

VII. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

- 1°. Tras la administración oral de Suxibuzona, ésta se transforma en el organismo inmediatamente en Fenilbutazona, no detectándose ni en el plasma ni en el líquido sinovial, lo que sugiere que se comporta como prodroga de la Fenilbutazona en el caballo.
- 2°. Al comparar las concentraciones plasmáticas de Fenilbutazona y su principal metabolito Oxifenbutazona tras administraciones equimoleculares de Suxibuzona y Fenilbutazona se observa que éstas son ligeramente inferiores tras la administración de Suxibuzona y en ambos casos se hallan dentro del margen terapéutico antiinflamatorio durante más de 24h.
- 3°. Cuando se administra Suxibuzona a caballos se ha podido observar un rápido metabolismo a Fenilbutazona que da lugar a un T_{max} y MRT que presentan valores con un ligero retraso en relación a cuando se administró Fenilbutazona y una disminución de la C_{max} y AUC, lo cual estaría de acuerdo con la relación entre administrar un fármaco y su profármaco.
- 4°. No se observan diferencias entre el comportamiento farmacocinético de la Fenilbutazona y de la Oxifenbutazona entre caballos machos y hembras tras la administración de Suxibuzona o de Fenilbutazona, y tampoco entre animales con edades entre 3.5 a 18 años.
- 5°. Tanto, cuando se administra a caballos Suxibuzona como Fenilbutazona, la vida media de eliminación de la Fenilbutazona es de 7.5 horas, lo cual sugiere que el paso de Suxibuzona a Fenilbutazona no interfiere la eliminación de este fármaco.

VII. CONCLUSIONES

- 6°. La administración de Suxibuzona o Fenilbutazona junto con la dieta habitual provoca una disminución en el AUC y C_{max} y un retraso en la absorción de ambos fármacos, siendo algo más sostenida la adsorción de la Suxibuzona a los alimentos, fenómeno que facilitará una permanencia del fármaco en el organismo y un alargamiento del efecto terapéutico.
- 7°. Tras la administración oral de Suxibuzona se observa que en un rango de concentraciones plasmáticas entre 2 y 10 $\mu\text{g/mL}$ para Fenilbutazona y entre 1 y 2 $\mu\text{g/mL}$ para la Oxifenbutazona, la relación entre los niveles plasmáticos y el líquido sinovial de estos fármacos se mantiene entorno a tres, lo cual sugiere que a esta dosis no existe saturación del paso de estos fármacos a través de las membranas hasta alcanzar el líquido sinovial.
- 8°. En el líquido sinovial los niveles máximos de Fenilbutazona o de Oxifenbutazona se alcanzan significativamente más tarde que en el plasma, lo cual sugiere que el equilibrio entre ambos compartimentos se produce de manera lenta.
- 9°. La eliminación de la Fenilbutazona y de la Oxifenbutazona desde el líquido sinovial se realiza más lentamente que en el plasma, lo cual sugiere que los fármacos quedan retenidos en estos tejidos periféricos.
- 10°. La similitud del perfil cinético para la Fenilbutazona y Oxifenbutazona en el tratamiento con Suxibuzona y con Fenilbutazona permite garantizar la eficacia clínica de ambos tratamientos frente a alteraciones que cursan con inflamación.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Aarbakke, J., Bending, M.R., Davies, D.S. (1977). Increased oxidation of phenylbutazone during hydrocortisone infusion in man. *Br J Clin Pharmacol.* **4** (5): 621-622
- Abramson, S.R., Weissmann, G. (1989). The mechanisms of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Arthritis Rheum.* **32**: 1-9
- Adelizzi, R.A. (1999). COX-1 and COX-2 in health and disease. *The Journal of the American Osteopathic Association (JAOA).* **99**, n° 11. Suppl. S7-S12
- Aggeler, P.M., O'Reilly, R.A., Leong, L., Kowitz, P.E. (1967). Potentiation of anticoagulant effect of warfarin by phenylbutazone. *N Engl J Med.* **276**, (9), 496-501.
- Andrews, F.M., Nadeau, J.A. (1999). Clinical syndromes of gastric ulceration in foals and mature horses. *Equine Vet J Suppl.* **29**: 30-33
- Al-Badr, A. (1982). OXYPHENBUTAZONE. In. *Analytical Profiles of Drug Substances.* vol. **11**, pp 333-359. Editado por: Klaus Florey. Academic Press, New Jersey
- Archives of Toxicology (1984). Springer-Verlag New York, Inc., Service nter, 44 Hartz Way, Secaucus, NJ 07094 **7**, 365
- Baggot, J.D. (1992). Bioavailability and bioequivalence of veterinary drug dosage forms, with particular reference to horses: an overview. *J Vet Pharmacol Ther.* **15**:160-173
- Baggot, J.D. (1994). Comparative and clinical pharmacokinetics: Selection of Pharmacokinetics parameters. In *Proceeding of the 6th. EAVPT Congress*, pp 19-21
- Belanger, P., Labrecque, G., Dore, F. (1982). Cronopharmacocinetique des agents AINS chez le rat. *Tribune Medicale.* Suppl. **1**, 14-20
- Beltrán, B., Moreno, L., Esplugues, J.V. (1996). Pharmacological bases of non-steroidal anti-inflammatory analgesics. *Gastroenterol. Hepatol.* **19**, (9): 478-488.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Blikslager, A.T. (1999). Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Equine Practice. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet* **21** (6) 548-550
- Bogan, J.A., Galbraith, A., Baxter, P., Ali, N.M., Marriner S.E. (1984). Effect of feeding on the fate of orally administered phenylbutazone, trimethoprim and sulphadiazine in the horse. *Vet Rec* **115** (23), 599-600
- Boudinot, F.D., Williams, R.J., Smith, J.A. (1990). Effect of non-linear plasma protein binding on unbound and total plasma phenylbutazone concentrations in cows. *J Vet Pharmacol Ther.* **13** (2) :132-136
- Brater, D.C. (1988). Clinical pharmacology of NSAIDs. *J Clin Pharmacol* **28** (6),518-523.
- Brideau, C., Van Staden C., Chan, C.C. (2001). In vitro effects of cyclooxygenase inhibitors in whole blood of horses, dogs and cats. *Am J Vet Res*, **62** (11): 1755-1760
- Brouwers, J.R., Smet, P.A. (1994). Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Pharmacokinet.* **27** (6):462-485
- Bruguerolle, B., Lemmer, B. (1993). Recent advances in chrono-pharmacokinetics: methodological problems. *Life Sci.* **52**, 1809-1824
- Brune, K., Graff, P. (1977). Non-steroid anti-inflammatory drugs: influence of extracellular pH on biodistribution and pharmacological effects. *Biochem Pharmacol*, **27**: 525-530
- Brune, K., Beck, W.S. (1991). Towards safer nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Agents Actions Suppl.*, **32**: 13-25
- Budavary, S., Oneil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E. (1989). Phenylbutazone. In. *The Merck Index*. 11th ed. Eds.: Merck & Co., Inc. Whitehouse station, N.J., USA, monografía nº 7248, pp 1156
- Caillé, G., du Souich, P., Gervais, P., Besner, J.G. (1987). Single dose pharmacokinetics of ketoprofen, indomethacin and naproxen taken alone or with sucralfate. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, **8**, 173-183

