreas parciales durante las primeras 4 horas.

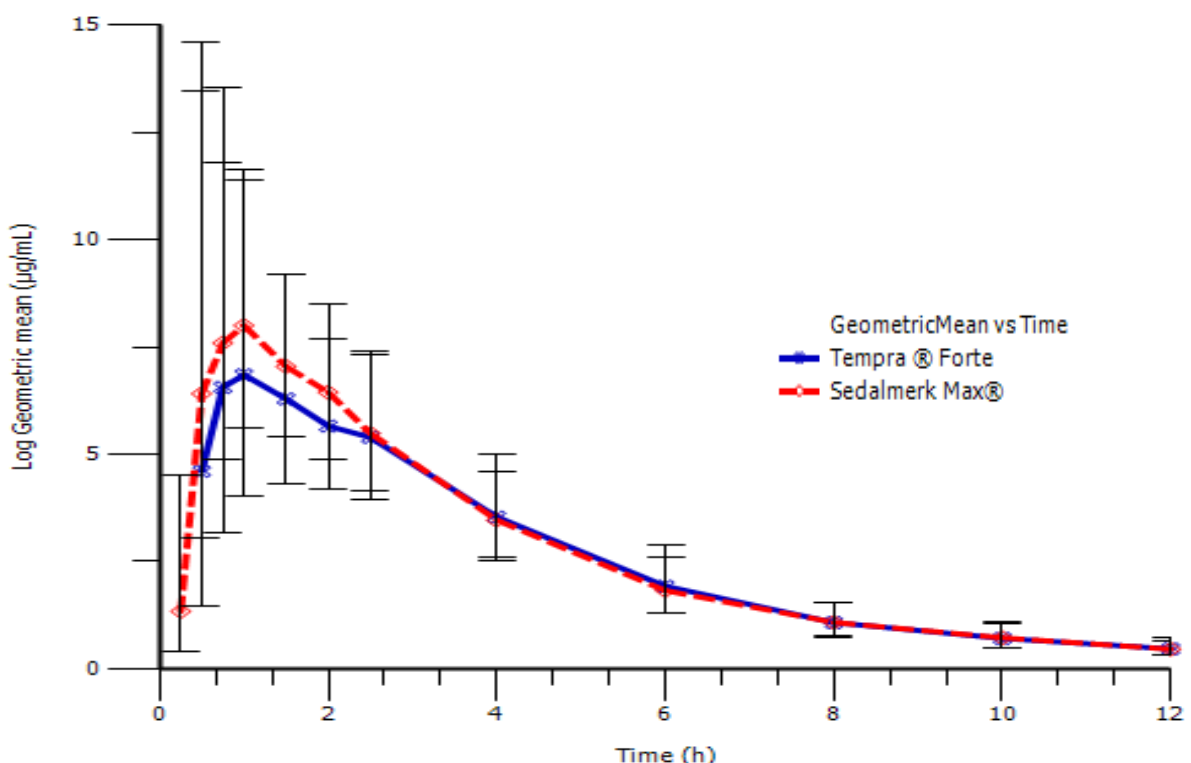


Figura 7 Gráfico de concentración promedio vs tiempo en escala aritmética, tras la administración de medicamentos de prueba y referencia (barras de error estándar)

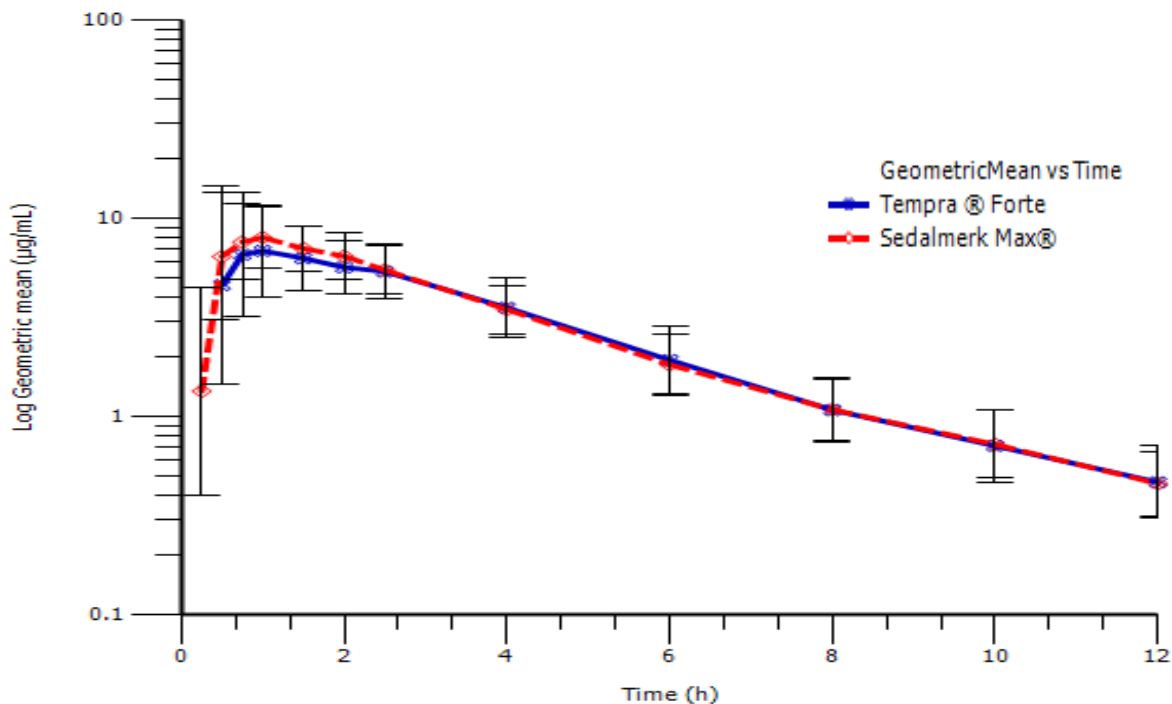


Figura 8 Gráfico de concentración promedio vs tiempo en escala logarítmica, tras la administración de medicamentos de prueba y referencia (barras de error estándar)

En la tabla 19 se muestran los datos individuales, así como la estadística descriptiva de los parámetros farmacocinéticos de paracetamol, que se utilizan normativamente para determinar la equivalencia entre dos productos ($C_{m\acute{a}x}$, ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$). También se muestra el cociente de B/A en los que se entiende que para determinar si dos productos son iguales entre sí, debe ser cercano a 1, en este caso se observa que para los parámetros de $C_{m\acute{a}x}$ y ABC_{0-t} el cociente B/A es de 1.027, mientras que para el parámetro de $ABC_{0-\infty}$ el cociente de B/A es de 1.030.

Tabla 19 Datos individuales y estadística descriptiva de los parámetros farmacocinéticos de Paracetamol

Voluntario	Periodo		Secuencia	C _{max}				ABC _{0-t}				ABC _{0-∞}			
	Forma			Forma		B/A	Ln(B/A)	Forma		B/A	Ln(B/A)	Forma		B/A	Ln(B/A)
	A	B		A	B			A	B			A	B		
1	2	1	BA	7.387	10.518	1.424	0.353	31.091	37.140	1.195	0.178	32.009	38.134	1.191	0.175
2	1	2	AB	6.585	10.463	1.589	0.463	31.519	35.023	1.111	0.105	32.388	36.429	1.125	0.118
3	2	1	BA	14.529	13.040	0.898	-0.108	49.215	52.068	1.058	0.056	50.035	53.005	1.059	0.058
4	1	2	AB	4.856	8.901	1.833	0.606	24.236	33.876	1.398	0.335	26.304	34.759	1.321	0.279
5	1	2	AB	17.436	13.468	0.772	-0.258	41.443	40.231	0.971	-0.030	43.602	42.158	0.967	-0.034
6	1	2	AB	5.247	6.153	1.173	0.159	24.449	30.663	1.254	0.226	25.877	31.579	1.220	0.199
7	1	2	AB	11.994	11.849	0.988	-0.012	38.427	41.443	1.078	0.076	40.238	42.194	1.049	0.047
8	1	2	AB	10.458	10.555	1.009	0.009	28.446	28.561	1.004	0.004	29.895	30.313	1.014	0.014
9	2	1	BA	8.935	5.058	0.566	-0.569	23.224	20.456	0.881	-0.127	24.118	21.787	0.903	-0.102
11	2	1	BA	6.452	5.968	0.925	-0.078	26.637	26.918	1.011	0.010	27.938	28.586	1.023	0.023
12	2	1	BA	7.761	8.524	1.098	0.094	23.113	24.593	1.064	0.062	24.161	26.393	1.092	0.088
13	2	1	BA	14.435	8.581	0.594	-0.520	42.733	42.981	1.006	0.006	43.458	44.018	1.013	0.013
14	2	1	BA	10.930	12.579	1.151	0.141	35.557	35.976	1.012	0.012	36.732	38.101	1.037	0.037
15	2	1	BA	12.601	9.273	0.736	-0.307	49.555	47.768	0.964	-0.037	51.272	49.408	0.964	-0.037
16	1	2	AB	13.436	17.623	1.312	0.271	62.388	52.464	0.841	-0.173	64.741	53.849	0.832	-0.184
17	2	1	BA	10.441	15.779	1.511	0.413	64.586	64.910	1.005	0.005	65.262	65.485	1.003	0.003
18	1	2	AB	12.207	8.672	0.710	-0.342	30.693	27.333	0.891	-0.116	31.951	30.066	0.941	-0.061
19	1	2	AB	7.251	9.847	1.358	0.306	28.595	26.525	0.928	-0.075	29.730	28.079	0.944	-0.057
20	1	2	AB	6.917	10.926	1.580	0.457	38.175	41.563	1.089	0.085	39.073	42.628	1.091	0.087
21	1	2	AB	7.340	6.197	0.844	-0.169	28.781	25.302	0.879	-0.129	29.774	26.324	0.884	-0.123
22	2	1	BA	7.803	7.130	0.914	-0.090	23.799	25.215	1.059	0.058	24.676	25.900	1.050	0.048
23	2	1	BA	9.855	12.047	1.222	0.201	34.638	38.859	1.122	0.115	35.354	39.609	1.120	0.114
24	2	1	BA	11.042	7.932	0.718	-0.331	43.225	43.331	1.002	0.002	44.260	44.324	1.001	0.001
25	2	1	BA	11.999	9.159	0.763	-0.270	31.439	32.230	1.025	0.025	32.985	33.765	1.024	0.023
26	1	2	AB	11.113	14.397	1.296	0.259	62.797	62.853	1.001	0.001	64.131	64.111	1.000	0.000
Media geométrica				9.461	9.721	1.027	-	34.933	35.889	1.027	-	36.220	37.292	1.030	-
Media aritmética				9.960	10.186	1.079	0.027	36.750	37.531	1.034	0.027	37.999	38.840	1.035	0.029
Mediana				10.440	9.850	1.009	0.009	31.520	35.980	1.011	0.010	32.990	38.100	1.023	0.023
Valor mínimo				4.860	5.060	0.566	-0.569	23.110	20.460	0.841	-0.173	24.120	21.790	0.832	-0.184
Valor máximo				17.440	17.620	1.833	0.606	64.590	64.910	1.398	0.335	65.260	65.480	1.321	0.279
SD				3.200	3.149	0.343	0.323	12.600	11.743	0.122	0.114	12.674	11.588	0.107	0.102
CV%				32.100	30.900	31.791	1191.701	34.300	31.300	11.823	420.503	33.400	29.800	10.370	348.619

C_{max} en µg/ml, ABC_{0-t} en h*µg/mL y ABC_{0-∞} en h*µg/mL

En la tabla 20 se muestran los resultados promedio de los parámetros farmacocinéticos, considerando su media aritmética, se observa una alta variabilidad lo cual es atribuible a la sensibilidad de la media aritmética a los valores extremos, por lo cual se realizó el análisis considerando la media geométrica y la media armónica de los parámetros farmacocinéticos empleados para determinar equivalencia, los cuales se muestran en la tabla 21.

Tabla 20 Resultados promedio de parámetros farmacocinéticos (media aritmética)

Variable	N	Forma					
		Tempra® Forte			Sedalmerck Max®		
		Media aritmética	Desviación estándar	CV%	Media aritmética	Desviación estándar	CV%
C _{max} (µg/mL)	25	9.960	3.200	32.124	10.186	3.149	30.919
ABC _{0-t} (µg*h/mL)	25	36.750	12.600	34.287	37.531	11.743	31.290
ABC _{0-inf} (µg*h/mL)	25	37.999	12.674	33.353	38.840	11.588	29.835
t _{1/2} (h)	25	4.424	1.764	39.876	4.338	1.633	37.651
T _{max} (h)	25	1.210	0.889	73.456	0.941	0.469	49.818
Cl/F (mL/h)	25	18.735	5.319	28.393	18.126	5.111	28.194
Vd/F (ml/h)	25	116.419	55.605	47.763	110.363	49.918	45.230

Tabla 21 Resumen de los parámetros farmacocinéticos de paracetamol (media geométrica y media armónica)

Variable	Tempra® Forte (Paracetamol)	Sedalmerk Max® (Paracetamol + Cafeína)
C _{máx} (µg/mL) ⁺	9.46 (34.21)	9.72 (32.38)
ABC _{0-t} (µg *h/mL) ⁺	34.93 (32.58)	35.89 (31.03)
ABC _{0-∞} (µg *h/mL) ⁺	36.22 (31.62)	37.29 (29.52)
t _{1/2} (h) ⁺⁺	3.77 (1.55)	3.85 (1.32)
t _{máx} ⁺⁺⁺	1.00	0.75

+ Media geométrica, (CV% Media geométrica);

++ Media armónica, (jackknife DE);

+++ Mediana;

n =25

En la tabla 21 se observa una ligera diferencia en el parámetro de $C_{\text{máx}}$, el cual es mayor en el medicamento de prueba que contiene cafeína. Considerando las ABC no se observa diferencia significativa al igual que para la $t_{1/2}$, sin embargo, si se observa diferencia en el parámetro de $t_{\text{máx}}$, lo cual confirma que la velocidad de absorción del paracetamol si se ve aumentada por la cafeína. Aunque la magnitud de la absorción no parece afectarse, ya que hay equivalencia en el ABC entre los productos en estudio.

