



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**UNIDAD ZACATENCO**

**DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA**

**“Efecto de la curcumina sobre la  
farmacocinética de algunos anti-inflamatorios no  
esteroidales”**

TESIS

Que presenta

**M. en C. Claudia Liliana Zazueta Beltrán**

Para obtener el grado de

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**EN LA ESPECIALIDAD DE**

**FARMACOLOGÍA**

**Directores de la tesis:**

Dr. Gilberto Castañeda Hernández

Dra. Leticia Cruz Antonio

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO, 2017



El presente trabajo de investigación se desarrollo bajo la dirección del Dr. Gilberto Castañeda Hernández y la Dra. Leticia Cruz Antonio. Los experimentos se realizaron en el Departamento de Farmacología del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico nacional, México, Ciudad de México.



## **DEDICATORIAS**

A mi madre, por todo el cariño, esfuerzos para ser quien soy y el apoyo brindado en todas las decisiones que he tomado en el camino.

A mis hermanos por compartir la niñez juntos y por estar ahí siempre que lo he necesitado.

A mi esposo Luis Armando y mi hijo Ian Armando, por acompañarme a lo largo de este viaje, por estar conmigo en cada etapa y cada momento que los he necesitado, por apoyarme en todas mis decisiones y por ser ese motor que me impulsa día con día.



## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme otorgado una beca (331462) para realizar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Gilberto Castañeda Hernández por las enseñanzas y contribuciones que ha tenido en mi formación académica, asimismo por la gran oportunidad de trabajar en su laboratorio, el apoyo y el interés brindado en todo momento.

A la Dra. Leticia Cruz Antonio por todo el apoyo y las enseñanzas brindadas a lo largo de mi formación académica.

Al Dr. Carlos Martín Cerda García-Rojas y a las Dras. Liliana Favari Perozzi, Claudia Pérez Cruz y Mireya López Gamboa, por ser parte de la comisión revisora de esta tesis, y por sus comentarios y sugerencias que han ayudado a enriquecerla.

A la QFB. Lourdes González Flores por su apoyo técnico en la parte experimental, asimismo por las contribuciones que ha tenido en mi formación académica, las enseñanzas, el cariño y la amistad brindada a lo largo de este proyecto, y todo el apoyo personal brindado en todo momento, el cual siempre llevare conmigo.

Posdata: no te olvides de mi Lulu, una parte de mi siempre estará por el laboratorio, atte. la Lili.

A la M. en C. Patricia González por su apoyo técnico.

A la secretaria, Verónica Cadena por la ayuda brindada en el área administrativa durante mis estudios.

A todos los integrantes del laboratorio 34, Suset, Lorena, Alan Martín y Alan, que han hecho esta etapa mas llevadera, divertida y enriquecedora, porque de cada uno me llevo un aprendizaje y una gran amistad.



## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1.1 Anti-inflamatorios no esteroidales (AINEs)</b>	1
<b>1.1.1 Clasificación química de los AINEs</b>	1
<b>1.1.2 Efectos adversos de los AINEs</b>	2
<b>1.1.3 Mecanismo de acción de los AINEs</b>	3
<b>1.2 Diclofenaco</b>	6
<b>1.2.1 Propiedades fisicoquímicas</b>	6
<b>1.2.2 Absorción</b>	6
<b>1.2.3 Acumulación y distribución</b>	6
<b>1.2.4 Metabolismo</b>	7
<b>1.2.5 Eliminación</b>	7
<b>1.3 Acemetacina</b>	8
<b>1.3.1 Absorción</b>	8
<b>1.3.2 Metabolismo</b>	8
<b>1.3.3 Eliminación</b>	9
<b>1.3.4 Efectos adversos de la acemetacina</b>	9
<b>1.4 Indometacina</b>	10
<b>1.4.1 Propiedades fisicoquímicas</b>	10
<b>1.4.2 Absorción</b>	10
<b>1.4.3 Acumulación y distribución</b>	10
<b>1.4.4 Metabolismo</b>	11
<b>1.4.5 Eliminación</b>	11
<b>1.5 Naproxeno</b>	12
<b>1.5.1 Propiedades fisicoquímicas</b>	12
<b>1.5.2 Absorción</b>	12
<b>1.5.3 Distribución y acumulación</b>	13
<b>1.5.4 Metabolismo</b>	13
<b>1.5.5 Eliminación</b>	14
<b>1.5.6 Interacciones medicamentosas</b>	14

<b>1.5.7 Efectos adversos del naproxeno</b>	15
<b>1.6 Ketorolaco trometamina</b>	16
<b>1.6.1 Propiedades fisicoquímicas</b>	16
<b>1.6.2 Absorción</b>	16
<b>1.6.3 Distribución y acumulación</b>	17
<b>1.6.4 Metabolismo</b>	17
<b>1.6.5 Eliminación</b>	17
<b>1.6.6 Interacciones medicamentosas</b>	18
<b>1.6.7 Efectos adversos del ketorolaco</b>	18
<b>1.7 Estrategias para el aumento del perfil de seguridad de los AINEs</b>	18
<b>1.7.1 Derivados del sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S)</b>	18
<b>1.7.2 Inhibidores de la bomba de protones (IBPs)</b>	19
<b>1.7.3 Inhibidores selectivos de la Cox-2 (COXIBs)</b>	19
<b>1.8 Curcumina</b>	21
<b>1.8.1 Generalidades</b>	21
<b>1.8.2 Propiedades fisicoquímicas</b>	21
<b>1.8.3 Usos</b>	22
<b>1.8.4 Farmacocinética</b>	22
<b>1.8.4.1 Absorción</b>	22
<b>1.8.4.1.1 Técnicas para incrementar la biodisponibilidad de la curcumina</b>	23
<b>1.8.4.2 Acumulación y distribución de la curcumina</b>	25
<b>1.8.4.3 Metabolismo</b>	25
<b>1.8.4.3.1 Efecto de la curcumina en las enzimas del metabolismo</b>	27
<b>1.8.4.4 Eliminación</b>	30
<b>1.8.5 Farmacodinamia</b>	30
<b>1.8.6 Actividades biológicas</b>	30
<b>1.8.7 Toxicidad de la curcumina</b>	34
<b>1.9 Justificación</b>	36
<b>1.10 Hipótesis</b>	36
<b>1.11 Objetivo general</b>	37
<b>1.11.1 Objetivos particulares</b>	37
<b>2. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	38
<b>2.1 Animales</b>	38

<b>2.2 Reactivos</b>	38
<b>2.3 Método analítico cromatográfico para la determinación del diclofenaco</b>	39
<b>2.3.1 Análisis cromatográfico CLAR</b>	39
<b>2.3.1.1 Principio</b>	39
<b>2.3.1.2 Condiciones cromatográficas</b>	39
<b>2.3.1.3 Tratamiento de los animales</b>	39
<b>2.3.1.4 Soluciones</b>	40
<b>2.3.1.4.1 Solución amortiguadora de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0.01 M, pH 3</b>	40
<b>2.3.1.4.2 Solución del naproxeno 0.1 mg/mL (estándar interno)</b>	40
<b>2.3.1.4.3 Solución estándar del diclofenaco 5 µg/mL y 50 µg/mL</b>	40
<b>2.3.1.4.4 Determinación del diclofenaco en plasma de rata</b>	40
<b>2.3.1.5 Curva de calibración del diclofenaco</b>	41
<b>2.3.1.6 Puntos control del diclofenaco</b>	41
<b>2.3.1.7 Determinación del diclofenaco en muestras obtenidas del estudio farmacocinético</b>	42
<b>2.3.1.8 Control de calidad</b>	42
<b>2.3.1.9 Determinación de los parámetros farmacocinéticos</b>	42
<b>2.3.1.10 Análisis estadístico</b>	42
<b>2.4 Método analítico cromatográfico para la determinación del naproxeno</b>	43
<b>2.4.1 Condiciones cromatográficas</b>	43
<b>2.4.2 Tratamiento de animales</b>	43
<b>2.4.3 Soluciones</b>	43
<b>2.4.3.1 Solución amortiguadora de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .H<sub>2</sub>O 0.01 M, pH 3</b>	43
<b>2.4.3.2 Solución de diclofenaco 0.1 mg/mL (estándar interno)</b>	43
<b>2.4.3.3 Solución estándar de naproxeno 5 µg/mL y 50 µg/mL</b>	44
<b>2.4.3.4 Determinación del naproxeno en plasma de rata</b>	44
<b>2.4.4 Curva de calibración del naproxeno</b>	44
<b>2.4.5 Puntos control del naproxeno</b>	45
<b>2.4.6 Determinación del naproxeno en muestras obtenidas del estudio farmacocinético</b>	45
<b>2.4.7 Control de calidad</b>	46
<b>2.4.8 Determinación de los parámetros farmacocinéticos</b>	46
<b>2.4.9 Análisis estadístico</b>	46

<b>2.5 Método analítico cromatográfico para la determinación de la indometacina y la acetaminofén</b>	<b>47</b>
<b>2.5.1 Condiciones cromatográficas</b>	<b>47</b>
<b>2.5.2 Tratamiento de los animales</b>	<b>47</b>
<b>2.5.3 Soluciones</b>	<b>47</b>
<b>2.5.3.1 Solución amortiguadora de <math>\text{KH}_2\text{PO}_4</math> 0.025 M, pH 6</b>	<b>47</b>
<b>2.5.3.2 Solución de carbamazepina 16 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math> (estándar interno)</b>	<b>48</b>
<b>2.5.3.3 Solución estándar de acetaminofén e indometacina 10 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math> y 100 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math></b>	<b>48</b>
<b>2.5.4 Determinación de la indometacina y la acetaminofén en plasma de rata</b>	<b>48</b>
<b>2.5.5 Curva de calibración de la indometacina y la acetaminofén</b>	<b>49</b>
<b>2.5.6 Puntos control de la indometacina y la acetaminofén</b>	<b>49</b>
<b>2.5.7 Determinación de la indometacina y la acetaminofén en muestras obtenidas del estudio farmacocinético</b>	<b>50</b>
<b>2.5.8 Control de calidad</b>	<b>50</b>
<b>2.5.9 Determinación de los parámetros farmacocinéticos</b>	<b>50</b>
<b>2.5.10 Análisis estadístico</b>	<b>50</b>
<b>2.6 Método analítico cromatográfico para la determinación del ketorolaco</b>	<b>51</b>
<b>2.6.1 Condiciones cromatográficas</b>	<b>51</b>
<b>2.6.2 Tratamiento de los animales</b>	<b>51</b>
<b>2.6.3 Soluciones</b>	<b>51</b>
<b>2.6.3.1 Solución amortiguadora de acetato de sodio 0.075 M, pH 3.3</b>	<b>51</b>
<b>2.6.3.2 Solución de naproxeno 30 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math> (estándar interno)</b>	<b>52</b>
<b>2.6.3.3 Solución estándar de ketorolaco 5 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math> y 100 <math>\mu\text{g}/\text{mL}</math></b>	<b>52</b>
<b>2.6.3.4 Solución de sulfato de zinc (<math>\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}</math>) 0.3 M</b>	<b>52</b>
<b>2.6.4 Determinación del ketorolaco en plasma de rata</b>	<b>52</b>
<b>2.6.5 Curva de calibración del ketorolaco</b>	<b>53</b>
<b>2.6.6 Puntos control del ketorolaco</b>	<b>53</b>
<b>2.6.7 Determinación del ketorolaco en muestras obtenidas del estudio farmacocinético</b>	<b>54</b>
<b>2.6.8 Control de calidad</b>	<b>54</b>
<b>2.6.9 Determinación de los parámetros farmacocinéticos</b>	<b>54</b>
<b>2.6.10 Análisis estadístico</b>	<b>54</b>

<b>2.7 Revalidación de métodos analíticos</b>	<b>55</b>
<b>3. RESULTADOS</b>	<b>58</b>
<b>3.1 Revalidación del método analítico para la determinación del diclofenaco en plasma de rata</b>	<b>58</b>
3.1.1 Selectividad	58
3.1.2 Linealidad	60
3.1.3 Precisión y exactitud	61
3.1.4 Perfil farmacocinético del diclofenaco y el diclofenaco en combinación con la curcumina	62
<b>3.2 Revalidación del método analítico para la determinación de la indometacina en plasma de rata</b>	<b>64</b>
3.2.1 Selectividad	64
3.2.2 Linealidad	66
3.2.3 Precisión y exactitud	67
3.2.4 Perfil farmacocinético de la indometacina y la indometacina en combinación con la curcumina	68
<b>3.3 Revalidación del método analítico para la determinación de la acetaminofén en plasma de rata</b>	<b>70</b>
3.3.1 Selectividad	70
3.3.2 Linealidad	72
3.3.3 Precisión y exactitud	73
3.3.4 Perfil farmacocinético de la acetaminofén y la acetaminofén en combinación con la curcumina	74
<b>3.4 Revalidación del método analítico para la determinación del naproxeno en plasma de rata</b>	<b>78</b>
3.4.1 Selectividad	78
3.4.2 Linealidad	80
3.4.3 Precisión y exactitud	81
3.4.4 Perfil farmacocinético del naproxeno y el naproxeno en combinación con la curcumina	82
<b>3.5 Revalidación del método analítico para la determinación del ketorolaco en plasma de rata</b>	<b>84</b>
3.5.1 Selectividad	84

<b>3.5.2 Linealidad</b>	86
<b>3.5.3 Precisión y exactitud</b>	87
<b>3.5.4 Perfil farmacocinético del ketorolaco y el ketorolaco en combinación con la curcumina</b>	88
<b>3.6 Resumen de los resultados obtenidos de los estudios farmacocinéticos</b>	90
<b>4. DISCUSIÓN</b>	91
<b>5. CONCLUSIONES</b>	99
<b>5.1 CONCLUSIÓN GENERAL</b>	100
<b>6. PERSPECTIVAS</b>	101
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	102

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Síntesis de las prostaglandinas
2. Estructura química del diclofenaco
3. Metabolismo del diclofenaco
4. Estructura química de la acetaminofén
5. Metabolismo de la acetaminofén
6. Estructura química de la indometacina
7. Metabolismo de la indometacina
8. Estructura química del naproxeno sodico
9. Metabolismo del naproxeno
10. Estructura química del ketorolaco y el ketorolaco trometamina
11. Metabolito hidroxilado del ketorolaco
12. Estructura química de la curcumina
13. Metabolismo de la curcumina
14. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con el naproxeno como estándar interno, c) Plasma de rata tratada con el diclofenaco (10 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg)
15. Curva de calibración del diclofenaco en plasma de rata
16. Concentraciones plasmáticas del diclofenaco (10 mg/kg) y el diclofenaco (10 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral
17. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco del sangre, b) Plasma de rata adicionado con carbamazepina como estándar interno, c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con la indometacina (30 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con la indometacina (30 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg)
18. Curva de calibración de la indometacina en plasma de rata
19. Concentraciones plasmáticas de la indometacina (30 mg/kg) y la indometacina (30 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral
20. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata

- adicionado con carbamazepina como estándar interno, c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con la acetaminofén (34.86 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con la acetaminofén (34.86 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg)
21. Curva de calibración de la acetaminofén en plasma de rata.
  22. Concentraciones plasmáticas de la acetaminofén (34.86 mg/kg) y la acetaminofén (34.86 mg/kg) en presencia de curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral.
  23. Concentraciones plasmáticas de la indometacina tras una administración oral de acetaminofén (34.86 mg/kg) y la indometacina tras una dosis oral de acetaminofén (34.86 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral.
  24. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con el diclofenaco como estándar interno, c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con el naproxeno (10 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con el naproxeno (10 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg)
  25. Curva de calibración del naproxeno en plasma de rata
  26. Concentraciones plasmáticas del naproxeno (10 mg/kg) y el naproxeno (10 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) tras una administración oral
  27. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con el naproxeno como estándar interno, c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con el ketorolaco (5 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con el ketorolaco (5 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg)
  28. Curva de calibración del ketorolaco en plasma de rata
  29. Concentraciones plasmáticas del ketorolaco (5 mg/kg) y el ketorolaco (5 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) tras una administración oral

## ÍNDICE DE TABLAS

1. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación del diclofenaco en muestras de rata.
2. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación del diclofenaco en muestras de rata.
3. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación del naproxeno en muestras de rata.
4. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación del naproxeno en muestras de rata.
5. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación de la indometacina y la acemetacina en muestras de rata.
6. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación de la indometacina y la acemetacina en muestras de rata.
7. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación del ketorolaco en muestras de rata.
8. Tratamiento de las muestras para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación del ketorolaco en muestras de rata.
9. Tiempos de retención obtenidos para el naproxeno y el diclofenaco
10. Precisión y exactitud interdía para el método del diclofenaco
11. Precisión y exactitud intradía para el método del diclofenaco
12. Parámetros farmacocinéticos del diclofenaco después de una dosis oral de 10 mg/kg o bien diclofenaco (10 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata
13. Tiempos de retención obtenidos para la carbamazepina y la indometacina
14. Precisión y exactitud interdía para el método de la indometacina
15. Precisión y exactitud intradía para el método de la indometacina
16. Parámetros farmacocinéticos de la indometacina después de una dosis oral de 30 mg/kg o bien indometacina (30 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata
17. Tiempos de retención de la carbamazepina, la acemetacina y la indometacina
18. Precisión y exactitud interdía para el método de la acemetacina

19. Precisión y exactitud intradía para el método de la acetaminofén
20. Parámetros farmacocinéticos de la acetaminofén después de una dosis oral de 34.86 mg/kg y de la acetaminofén (34.86 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata
21. Parámetros farmacocinéticos de la indometacina después de una dosis oral de 34.86 mg/kg de la acetaminofén y de la indometacina tras una dosis oral de la acetaminofén (34.86 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata
22. Tiempos de retención obtenidos para el naproxeno y el diclofenaco
23. Precisión y exactitud interdía para el método del naproxeno
24. Precisión y exactitud intradía para el método del naproxeno
25. Parámetros farmacocinéticos del naproxeno después de una dosis oral de 10 mg/kg de naproxeno y el naproxeno en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata
26. Tiempos de retención obtenidos para el ketorolaco y el naproxeno
27. Precisión y exactitud interdía para el método del ketorolaco
28. Precisión y exactitud intradía para el método del ketorolaco
29. Parámetros farmacocinéticos del ketorolaco después de una dosis oral de 5 mg/kg de ketorolaco y el ketorolaco en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata
30. Parámetros farmacocinéticos de algunos antiinflamatorios no esteroideos en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de la curcumina, en rata

## RESUMEN

Los antiinflamatorios no esteroideos son los medicamentos más utilizados en el mundo, debido a su eficacia en la reducción del dolor y la inflamación, así como para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades. Los tratamientos prolongados o crónicos con AINEs, han sido asociados con el riesgo de generar daño gastrointestinal. Se ha reportado por la Secretaría de Salud en México que la ingesta de AINEs ocupa el cuarto lugar dentro de las veinte principales causas de enfermedades gastrointestinales. Algunos de estos AINEs se encuentran dentro del cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), ya que presentan efectos antiinflamatorio, analgésico y antipirético. Entre algunos de ellos se encuentran el diclofenaco, la indometacina, la acetaminofén, el naproxeno y el ketorolaco, los cuales se han convertido en algunos de los AINEs más utilizados. Sin embargo, existen diversos reportes de daños gástricos causados por los AINEs, por lo que se han implementado varias estrategias para prevenir la gastroenteropatía provocada por este tipo de fármacos, entre las que se encuentran la combinación con algunos fármacos anti-ácidos o bien el desarrollo de algunos medicamentos que no generen estos daños, como es el caso de los COXIBs, sin embargo, estas estrategias no han sido completamente efectivas. Ante la búsqueda de nuevos tratamientos contra el dolor y la inflamación, sin provocar daño a nivel gastrointestinal o bien el uso de compuestos naturales que ayuden en la protección contra estos tipos de daños, se ha propuesto a la curcumina como una opción, ésta presenta varias actividades biológicas entre las cuales se encuentran la protección del tracto gastrointestinal, pero se desconoce si la curcumina tiene la capacidad de modificar la farmacocinética de estos compuestos al ser administrados en combinación. El objetivo de este estudio fue determinar si la farmacocinética del diclofenaco, el naproxeno, la acetaminofén, la indometacina y el ketorolaco es modificada al ser administrados en conjunto con la curcumina. Se realizó la administración de ratas Wistar macho con una dosis oral de diclofenaco (10 mg/kg), indometacina (30 mg/kg), acetaminofén (34.86 mg/kg), naproxeno (10 mg/kg) y ketorolaco (5 mg/kg) y en conjunto con una dosis oral de curcumina (30 mg/kg). Una vez realizada la administración, se tomaron muestras de sangre a diferentes tiempos, dependiendo del fármaco a evaluar, para observar su perfil farmacocinético completo. Las concentraciones plasmáticas fueron determinadas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) previa revalidación de los métodos analíticos, se construyeron las curvas de concentración-tiempo correspondientes a cada fármaco y se determinaron los parámetros

farmacocinéticos. La revalidación de cada uno de los métodos analíticos a utilizar correspondientes a cada fármaco a evaluar en plasma de rata (diclofenaco, indometacina, acetaminofeno, naproxeno y ketorolaco) mostró métodos analíticos selectivos, lineales, exactos y precisos. Los resultados obtenidos correspondientes a los estudios farmacocinéticos del diclofenaco, la indometacina, la acetaminofeno y el naproxeno, no evidenciaron una diferencia significativa entre grupos (control y diclofenaco-curcumina, indometacina-curcumina, acetaminofeno-curcumina y naproxeno-curcumina) sobre la  $C_{max}$  (concentración máxima), el  $AUC_{0-t}$  (área bajo la curva) y el  $t_{max}$  (tiempo al cual se alcanza la concentración máxima), lo que indica que la curcumina no interactúa con el diclofenaco, la indometacina, la acetaminofeno y el naproxeno al ser administrados en conjunto, mientras que en el estudio farmacocinético del ketorolaco se observó una diferencia significativa entre los grupos control y ketorolaco-curcumina en la  $C_{max}$ , el  $AUC_{0-t}$  y el  $t_{max}$ . Los resultados obtenidos indican que la farmacocinética del diclofenaco, la indometacina, la acetaminofeno y el naproxeno no es modificada al ser administrados en conjunto con la curcumina, pero la farmacocinética del ketorolaco es modificada al ser administrado en combinación con la curcumina.

## ABSTRACT

The nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely prescribed for relieve pain and inflammation, and also for the prevention and treatment of some kind of diseases. After a long time of use this NSAIDs significantly contribute to generate various gastrointestinal complications. It has been reported in Mexico by the Secretary of Health that the intake of NSAIDs ranks fourth in the top twenty causes of gastrointestinal disease. Some of these NSAIDs are within the basic framework of drugs in the Mexican Social Security Institute (IMSS), for the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects, among them are diclofenac, indomethacin, acetaminophen, naproxen and ketorolac, which have become some of the most commonly used NSAIDs. However, there are several reports of gastric damage caused by NSAIDs, so several strategies have been implemented to prevent gastroenteropathy caused by this type of drugs, including the combination with some anti-acid drugs or development of some drugs that do not cause such damages, as is the case of COXIBs, however, these strategies have not been completely effective, so it is important to seek for new treatments against pain and inflammation, without causing gastric damage or the use of natural compounds that help to protect the gastrointestinal tract such as curcumin, which has been reported to have many biological activities including protection of the gastrointestinal tract, but it is not known if the curcumin has the ability to modify the pharmacokinetics of these compounds when administered in combination. Therefore, the objective of the current study was to examine the effect of curcumin in the pharmacokinetics of diclofenac, naproxen, acetaminophen, indomethacin and ketorolac in a concomitant administration. Wistar rats received an oral single dose of diclofenac (10 mg/kg), indomethacin (30 mg/kg), acetaminophen (34.86 mg/kg), naproxen (10 mg/kg) and ketorolac (5 mg/kg) in presence and absence of curcumin (30 mg/kg). Blood samples were drawn, diclofenac, indomethacin, acetaminophen, naproxen and ketorolac concentrations in plasma were determined by high-performance liquid chromatography. Plasma concentration-against-time curves were constructed, and bioavailability parameters ( $C_{max}$ ,  $t_{max}$  and  $AUC_{0-t}$ ) were estimated. It was performed the re-validation of each of the analytical methods used to evaluated the plasma concentration in the rat (diclofenac, indomethacin, acetaminophen, naproxen and ketorolac) resulting in a selective, linear, accurate and precise analytical methods. In the pharmacokinetic study the co-administration of curcumin did not produce any significant alteration of the bioavailability parameters ( $C_{max}$ ,  $t_{max}$  and  $AUC_{0-t}$ ) of diclofenac, indomethacin, acetaminophen and naproxen, while the results show that the co-

administration of curcumin with ketorolac produced a significant alteration of the bioavailability parameters ( $C_{\max}$ ,  $t_{\max}$  and  $AUC_{0-t}$ ). In conclusion, curcumin does not induce a reduction of the bioavailability of diclofenac, indomethacin, acetaminophen and naproxen, last co-administration of curcumin but ketorolac produces a significant alteration of the bioavailability of this NSAID.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs)

Los antiinflamatorios no esteroideos son los medicamentos más utilizados en el mundo, debido a su eficacia en la reducción del dolor y la inflamación. Son utilizados en el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, entre otras (Fiorucci y col., 2007; Lazzaroni y col., 2007). Se han reportado ventas de hasta 70 millones de dólares en Estados Unidos de América (EUA), de 20 millones de dólares en Inglaterra y 10 millones de dólares en Canadá (Tamblyn y col., 1997; Fiorucci y col., 2007; Leontiadis y col., 2007).

**1.1.1 Clasificación química de los AINEs** (Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 1996. 9na Edición. México, D.F., México. Editorial Médica Panamericana).

#### ❖ Derivados del ácido salicílico

- Ácido acetil salicílico
- Diflunisal
- Olsalazina
- Salicilato de sodio
- Salsalato

#### ❖ Derivados del *p*-aminofenol

- Acetaminofen

#### ❖ Indol y ácidos indenacéticos

- Indometacina
- Etodolac
- Sulindaco
- Ketorolaco

#### ❖ Ácidos heteroarilacéticos

- Tolmetin
- Ketorolaco
- Sulindaco

❖ **Ácidos arilpropiónicos**

- Ibuprofeno
- Flurbiprofeno
- Fenoprofeno
- Naproxeno
- Ketoprofeno
- Oxaprozina

❖ **Ácidos antranílicos (femanatos)**

- Ácido mefenámico
- Ácido meclofenámico

❖ **Ácidos enólicos**

- Oxicam: a este grupo pertenece el piroxicam y el tenoxicam
- Pirozalidindionas: fenilbutazona y oxifenbutazon

❖ **Alcanonas**

- Nabumetona

### 1.1.2 Efectos adversos de los AINEs

Los tratamientos con AINEs no selectivos, se han asociado con el riesgo de generar daño gastrointestinal y renal.

**Renal:** Se ha reportado que algunos antiinflamatorios no esteroideos, causan toxicidad renal y aproximadamente el 35 % de las personas que presentan toxicidad renal sufren una falla renal. Esto es debido a que los AINEs actúan a nivel de los túbulos distales en el riñón, lo que provoca un incremento anormal de electrolitos (Simon y Evan Prince, 2016).

**Gastrointestinal:** El uso de estos compuestos por periodos prolongados genera daño gástrico, estos daños van desde erosiones estomacales y hemorragias de la submucosa, hasta complicaciones como perforaciones gastrointestinales. A estos tipos de manifestaciones clínicas se les llama comúnmente gastroenteropatías inducidas por los AINEs, las cuales se ha reportado que afectan del 15-20 % de las personas que utilizan estos medicamentos (Fiorucci y col., 2007).

Se han estimado en Estados Unidos (USA) hasta 107 000 hospitalizaciones y 16 500 muertes, están relacionadas a complicaciones por el uso crónico de estos medicamentos (Silverstein y col., 2000), mientras que la Secretaría de Salud en México ha reportado que la ingesta de AINEs ocupa el cuarto lugar dentro de las veinte principales causas de enfermedades gastrointestinales tales como úlceras. En el año 2003, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica reportó los casos e incidencias de úlceras, gastritis y duodenitis en la población mexicana, en ese año fueron reportados 1 335.714 casos y una incidencia de 1281.71 por cada 100 000 habitantes. Para el 2008, se mantuvieron en el mismo lugar con 1523.116 casos y una incidencia de 1 767.070 por cada 100 000 habitantes (Secretaría de Salud, 2010). Pero en Estados Unidos, cada año ocurren más de 41,000 hospitalizaciones y 3,300 muertes de los usuarios de AINEs (Griffin y col., 2001). Asimismo, en el año 2015 se reportó por el Consejo de Salubridad, que algunos AINEs como el diclofenaco, el naproxeno, la indometacina, la acetaminofeno y el ketorolaco se encuentran dentro del cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) (Secretaría de Salud, 2015).

### **1.1.3 Mecanismo de acción de los AINEs**

La patogénesis del daño gastrointestinal causado por los AINEs se divide en efectos tópicos y sistémicos. En el daño tópico la primera línea de protección contra ácidos es generada por la secreción de bicarbonato, para la creación de un pH neutro en la superficie epitelial del estómago. El daño tópico causado por los AINEs se da por las propiedades ácidas de los AINEs, debido a que provocan la disminución de las propiedades hidrofóbicas del moco gástrico, permitiendo que el ácido gástrico y la pepsina dañen la superficie del epitelio (Shou-Chuan y Chen-Wang, 2007).

El efecto sistémico de los AINEs es mediado por la disminución de la síntesis de prostaglandinas, que son sustancias de carácter lipídico derivadas de los ácidos grasos compuestos por 20 carbonos que contienen un anillo de 5 carbonos, son mediadores importantes en diversos procesos fisiológicos y patológicos, en varias áreas terapéuticas como inflamación, dolor, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares y asma, entre otras (Rao y Knaus, 2008). Son producidas en la mucosa gástrica y participan como mediadores en la defensa de la misma, algunos de los procesos en los que participan son: aumento de la secreción de bicarbonato y mucus gástrico en la superficie de las células epiteliales, y disminución de la secreción de ácido gástrico, en las respuestas

inflamatorias al estimular las terminales nerviosas del dolor, se ocupan de mantener la integridad y proliferación de la mucosa gástrica, al asegurarle un adecuado riego sanguíneo, así como en la reparación rápida de lesiones superficiales (Fiorucci y col., 2007; Rao y Knaus, 2008). Para que la biosíntesis de éstas se lleve a cabo, es necesaria la conversión del ácido araquidónico mediante la participación de la prostaglandina endoperoxido sintetasa (PGHS) y este proceso es catalizado por la ciclooxigenasa (COX) (Figura 1), la cual es una enzima involucrada en la producción de prostaglandinas. La COX existe en dos isoformas, la COX-1 y la COX-2 (Schmassmann y col., 1998).

La COX-1 se encuentra expresada constitutivamente en varios tejidos u órganos como riñones, estómago e intestino (Kam y See, 2000; Dajani e Islam, 2008), bajo condiciones fisiológicas normales predomina la actividad de la COX-1, la cual sirve para la producción de prostaglandinas que son las encargadas de la regulación de las respuestas fisiológicas rápidas como son la regulación de la homeostasis vascular, las funciones gástricas, la actividad de plaquetas y las funciones renales. Las concentraciones de esta enzima son pequeñas pero pueden incrementarse de dos a cuatro veces en respuesta a la estimulación por hormonas y factores de crecimiento (Kam y See, 2000; Takeuchi y col., 2003; Dugan y col., 2010).

La COX-2 es una enzima expresada o inducida en una forma constante (constitutiva) por una gran variedad de estímulos intracelulares y extracelulares, incluyendo lipopolisacáridos (LPS), interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF) y factor de crecimiento epidérmico (EGF)- (Wallace y col., 2001; Tanaka y col., 2002). Ésta se encuentra expresada en concentraciones pequeñas en el cerebro y el riñón. Se ha reportado que es la responsable de la inflamación y su inhibición ha sido asociada al daño gastrointestinal causado por los AINEs (Kam y See, 2000; Takeuchi y col., 2003; Rao y Knaus, 2008): un aumento dramático de los niveles de esta enzima incrementa la producción de las prostaglandinas pro-inflamatorias (PGs) como la PGE2 y PGE1 al generarse un proceso inflamatorio (Rao y Knaus, 2008).

El mecanismo de acción que presentan algunos AINEs, se basa en la inhibición de la ciclooxigenasa (COX) (Figura 1), algunos estudios recientes han mostrado que se requiere la inhibición de tanto la COX-1 como la COX-2, para generar daño a nivel gastrointestinal (Wallace y col., 2001; Tanaka y col., 2002).

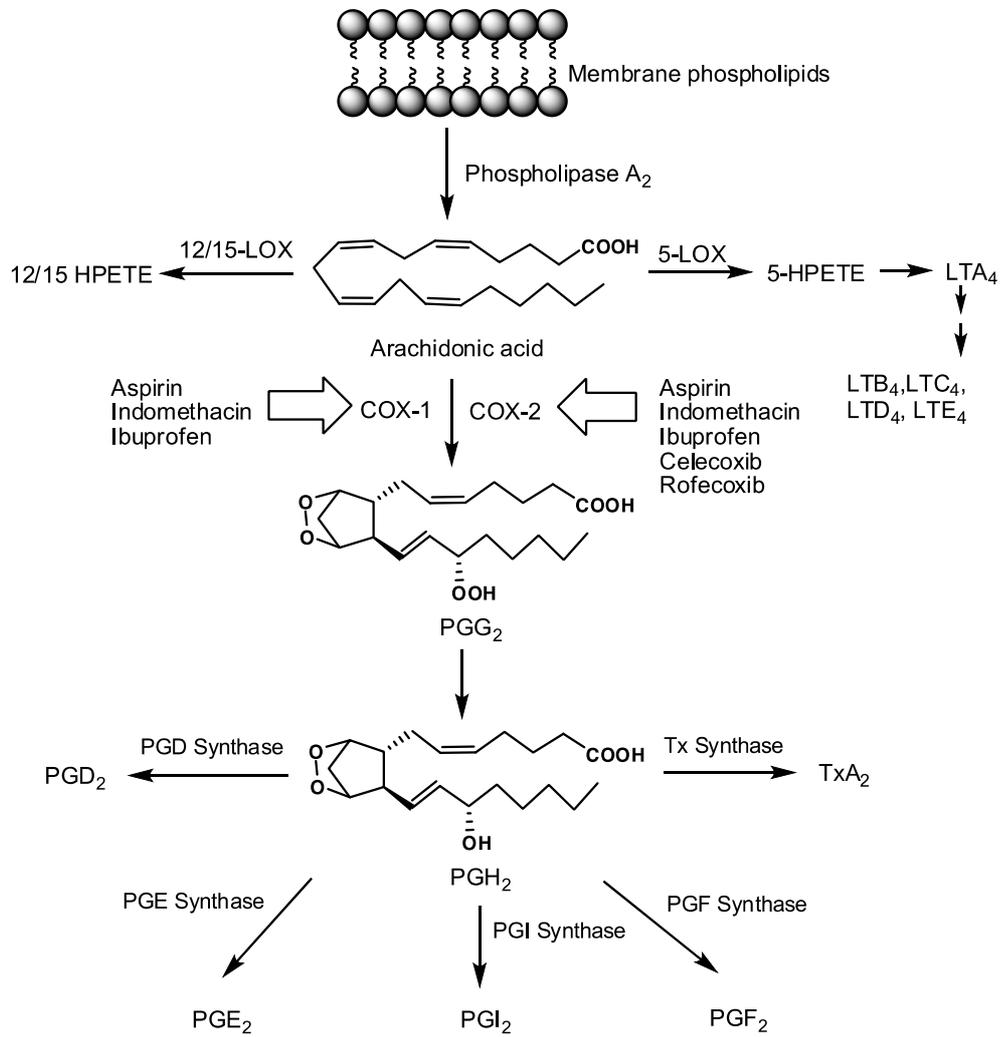


Figura 1. Síntesis de las prostaglandinas (Tanaka y col., 2002).