- Campbell, D.B. (1990). The use of kinetic-dynamic interactions in the evaluation of drugs. *Psychopharmacology*. **100**, 433-450
- Campbell, W.B. (2000). New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Tips*. **21**, 125-127
- Cashman, J.N. (1996). NSAIDS in Analgesia: Mechanisms of Actions. *Drugs*. **52**, Suppl. 5, 13-23
- Caturla, M.C., Cusido, E. (1992). Solid-phase extraction for the HPLC determination of indomethacin, suxibuzone, phenylbutazone and oxyphenbutazone in plasma, avoiding degradation of compounds. *J of Chromatography*. **581**, 101-107
- Cheng, Z., Mc Kellar, Q.A., Nolan, A., Lees, P. (1996). Pharmacokinetics, pharmacodynamics of phenylbutazone and oxyphenbutazone in the donkey. *J Vet Pharmacol Therap*. **12**, 149-151
- Clarke, C.R., Short, C.R., Bourne, D.W.A., Usenik, E.A. (1989). Subcutaneously implanted tissue chambers - a pharmacokinetic study. *J Vet Pharmacol Therap*. **12**, 312-321
- Crisman, M.V., Sams, R.A., Irby, M.H. (1989). The disposition of phenylbutazone in lactating mares and its effects on nursing foals. 35th Proceedings of the American Association of Equine Practitioners, 127-131
- Crisman, M.V., Wilcke, J.R., Sams, R.A., Gerken, D.F. (1991). Concentrations of phenylbutazone and oxyphenbutazone in post-parturient mares and their neonatal foals. *J Vet Pharmacol Therap*. **14**, 330-334
- Cuéllar, S. (2000). Therapeutic Perspectives and Strategies for Obtaining New NSAIDs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol* **22** (6), 363-364
- Day, R.O., Lam, S., Paull, P., Wade, D. (1987). Effect of food and various antacids on the absorption of tenoxicam. *Br J Clin Pharmacol* **24**(3), 323-328
- Day, R., McLachlan, A.J., Graham, G., Williams, K. (1999). Pharmacokinetics of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Synovial Fluid. *Clin. Pharmacokinet*. **3**, 191-210