10.3.3. Análisis de Varianza

El análisis de varianza se realizó considerando todos los datos observados en el análisis farmacocinético del paracetamol, bajo las mismas consideraciones estadísticas y el mismo modelo lineal general descrito previamente, para estimar el valor del estadístico F, con base en los resultados de la varianza de los factores o efectos fijos y aleatorios en cada uno de los parámetros farmacocinéticos solicitados para establecer bioequivalencia.

Con este análisis se pudo determinar que no existe efecto de secuencia, formulación ni periodo ya que el valor de P cumple con el criterio (valor de P mayor de 0.05), como se muestra en la tabla 22.

Tabla 22 Análisis de varianza de los parámetros farmacocinéticos transformados logarítmicamente (Ln) de Paracetamol

Variable evaluada	Fuente de variación	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Valor P	Criterio (valor P<0.05)
Ln C_{max} (µg/mL)	Secuencia	1	0.00018792	0.00018792	0.001138741	0.973371461	Cumple
Ln C_{max} (µg/mL)	Secuencia*Voluntario	23	3.795553357	0.165024059			No aplica
Ln C_{max} (µg/mL)	Forma	1	0.009187643	0.009187643	0.19384689	0.663844015	Cumple
Ln C_{max} (µg/mL)	Periodo	1	0.16247677	0.16247677	3.428041134	0.076980296	Cumple
Ln C_{max} (µg/mL)	Error	23	1.090116942	0.047396389			No aplica
Ln ABC _{0-t} (µg*h/mL)	Secuencia	1	0.000511299	0.000511299	0.002629246	0.959548186	Cumple
Ln ABC _{0-t} (µg*h/mL)	Secuencia*Voluntario	23	4.472721291	0.194466143			No aplica
Ln ABC _{0-t} (µg*h/mL)	Forma	1	0.009114366	0.009114366	1.35510992	0.25632049	Cumple
Ln ABC _{0-t} (µg*h/mL)	Periodo	1	1.71274E-05	1.71274E-05	0.002546478	0.960189411	Cumple
Ln ABC _{0-t} (µg*h/mL)	Error	23	0.154696244	0.006725924			No aplica
Ln ABC _{0-inf} (µg*h/mL)	Secuencia	1	1.65674E-05	1.65674E-05	9.1441E-05	0.992452825	Cumple
Ln ABC _{0-inf} (µg*h/mL)	Secuencia*Voluntario	23	4.167183505	0.181181892			No aplica
Ln ABC _{0-inf} (µg*h/mL)	Forma	1	0.010644995	0.010644995	1.976363555	0.173140008	Cumple
Ln ABC _{0-inf} (µg*h/mL)	Periodo	1	0.000344858	0.000344858	0.064026739	0.802489032	Cumple
Ln ABC _{0-inf} (µg*h/mL)	Error	23	0.123881496	0.005386152			No aplica

Con este análisis también se obtuvo el cuadrado medio del error que fue empleado para calcular los intervalos de confianza al 90%, para poder determinar si el medicamento de prueba fue bioequivalente al medicamento de referencia.

10.4. Estadística de bioequivalencia

En la tabla 23 se presentan los resultados de la estadística de bioequivalencia para los datos farmacocinéticos transformados logarítmicamente para paracetamol. Se muestra que los intervalos de confianza al 90% promedios cumplen con el rango de aceptación de 80 – 125%, por lo que se pudo determinar que el producto de prueba y el producto de referencia son bioequivalentes.

Tabla 23 Estadística para la determinación de bioequivalencia de Paracetamol

Parámetro	Intervalo de confianza al 90%		t doble unilateral de Schuirmann		Potencia	Criterio de aceptación	Cumple con el criterio
			P < 80%	P > 25%			
LnC _{máx}	92.8723	114.7166	0.0002	0.0025	0.965443	80-125	Si
LnABC _{0-t}	98.7250	106.9021	0.0000	0.0000	1.000000	80-125	Si
LnABC _{0-∞}	99.3389	106.6708	0.0000	0.0000	1.000000	80-125	Si
Evaluación propuesta para determinar la interacción de Cafeína							
LnABC _{0-0.5}	113.7372	253.0105	0.0019	0.8983	0.235010	80-125	No
LnABC ₀₋₁	101.3056	157.6764	0.0009	0.5337	0.506889	80-125	No

A pesar de que considerando los parámetros farmacocinéticos promedio se demostró que ambos productos son bioequivalentes, al tener resultado de los intervalos de confianza al 90% dentro del rango de aceptación, considerando lo observado en etapas tempranas y atendiendo la recomendación de la FDA se analizaron las áreas parciales durante las primeras cuatro horas, para determinar la exposición temprana.

10.4.1. Análisis de áreas parciales

La tabla 24 muestra los resultados de equivalencia de las áreas parciales en diferentes tiempos, entre ambas formulaciones en estudio. Se puede observar que las áreas son mayores en el medicamento de prueba que en el medicamento de referencia, lo cual se confirma con los valores del intervalo de confianza al 90%, principalmente en las primeras 2 horas, las cuales quedan por encima del rango de aceptación de bioequivalencia (80 – 125%), es decir son supra biodisponibles en la fase de exposición temprana.

Posteriormente, a partir de las 3 horas, la diferencia comienza a disminuirse y los intervalos de confianza al 90% quedan comprendidos dentro del rango de aceptación (80 – 125%).

Tabla 24 Análisis de áreas Parciales

ABC Parciales	Referencia	Prueba	Punto estimado	90% IC
ABC _{0-0.5}	0.72	1.21	169.63	113.73 - 253.01
ABC _{0-1.0}	4.06	5.07	126.38	101.30 - 157.67
ABC _{0-1.5}	7.54	9.02	120.63	102.37 - 142.15
ABC _{0-2.0}	10.70	12.54	117.98	103.54 - 134.43
ABC _{0-3.0}	16.43	18.26	111.53	102.46 - 121.40
ABC _{0-4.0}	20.87	22.47	107.82	101.72 - 114.28

ABC Área bajo la curva; IC Intervalo de confianza

En la figura No. 9 se muestran los gráficos del análisis de las áreas parciales de paracetamol que es la representación de lo señalado anteriormente. Se puede observar diferencia en las primeras cuatro gráficas, que son las que corresponden a las primeras 2 horas. Sin embargo, conforme pasa el tiempo esta diferencia disminuye, como se puede ver en las dos últimas gráficas, que son las correspondientes a las ABC_{0-3.0} y ABC_{0-4.0}.

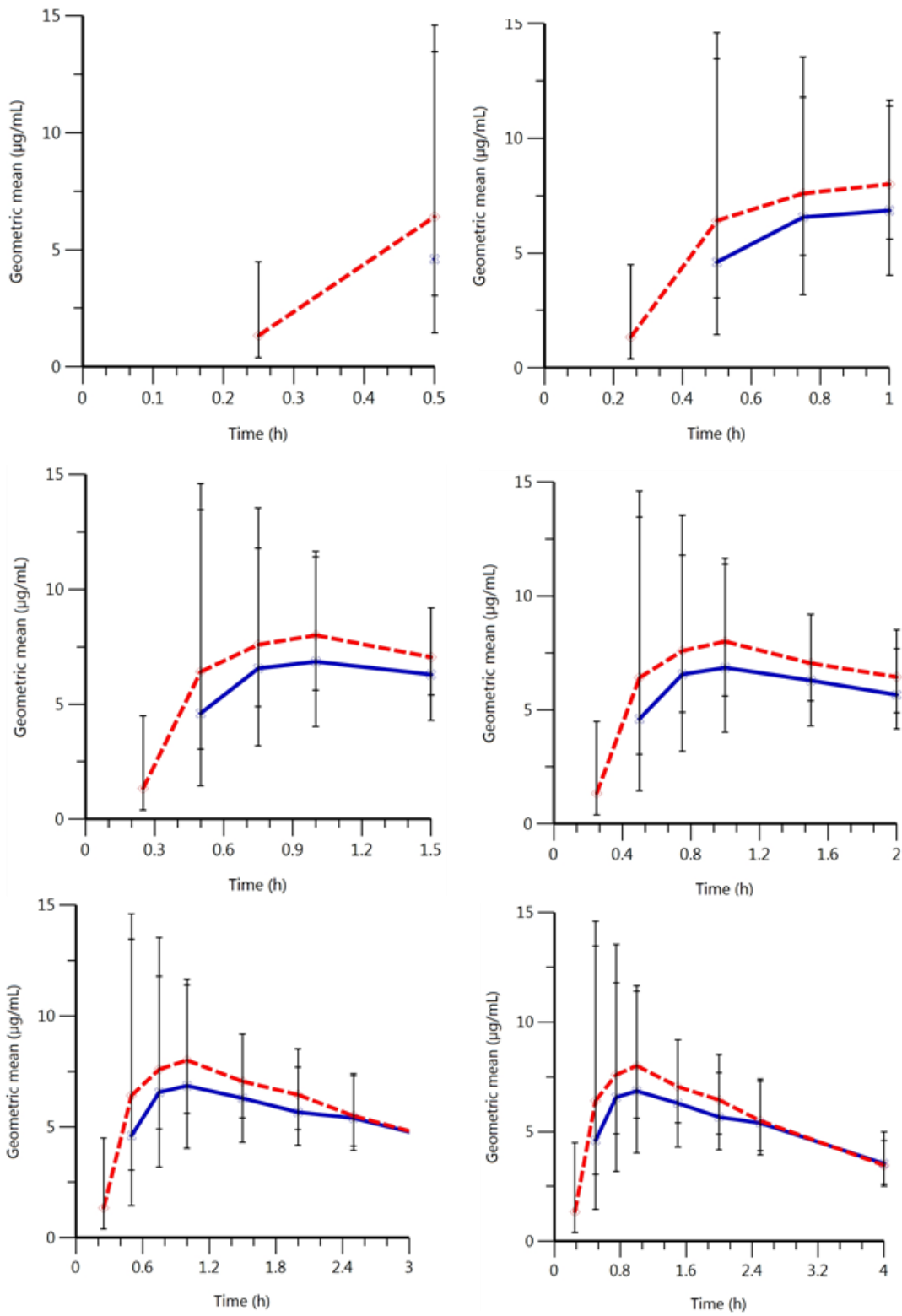


Figura 9 Gráficos de ABC parciales

El valor de $t_{m\acute{a}x}$ se muestra con el gráfico de cajas y bigotes, en la figura No. 10, este valor fue evaluado con la prueba de Wilcoxon Mann–Whitney, con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ y un valor de p de 0.49. La figura muestra un punto considerado como valor atípico (outlier) para el medicamento de referencia, sin embargo, este punto solo representa un valor extremo sin significancia estadística. Con este gráfico, se demuestra que no existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de $t_{m\acute{a}x}$ en ambas formulaciones, por esta razón, el parámetro de $C_{m\acute{a}x}$ no se modifica, además de que debemos considerar que el parámetro de $t_{m\acute{a}x}$ no es un indicador adecuado de la velocidad de absorción, ya que no sigue un comportamiento normal o log-normal como $C_{m\acute{a}x}$, por lo tanto, el análisis de las áreas parciales resulta más conveniente para demostrar las diferencias en la velocidad de absorción (Tabla 24).