## 1.2 Diclofenaco

### 1.2.1 Propiedades fisicoquímicas

El diclofenaco es un potente antiinflamatorio no esterooidal y analgésico, el cual es ampliamente utilizado para el tratamiento del dolor en animales y humanos (Wiesenberg-Boettcher y col., 1991; Bandgar y col., 2011). El diclofenaco, es un compuesto que presenta una fórmula molecular  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ , un peso molecular de 296.15 g/mol (Figura 2). Se encuentra en forma de cristales, tiene un punto de fusión de 156-158 °C, un pKa de 4.0 y es un compuesto soluble en agua (Peris-Ribera y col., 1991; HSDB, 2012).

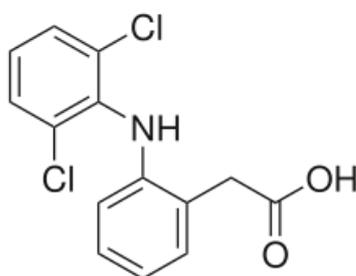


Figura 2. Estructura química del diclofenaco.

### 1.2.2 Absorción

Después de la administración oral de diclofenaco, éste es absorbido extensamente en diversas especies como las ratas, los perros, los simios y los humanos (Peris-Ribera y col., 1991; Davis y Anderson, 1997). Este compuesto puede ser retenido en el estómago por horas o días, lo que ocasiona una demora de la absorción y un retraso para alcanzar la  $C_{max}$  del mismo. Sin embargo, el diclofenaco presenta metabolismo de primer paso, por lo que la biodisponibilidad oral de este compuesto es limitada a valores que van de un 50 a 90 % de la dosis administrada (León-Reyes y col., 2009; Hinz y col., 2005; Peris-Ribera y col., 1991). Se une fuertemente a las proteínas plasmáticas ( $\geq 99.5$  %) y presenta un volumen de distribución bajo (0.12 a 0.17 L/kg) (León-Reyes y col., 2009).

### 1.2.3 Acumulación y distribución

Es poca la información acerca de la acumulación y distribución del diclofenaco en otros tejidos y fluidos, sin embargo, se han reportado concentraciones altas del mismo en la bilis, el hígado, los riñones, el corazón y los pulmones, asimismo, este compuesto puede

penetrar fácilmente el fluido sinovial y atravesar la barrera placentaria (León-Reyes y col., 2009; Peris-Ribera y col., 1991).

### 1.2.4 Metabolismo

Este compuesto es metabolizado extensamente por los citocromos P450 (CYP), de los cuales participan el CYP2C9, CYP2C11, CYP3A4, CYP2B6 y CYP2C19 mediante reacciones de hidroxilación. Posterior a una administración oral de este compuesto se generan cinco metabolitos, el 4'-hidroxiciclofenaco (M1), el 5'-hidroxiciclofenaco (M2), el 3'-hidroxiciclofenaco (M3), el 4',5-hidroxiciclofenaco (M4) y el 3'-hidroxi-4'-metoxiciclofenaco, en plasma de humanos. Asimismo, estos metabolitos son conjugados por reacciones de fase dos, mediante la participación de la UDP-glucuronosiltransferasa, para ser eliminados (Figura 3) (Wiesenberg-Boettcher y col., 1991; Davis y Anderson, 1997; Masubuchi y col., 2001; den Braver y col., 2016).

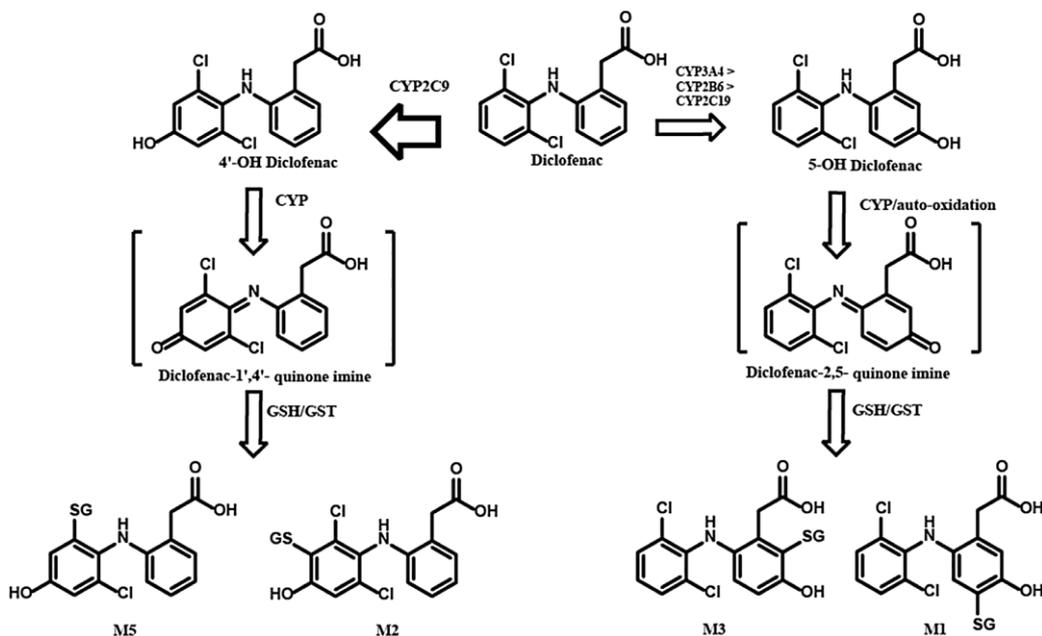


Figura 3. Metabolismo del diclofenaco (den Braver y col., 2016).

### 1.2.5 Eliminación

El diclofenaco es eliminado entre un 60 a 70 % a través de la orina, la eliminación es rápida en un 90 % debido a que la depuración del mismo se realiza de 3 a 4 h. Este compuesto presenta un  $t_{1/2}$  de eliminación de 1.8 h en el hombre (Sallmann, 1986; Davis y Anderson, 1997).

### 1.3 Acemetacina

La acemetacina o ácido [1-(*p*-clorbenzoil)-5-metoxi-2-metil-indol-3-acetoxi] acético, es un antiinflamatorio no esterooidal derivado de la indometacina, el cual posee propiedades analgésicas y antipiréticas (Guevara-López, 2004; Li y col., 2005). La acemetacina es un compuesto que presenta una fórmula molecular  $C_{21}H_{18}ClNO_6$  y un peso molecular de 415.83 g/mol (Figura 4). Es un polvo fino cristalino de color amarillo, con un punto de fusión de 150-153 °C; es muy soluble en acetona, acetato de estilo, cloroformo, metanol, etanol y en éter, mientras que es insoluble en agua (Guevara-López, 2004).

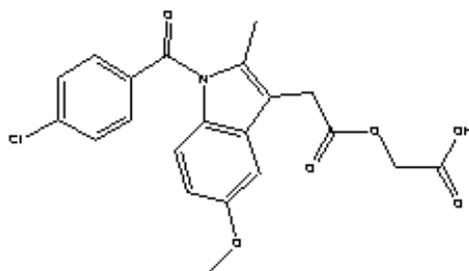


Figura 4. Estructura química de la acemetacina.

#### 1.3.1 Absorción

La acemetacina presenta una unión a proteínas plasmáticas de un 97 %, estudios realizados en humanos indican que la acemetacina administrada oralmente es absorbida entre un 50-90 %, esta absorción se da desde el intestino sin sufrir degradación en el tubo gastrointestinal (Li y col., 2005).

#### 1.3.2 Metabolismo

La acemetacina es convertida a la indometacina y en otros metabolitos activos 1 h después de la administración (Li y col., 2005; Gil-Flores y col., 2010). Algunos estudios indican que la biotransformación de la acemetacina a indometacina se da por una reacción de esterólisis en el hígado para aparecer en la circulación general (Figura 5) (Dell, 1980).

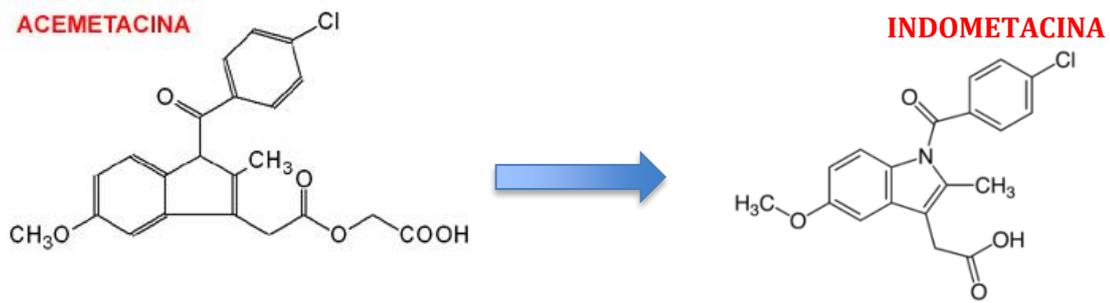


Figura 5. Metabolismo de la acemetacina.

### 1.3.3 Eliminación

La acemetacina es eliminada en un 40 % en la orina y un 60 % en la bilis, y su tiempo de vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ) de 1 a 2 h (Li y col., 2005).

### 1.3.4 Efectos adversos de la acemetacina

Tras la administración de acemetacina se presentan algunos efectos sobre el tracto gastrointestinal como la incidencia de úlceras en la zona gástrica y duodenal. Sin embargo, existen reportes que indican que la incidencia de los efectos causados por la acemetacina son menores que con la indometacina, ésto en pacientes chinos (Li y col., 2005), mientras que existen estudios que indican que la acemetacina es bien tolerada por pacientes mexicanos (Bori Segura y col., 2002).

## 1.4 Indometacina

### 1.4.1 Propiedades fisicoquímicas

La indometacina (1-(*p*-clorobenzoil)-5-metoxi-metilindol-3-ácido acético) es un medicamento antiinflamatorio no esteroideo, el cual ha estado disponible desde 1960 y se ha convertido en uno de los AINEs más utilizados, ya que presenta efectos antiinflamatorio, analgésico y antipirético (Hucker y col.,1966; Waller, 1983). Es un compuesto que presenta una fórmula molecular  $C_{19}H_{16}ClNO_4$  y un peso molecular de 357.79 g/mol (Figura 6). Se encuentra en forma de cristales, presentando un color amarillo pálido, con un punto de fusión de 155-162 °C y un pKa de 4.5; este compuesto es soluble en etanol, éter, aceite de ricino y es insoluble en agua; asimismo, es estable en medios ácidos y neutros (HSDB, 2012).

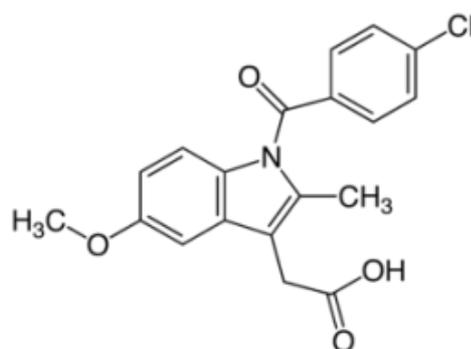


Figura 6. Estructura química de la indometacina.

### 1.4.2 Absorción

Se ha reportado que después de la administración oral de la indometacina, ésta es absorbida extensamente en diversas especies tales como el mono, el cobayo, la rata, el conejo, el perros y el humano (Hucker y col.,1966). Tras una administración oral de la indometacina se alcanza la concentración máxima en 0.5 h en rata y cerca de las 2 h en humanos (Flores-Murrieta y col., 1997). Presenta unión a proteínas plásmicas entre un 90 a 96.3 % (Mason y McQueen, 1974; Guevara-López, 2004).

### 1.4.3 Acumulación y distribución

En un estudio realizado en ratas Holtzman administradas con una dosis de 10 mg/kg de indometacina marcada con [<sup>14</sup>C], se observó que este compuesto tiende a acumularse y

distribuirse en el hígado, los testículos, la grasa corporal, los riñones, el intestino delgado, el cerebro, los pulmones y el corazón (Hucker y col.,1966).

#### 1.4.5 Metabolismo

La indometacina es biotransformada en el hígado a través de reacciones de *O*-desmetilación y *N*-desacilación (Figura 7). Se indica que sufre de recirculación enterohepática. Los metabolitos que son generados no presentan actividad anti-inflamatoria. El metabolito: *O*-desmetilindometacina es eliminado en orina entre un 40-50 % (Nakajima y col., 1998).

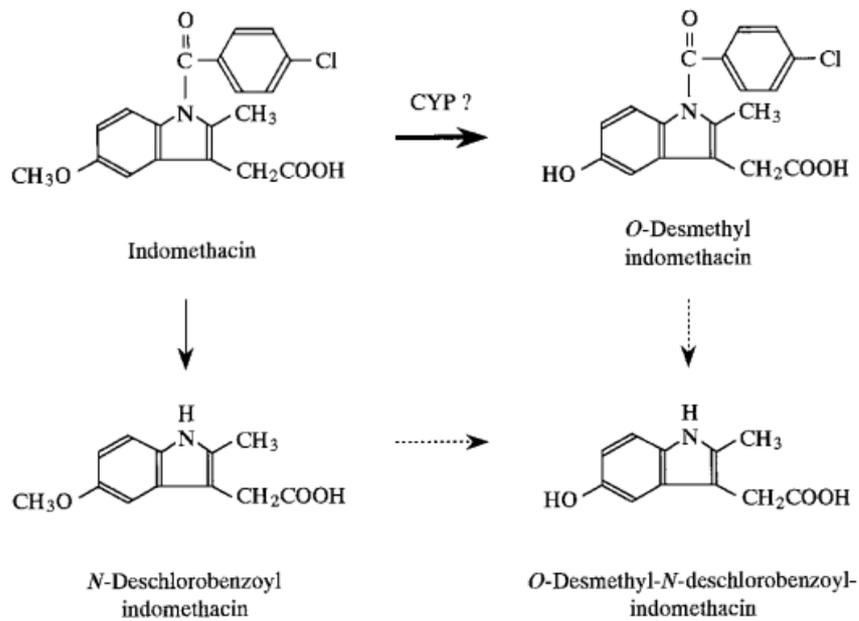


Figura 7. Metabolismo de la indometacina (Nakajima y col., 1998).

#### 1.4.6 Eliminación

Se ha observado que después de la administración de una dosis de 10 mg/kg, la indometacina es excretada en la rata de un 40 a un 49 % en orina, mientras que por heces un 5 a un 10 %, esta excreción varía en cada especie, su  $t_{1/2}$  es de 4 h en ratas (Hucker y col.,1966).

## 1.5 Naproxeno sódico

### 1.5.1 Propiedades fisicoquímicas

El naproxeno [ácido (*s*)-2-(6-metoxi-2-naftil) propionico] es un potente antiinflamatorio no esteroideo, con propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas, introducido en las formas de prescripción como naprosyn en 1976 y como Aleve en 1994 (Runkel y col., 1972; Duggan y col., 2010). Es utilizado para el tratamiento de artritis reumatoide, osteoartritis, dismenorrea, entre otras (Davies y Anderson, 1997; Huntjens y col., 2006). Es un compuesto que presenta una fórmula molecular  $C_{14}H_{13}NaO_3$ , y un peso molecular de 252.24 g/mol (Figura 8), se encuentra en forma cristalina y tiene color blanco. Es un ácido débil con un valor de pKa de 4.15 y se une a proteínas plasmáticas en un 98.9–99 %. Es soluble en agua y poco soluble en alcohol (Davies y Anderson 1997; Castañeda-Hernández y col., 1995; Toothaker y col., 2000; HSDB, 2012). Se ha determinado que el naproxeno se acumula, distribuye, metaboliza y excreta en diversas especies tales como la rata, el perro, el mono, los conejillos de indias y los humanos.

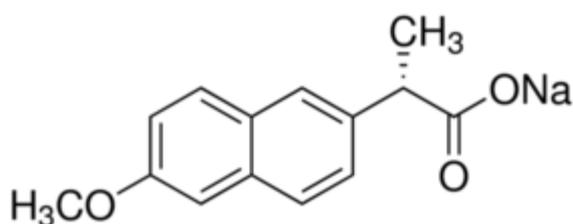


Figura 8. Estructura química del naproxeno sódico.

### 1.5.2 Absorción

El naproxeno se encuentra disponible en dos formas: en forma ácida o básica. La diferencia entre estas formas es la velocidad de absorción. El naproxeno sódico es absorbido rápidamente en el tracto gastrointestinal y alcanza su concentración máxima plasmática ( $C_{max}$ ) después de 1 h, mientras que el naproxeno en forma ácida alcanza su  $C_{max}$  a las 2 h (Toothaker y col., 2000; Elsinghorst y col., 2011; Filist y col., 2015).

La absorción oral de este compuesto se da rápidamente y por completo (Runkel y col., 1972; Toothaker y col., 2000) y se ha determinado que es reabsorbido extensamente (Vree y col., 1993). En un estudio realizado por Castañeda-Hernández y col. (1995), se

observó que después de la administración oral de 6 mg/kg de naproxeno a ratas Wistar macho, se obtuvo una  $C_{max}$  de  $34.6 \pm 0.42 \mu\text{g/mL}$ , su  $t_{max}$  de 0.5 h y su ABC de  $131 \pm 5.16 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ . Diversos estudios han indicado que la absorción del naproxeno es afectada por la ingesta de alimentos causando un retraso en la absorción de éste, debido al retraso del vaciamiento gástrico, el cual va asociado a una lenta absorción gástrica (Davies y Anderson, 1997).

### **1.5.3 Distribución y acumulación**

En un estudio realizado en ratas Sprague-Dawley, las cuales fueron administradas con una dosis oral de 3 mg/kg de naproxeno marcado con  $^3\text{H}$ , observaron que después de las 24 h de la administración este compuesto se distribuye en el bazo, el corazón, los pulmones, el hígado, los riñones y el sistema digestivo, asimismo, se determinó que el  $V_d$  de este AINEs es aproximadamente igual en diversas especies como la rata, el perro, los conejillos de india, los monos y los humanos, siendo para aquellos de  $0.18 \pm 0.06$ ,  $0.12 \pm 0.8$ ,  $0.12 \pm 0.01$ ,  $0.10 \pm 0.04$  y  $0.09 \pm 0.03 \text{ L/kg}$ , respectivamente (Runkel y col., 1972; Toothaker y col., 2000).

### **1.5.4 Metabolismo**

La biotransformación de este compuesto se lleva a cabo por metabolismo hepático mediante reacciones de fase I, con la participación de los CYP450 para generar metabolitos *O*-desmetilados, y las isoformas de CYP2C9, y el CYP1A2 y el CYP2C8 contribuyen en pequeña proporción en la *O*-desmetilación del *R*- y *S*-naproxeno en microsomas de hígado humano, generando el metabolito principal 6-*O*-desmetilnaproxeno (ODMN) (Miners y col., 1996; Tracy y col., 1997; Saifee y col., 2016), seguido de reacciones de fase II (acilglucuronidación), en donde el compuesto madre y el metabolito son conjugados por las glucuronosiltransferasas UGT1A3 y UGT2B7 (Figura 9) (Addison y col., 2000; Filist y col., 2015). También se ha reportado que el naproxeno sufre de recirculación enterohepática (Segre y col., 1974; Ansari y col., 2001).

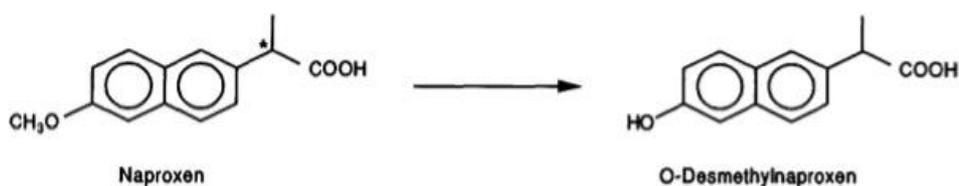


Figura 9. Metabolismo del naproxeno.

### 1.5.5 Eliminación

En humanos, la eliminación de este compuesto se da a través de la excreción renal de los metabolitos conjugados (95 %) y en pequeñas cantidades en forma del compuesto madre, también se ha reportado que es excretado por las heces (5 %) y existe la posibilidad de que sea eliminado por la leche materna, su  $t_{1/2}$  es de 5.2 h. Sin embargo, no hay estudios en los que se determine la vía de eliminación biliar (Runkel y col., 1972; Jamali y Stevens, 1983; Castañeda-Hernández y col., 1995; Davies y Anderson, 1997; Vree y col., 1993; Saifee y col., 2016).

### 1.5.6 Interacciones medicamentosas

El naproxeno puede presentar algunas interacciones medicamentosas fármaco-fármaco, por la administración concomitante con otras medicamentos, afectando la farmacocinética del mismo, tal es el caso del diazepam, el probenecid y la cimetidina que alteran la absorción y la eliminación del naproxeno (Runkel y col., 1978; Rao y Rambhau, 1992; Vree y col., 1993). Asimismo, el sucralfato puede retrasar el  $t_{max}$  de naproxeno pero no la biodisponibilidad del mismo, mientras que la ingesta de algunos antagonistas del receptor de histamina-H<sub>2</sub> (ranitidina y famotidina) no interfieren con el proceso de absorción del naproxeno (Caillé y col., 1989; Vree y col., 1993), asimismo se ha reportado que la farmacocinética del naproxeno no se ve modificada por algunos compuestos como la difenhidramina clorhidrato y el apixaban (Toothaker y col., 2000; Frost y col., 2014),

En un estudio realizado por Addison y col. (2000), en el que se realizó la coadministración de naproxeno (500 mg) y ácido valproico sódico (500 mg), durante 7

días en humanos, observaron un aumento en la concentración plasmática del naproxeno ( $ABC_{0-12}$ ) y una disminución del 10 % del aclaramiento total de este fármaco.

### **1.5.7 Efectos adversos del naproxeno**

Este compuesto tiene la capacidad de generar algunos efectos adversos entre los que se encuentran el daño en el tracto gastrointestinal, aproximadamente del 40 al 60 % de las personas que utilizan este fármaco de manera prolongada desarrollan erosiones gástricas y 15-30 % desarrollan úlceras gástricas, asimismo ocasiona daño renal, y estos efectos adversos aumentan con la edad (Satterwhite y Boudinot, 1991; Jung y col., 2011). La ingesta de naproxen también puede presentar algunos efectos menores como náusea, vómito, diarrea, constipación, disminución del apetito y dolor de cabeza (Yilmaz y col., 2014).

## 1.6 Ketorolaco trometamina

### 1.6.1 Propiedades fisicoquímicas

El ketorolaco trometamina [(±) 5-benzoil-2,3-dihidro-1*H*-pirrolizina-1-ácido carboxílico, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanediol] es un potente antiinflamatorio no esteroideo que presenta propiedades analgésicas, el cual ha demostrado ser efectivo en animales y en humanos (Mroszczak y col., 1987; Granados-Soto y Flores Murrieta, 1995). Fue uno de los primeros AINEs comercializados en Estados Unidos en 1990, para uso parental (Vadivelu y col., 2015). Es un compuesto que presenta una fórmula molecular  $C_{19}H_{24}N_2O_6$ , y un peso molecular de 376.4036 g/mol, presenta un pKa de 3.5, es soluble en agua y se une a proteínas plasmáticas en un 99% (Figura 10) (Gillis y Brogden, 1997).

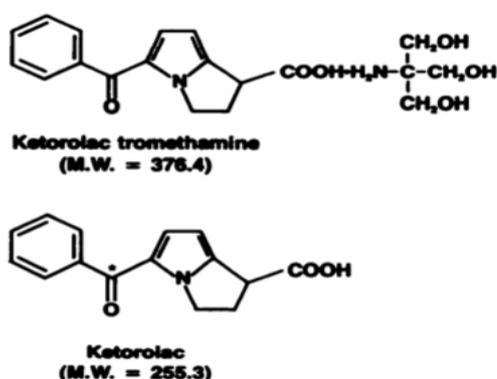


Figura 10. Estructura química del ketorolaco y el ketorolaco trometamina.

### 1.6.2 Absorción

El ketorolaco ha sido estudiado en diversas especies como la rata, el ratón, el conejo, los chimpancés y en humanos; se ha determinado que este compuesto es absorbido por vía i.v. al 100 % en todas las especies, mientras que por las vías i.m. y p.o. es absorbida en un 87 % en ratas, en un 72-95 % en ratones por p.o., en un 96 y 97 % en conejos por vía i.m. y p.o., y en humanos en un 99 % por vía oral. Se ha reportado que la presencia de alimentos en el estómago retrasa la absorción de este compuesto. La  $C_{max}$  en la rata, el ratón, el conejo, los chimpancés y el humano tras una administración oral es de 2.31, 23.6, 3.34, 98.8, 28.8  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente (Mroszczak y col., 1987; Jung y col., 1988; Vadivelu y col., 2015).

### 1.6.3 Distribución y acumulación

Este compuesto se distribuye en diferentes órganos y tejidos, tales como los riñones, el hígado, los pulmones, el corazón, el músculo, las gónadas, el bazo, el tejido adiposo y el cerebro, encontrando concentraciones de 16.6, 2.28, 2.64, 1.29, 1.12, 0.84, 1.14, 0.72 y 0.36 µg/g, respectivamente (Mroszczak y col., 1987). Se ha reportado que el  $V_d$  que presenta este compuesto es de 0.11 a 0.25 L/kg en voluntarios sanos (Granados-Soto y Flores-Muerrieta, 1995).

### 1.6.4 Metabolismo

El ketorolaco trometamina es metabolizado en el hígado a través de la vías de glucuronidación y parahidroxilación, se ha reportado que un 60 % de la dosis administrada es excretada como ketorolaco, mientras que un 30 % es biotransformado por las isoformas de CYP2C9 y CYP2C8, para transformarlo en metabolitos polares mediante reacciones de hidroxilación y conjugación con el ácido glucurónico y un 12 % es biotransformado a *p*-hidroxiketorolaco (Figura 11) (Mroszczak y col., 1987; Catapano, 1996; Vadivelu y col., 2015).

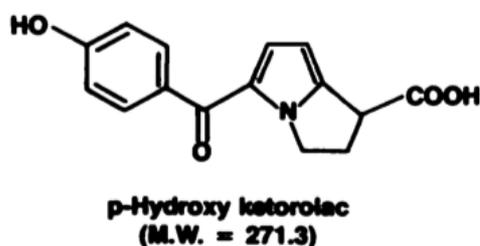


Figura 11. Metabolito hidroxilado del ketorolaco.

### 1.6.5 Eliminación

El 22 % de la dosis administrada del ketorolaco en voluntarios sanos es excretada en la orina, mientras que solo el 6-8 % de la dosis es recuperada en las heces. Asimismo se ha reportado que puede ser eliminado en la leche materna. El  $t_{1/2}$  reportado en humanos es de 4 a 7 h, mientras que en ratas es de 2.4 h (Mroszczak y col., 1987; López-Muñoz y col., 1996; Vadivelu y col., 2015).

### **1.6.6 Interacciones medicamentosas**

Se han reportado riesgos de sangrado gastrointestinal al administrar el ketorolaco con la warfarina, la heparina, la pentoxifilina y otros AINEs, debido a sinergismo. Asimismo, se ha reportado que al administrar el probenecid en combinación con el ketorolaco, se aumenta el  $t_{1/2}$  de eliminación del ketorolaco, esto debido a la disminución de su aclaramiento y el volumen de distribución. Sin embargo, el ketorolaco también causa un aumento de la toxicidad de algunos fármacos como el litio y el metrotexato, esto debido a la disminución del aclaramiento renal de los mismos (Vadivelu y col., 2015).

Se han propuesto mecanismos de acción que se encuentran asociados a la potencia y eficacia del ketorolaco entre los que se encuentran los efectos moduladores de los receptores de opioides y la estimulación de la liberación de óxido nítrico (Pérez-Urizar y col., 2000; Galán-Herrera y col., 2008).

### **1.6.7 Efectos adversos del ketorolaco**

El ketorolaco provoca daño en el tracto gastrointestinal, el cual va desde la irritación de la mucosa gástrica hasta ulceración o hemorragia. Asimismo, se ha reportado que del 7 al 13 % de los pacientes que utilizan este medicamento presentan diarrea, náusea y dolor gastrointestinal, del 1 al 3 % presentan vómito, constipación, flatulencias y anorexia o aumento del apetito en el 1 % de los pacientes (Gillis y Brogden, 1997).

## **1.7 Estrategias para el aumento del perfil de seguridad de los AINEs**

En la última década se han establecido algunas estrategias para aumentar el perfil de seguridad de los AINEs, entre las cuales se encuentran el desarrollo de inhibidores selectivos de la COX-2, los llamados COXIBs, los inhibidores de la bomba de protones, la generación de una tercera clase de AINEs: los derivados del sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ), los cuales explotan los efectos protectores del  $H_2S$  en la mucosa gástrica y los antagonistas a receptores de histamina ( $H_2$ ) (Wallace y col., 2001; Shou-Chuan y Chen-Wang, 2007; Fiorucci y col., 2007).

### **1.7.1 Derivados del sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ )**

El  $H_2S$  es un mediador gaseoso endógeno, el cual participa como mediador de diversos procesos fisiológicos. Éstos aumentan la resistencia del estómago al daño causado por algunas sustancias y es producido por la mucosa gástrica, se ha reportado que genera la estimulación para la secreción de bicarbonato en el estómago y el duodeno, reduciendo

el daño causado por el ácido gástrico (Gemici y col., 2015). Algunos estudios preclínicos han reportado que la administración de los donadores de H<sub>2</sub>S pueden prevenir la disminución del flujo sanguíneo inducida por los AINEs, también suprimen la adherencia de leucocitos al endotelio vascular y reducen la extravasación de leucocitos, así como la reducción de la formación de edema. Estos efectos son mediados por la activación de los canales de potasio (K<sup>+</sup> ATP) (Fiorucci y col., 2007; Wallace, 2007).

### **1.7.2 Inhibidores de la bomba de protones (IBPs)**

Los inhibidores de la bomba de protones (IBPs) son los medicamentos más prescritos para el tratamiento relacionado con la secreción de ácido, debido a que combinan su alta eficacia con su baja toxicidad (Wallace, 2000). Estos fueron introducidos en el mercado en los 80s (omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol y rabeprazol), debido a que son los inhibidores más potentes de la producción de ácido gástrico, esto mediante el bloqueo de la H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa, la cual es la enzima responsable en el paso final para la secreción de ácido clorhídrico en las células parentales. Éstos son utilizados para el tratamiento de la úlcera gástrica, úlceras duodenales, reflujo esofágico, lesiones provocadas por el uso de AINEs, así como la erradicación de *Helicobacter pylori* (Blandizzi y col., 2005; Zhang y col., 2013). Representan el 80 % de las prescripciones realizadas en el Reino Unido. En la literatura los tratamientos con IBPs, son mejores que los tratamientos con los antagonistas de receptores a histamina (H<sub>2</sub>) (Pozzoli y col., 2007). Sin embargo, existen reportes que indican que el uso crónico de los IBPs, puede causar algunos efectos adversos como deficiencia de vitamina B12, fracturas, hipocalcemia, susceptibilidad a la neumonía, enteritis infecciosa, interacciones medicamentosas, entre otras (Sánchez-Cuén y col., 2012). Wallace y col. (2011) reportaron que el uso prolongado de IBPs, puede causar disbiosis intestinal, provocando un incremento del número de bacterias en el intestino.

### **1.7.3 Inhibidores selectivos de la COX-2 (COXIBs)**

Los inhibidores selectivos de la COX-2 o COXIBS, pertenecen a una subclase de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), los cuales fueron diseñados para disminuir la incidencia de eventos a nivel del tracto gastrointestinal y para la inhibición específica de las prostaglandinas inflamatorias dependientes de COX-2, sin tener ningún efecto sobre la COX-1. Tres de estos medicamentos como el celecoxib, rofecoxib y valdecoxib, fueron aprobados para su uso por la FDA, mientras que un cuarto (eterocoxib) fue aprobado por

la Autoridad Regulatoria Europea. Estos fueron introducidos en el mercado rápidamente y tuvieron un gran éxito, reportando ventas de hasta 10 billones de dólares en el 2001, debido a que son mejor tolerados por el tracto gastrointestinal que los AINEs y generan una disminución de los efectos en el tracto gastrointestinal. Existen estudios que indican que la incidencia de daño gástrico es menor en comparación con los AINEs tradicionales (Bombardier, 2000; Bombardier, 2002; Fitzgerald, 2004; Coruzzi y col., 2007). Sin embargo, Mujkherjee y col. en 2001 reportaron que los inhibidores selectivos de la COX-2, presentaban un mayor riesgo de generar efectos adversos a nivel cardiovascular, esto en comparación con los AINEs tradicionales, lo que causó que algunos de estos COXIBs como el rofecoxib (Vioxx) salieran del mercado (Reddy y Roy, 2013). Este efecto a nivel cardiovascular es debido a que la actividad de la COX-1 está relacionada con la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>), principalmente en las plaquetas, mientras que COX-2 media la síntesis de prostaciclina en las células endoteliales macrovasculares. La prostaciclina causa relajación de las células musculares lisas vasculares y causa vasodilatación, además tiene actividad antiplaquetaria, por lo que la inhibición selectiva de la COX-2 podría romper el equilibrio en la fisiología de la homeostasis, lo que provocaría una disminución relativa de la producción de prostaciclina, mientras que la producción de TXA<sub>2</sub> quedaria inalterada. Este desequilibrio inclina la balanza y favorece la agregación plaquetaria, incrementando el riesgo de trombosis y eventos vasculares (Oscanoa-Espinoza, 2015).

No obstante han sido implementadas varias estrategias para disminuir el daño a nivel gastrointestinal causado por los AINEs, siguen existiendo reportes sobre este daño, lo que indica que las estrategias implementadas no han funcionado como se esperaba, por lo cual es importante la búsqueda de nuevas estrategias experimentales que ayuden a disminuir el uso de los AINEs tradicionales o bien que puedan darse en combinación con otros compuestos para disminuir el daño gástrico causado por los AINEs. Se ha reportado que el uso de compuestos naturales administrados en combinación con algunos medicamentos provoca un aumento del efecto esperado o bien protegen del daño causado a nivel gastrointestinal.

A lo largo de la historia, los seres humanos han utilizados productos de plantas naturales para varios propósitos, los cuales han coevolucionado a lo largo de la vida (Goel y col., 2008). El papel que juegan los productos naturales en el ser humano no pueden ser subestimados, debido a que se ha estimado que un 80 % de individuos en países en

desarrollo depende de productos naturales para satisfacer sus necesidades de atención médica. Productos naturales (plantas o hierbas) que contienen flavonoides poseen propiedades antioxidantes, tienen la capacidad de neutralizar radicales libres y actúan como gastroprotectores, por lo que el uso de estos compuestos naturales ayudará en la disminución del daño gástrico causado por algunos medicamentos (Simon y Evan Prince, 2016). Uno de estos compuestos naturales es la curcumina, la cual presenta diversos efectos, entre algunos de ellos como gastroprotector, enteroprotector, y antiinflamatorio.

## **1.8 Curcumina**

### **1.8.1 Generalidades**

La curcumina (diferuloylmetano), es un polifenol y un principio activo de la hierba perenne *Curcuma longa* (comúnmente conocida como cúrcuma). Fue aislada por primera vez en 1815 por Vogel y su estructura química fue confirmada por Lampe y Milobedezka en 1910 (Shehzad y col., 2010). La fracción del pigmento amarillo de la cúrcuma contiene curcominoides, los cuales presentan una semejanza química con el ingrediente principal, curcumina. Los componentes de la curcumina comercial son curcumina (~77 %), curcumina II (~17 %) y curcumina III (~3 %) (Goel y col., 2008; Gupta y col., 2012).