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Delbeke, T.T., Vynckier, L., Debackere, M. (1993). The disposition of Suxibuzone in the horse. *J Vet Pharmacol Therap.* **16**, 283-290
- Demestre, I. (1977). Acute toxicity of suxibuzone (AE-17). LD50 in the rat and mouse by oral route. *Internal Report de Laboratorios Dr. Esteve, S.A.*, Departamento de Farmacología. June
- Denoix, J.M., Delanoy, I. (1992). Utilisation des anti-inflammatoires en pathologie articulaire chez le cheval. *Rec Méd. Vét.* **168**(8/9), 679-698
- De Veau, E.J.I., Pedersoli, W., Cullison, R., Baker, J. (1998). Pharmacokinetics of phenylbutazone in plasma and milk of lactating dairy cows. *J Vet Pharmacol Therap.* **21**, 437-443
- Dray, A., Bevan, S. (1993). Inflammation and hyperalgesia: highlighting the team effort. *Trends Pharmacol Sci* **14**, 287-290
- Eriksson, L.O., Wahlin-Boll, E., Liedholm, H., Seideman, P., Melander, A. (1989). Influence of chronic diflunisal treatment on the plasma levels, metabolism and excretion of indomethacin. *Eur J Clin Pharmacol.*, **37** (1):7-15
- Flower, R.J., (1974). Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol Rev.* **26** (1):33-67.
- Fraser, C.M., Bergeron, J.A., Mays, A., Aiello, S.E. (1993). Agentes antiinflamatorios y tratamiento de inflamaciones. En: Manual Merck de Veterinaria (4ªed.) Merck & Co., Inc. Rahwa, 737-747
- Friend, T.H. (2000). Dehydration, stress and water consumption of horses during long-distance commercial transport. *J Anim Sci.* **78**, (10) 2568-2580
- Fujimura, H., Tsurumi, K., Morii, I, Suzuki, T. (1977). Antiinflammatory property of Suxibuzone, in comparison with Phenylbutazone and Ketophenylbutazone. *Pharmacometrics* **14** (3), 379-390
- Furst, D. (1999). Pharmacology and Efficacy of Cyclooxygenase (COX) Inhibitors. *The American Journal of Medicine.* **107**(6A), 18S-26S
- Gabel, A.A., Tobin, T., Ray, R.S., Maylin, G.A. (1977). Phenylbutazone in horses: a review. *Journal of Equine Medicine, Surgery* **1**, 221-225

-
- Gabrielli, A., Leoni, P., Danieli, G., Herrmann, K., Krieg, T., Wieslander, J. (1987). Methotrexate and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *British Medical Journal*, **294**: 776
- Gallin, J.I., Goldstein, I.M., Snyderman, R. (1992). (eds) *Inflammation: Basic Principles, Clinical Correlates*, 2° ed. Raven Press, New York
- Gandal, C.P., Dayton, P.G., Weiner, M., Perel, J.M. (1969). Studies with phenylbutazone, oxyphenbutazone and para-paradichloro phenylbutazone in horses. *Cornell Vet*, **59**(4), 577-580
- Garavito, R.M., DeWitt D.L. (1999). The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion arachidonic acid to prostaglandins. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1441**, 278-287
- Gaspari, F., Vigano, G., Locatelli, M., Remuzzi, G. (1988). Influence of antacid administrations on aspirin absorption in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. **11**(4), 338-342
- Gerring, E.L., Lees, P. (1981a). Pharmacokinetics of oxyphenbutazone in horses. *Equine Vet J* **13**, 152-157
- Gerring, E.L., Lees, P., Taylor, J.B. (1981b). Pharmacokinetics of oxyphenbutazone in horses. *Equine Vet J* **13**, 467- 476
- Giugliano, D. (1981). Acetylsalicylic acid in diabetes. *Lancet*. **1**(8219):560
- Gogny, M., Puyt, J.D. (1992). Activité thérapeutique des anti-inflammatoires non-stéroïdiens. *Rec Méd. Vét.***168** (8/9), 603-608
- Gold-Aubert (1979). Effects ulcerigenes compares de l'aspirine, de la phenylbutazone et de la suxibuzone chez le rat. Internal report. Institut de Recherches Pharmacologiques (IREP), Genève
- Gum, O.B., Luders, R.C. (1981). The pharmacokinetics of piroprofen. *Current Therap. Research*. **30** (suppl.1): S118-S122
- Gupta, K.C., Joshi, J.V., Hazari, K., Pohujani, S.M., Satoskar, R.S. (1982). Effect of low estrogen combination oral contraceptive on metabolism of aspirin and phenylbutazone. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*. **20** (11) 511-513

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Guthrie, A.J., Short, C.R., Swan, G.E., Mülders, M.S.G., Killeen, V.M., Nurton, J.P. (1996). Characterization of a sterile soft-tissue inflammation model in Thoroughbred horses. *J Vet Pharmacol Therap.* **19**, 44-49
- Hamor, G.H. (1984). Antiinflamatorios no esteroides. In. *Principios de Química Farmacéutica*. ISBN-84-291-7167-3, pp 587-619. Editorial Reverté. Barcelona
- Higgins, A.J., Lees, P. (1983). Phenylbutazone inhibition of prostaglandin E2 production equine inflammatory exudate. *Vet Rec* **113**, 622-623
- Higgins, A.J., Lees, P. (1984a). The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism, the mode action of antiinflammatory drugs. *Equine Vet J* **16** (3) 163-175
- Higgins, A.J., Lees, P. (1984b). Influence of Phenylbutazone on eicosanoid levels in acute inflammatory exudate. *Cornell Vet* **74**, 198-207
- Higgs, G.A., Moncada, S., Salmon, J.A., Seager, K. (1983). The source of thromboxane, prostaglandins in experimental inflammation. *Br J Pharmacol* **79**(4):863-868
- Holford, N.H.G., Sheiner, L.B. (1982). Kinetics of pharmacologic response. *Pharmacology and Therapeutics*. **16**, 143-166
- Houpt, K.A., Eggleston, A., Kunkle, K., Houpt, T.R. (2000). Effect of water restriction on equine behaviour and physiology. *Equine Vet J* **32** (4) 341-344
- Insel, P.A. (1998). Analgésicos-Antipiréticos y Antiinflamatorios, y fármacos Antigotosos. In. *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. GOODMAN & GILMAN. ISBN-970-10-1133-3, 9º Ed. Vol.I, pp 661-690. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México
- Jack, D.B. (1985). Factors contributing to variability in drug pharmacokinetics. III. Metabolism. *J Clinical and Hospital Pharmacy*, **10**, 25-43
- Jaraiz, V., Rodríguez, C., San Andrés, M.D., González, F., San Andrés, M.I. (1999a). Pharmacokinetics and bioequivalence of two suxibuzone oral dosage forms in horses. *J Vet Pharmacol Therap. Pharmacol Therap.* **22**, 247-254