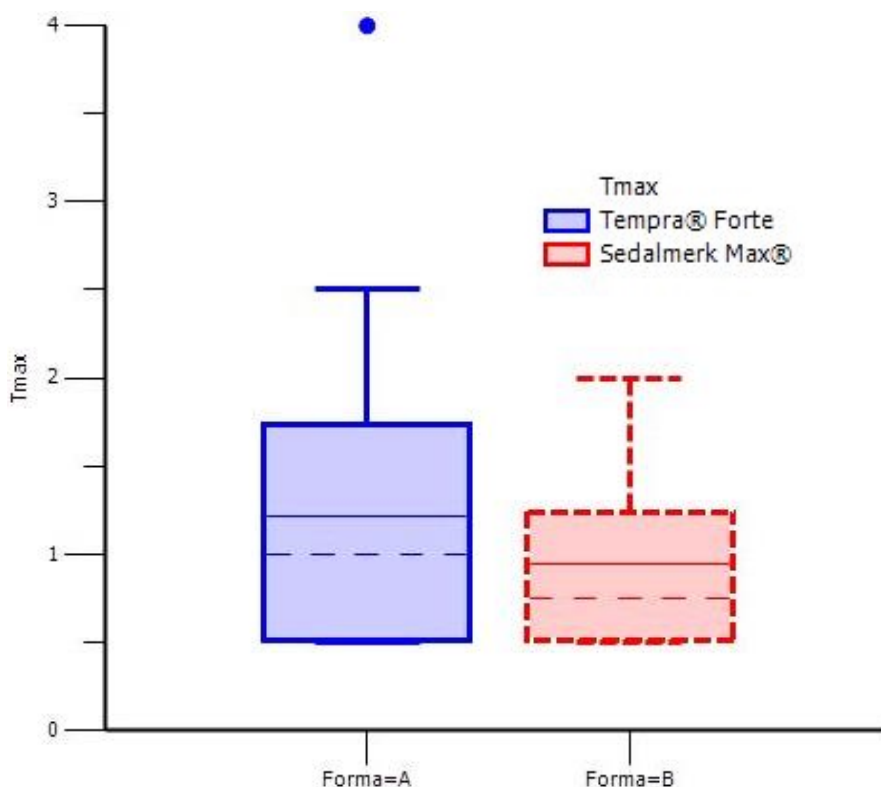


Figura 10 Gráfico de cajas y bigotes del parámetro farmacocinético $t_{m\acute{a}x}$.
(A medicamento de Referencia, B medicamento de Prueba)

En este estudio se demostró que existe una diferencia significativa en etapas tempranas con respecto a la velocidad de absorción del paracetamol, cuando se administra en combinación con cafeína, esta diferencia se demostró mediante el análisis de las áreas parciales.

En el artículo de Renner *et al.*, (2007) se analizaron las áreas parciales, durante los primeros 90 minutos, en este estudio realizamos el análisis de las áreas parciales durante las primeras 4 horas, a fin de poder determinar adecuadamente la fase de absorción del paracetamol.

Al igual que en el estudio de Renner *et al.*, (2007), en nuestro estudio se observó una absorción más rápida del producto que contiene cafeína, que en este caso es el medicamento de prueba (Sedalmerck Max[®]). Se puede deducir que la modificación en la velocidad de absorción del paracetamol no es dosis dependiente ya que en el estudio de Renner *et al.*, utilizaron dosis dos veces mayores a las utilizadas en este estudio (1000 mg de paracetamol y 130 mg de cafeína).

En el estudio de Renner *et al.*, se realizó además una evaluación del efecto analgésico del paracetamol, comparado con el paracetamol en combinación con cafeína, en él se demostró que la combinación es significativamente superior, comparado con el paracetamol o la cafeína solos, para reducir la percepción del dolor tónico (de larga duración). Muchos estudios han demostrado que la cafeína mejora el efecto analgésico de los inhibidores de la cicloxigenasa. En el estudio de Renner *et al.*, se demostró además que la cafeína por sí sola, no tiene un efecto antinociceptivo ni analgésico, pero que si incrementa el efecto del paracetamol.

Los datos farmacocinéticos obtenidos por Renner *et al.*, muestran que el paracetamol en combinación con cafeína y el paracetamol solo, son bioequivalentes entre sí, si se considera su biodisponibilidad general, es decir, las áreas bajo la curva totales (ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$), sin embargo, las ABC parciales y $C_{máx}$ para paracetamol, fueron mayores cuando el paracetamol se administró en combinación con cafeína.

Este incremento en la velocidad de absorción y en la $C_{m\acute{a}x}$ puede explicar el incremento en el efecto analgésico del paracetamol, observado en su estudio, cuando se administra en combinación con cafeína.

En nuestro estudio el producto de prueba (en combinación con cafeína) y el de referencia (sin cafeína), también resultaron bioequivalentes considerando la biodisponibilidad general (ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$), y considerando $C_{m\acute{a}x}$, también se demostró la diferencia en la velocidad de absorción mediante el análisis de las áreas parciales, las cuales se realizaron tomando como antecedente el estudio de Renner *et al.*, así como las recomendaciones de la FDA.

Las posibles razones por las cuales la cafeína modifica la absorción de paracetamol incluyen:

1. La cafeína mejora el flujo sanguíneo en la mucosa gastrointestinal y posiblemente disminuye la depuración temprana.
2. Tanto la cafeína como el paracetamol son sustratos del citocromo P450 (isoenzima 1A2). Dado que la cafeína inhibe débilmente la enzima, esto puede contribuir a valores más altos en las ABC tempranas para paracetamol, aunque es improbable que esto impacte mucho, ya que las ABC totales de paracetamol resultaron bioequivalentes con y sin cafeína.

En nuestro estudio no se evaluó el efecto del paracetamol, únicamente se realizó una comparación de su farmacocinética con y sin cafeína, en población mexicana, la cual fue distinta a la población del Reino Unido utilizada por Renner *et al.*, sin embargo, en nuestro estudio también se observó un incremento en la velocidad de absorción, demostrado mediante el análisis de las áreas parciales, aunque no se obtuvo diferencia significativa en los valores de $C_{m\acute{a}x}$ (9.46 $\mu\text{g/mL}$ para el medicamento de referencia y 9.72 $\mu\text{g/mL}$ para el medicamento de prueba), la cual si se observó en el estudio de Renner *et al.*

Maestría en Investigación Clínica

Considerando las ABC totales (ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$) y $C_{m\acute{a}x}$, los medicamentos resultaron bioequivalentes.

Por los resultados obtenidos por Renner *et al.*, podemos deducir que al absorberse más rápido el paracetamol en combinación con cafeína, se puede obtener un efecto analgésico más rápido, también en la población mexicana.

11. CONCLUSIONES

1. Los IC al 90% promedio, tanto para $C_{m\acute{a}x}$ como para las ABC_{0-t} y $ABC_{0-\infty}$ se encuentran dentro del rango de aceptación de 80 – 125%, por lo que en este estudio se concluyó que el producto de prueba es bioequivalente con el producto de referencia, en términos de velocidad de absorción y magnitud de la biodisponibilidad de paracetamol.
2. La determinación del IC al 90% de las ABC parciales en las primeras horas después de su administración por vía oral, es más sensible para establecer diferencias en la velocidad de absorción de un fármaco, que el análisis estadístico de $t_{m\acute{a}x}$.
3. Al observar diferencia en la velocidad de absorción en las primeras horas tras la administración por vía oral, siendo más rápida con el producto de prueba (combinación con cafeína), se puede determinar que, sí existe interacción farmacológica entre el paracetamol y la cafeína, la cual puede deberse a cambios a nivel de la mucosa gastrointestinal, cambios en la depuración temprana del paracetamol o actividad relacionada con el citocromo P450.
4. Los resultados obtenidos en este estudio realizado en población mexicana, son congruentes a lo observado en el estudio de Renner *et al.* (2007), en cuanto a la velocidad de absorción del paracetamol. Sin embargo, en este estudio no se observó diferencia en $C_{m\acute{a}x}$.
5. En la población mexicana estudiada, el producto de prueba que contiene cafeína, se absorbe ligeramente más rápido que el producto de referencia, por lo que, considerando los resultados obtenidos por Renner *et al.* (2007), se puede esperar un efecto analgésico en un período de tiempo más corto, lo que representa una ventaja en el manejo del dolor agudo.

Sin embargo, para poder evaluar la eficacia del paracetamol y demostrar que su efecto analgésico es más rápido, cuando se administra en combinación con cafeína, se requiere realizar otros estudios, en los que se evalúe su efecto analgésico solo y en combinación con cafeína, en pacientes con dolor agudo.

6. El paracetamol, demostró ser seguro y bien tolerado, tanto solo como en combinación con cafeína, en la población de estudio ya que sólo se presentaron dos eventos adversos y ninguno de ellos se relacionó con el medicamento.

12. PERSPECTIVAS

Durante el desarrollo de este proyecto, se logró evaluar las diferencias en la farmacocinética del paracetamol solo y en combinación con cafeína. Este aspecto no había sido evaluado previamente en población mexicana. Si bien existe el antecedente del estudio realizado y publicado por Renner *et al.*, (2007), no se cuenta con evidencia científica de un estudio previo, realizado para evaluar específicamente la farmacocinética y hacer un comparativo para determinar la bioequivalencia mediante un estudio de biodisponibilidad comparativa al tratarse de formulaciones distintas. No se tenía información de estudios realizados en población mexicana, a pesar de que el paracetamol es un medicamento de uso frecuente en nuestro país, de fácil acceso, que se vende sin receta y por lo tanto es susceptible de automedicación.

Por lo anterior es indispensable contar con información científica que permita ampliar el conocimiento que se tiene actualmente sobre este medicamento, para poder contar con dicha información, se requiere realizar estudios clínicos controlados, en población mexicana, y sobre todo dar a conocer los resultados a fin de que puedan ser compartidos y discutidos con la comunidad científica, tanto nacional como internacional.

El tener mayor información procedente de un estudio clínico controlado y con suficiente rigor científico puede ser el antecedente para que la autoridad regulatoria en México, conozca que si existen diferencias y solicite a la industria farmacéutica la realización de más estudios que permitan tomar mejores decisiones e incluso modificar las políticas públicas en salud a fin de poder contar no solo con insumos seguros y de calidad, sino poder lograr un mejor control sobre la prescripción y venta de este medicamento.

13. REFERENCIAS

- Anderson B.J., Holford N., (2007). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of analgesic drugs. Pain in neonates and infants. Third edition. Ch09-N52061.qxd 2/7/07
- Chow S.S, Liu JP. (2009). Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. 3rd edition. US: CRC Press.
- Culm-Merdek Kerry E., Von Moltke Lisa L., Harmatz Jerold S., Greenblatt David J., (2005). Fluvoxamine impairs single-dose caffeine clearance without altering caffeine pharmacodynamics; British Journal of Pharmacology, 60:5, 486-493.
- Doherty M., Hawkey C., Goulder M., Gibb Iain, Hill N., Aspley S., Reader S. (2011). A randomised controlled trial of ibuprofen, paracetamol or a combination Tablet of ibuprofen/paracetamol in community-derived people with knee pain. Ann Rheum Dis 2011 70: 1534-1541.
- DrugBank-acetaminophen. DB00316 (APRD00252).
- Gilmore B., Michael M., (2011). Treatment of Acute Migraine Headache. American Family Physician www.aafp.org/afp Volume 83, Number 3.
- Girona Brumós Lourdes, (2013). Introducción a las interacciones farmacológicas, 1ª. edición, sociedad española de Farmacia Hospitalaria (SEFH).
- Goodman Louis S y Gilman Alfred, Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12a. Edition, Brunton Laurence L, Lazo John S, and Parker Keith L, Edit., McGraw–Hill, 2006; Section IV, Chapter 34, pages 982-984 and Table All-1 Pharmacokinetic Data, page 1899.
- Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol, (2014). Centro de Información toxicológica de Veracruz. Disponible en la web: <https://www.ssaver.gob.mx/citver/files/2014/03/Intoxicaci%C3%B3n-por-Paracetamol.pdf>
- Hernández Cortez Enrique, (2016). Acetaminofén: el medicamento más usado en pediatría, Anestesia en México; 28 (3): 1- 4.

Maestría en Investigación Clínica

- Liu D.J., Kotler M., Sharples S., (2011). Pharmacokinetic and Bioequivalence Study Evaluating a New Paracetamol/caffeine Formulation in Healthy Human Volunteers. *Bioequivalence & Bioavailability*, 3:11
- Medication for migraines
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0072555/>
- Nawrot P., Jordan S., Eastwood J., Rostein J., Hugenholtz A., Feeley M. (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 20, No. 1, 1–30.
- NOM-177-SSA1-2013 Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad. Publicada en el DOF 20/09/2013.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, publicada en el DOF: 04/01/2013
- NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos, publicada en el DOF: 09/09/2015
- NORMA Oficial Mexicana NOM-072-SSA1-2012, Etiquetado de medicamentos y de remedios herbolarios, publicada en el DOF: 21/11/2012
- NORMA Oficial Mexicana NOM-220-SSA1-2012, Instalación y operación de la farmacovigilancia, publicada en el DOF: 07/01/2013
- Ortega-Barrales P., Padilla-Weigand R., Molina-Díaz A., (2002). Simultaneous determination of paracetamol and caffeine by flow injection-solid phase spectrometry using C₁₈ Silica gel as a sensing support. *Analytical sciences*, November, Vol.18.
- PDR, 2014 Acetaminophen-Drug summary. Disponible en la web: <http://www.pdr.net/drug-summary/Children--39-s-FeverAll-acetaminophen-2606.1945>