### **1.8.2 Propiedades fisicoquímicas**

La curcumina es un compuesto con fórmula molecular  $C_{21}H_{20}O_6$ , y un peso molecular de 368.37 g/mol (Figura 12). Es un sólido de color amarillo-naranja inodoro con un punto de fusión de 170-185 °C, es insoluble en agua y éter, pero se disuelve fácilmente en etanol, dimetilsulfóxido, ácido acético y acetona, asimismo, es sensible a la luz y estable a pH ácidos e inestable a pH básico y neutro (Pfeiffer y col., 2003; Goel y col., 2008; Esatbeyoglu y col., 2012).

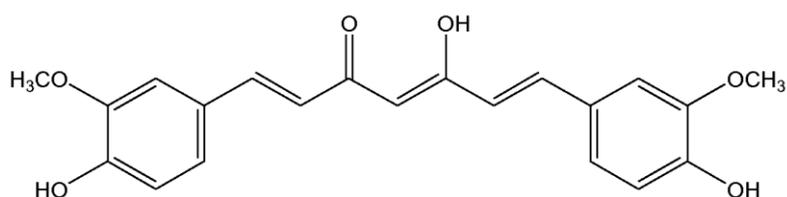


Figura 12. Estructura química de la curcumina.

### 1.8.3 Usos

La curcumina se encuentra en el mercado de diferentes países como USA, India, Japón, Corea, Tailandia, Vietnam, Filipinas, China, Turquía, Nepal y Pakistán, y es utilizada como un producto comestible, cosmético y medicinal. Como especia se utiliza en los alimentos para dar sabor y color (Prasad y col., 2014). También es utilizada como un agente colorante en queso, mantequilla y otros alimentos. En la medicina popular es utilizada en preparaciones terapéuticas, tales como en el tratamiento de varias enfermedades respiratorias (asma, hiperactividad bronquial y alergias), en daño causado al hígado, reumatismo, heridas de diabéticos y sinusitis (Goel y col., 2008). La curcumina ha sido reconocida como generalmente segura por la FDA (Chainani-Wu, 2003), mientras que el comité de expertos en aditivos para comidas (JECFA), recomendó en 2004 una ingesta diaria de curcumina de 0-3 mg/kg (Cheng y col., 2001; Sharma y col., 2004). Se ha reportado que la ingesta diaria de curcumina en la India es de 60-100 mg por habitante, mientras que en Nepal la ingesta máxima de este compuesto es de 50 mg por habitante (Esatbeyoglu y col., 2012). En México, se reportó en el Diario Oficial de la Federación (DOF), que el límite máximo de uso de la curcumina como colorante en algunos alimentos es de 50 y 100 mg/kg, en dulces a base de leche y helados, entre otros.

### 1.8.4 Farmacocinética

#### 1.8.4.1 Absorción

La curcumina es un compuesto lipofílico, sin embargo, es absorbida muy poco por vía oral, pero puede ser detectada fácilmente en el tracto gastrointestinal (Pan y col., 1998; Prasad y col., 2014). A partir de la administración por vía oral en ratas (2 mg/kg y 1 g/kg) se ha calculado un  $t_{1/2}$  absorción de  $0.31 \pm 0.07$ , una  $C_{max}$  de 258.64 ng/mL, alcanzando su  $t_{max}$  a las 1.72 h y un área bajo la curva ( $ABC_{0-t_n}$ ) de 1.32  $\mu\text{g} \cdot \text{mL/h}$  y un  $ABC_{0-\infty}$  de 1.68  $\mu\text{g mL/h}$ , mientras que en humanos, la administración de la misma dosis no permitió que

se calcularan dichos parámetros (Shoba y col., 1998; Maiti y col., 2007; Gupta y Dixit, 2011).

Algunos estudios realizados en ratas como el reportado en 1978, por Wahlström y Blennow, en el cual utilizaron ratas Sprague-Dawley que fueron administradas con una dosis de 1 mg/kg de curcumina, observaron que la curcumina fue absorbida muy poco en el intestino. Cuando la curcumina fue administrada a dosis de 2 mg/kg a ratas, se detectó en el suero una concentración de  $1.35 \pm 0.23 \mu\text{g/mL}$  a las 0.83 h, mientras que en humanos con una misma dosis solo se han observado concentraciones de curcumina en suero en cantidades trazas de  $0.006 \pm 0.005 \mu\text{g/mL}$  (Shoba y col., 1998).

Otros estudios realizados en humanos, indican que las concentraciones de curcumina en plasma son muy pequeñas, alrededor de 1 a 2 h después de una administración oral, lo cual confirma la baja biodisponibilidad de la misma, ya que se ha reportado una biodisponibilidad de 1 % (Yang y col., 2007; Anand y col., 2008; Prasad y col., 2014).

Al contrario de los resultados encontrados en estudios en roedores, algunos estudios en humanos en los que se utilizaron dosis de 3.6 y 4-8 g de curcumina por vía oral, se observaron niveles plasmáticos de curcumina de 11.1 nmol y 0.41-1.75  $\mu\text{M}$ , 1 h después de la dosificación, respectivamente (Anand y col., 2008).

#### **1.8.4.1.1 Técnicas para incrementar la biodisponibilidad de la curcumina**

Debido a la poca absorción y biodisponibilidad que presenta la curcumina, en roedores y humanos, varios grupos de investigación han implementado diversas técnicas para incrementar la biodisponibilidad de la misma, tales como el uso de pimienta, nanopartículas, formulaciones con complejos de fosfolípidos y encapsulación de liposomas, entre otras.

**Pimienta:** en diversos estudios preclínicos y clínicos se ha demostrado que al utilizar pimienta en combinación con curcumina se produce un incremento significativo en la biodisponibilidad de la misma. Sin embargo, la pimienta también actúa como un inhibidor de la glucuronidación hepática e intestinal (Shoba y col, 1998; Antony y col., 2008; Li y col., 2015). Cuando es realizada la combinación de pimienta con curcumina, el tiempo de vida media de la curcumina y su aclaramiento son disminuidos significativamente, lo que lleva a un incremento de la biodisponibilidad de hasta 154 % en ratas, mientras que en humanos, se da un incremento de la biodisponibilidad de hasta un 2000 % (Shoba y col, 1998; Anand y col., 2008). Ryu y col. (2006), observaron que

después de una dosis de 2 g de curcumina en combinación con 5 mg de pimienta en voluntarios sanos, se presentaba un aumento de la absorción de la curcumina.

**Complejos de Fosfolípidos:** Diversos estudios han indicado que el uso de este tipo de complejos aumenta la eficacia terapéutica de algunas moléculas que presentan poca absorción (Maiti y col., 2007). Marczylo y col. (2007), observaron que al administrar ratas Wistar macho con una dosis oral de 340 mg/kg de curcumina y 340 mg/kg de curcumina formulada con fosfatidilcolina (Meriva), se presentaba un incremento de la biodisponibilidad de la curcumina formulada con fosfatidilcolina (Meriva) en comparación con curcumina libre. Se ha reportado, que después de la administración de una dosis de 200 mg/kg de curcumina formulada con fosfolípidos, se presentó un aumento de  $C_{max}$  y  $t_{max}$ , mientras que el aclaramiento presentó una disminución, esto en comparación con la administración de 200 mg/kg de curcumina libre (Maiti y col., 2007).

**Liposomas:** Estos son considerados biológicamente seguros, biocompatibles y protegen a la droga de estímulos externos. Asimismo, son excelentes sistemas de liberación de los fármacos, debido a que pueden llevar tanto moléculas hidrofílicas como hidrofóbicas (Yallapu y col., 2012). Existen reportes, sobre la evaluación pre-clínica de la curcumina liposomal, donde se ha observado que posee actividad antitumoral y antioxidante, en ratones (Ruby y col., 1995; Gal y col., 2007). En algunos estudios preclínicos *in vivo*, como el realizado por Anand y col. (2008), se demostró que la curcumina liposomal posee una mejor biodisponibilidad y eficacia que la curcumina libre.

**Nanopartículas:** Ha sido reportado recientemente el uso de la tecnología de nanopartículas para incrementar la biodisponibilidad de la curcumina, la cual es conocida como nanocurcumina, ésta presenta una actividad *in vitro* similar a la curcumina en líneas celulares de páncreas (Anand y col., 2008; Yallapu y col 2012). Tsai y col. (2011), observaron que después de la administración de dosis orales de 1 y 50 mg/kg de la nanoformulación (PLGA) de la curcumina y la curcumina libre en ratas Sprague-Dawley, se presentó un aumento de la biodisponibilidad de la nanoformulación (PLGA) de curcumina hasta 22 veces más en comparación con curcumina libre.

#### **1.8.4.2 Acumulación y distribución de la curcumina**

La curcumina tiende a acumularse en riñones, el hígado y la grasa corporal (Wahlström y Blennow, 1978; Ravindrath y Chandrasekhara, 1980), y se distribuye en el intestino, el hígado, los riñones y el estómago. Sin embargo, se ha reportado que la acumulación preferencial de ésta se da en el intestino, el colon y el hígado (Rajasekaran, 2011). En un estudio realizado en ratones BALB/c hembras, a las cuales se les administró una dosis de 100 mg/kg por vía i.p., se observó que la curcumina se distribuyó ampliamente en el plasma, el hígado, los riñones, el bazo, el cerebro y el intestino 1 h después de la administración, los valores obtenidos fueron de  $0.60 \pm 0.03$ ,  $26.90 \pm 2.58$ ,  $7.51 \pm 0.08$ ,  $26.06 \pm 1.06$ ,  $0.41 \pm 0.01$  y  $117 \pm 6.86$   $\mu\text{g/g}$  de tejido, respectivamente (Pan y col., 1998). Asimismo, en un estudio realizado por Pan y col. (1998), en el cual administraron dosis de 0.1g/kg por vía i.p. en ratón, observaron que la curcumina se acumulaba en el intestino en concentraciones de 117  $\mu\text{g/g}$  una hora después de la administración, en hígado y riñones fueron determinadas concentraciones de 26.9 y 7.5  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente, mientras que en cerebro solo se encontraron trazas de curcumina (0.4 $\mu\text{g/g}$ ). Otro estudio realizado por Garcea y col. (2004), en el cual determinaron la concentración de curcumina en tejidos normales y de tejidos de pacientes con cáncer de colon, que recibieron dosis de 3600 mg de curcumina por vía oral, las concentraciones determinadas en dichos tejidos fueron de  $12.7 \pm 5.7$  y  $7.7 \pm 1.8$  nmol/g, respectivamente.

#### **1.8.4.3 Metabolismo**

El metabolismo de la curcumina en humanos es muy poco estudiado, mientras que en animales, la ruta ha sido establecida. En ratas, la curcumina es rápidamente metabolizada, esta biotransformación puede ocurrir durante la absorción a través del intestino (Ravindrath y Chandrasekhara, 1980; Pan y col., 1998), ya que este compuesto es reducido y conjugado dentro del tracto gastrointestinal, así como en el hígado, dando como resultado concentraciones bajas del compuesto madre, el cual es detectado en el sistema hepático (Figura 13) (Prasad y col., 2014). Se ha reportado que la curcumina no es metabolizada por el citocromo P450, debido a que no se han detectado productos hidroxilados o desmetilados, después de una incubación con microsomas hepáticos de rata (Irving y col., 2011; Metzler y col., 2013).

Después de la administración de curcumina por vía oral, esta es absorbida y sufre una reacción metabólica de *O*-conjugación pasando a curcumina glucuronidada y a sulfato de

cúrcuma, asimismo, sufre una bio-reducción a tetrahidrocurcumina, hexahidrocurcumina y hexahidrocurcuminol en ratas y ratones *in vivo*, así como en suspensiones de hepatocitos de rata y humanos (Figura 13) (Ireson y col., 2002; Anand y col., 2008). La glucuronidación es la principal vía de conjugación, encontrándose como metabolito mayoritario al hexahidrocurcuminol glucuronidado, este ha sido detectado en varios fluidos, órganos y células (Metzler y col., 2013). Sin embargo, también se han determinado metabolitos sulfatados en plasma de rata tratada con curcumina por vía oral (Asai y Miyazawa, 2000; Sharma y col., 2001). Esta biotransformación es catalizada por la UGT1A1 hepática, la UGT1A8 y 1A10 intestinal (Metzler y col., 2013). Otros estudios como el realizado por Usta y col. (2007) reportaron que la curcumina también es conjugada con glutatión (GSH), esta conjugación fue demostrada en incubaciones con la glutatión *S*-transferasa intestinal humana. Sin embargo, los conjugados fueron muy inestables y se descomponían rápidamente y no existen reportes hasta el momento de la detección de conjugados con glutatión.

Algunos estudios indican que los metabolitos de la curcumina son menos activos que el compuesto madre u original, pero algunos reportes indican que algunos metabolitos de la misma poseen actividad antiinflamatoria o antioxidante y analgésica. El metabolito tetrahidrocurcumina (THC) posee un efecto antioxidante y cardioprotector similar al de la curcumina, asimismo, este metabolito posee la capacidad de eliminar radicales libres (Okada y col., 2001; Anand y col., 2008; Wu y col., 2014). Se sabe que el metabolito THC disminuye la hepatotoxicidad generada después de la administración en combinación de eritromicina y una dosis oral de 80 mg/kg de THC, en ratones durante 15 días (Pari y Murugan., 2004; Murugan y Pari, 2005). Pero se ha reportado que la desmetoxicurcumina y bidesmetoxicurcumina son inhibidores de la COX-2 y de la expresión del gen iNOS (Ramsewak y col., 2000), sin embargo, se ha reportado que la curcumina es mas potente al inhibir la COX-2 y de la expresión del gen iNOS en comparación con la bidesmetoxicurcumina (Lantz y col., 2005).

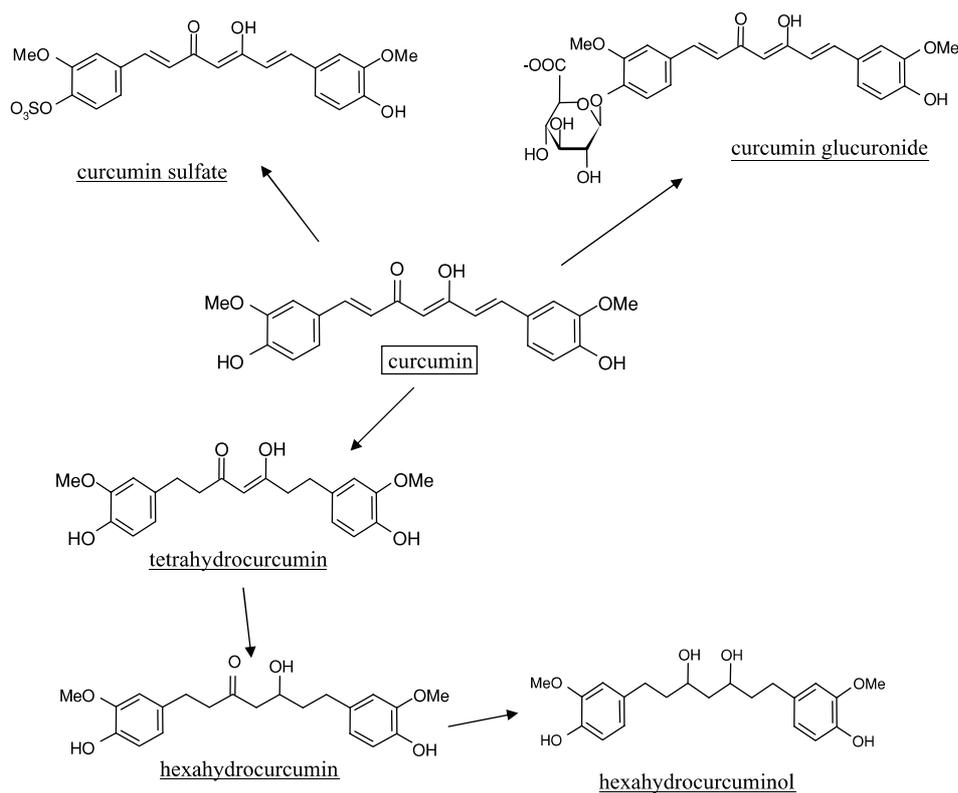


Figura 13. Metabolismo de la curcumina (Anand y col., 2008).

#### 1.8.4.3.1 Efecto de la curcumina en las enzimas del metabolismo

Existen diversos estudios *in vitro* y en modelos animales, en los que se ha observado que la curcumina actúa como inhibidor de varias enzimas encargadas del metabolismo de fármacos, entre ellas varias isoformas del CYP450, sulfonotransferasa (SULT) y UDP-glucuronosiltransferasas (Oetari y col., 1996; Appiah-Opong y col., 2007). También, se ha reportado que la curcumina actúa como inhibidor de algunos transportadores como glicoproteína P (P-gp) *in vitro* (Hou y col., 2008; Ampasavate y col., 2010).

Los citocromos P450 son una superfamilia de hemoproteínas involucradas en el metabolismo oxidativo, peroxidativo y reductivo de diversos componentes estructurales incluyendo esteroides endógenos, ácidos grasos, retinoides, ácidos biliares, aminas biogénicas y leucotrienos. Son las enzimas principales que se encargan del metabolismo de xenobióticos, entre los que se incluyen fármacos y contaminantes ambientales. Asimismo, son responsables de la activación de compuestos carcinogénicos (González y Lee, 1996), éstas son enzimas que juegan un papel muy importante en el metabolismo

y la biodisponibilidad oral de varios fármacos (van Waterschoot y Schinkel, 2011). Los CYPs involucrados en el metabolismo de xenobióticos son expresados mayoritariamente en el hígado pero niveles bajos de algunas isoformas de CYP son encontrados en tejidos extrahepáticos como en el tracto gastrointestinal, el pulmón, el riñón, la piel y algunos en el sistema nervioso central (González y Lee, 1996). Se localizan principalmente en el retículo endoplásmico liso y en menor proporción en la mitocondria, el citosol y la membrana plasmática (Chang y col., 1999; Graham y Lake, 2008).

Las familias de CYP encargadas del metabolismo de fármacos son las familias CYP1, 2 y 3 (Seliskar y Rozman, 2007). Al llevarse a cabo la biotransformación de sustratos endógenos y exógenos se generan compuestos polares que pueden ser excretados del organismo ó bien actuar como sustratos para las enzimas de fase II, por lo que la inhibición o inducción de algunas isoformas de CYP450, sulfonotransferasa (SULT), UDP-glucuronosiltransferasas y P-gp, ocasionada por la curcumina, puede generar interacciones de fármaco-fármaco y fármaco-compuestos naturales, causando el aumento o disminución de la biodisponibilidad de medicamentos, y estas interacciones pueden causar reacciones adversas o bien fallas terapéuticas (Bamba y col., 2011; Cho y col., 2012). En algunos estudios *in vitro*, se observó que la curcumina inhibió diversas isoformas del CYP450 como CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1/2B2 (Oetari y col., 1996; Thapliyal y Maru, 2001; Wu y col., 2006; Appiah-Opong y col., 2007; Bamba y col., 2011), CYP3A4, CYP2C9 (Wang y col., 2015) y CYP2B6 (Appiah-Opong y col., 2007), mientras que en estudios *in vivo*, como el realizado por Zhang y col. (2008) en el cual utilizaron ratas, administradas con curcumina en combinación con el midazolam, observaron un incremento de las concentraciones plasmáticas del midazolam, el cual es un sustrato del metabolismo de CYP3A. Estas isoformas son muy importantes ya que se ha reportado que la isoforma CYP3A4 es la enzima más abundante encargada del metabolismo de más del 50 % de los fármacos disponibles en el mercado y las isoformas CYP1A1, CYP3A4 y CYP2C9, son las encargadas del 80 % de la actividad metabólica total en el hígado (Zhou, 2008).

Algunas de las enzimas de fase II, que participan en el metabolismo de fármacos, también son afectadas por la curcumina, ya que existen diversos reportes que indican que la curcumina actúa como inhibidor de la glucuronidación del ácido micofenólico, la bilirrubina, la capsaicina y el 1-naftol, en líneas celulares de cáncer de colon humano (células LS180 y Caco-2) y en células COS-1 transfectadas con UGT1A1 (Basu y col.,

2003, 2004a,b; Naganuma y col., 2006). Volak y col. (2008), reportaron que también la curcumina posee la capacidad de inhibir a la UGT y a la SULT, debido a la inhibición del 90 % de la glucuronidación del acetaminofén en células LS180, mientras que Vietri y col. (2003), observó que la curcumina posee la capacidad de inhibir la sulfatación de 4-nitrofenol, en el citosol de hígado humano.

Adicionalmente, al metabolismo de fase I y fase II, varios fármacos están sujetos al transporte activo de la célula, a través de transportadores, los cuales forman parte importante del sistema de detoxificación y limitan la absorción de algunos fármacos (van Waterschoot y Schinkel, 2011; Kusuhara y col., 2012). Se sabe que la glicoproteína P (P-gp), proteína resistente al cáncer de mama (BCRP) y proteína de resistencia múltiple (MRP1), son los principales transportadores de la familia de los transportadores ABC (Szakács y col., 2006). Recientemente se sabe que la curcumina inhibe la función de estos transportadores (Chearwae y col., 2004; Chearwae y col., 2005; Chearwae y col., 2006), principalmente del transportador glicoproteína P (P-gp) (Ampasavate y col., 2010). La P-gp, existe en la membrana plasmática de varios órganos o tejidos normales, como el cerebro, el hígado, los riñones y el intestino, participando en la eliminación de fármacos o xenobióticos, y de forma importante en la regulación de la absorción de xenobióticos. La modulación de la función de este transportador por compuestos naturales, puede modificar la farmacocinética de algunos xenobióticos (Gatmaitan y Arias, 1993; Perloff y col., 2001; Jodoin y col., 2002; Ampasavate y col., 2010), causando interacciones alimento-fármaco. Un estudio realizado por Zhang y col. (2007), demostró que la curcumina modula la expresión de la P-gp, en diversos órganos de las ratas y también afecta el perfil farmacocinético del perolal celiprolol, un sustrato de la P-gp. Hou y col. (2008) determinaron que el tratamiento con curcumina en la línea celular Caco-2, inhibe la expresión de P-gp, mientras que Zhang y col. (2008), observaron que la curcumina posee mayor actividad inhibitoria de P-gp, en comparación con otros compuestos naturales, en la línea celular Caco-2.

#### **1.8.4.4 Eliminación**

La curcumina es excretada a través de las heces, mientras que cantidades muy pequeñas de la misma es excretada en la orina y bilis (Wahlström y Blennow, 1978; Prasad y col., 2014). En algunos estudios realizados en diferentes cepas de ratas, las cuales fueron

administradas con dosis de 1 y 400 mg/kg de curcumina por vía oral, se observó una eliminación de un 67 a 87 % y un 40 % de la dosis administrada en heces mientras que la excreción en orina de metabolitos glucuronidados y sulfatados, fue escasa o nula. Sin embargo, en algunos estudios realizados en humanos se ha observado que la excreción renal de la misma es muy pequeña aun cuando se incrementan las dosis de curcumina por vía oral (Wahlström y Blennow, 1978; Sharma y col., 2004). Asimismo, se ha detectado que un 10 % de la dosis administrada fue excretada por la bilis (Wahlström y Blennow, 1978; Ravindranath y Chandrasekhara, 1980). Hoehle y col. (2006) encontraron que los principales metabolitos excretados en la bilis de rata son la tetrahidrocurcumina glucuronidada (THC) y la hexahidrocurcumina (HHC). A partir de la administración por vía oral en ratas (2 mg/kg, 500 mg/kg y 1 g/kg) se calcularon algunos parámetros farmacocinéticos de la curcumina tales como el  $t_{1/2}$  eliminación el cual fue de  $1.7 \pm 0.5$ ,  $44.5 \pm 7.5$  y  $1.45 \pm 0.25$  h, respectivamente. Asimismo, se determinó la constante de eliminación ( $K_{eliminación}$ ) de 0.48 h y un aclaramiento (Cl) de 92.26 L/h (Maiti y col., 2007; Anand y col., 2008).

### **1.8.5 Farmacodinamia**

La dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) de la curcumina es de 2 a más de 10 g/kg en ratones y 5 a más de 10 g/kg para ratas, mientras que su NOAEL es de 250 a 320 mg/kg por día (EFSA-EFSA, 2010; Esatbeyoglu y col., 2012).

### **1.8.6 Actividades biológicas**

La curcumina es una molécula altamente pleiotrópica, debido a que ha sido asociada con la unión o inhibición de varias moléculas blanco. Se ha descrito que participa en la supresión de la inflamación, la tumorigénesis y la diabetes; asimismo, presenta efectos terapéuticos en los sistemas cardiovascular, pulmonar y neurológico. Este compuesto puede funcionar indirectamente como un antioxidante, al inhibir la actividad inflamatoria de algunas enzimas o al aumentar la síntesis de glutatión (Rajasekaran, 2011). Este compuesto también presenta la capacidad de interactuar con algunas proteínas como la albúmina, la glicoproteína-P, la ATPasa, la MRP1 y la MRP2, los iones como  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y  $Fe^{2+}$ , los factores de transcripción, los receptores de factores de crecimiento, las citocinas, los genes involucrados en apoptosis y la proliferación, así como otras varias enzimas (Goel y col., 2008; Basnet y Skalko-Basnet, 2011; Rajasekaran, 2011).

Se ha reportado en la literatura que la curcumina posee varias actividades biológicas y diversas aplicaciones medicinales. Los estudios preclínicos en modelos de roedores, muestran que la curcumina inhibe o disminuye una gran variedad de carcinógenos en el cáncer de colon, duodeno, esófago, estómago, hígado, seno, próstata y leucemia. Además se sabe que la curcumina posee la capacidad de inhibir la proliferación celular de varios tipos de cáncer *in vitro* que incluyen células de cáncer de próstata, vejiga, corazón, páncreas, ovario, riñón y cerebro (Goel y col., 2008).

Existen estudios acerca del efecto analgésico y antiinflamatorio de la curcumina, así como efectos diversos en diversos órganos.

**Efecto analgésico.** La curcumina es un agente analgésico, debido a que algunos estudios demuestran que la curcumina reduce el dolor y la fatiga, en pacientes con laparoscopías (Agarwal y col., 2011; Kapoor, 2012). Algunos reportes en animales, han confirmado la eficiencia de la curcumina en el alivio del dolor, debido a que se ha visto que la administración sistémica de la curcumina genera antinocicepción en modelos animales con dolor neuropático (Zhu y col., 2014), como el realizado por De Paz-Campos y col. (2012), en el que observaron un efecto antinociceptivo con dosis de 10 y 100 mg/kg de curcumina administrada a ratas tratadas previamente con formalina al 1% vía intraplantar, para provocar dolor. Asimismo, los mismos autores, en 2014, observaron que a dosis de 31 y 100 mg/kg de curcumin en ratas macho adultas, se presentaba un efecto significativo de antinocicepción. Di Pierro y col. (2013), observaron que la curcumina (Meriva) presentaba un efecto analgésico similar al efecto producido por el acetaminofén, al realizar un estudio en 15 pacientes con dolor neuropático, osteoartritis, dolor muscular, entre otros, los cuales fueron divididos en dos grupos, al primer grupo se les dieron tabletas de 1 g de acetaminofén y al segundo grupo una dosis de 400 mg de Meriva (complejo de curcumina con lecitina).

Este efecto antinociceptivo de la curcumina observado ha sido asociado a la supresión de TNF- $\alpha$ , a la activación del sistema descendente de monoaminas, a la inactivación de TRPV1 y a la activación de los canales de potasio ( $K_{ATP}$ ), sin embargo, el mecanismo de acción de antinocicepción de la curcumina no ha sido bien determinado (Sharma y col., 2006; Leamy y col., 2011; Zhao y col., 2012; De Paz-Campos y col., 2014).

**Efecto antiinflamatorio.** La curcumina modula la respuesta antiinflamatoria mediante la regulación de la actividad de la COX-2, las lipooxigenasas y las enzimas aumentadas de la sintetasa de óxido nítrico (iNOS), se inhibe la producción de las citocinas, del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la inhibición de NF-k $\beta$ , las interleucinas (IL-1, 2, 6, 8 y 12), así como la migración de proteínas inhibitorias. Se ha observado también que la curcumina protege del daño peroxidativo en las biomembranas, la peroxidación de lípidos es una reacción mediada por los radicales libres, lo que lleva al daño de las membranas celulares y la inhibición de la peroxidación causada por la curcumina (Jurenka, 2009; Rajasekaran, 2011; Heeba y col., 2014). Existen diversos estudios, como el realizado por Chandran y Goel (2012), en el que observaron que la curcumina posee un potente efecto antiinflamatorio, similar al del diclofenaco, esto en pacientes con artritis reumatoide, al ser tratados con dosis de 500 mg/kg de curcumina y dosis de 50 mg/kg de diclofenaco.

**Efecto intestinal.** La curcumina presenta actividad antiespasmódica, incrementa la actividad de la lipasa, la sucrasa y la maltasa intestinal. Asimismo, se ha reportado que posee un efecto enteroprotector (Chattopadhyay y col., 2004; Kumar y col., 2010; Kumar y col., 2012). Existen diversos estudios en los que se ha reportado que la curcumina, actúa como enteroprotector, sobre el daño causado por la indometacina (Sivalingam y col., 2007; Sharma y col., 2012; Thong-Ngam y col., 2012; Morsy y col., 2013). Un estudio realizado en ratas administradas con dosis de 50, 100 y 300 mg/kg por vía oral en combinación con dosis de 20 mg/kg de indometacina, se observó que la curcumina protegió del daño intestinal causado por indometacina (Menozzi y col., 2009).

**Efecto hepático.** La curcumina protege al hígado de una gran variedad de compuestos tóxicos como la *d*-galactosamina, el peróxido, el acetaminofen y el tetracloruro de carbono, esto en cultivos de hepatocitos de rata (Reyes-Gordillo y col., 2008). Asimismo, se ha reportado en estudios *in vitro* e *in vivo*, que la curcumina participa en la protección de los hepatocitos mediante la inhibición de la producción de óxido nítrico (NO) y TNF- $\alpha$ , en células de kuffer activadas con LPS (Shapiro y col., 2006; Vera-Ramírez y col., 2009). Somanawat y col. (2013), observaron que tras la administración de una dosis de 400 mg/kg de paracetamol en combinación con una dosis de 200 mg/kg

de curcumina, se presentaba un efecto hepatoprotector al daño causado por paracetamol. El efecto hepatoprotector que presenta la curcumina es debido a sus propiedades antioxidantes y a su habilidad de disminuir la formación de citocinas proinflamatorias, y a la atenuación del estrés oxidativo hepático, entre otras (Fu y col., 2008; Naik y col., 2011; Nagpal y Sood, 2013; Palipoch y col., 2014).

**Efecto cardiovascular.** La curcumina actúa como cardioprotector, se ha observado que la curcumina disminuye los niveles de colesterol y triglicéridos, también inhibe la agregación plaquetaria y disminuye la lipoperoxidación lipídica (Soni y Kuttan, 1992; Nagpal y Sood, 2013; Imbaby y col., 2014). Se ha reportado en un estudio *in vitro* e *in vivo*, realizado por Naik y col. (2011), que el efecto cardioprotector de la curcumina puede ser correlacionado con la actividad antioxidante de la misma.

**Efecto renal.** Tras un pretratamiento con curcumina, disminuyó el aumento de la creatinina sérica en riñón, causado por el daño renal (Shoskes, 1998). Asimismo, Bayrak y col. (2008) observaron que la curcumina protege los riñones de algún daño, a través de efectos antioxidantes, esto después de la administración de una dosis de 200 mg/kg de curcumina a ratas con daño renal. En otro estudio realizado, con la co-administración de una dosis 200 mg/kg de gentamicina, que es un compuesto que puede causar nefrotoxicidad y una dosis de 200 mg/kg de curcumina, en ratas Wistar macho, se observó que la curcumina es un candidato para la prevención de daño renal causado por la gentamicina (Farombi y Ekor, 2006). De igual forma, se observó que al administrar dosis de 60 mg/kg de curcumina en combinación con dosis de 5 mg/kg de cisplatino, la protección de la nefrotoxicidad ocasionada por cisplatino (Kuhad y col., 2007).

**Efecto gástrico.** El efecto gastroprotector de la curcumina ha sido indicado por varios autores. Díaz-Triste y col. (2014) mostró un efecto gastroprotector significativo ante el daño gástrico ocasionado por indometacina tras la combinación de una dosis de 30 mg/kg de indometacina con 30 mg/kg de curcumina en ratas. Este efecto ha sido asociado con la activación de la vía de señalización dependiente del óxido nítrico (NO-cGMP-K<sub>ATP</sub>) y a un incremento de la actividad de la catalasa y la superóxido dismutasa, debido a que existen reportes que indican que la curcumina aumenta significativamente los niveles gástricos de NO, activando la vía de NO-cGMP-K<sub>ATP</sub> (Morsy y El-Moselhy, 2013; Díaz-Triste y col., 2014). Un estudio clínico de fase II realizado en Tailandia por

Prucksunand y col. (2001), evaluaron la seguridad y la eficacia del uso de la curcumina en 45 pacientes con úlcera péptica, la dosis utilizada fue de dos cápsulas de 300 mg de curcumina al día, por vía oral, durante 4 semanas, lo que observaron fue que después de las cuatro semanas de tratamiento, 12 de los pacientes no presentaban úlceras. Asimismo, se ha reportado que la curcumina actúa como gastroprotector. Este efecto gastroprotector, también fue observado al administrar dosis de 10, 50 y 100 mg/kg de curcumina en conjunto con dosis de 80 mg/kg de naproxeno durante 3 días (Kim y col., 2016). De igual forma, este efecto de la curcumina fue observado en un estudio realizado en ratas administradas con dosis de 200 mg/kg de curcumina y 20 mg/kg de ácido acetilsalicílico por vía oral (Haider y col., 2013). Este efecto gastroprotector ha sido asociado a la inhibición de la curcumina de la IL-8, la producida por el *Helicobacter pylori*, a la actividad antagonista que presenta la curcumina por los receptores de histamina (H<sub>2</sub>), los cuales se encuentran en células parentales y a la capacidad antioxidante de la curcumina ya que posee la capacidad de neutralizar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica (Kim y col., 2005; Irving y col., 2011).

### **1.8.7 Toxicidad de la curcumina**

En un estudio realizado en ratas machos y hembras F344 administradas a diferentes concentraciones de la curcumina en el alimento (0, 0.1, 0.5, 1.0 hasta 2.5 %), durante 13 semanas, observaron que la curcumina no causó un cambio en el peso corporal, la mortalidad y la histopatología (WHO, 1980).

Se ha reportado en la literatura que la administración de una dosis de 500 mg/kg/d de curcumina durante 3 meses a ratas hembras y machos albinas, no indujo una diferencia significativa en los parámetros hematológicos en peso relativo y en la histopatología del hígado y el riñón (WHO, 1980). En otras especies de animales como el cobayo, el perro, el cerdo y el mono, administradas con dosis que van desde 300 hasta 2500 mg/kg, no presentaron efectos adversos en ninguno de los parámetros observados como en el peso relativo del hígado y del riñón. Se ha observado que la curcumina se encuentra exenta de efectos adversos a 8 g/día/tres meses y 12g/día/cuatro meses, después de una dosis oral de 200 mg/kg en voluntarios sanos, mientras que una dosis de 0.9-3.6 g/día por 1-4 meses, puede llegar a causar náusea y diarrea (WHO,1980; Esatbeyoglu y col., 2012).