-
- Jaraiz, V., Rodríguez, C., San Andrés, M.D., González, F., San Andrés, M.I. (1999b). Disposition and Tolerance of suxibuzone in horses. *Equine Vet J* **31**(5), 411-416
- Jenkins, W.L. (1987). Pharmacologic aspects of analgesic drugs in animals: An overview. *J Am Vet Med. Ass.* **191**, 1231-1240
- Jeffcott, L.B., Colles, C.M. (1977). Phenylbutazone and the horse: a review. *Equine Vet J.* **9**(3), 105-110
- Jenny, E., Steinijans, V. W., Seifert, P. (1979). Pharmacokinetic interaction of isopropylaminophenazone and phenylbutazone in the horse. *J Vet Pharmacol Therap.* **2**, 101-108
- Johnston, S.A., Fox, S.M. (1997). Mechanisms of action of anti-inflammatory medications used for the treatment of osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* **210**(10):1486-1492.
- Kallings, P. (1993). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin North Am Equine Pract.* **9**(3):523-541.
- Kanda, A., Mitani, N., Muramaki, H. Fujimura, H. (1980). Inhibitory effects of Suxibuzone on Prostaglandin synthesis. *Yakugaku Zasshi* **20**(5), 909-917
- Kaplan-Machlis, B., Storyk Klostemeyer B. (1999). The Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Safety and Effectiveness. *The Annals of Pharmacotherapy* **33**, 979-988
- Katori, M., Majima, M. (2000). Cyclooxygenase-2: its rich diversity of roles and possible application of its selective inhibitor. *Inflamm. Research* **49**, 367-392
- Kavanaugh, A.F., Davis, L.S., Nichols, L.A., Norris, S.H., Rothlein, R., Scharschmidt, L.A., Lipsky, P.E. (1994). Treatment of refractory rheumatoid arthritis with a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule. *Arthritis Rheum* **37**, 992-999
- Kellett, N. (1974). A comparison of the effects of suxibuzone and phenylbutazone on the gastric mucosa of the rat. Internal report, Huntingdon Research Centre, Cambridgeshire, England

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Kelly, W.N., Harris, E.D., Ruddy, S., Sledge, C.B., (eds) (1993). *Text book of Rheumatology*. 4ª Ed. W. B. Saunders, Philadelphia
- Kore, A.M., (1990). Toxicology of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* **120**(2):419-430
- Kulkarni S.K., Jain N.K., Singh A. (2000). Cyclooxygenase Isoenzymes and Newer Therapeutic Potential for Selective COX-2 Inhibitors. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol* **22** (5), 291-298
- Laik, S.L. (1982). PHENYLBUTAZONE. In. *Analytical Profiles of Drug Substances*. vol. **11**, pp 483-521. Editado por: Klaus Florey. Academic Press, New Jersey
- Lambert, M.T.B., Kelly, P.P. (1978). The binding of phenylbutazone to bovine, horse serum albumin. *Irish J Med. Sci.* **147**(6), 192-196
- Lands, W.E. (1981). Actions of antiinflammatory drugs. *Trends Pharmacol Sci.* **2** : 78-80
- Lees, P., Maitho, T.E., Taylor, J.B. (1985). Pharmacokinetics of phenylbutazone in two age of groups of ponies: A preliminary study. *Vet Rec* **116**, 229-232
- Lees, P., Higgins, A.J., Mawhinney, I.C., Reid, D.S. (1986a). Absorption of phenylbutazone from a paste formulation administered orally to the horse. *Res. Vet Sci.* **41**(2), 200-206
- Lees, P., Higgins, A.J., (1986b). Effects of a phenylbutazone paste in ponies: model of acute nonimmune inflammation. *Am J Vet Res.* **47**(11):2359-63.
- Lees, P., Taylor, J.B., Higgins, A.J., Sharma, S.C. (1986c). Phenylbutazone, oxyphenbutazone distribution into tissue fluids in the horse. *J Vet Pharmacol Ther.* **9**(2):204-12.
- Lees, P., Taylor, J.B., Maitho, T.E., Millar, J.D., Higgins, A.J. (1987). Metabolism, excretion, pharmacokinetics and tissue residues of phenylbutazone in the horse. *Cornell. Vet.* **2**, 192-211
- Lees, P., Taylor, J.B., Higgins, A.J., Sedgwick, A.D. (1988). In vitro and in vivo binding of phenylbutazone and related drugs to equine feeds and digesta. *Res. Vet Sci.* **44**(1), 50-56