Maestría en Investigación Clínica

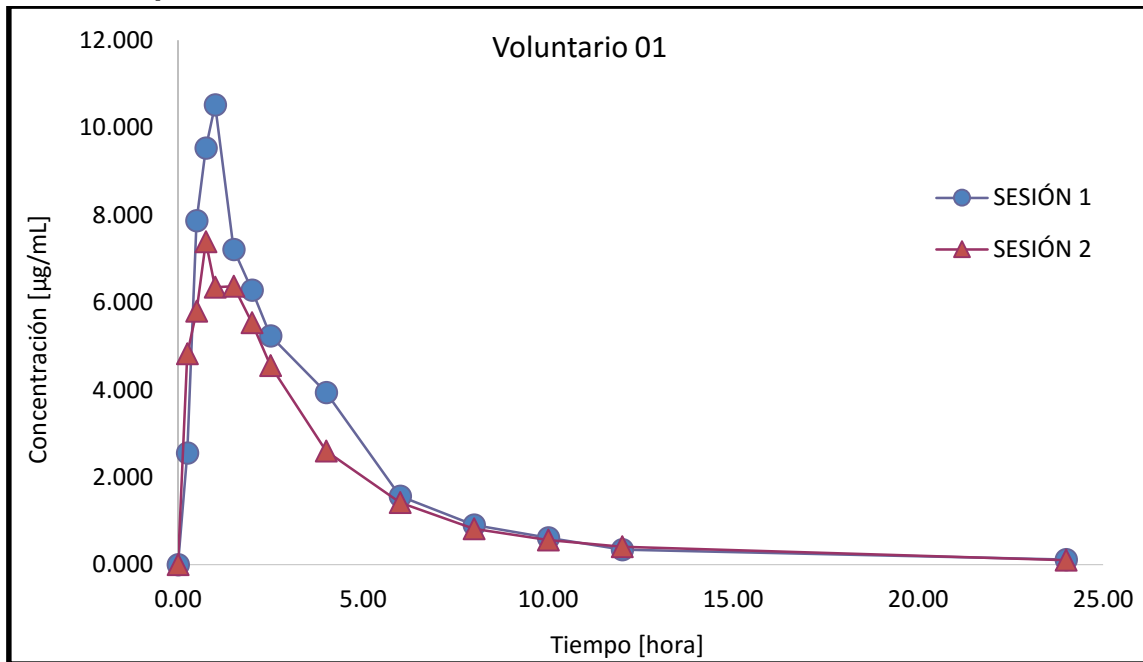
- PDR, 2014 Caffeine citrate – Drug Summary. Disponible en la web: <http://www.pdr.net/drug-summary/Caffeine-Citrate-caffeine-citrate-3724.3725>
- PLM, 2014 – Tempra® Forte. Disponible en la web: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/dirijo.php?bib_vv=6
- Pradilla O.E., (2004). Ciclooxygenasa 3: La nueva iso-enzima en la familia. MedUnab Vol. 7 Número 21, 181 – 184.
- Prior M.J., Codispoti J.R., Fu M., (2010). A Randomized, Placebo-controlled Trial of Acetaminophen for Treatment of Migraine Headache. Headache 50(5):819-833.
- *PubChem, Compound Summary for CID 1983, Acetaminophen. Disponible en el sitio web:* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1983#section=Top>
- *PubChem, Compound Summary for CID 2519, Caffeine. Disponible en el sitio web:* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2519#section=Top>
- Renner B., Clarke G., Grattan T., Beisel A., Mueller C., Werner U., Kobal G. and Brune K., (2007). Caffeine Accelerates Absorption and Enhances the Analgesic Effect of acetaminophen; The Journal of Clinical Pharmacology; 47:715-726.
- Shariq A. Syeda, Gary H. Kamimorib, William Kellyb, Natalie D. Eddington, (2005). Multiple Dose Pharmacokinetics of caffeine Administered in Chewing Gum to Normal Healthy Volunteers. Biopharmaceutics & drug disposition Biopharm. Drug Dispos. 26: 403–409
- Shinoda S., Aoyama T., Aoyama Y., Tomioka S., Matsumoto Y., Ohe Y., (2007). Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of acetaminophen Analgesia in Japanese Patients with Chronic Pain. Biol. Pharm Bull. 2007 Jan; 30(1):157-61.
- Sisamón I.A., (2003). Acerca de la hepatotoxicidad del paracetamol. Revista del Hospital Privado de Comunidad 6(2).
- Thomas JE, et al. (2009). STEMI in a 24-Year-Old Man after Use of a Synephrine-Containing Dietary Supplement A Case Report and Review of the Literature. Tex Heart Inst J 36(6):586-90.

14. ANEXOS

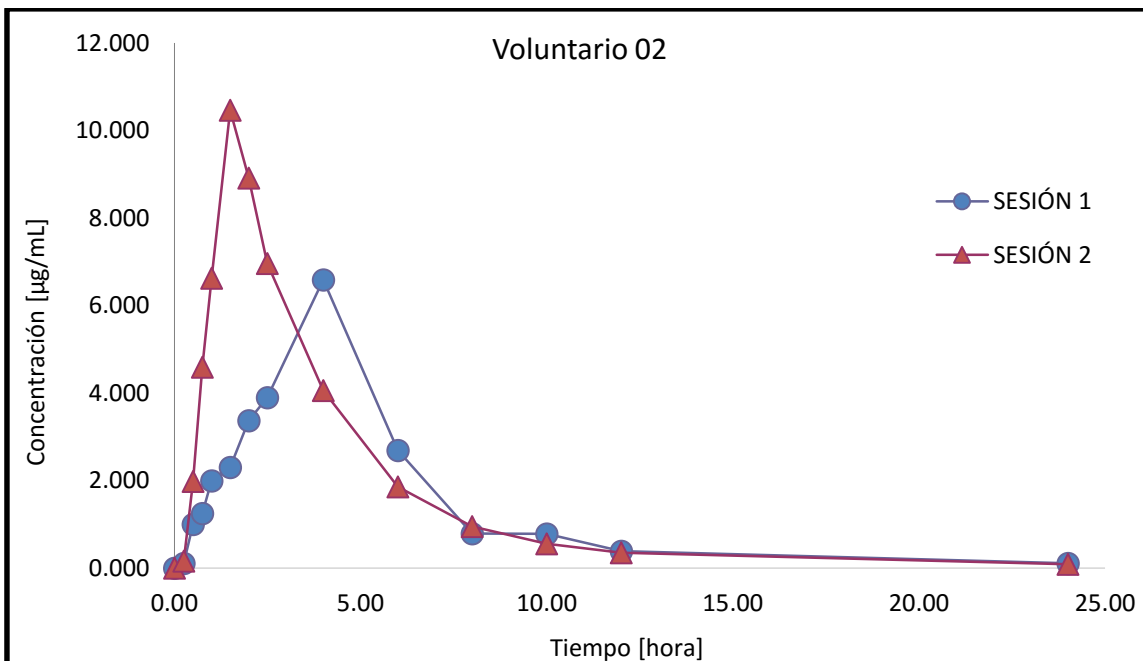
14.1. Anexo 1. Cronograma de periodo total de estudio

Etapa Pre-Clínica	Etapa Clínica			Etapa Post-Clínica
Actividad del Día - 120 al 0	Día	Hora	Actividad	Actividad a partir del Día 10
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elaboración de protocolo. ▪ Elaboración de FCI. ▪ Autorización de protocolo. ▪ Autorización del Comité de Ética en Investigación y Comité de Investigación. ▪ Sometimiento a COFEPRIS. ▪ Aprobación de COFEPRIS. ▪ Recepción de medicamento. ▪ Programación. ▪ Selección de sujetos. ▪ Elaboración de FRC. 	0	A partir de las 16:00 horas	Internamiento.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Seguimiento clínico de los sujetos ▪ Cierre de FRC's ▪ Entrega de muestras a la Unidad Analítica ▪ Elaboración del Informe Clínico ▪ Fase analítica ▪ Informe final ▪ Cierre del estudio ▪ Solicitud de autorización para destrucción de muestras biológicas.
	SESIÓN 1			
	01	06:00 horas	Toma de 250 mL de agua.	
		06:30-07:30 horas	Aplicación de catéter y muestra 0.	
		08:00 horas	Toma del medicamento.	
		08:15 horas	Inicio de toma de muestras.	
	02	08:00 horas	Muestra de las 24.0 horas.	
		Aproximadamente a las 10:00 horas	Alta de la Unidad Clínica.	
	Período de Lavado – 07 días			
	07	A partir de las 16:00 horas	Internamiento.	
	SESIÓN 2			
	08	06:00 horas	Toma de 250 mL de agua.	
		06:30-07:30 horas	Aplicación de catéter y muestra 0.	
		08:00 horas	Toma del medicamento.	
		08:15 horas	Inicio de toma de muestras.	
09	08:00 horas	Muestra de las 24.0 horas.		
	Aproximadamente a las 10:00 horas	Alta definitiva, Cita abierta.		

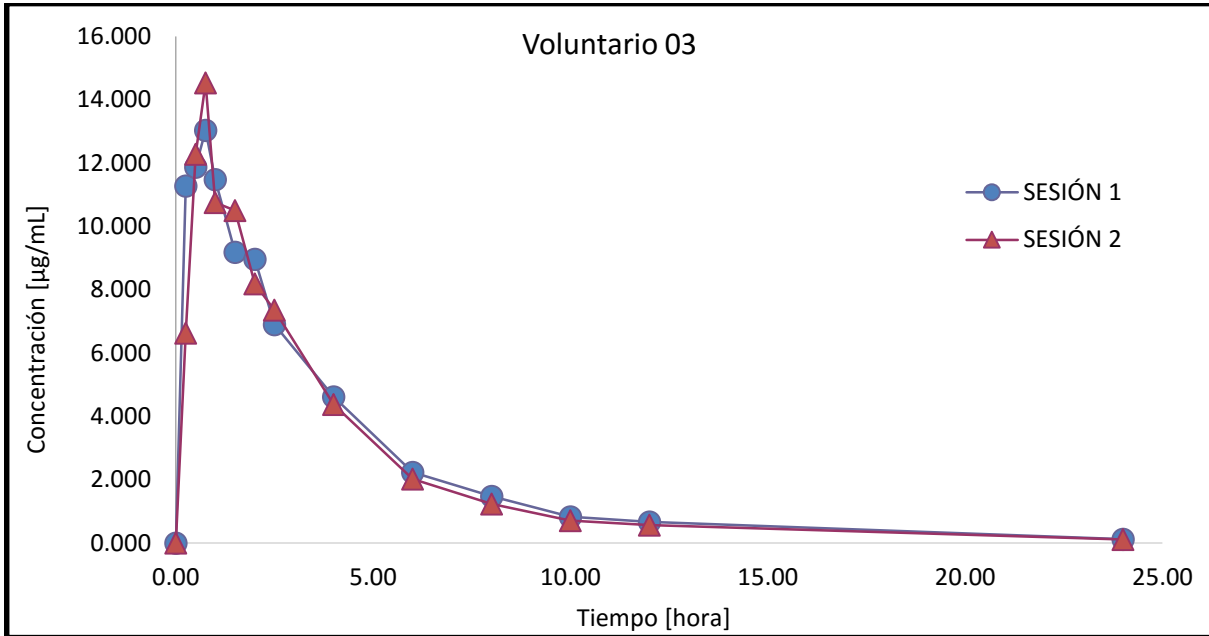
14.2. Anexo 2. Gráficos individuales de la concentración plasmática (Cp) vs. tiempo



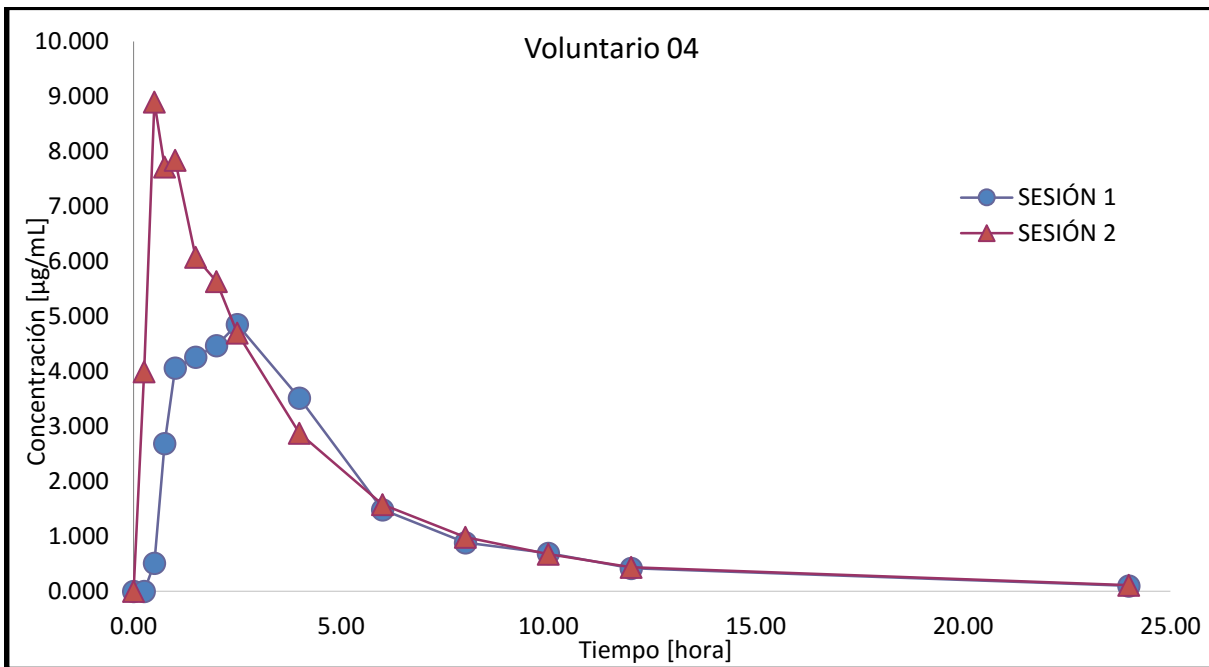
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 01