## **1.9 Justificación**

Los AINEs son los fármacos más prescritos anualmente en el mundo, debido a su eficacia en la reducción del dolor y la inflamación. Debido a su extenso uso en México hay una gran incidencia de enfermedades gastrointestinales causadas por la ingesta de estos fármacos. No obstante, se han implementado varias estrategias para prevenir la gastroenteropatía provocada por los AINEs, entre las que se encuentran el uso de algunos fármacos antiácidos o bien el desarrollo de algunos medicamentos como es el caso de los COXIBs (los cuales no causan daño a nivel gastrointestinal pero si a nivel cardiovascular), éstas no han sido efectivas completamente, por lo que es importante la búsqueda de nuevos tratamientos contra el dolor y la inflamación, sin provocar daño en el tracto gastrointestinal o bien el uso de compuestos naturales que ayuden a la protección contra estos tipos de daños. Tal es el caso de la curcumina, compuesto de origen natural reconocida como segura por la FDA, utilizada en países como la India y que presenta varias actividades biológicas, entre las cuales se encuentran la protección del tracto gastrointestinal cuando es utilizada con algunos AINEs, pero se desconoce si la curcumina tiene la capacidad de modificar la farmacocinética de estos compuestos al ser administrados en conjunto y llevar a afectar su capacidad como fármacos antiinflamatorios y analgésicos, hecho que hace relevante estudiar el efecto que posee la curcumina sobre la farmacocinética de algunos AINEs.

## **1.10 Hipótesis**

La combinación de algunos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como el diclofenaco, el naproxeno, la acetaminofén, la indometacina y el ketorolaco con curcumina no genera una modificación de la farmacocinética de estos AINEs.

## **1.11 Objetivo general**

Determinar si la farmacocinética del diclofenaco, el naproxeno, la acetaminofén, la indometacina y el ketorolaco es modificada al ser administrados en conjunto con la curcumina.

### **1.11.1 Objetivos particulares**

- Determinar si la farmacocinética del diclofenaco es modificada al ser administrado en conjunto con curcumina.
- Determinar si la farmacocinética del naproxeno es modificada al ser administrado en conjunto con curcumina.
- Determinar si la farmacocinética de la acetaminofén es modificada al ser administrada en conjunto con curcumina.
- Determinar si la farmacocinética de la indometacina es modificada al ser administrada en conjunto con curcumina.
- Determinar si la farmacocinética del ketorolaco es modificada al ser administrado en conjunto con curcumina.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho adultas (peso de 200-250 g) que fueron proporcionadas por la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) del Cinvestav-IPN. Los animales se colocaron en jaulas de acero inoxidable, 2 grupos de 8 animales con libre acceso al agua y un ayuno de 15 h (Formulab Diet 5008, Purina Feeds, Inc., St. Louis, MO, USA), con un ciclo de luz-oscuridad regulada de 12 h y una humedad relativa del 50 %, cada rata fue utilizada solo en un experimento y sacrificada al finalizar el mismo, utilizando una cámara de CO<sub>2</sub>. El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso Animal (número de aprobación 0169-15).

### 2.2 Reactivos

De Sigma Chemical Co., (St. Louis, MO), carboximetilcelulosa, curcumina (C7727), indometacina (I-8280), diclofenaco sódico (D6899), acetmetacina (A1674), naproxeno sódico (M1275), ketorolaco (PHR1140).

De J.T. Baker (Xalostoc, Edo. De México): sulfato de zinc 7-hidrato (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), ácido clorhídrico (HCl), fosfato de potasio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O), fosfato de sodio monobásico monohidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O), ácido acético glacial (CH<sub>3</sub>COOH), acetato de sodio anhidro (CH<sub>3</sub>COONa).

De Merck (Darmstadt, Alemania): hidróxido de sodio (NaOH), cloruro de sodio (NaCl), metanol (MeOH) grado HPLC.

El agua para la preparación de soluciones se obtuvo del sistema de agua Milli Q (Continental Waters Systems, El paso, TX, USA).

De Hycel México (México, D.F): heparina sódica.

Todos los reactivos fueron grado analítico o del más alto grado de pureza disponible.

**2.3 Método analítico cromatográfico para la determinación del diclofenaco (León-Reyes y col., 2009)**

### **2.3.1 Análisis cromatográfico CLAR**

#### **2.3.1.1 Principio**

La cromatografía de líquidos es una técnica de separación física de los componentes de una mezcla debido a la distribución entre dos fases: una fase móvil y una fase estacionaria. La tasa de migración de un componente es inversamente proporcional a su coeficiente de distribución entre las dos fases; es decir, los componentes con una distribución grande en la fase estacionaria se moverán más lentamente que aquellos que presenten una distribución pequeña, logrando así la separación de los analitos presentes en la muestra en estudio. La identificación y cuantificación de los compuestos se realizará en base a su tiempo de retención, el uso de compuestos de referencia y sus propiedades fisicoquímicas para su detección (Hamilton y Sewell, 1982).

#### **2.3.1.2 Condiciones cromatográficas**

Se empleó un cromatógrafo de líquidos marca Hitachi, equipado con un detector de arreglo de diodos L-2400, una bomba L-2130, la longitud de onda utilizada para el análisis fue de 275 nm junto con una columna Xterra C18 (4.6 × 100 mm ID, tamaño de partícula 3.5 µm, Waters Assoc., Milford MA, USA) además de un flujo de 1.2 mL/min, una presión de 2040 ± 100 psi y una fase móvil metanol(MeOH)-fosfato de sodio monohidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O ) (51:49 v/v).

#### **2.3.1.3 Tratamiento de los animales**

Para caracterizar el perfil farmacocinético del diclofenaco y del diclofenaco en combinación con la curcumina, se realizó la canulación de la arteria caudal a las ratas Wistar macho a utilizar. La población de animales fue dividida en dos grupos de estudio, el primer grupo fue administrado por vía oral con una dosis de 10 mg/kg de diclofenaco disuelto en agua y al segundo grupo se le administró una dosis de 30 mg/kg de curcumina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 %, 30 min después les fue administrada una dosis de 10 mg/kg de diclofenaco. Después de recibir la dosis de diclofenaco en ambos grupos se realizó la recolección de muestras de sangre (200 µL), a diferentes tiempos de muestreo los cuales fueron de 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480 min, posteriormente estas muestras de sangre fueron procesadas para la obtención del plasma.

#### **2.3.1.4 Soluciones**

**2.3.1.4.1 Solución amortiguadora de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.01 M, pH 3.** Se pesaron 1.378 g de fosfato de sodio monohidratado ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), el cual se disolvió en 500 mL de agua Milli Q, se ajustó el pH a 3 con HCl 0.01 M y se llevó a un volumen final de 1 L en un matraz aforado (PYREX). Esta solución se conservó en refrigeración.

#### **2.3.1.4.2 Solución de naproxeno 0.1 mg/mL (estándar interno)**

Se pesaron 0.001 g y se llevó a un aforó de 10 mL con agua Milli Q.

#### **2.3.1.4.3 Solución estándar del diclofenaco 5 $\mu\text{g/mL}$ y 50 $\mu\text{g/mL}$**

Se partió de una solución madre con una concentración de 0.1 mg/L: se pesaron 0.001 g y se llevó a un aforo de 10 mL con agua Milli Q; de esta solución se tomaron 0.5 mL y se aforó a un volumen final de 10 mL con agua Milli Q, para obtener una concentración de 5  $\mu\text{g/mL}$ ; asimismo, de la solución de 0.1 mg/mL se tomaron 5 mL y se aforó a un volumen de 10 mL con agua milli Q, para obtener una concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$ .

#### **2.3.1.4.4 Determinación del diclofenaco en plasma de rata**

La preparación de las muestras se realizó utilizando tubos Eppendorf de 1500  $\mu\text{L}$  y en ellos fueron adicionados los volúmenes de las soluciones indicadas en la tabla 1 y 2 para alcanzar un intervalo de concentración de diclofenaco de 0.11 a 12  $\mu\text{g/mL}$  y los puntos control establecidos en el método, respectivamente.

### 2.3.1.5 Curva de calibración del diclofenaco

Tabla 1. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación del diclofenaco en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de diclofenaco (5 µg/mL)	Vol. de diclofenaco (50 µg/mL)	E.I (naproxeno) (0.1 mg/mL)	MeOH (µL)
C1	0.1	100	20	-	25 µL	855
C2	0.3	100	60	-	25 µL	815
C3	1	100	-	20	25 µL	855
C4	3	100	-	60	25 µL	815
C5	5	100	-	100	25 µL	775
C6	12	100	-	240	25 µL	635

Nota: para las curvas de sistema (solución) se agregó 100 µL de agua.

### 2.3.1.6 Puntos control del diclofenaco

Tabla 2. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación del diclofenaco en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de Diclofenaco (5 µg/mL)	Vol. de Diclofenaco (50 µg/mL)	E.I (Naproxeno) (0.1 mg/mL)	MeOH (µL)
M1	0.2	100	40	-	25 µL	835
M1	0.2	100	40	-	25 µL	835
M2	2	100	-	40	25 µL	835
M2	2	100	-	40	25 µL	835
M3	7.5	100	-	150	25 µL	725
M3	7.5	100	-	150	25 µL	725

Nota: para los puntos control de sistema (solución) se agregó 100 µL de agua.

Una vez que se obtuvieron los tubos Eppendorf con el volumen adecuado de cada una de las soluciones de acuerdo a como se muestra en las tablas se realizó lo siguiente:

- Se agitó en el vortex-genie 2 durante 1.5 min
- Se centrifugó a 14000 rpm durante 10 min
- Se separó el sobrenadante
- Se inyectó 60 µL del sobrenadante al sistema cromatográfico.

### **2.3.1.7 Determinación del diclofenaco en muestras obtenidas del estudio farmacocinético.**

La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera: en un tubo Eppendorf de 1500  $\mu\text{L}$  se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de plasma de rata, 25  $\mu\text{L}$  de estándar interno (naproxeno) y se llevó a un volumen final de 1000  $\mu\text{L}$  con metanol. Posteriormente, se agitaron las muestras durante 1 min y se centrifugaron a 16000 rpm durante 15 min a 24 °C, el sobrenadante fue separado y se inyectaron 60  $\mu\text{L}$  del mismo al equipo de CLAR para su análisis.

### **2.3.1.8 Control de calidad.**

La respuesta del sistema analítico se evaluó al inyectar un blanco de solventes para determinar la limpieza de la columna y también al inyectar la mezcla de estándares para confirmar los analitos de interés. En base a los resultados obtenidos se determinó el coeficiente de variación para el diclofenaco y el naproxeno, el cual fue menor del 15%.

### **2.3.1.9 Determinación de parámetros farmacocinéticos.**

Se realizó un análisis no compartamental a partir de los cursos temporales concentración plasmática vs tiempo para determinar los parámetros farmacocinéticos del diclofenaco:  $C_{\text{max}}$ ,  $ABC_{0-t}$  y el  $t_{\text{max}}$ .

### **2.3.1.10 Análisis estadístico**

Se realizó el análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para el grupo de ratas con tratamiento (diclofenaco en combinación con la curcumina), y las ratas control (diclofenaco), utilizando una t de Student, donde se consideró como diferencia significativa una  $p < 0.05$ , utilizando un paquete estadístico GraphPad Prism 5.

## **2.4 Método analítico cromatográfico para la determinación del naproxeno** (Catañeda-Hernandez y col., 1995)

### **2.4.1 Condiciones cromatográficas**

Se empleó un cromatógrafo de líquidos marca Hitachi, equipado con un detector de arreglo de diodos 1410, una bomba 1110, la longitud de onda utilizada para el análisis fue de 275 nm junto con una columna ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 × 100 mm ID, tamaño de partícula 3.5 µm, Agilent Technologies, Inc., USA), además de un flujo de 1.2 mL/min y una presión de 1830 ± 30 psi y una fase móvil metanol(MeOH)-fosfato de sodio monohidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O) (79:21 v/v).

### **2.4.2 Tratamiento de los animales**

Para caracterizar el perfil farmacocinético del naproxeno y del naproxeno en combinación con la curcumina. Se utilizaron ratas Wistar macho a las cuales se les canuló la arteria caudal, la población de animales fue dividida en dos grupos de estudio, el primer grupo se le administró, por vía oral, una dosis de 10 mg/kg de naproxeno disuelto en agua y al segundo grupo se le administró una dosis de 30 mg/kg de curcumina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 %, 30 min después les fue administrada una dosis de 10 mg/kg de naproxeno. Después de recibir la dosis de naproxeno en ambos grupos se realizó la recolección de muestras de sangre (200 µL), a diferentes tiempos de muestreo, los cuales fueron de 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480 min, posteriormente estas muestras fueron procesadas para obtener el plasma.

### **2.4.3 Soluciones**

**2.4.3.1 Solución amortiguadora de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0.01 M, pH 3:** Se pesaron 1.378 g de fosfato de sodio monohidratado (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .H<sub>2</sub>O) que se disolvió en 500 mL de agua Milli Q, se ajustó el pH a 3 con HCl 0.01 M y se llevó a un volumen final de 1 L en un matraz aforado (PYREX). Esta solución se conservó en refrigeración.

#### **2.4.3.2 Solución de diclofenaco 0.1 mg/mL (estándar interno)**

Se pesaron 0.001 g y se llevó a un aforo de 10 mL con agua Milli Q.

### 2.4.3.3 Solución estándar de naproxeno 5 µg/mL y 50 µg/mL

Se partió de una solución madre con una concentración de 0.1 mg/L: se pesaron 0.001 g y se llevó a un aforo de 10 mL con agua Milli Q; de esta solución se tomaron 0.5 mL y se aforo a un volumen final de 10 mL con agua Milli Q, para obtener una concentración de 5 µg/mL; asimismo, de la solución de 0.1 mg/mL se tomaron 5 ml y se aforó a un volumen de 10 mL con agua milli Q , para obtener una concentración de 50 µg/mL.

### 2.4.3.4 Determinación del naproxeno en plasma de rata

La preparación de las muestras se realizaron utilizando tubos Eppendorf de 1500 µL y en ellos fueron adicionados los volúmenes de las soluciones indicadas en la tabla 3 y 4 para alcanzar un intervalo de concentración del diclofenaco de 0.11 a 12 µg/mL y los puntos control establecidos en el método, respectivamente.

### 2.4.4 Curva de calibración del naproxeno

Tabla 3. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación de naproxeno en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de naproxeno (5 µg/mL)	Vol. de naproxeno (50 µg/mL)	E.I (diclofenaco) (0.1 mg/mL)	MeOH (µL)
C1	0.1	100	20	-	25 µL	855
C2	0.3	100	60	-	25 µL	815
C3	1	100	-	20	25 µL	855
C4	3	100	-	60	25 µL	815
C5	5	100	-	100	25 µL	775
C6	12	100	-	240	25 µL	635

Nota: para las curvas de sistema (solución) se agregó 100 uL de agua.

### 2.4.5 Puntos control del naproxeno

Tabla 4. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación del naproxeno en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de naproxeno (5 µg/mL)	Vol. de naproxeno (50 µg/mL)	E.I (diclofenaco) (0.1 mg/mL)	MeOH (µL)
M1	0.2	100	40	-	25 µL	835
M1	0.2	100	40	-	25 µL	835
M2	2	100	-	40	25 µL	835
M2	2	100	-	40	25 µL	835
M3	7.5	100	-	150	25 µL	725
M3	7.5	100	-	150	25 µL	725

Nota: para los puntos control de sistema (solución) se agregó 100 µL de agua.

Una vez que se obtuvieron los Eppendorf con el volumen adecuado de cada una de las soluciones de acuerdo a como se muestra en las tablas se realizó lo siguiente:

- Se agitó en el vortex-genie 2 durante 1.5 min
- Se centrifugó a 14000 rpm durante 10 min
- Se separó el sobrenadante
- Se inyectó 60 µL del sobrenadante al sistema cromatográfico.

### 2.4.6 Determinación del naproxeno en muestras obtenidas del estudio farmacocinético.

La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera: en un tubo Eppendorf de 1500 µL se agregaron 100 µL de plasma de rata, 25 µL de estándar interno (diclofenaco) y se llevo aun volumen final de 1000 µL con metanol. Posteriormente, se agitaron las muestras durante 1 min y se centrifugaron a 16000 rpm durante 15 min a 24 °C, el sobrenadante fue separado y se inyectaron 60 µL del mismo al equipo de CLAR para su análisis.

#### **2.4.7 Control de calidad**

La respuesta del sistema analítico se evaluó al inyectar un blanco de solventes para determinar la limpieza de la columna y también al inyectar la mezcla de estándares para confirmar los analitos de interés. En base a los resultados obtenidos se determinó el coeficiente de variación para el diclofenco y el naproxeno, el cual fue menor del 15 %.

#### **2.4.8 Determinación de los parámetros farmacocinéticos**

Se realizó un análisis no compartamental a partir de los cursos temporales concentración plasmática vs tiempo de naproxeno para determinar los parámetros farmacocinéticos:  $C_{max}$ ,  $ABC_{0-t}$  y el  $t_{max}$ .

#### **2.4.9 Análisis estadístico**

Se realizó el análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para el grupo de ratas con tratamiento (naproxeno en combinación con la curcumina), y las ratas control (naproxeno), utilizando una t de Student, donde se consideró diferencia significativa una  $p < 0.05$ , utilizando un paquete estadístico GraphPad Prism 5.

## **2.5 Método analítico cromatográfico para la determinación de la indometacina y la acetmetacina (Chávez-Piña y col., 2007)**

### **2.5.1 Condiciones Cromatográficas**

Se empleó un cromatógrafo de líquidos marca Waters 486, equipado con un detector de arreglo de diodos, un integrador Varian 4270, una bomba Spectra System P2000, la longitud de onda utilizada para el análisis fue de 260 nm junto con una columna Xterra C18 (4.6 × 100 mm ID, tamaño de partícula 3.5 µm, Waters Assoc., Milford MA, USA), además de un flujo de 1.2 mL/min y una presión de 1830 ± 30 psi y fase móvil metanol(MeOH)-fosfato de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (60:40 v/v). Los tiempos de retención de la carbamazepina, la indometacina y la acetmetacina fueron de 2.30, 4.25 y 5.10 min, respectivamente.

### **2.5.2 Tratamiento de los animales**

Para caracterizar el perfil farmacocinético de la indometacina y la acetmetacina en combinación con la curcumina. Se utilizaron ratas Wistar macho a las cuales se les canuló la arteria caudal, la población de animales fue dividida en cuatro grupos de estudio, al primer grupo se le administró por vía oral una dosis de 30 mg/kg de indometacina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 % y al segundo grupo se le administró una dosis de 30 mg/kg de curcumina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 % y 30 min después les fue administrada una dosis de 30 mg/kg de indometacina. El grupo tres fue administrado por vía oral con una dosis de 34.86 mg/kg de acetmetacina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 % y al cuarto grupo se le administró una dosis de 30 mg/kg de curcumina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 % y 30 min después les fue administrada una dosis de 34.86 mg/kg de acetmetacina. Después de recibir la dosis de indometacina y acetmetacina en ambos grupos se realizó la recolección de muestras de sangre (200 µl), a diferentes tiempos de muestreo, los cuales fueron de 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120, 240, 480, 600, 1440, 1620, 1800 min, posteriormente estas muestras fueron procesadas para la obtención del plasma.

### **2.5.3 Soluciones**

**2.5.3.1 Solución amortiguadora de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.025 M, pH 6.** Se pesaron 3.402 g de fosfato de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y se disolvió en 500 mL de agua desionizada, se ajustó el

pH a 6 con NaOH 0.01 M y se llevó a un volumen final de 1 L en un matraz aforado. Esta solución se conservó en refrigeración.

**2.5.3.2 Solución de carbamazepina 16 µg/mL (estándar interno).** Se pesaron 0.01 g de carbamazepina la cual se disolvió en 25 mL de fase móvil obteniendo una concentración final de 0.4 mg/mL tomar 2 mL de la solución de concentración de 0.4 mg/mL y se aforó a 50 mL con fase móvil, obteniendo una concentración final de 16 µg/mL.

**2.5.3.3 Solución estándar de acetaminofén e indometacina 10 µg/mL y 100 µg/mL.** Se pesaron 0.005 g de acetaminofén y 0.005 g de indometacina, se disolvieron ambos en 5 mL de etanol, obteniéndose una concentración de 1 mg/mL. Se tomaron 5 mL y se aforó a 50 mL con fase móvil preparada obteniendo una concentración de 100 µg/mL. Posteriormente, se tomaron 5 mL de la solución de concentración de 100 µg/mL y se aforó a 50 mL con fase móvil obteniendo una concentración final de 10 µg/mL.

#### **2.5.4 Determinación de la indometacina y la acetaminofén en plasma de rata**

La preparación de las muestras se realizaron utilizando tubos Eppendorf de 1500 µL y en ellos fueron adicionados los volúmenes de las soluciones indicadas en la tabla 5 y 6 para alcanzar un intervalo de concentración de la indometacina y la acetaminofén de 0.10 a 8 µg/mL y los puntos control establecidos en el método, respectivamente.

### 2.5.5 Curva de calibración de la indometacina y la acetaminofeno

Tabla 5. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación de la indometacina y la acetaminofeno en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de acetaminofeno/indo (10 µg/mL)	Vol. de acetaminofeno/indo (100 µg/mL)	E.I (CBZ) (16 µg/mL)	MeOH (µL)
C1	0.1	100	10	-	75 µL	815
C2	0.5	100	50	-	75 µL	775
C3	1	100	100	-	75 µL	725
C4	2	100	-	20	75 µL	805
C5	4	100	-	40	75 µL	785
C6	8	100	-	80	75 µL	745

Nota: para las curvas de sistema (solución) se agregó 100 µL de MeOH.

### 2.5.6 Puntos control de la indometacina y la acetaminofeno

Tabla 6. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación de la indometacina y la acetaminofeno en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de acetaminofeno/indo (10 µg/mL)	Vol. de acetaminofeno/indo (100 µg/mL)	E.I (CBZ) (16 µg/mL)	MeOH (µL)
M1	0.3	100	30	-	75 µL	795
M1	0.3	100	30	-	75 µL	795
M2	1.5	100	150	-	75 µL	675
M2	1.5	100	150	-	75 µL	675
M3	6	100	-	60	75 µL	765
M3	6	100	-	60	75 µL	765

Nota: para los puntos control del sistema se agregó 100 µL de MeOH.

Una vez que se obtuvieron los Eppendorf con el volumen adecuado de cada una de las soluciones de acuerdo a como se muestra en las tablas se realizó lo siguiente:

- Se agitó en el vortex-genie 2 durante 1.5 min
- Se centrifugó a 14000 rpm durante 10 min
- Se separó el sobrenadante

- Se inyectó 60  $\mu\text{L}$  del sobrenadante al sistema cromatográfico.

### **2.5.7 Determinación de la indometacina y la acetaminofén en muestras obtenidas del estudio farmacocinético.**

La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera: en un tubo Eppendorf de 1500  $\mu\text{L}$  se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de plasma de rata, 25  $\mu\text{L}$  de estándar interno (carbamazepina) y se llevó a un volumen final de 1000  $\mu\text{L}$  con metanol. Posteriormente, se agitaron las muestras durante 1 min y se centrifugaron a 16000 rpm durante 15 min a 24 °C, el sobrenadante fue separado y se inyectaron 60  $\mu\text{L}$  del mismo al equipo de CLAR para su posterior análisis.

### **2.5.8 Control de calidad**

La respuesta del sistema analítico se evaluó al inyectar un blanco de solventes para determinar la limpieza de la columna y también al inyectar la mezcla de estándares para confirmar los analitos de interés. En base a los resultados obtenidos se determinó el coeficiente de variación para la indometacina, la acetaminofén y la carbamazepina, el cual fue menor del 15 %.

### **2.5.9 Determinación de los parámetros farmacocinéticos**

Se realizó un análisis no compartamental a partir de los cursos temporales concentración plasmática vs tiempo de indometacina y acetaminofén, así como la indometacina y acetaminofén en combinación con la curcumina para determinar los parámetros farmacocinéticos:  $C_{\text{max}}$ ,  $\text{ABC}_{0-t}$  y el  $t_{\text{max}}$ .

### **2.5.10 Análisis estadístico**

Se realizó el análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para el grupo de ratas con tratamiento (indometacina o acetaminofén en combinación con la curcumina), y las ratas control (indometacina o acetaminofén sin curcumina), utilizando una t de Student, donde se consideró como diferencia significativa una  $p < 0.05$ , utilizando un paquete estadístico GraphPad Prism 5.

## **2.6 Método analítico cromatográfico para la determinación del ketorolaco (Rivera-Espinosa y col., 2003)**

### **2.6.1 Condiciones cromatográficas**

Se empleó un cromatógrafo de líquidos marca Hitachi, equipado con un detector de arreglo de diodos 1410, una bomba 1110, la longitud de onda utilizada para el análisis fue de 275 nm junto con una columna ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6 × 100 mm ID, tamaño de partícula 3.5 µm, Agilent Technologies, Inc., USA) a un flujo de 0.8 mL/min y una presión de 2230 ± 3 0 psi y una fase móvil metanol(MeOH)-acetato de sodio anhidro (CH<sub>3</sub>COONa) (65:35 v/v), con un tiempo de corrida de 5 min.

### **2.6.2 Tratamiento de los animales**

Para caracterizar el perfil farmacocinético del ketorolaco y el ketorolaco en combinación con la curcumina, los animales utilizados fueron ratas Wistar macho a las cuales se les canuló la arteria caudal, la población de animales fue dividida en dos grupos de estudio, el primer grupo se le administró por vía oral una dosis de 5 mg/kg de ketorolaco disuelto en agua y al segundo grupo se le administró una dosis de 30 mg/kg de curcumina suspendida en carboximetilcelulosa al 0.5 % y 30 min después se le administró una dosis de 5 mg/kg de ketorolaco. Después de recibir la dosis de ketorolaco en ambos grupos se realizó la recolección de muestras de sangre (200 µl), a diferentes tiempos de muestreo los cuales fueron de 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 1440 min, posteriormente estas muestras fueron procesadas para obtener el plasma.

### **2.6.3 Soluciones**

**2.6.3.1 Solución amortiguadora de acetato de sodio 0.075 M, pH 3.3:** Se pesaron 6.152 g de acetato de sodio anhidro (CH<sub>3</sub>COONa), el cual se disolvió en 500 mL de agua Milli Q, se ajustó el pH a 3.3 con ácido acético glacial y se llevó a un volumen final de 1 L en un matraz aforado (PYREX). Esta solución se conservó en refrigeración.

#### **2.6.3.2 Solución de naproxeno 30 µg/mL (estándar interno)**

Se pesaron 5 mg de naproxeno y se disolvieron en 5 mL de fase móvil, se realizó una dilución tomando 600 µL de la solución anterior y se llevó a un aforo de 20 mL con fase móvil.

#### **2.6.3.3 Solución estándar de ketorolaco 5 µg/mL y 100 µg/mL**

Se partió de una solución madre con una concentración de 0.1 mg/L: se pesaron 0.0001 g y se llevó a un aforo de 10 mL con agua Milli Q; de esta solución se tomaron 0.5 mL y se aforó a un volumen final de 10 mL con agua Milli Q, para obtener una concentración de 5 µg/mL; asimismo, de la solución de 0.1 mg/mL se tomaron 5 mL y se aforó a un volumen de 10 mL con agua milli Q, para obtener una concentración de 50 µg/mL.

#### **2.6.3.4 Solución de sulfato de zinc (ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) 0.3 M**

Se pesaron 8.62 g de sulfato de zinc (ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) y se llevó a un aforo de 100 mL con agua Milli Q.

#### **2.6.4 Determinación del ketorolaco en plasma de rata**

La preparación de las muestras se realizaron utilizando tubos Eppendorf de 1500 µL y en ellos fueron adicionados los volúmenes de las soluciones indicadas en la tabla 7 y 8 para alcanzar un intervalo de concentración del ketorolaco de 0.10 a 10 µg/mL y los puntos control establecidos en el método, respectivamente.

## 2.6.5 Curva de calibración del ketorolaco

Tabla 7. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo la curva de calibración con el método utilizado para la determinación del ketorolaco en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de ketorolaco (5 µg/mL)	Vol. de ketorolaco (100 µg/mL)	E.I (naproxeno) (30 µg/mL)	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0.3 M (µL)
C1	0.1	100	20	-	100 µL	780
C2	0.3	100	60	-	100 µL	740
C3	1	100	-	10	100 µL	790
C4	3	100	-	30	100 µL	770
C5	5	100	-	50	100 µL	750
C6	10	100	-	100	100 µL	700

Nota: para las curvas de sistema (solución) se agregaron 100 µL de agua.

## 2.6.6 Puntos control del ketorolaco

Tabla 8. Tratamiento de las muestras, para llevar a cabo los puntos de control con el método utilizado para la determinación del ketorolaco en muestras de rata.

	Concentración (µg/mL)	Plasma (µL)	Vol. de Ketorolaco (5 µg/mL)	Vol. de Ketorolaco (100 µg/mL)	E.I (Naproxeno) (30 µg/mL)	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0.3 M (µL)
M1	0.2	100	40	-	100 µL	760
M1	0.2	100	40	-	100 µL	760
M2	2	100	-	20	100 µL	780
M2	2	100	-	20	100 µL	780
M3	7.5	100	-	75	100 µL	725
M3	7.5	100	-	75	100 µL	725

Nota: para los puntos control de sistema (solución) se agregaron 100 µL de agua.

Una vez que se obtuvieron los Eppendorf con el volumen adecuado de cada una de las soluciones de acuerdo a como se muestra en las tablas se realizó lo siguiente:

- Se agitó en el vortex-genie 2 durante 1.5 min
- Se centrifugó a 14000 rpm durante 10 min
- Se separó el sobrenadante
- Se inyectó 60 µL del sobrenadante al sistema cromatográfico.

### **2.6.7 Determinación del ketorolaco en muestras obtenidas del estudio farmacocinético.**

La preparación de las muestras se realizaron de la siguiente manera: en un tubo Eppendorf de 1500  $\mu\text{L}$  se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de plasma de rata, 25  $\mu\text{L}$  de estándar interno (naproxeno) y se llevó a un volumen final de 1000  $\mu\text{L}$  con metanol. Posteriormente, se agitaron las muestras durante 1 min y fueron centrifugadas a 16000 rpm durante 15 min a 24 °C, el sobrenadante fue separado y se inyectaron 60  $\mu\text{L}$  del mismo al equipo de CLAR para su posterior análisis.

### **2.6.8 Control de calidad**

La respuesta del sistema analítico se evaluó al inyectar un blanco de solventes para determinar la limpieza de la columna y también al inyectar la mezcla de estándares para confirmar los analitos de interés. En base a los resultados obtenidos se determinó el coeficiente de variación del ketorolaco y el naproxeno, el cual fue menor del 15 %.

### **2.6.9 Determinación de los parámetros farmacocinéticos**

Se realizó un análisis no compartimental a partir de los cursos temporales concentración plasmática vs tiempo de ketorolaco y ketorolaco en combinación con curcumina para determinar los parámetros farmacocinéticos:  $C_{\text{max}}$ ,  $ABC_{0-t}$  y el  $t_{\text{max}}$ .

### **2.6.10 Análisis estadístico**

Se realizó el análisis estadístico de los parámetros farmacocinéticos obtenidos para el grupo de ratas con tratamiento (ketorolaco en combinación con la curcumina), y las ratas control (ketorolaco), utilizando una t de Student, donde se consideró como diferencia significativa una  $p < 0.05$ , utilizando un paquete estadístico GraphPad Prism 5.

## 2.7 Revalidación de métodos analíticos

La validación de un método o métodos analíticos se realizó de acuerdo a lo establecido en la **NOM-177-SSA1-2013**, que establece que la validación es la evidencia experimental documentada de que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado. Esta validación incluyó los siguientes parámetros:

**Curva de calibración:** se realizó de acuerdo a las concentraciones plasmáticas alcanzadas por el fármaco después de su administración, por ejemplo la  $C_{max}$  (para determinar los puntos más altos de la curva) y valores esperados en la fase de absorción y eliminación.

Se trabajó con diferentes curvas de calibración, una para cada método analítico utilizado:

**Diclofenaco:** La curva de calibración dentro de un intervalo de 0.1- 12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

**Naproxeno:** La curva de calibración dentro de un intervalo de 0.1- 12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

**Indometacina y acemetacina:** La curva de calibración dentro de un intervalo de 0.1- 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

**Ketorolaco:** La curva de calibración dentro de un intervalo de 0.1- 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Se obtuvo la relación de alturas o áreas entre una respuesta medida por el pico de cada fármaco (diclofenaco, indometacina, acemetacina y ketorolaco) y la respuesta del estándar interno.

**Selectividad:** Para determinar la selectividad de los métodos analíticos utilizados se realizó el análisis de muestras blanco de la matriz biológica proveniente de por lo menos seis ratas, y se evaluó el método contra posibles interferencias (p. ej. metabolitos, productos de degradación del compuesto de interés y cualquier otro fármaco administrado de manera concomitante), debido a que no deben existir interferencias en la cuantificación del compuesto por analizar.

Este parámetro se determinó cuidando que a los tiempos en los cuales aparecen los analitos de interés, no interfiera ningún otro pico atribuido a productos endógenos de la matriz biológica.

**Linealidad:** Es la capacidad de un método analítico, en un intervalo de trabajo, para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del compuesto en la muestra.

- **Linealidad del sistema:** Se corrieron tres curvas de calibración de soluciones estándares en el intervalo de trabajo durante 3 días y se determinó el promedio de las curvas tomando en consideración tanto el coeficiente de correlación ( $r$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el intercepto ( $b$ ).
- **Linealidad del método:** Para analizar la linealidad del método, se obtuvo el promedio de 9 curvas de calibración, realizadas durante 3 días. Los criterios que fueron considerados para la linealidad del método fueron el coeficiente de correlación ( $r$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el intercepto ( $b$ ), estos parámetros fueron obtenidos del ajuste de la curva de calibración por medio de una regresión lineal de mínimos cuadrados.

**Precisión:** Es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea del producto, se evaluó como repetibilidad y reproducibilidad.

1. **Repetibilidad:** Es la precisión de un método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio obtenida entre determinaciones independientes realizadas en las mismas condiciones.

Para determinar la repetibilidad se realizó el análisis en un mismo día por triplicado, un mínimo de tres concentraciones conocidas: baja, media y alta de los compuestos por analizar en la matriz biológica. Estas concentraciones fueron diferentes a las de la curva de calibración, pero deben estar dentro del intervalo. El coeficiente de variación no debe ser mayor que el 15 %.

2. **Reproducibilidad intralaboratorio:** Es la precisión de un método analítico que expresa la variación obtenida entre determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, pero en diferentes condiciones de análisis, tales como días,

equipo, columnas o analistas.

Para determinar la reproducibilidad interlaboratorio se realizó el análisis por triplicado durante tres días, un mínimo de tres concentraciones conocidas: baja, media y alta de los compuestos por analizar en la matriz biológica. Estas concentraciones deben ser diferentes a las de la curva de calibración, pero deben incluirse en el intervalo.

Para los dos casos se determinó el coeficiente de variación que se obtuvo por medio de la desviación estándar entre la media. El criterio de aceptación fue un coeficiente de variación menor a 15 %.

**Exactitud:** Es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

Para determinar la exactitud del o los métodos a utilizar se obtuvo el valor promedio de las determinaciones en cada nivel de concentración de los datos de repetibilidad y reproducibilidad que deben estar dentro del  $\pm 15$  % del valor nominal de la concentración. Como concepto de exactitud se consideró el porcentaje de recobro, el cual define la concentración promedio en relación con la concentración teórica de las soluciones estándares, consideradas como el 100 %.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Revalidación del método analítico para la determinación del diclofenaco en plasma de rata.