-
- Lees, P., May, S.A., White, D. (1990). Pharmacokinetics and dosage regimens of anti-inflammatory drugs. *Ann. Rech. Vét.* **21** (1), 73-78
- Lees, P., May, S.A., McKellar, Q.A. (1991). Pharmacology and therapeutics of non-steroidal anti-inflammatory drugs in dog and cat: General pharmacology. *J Small Animal Practice* **32**, 183-193
- Leonard, R.F., Knott, P.J., Rankin, G.O., Robinson, D.S., Melnick, D. (1981). Phenytoin-salicylate interaction. *Clin Pharmacol Ther.* **29** (1):56-60.
- Levi, A.J., Sherlock, S., Walker, D. (1968). Phenylbutazone and isoniazid metabolism in patients with liver disease in relation to previous drug therapy. *Lancet.* **1**(7555):1275-1279
- Levine, R.L, Clark, B.B. (1982). Farmacología: Acciones y reacciones medicamentosas. Salvat Editores. ISBN 0-316-52226-0. Barcelona, pp 260
- Levy, M. (2000). Hypersensitivity to pyrazolones. *Thorax.* **55** Suppl 2:S72-4.
- MacAllister, C.G., Morgan, S.J., Borne, A.T., Pollet, R.A. (1993). Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine and ketoprofen in horses. *J Am Vet Med Assoc.* **202**(1):71-77
- Magnani, B., Malini, P.L. (1995). Cardiac glycosides. Drug interactions of clinical significance. *Drug Saf,* **12** (2): 97-109
- Maitho, T.E., Lees, P., Taylos J.B. (1986). Absorption and pharmacokinetics of phenylbutazone in Welsh Mountain ponies. *J Vet Pharmacol Therap.* **9**, 26-39
- Mandell, B.F. (1999). General tolerability and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med.* **13**;107(6A):72S-76S
- Marcus, F.I. (1985). Pharmacokinetic interactions between digoxin and other drugs. *J Am Coll Cardiol.* **5** (Suppl A):82A-90A.
- Marnett, L.J., Kalgutkar A.S. (1999). Cyclooxygenase 2 Inhibitors: discovery, selectivity and the future. *Tips.* **20**, 465-469
- Martinez, L. (1990). Effect of Suxibuzone on the urinary excretion prostaglandin F_{2α} in the rat. Internal Report Nr. BF-85/01. Lab. Dr. Esteve, Barcelona

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- McKellar, Q.A., Baggot, J.D., Cunningham, F.M., Evans, R.J., Lees, P., Nolan, A.M., Williams, R.B. (1995). *Toxicology and Pharmacology*. En: Higgins, A.J. & Wright, I.M. *The Equine Manual*. W.B. Saunders Company Ltd. London, 217-229
- Meade, E.A., Smith, W.L., DeWitt, D.L. (1993). Differential inhibition of prostaglandins endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol. Chem.* **268**, 6610-6614
- Meyers, K.M., Linder, C., Katz, J., Grant, B. (1979). Phenylbutazone Inhibition of equine platelet function. *Am J Vet Res.* **40** (2), 265-270
- Meibohm, B., Derendorf, H. (1997). Basic concepts of (PK/PD) pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling. *Int J Clin Ther.* **10**, 401-413
- Meot, F., Bonnet, J.M. (1992). Physiopathologie de l'inflammation. *Rec Méd Vét.* **168** (8/9), 559-564
- Merck (1996a). *The Merck Index*. 11th ed. Eds.: Merck & Co., Inc. Whitehouse station, N.J., USA, monografía n° 9185, pp 1542
- Merck (1996b). *The Merck Index*. 11th ed. Eds.: Merck & Co., Inc. Whitehouse station, N.J., USA, monografía n° 7431, pp 1254
- Merck (1996c). *The Merck Index*. 11th ed. Eds.: Merck & Co., Inc. Whitehouse station, N.J., USA, monografía n° 7106, pp 1196
- Merck (1998). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In. *The Merck Veterinary Manual*. 8th ed. Eds.: Merck & Co., Inc. Whitehouse station, N.J., USA, pp 1819-1825
- Mielke, C.H. Jr. (1983). Influence of aspirin on platelets and the bleeding time. *Am J Med.* **74**(6A):72-78
- Mills, P.C., Ng, J.C, Hrdlicka, J., Auer, D.E. (1995). Disposition and urinary excretion of phenylbutazone in normal and febrile greyhounds. *Res Vet Sci.* **59**(3):261-266
- Mills, P., NG, J., Auer, D. (1996). The effect of inflammation on the disposition of Phenylbutazone in Thoroughbred horses. *J Vet Pharmacol Therap.* **19**, 475-481