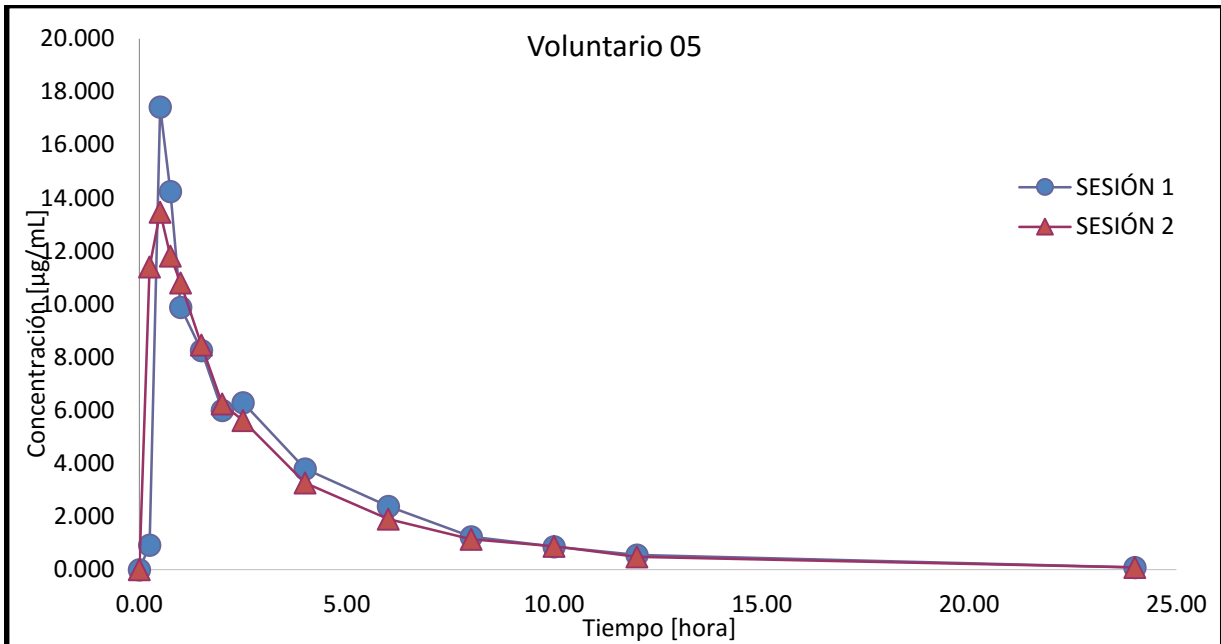
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 02



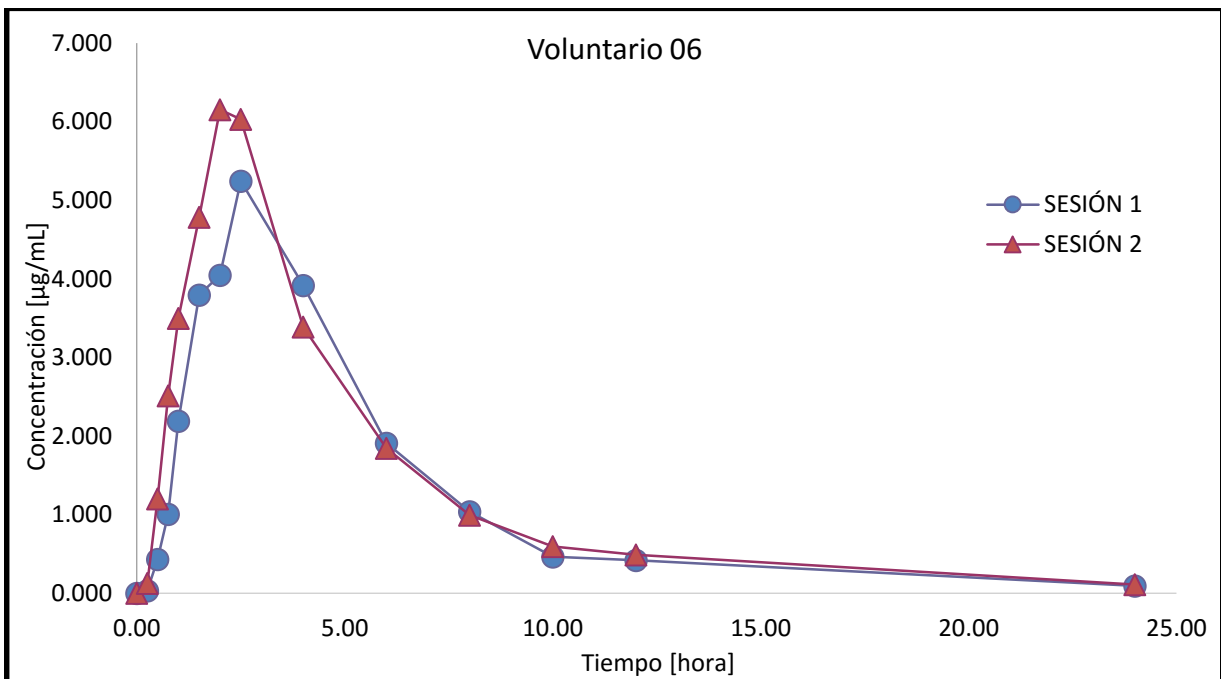
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 03



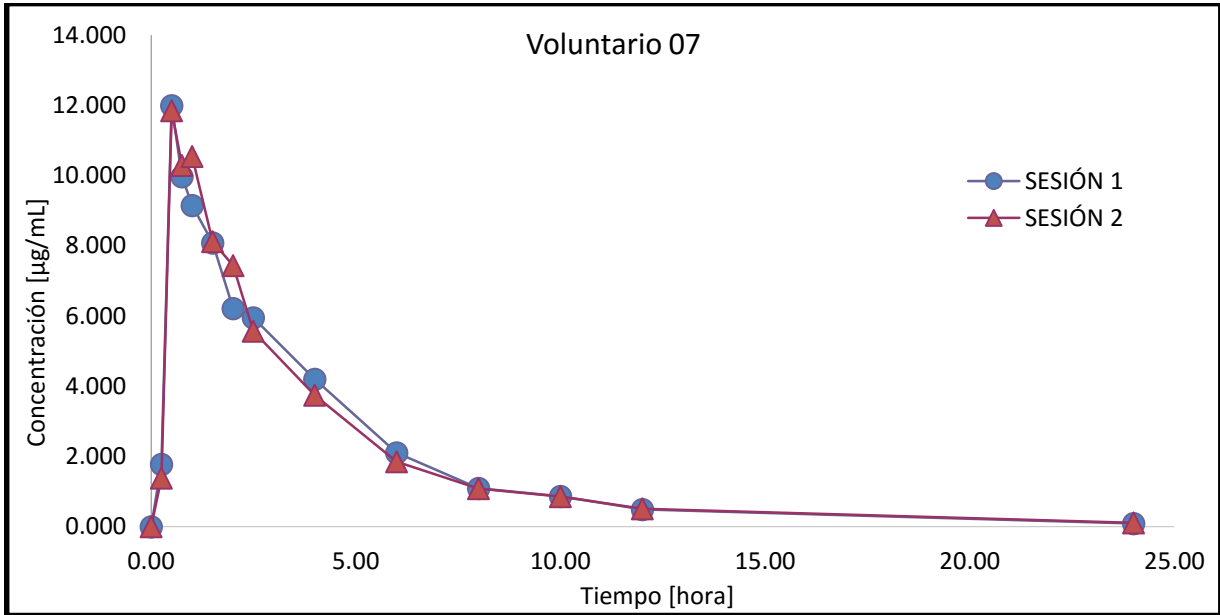
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 04



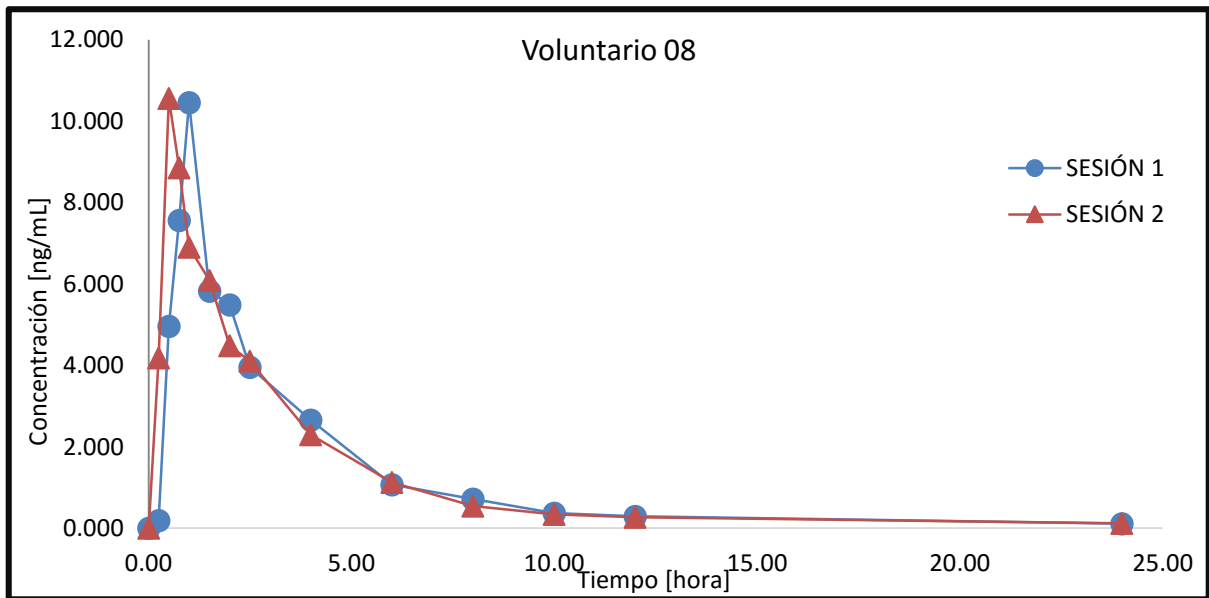
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 05



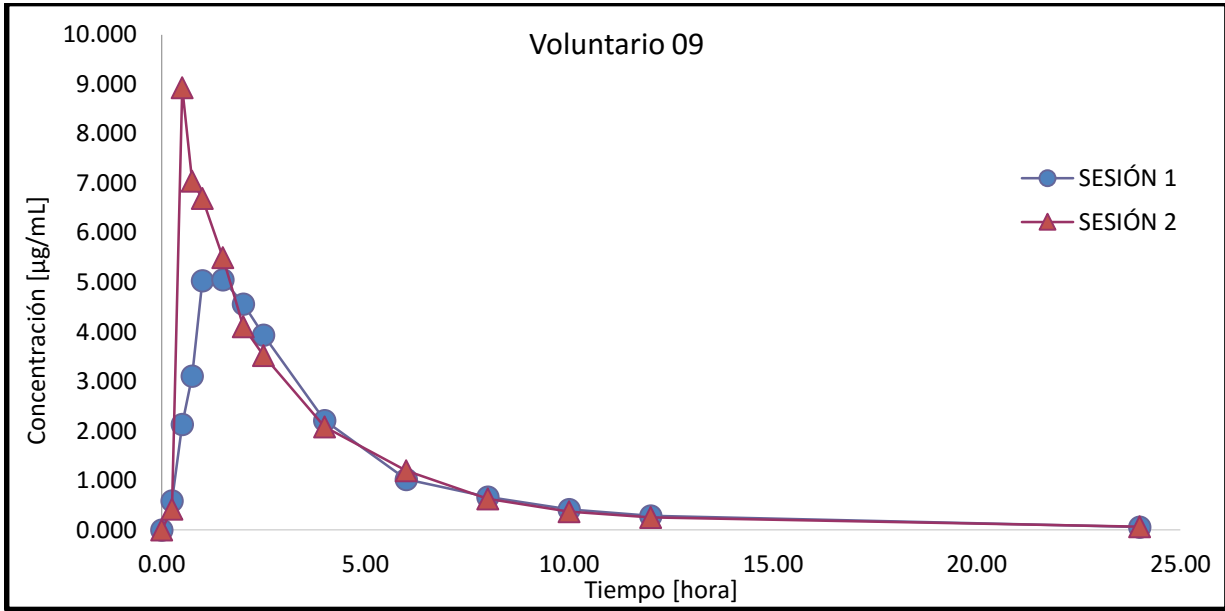
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 06



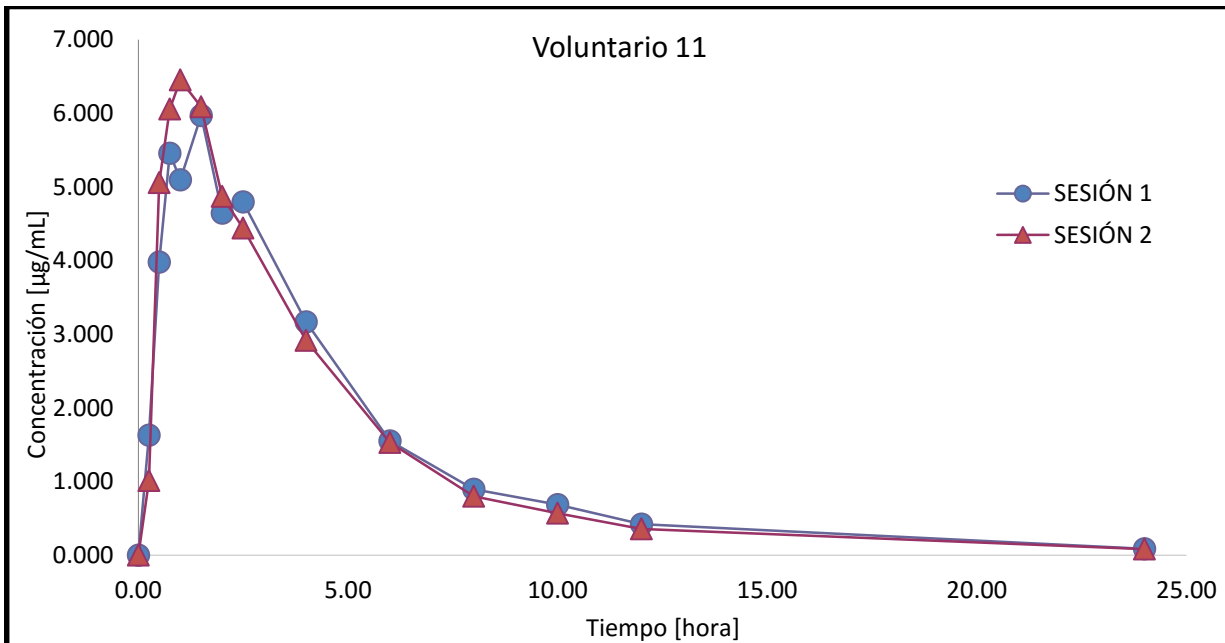
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 07