##### 3.1.1 Selectividad

En la figura 14 se muestran los cromatogramas obtenidos al inyectar muestras de plasma de rata con el fármaco de interés (diclofenaco) después de ser procesadas. En los cromatogramas no se observó alguna interferencia endógena proveniente de la matriz biológica utilizada o por el tratamiento que se le dió, lo que indica que el método cromatográfico fue selectivo para la determinación del diclofenaco en plasma de rata. Los tiempos de retención del diclofenaco y el estándar interno empleado se indican en la tabla 9.

Tabla 9. Tiempos de retención obtenidos para el naproxeno y el diclofenaco.

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
<b>Naproxeno</b>	2.0
<b>Diclofenaco</b>	3.5

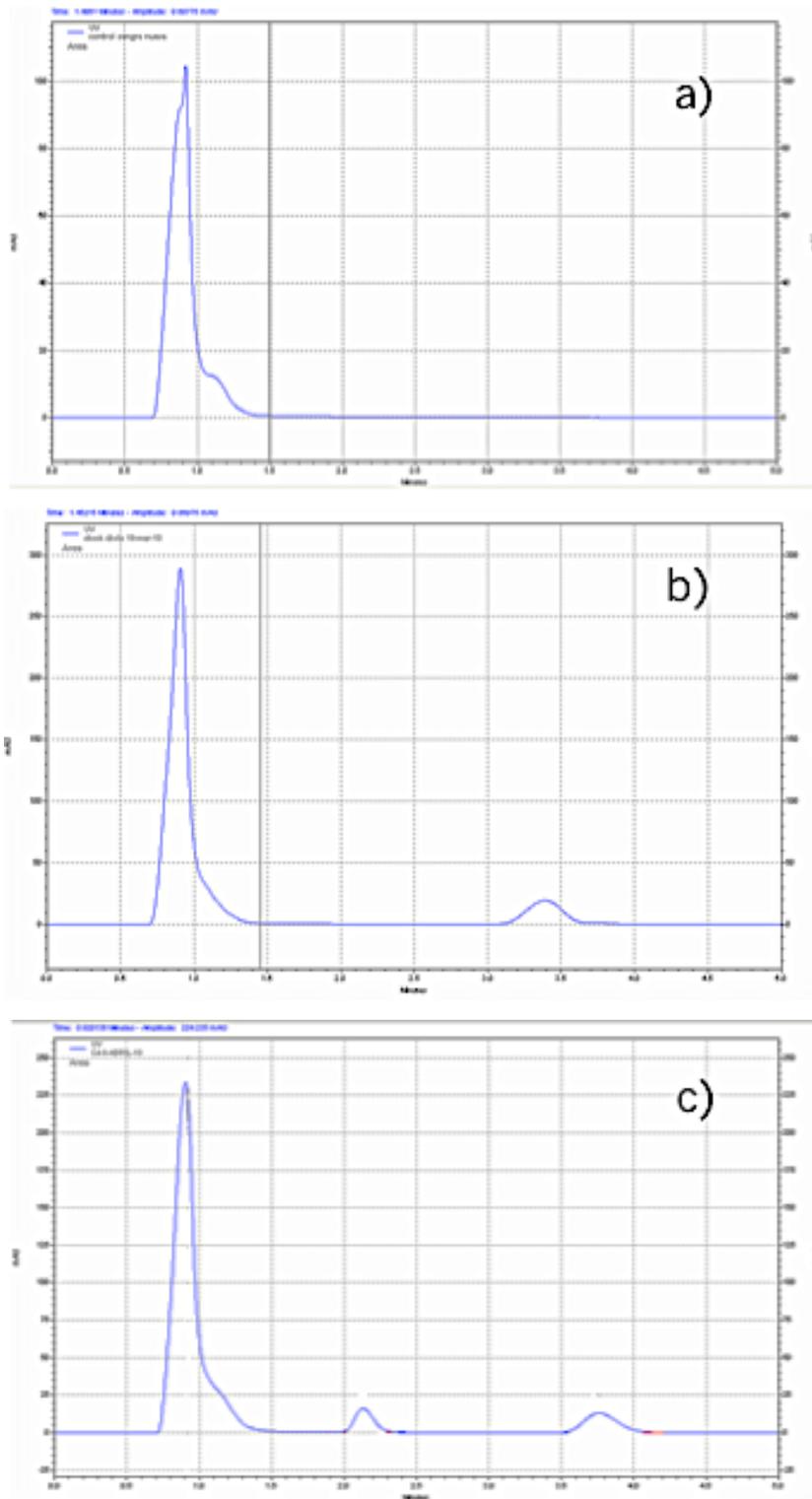


Figura 14. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con el naproxeno como estándar interno (E.I), c) Plasma de rata tratada con el diclofenaco (10 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg).

### 3.1.2 Linealidad

La representación gráfica de la curva de calibración para el diclofenaco se muestra en la figura 15. La proporcionalidad obtenida entre el intervalo de concentración (0.1 a 8 µg/mL) respuesta obtenida (relación de áreas) y el valor del coeficiente de determinación  $r=0.9999$ , indican que el método para la determinación del diclofenaco en plasma de rata es lineal.

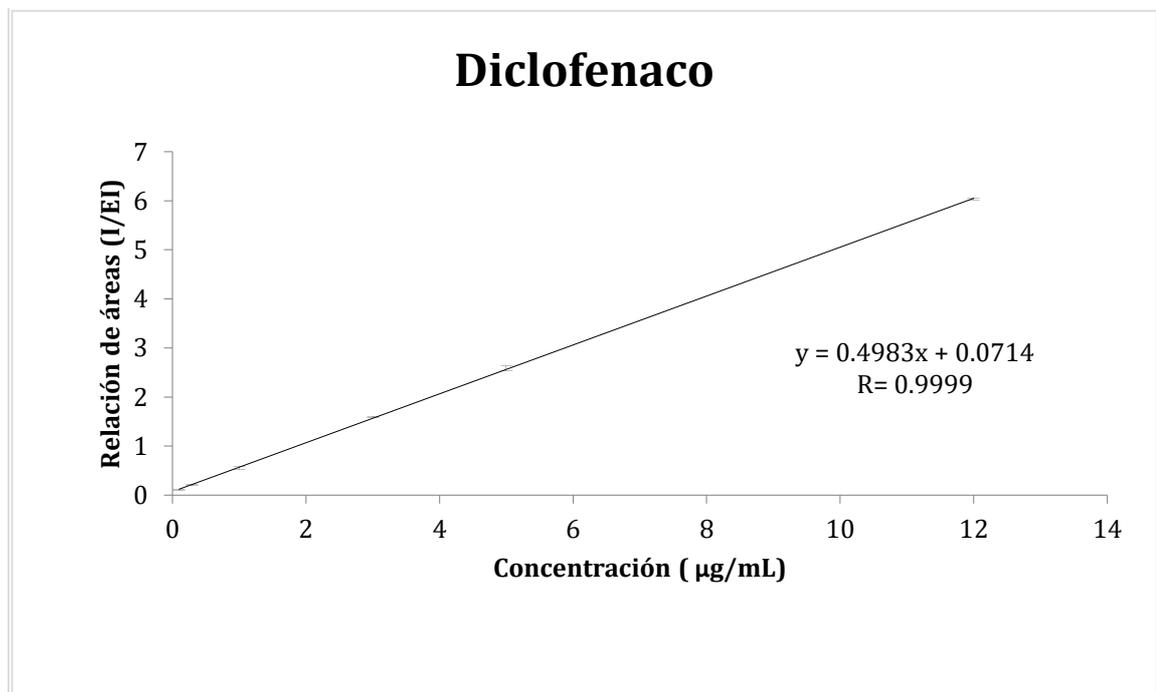


Figura 15. Curva de calibración del diclofenaco en plasma de rata. Cada punto representa el promedio de 8 determinaciones  $\pm$  DS.

### 3.1.3 Precisión y exactitud

Los resultados obtenidos de la precisión intradía y la exactitud para el método del diclofenaco se muestran en la tabla 10, mientras que los resultados observados de la precisión y la exactitud interdía se muestran en la tabla 11.

Tabla 10. Precisión y exactitud interdía para el método del diclofenaco.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión interdía (% CV)</b>
<b>0.2</b>	0.18 $\pm$ 0.005	90.0	5.14
<b>2.0</b>	1.92 $\pm$ 0.085	96.0	7.75
<b>7.5</b>	7.41 $\pm$ 0.271	98.0	6.36

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

Tabla 11. Precisión y exactitud intradía para el método del diclofenaco.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión intradía (% CV)</b>
<b>0.2</b>	0.175 $\pm$ 0.067	87.77	6.36
<b>2.0</b>	1.999 $\pm$ 0.091	99.98	3.22
<b>7.5</b>	7.677 $\pm$ 0.343	102.36	2.96

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

### 3.1.4 Perfil farmacocinético del diclofenaco y el diclofenaco en combinación con la curcumina.

En la figura 16 se muestran los cursos temporales de las concentraciones plasmáticas promedio de diclofenaco después de una administración de una dosis oral de 10 mg/kg (grupo control) y una dosis oral de 10 mg/kg de diclofenaco y 30 mg/kg de curcumina en ratas. Los resultados no indican una diferencia entre los grupos (tabla 12) debido a que no se observaron cambios significativos ( $p > 0.05$ ) en la  $C_{max}$ ,  $ABC_{0-t}$  y/o el  $t_{max}$ , lo que revela que la curcumina no interactúa con el diclofenaco al ser administrados en conjunto.

Tabla 12. Parámetros farmacocinéticos del diclofenaco después de una dosis oral de 10 mg/kg o bien diclofenaco (10 mg/kg) con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata.

Tratamiento	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (min)	$ABC_{0-t}$ ( $\mu\text{g min/mL}$ )
Diclofenaco	5.91 $\pm$ 1.55	16.88 $\pm$ 4.00	470.33 $\pm$ 161.74
Curcumina + Diclofenaco	4.81 $\pm$ 1.60	8.13 $\pm$ 1.73	493.29 $\pm$ 91.19

Los resultados de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  and  $ABC$  están dados por la media  $\pm$  SEM ( $n=8$ ), de seis repeticiones para cada rata. La comparación de los parámetros de biodisponibilidad observados entre el diclofenaco y el diclofenaco en combinación con curcumina fueron realizados utilizando la prueba de  $t$ - Student.

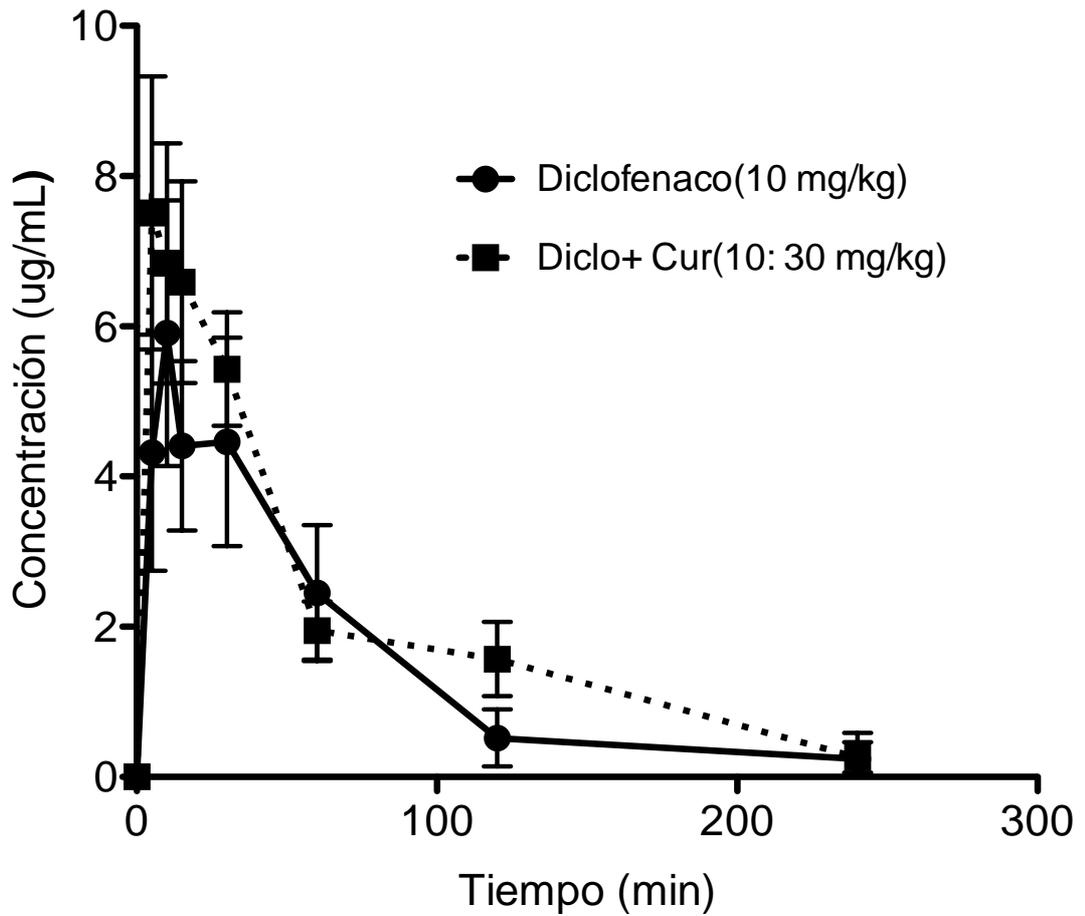


Figura 16. Concentraciones plasmáticas del diclofenaco (10 mg/kg) y el diclofenaco (10 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral. Los datos son expresados como el promedio de la media  $\pm$  SEM. n=8 ratas por grupo.

### 3.2 Revalidación del método analítico para la determinación de la indometacina en el plasma de rata.

#### 3.2.1 Selectividad

En la figura 17 se muestran los cromatogramas obtenidos de las muestras de plasma de rata después de ser procesadas. En los cromatogramas no se observaron interferencias endógenas provenientes de la matriz biológica utilizada o por el tratamiento que se le dió a la muestra que estuvieran cercanas al tiempo de retención de los analitos de interés. Los tiempos de retención para cada uno de los analitos de interés se muestran en la tabla 13. Esto indica que el método cromatográfico implementado es selectivo para la determinación de la indometacina en plasma de rata.

Tabla 13. Tiempos de retención obtenidos para la carbamazepina y la indometacina.

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
<b>Carbamazepina</b>	2.04
<b>Indometacina</b>	3.80

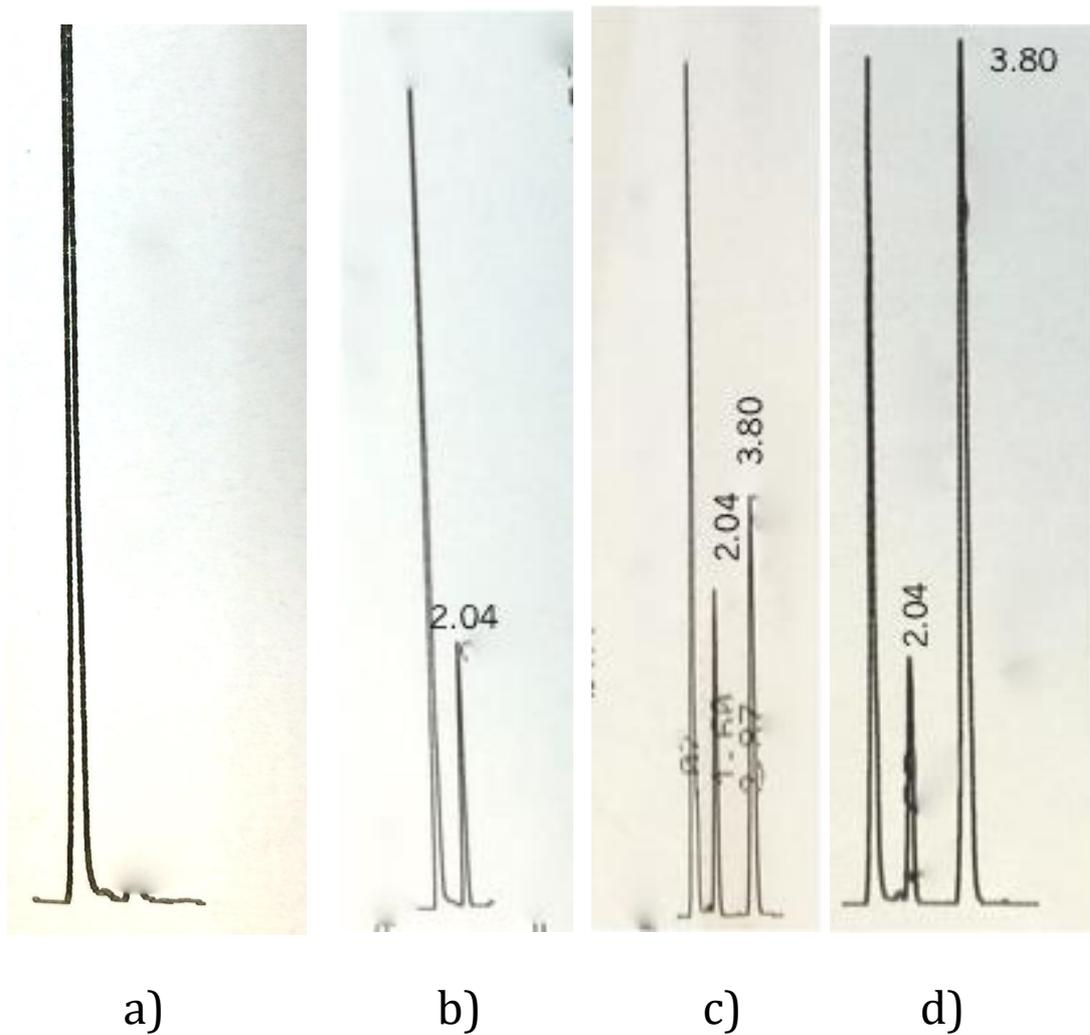


Figura 17. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma de blanco del sangre, b) Plasma de rata adicionado con carbamazepina como estándar interno (E.I), c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con indometacina (30 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con indometacina (30 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg).

### 3.2.2 Linealidad

La figura 18 muestra la curva de calibración de la indometacina, donde se puede observar que presenta una linealidad en el intervalo de concentración de 0.1 a 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  con un  $r=0.9999$ . Estos resultados indican que el método para la determinación de la indometacina en plasma de rata es lineal.

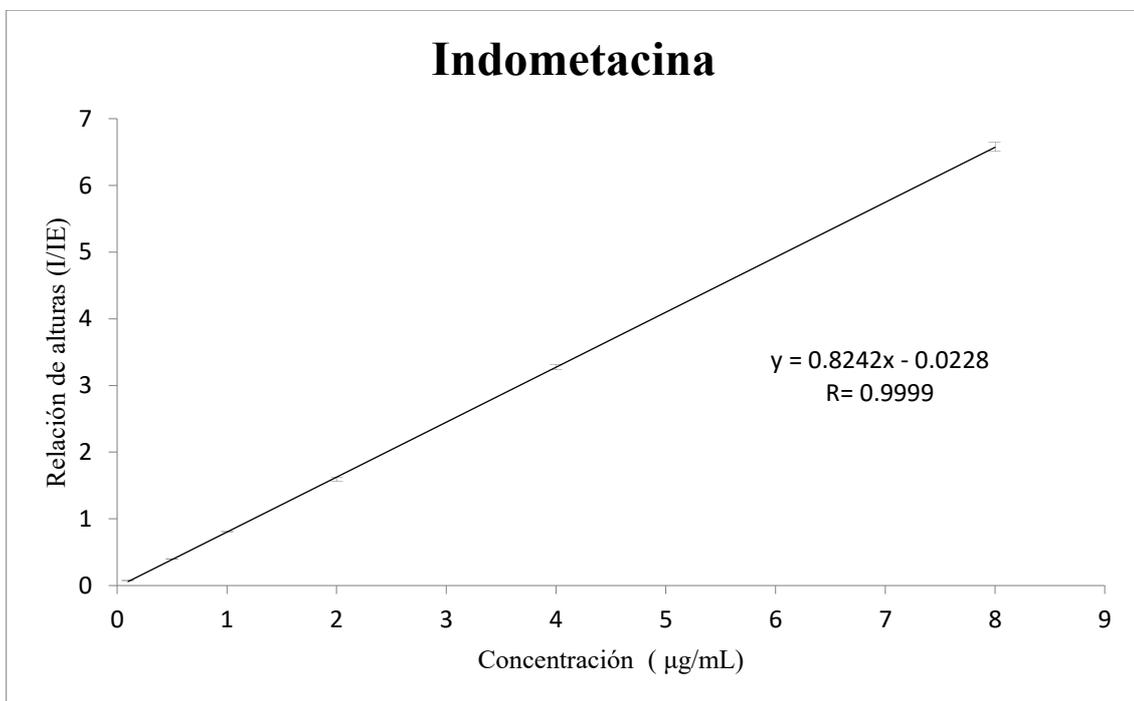


Figura 18. Curva de calibración de la indometacina en plasma de rata. Cada punto representa el promedio de 8 determinaciones  $\pm$  DS.

### 3.2.3 Precisión y exactitud

Los resultados obtenidos de la precisión intradía y la exactitud para el método de la indometacina se muestran en la tabla 14, mientras que los resultados observados de la precisión y la exactitud interdía se muestran en la tabla 15. Para ambos casos se cumplen los criterios de aceptación requeridos y por lo tanto se consideró que el método analítico en el estudio fue preciso y exacto.

Tabla 14. Precisión y exactitud interdía para el método de la indometacina.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión interdía (% CV)</b>
<b>0.3</b>	0.317 $\pm$ 0.004	105.0	5.51
<b>1.5</b>	1.480 $\pm$ 0.005	98.0	1.75
<b>6.0</b>	5.950 $\pm$ 0.056	99.0	3.31

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

Tabla 15. Precisión y exactitud intradía para el método de la indometacina.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión intradía (% CV)</b>
<b>0.3</b>	0.324 $\pm$ 0.004	108.0	2.40
<b>1.5</b>	1.472 $\pm$ 0.011	98.1	1.29
<b>6.0</b>	5.985 $\pm$ 0.163	99.7	4.73

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

### 3.2.4 Perfil farmacocinético de la indometacina y la indometacina en combinación con la curcumina.

La figura 19 muestra los cursos temporales de las concentraciones plasmáticas promedio de la indometacina después de una administración oral de 30 mg/kg de indometacina (grupo control) y una dosis oral de 30 mg/kg de indometacina y 30 mg/kg de curcumina. Los parámetros farmacocinéticos para cada grupo se presentan en la tabla 16. En los resultados obtenidos no se detectó una diferencia entre grupos, debido a que no se observaron cambios significativos ( $p > 0.05$ ) en la  $C_{max}$ ,  $ABC_{0-t}$  y el  $t_{max}$ , lo que indica que la curcumina no interactúa con la indometacina al ser administradas en conjunto.

Tabla 16. Parámetros farmacocinéticos de la indometacina después de una dosis oral de 30 mg/kg o bien indometacina (30 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata.

Tratamiento	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (min)	$ABC_{0-t}$ ( $\mu\text{g min/mL}$ )
Indometacina	54.84 $\pm$ 6.90	72.85 $\pm$ 12.43	44986 $\pm$ 7034.93
Curcumina + indometacina	48.49 $\pm$ 5.61	208.12 $\pm$ 52.35*	56722.07 $\pm$ 5429.88

Los resultados de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  and  $ABC$  están dados por la media  $\pm$  SEM ( $n = 8$ ), de seis repeticiones para cada rata. Comparaciones de los parámetros de biodisponibilidad observados para la indometacina y la indometacina en combinación con la curcumina fueron realizadas utilizando la prueba de  $t$ - Student.

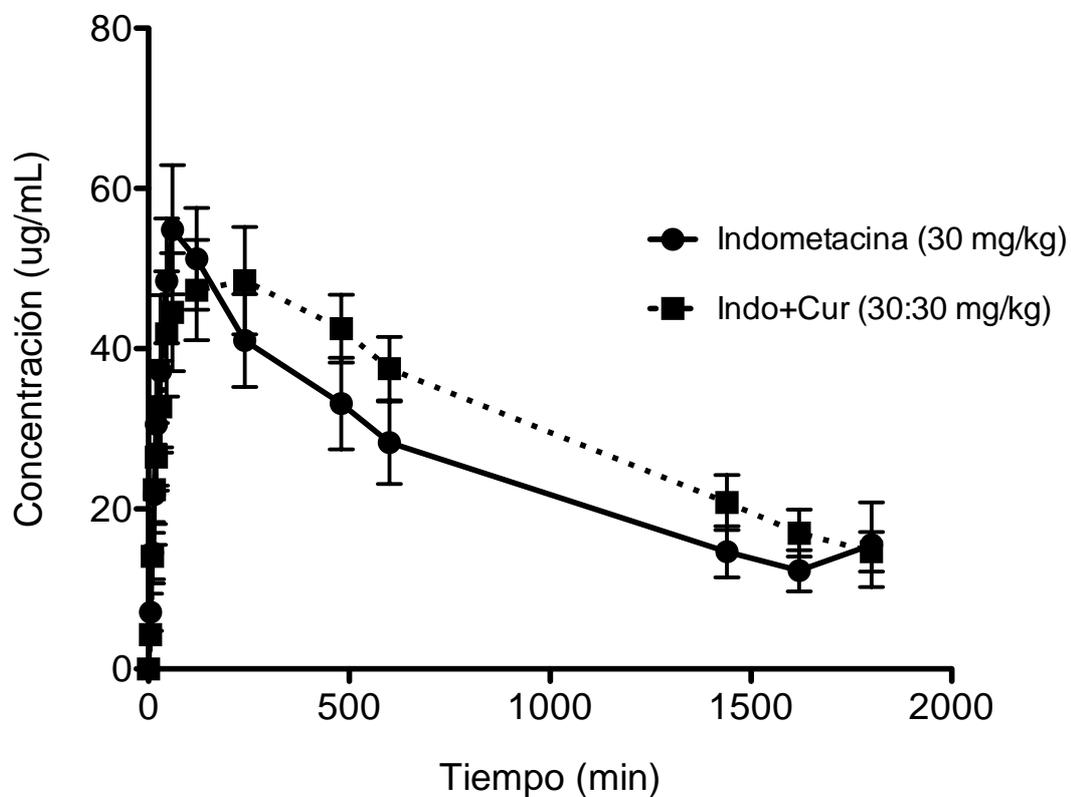


Figura 19. Concentraciones plasmáticas de la indometacina (30 mg/kg) y la indometacina (30 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral. Los datos son expresados como el promedio de la media  $\pm$  SEM. n=8 ratas por grupo.

### **3.3 Revalidación del método analítico para determinación de la acetaminofén en plasma de rata.**

#### **3.3.1 Selectividad**

En la figura 20 se muestran los cromatogramas obtenidos al inyectar muestras de plasma de rata después de ser procesadas. En los cromatogramas no se observaron interferencias endógenas provenientes de la matriz biológica utilizada o por el tratamiento que se le dió. Los tiempos de retención obtenidos para cada uno de los analitos de interés se muestran en la tabla 17.

Estos resultados indican que el método cromatográfico implementado es selectivo para la determinación de la acetaminofén en plasma de rata.

Tabla 17. Tiempos de retención obtenidos para la carbamazepina, la acetaminofén y la indometacina.

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
<b>Carbamazepina</b>	2.04
<b>Indometacina</b>	3.80
<b>Acetaminofén</b>	4.90

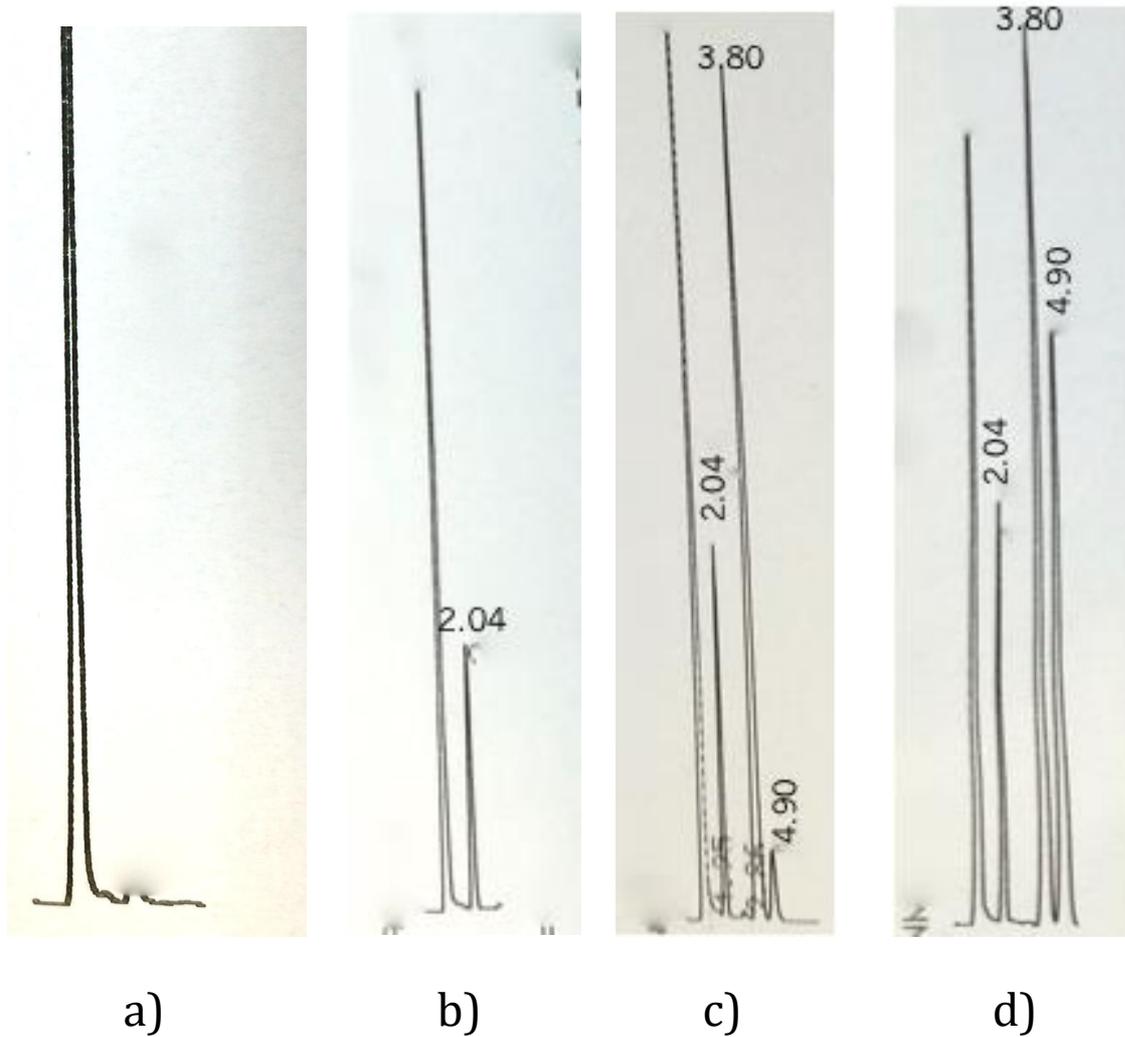


Figura 20. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con carbamazepina como estándar interno (E.I), c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con acetaminofina (34.86 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con acetaminofina (34.86 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg).

### 3.3.2 Linealidad

En la figura 21 se muestra la curva de calibración para la acetaminofén, la cual fue lineal en un intervalo de concentración de 0.1 a 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Se obtuvo un  $r=0.9999$ . Estos resultados nos indican que el método para la determinación de la indometacina en plasma de rata es lineal.

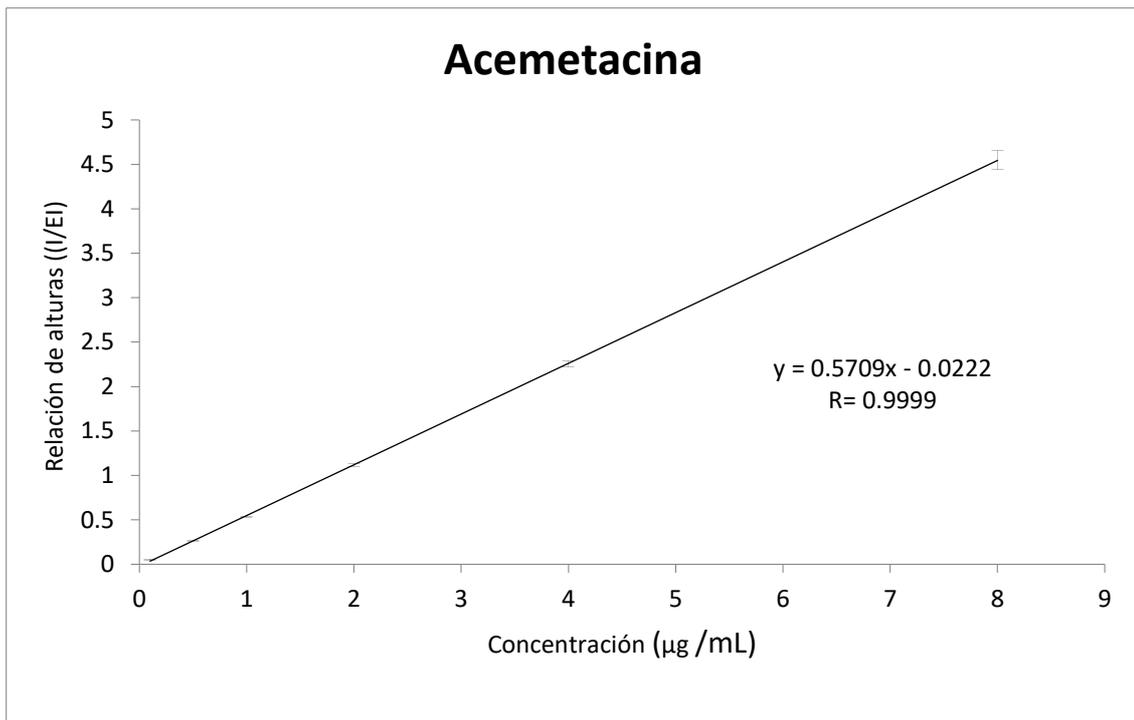


Figura 21. Curva de calibración de la acetaminofén en plasma de rata. Cada punto representa el promedio de 8 determinaciones  $\pm$  DS.

### 3.3.3 Precisión y exactitud

Los resultados obtenidos de la precisión intradía y la exactitud para el método de la acetaminofén se muestran en la tabla 18, mientras que los resultados observados de la precisión y la exactitud interdía se muestran en la tabla 19.

Tabla 18. Precisión y exactitud interdía para el método de la acetaminofén.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión interdía (% CV)</b>
<b>0.3</b>	0.311 $\pm$ 0.014	103.74	7.93
<b>1.5</b>	1.428 $\pm$ 0.004	95.20	0.59
<b>6.0</b>	5.977 $\pm$ 0.066	99.62	1.92

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

Tabla 19. Precisión y exactitud intradía para el método de la acetaminofén.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión intradía (% CV)</b>
<b>0.3</b>	0.315 $\pm$ 0.009	105.31	5.12
<b>1.5</b>	1.421 $\pm$ 0.021	94.79	2.57
<b>6.0</b>	5.880 $\pm$ 0.115	98.01	3.41

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

### 3.3.4 Perfil farmacocinético de la acetaminofén y la acetaminofén en combinación con la curcumina.

En la figura 22 se muestran los cursos temporales de las concentraciones plasmáticas promedio después de una administración de una dosis oral de 34.86 mg/kg de acetaminofén (grupo control) y la combinación de una dosis oral de 34.86 mg/kg de acetaminofén y 30 mg/kg de curcumina en ratas. Los resultados obtenidos muestran que no se presentaron diferencias entre grupos, debido a que no se observaron cambios significativos ( $p > 0.05$ ) en la  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  y el  $t_{max}$ , indicando que la curcumina no interactúa con la acetaminofén al ser administrados en conjunto. Los parámetros farmacocinéticos de la acetaminofén y la acetaminofén administrada con curcumina se encuentran en la tabla 20.