-
- Mitchell, J.A., Evans, T.W. (1998). Cyclooxygenase-2 as a therapeutic target. *Inflamm Res.* **47** (Suppl. 2), S88-S92
- Mizushima, Y., Shiokawa, Y., Honma, M., Hageyama, T. (1983). A double-blind comparison of suxibuzone, a prodrug of phenylbutazone in rheumatoid arthritis. *International journal of tissue reactions* **1**, 35-39
- Moore, J.N., Hardee, M.M., Hardee, G.E. (1986). Modulation of arachidonic acid metabolism in endotoxic horses: comparison of flunixin meglumine, phenylbutazone and a selective thromboxane synthetase inhibitor. *Am J Vet Res.* **47**(1):110-113.
- Nakano, S., Sudo, H., Nakagawa, K., Nishioka, Y. (1979). Chronic Toxicity Test of suxibuzone (4-butyl-4-(beta-carboxypropionyl-oxymethyl)-1, 2-diphenyl-3,5-pyrazolidinedione) with oral administration to rats. *Internal Report of TAIHO PHARMACEUTICAL*. Japón
- National Research Council (1998). Nutrient Requirements of horses. 8ªEd. National Academy Press. ISBN 0-309-03989-4
- Neuvonen, P.J., Kivisto, K.T. (1988). Effect of magnesium hydroxide on the absorption of tolfenamic and mefenamic acids. *Eur J Clin Pharmacol.* **35** (5):495-501
- Norman TR, Walker RG, Burrows GD. (1984). Renal function related changes in lithium kinetics. *Clin Pharmacokinet.* **9** (4):349-353
- Obach, R., Doménech, J. (1998). Biodisponibilidad En. *Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen II: Biofarmacia*. ISBN-84-7738-544-0, 1ª Ed. Vol. **II**, pp 19-41. Editorial Síntesis, Madrid
- Owens, J.G., Kamerling, S.G., Barker, S.A. (1995). Pharmacokinetics of ketoprofen in healthy horses and horses with acute synovitis. *J Vet Pharmacol Ther.* **18**, 187-195
- Perucca, E., Grimaldi, R., Crema, A. (1985). Interpretation of drug levels in acute and chronic disease states. *Clin Pharmacokinet.* **10** (6):498-513
- Peskar, B.M., Kleine, A., Pyras, F., Muller, M.K. (1986). Gastrointestinal toxicity. Role of prostaglandins and leukotrienes. *Med Toxicol.* **1**, Suppl 1: 39-43.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Piperno, E., Ellis, D.J., Getty, S.M., Brody, T.M. (1968). Plasma and urine levels of Phenylbutazone in the horse. *J Am Vet Med Assoc.* **153**, 195-198
- Pond, S.M., Birkett, D.J., Wade, D.N. (1977). Mechanisms of inhibition of tolbutamide metabolism: phenylbutazone, oxyphenbutazone, sulfaphenazole. *Clin Pharmacol Ther.* **22** : 573-579
- Powell-Jackson, P.R. (1977). Interaction between azapropazone and warfarin. *Br Med J* **1**(6070):1193-1194
- Pugh, M.C., Small, R.E., Garnett, W.R., Townsend, R.J., Willis, H.E. (1984). Effect of sucralfate on ibuprofen absorption in normal volunteers. *Clin Pharm.* **3** (6): 630-633
- Puyt, J.D., Gogny, M., Joseph-Enriquez, B. (1992). Les antiinflammatoires en médecine vétérinaire: Présentation générale et pharmacocinétique. *Recl Méd Vét.* **168** (8/9), 577-590
- Rao, B.N., Anderson, M.B., Musser, J.H., Gilbert J.H., Schaefer, M.E., Foxall, C., y Br, ley, B.K. (1994). Syalil Lewis X mimics derived from a pharmacophore search are selectin inhibitors with anti-inflammatory activity. *J Bio Chem.* **269**: 19663-19666
- Reed, G.A., Griffin, I.O., Eling, T.E. (1985). Inactivation of prostaglandin H synthase and prostacyclin synthase by phenylbutazone. Requirement for peroxidative metabolism. *Mol Pharmacol.* **27**(1):109-114
- Regardh, C.G. (1985). Factors contributing to variability in drug pharmacokinetics. IV. Renal excretion. *J Clinical and Hospital Pharmacy.* **10**, 337-349
- Robbins (1999). Celular Pathology I. Cell injury and cell death. In: *Pathologic basis of disease.* 6ª Ed. Eds: Cotran, R.S., Kumar, V. Collins, T. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, pp 1-30
- Rodríguez-Télez, M., Argüelles, F., Herrerías, J.M., Pedro, D., Esteban, J., Herrerías, J.M. (2001). Antiinflammatory Agents Less Dangerous for Gastrointestinal Tract. *Current Pharmaceutical Design.* **7**: 951-976
- Rose, R.J., Kohnke, J.R., Baggot, J.D. (1982). Bioavailability of phenylbutazone preparations in the horse. *Equine Vet J.* **14**(3):234-237