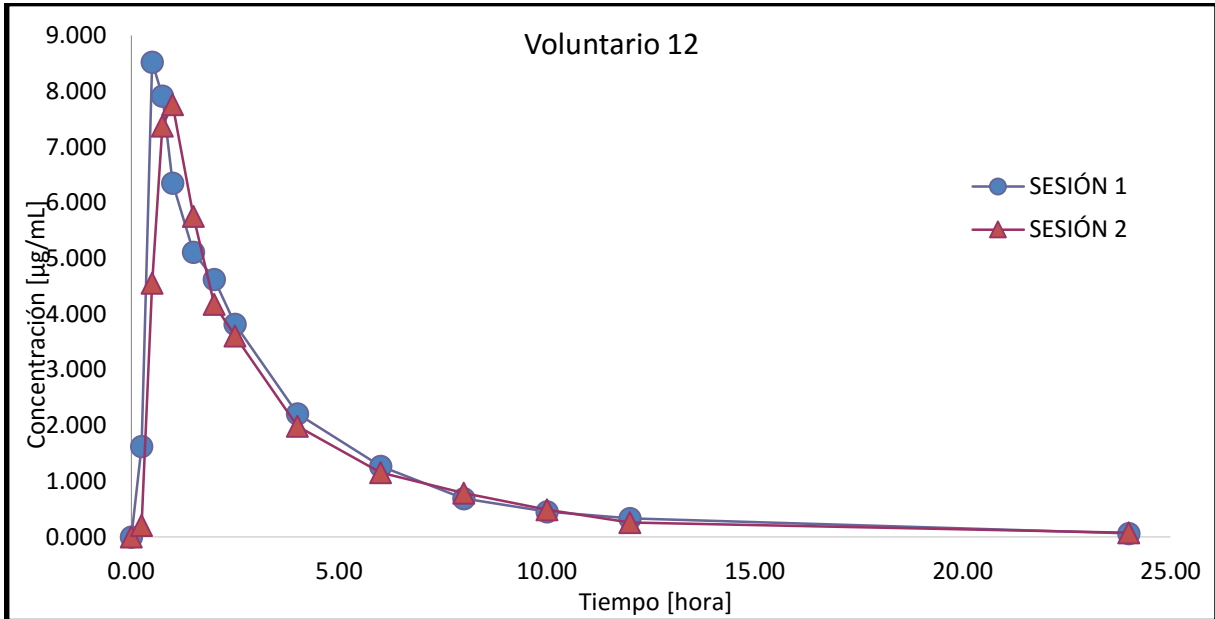
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 08



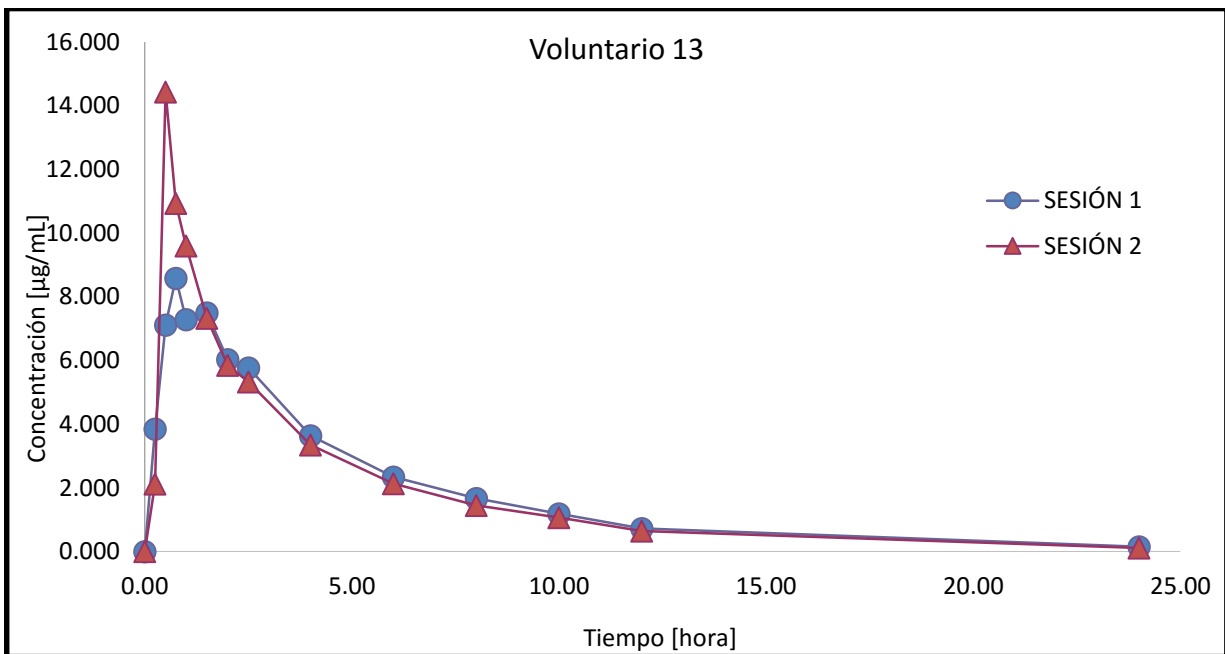
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 09



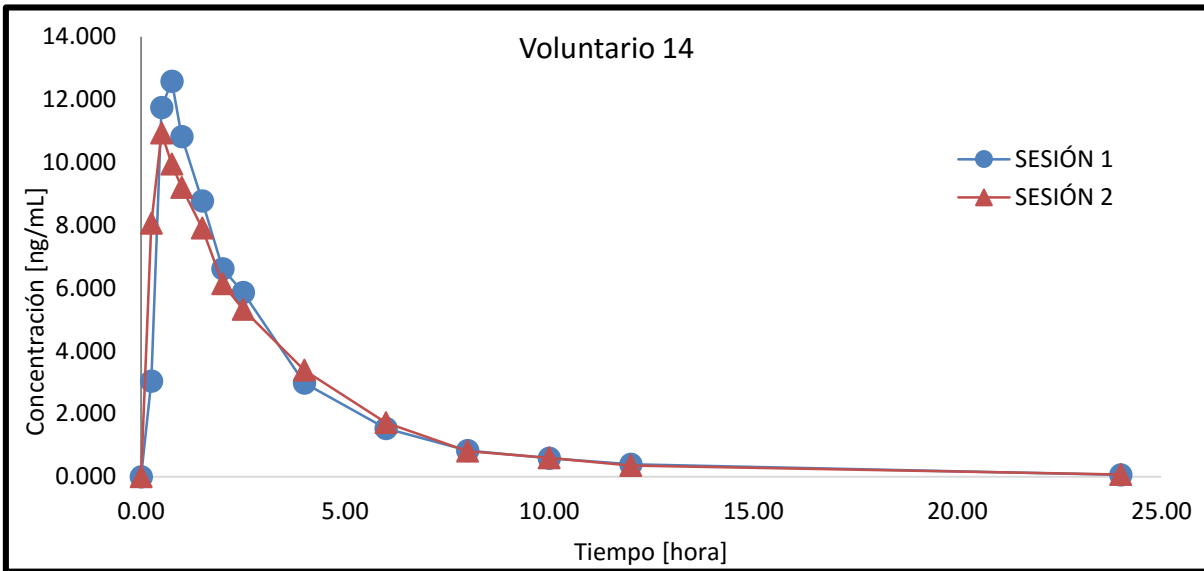
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 11



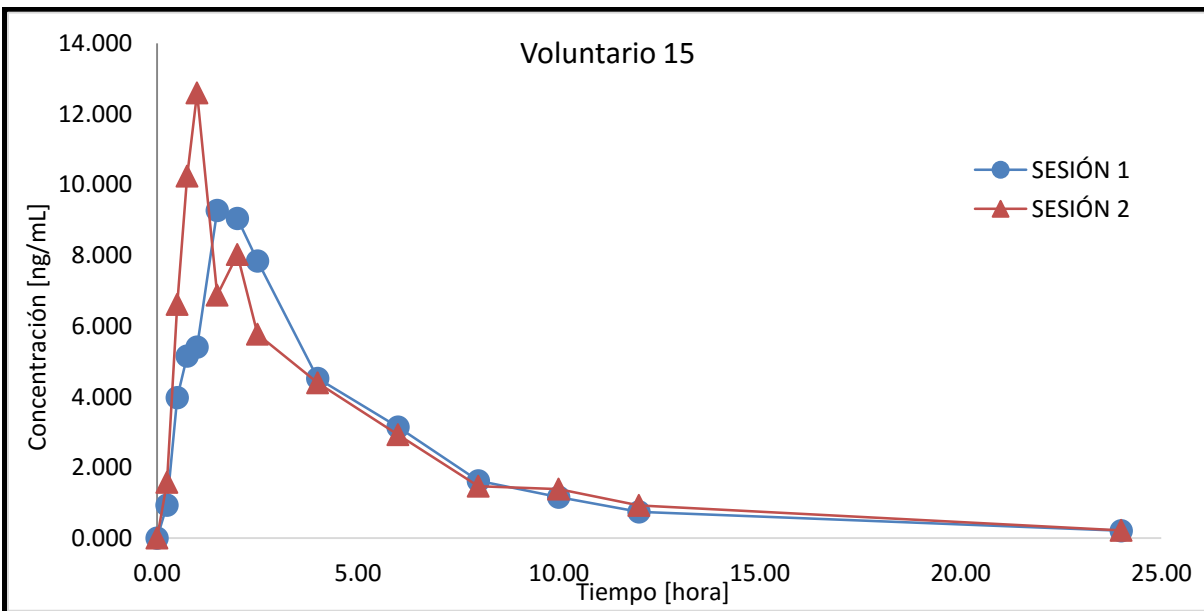
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 12



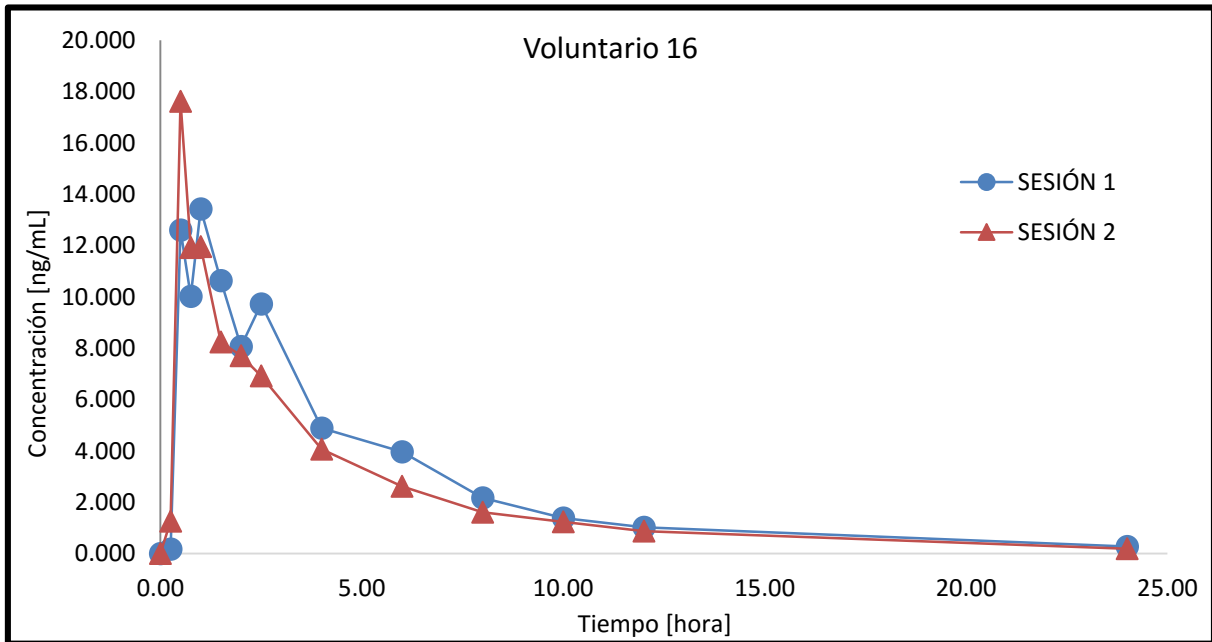
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 13