Tabla 20. Parámetros farmacocinéticos de la acetaminofén después de una dosis oral de 34.86 mg/kg y la acetaminofén (34.86 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata.

Tratamiento	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (min)	$AUC_{0-t}$ ( $\mu\text{g min/mL}$ )
Acetaminofén	$7.02 \pm 7.34$	$48.12 \pm 12.92$	$434.28 \pm 102.27$
Curcumina + acetaminofén	$8.14 \pm 2.66$	$26.87 \pm 16.70$	$373.16 \pm 87.88$

Los resultados de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y  $AUC$  están dados por la media  $\pm$  SEM ( $n=8$ ), de seis repeticiones para cada rata. Comparaciones de los parámetros de biodisponibilidad observados para la acetaminofén y la acetaminofén en combinación con curcumina fueron realizadas utilizando la prueba de  $t$ - Student.

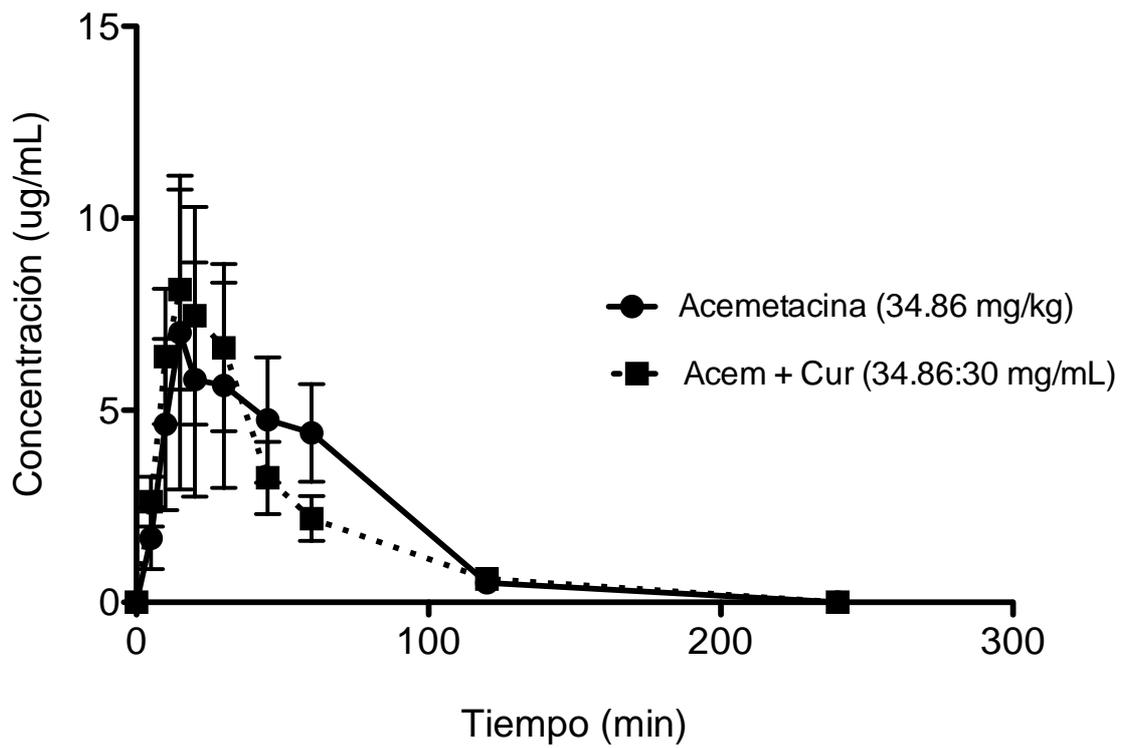


Figura 22. Concentraciones plasmáticas de la acetaminofina (34.86 mg/kg) y la acetaminofina (34.86 mg/kg) en presencia de curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral. Los datos son expresados como el promedio de la media  $\pm$  SEM. n=8 ratas por grupo.

El perfil farmacocinético y los parámetros derivados de éste para la indometacina, metabolito activo de la acemetacina se muestran en la figura 23 y tabla 21, respectivamente. Los resultados farmacocinéticos obtenidos de la indometacina formada a partir de la administración de la acemetacina, no presentaron diferencia entre grupos, debido a que no se observaron cambios significativos ( $p > 0.05$ ) en la  $C_{max}$ ,  $AUC_{0-t}$  y el  $t_{max}$ , lo que indica que la curcumina no interfiere en el metabolismo de la acemetacina al ser administradas en conjunto (tabla 21).

Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos de la indometacina después de una dosis oral de 34.86 mg/kg de la acemetacina y de la indometacina tras dosis oral de la acemetacina (34.86 mg/kg) en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata.

Tratamiento	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (min)	$ABC_{0-t}$ ( $\mu\text{g min/mL}$ )
Indometacina	$63.84 \pm 6.24$	$217.5 \pm 74.30$	$51623.42 \pm 2964.12$
Curcumina + Indometacina	$59.05 \pm 3.93$	$110.62 \pm 20.38$	$47206.34 \pm 2895.55$

Los resultados de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y  $ABC$  están dados por la media  $\pm$  SE ( $n=8$ ), de seis repeticiones para cada rata. Comparaciones de los parámetros de biodisponibilidad observados para la indometacina e indometacina en combinación con la curcumina fueron realizadas utilizando la prueba de  $t$ - Student.

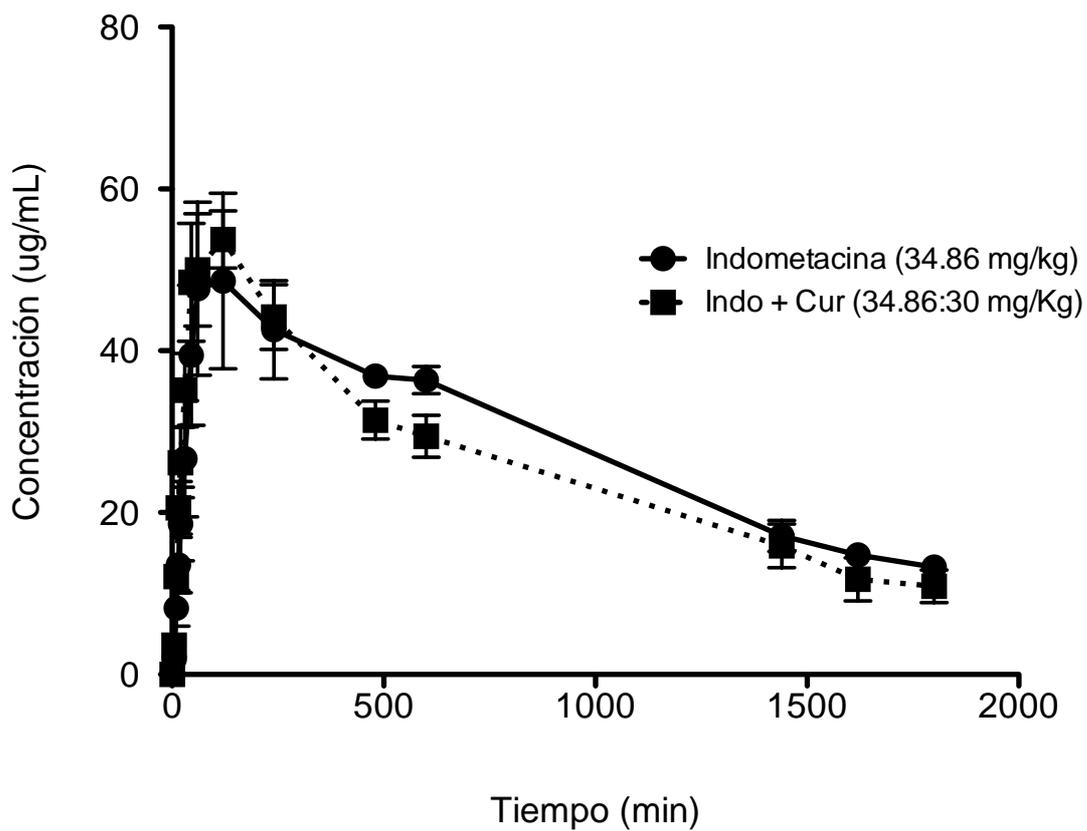


Figura 23. Concentraciones plasmáticas de la indometacina tras una administración oral de acetaminofeno (34.86 mg/kg) y la indometacina tras una dosis oral de acetaminofeno (34.86 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) después de una administración oral. Los datos son expresados como el promedio de la media  $\pm$  SEM. n=8 ratas, por grupo.

### **3.4 Revalidación del método analítico para la determinación del naproxeno en plasma de rata.**

#### **3.4.1 Selectividad**

Los cromatogramas obtenidos al inyectar muestras de plasma de rata después de ser procesadas para determinar la selectividad del método analítico para determinar naproxeno se muestran en la figura 24. En los cromatogramas, no se observaron interferencias endógenas provenientes de la matriz biológica utilizada o por el tratamiento que se le dió (tabla 22), indicando la selectividad del método empleado.

Tabla 22. Tiempos de retención obtenidos para el naproxeno y el diclofenaco.

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
<b>Naproxeno</b>	2.20
<b>Diclofenaco (E.I)</b>	3.60

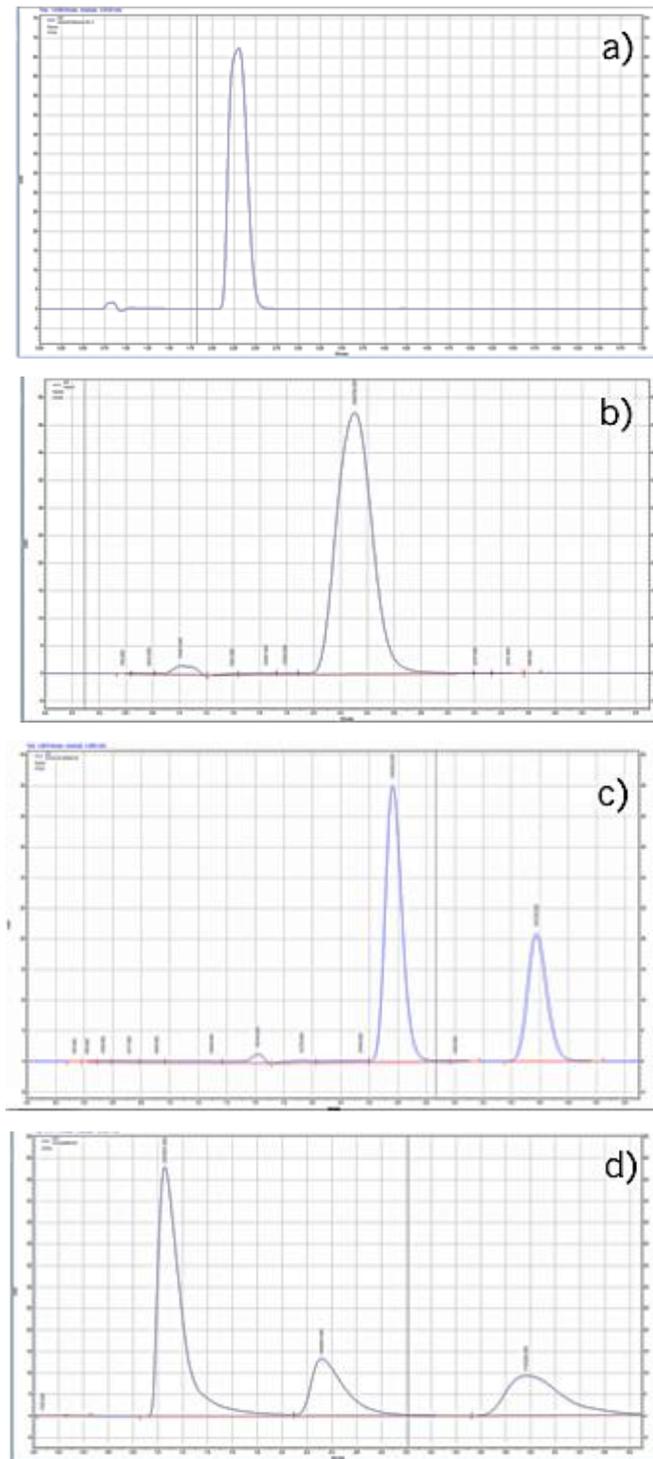


Figura 24. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con el diclofenaco como estándar interno (E.I), c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con el naproxeno (10 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con el naproxeno (10 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg).

### 3.4.2 Linealidad

Se muestra en la figura 25 la curva de calibración para el naproxeno, la cual fue lineal en un intervalo de concentración de 0.1 a 12  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Se obtuvo un  $r=0.9998$ . Estos resultados indican que el método para la determinación del naproxeno en plasma de rata es lineal.

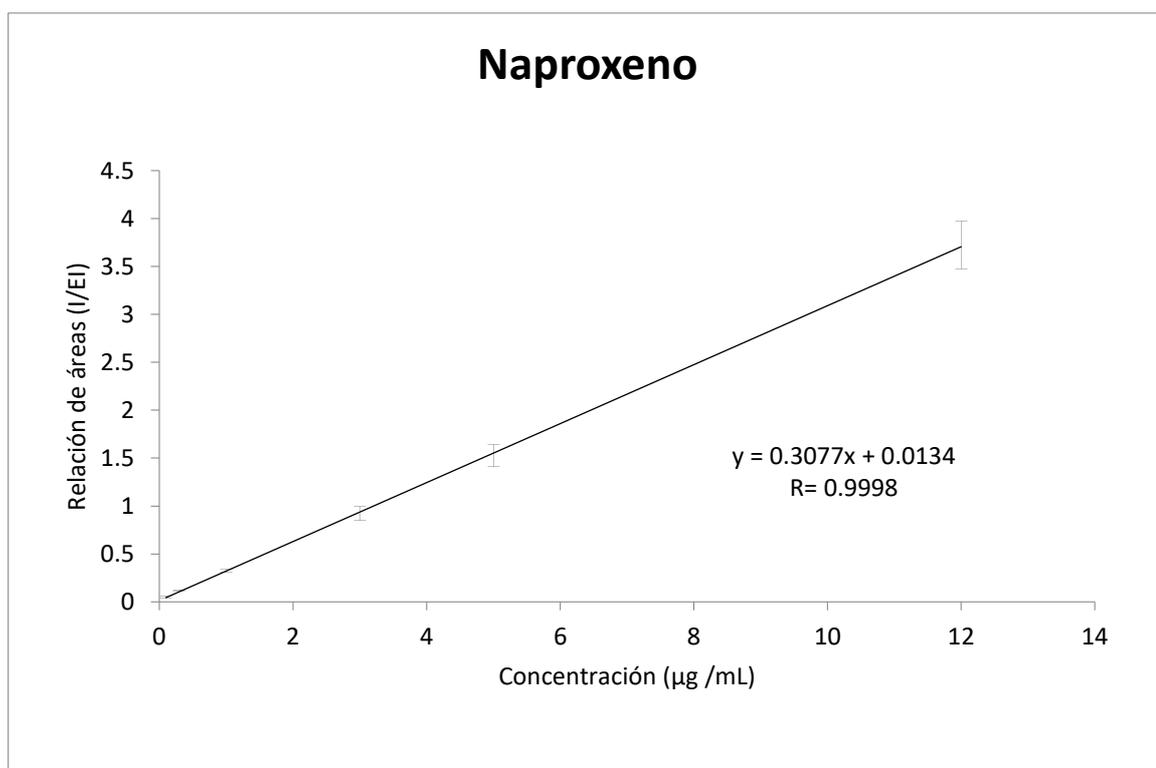


Figura 25. Curva de calibración del naproxeno en plasma de rata. Cada punto representa el promedio de 8 determinaciones  $\pm$  DS.

### 3.4.3 Precisión y exactitud

Los resultados obtenidos de la precisión intradía y la exactitud para el método del naproxeno se muestran en la tabla 23, mientras que los resultados observados de la precisión y la exactitud interdía se muestran en la tabla 24.

Tabla 23. Precisión y exactitud interdía para el método del naproxeno.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión interdía (% CV)</b>
<b>0.2</b>	0.200 $\pm$ 0.006	100.28	5.65
<b>2.0</b>	2.042 $\pm$ 0.011	102.12	0.98
<b>7.5</b>	7.570 $\pm$ 0.123	100.94	2.81

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

Tabla 24. Precisión y exactitud intradía para el método del naproxeno.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión intradía (% CV)</b>
<b>0.2</b>	0.197 $\pm$ 0.002	99.56	2.60
<b>2.0</b>	2.019 $\pm$ 0.010	100.95	0.88
<b>7.5</b>	7.490 $\pm$ 0.035	99.87	0.81

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

### 3.4.4 Perfil farmacocinético del naproxeno y la combinación del naproxeno con la curcumina.

En la figura 26 se muestran los cursos temporales de las concentraciones plasmáticas promedio después de la administración de una dosis oral de 10 mg/kg del naproxeno (grupo control) y la combinación de una dosis oral de 10 mg/kg de naproxeno y 30 mg/kg de curcumina en ratas. Los resultados obtenidos para los parámetros farmacocinéticos (tabla 24) no presentaron diferencia entre grupos, debido a que no se observaron cambios significativos ( $p > 0.05$ ) en la  $C_{max}$ ,  $ABC_{0-t}$  y el  $t_{max}$ , lo que indica que la curcumina no interactúa con el naproxeno al ser administrados en conjunto.

Tabla 24. Parámetros farmacocinéticos del naproxeno después de una dosis oral de 10 mg/kg de naproxeno y el naproxeno en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata.

Tratamiento	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (min)	$ABC_{0-t}$ ( $\mu\text{g min/ mL}$ )
Naproxeno	$24.91 \pm 2.25$	$47.5 \pm 6.2$	$7786.77 \pm 579.24$
Curcumina + Naproxeno	$22.41 \pm 1.60$	$31.87 \pm 6.61$	$6375.76 \pm 313.80$

Los resultados de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y  $ABC$  están dados por la media  $\pm$  SEM ( $n = 8$ ), de seis repeticiones para cada rata. Comparaciones de los parámetros de biodisponibilidad observados para naproxeno y naproxeno en combinación con la curcumina fueron realizadas utilizando la prueba de *t*- Student.

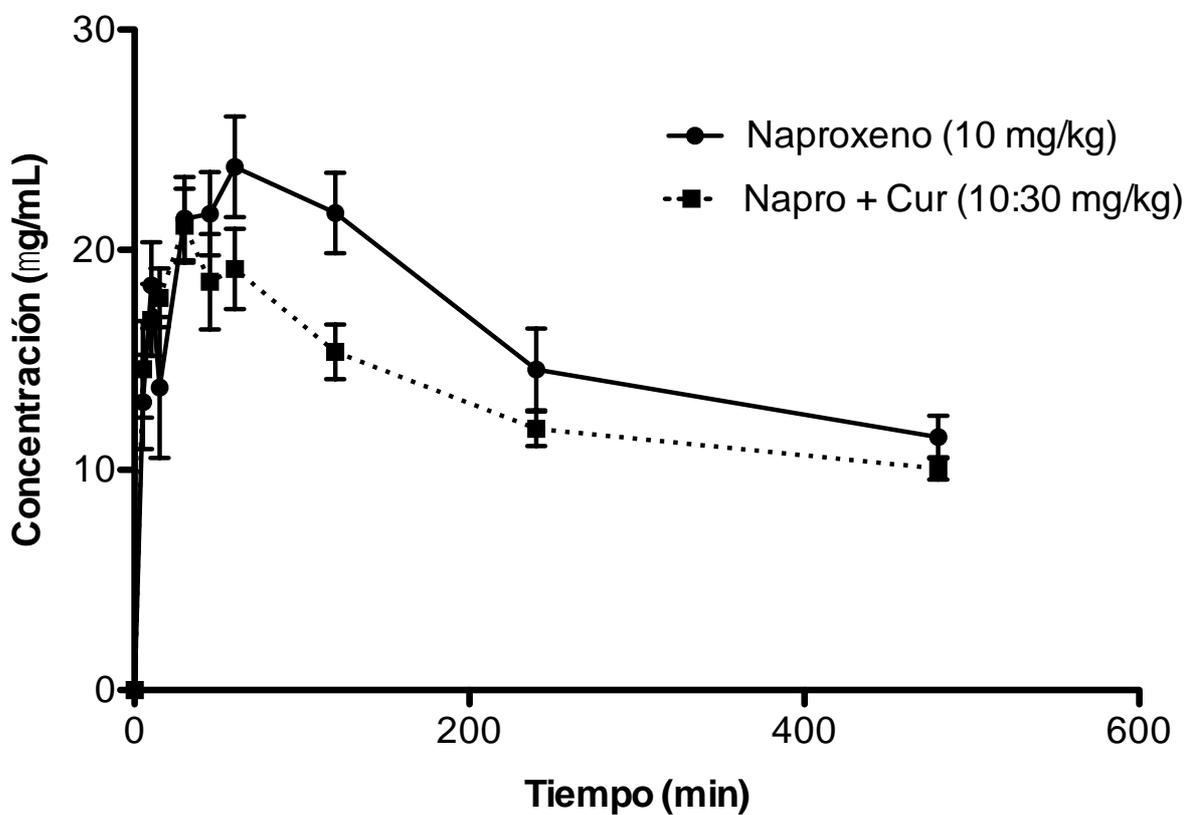


Figura 26. Concentraciones plasmáticas del naproxeno (10 mg/kg) y el naproxeno (10 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) tras una administración oral. Los datos son expresados como el promedio de la media  $\pm$  SEM. n=8 ratas por grupo.

### 3.5 Revalidación del método analítico para la determinación del ketorolaco en plasma de rata.

#### 3.5.1 Selectividad

En la figura 27 se muestran los cromatogramas obtenidos al inyectar muestras de plasma de rata con ketorolaco después de ser procesadas. En los cromatogramas no se observó alguna interferencia endógena proveniente de la matriz biológica utilizada o por el tratamiento que se le dió, lo que indica que el método cromatográfico es selectivo para la determinación de ketorolaco en plasma de rata. Los tiempos de retención para el ketorolaco y el naproxeno utilizado como estándar interno se presentan en la tabla 25.

Tabla 25. Tiempos de retención obtenidos para el ketorolaco y el naproxeno.

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
<b>Ketorolaco</b>	2.60
<b>Naproxeno (E.I)</b>	3.70

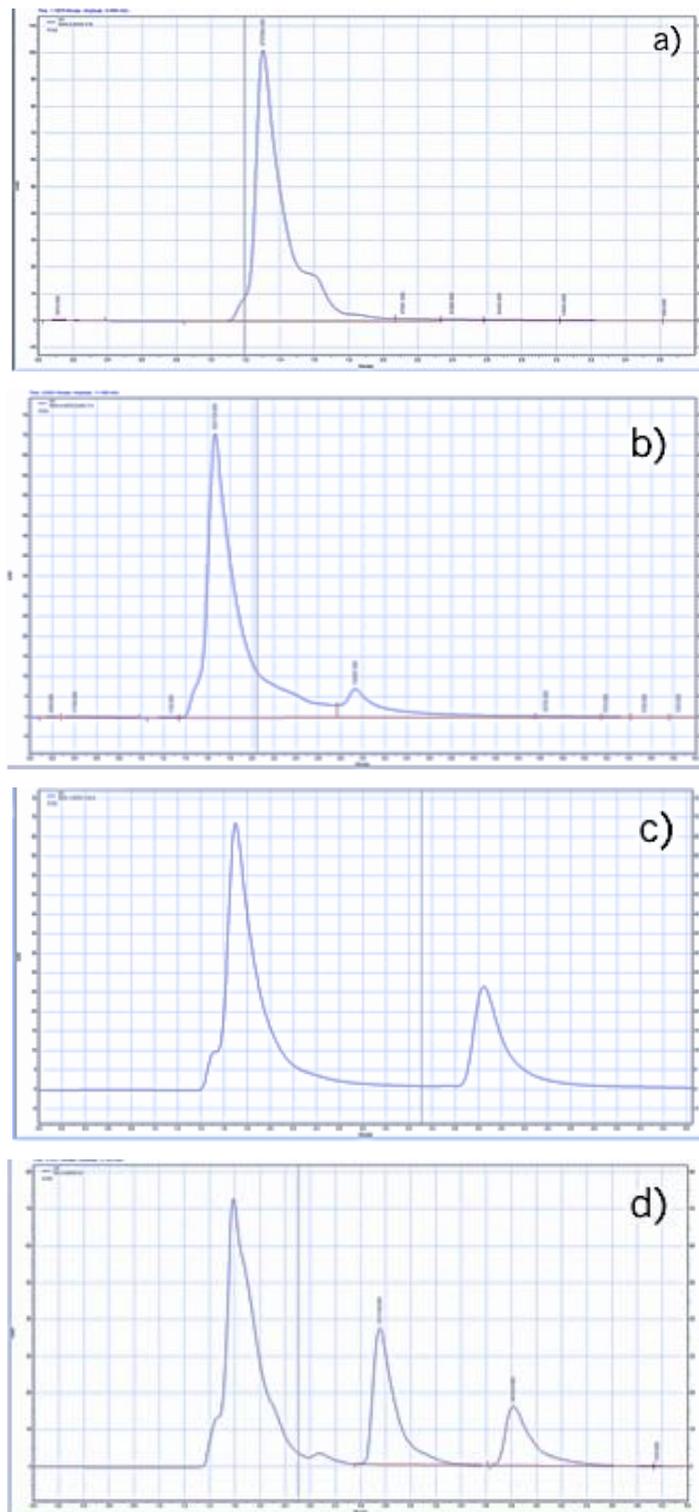


Figura 27. Cromatogramas representativos de muestras inyectadas después de su procesamiento: a) Cromatograma del blanco de sangre, b) Plasma de rata adicionado con el naproxeno como estándar interno (E.I), c) Respuesta de muestra de plasma de rata tratada con el ketorolaco (5 mg/kg), d) Plasma de rata tratada con el ketorolaco (5 mg/kg) y la curcumina (30 mg/kg).

### 3.5.2 Linealidad

La representación gráfica de la curva de calibración para el ketorolaco se muestra en la figura 28. La proporcionalidad obtenida entre el intervalo de concentración (0.1 a 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), respuesta obtenida (relación de áreas) y el valor del coeficiente de determinación  $r=0.9998$ , indican que el método para la cuantificación del ketorolaco en plasma de rata es lineal.

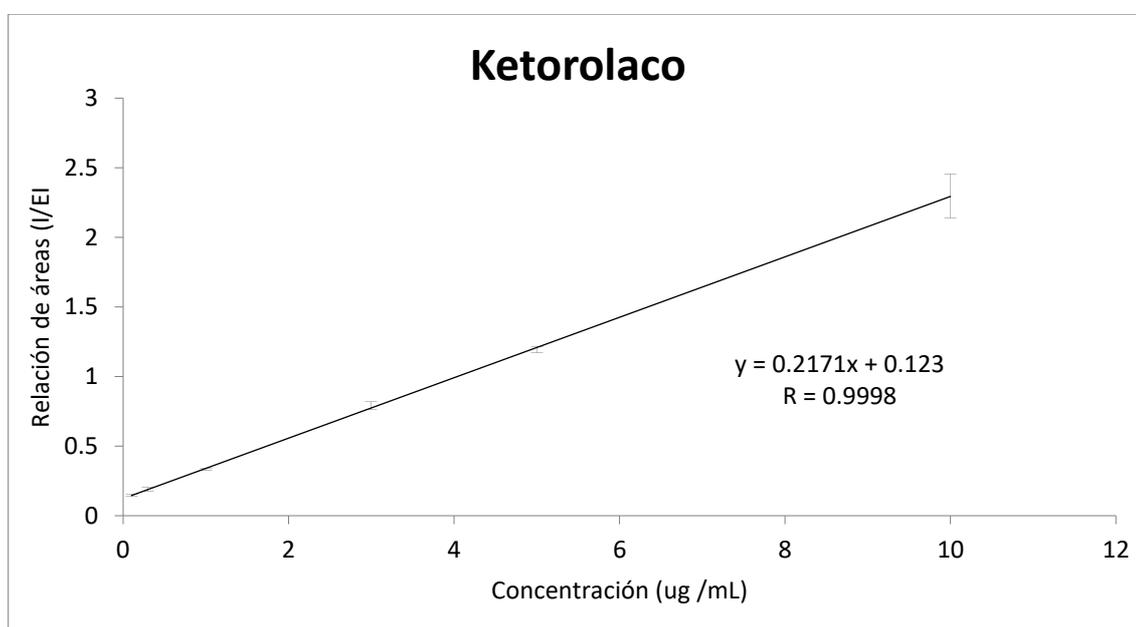


Figura 28. Curva de calibración del ketorolaco en plasma de rata. Cada punto representa el promedio de 8 determinaciones  $\pm$  DS.

### 3.5.3 Precisión y exactitud

Los resultados obtenidos de la precisión intradía y la exactitud para el método del ketorolaco se muestran en la tabla 27, mientras que los resultados observados de la precisión y la exactitud interdía se muestran en la tabla 28.

Tabla 27. Precisión y exactitud interdía para el método del ketorolaco.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión interdía (% CV)</b>
<b>0.2</b>	0.201 $\pm$ 0.006	100.68	10.52
<b>2.0</b>	2.005 $\pm$ 0.011	100.27	7.90
<b>7.5</b>	7.850 $\pm$ 0.123	104.67	4.30

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

Tabla 28. Precisión y exactitud intradía para el método del ketorolaco.

<b>Concentración teórica (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentración experimental (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>	<b>Precisión intradía (% CV)</b>
<b>0.2</b>	0.221 $\pm$ 0.006	110.56	5.21
<b>2.0</b>	2.106 $\pm$ 0.055	105.31	4.62
<b>7.5</b>	7.775 $\pm$ 0.035	104.93	7.77

Las concentraciones experimentales son el promedio de nueve determinaciones realizadas en diferentes días  $\pm$  DS.

### 3.5.4 Perfil farmacocinético del ketorolaco y el ketorolaco en combinación con curcumina.

La figura 29 muestra los cursos temporales de las concentraciones plasmáticas promedio de ketorolaco después de una administración de una dosis oral de 5 mg/kg (grupo control) y la combinación de una dosis oral de 5 mg/kg de ketorolaco y 30 mg/kg de curcumina en ratas. Los resultados obtenidos muestran que no se presentaron diferencia significativa entre grupos ( $p>0.05$ ) en la  $C_{max}$  y el  $t_{max}$ , mientras que en el  $ABC_{0-t}$  se presentó un aumento significativo (tabla 29), lo que indica que la curcumina pudiera estar interactuando con el ketorolaco al ser administrados en conjunto.

Tabla 29. Parámetros farmacocinéticos del ketorolaco después de una dosis oral de 5 mg/kg de ketorolaco y el ketorolaco en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de curcumina en rata.

Tratamiento	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{max}$ (min)	$ABC_{0-t}$ ( $\mu\text{g min/mL}$ )
Ketorolaco	$20.76 \pm 3.59$	$30.62 \pm 6.50$	$3080.92 \pm 462.94$
Curcumina + Ketorolaco	$25.98 \pm 3.33$	$33.57 \pm 8.14$	$4995 \pm 516.40^*$

Los resultados de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y  $ABC$  están dados por la media  $\pm$  SEM ( $n= 8$ ), de seis repeticiones para cada rata. Comparaciones de los parámetros de biodisponibilidad observados para el ketorolaco y el ketorolaco en combinación con la curcumina fueron realizadas utilizando la prueba de  $t$ - Student.

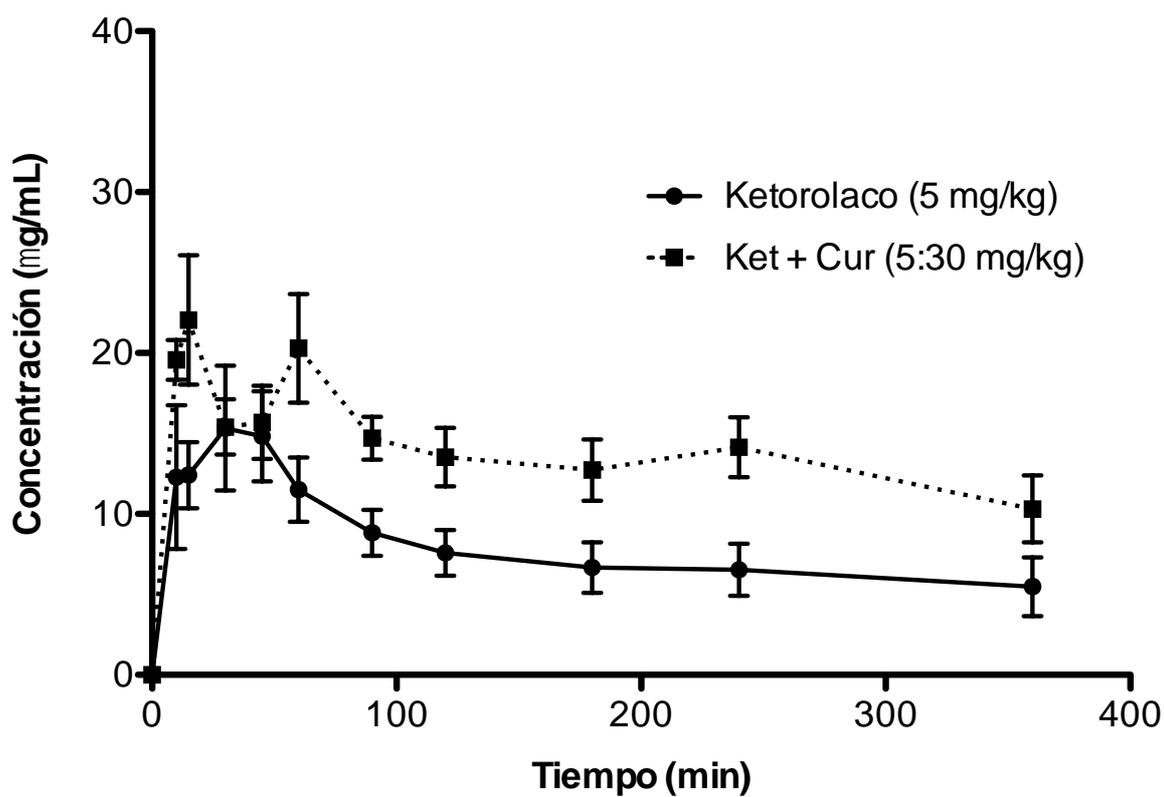


Figura 29. Concentraciones plasmáticas del ketorolaco (5 mg/kg) y el ketorolaco (5 mg/kg) en combinación con la curcumina (30 mg/kg) tras una administración oral. Los datos son expresados como el promedio de la media  $\pm$  SEM. n=8 ratas por grupo.

### 3.6 Resumen de los resultados obtenidos de los estudios farmacocinéticos.

Tabla 30. Parámetros farmacocinéticos de algunos antiinflamatorios no esteroidales en combinación con una dosis oral de 30 mg/kg de la curcumina, en rata.