-
- Sabaté, D. (1999). La Suxibuzona como alternativa terapéutica a la Fenilbutazona en medicina equina: Estudio comparativo de ambos fármacos, administrados por vía oral en el caballo, en términos de eficacia clínica y tolerancia gastrointestinal. *Tesis doctoral*
- Said, S.A., Foda, A.M., (1989). Influence of cimetidine on the pharmacokinetics of piroxicam in rat and man. *Arzneimittelforschung*. **39** (7):790-792
- Scheiman, M.D. (1994). NSAID-induced peptic ulcer disease: a critical review of pathogenesis and management. *Dig Dis*. **12**(4):210-222
- Scheiman, M.D. (2001). The Impact of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug- Induced Gastropathy. *The American Journal of managed care*. **7**(1 Sup):S10-S14
- Semrad, S.D., Moore, J.N. (1987). Effects of a specific thromboxane synthetase inhibitor in equine endotoxaemia. *Res Vet Sci*. **43** (2):137-142
- Semrad, S.D., Sams, R.A., Harris, O.N. (1993). Effects of concurrent administration of phenylbutazone and flunixin meglumine on pharmacokinetic variables and in vitro generation of thromboxane B2 in mares. *Am J Vet Res*. **54** (11):1901-1905
- Serrano, J.S., Serrano, M.I. (1993). Fármacos antitérmicos-analgésicos y antiinflamatorios antigotosos. En: Farmacología 16ª ed. Eds: Velasco, A., Lorenzo, P. Serrano, J.S.&rés-Trellés, F. Velázquez, Interamericana McCraw-Hill, Madrid
- Shah, A.A., Fitzgerald D.J., Murray, F.E. (1999). Non-Steroidal Anti-Inflammatory (NSAIDs) and Gastrointestinal Toxicity: Current Issues. *Ir J Med Sc*. **168**, nº4, 242-245
- Sharma, S., Prasad, A., Anand, K.S. (1999). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the management of pain and inflammation: a basis for drug selection. *Am J Ther*. **6** (1), 3-11
- Shindo, T., Yasuda, Y., Taira, K., Mitani, N., K, a, A., Akazawa, A. (1979). The biological fate of suxibuzone antiinflammatory drug I. Plasma levels and urinary excretion after oral administration of suxibuzone. *Yakugazu Zasshi* **99** (12), 1186-1200

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Singh, B.N. (1999). Effects of Food on Clinical Pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinetic* **37** (3), 213-255
- Sirosis, J., Richards, J.S. (1992). Purification and characterization of a novel and distinct isoform of prostaglandin endoperoxide synthase induced by human chorionic gonadotropin in granulosa cells of rat preovulatory follicles. *J Biol. Chem.* **26**, 6382-6388
- Smith, P.B.W., Caldwell, J., Smith, R.L., Horner, M.W., Houghton, E., Moss, M.S. (1985). The disposition of phenylbutazone in the horse. *Biochemical Pharmacology*, **34**(3), 459-460
- Snow, D.H. (1983). Antiinflammatory agents. In: *Pharmacological basis of Large Animal Medicine*. Eds.: Bogan, J.A., Lee, P., Yoxal, A.T. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp 391-427
- Soma, L.R., Gallis, D.E., Davis, W.L., Cochran, T.A., Woodward, C.B. (1983). Phenylbutazone kinetics and metabolite concentrations in the horse after five days of administration. *Am J Vet Res.* **44**(11):2104-2109.
- Stashak, T.S. (1987). Chapter 3. Diagnosis of lameness. En Stashak, T.S. Adams. *Lameness i Horse* (4^aEd). Lea &Febiger. Philadelphia. 134 -135
- Stick, J.A. (1987). Laminitis. In: *Current Therapy in Equine Medicine 2*. Eds: Robinson, N.E.W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp 277-281
- Sullivan, M., Snow, D.H. (1982). Factors affecting absorption of non-steroidal anti-inflammatory agents in the horse. *Vet Rec.* **110**, 554-558
- Sullivan, K.M., Small, R.E., Rock, W.L., Cox, S.R., Willis, H.E. (1986). Effects of cimetidine or ranitidine on the pharmacokinetics of flurbiprofen. *Clin Pharm.* **5**, (7): 586-589
- Sweeney, K.R., Chapron, D.J., Brandt, J.L., Gomolin, I.H., Feig, P.U., Kramer, P.A. (1986). Toxic interaction between acetazolamide and salicylate: case reports and a pharmacokinetic explanation. *Clin Pharmacol Ther.* **40** (5):518-524.
- Taira, K., Yasuda, Y., Shindo, T., Mitani, N., Akazawa, A. (1980). The biological fate of suxibuzone antiinflammatory drug II. The biological fate of suxibuzone after daily oral administration. *Yakugaku Zasshi.* **100** (3), 272-279