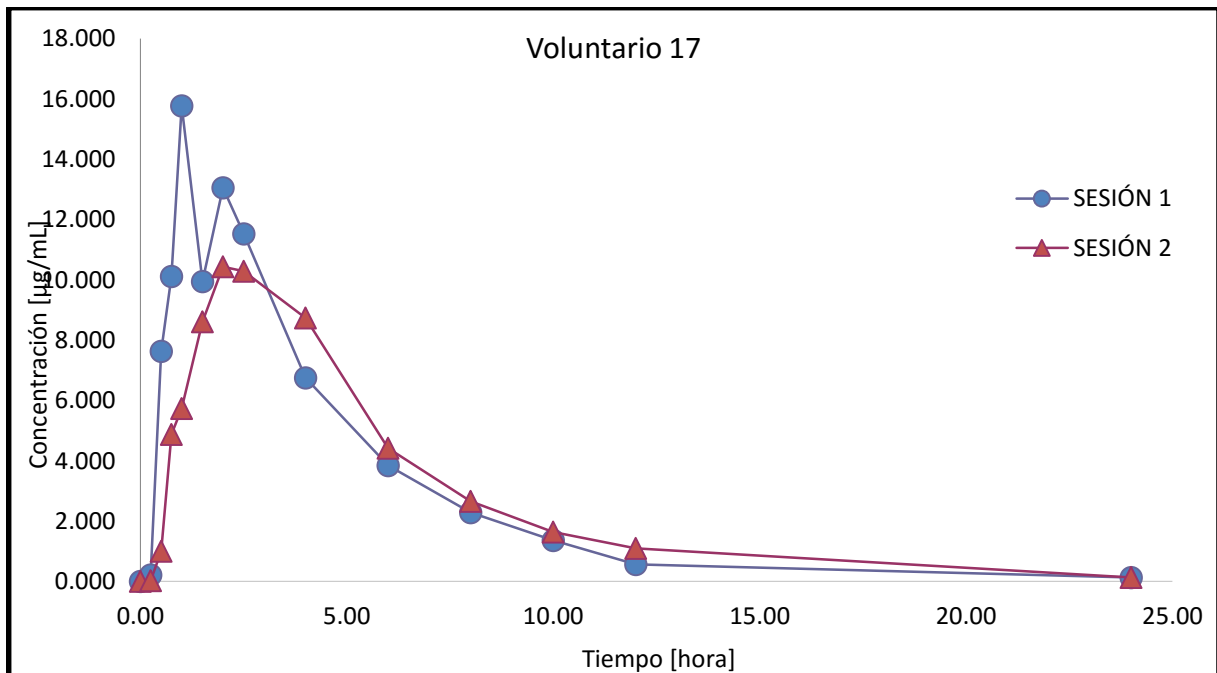
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 14



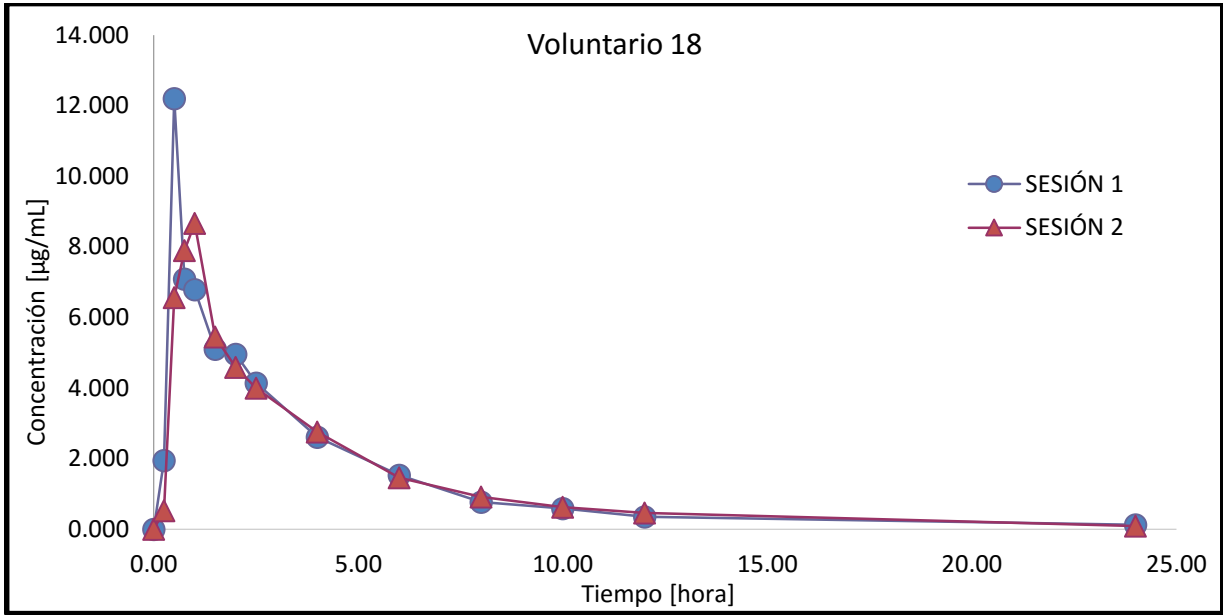
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 15



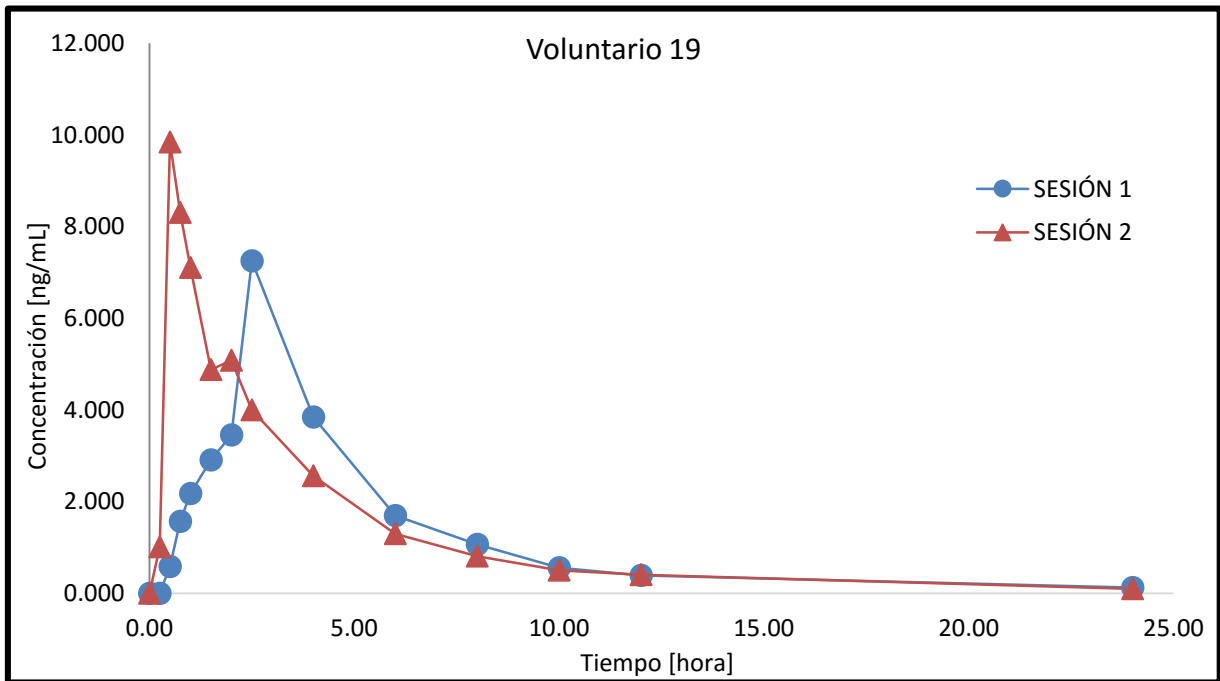
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 16



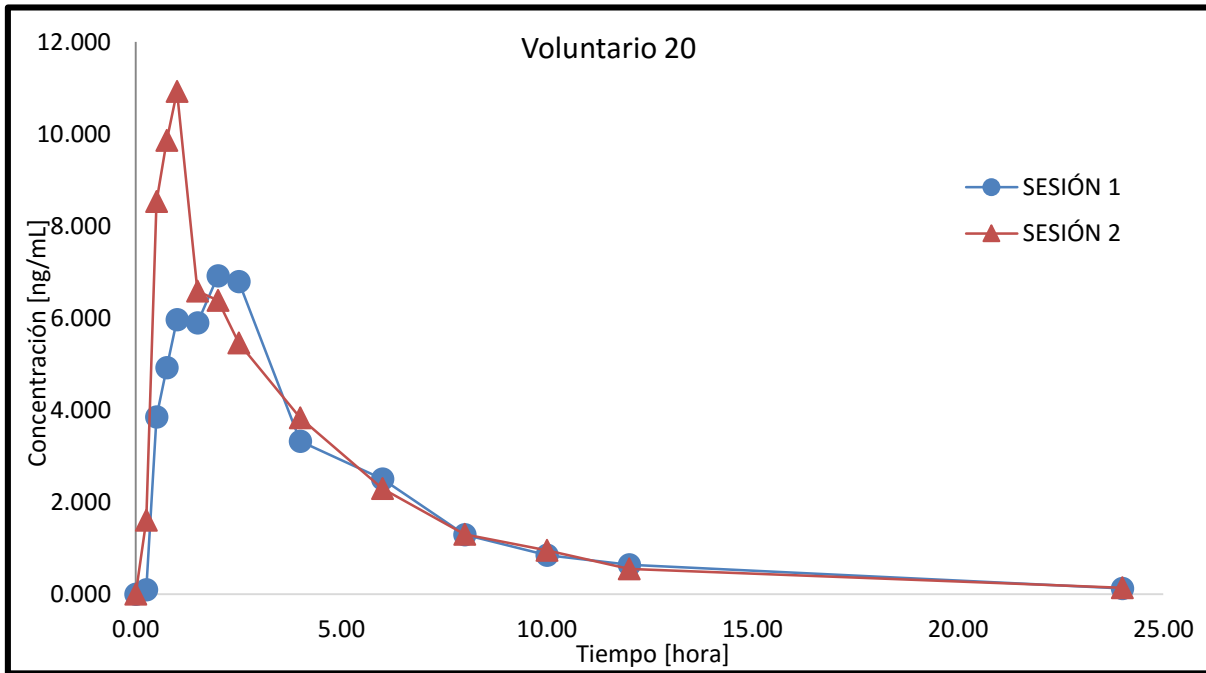
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 17



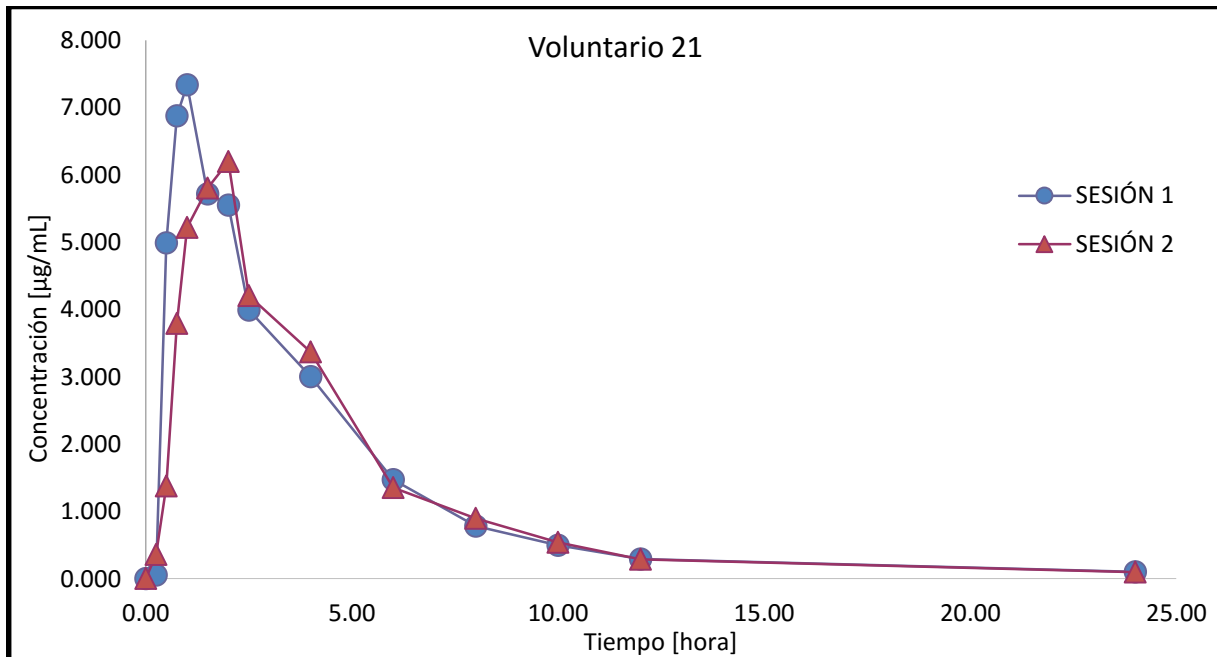
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 18