Tratamientos	ABC ( $\mu\text{g/mL}$ )	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{\text{max}}$ (min)
<b>Diclofenaco (10 mg/kg)</b>	470.33 $\pm$ 161.74	5.91 $\pm$ 1.55	16.88 $\pm$ 4.00
<b>Diclofenaco + Curcumina (10 mg/kg + 30 mg/kg)</b>	493.29 $\pm$ 91.19	4.81 $\pm$ 1.60	8.13 $\pm$ 1.73
<b>Indometacina (30 mg/kg)</b>	44986.04 $\pm$ 7034.74	54.84 $\pm$ 6.90	72.82 $\pm$ 12.43
<b>Indometacina + Curcumina (30 mg/kg + 30 mg/kg)</b>	56722.07 $\pm$ 5429.88	48.49 $\pm$ 5.61	208.42 $\pm$ 52.35*
<b>Acemetacina (34.86 mg/kg)</b>	434.28 $\pm$ 102.27	7.02 $\pm$ 7.34	48.12 $\pm$ 12.92
<b>Acemetacina + Curcumina (34.86 mg/kg + 30 mg/kg)</b>	373.16 $\pm$ 87.88	8.14 $\pm$ 2.66	26.87 $\pm$ 16.70
<b>Naproxeno (10 mg/kg)</b>	7786.77 $\pm$ 579.24	24.91 $\pm$ 2.25	47.5 $\pm$ 6.2
<b>Naproxeno + Curcumina (10 mg/kg + 30 mg/kg)</b>	6375.76 $\pm$ 313.80	22.41 $\pm$ 1.60	31.87 $\pm$ 6.61
<b>Ketorolaco (5 mg/kg)</b>	3080.92 $\pm$ 462.94	20.76 $\pm$ 3.59	30.62 $\pm$ 6.50
<b>Ketorolaco + Curcumina (5 mg/kg + 30 mg/kg)</b>	4995 $\pm$ 516.40*	25.98 $\pm$ 3.33	33.57 $\pm$ 8.14

Los resultados de  $C_{\text{max}}$ ,  $t_{\text{max}}$  y ABC están dados por la media  $\pm$  SEM (n=8), de seis repeticiones para cada rata. Las comparaciones de los parámetros de biodisponibilidad observados para cada antiinflamatorio no esteroideal en combinación con la curcumina fueron realizados utilizando la prueba de *t*- Student.

#### 4. DISCUSIÓN

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son ampliamente utilizados en todo el mundo para el tratamiento del dolor, la inflamación y la fiebre (Laine y col., 2006; Morsy and El-Moselhy, 2013; Diaz-Triste y col., 2014). Sin embargo, su uso está limitado, por los efectos adversos que estos ocasionan, los cuales están asociados a la inhibición de diversos procesos fisiológicos como la inhibición de las COXs y a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos (Wallace, 1997; Bamba y col., 1998; Thong-Ngam y col., 2012; Diaz-Triste y col., 2014). En México, el Consejo de Salubridad General en 2015, ha reportado que una gran variedad de AINEs se encuentran dentro del cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), algunos de estos son: diclofenaco, acetaminofén, indometacina, naproxeno y ketorolaco. Debido al daño que ocasionan los AINEs a la mucosa gástrica, se han implementado diversas estrategias para disminuir los efectos adversos a nivel gastrointestinal, sin embargo éstas no han sido del todo satisfactorias (Fiorucci y col., 2007; Suleyman y col., 2010; Tuskey y Peura, 2013). Una de las estrategias que es considerada actualmente es el uso de productos naturales. Se reporta que aproximadamente entre un 14-31% de los pacientes utilizan para sus tratamientos, medicamentos alopáticos en combinación con algunos productos naturales (Volak y col., 2008; Liu y col., 2013). Sin embargo, al realizar la combinación de cualquier tratamiento con productos naturales, debe considerarse que tal combinación sea segura y eficaz al no generar interacciones medicamentos-compuestos naturales (Zhang y col., 2007; Liu y col., 2013). La curcumina es un compuesto de origen natural que posee diversas actividades biológicas y se ha reportado que es utilizada para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades, entre las cuales actúa como gastroprotectora ante el daño causado por algunos AINEs (indometacina, naproxeno, aspirina) (Murathanun y col., 2008; Morsy and El-Moselhy, 2013; Díaz-Triste y col., 2014). Sin embargo, existen diversos estudios en los que se indica que la curcumina modifica la farmacocinética de diversos fármacos al ser administrados en combinación, tales como el celiprolol y midazolam (Zhang y col., 2007), norfloxacin (Pavithra y col., 2009), Docetaxel (Yan y col., 2010), etopósido oral (Lee y col., 2011), losartan (Liu y col., 2012), tamoxifen (Cho y col., 2012), warfarina y clodigrel (Liu y col., 2013), en rata. La escasa información acerca de la influencia de la curcumina sobre la farmacocinética de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, llevó a plantear el estudio del efecto de la curcumina

sobre la farmacocinética de algunos AINEs comúnmente usados en la población mexicana (diclofenaco, acetaminofén, indometacina, naproxeno y ketorolaco) al ser administrados en combinación usando un modelo animal en ratas Wistar macho.

En virtud a que los métodos analíticos que se apliquen para producir datos de cuantificación de fármacos en matriz biológica en todo estudio farmacocinético deben ser apropiados y confiables, se realizó la revalidación de todos los métodos analíticos para la determinación del diclofenaco, la indometacina, la acetaminofén, el naproxeno y el ketorolaco en plasma de rata; los resultados evidenciaron que todos los métodos fueron: a) selectivos al mostrarse la ausencia de picos cromatográficos que pudieran interpretarse como interferencias de componentes propios de la matriz u otros fármacos presentes en la muestra (curcumina o estándar interno) cuando se compararon los cromatogramas con el fármaco de interés; b) lineales, dado que la respuesta obtenida (relación de áreas) fue directamente proporcional a la concentración de los analitos de interés, lo cual fue demostrado por los coeficientes de correlación y determinación obtenidos y c) exactos y precisos, dado que los ensayos realizados para estos parámetros condujeron a obtener coeficientes de variación y los valores de porcentaje de recobro dentro de los criterios de aceptación requeridos por la normatividad establecidos en la NOM-177-SSA-2013 ( $CV \leq 15\%$ , recobro de 85-115% del valor nominal) (Catañeda-Hernandez y col., 1995; Rivera-Espinosa y col., 2003; León-Reyes y col., 2009; Chávez-Piña y col., 2007).

Los estudios farmacocinéticos indican la concentración del fármaco en el organismo, a diferentes tiempos después de su administración ya sea por vía oral o extravascular, mostrando el proceso de absorción, distribución y eliminación del compuesto administrado. En la práctica clínica, la absorción de un fármaco se expresa en función de dos parámetros la concentración máxima ( $C_{max}$ ), la cual depende de las dosis administrada, y el tiempo necesario para que alcance la concentración máxima ( $t_{max}$ ), así como el área bajo la curva (ABC), la cual está relacionada con la cantidad de fármaco que accede inalterada a la circulación sistémica (Wang y col., 2016).

En este estudio, se observó que la curcumina no afecta la farmacocinética del diclofenaco, cuando éste se administra oralmente (10 mg/kg) y 30 minutos después de ser administrada la curcumina (100 mg/kg). El diclofenaco es un AINE, utilizado para el

tratamiento del dolor y la inflamación, sin embargo, se sabe que ocasiona daño a nivel gástrico. Diversos reportes en la literatura indican que la biodisponibilidad del diclofenaco puede o no ser afectada por algunos compuestos naturales al ser administrados en conjunto. Por ejemplo, Navarrete y col. (2005) reportaron que la administración concomitante del diclofenaco y el producto natural Cuachalalate a dosis de 300 mg/kg, modificó algunos parámetros farmacocinéticos del diclofenaco como es el área bajo la curva (ABC) y la concentración máxima ( $C_{max}$ ). En tanto Yasuda y col. (2015) reportaron que al administrar sésamo en combinación con dosis única de 10 mg/kg de diclofenaco y durante 3 días, no observaron ningún cambio en la farmacocinética del mismo. También hay reportes que indican que la biodisponibilidad del diclofenaco puede ser disminuida por una gran variedad de fármacos entre los cuales se encuentran el colestipol, la colestiramina y la aspirina (All-Balla y col., 1994; Todd y Sorkin, 1988), y puede incrementarse por otros fármacos tales como el diosmin y por la inhibición de la isoforma de CYP2C9 (Rajnarayana y col., 2007), que como se sabe el diclofenaco es metabolizado por dicha isoforma de CYP450 (Appiah-Opong y col., 2007).

Estudios *in vitro*, han demostrado que la curcumina y algunos de sus metabolitos, inhiben diversas isoformas de CYPs, entre los cuales se encuentran el CYP2C9 (Appiah-Opong y col., 2007). Un estudio realizado en microsomas hepáticos de rata mostró que la curcumina, altera el metabolismo del diclofenaco que es mediado por el CYP2C9 (Wang y col., 2015). Sin embargo, se desconoce el efecto de la curcumina sobre la isoforma de CYP2C11, la cual se ha reportado que también participa en la formación de los metabolitos hidroxilados del diclofenaco en microsomas hepáticos de rata, esta isoforma puede comprender el 50% del total de CYP en microsomas hepáticos de ratas (Pampori y Shapiro, 1994; Masubichi y col., 2001; Yasuda y col., 2015). Los resultados del presente trabajo muestran que la curcumina no afecta la biodisponibilidad del diclofenaco *in vivo*, no soportando lo reportado por Wang y col., en 2015, explicado en parte por el esquema de tratamiento utilizado en este estudio, el cual fue un esquema agudo y posiblemente insuficiente para evidenciar este hecho, o bien que no obstante el tratamiento agudo con la curcumina puede estar inhibiendo a la isoforma de CYP2C9, pero no a la isoforma de CYP2C11, la cual puede continuar con el metabolismo del diclofenaco para que este sea excretado del organismo, lo que estos resultados sugieren es que curcumina podría ser utilizada en tratamientos agudos con diclofenaco para disminuir el daño gástrico ocasionado por el mismo.

Ante reportes recientes en la literatura sobre el efecto gastroprotector de la curcumina contra el daño ocasionado por indometacina (Diaz-Triste y col., 2014; Chattopadhyay y col., 2006; Menozzi y col., 2009; Morsy y col., 2013), el conocimiento de que la indometacina es metabolizada por las isoformas de CYP2C9 (Nakajima y col., 1998) y la existencia de evidencia sobre alteraciones farmacocinéticas de diversos fármacos atribuidas a la curcumina por la inhibición de diversas isoformas de CYP450, entre ellas la isoforma de CYP2C9 y UDP-glucuronosiltransferasas, que participan en el metabolismo de diversos fármacos (Kim y col., 2015; Volak y col., 2008; Appiah-Opong y col., 2007; Zhang y col.; 2008), son hechos adicionales que motivaron la elección de la indometacina como otro de los AINEs a evaluar en este estudio.

Un ejemplo de alteración farmacocinética atribuida a la presencia de curcumina es el reporte de Devi y col. (2015), en el cual observaron un aumento pequeño pero significativo del volumen de distribución de la glibenclamida, después de la administración de una dosis de 50 mg/kg de curcumina una vez al día durante 2 meses, atribuyendo este hecho al efecto inhibitorio que ejerce la curcumina sobre el CYP3A4 presente en las células intestinales y hepáticas, en el proceso del metabolismo. En este estudio se observó que la presencia de curcumina no alteró los parámetros farmacocinéticos de velocidad y cantidad de fármaco en el organismo mostrados como:  $C_{max}$  y  $ABC_{0-t}$  de la indometacina, sugiriendo que el proceso de metabolismo de indometacina, puede no estar afectado, al no mostrarse un incremento en la cantidad de fármaco en el organismo por inhibición de alguna de las isoformas del CYP450 necesarias para tal fin. La administración concomitante de curcumina e indometacina provocó una prolongación de  $t_{max}$ , lo cual puede ser explicada por una disminución de la motilidad intestinal, ya que existen reportes que indican que la curcumina disminuye la motilidad intestinal y puede retrasar la absorción de los fármacos (Kumar y col., 2012), no obstante lo anterior, debe considerarse que la indometacina es un ácido débil, lo que indica que el vaciamiento gástrico no es un determinante crítico de la tasa de absorción de este fármaco (Parsons y col., 1977).

Otro de los AINEs evaluados en este estudio es el carboximetilester de la indometacina, conocido como acemetacina, la cual una vez biotransformada da lugar a la formación de indometacina. Estudios clínicos de este AINE han mostrado una aceptable eficacia terapéutica y mejor tolerancia gástrica, la cual ha sido comparable con la indometacina (Bori Segura y col., 2002; Guevara y col., 2004; Li y col., 2005). La evaluación

curcumina–acemetacina en el presente estudio resultó en que una dosis de 30 mg/kg de curcumina no modificó la farmacocinética de la acemetacina (34.86 mg/kg) ni de su metabolito activo (indometacina), al ser administrados en combinación por vía oral. Se ha reportado en la literatura que la curcumina posee la capacidad de inhibir el metabolismo presistémico de algunos fármacos (Zhang y col., 2007) y así poder disminuir la conversión de un profármaco, a su metabolito activo, obteniendo una menor biodisponibilidad del mismo. Así como existen reportes del efecto de la curcumina sobre el metabolismo de diversos fármacos, debida a la disminución de la expresión de algunas enzimas, producidas en administraciones repetidas de curcumina (Volak y col., 2013), existen otros reportes que indican que la administración de una dosis única de curcumina no causa alteración en el aclaramiento de diversos fármacos coadministrados (Kim y col., 2015; Volak y col., 2013) pudiendo estar los resultados obtenidos para acemetacina en nuestro estudio dentro de este grupo de reportes. Conociendo que el metabolismo de la acemetacina se da rápidamente a su metabolito activo: indometacina por vía hepática predominantemente y que en nuestro estudio, los resultados obtenidos no muestren una alteración en los parámetros farmacocinéticos de la acemetacina incluyendo el aclaramiento en ausencia o presencia de la curcumina, lo que sugiere que el proceso metabólico de la acemetacina no es afectada por la curcumina. Esta aseveración es congruente con los datos obtenidos de la biodisponibilidad de su metabolito activo. El hecho de que la biodisponibilidad de la indometacina obtenida después de una administración de acemetacina haya sido similar en ausencia y presencia de la curcumina, lleva a sugerir que la dosis utilizada de curcumina, no posee efectos significativos en el efecto de primer paso (vía principal del metabolismo de la acemetacina) para impedir el metabolismo de la acemetacina y bajo el conocimiento que la acemetacina se reporta como un fármaco de alta extracción hepática, es decir dependiente de flujo hepático para ser metabolizado a indometacina, también se puede sugerir que el flujo hepático necesario para el metabolismo de acemetacina no está alterado cuando existe una administración aguda de curcumina.

El naproxeno es un AINE ampliamente utilizado para el tratamiento del dolor y la inflamación, es otro de los fármacos estudiados en este proyecto. El naproxeno sufre una biotransformación a través de las isoformas de CYP2C9, CYP2C8 y CYP1A2. Existen reportes que indican que la farmacocinética del naproxeno se modifica al ser administrado en combinación con otros medicamentos como el diazepam, el probenecid,

el ácido valproico y la cimetidina (Runkel y col., 1978; Rao y Rambhau, 1992; Vree y col., 1993; Addison y col., 2000), mientras que otros medicamentos como la ranitidina, la famotidina y el apixaban no modifican la farmacocinética del mismo (Caillé y col., 1989; Frost y col., 2014). Al igual que en el caso de la indometacina, se sabe que la curcumina protege contra el daño gástrico causado por el naproxeno (Murathanun y col., 2008). Sin embargo, se desconoce si una interacción farmacocinética naproxeno-curcumina pudiera estar involucrada en esta observación. Si se considera que la combinación del naproxeno con algunos productos naturales puede ocasionar interacciones medicamentosas por sinergismo, como en el caso de la combinación del naproxeno con cítricos (Ortiz y col., 2010), así como el estudio por Balap y col. (2016) quienes observaron que la combinación del naproxeno con la planta medicinal *Andrographis paniculata* (Nees) a dosis repetidas, generaba modificaciones en los parámetros farmacocinéticos de  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y ABC, atribuidas a la inhibición de isoformas del CYP450 involucradas en el metabolismo del naproxeno, por parte de la planta medicinal. En nuestro estudio se observó que la farmacocinética del naproxeno no fue modificada cuando éste se administró en combinación con la curcumina en las dosis estudiadas, lo que sugiere que la curcumina y algunos de sus metabolitos que inhiben diversas isoformas de CYPs tal como el CYP2C9, pudieran no tener un efecto significativo suficiente para evidenciar un cambio bajo el diseño propuesto en la evaluación naproxeno-curcumina, orientando la evidencia a que la protección de curcumina contra el daño gástrico causado por naproxeno (Murathanun y col., 2008), puede ser atribuido a un mecanismo farmacodinámico y no a un efecto farmacocinético.

Otro de los AINEs estudiado en este trabajo fue el ketorolaco, un fármaco ampliamente utilizado para el tratamiento del dolor moderado a severo, éste es metabolizado en un 30% por el CYP2C9 y 2C8 y el 70 % restante por reacciones de glucuronidación (Mroszczak y col., 1987; Catapano, 1996; Vadivelu y col., 2015). Hay reportes que indican que la combinación del ketorolaco con otros medicamentos modifica la farmacocinética del mismo causando interacciones medicamentosas por sinergismo para la warfarina, la heparina, la cafeína, la pentoxifilina y la modificación de la farmacocinética de otros fármacos como el litio y el metrotexato (Iudin y col., 2012; Vadivelu y col., 2015). Se ha reportado que al administrar ketorolaco con vitamina B, se observó una reacción de sinergismo, en el efecto analgésico del ketorolaco. A diferencia de los resultados observados con el diclofenaco, el naproxeno, la indometacina y la

acemetacina evaluados en combinación con curcumina, en la evaluación curcumina–ketorolaco, se observó que la curcumina aumentó la concentración plasmática del ketorolaco, cuando una dosis 5 mg/kg del mismo fue administrada en combinación con una dosis de 30 mg/kg de curcumina. El efecto observado, podría explicarse por el hecho de que la curcumina puede estar actuando como inhibidor de las enzimas de metabolismo de fase II del ketorolaco provocando el aumento del ABC observado, debido a que se ha reportado que la curcumina actúa como inhibidor de la glucuronidación por inhibición de la UGT y la SULT (Naganuma y col., 2006; Volak y col., 2008), específicamente a la UGT1A1, *in vitro* (Basu y col., 2003, Vietri y col., 2003). Aun cuando no existen reportes específicos que indiquen que el metabolismo del ketorolaco está involucrada esta enzima, esta situación es posible, si se considera que el ketorolaco es metabolizado en un 70 %, por reacciones de fase II, y lo restante por CYP2C8 y CYP2C9. No se sugiere la inhibición de la participación de la isoformas del CYP450 por parte de la curcumina para explicar el aumento en el  $ABC_{0-t}$  observado, debido a que el diclofenaco, la indometacina y el naproxeno, son metabolizados por las mismas isoformas y a diferencia con el ketorolaco no observamos un cambio en su farmacocinética al ser administrados en combinación con la curcumina. Otra posible explicación, es que la curcumina está afectando el sistema de transportadores metabolizadores de fármacos en el intestino delgado, se considera que las enzimas y los transportadores metabolizadores de fármacos forman un sistema esencial de desintoxicación en el intestino delgado y limitan la absorción de compuestos xenobióticos, incluidos los fármacos en la circulación (van Leeuwen y col., 2012; Kusuhara y col., 2012) y que recientemente, se ha reportado en la literatura que la curcumina posee la capacidad de inhibición de diversos transportadores pertenecientes a la familia ABC, entre ellos P-gp, BCRP, MRP1, MRP2, MRP5, OATP1B1 y OATP1B3 (Versantvoort y col., 1993; Chearwae y col., 2004; Zhang y col., 2004; Chearwae y col., 2005; Chearwae y col., 2006; Li y col., 2016). Ejemplo de lo anterior es el estudio realizado por Shukla y col. (2009) quienes reportaron que la curcumina causó un incremento de la concentración de sulfasalacina, atribuido a la inhibición de la actividad del transportador ABCG2/BCRP, en ratones. De forma similar, Kusuhara y col. (2012) observaron que la curcumina actúa como un inhibidor *in vivo* del transportador BCRP, en pacientes sanos. No obstante lo anterior, no existen datos que indiquen que la curcumina actúa inhibiendo al transportador PDR5 o bien de forma específica al UGT1A1, encargada del metabolismo del ketorolaco. Por tal motivo, es importante la realización de otros estudios, para determinar porque la curcumina no

afecta la farmacocinética de AINEs tales como el diclofenaco, la indometacina, la acetaminofén y el naproxeno, mientras que la farmacocinética del ketorolaco es modificada.

## 5. CONCLUSIONES

- Los métodos analíticos para la determinación de: la indometacina, la acetaminofén, el diclofenaco, el naproxeno y el ketorolaco en plasma de rata fueron:
  - ✓ Selectivos
  - ✓ Lineales
  - ✓ Precisos: Repetibles y reproducibles
  - ✓ Exactos
  
- La farmacocinética del diclofenaco no fue modificada al ser administrado en combinación con la curcumina por vía oral.
  
- Los parámetros farmacocinéticos de la indometacina no fueron modificados al ser administrada en combinación con la curcumina por vía oral.
  
- La farmacocinética de la acetaminofén no fue afectada al ser administrada en combinación con la curcumina por vía oral.
  
- La curcumina no afectó la farmacocinética del naproxeno al ser administrados en combinación por vía oral.
  
- La farmacocinética del ketorolaco sí fue afectada al ser administrada en combinación con la curcumina.

## 5.1 CONCLUSIÓN GENERAL

A pesar de que la curcumina ha sido considerada como inocua y de que existen varios reportes en la literatura que nos indican que la curcumina afecta la farmacocinética de una gran variedad de compuestos en un tratamiento crónico, en nuestro trabajo el tratamiento agudo realizado con la combinación del diclofenaco, la indometacina, la acetaminofén y el naproxeno en combinación con la curcumina, mostró que no se presentaron cambios en la farmacocinética de los mismos, sin embargo, el tratamiento agudo de la combinación del ketorolaco con la curcumina, presentó un cambio en la farmacocinética del mismo, lo que indica que la curcumina puede estar afectando a algunos AINEs en tratamientos agudos, por lo que se debe tener precaución con el uso de ambos compuestos en combinación.

## 6. PERSPECTIVAS

- Evaluar el efecto de la curcumina sobre la farmacocinética de la indometacina, acetaminofén, diclofenaco, naproxeno y ketorolaco en plasma de rata en tratamiento crónico.
- Evaluar el efecto de la curcumina sobre la farmacocinética de la indometacina, acetaminofén, diclofenaco, naproxeno y ketorolaco en humanos en tratamientos agudos.
- Evaluar el efecto de la curcumina sobre la farmacocinética de la indometacina, acetaminofén, diclofenaco, naproxeno y ketorolaco en humanos en tratamientos crónicos.
- Evaluar el efecto de la curcumina sobre las enzimas de fase II que participan en el metabolismo de la indometacina, acetaminofén, diclofenaco, naproxeno y ketorolaco.
- Evaluar el efecto de la curcumina sobre los transportadores encargados del transporte de la indometacina, acetaminofén, diclofenaco, naproxeno y ketorolaco.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Addison RS, Parker-Scott SL, Hooper WD, Eadie MJ y Dickinson RG (2000). Effect of naproxen co-administration on valproate disposition. *Biopharm Drug Dispos.* **21**, 235-42.

Agarwal KA, Tripathi CD, Agarwal BB y Saluja S (2011). Efficacy of turmeric (curcumin) in pain and postoperative fatigue after laparoscopic cholecystectomy: a double-blind, randomized placebo-controlled study. *Surg Endosc.* **25**, 3805-10.

Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA y Aggarwal BB (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm.* **4**, 807-18.

Ampasavate C, Sotanaphun U, Phattanawasin P y Piyapolrungrroj N (2010). Effects of *Curcuma* spp. on P-glycoprotein function. *Phytomedicine.* **17**, 506-12.

Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B, Tharakan ST, Misra K, Priyadarsini IK, Rajasekharan KN y Aggarwal BB (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochem Pharmacol.* **76**, 1590-611.

Ansari MT, Loothar BA y Khan QJ (2001). Effect of naproxen on the pharmacokinetic parameters of rifampicin. *Pak J Pharm Sci.* **14**, 13-7.

Antony B, Merina B, Iyer VS, Judy N, Lennertz K y Joyal S (2008). A Pilot Cross-Over Study to Evaluate Human Oral Bioavailability of BCM-95CG (Biocurcumax), A Novel Bioenhanced Preparation of Curcumin. *Indian J Pharm Sci.* **70**, 445-9.

Al-Balla SR, El-Sayed YM, Al-Meshal MA, Gorda MW (1994). The effects of cholestyramine and colestipol on the absorption of diclofenac in man. *Int J Clin Pharmacol Ther.* **32**, 441-445.

Appiah-Opong R, Commandeur JN, van Vugt-Lussenburg B y Vermeulen NP (2007). Inhibition of human recombinant cytochrome P450s by curcumin and curcumin decomposition products. *Toxicology*. **235**, 83 – 91.

Asai A y Miyazawa T (2000). Occurrence of orally administered curcuminoid as glucuronide and glucuronide/sulfate conjugates in rat plasma. *Life Sci*. **67**, 2785–93.

Balap A, Lohidasan S, Sinnathambi A, Mahadik K (2016). Herb-drug interaction of *Andrographis paniculata* (Nees) extract and andrographolide on pharmacokinetic and pharmacodynamic of naproxen in rats. *J Ethnopharmacol*. **195**, 214-221.

Bamba H, Ota S, Kato A y Matsuzaki F (1998). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs may delay the repair of gastric mucosa by suppressing prostaglandin-mediated increase of hepatocyte growth factor production. *Biochem Biophys Res. Commun*. **245**, 567-71.

Bamba Y, Yun YS, Kunugi A y Inoue H (2011). Compounds isolated from *Curcuma aromatica* Salisb. inhibit human P450 enzymes. *J Nat Med*. **65**, 583-7.

Bandgar BP, Sarangdhar RJ, Ahamed FA y Viswakarma S (2011). Synthesis, characterization, and biological evaluation of novel diclofenac prodrugs. *J Med Chem*. **54**, 1202-10.

Basu NK, Kole L, and Owens IS (2003). Evidence for phosphorylation requirement for human bilirubin UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1) activity. *Biochem Biophys Res Commun*. **303**, 98 –104.

Basu NK, Ciotti M, Hwang MS, Kole L, Mitra PS, Cho JW y and Owens IS (2004a). Differential and special properties of the major human UGT1-encoded gastrointestinal UDP-glucuronosyltransferases enhance potential to control chemical uptake. *J Biol Chem*. **279**, 1429 –1441.

Basu NK, Kole L, Kubota S y Owens IS (2004b). Human UDP-glucuronosyltransferases show atypical metabolism of mycophenolic acid and inhibition by curcumin. *Drug Metab Dispos.* **32**,768 –773.

Basnet P y Skalko-Basnet N (2011). Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules.* **16**, 4567-98.

Bayrak O, Uz E, Bayrak R, Turgut F, Atmaca AF, Sahin S, Yildirim ME, Kaya A, Cimentepe E y Akcay A (2008). Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *World J Urol.* **26**, 285-91.

Blandizzi C, Fornai M, Colucci R, Natale G, Lubrano V, Vassalle C, Antonioli L, Lazzeri G y Del Tacca M (2005). Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage. *World J Gastroenterol.* **11**, 4052-60.

Bombardier C (2002). An evidence-based evaluation of the gastrointestinal safety of coxibs. *Am J Cardiol.* **89**, 3D-9D.

Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK y Schnitzer TJ (2000). Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. *N Engl J Med.* **343**, 1520-8.

Bori Segura G, Torres y Gutierrez Rubio A, Herrera Gómez LE y Olgún Uribe J (2002). Efficacy and tolerability of acemetacin, a non-steroidal anti-inflammatory drug, in Mexican patients: result of the ETAPAM Study. *Proc West Pharmacol Soc.* **45**, 104-7.

Castañeda-Hernández G, Favari L y Hoyo-Vadillo C (1995). Relationship between naproxen plasma concentration and its anti-inflammatory effect in experimental hepatitis. *Arzneimittelforschung.* **45**, 585-9.

Caillé G, du Souich P, Besner JG, Gervais P y Vézina M (1989). Effects of food and sucralfate on the pharmacokinetics of naproxen and ketoprofen in humans. *Am J Med.* **86**, 38-44.

Catapano MS (1996). The analgesic efficacy of ketorolac for acute pain. *J Emerg Med.* **14**, 67-75.

Chandran B y Goel A (2012). A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. *Phytother Res.* **26**, 1719-25.

Chang GWM y Kam P CA (1999). The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 Isoenzymes. *Anaesthesia.* **54**, 42-50.

Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U y Banerjee RK (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Sci.* **87**.

Chattopadhyay I, Bandyopadhyay U, Biswas K, Maity P y Banerjee RK (2006). Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Fre Radic Biol Med.* **40**, 1397-1408.

Chávez-Piña AE, McKnight W, Dicay M, Castañeda-Hernández G y Wallace JL (2007). Mechanisms underlying the anti-inflammatory activity an gastric safety of acemetacin. *Br J Pharmacol.* **152**, 930-938.

Chainani-Wu N (2003). Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *J Altern Complement Med.* **9**, 161-8.

Cheng AL, Hsu CH, Lin JK, Hsu MM, Ho YF, Shen TS, Ko JY, Lin JT, Lin BR, Ming-Shiang W, Yu HS, Jee SH, Chen GS, Chen TM, Chen CA, Lai MK, Pu YS, Pan MH, Wang YJ, Tsai CC y Hsieh CY (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res.* **21**, 2895-900.

Chearwae W, Anuchapreeda S, Nandigama K, Ambudkar SV y Limtrakul P (2004). Biochemical mechanism of modulation of human P-glycoprotein (ABCB1) by curcumin I, II, and III purified from Turmeric powder. *Biochem Pharmacol.* **68**, 2043-52.

Chearwae W, Wu CP, Chu HY, Lee TR, Ambudkar SV, Limtrakul P (2005). Curcuminoids purified from turmeric powder modulate the function of human multidrug resistance protein 1 (ABCC1). *Cancer Chemother Pharmacol.* **57**, 376-88.

Chearwae W, Shukla S, Limtrakul P, Ambudkar SV (2006). Modulation of the function of the multidrug resistance-linked ATP-binding cassette transporter ABCG2 by the cancer chemopreventive agent curcumin. *Mol Cancer Ther.* **5**, 1995-2006.

Cho YA, Lee W, Choi JS (2012). Effects of curcumin on the pharmacokinetics of tamoxifen and its active metabolite, 4-hydroxytamoxifen, in rats: possible role of CYP3A4 and P-glycoprotein inhibition by curcumin. *Pharmazie.* **67**, 124-30.

Coruzzi G, Venturi N y Spaggiari S (2007). Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: selective COX-2 inhibitors and beyond. *Acta Biomed.* **78**, 96-110.

Dajani EZ y Islam K (2008). Cardiovascular and gastrointestinal toxicity of selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors in man. *J Physiol Pharmacol.* **59**, 117-33.

Davies NM y Anderson KE (1997). Clinical pharmacokinetics of diclofenac. Therapeutic insights and pitfalls. *Clin Pharmacokinet.* **3**, 184-213.

Dell HD, Doersing M, Fischer W, Jacobi H y Kamp R (1980). Biochemical studies on acemetacin/Experimental tests in animals. *Arzneimittelforschung.* **30**, 1371-83.

De Paz-Campos MA, Chávez-Piña AE, Ortiz MI y Castañeda-Hernández G (2012). Evidence for the Participation of ATP-sensitive Potassium Channels in the Antinociceptive Effect of Curcumin. *Korean J Pain.* **25**, 221-7.

De Paz-Campos MA, Ortiz MI, Chávez Piña AE, Zazueta-Beltrán L y Castañeda-Hernández G (2014). Synergistic effect of the interaction between curcumin and diclofenac on the formalin test in rats. *Phytomedicine*. **21**, 1543-8.

den Braver MW, den Braver-Sewradj SP, Vermeulen NP y Commandeur JN (2016). Characterization of cytochrome P450 isoforms involved in sequential two-step bioactivation of diclofenac to reactive p-benzoquinone imines. *Toxicol Lett*. **253**, 46-54.

Devi PR, Reddy AG, Rao GS, Kumar CS, Boobalan G (2015). Pharmacokinetic interaction of curcumin and glibenclamide in diabetic rats. *Vet World*. **8**, 508-11.

Di Pierro F, Rapacioli G, Di Maio EA, Appendino G, Franceschi F y Togni S (2013). Comparative evaluation of the pain-relieving properties of a lecithinized formulation of curcumin (Meriva®), nimesulide, and acetaminophen. *J Pain Res*. **6**, 201-5.

Díaz-Triste NE, González-García MP, Jiménez-Andrade JM, Castañeda-Hernández G y Chávez-Piña AE (2014). Pharmacological evidence for the participation of NO-cGMP-KATP pathway in the gastric protective effect of curcumin against indomethacin-induced gastric injury in the rat. *Eur J Pharmacol*. **730**, 102-6.

Duggan KC, Walters MJ, Musee J, Harp JM, Kiefer JR y Oates JA y Marnett LJ (2010). Molecular basis for cyclooxygenase inhibition by the non-steroidal anti-inflammatory drug naproxen. *J Biol Chem*. **285**, 34950-9.

EFSA, EFSA (2010). "Panel on Genetically Modified Organisms (GMO), Draft Scientific Opinion on the assessment of allergenicity of GM plants and microorganisms and derived food and feed." *EFSA J* **8**. 1-168.

Elsinghorst PW, Kinzig M, Rodamer M, Holzgrabe U y Sörgel F (2011). An LC-MS/MS procedure for the quantification of naproxen in human plasma: development, validation, comparison with other methods, and application to a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. **879**, 1686-96.

Esatbeyoglu T, Huebbe P, Ernst IM, Chin D, Wagner AE y Rimbach G (2012). Curcumin--from molecule to biological function. *Angew Chem Int Ed Engl.* **51**, 5308-32.

Farombi EO y Ekor M (2006). Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol.* **44**, 1443-8.

Fiorucci S, Santucci L y Distrutti E (2007). NSAIDs, coxibs, CINOD and H<sub>2</sub>S-releasing NSAIDs: what lies beyond the horizon. *Dig Liver Dis.* **39**, 1043-51.

Filist M, Szlaska I, Kaza M y Pawiński T (2015). Validated HPLC-UV method for determination of naproxen in human plasma with proven selectivity against ibuprofen and paracetamol. *Biomed Chromatogr.* **30**, 953-61

Fitzgerald GA (2004). Coxibs and cardiovascular disease. *N Engl J Med.* **351**, 1709-11.

Flores-Murrieta FJ, Flores-Picazo Y, Pérez-Urizar J, Granados-Soto V, López-Muñoz FJ y Castañeda-Hernández G (1997). Relationship between pharmacokinetics and the antinociceptive effect of indomethacin in the rat. *Proc West Pharmacol Soc.* **40**, 111-3.

Frost C, Shenker A, Gandhi MD, Pursley J, Barrett YC, Wang J, Zhang D, Byon W, Boyd RA y LaCreta F (2014). Evaluation of the effect of naproxen on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban. *Br J Clin Pharmacol.* **78**, 877-85.

Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J y Chen A (2008). Curcumin protects the rat liver from CCl<sub>4</sub>-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Mol Pharmacol.* **73**, 399-409.

Gal S, Lichtenberg D, Bor A y Pinchuk I (2007). Copper-induced peroxidation of phosphatidylserine-containing liposomes is inhibited by nanomolar concentrations of specific antioxidants. *Chem Phys Lipids.* **150**, 186–203.

Galán-Herrera JF, Poo JL, Maya-Barrios JA, de Lago A, Oliva I, González-de la Parra M, Jiménez P, López-Bojórquez E, Burke-Fraga V y Namur S (2008). Bioavailability of two sublingual formulations of ketorolac tromethamine 30 mg: a randomized, open-label, single-dose, two-period crossover comparison in healthy Mexican adult volunteers. *Clin Ther.* **30**, 1667-74.

Garcea G, Jones DJ, Singh R, Dennison AR, Farmer PB, Sharma RA, Steward WP, Gescher AJ y Berry DP (2004). Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *Br J Cancer.* **90**, 1011-5.

Gatmaitan ZC y Arias IM (1993). Structure and function of P-glycoprotein in normal liver and small intestine. *Adv Pharmacol.* **24**, 77-97.

Gemici B, Elsheikh W, Feitosa KB, Costa SK, Muscara MN y Wallace JL (2015). H<sub>2</sub>S-releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential. *Nitric Oxide.* **46**, 25-31.

Gil-Flores M, Ortiz MI, Castañeda-Hernández G y Chávez-Piña AE (2010). Acemetacin antinociceptive mechanism is not related to NO or K<sup>+</sup> channel pathways. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* **32**, 101-5.

Gillis JC y Brogden RN (1997). Ketorolac. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in pain management. *Drugs.* **53**, 139-88.

González FJ y Lee YH (1996). Constitutive expression of hepatic cytochrome P450 genes. *The FASEB Journal.* **10**, 1112-7.

Goel A, Kunnumakkara AB y Aggarwal BB (2008). Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol.* **75**, 787-809.

Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 1996. 9na Edición. México, D.F., México. Editorial Médica Panamericana.

Guevara-López U (2004). Acemetacina: Características farmacológicas y clínicas. *Rev Mex Anest.* **27**, 33-36.

Gupta P (1994). Ketorolac. *Indian Pediatr.* **31**, 575-8.

Gupta NK y Dixit VK (2011). Bioavailability enhancement of curcumin by complexation with phosphatidyl choline. *J Pharm Sci.* **100**, 1987-95.

Gupta SC, Patchva S, Koh W, Aggarwal BB (2012). Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **39**, 283-99.

Granados-Soto V y Flores-Murrieta FJ (1995). Pharmacokinetics of oral ketorolac in the rat. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* **17**, 535-8.

Graham MJ y Lake BG (2008). Induction of drug metabolism: species differences and toxicological relevance. *Toxicology.* **254**, 184-91.

Griffin MR y Scheiman JM (2001). Prospects for changing the burden of nonsteroidal anti-inflammatory drug toxicity. *Am J Med.* **110**, 33S-37S.

Guevara-López U (2004). Acemetacina: Características farmacológicas y clínicas. *Rev Mex Anest.* **27**, 33-36.

Haider S, Naqvi F, Tabassum S, Saleem S, Batool Z, Sadir S, Rasheed S, Saleem D, Nawaz A y Ahmad S (2013). Preventive effects of curcumin against drug- and starvation-induced gastric erosions in rats. *Sci Pharm.* **81**, 549-58.

Hamilton RJ y Sewell PA (1982). Introduction to High Performance Liquid Chromatography (Second Edition) Chapman and Hall, London. pp 248.

Heeba GH, Mahmoud ME, El Hanafy AA (2014). Anti-inflammatory potential of curcumin and quercetin in rats: role of oxidative stress, heme oxygenase-1 and TNF- $\alpha$ . *Toxicol Ind Health*. **30**, 551-60.

Hinz B, Chevts J, Renner B, Wuttke H, Rau T, Schmidt A, Szelenyi I, Brune K y Werner U (2005). Bioavailability of diclofenac potassium at low doses. *Br J Clin Pharmacol*. **59**, 80-4.

Hoehle SI, Pfeiffer E, Solyom AM y Metzler M (2006). Metabolism of curcuminoids in tissue slices and subcellular fractions from rat liver. *J Agric Food Chem*. **54**, 756–64.

Hou XL, Takahashi K, Tanaka K, Tougou K, Qiu F, Komatsu K, Takahashi K, Azuma J (2008). Curcuma drugs and curcumin regulate the expression and function of P-gp in Caco-2 cells in completely opposite ways. *Int J Pharm*. **358**, 224-9.

HSDB (Hazardous Substances Data Bank) (2012). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+15307-86-5>.

HSDB (Hazardous Substances Data Bank) (2012). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+53-86-1>.

HSDB (Hazardous Substances Data Bank) (2012). [http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=23681059&loc=ec\\_rcs#x27](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=23681059&loc=ec_rcs#x27).

Hucker HB, Zacchei AG, Cox SV, Brodie DA y Cantwell NHR (1966). Studies on the absorption, distribution and excretion of indometacin in various species. *J Pharmacol Exp Ther*, **8**, 237-48.

Huntjens DR, Spalding DJ, Danhof M y Della Pasqua OE (2006). Correlation between in vitro and in vivo concentration–effect relationships of naproxen in rats and healthy volunteers. *Br J Pharmacol*. **148**, 396-404.

Ireson CR, Jones DJ, Orr S, Coughtrie MW, Boocock DJ, Williams ML, Farmer PB, Steward WP y Gescher AJ (2002). Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **1**, 105-11.

Imbaby S, Ewais M, Essawy S y Farag N (2014). Cardioprotective effects of curcumin and nebivolol against doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats. *Hum Exp Toxicol.* **33**, 800-13.

Irving GR, Karmokar A, Berry DP, Brown K y Steward WP (2011). Curcumin: the potential for efficacy in gastrointestinal diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* **153**, 519-34.

Iudin MA, Kurpiakova AF, Bykov VN, Chepur SV, Nikiforov AS (2012). Studying toxicity caused by interaction of caffeine and ketorolac. *Eksp Klin Farmakol.* **75**, 27-9.

Jamali F y Stevens DRS (1983). Naproxen excretion in milk and its up- take by the infant. *Drug Intell Clin Pharm.* **17**, 910-1.

Jodoin J, Demeule M y Beliveau R (2002). Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein activity by green tea polyphenols. **1542**, 149–159.

Jung D, Mroszczak E y Bynum L (1988). Pharmacokinetics of ketorolac tromethamine in humans after intravenous, intramuscular and oral administration. *Eur J Clin Pharmacol.* **35**, 423-5.

Jung J, Park M, Park HJ, Shim SB, Cho YH, Kim J, Lee HS, Ryu do H, Choi D y Hwang GS (2011). <sup>1</sup>H NMR-based metabolic profiling of naproxen-induced toxicity in rats. *Toxicol Lett.* **200**, 1-7.

Jurenka JS (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev.* **14**, 141-53.

Kam PC y See AU (2000). Cyclo-oxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. *Anaesthesia*. **55**, 442-9.

Kapoor S (2012). Curcumin and its emerging role in pain modulation and pain management. *Korean J Pain*. **25**, 202-3.

Kim DC, Kim SH, Choi BH, Baek NI, Kim D, Kim MJ y Kim KT (2005). Curcuma longa extract protect against gastric ulcers by blocking H2 histamine receptors. *Biol Pharm Bull*. **28**, 2220–2224.

Kim SB, Cho SS, Cho HJ y Yoon IS (2015). Modulation of Hepatic Cytochrome P450 Enzymes by Curcumin and its Pharmacokinetic Consequences in Sprague-dawley Rats. *Pharmacogn Mag*. **11**, S580-4.

Kim JH, Jin S, Kwon HJ y Kim BW (2016). Curcumin Blocks Naproxen-Induced Gastric Antral Ulcerations through Inhibition of Lipid Peroxidation and Activation of Enzymatic Scavengers in Rats. *J Microbiol Biotechnol*. **26**, 1392-7.

Kuhad A, Pilkhwal S, Sharma S, Tirkey N y Chopra K (2007). Effect of curcumin on inflammation and oxidative stress in cisplatin-induced experimental nephrotoxicity. *J Agric Food Chem*. **55**, 10150-5

Kumar A, Shrivastava A, Purwar B y Arora N (2012). Effects of Curcumin on the intestinal length and morphology: An experimental study in albino rats. *Atl J Physiol Pharm Pharmacol*. **2**, 39-44.

Kumar A, Purwar B, Shrivastava A y Pandey S (2010). Effects of curcumin on the intestinal motility of albino rats. *Indian J Physiol Pharmacol*. **54**, 284-8.

Kusuhara H, Furuie H, Inano A, Sunagawa A, Yamada S, Wu C, Fukizawa S, Morimoto N, Ieiri I, Morishita M, Sumita K, Mayahara H, Fujita T, Maeda K y Sugiyama Y (2012). Pharmacokinetic interaction study of sulphasalazine in healthy subjects and the impact of curcumin as an in vivo inhibitor of BCRP. *Br J Pharmacol*. **166**, 1793-803.

Laine L, Smith R, Min K, Chen C, Dubois RW (2006). Systematic review: the lower gastrointestinal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Aliment. Pharmacol Ther.* **24**, 751-67.

Lantz RC, Chen, GJ, Solyom AM, Jolad SD y Timmermann BN (2005). The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *Phytomedicine* **12**, 445–452.

Lazzaroni M, Battocchia A y Bianchi Porro G (2007). COXIBs and non-selective NSAIDs in the gastroenterological setting: what should patients and physicians do? *Dig Liver Dis.* **6**, 589-96.

Leamy AW, Shukla P, McAlexander MA, Carr MJ y Ghatta S (2011). Curcumin ((E,E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) activates and desensitizes the nociceptor ion channel TRPA1. *Neurosci Lett.* **503**, 157-62.

Lee CK, Ki SH y Choi JS (2011). Effects of oral curcumin on the pharmacokinetics of intravenous and oral etoposide in rats: possible role of intestinal CYP3A and P-gp inhibition by curcumin. *Biopharm. Drug. Dispos.* **32**, 245-51.

León-Reyes MR, Castañeda-Hernández G y Ortiz MI (2009). Pharmacokinetic of diclofenac in the presence and absence of glibenclamide in the rat. *J Pharm Pharm Sci.* **12**, 280-7.

Leontiadis GI, Sreedharan A, Dorward S, Barton P, Delaney B, Howden CW, Orhewere M, Gisbert J, Sharma VK, Rostom A, Moayyedi P y Forman D (2007). Systematic reviews of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of proton pump inhibitors in acute upper gastrointestinal bleeding. *Health Technol Assess.* **11**, iii-iv, 1-164.

Li DM, Lu WL, Wang XQ, Wang JC, Zhang H, Zhang RJ, Wang GL, Zhang X y Zhang Q (2005). Pharmacokinetics of Indomethacin, a Metabolite of Acemetacin,

Following a Single dose and Multiple doses Administered as Acemetacin Sustained-Release Tablets in Healthy Male Volunteers. *J Health Sci.* **51**, 308-316.

Li Q, Zhai W, Jiang Q, Huang R, Liu L, Dai J, Gong W, Du S y Wu Q (2015). Curcumin-piperine mixtures in self-microemulsifying drug delivery system for ulcerative colitis therapy. *Int J Pharm.* **490**, 22-31.

Li Y, Revalde J y Paxton JW (2016). The effects of dietary and herbal phytochemicals on drug transporters. *Adv Drug Deliv Rev.* pii: S0169-409X(16)30259-9.

Liu AC, Zhao LX y Lou HX (2013). Curcumin alters the pharmacokinetics of warfarin and clopidogrel in Wistar rats but has no effect on anticoagulation or antiplatelet aggregation. *Planta Med.* **79**, 971-7.

Liu AC, Zhao LX, Xing J, Liu T, Du FY, Lou HX (2012). Pre-treatment with curcumin enhances plasma concentrations of losartan and its metabolite EXP3174 in rats. *Biol Pharm Bull.* **35**, 145-50.

López-Muñoz FJ, Castañeda-Hernández G, Flores-Murrieta FJ y Granados-Soto V (1996). Effect of caffeine coadministration and of nitric oxide synthesis inhibition on the antinociceptive action of ketorolac. *Eur J Pharmacol.* **308**, 275-7.

Marczylo TH, Verschoyle RD, Cooke DN, Morazzoni P, Steward WP y Gescher AJ (2007). Comparison of systemic availability of curcumin with that of curcumin formulated with phosphatidylcholine. *Cancer Chemother Pharmacol.* **60**, 171-7.

Mason RW y McQueen EG (1974). Protein binding of indomethacin: binding of indomethacin to human plasma albumin and its displacement from binding by ibuprofen, phenylbutazone and salicylate in vitro. *Pharmacology* **12**, 12–19.

Masubuchi Y, Ose A, Horie T (2001). Mechanism-based inactivation of CYP2C11 by diclofenac. *Drug Metab Dispos.* **29**, 1190-5.

Maiti K, Mukherjee K, Gantait A, Saha BP y Mukherjee PK (2007). Curcumin-phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. *Int J Pharm.* **330**, 155-63.

Menozzi A, Pozzoli C, Poli E, Martelli M, Martelli L, Zullian C y Bertini S (2009). Effects of oral curcumin on indomethacin-induced small intestinal damage in the rat. *Drug Discov Ther.* **3**, 71-6.

Metzler M, Pfeiffer E, Schulz SI y Dempe JS (2013). Curcumin uptake and metabolism. *Biofactors.* **39**, 14-20.

Miners JO, Coulter S, Tukey RH, Veronese ME y Birkett DJ (1996). Cytochromes P450, 1A2, and 2C9 are responsible for the human hepatic O-demethylation of R- and S-naproxen. *Biochem Pharmacol.* **51**,1003-8.

Morsy MA y El-Moselhy MA (2013). Mechanisms of the protective effects of curcumin against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Pharmacology.* **91**, 267-74.

Mroszczak EJ, Lee FW, Combs D, Sarnquist FH, Huang BL, Wu AT, Tokes LG, Maddox ML y Cho DK (1987). Ketorolac tromethamine absorption, distribution, metabolism, excretion, and pharmacokinetics in animals and humans. *Drug Metab Dispos.* **15**, 618-26.

Mukherjee D, Nissen SE y Topol EJ (2001). Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA.* **286**, 954-9.

Murathanun R, Thong-Ngam D y Klaikaew N (2008). Curcumin Prevents Indomethacin-induced Acute Gastric Mucosal Damage in Rats. *Thai J Gastroenterol.* **9**, 118-123.

Murugan P y Pari L (2005). Effect of tetrahydrocurcumin on erythromycin estolate-induced lipid peroxidation in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* **16**, 1–15.

Naganuma M, Saruwatari A, Okamura S y Tamura H (2006). Turmeric and curcumin modulate the conjugation of 1-naphthol in Caco-2 cells. *Biol Pharm Bull.* **29**,1476–1479.

Nagpal M y Sood S (2013). Role of curcumin in systemic and oral health: An overview. *J Nat Sci Biol Med.* **4**, 3-7.

Naik SR, Thakare VN y Patil SR (2011). Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: evidence of its antioxidant property. *Exp Toxicol Pathol.* **63**, 419-31.

Nakajima M, Inoue T, Shimada N, Tokudome S, Yamamoto T y Kuroiwa Y (1998). Cytochrome P450 2C9 catalyzes indomethacin O-demethylation in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.* **26**, 261-6.

Navarrete A, Oliva I, Sánchez-Mendoza ME, Arrieta J, Cruz-Antonio L y Castañeda-Hernández G (2005). Gastroprotection and effect of the simultaneous administration of Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*) on the pharmacokinetics and anti-inflammatory activity of diclofenac in rats. *J Pharm Pharmacol.* **57**, 1629-36.

Oetari S, Sudibyo M, Commandeur JN, Samhoedi R y Vermeulen NP (1996). Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver. *Biochem Pharmacol.* **51**, 39 – 45.

Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K y Osawa T (2001). Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. *J Nutr.* **131**, 2090–5.

Ortiz MI, González-García MP, Ponce-Monter HA, Castañeda-Hernández G, Aguilar-Robles P (2010). Synergistic effect of the interaction between naproxen and citral on inflammation in rats. *Phytomedicine.* **18**, 74-9.

Oscanoa-Espinoza TJ (2015). Seguridad de los antiinflamatorios no esteroideos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* **53**, 172-9.

Palipoch S, Punsawad C, Koomhin P y Suwannalert P (2014). Hepatoprotective effect of curcumin and alpha-tocopherol against cisplatin-induced oxidative stress. *BMC Complement Altern Med.* **14**, 111.

Pan MH, Huang TM y Lin JK (1998). Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos.* **27**, 486-94.

Pari L y Murugan P (2004). Protective role of tetrahydrocurcumin against erythromycin estolate-induced hepatotoxicity. *Pharmacol Res.* **49**, 481–6.

Parsons RL, Kaye CM y Raymond K (1977). Pharmacokinetics of salicylate and indomethacin in celiac disease. *Europ J Clin Pharmacol.* **11**, 473-477.

Pampori NA y Shapiro BH (1994). Over-expression of CYP2C11, the major male-specific form of hepatic cytochrome P450, in the presence of nominal pulses of circulating growth hormone in adult male rats neonatally exposed to low levels of monosodium glutamate. *J Pharmacol Exp Ther.* **271**, 1067-73.

Pavithra BH, Prakash N y Jayakumar K (2009). Modification of pharmacokinetics of norfloxacin following oral administration of curcumin in rabbits. *J Vet Sci.* **10**, 293-7.

Peris-Ribera JE, Torres-Molina F, Garcia-Carbonell MC, Aristorena JC y Pla-Delfina JM (1991). Pharmacokinetics and bioavailability of diclofenac in the rat. *J Pharmacokinet Biopharm.* **19**, 647-65.

Pérez-Urizar J, Granados-Soto V, Castañeda-Hernández G, Hong E, González C, Martínez JL y Flores-Murrieta FJ (2000). Analgesic efficacy and bioavailability of ketorolac in postoperative pain: a probability analysis. *Arch Med Res.* **31**, 191-6.

Pfeiffer E, Hoehle S, Solyom AM y Metzler M (2003). Studies on the stability of turmeric constituents. *J. Food Engin.* **56**, 257–259.

Perloff MD, Moltke LL, Stormer E, Shader RI y Greenblatt DJ (2001). Saint John's wort: an in vitro analysis of P-glycoprotein induction due to extended exposure. *Br J Pharmacol.* **134**, 1601–1608.

Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK y Aggarwal BB (2014) Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back. *Biotechnol Adv.* **32**, 1053-64.

Prucksunand C, Indrasukhsri B, Leethochawalit M y Hung-spreugs K (2001). Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn) on healing of peptic ulcer. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* **32**, 208–15.

Pozzoli C, Menozzi A, Grandi D, Solenghi E, Ossiprandi MC, Zullian C, Bertini S, Cavestro GM y Coruzzi G (2007). Protective effects of proton pump inhibitors against indomethacin-induced lesions in the rat small intestine. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* **374**, 283-91.

Rajasekaran SA (2011). Therapeutic potential of curcumin in gastrointestinal diseases. *World J Gastrointest Pathophysiol.* **2**, 1-14.

Rajnarayana K, Venkatesham A y Krishna DR (2007). Bioavailability of diclofenac sodium after pretreatment with diosmin in healthy volunteers. *Drug Metabol Drug Interact.* **22**, 165–174.

Ramsewak RS, DeWitt DL y Nair MG (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumin I–III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine.* **7**, 303–308.

Ravindranath V y Chandrasekhara N (1980). Absorption and tissue distribution of curcumin in rats. *Toxicology.* **16**, 259-65.

Rao BR y Rambhau D (1992). Influence of diazepam on the pharmacokinetic properties of orally administered naproxen. *Drug Invest.* **4**, 416–421.

Rao P y Knaus EE (2008). Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J Pharm Pharm Sci.* **11**, 81s-110s.

Reddy KS y Roy A (2013). Cardiovascular risk of NSAIDs: time to translate knowledge into practice. *PLoS Med.* **10**, e1001389.

Reyes-Gordillo K, Segovia J, Shibayama M, Tsutsumi V, Vergara P, Moreno MG y Muriel P (2008). Curcumin prevents and reverses cirrhosis induced by bile duct obstruction or CCl<sub>4</sub> in rats: role of TGF- $\beta$  modulation and oxidative stress. *Fund Clin Pharmacol.* **22**, 417–27.

Rivera-Espinosa L, Muriel P, Ordaz-Gallo M, Pérez-Urizar J, Palma-Aguirre A y Castañeda-Hernández G (2003). Ketorolac pharmacokinetics in experimental cirrhosis by bile duct ligation in the rat. *Ann Hepatol.* **2**, 175-81.

Ruby AJ, Kuttan G, Babu KD, Rajasekharan KN y Kuttan R (1995). Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Lett.* **94**, 79–83.

Runkel R, Chaplin M, Boost G, Segre E y Forchielli E (1972). Absorption, distribution, metabolism, and excretion of naproxen in various laboratory animals and human subjects. *J Pharm Sci.* **61**, 703-8.

Runkel R, Mroszczak E, Chaplin M, Sevelius H y Segre E (1978). Naproxen-probenecid interaction. *Clin Pharmacol Ther.* **24**, 706–713.

Ryu EK, Choe YS, Lee KH, Choi Y y Kim BT (2006). Curcumin and dehydrozingerone derivatives: synthesis, radiolabeling, and evaluation for amyloid plaque imaging. *J Med Chem.* **49**, 6111–9.

Saifee NH, Ranjitkar P y Greene DN (2016). Factors influencing naproxen metabolite interference in total bilirubin assays. *Clin Biochem.* **49**, 514-7.

Sallmann AR (1986). The history of diclofenac. *Am J Med.* **80**, 29-33.

Sánchez-Cuén JA, Irineo-Cabrales AB, Bernal-Magaña G y Peraza-Garay Fde J (2012). Inadequate prescription of chronic consumption of proton pump inhibitors in a hospital in Mexico. Cross-sectional study. *Rev Esp Enferm Dig.* **105**, 131-6.

Satterwhite JH y Boudinot FD (1991). Age- and dose-dependent naproxen disposition in Fischer 344 rats. *J Gerontol.* **6**, B222-7.

Schmassmann A, Peskar BM, Stettler C, Netzer P, Stroff T, Flogerzi B y Halter F (1998). Effects of inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase-2 in chronic gastro-intestinal ulcer models in rats. *Br J Pharmacol.* **123**, 795-804.

Secretaría de Salud (2010). Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Panorama epidemiológico de las úlceras, gastritis y duodenitis en México, periodo 2003-2008. Vigilancia epidemiológica semana 18. Numero 18, volumen 27.

Secretaría de Salud. Consejo de Salubridad General. Comisión Interinstitucional del Cuadro Básico y Catalogo de Insumos del Sector Salud. Edición 2015.

Seliskar M y Rozman D (2007). Mammalian cytochromes P450--importance of tissue specificity. *Biochim Biophys Acta.* **1770**, 458-66.

Segre EJ, Sevelius H y Varady J (1974). Letter: Effects of antacids on naproxen absorption. *N Engl J Med.* **291**, 582-3.

Sharma RA, Ireson CR, Verschoyle RD, Hill KA, Williams ML, Leuratti C, Manson MM, Marnett LJ, Steward WP y Gescher A (2001). Effects of dietary curcumin on glutathione S-transferase and malondialdehyde-DNA adducts in rat liver and colon mucosa: relationship with drug levels. *Clin Cancer Res.* **7**, 1452-8.

Sharma RA, Euden SA, Platton SL, Cooke DN, Shafayat A, Hewitt HR, Marczyklo TH, Morgan B, Hemingway D, Plummer SM, Pirmohamed M, Gescher AJ y Steward WP (2004). Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clin Cancer Res.* **10**, 6847-54.

Sharma S, Kulkarni SK, Agrewala JN y Chopra K (2006). Curcumin attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol.* **536**, 256-61.

Sharma AV, Ganguly K, Paul S, Maulik N y Swarnakar S (2012). Curcumin heals indomethacin-induced gastric ulceration by stimulation of angiogenesis and restitution of collagen fibers via VEGF and MMP-2 mediated signaling. *Antioxid Redox Signal.* **16**, 351-62.

Shapiro H, Ashkenazi M, Weizman N, Shahmurov M, Aeed H y Bruck R (2006). Curcumin ameliorates acute thioacetamide-induced hepatotoxicity. *J Gastroenterol Hepatol.* **21**, 358–66.

Shehzad A, Wahid F y Lee YS (2010). Curcumin in cancer chemoprevention: molecular targets, pharmacokinetics, bioavailability, and clinical trials. *Arch Pharm (Weinheim).* **343**, 489-99.

Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R y Srinivas PS (1998). Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med.* **64**, 353–6.

Shoskes DA (1998) Effect of bioflavonoids, quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation.* **66**, 147–152.

Shou-Chuan S y Chen-Wang C (2007). Nonsteroidal anti-inflammatory drug-related gastrointestinal bleeding in the elderly. *Int J Gerontol.* **1**,40-45.

Silverstein FE, Faich G, Goldstein JL, Simon LS, Pincus T, Whelton A, Makuch R, Eisen G, Agrawal NM, Stenson WF, Burr AM, Zhao WW, Kent JD, Lefkowitz JB, Verburg KM y Geis GS (2000). Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: A randomized controlled trial. *Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study.* *JAMA.* **284**, 1247-55.

Simon JP y Evan Prince S (2016). Natural remedies for non-steroidal anti-inflammatory drug-induced toxicity. *J Appl Toxicol.* **37**, 71-83.

Sivalingam N, Hanumantharaya R, Faith M, Basivireddy J, Balasubramanian KA y Jacob M (2007). Curcumin reduces indomethacin-induced damage in the rat small intestine. *J Appl Toxicol.* **27**, 551-60.

Somanawat K, Thong-Ngam D y Klaikeaw N (2013). Curcumin attenuated paracetamol overdose induced hepatitis. *World J Gastroenterol.* **19**, 1962-7.

Soni KB y Kuttan R (1992). Effect of oral curcumin administration on serum peroxides and cholesterol levels in human volunteers. *Indian J Physiol Pharmacol.* **36**, 273-5.

Shukla S, Zaher H, Hartz A, Bauer B, Ware JA y Ambudkar SV (2009). Curcumin inhibits the activity of ABCG2/BCRP1, a multidrug resistance-linked ABC drug transporter in mice. *Pharm Res.* **26**, 480-7.

Suleyman H, Albayrak A, Bilici M, Cadirci E y Halici Z (2010). Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. *Inflammation.* **33**, 224-34.

Szakács G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM (2006). Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **5**, 219-34.

Takeuchi K, Tanaka A, Ohno R y Yokota A (2003). Role of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. *J Physiol Pharmacol.* **54**, Suppl 4:165-82.

Tamblyn R, Berkson L, Dauphinee WD, Gayton D, Grad R, Huang A, Isaac L, McLeod P y Snell L (1997). Unnecessary prescribing of NSAIDs and the management of NSAID-related gastropathy in medical practice. *Ann Intern Med.* **127**, 429-38.

Tanaka A, Hase S, Ohno R y Takeuchi K (2002). Role of COX-1 and COX-2 inhibition in NSAID-induced intestinal damage in rats: relation to various pathogenic events. *J Pharmacol Exp Ther.* **303**, 1248–54.

Thapliyal R y Maru GB (2001). Inhibition of cytochrome P450 isozymes by curcumins in vitro and in vivo. *Food Chem Toxicol.* **39**, 541-7.

Thong-Ngam D, Choochuai S, Patumraj S, Chayanupatkul M y Klaikeaw N (2012). Curcumin prevents indomethacin-induced gastropathy in rats. *World J Gastroenterol.* **18**, 1479-84.

Todd PA y Sorkin EM (1988). Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs.* **35**, 244–285.

Toothaker RD, Barker SH, Gillen MV, Helsinger SA, Kindberg CG, Hunt TL y Powell JH (2000). Absence of pharmacokinetic interaction between orally co-administered naproxen sodium and diphenhydramine hydrochloride. *Biopharm Drug Dispos.* **21**, 229-33.

Tsai YM, Jan WC, Chien CF, Lee WC, Lin LC y Tsai TH (2011). Optimized nano-formulation on the bioavailability of hydrophobic polyphenol, curcumin, in freely-moving rats. *Food Chem.* **127**, 918–925.

Tracy TS, Marra C, Wrighton SA, Gonzalez FJ y Korzekwa KR. (1997). Involvement of multiple cytochrome P450 isoforms in naproxen O-demethylation. *Eur J Clin Pharmacol.* **52**, 293-8.

Tuskey A y Peura D (2013). The use of H2 antagonists in treating and preventing NSAID-induced mucosal damage. *Arthritis Res Ther.* **15** Suppl 3, S6.

Usta M, Wortelboer HM, Vervoort J, Boersma MG, Rietjens IM, van Bladeren PJ y Cnubben NH (2007). Human glutathione S-transferase-mediated glutathione

conjugation of curcumin and efflux of these conjugates in Caco-2 cells. *Chem. Res. Toxicol.* **20**, 1895–1902.

Vadivelu N, Gowda AM, Urman RD, Jolly S, Kodumudi V, Maria M, Taylor R Jr y Pergolizzi JV Jr (2015). Ketorolac tromethamine routes and clinical implications. *Pain Pract.* **15**, 175-93.

van Waterschoot RA y Schinkel AH (2011). A critical analysis of the interplay between cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: recent insights from knockout and transgenic mice. *Pharmacol Rev.* **63**, 390-410.

van Leeuwen JS, Unlü B, Vermeulen NP y Vos JC (2012). Differential involvement of mitochondrial dysfunction, cytochrome P450 activity, and active transport in the toxicity of structurally related NSAIDs. *Toxicol In Vitro.* **26**, 197-205.

Vera-Ramírez L, Pérez-López P, Varela-López A, Ramírez-Tortosa M, Battino M y Quiles JL (2009). Curcumin and liver disease. *Biofactors.* **39**, 88-100.

Versantvoort CH, Schuurhuis GJ, Pinedo HM, Eekman CA, Kuiper CM, Lankelma J, Broxterman HJ (1993). Genistein modulates the decreased drug accumulation in non-P-glycoprotein mediated multidrug resistant tumour cells. *Br J Cancer.* **68**, 939-46.

Vietri M, Pietrabissa A, Mosca F, Spisni R y Pacifici GM (2003). Curcumin is a potent inhibitor of phenol sulfotransferase (SULT1A1) in human liver and extrahepatic tissues. *Xenobiotica.* **33**, 357–363.

Vree TB, Van Den Biggelaar-Martea M, Verwey-Van Wissen CP, Vree ML y Guelen PJ (1993). The pharmacokinetics of naproxen, its metabolite O-desmethylnaproxen, and their acyl glucuronides in humans. Effect of cimetidine. *Br J Clin Pharmacol.* **35**, 467-72.

Volak LP, Ghirmai S, Cashman JR y Court MH (2008). Curcuminoids inhibit multiple human cytochromes P450, UDP-glucuronosyltransferase, and

sulfotransferase enzymes, whereas piperine is a relatively selective CYP3A4 inhibitor. *Drug Metab Dispos.* **36**, 1594-605.

Volak LP, Hanley MJ, Masse G, Hazarika S, Harmatz JS, Badmaev V, Majeed M, Greenblatt DJ y Court MH (2013). Effect of a herbal extract containing curcumin and piperine on midazolam, flurbiprofen and paracetamol (acetaminophen) pharmacokinetics in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* **75**, 450-62.

Wallace JL (1997). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy: the second hundred years. *Gastroenterology.* **112**, 1000-16.

Wallace JL, McKnight W, Reuter BK y Vergnolle N (2000). NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology* **119**, 706–14.

Wallace JL, McKnight W, Reuter BK y Vergnolle N (2000). NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology.* **119**, 706–14.

Wallace JL (2001) Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* **15**, 691–703

Wallace JL (2007). Hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drugs. *Trends Pharmacol Sci.* **28**, 501-5.

Wallace JL, Syer S, Denou E, de Palma G, Vong L, McKnight W, Jury J, Bolla M, Bercik P, Collins SM, Verdu E y Ongini E (2011). Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology.* **141**, 1314-22, 1322.e1-5.

Waller ES (1983). Evaluation of new indomethacin dosage forms. *Pharmacotherapy.* **6**, 324-33.

Wahlström B y Blennow G (1978). A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol.* **43**, 86-92.

Wang Z, Sun W, Huang CK, Wang L, Ia MM, Cui X, Hu GX y Wang ZS (2015). Inhibitory effects of curcumin on activity of cytochrome P450 2C9 enzyme in human and 2C11 in rat liver microsomes. *Drug Dev Ind Pharm.* **41**, 613-6.

Wang W, Nag S y Zhang R (2016). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Breast Cancer Animal Models. *Methods Mol Biol.* **1406**, 271-87.

WHO Food additives Series 17. 550 (1980). Turmeric and curcumin. IPCS INCHEM. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je30.htm>. 26 Enero 2017.

Wiesenberg-Boettcher I, Pfeilschifter J, Schweizer A, Sallmann A y Wenk P (1991). Pharmacological properties of five diclofenac metabolites identified in human plasma. *Agents Actions.* **34**, 135-7.

Wu R, Cui X, Dong W, Zhou M, Simms HH, Wang P (2006). Suppression of hepatocyte CYP1A2 expression by Kupffer cells via AhR pathway: the central role of proinflammatory cytokines. *Int J Mol Med.* **18**, 339-46.

Wu JC, Tsai ML, Lai CS, Wang YJ, Ho CT y Pan MH (2014). Chemopreventative effects of tetrahydrocurcumin on human diseases. *Food Funct.* **5**, 12-7.

Yan YD, Kim DH, Sung JH, Yong CS y Choi HG (2010). Enhanced oral bioavailability of docetaxel in rats by four consecutive days of pre-treatment with curcumin. *Int J Pharm.* **399**, 116-20.

Yang KY, Lin LC, Tseng TY, Wang SC y Tsai TH (2007). Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* **853**, 183-9.

Yallapu MM, Jaggi M y Chauhan SC (2012). Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer. *Drug Discov Today.* **17**, 71-80.

Yasuda K, Ueno S, Ueda E, Nishikawa M, Takeda K, Kamakura M, Ikushiro S y Sakaki T (2015). Influence of sesamin on CYP2C-mediated diclofenac metabolism: in vitro and in vivo analysis. *Pharmacol Res Perspect.* **3**, e00174.

Yilmaz B, Sahin H y Erdem AF (2014). Determination of naproxen in human plasma by GC-MS. *J Sep Sci.* **37**, 997-1003.

Zhao X, Xu Y, Zhao Q, Chen CR, Liu AM y Huang ZL (2012). Curcumin exerts antinociceptive effects in a mouse model of neuropathic pain: descending monoamine system and opioid receptors are differentially involved. *Neuropharmacology.* **62**, 843-5.

Zhang S, Yang X, Morris ME (2004). Flavonoids are inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport. *Mol Pharmacol.* **65**, 1208-16.

Zhang W, Tan TM, y Lim LY (2007). Impact of curcumin-induced changes in P-glycoprotein and CYP3A expression on the pharmacokinetics of peroral celirolol and midazolam in rats. *Drug Metab Dispos.* **35**, 110–115.

Zhang, W y Lim L (2008). Effects of spice constituents on P-gp-mediated transport and CYP3A4-mediated metabolism in vitro. *Drug Metab. Dispos.* **36**, 1283–1290.

Zhang S, Chao GQ y Lu B (2013). Proton pump inhibitors are not the key for therapeuting non-steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal injury. *Rheumatol Int.* **33**, 2513-21.

Zhou SF (2008). Potential strategies for minimizing mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4. *Curr Pharm Des.* **14**, 990–1000.

Zhu Q, Sun Y, Yun X, Ou Y, Zhang W y Li JX (2014). Antinociceptive effects of curcumin in a rat model of postoperative pain. *Sci Rep.* **4**, 4932.