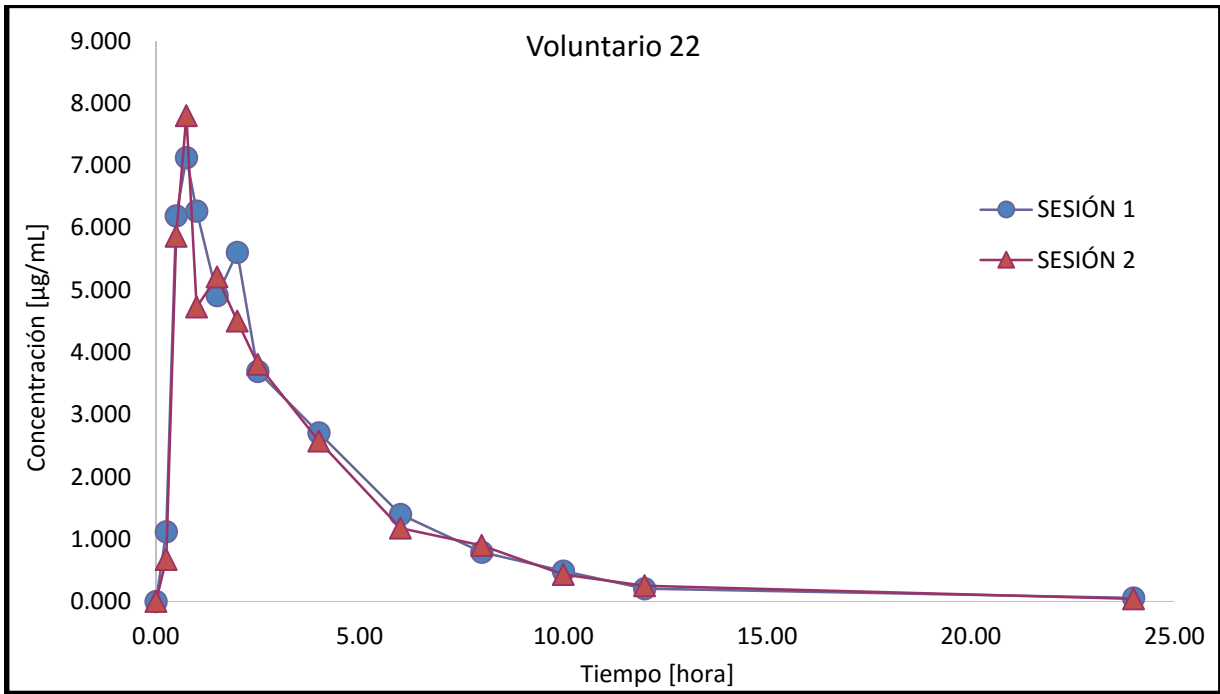
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 19



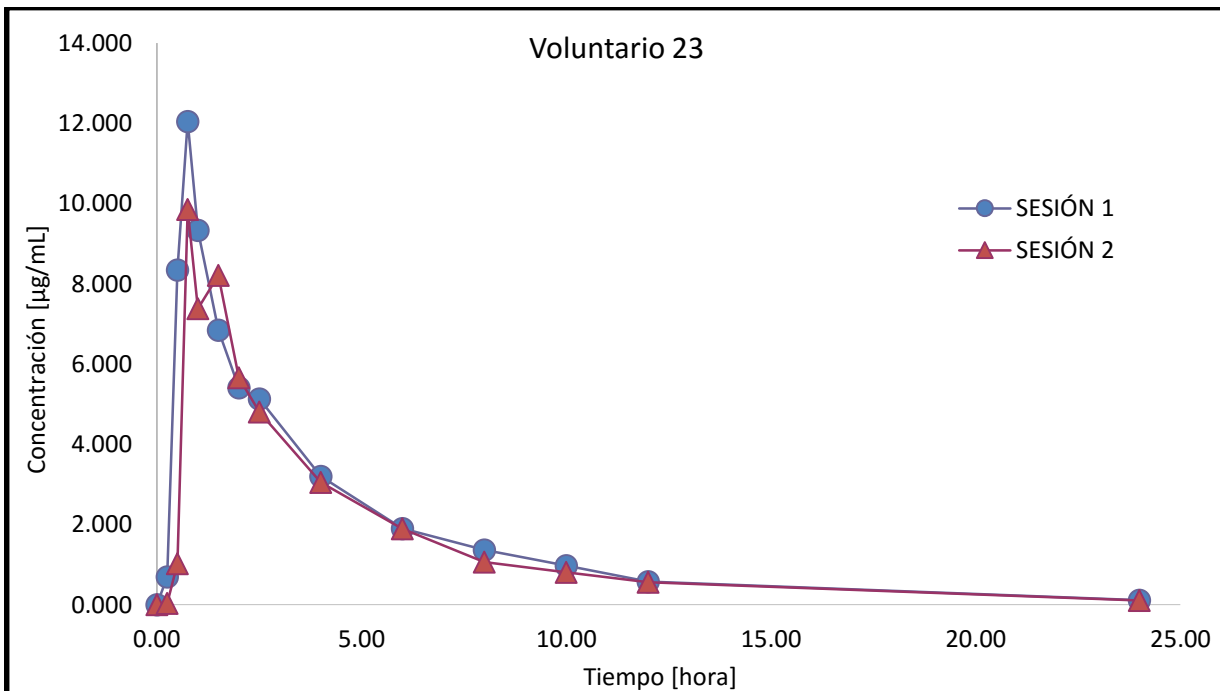
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 20



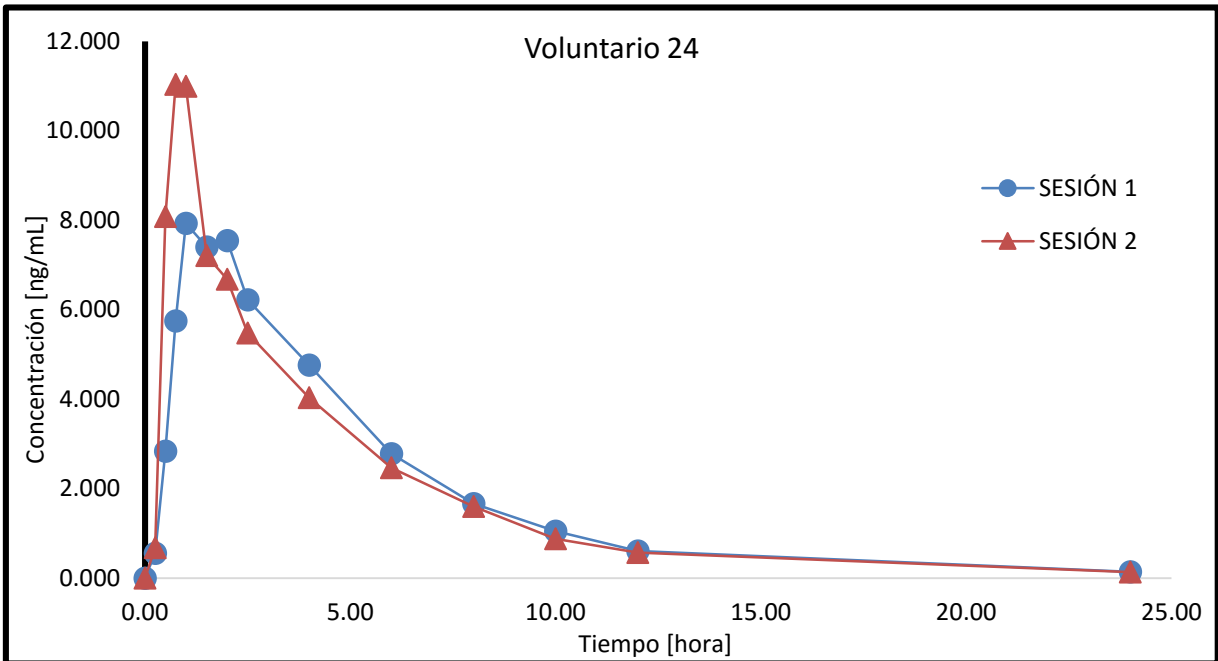
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 21



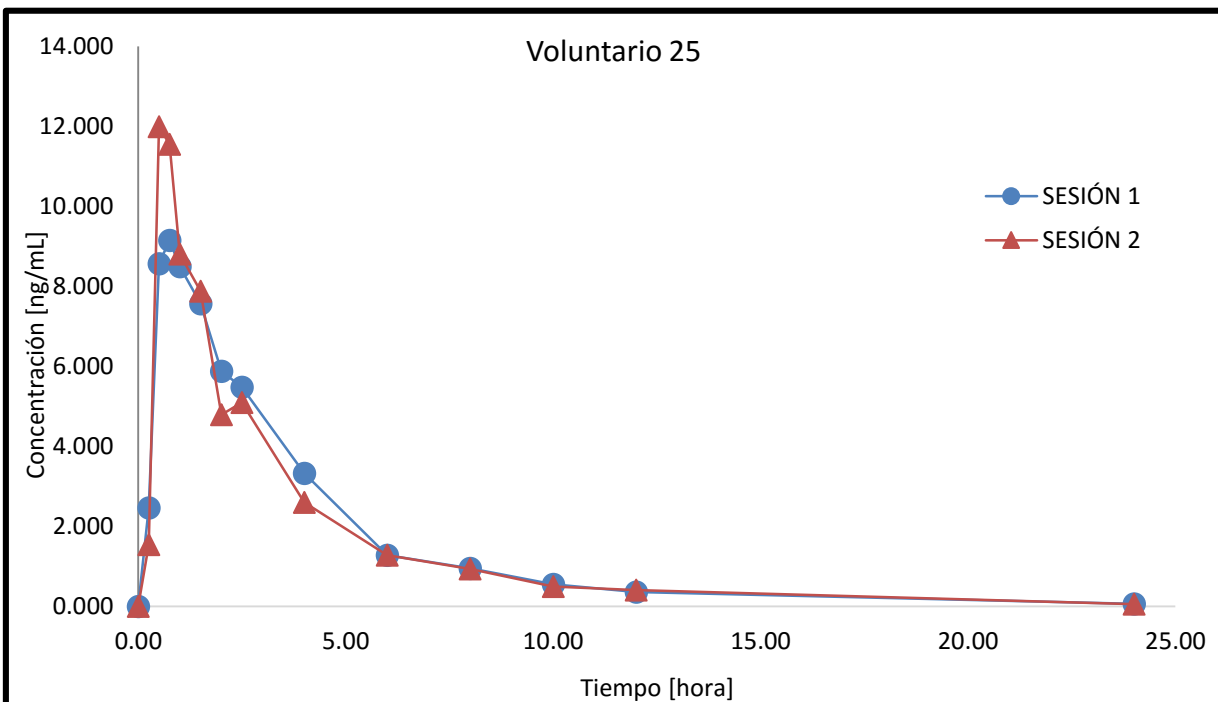
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 22



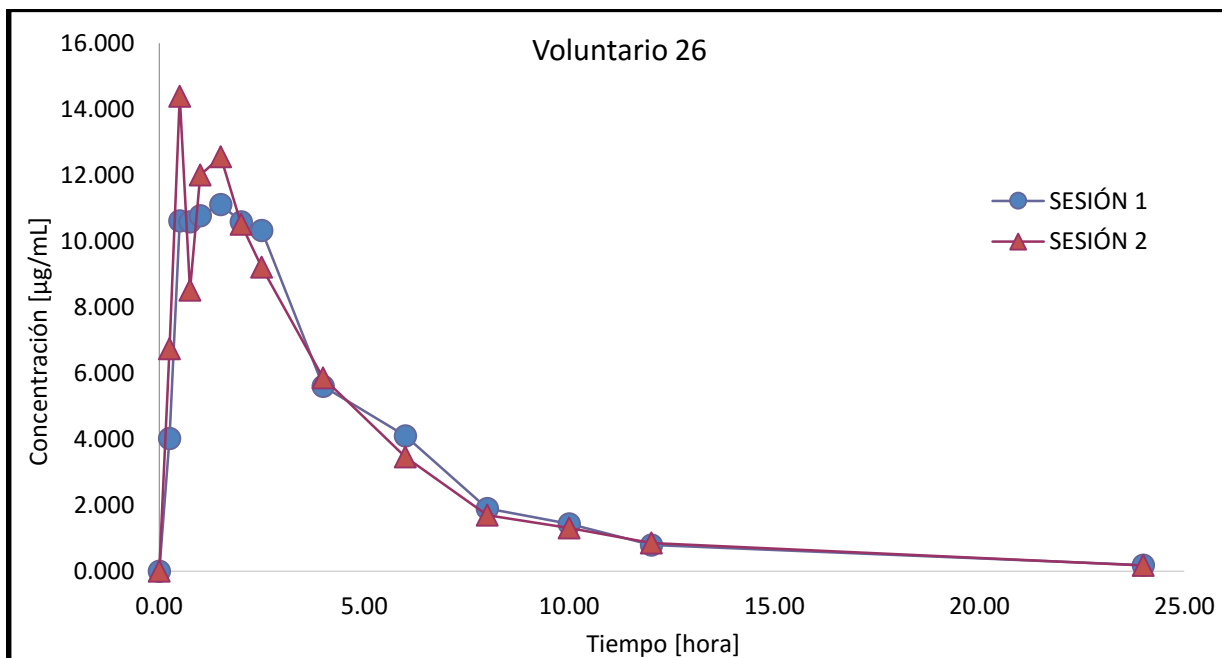
Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 23



Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 24



Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 25



Gráfica de concentración vs Tiempo, voluntario 26