-
- Taylor, J.B., Verrall, J.H., Ch, ler, N., Jones, R.D., Parker J. (1983). Clinical efficacy of a revised dosage schedule of phenylbutazone in horses *Vet Rec.* **113** (8), 183-184
- Tobin, T., Chay, S., Kamerling, S., Woods, W.E., Weckman, T.J., Blake, J.W., Lees, P. (1986). Phenylbutazone in the horse: a review. *J Vet Pharmacol Therap.* **9**, 1-25
- Toutain, P.L., Autefage, A., Legrand, C., Alvinerie, M. (1994). Plasma concentrations and therapeutic efficacy of phenylbutazone and flunixin meglumine in the horse: pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling. *J Vet Pharmacol Therap.* **6**, 459-469
- Urquhart, E. (1991). A comparison of synovial fluid concentrations of non-steroidal anti-inflammatory drugs with their in vitro activity. *Agents Actions.* **32**(3-4), 261-265
- Vane, J.R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as mechanism of action for aspirine-like drugs. *Nature (New Biol)* **231**, 232-235
- Vane, J.R. (1973). Prostaglandins and aspirin-like drugs. In: Pharmacology, the future of man. *Proceeding of the Fifth International Congress of Pharmacology*, Basel, **5**, 352-377
- Vane, J.R., Botting, R.M. (1990). The mode of action of anti-inflammatory drugs. *Postgrad Med J*, **66**, Suppl.4, S2-17
- Vane, J.R., Botting, R.M. (1998). Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm res.* **47**, Suppl.2, S78-S87
- Verbeeck, R.K. (1990). Pharmacokinetic drug interactions with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Pharmacokinetic.* **19** (1), 44-66
- Zweers-Zeilmaker, W.M., Horbach, G.J., Witkamp, R.F. (1997). Differential inhibitory effects of phenytoin, diclofenac, phenylbutazone and a series of sulfonamides on hepatic cytochrome P4502C activity in vitro, and correlation with some molecular descriptors in the dwarf goat (*Caprus hircus aegagrus*). *Xenobiotica.* **27** (8):769-780

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Wallace J.L. (1999). Distribution and Expression of Cyclooxygenase (CO25X) Isoenzymes, their Physiological Roles and Categorization of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). *The American Journal of Medicine*. **107**(6A), 11S-16S
- Warner, T., Giuliano, F., Vojnovic, I., Bukasa, A., Mitchell, J., Vane, J.R. (1999). Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full *in vitro* analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **96**, 7563-7568
- Whittle, B.J., Vane, J.R. (1984). A biochemical basis for the gastrointestinal toxicity of non-steroid antirheumatoid drugs. *Arch Toxicol Suppl*. **7**: 315-322
- Yasuda, Y., Shindo, T., Mitani, N., Ishida, N., Oono, F., Kageyama, T. (1982). Comparison of the absorption, excretion and metabolism of suxibuzone and phenylbutazone in humans. *J Pharm Sci*. **71**(5), 565-572
- Yoshida, R., Fukunaga, Y., Miyoshi, O., Inubushi, M., Morinaga H., Morita K. (1980). Studies of subacute toxicity of suxibuzone (4-butyl-4-(beta-carboxypropionyl-oxymethyl)-1, 2-diphenyl-3,5-pyrazolidinedione) on oral administration to dogs. *Pharmacometric*. **19** (4): pp. 581-601
- Xie, W., Robertson, D.L., Simmons, D.L.(1992). Mitogen-induced prostaglandin G/H synthase: a novel target for nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Drug Dev Res*. **25**, 249-265
- Zech, R., Scherkl, R., Hashem, A., Frey, H.H. (1993). Plasma and tissue kinetics of phenylbutazone and naproxen in dogs. *Arch Int Pharmacod T*. **325**, 113-128

ANEXO: MÉTODO Y VALIDACIÓN
ANALÍTICA

A1 . METODO ANALITICO

A1.1. Preparación de muestras

Las muestras plasmáticas y de líquido sinovial se dejaron descongelar a temperatura ambiente. A 500 μL de la muestra se le añadió 25 μL de una solución metanólica de estándar interno (Indometacina; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y 700 μL de tampón citrato a pH 2. Se agitó 5 segundos en un vórtex y en caso de observarse turbidez se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Siguiendo el método descrito por Caturra et al. 1992¹ con ligeras modificaciones.

Diariamente se preparó una curva de calibración. La tabla de concentraciones ($\mu\text{g}/\text{mL}$) utilizadas para las distintas sustancias a determinar fue la siguiente:

Patrón	Oxifenbutazona	Suxibuzona	Fenilbutazona
A	0.1	0.2	0.1
B	0.5	0.5	0.5
C	1	1	1
D	5	5	5
E	10	10	10
F	25	25	25
G	50	50	50

A1.2. Extracción de las muestras

La extracción de las muestras de caballo se realizó haciendo uso del sistema de extracción sólido-líquido, utilizando cartuchos con relleno de C18.

¹ Caturra, M.C., Cusido, E. (1992) Solid-phase extraction for the high-performance liquid chromatographic determination of indomethacin, suxibuzone, phenylbutazone and oxyphenbutazone in plasma, avoiding degradation of compounds. *J Chromatogr.* 2;581(1):101-107.

Al cartucho previamente acondicionado con 5 mL de metanol y 5 mL de agua, se le pasó la muestra previamente tratada y a la que se le había añadido el estándar interno. Posteriormente, se lavó el cartucho con 5 mL de agua y se dejó secar.

Los productos retenidos se eluyeron con 5 mL de hexano:éter (50:50, v/v) en un tubo de fondo cónico para evaporarlo a sequedad en corriente de N₂ a 40°C. El residuo seco se redisolvió en 200 µl de metanol y se introdujo en el vial del inyector automático para su análisis.

A1.3. Cromatografía líquida de alta resolución

Para el análisis de las muestras se utilizó un equipo de cromatografía líquida consistente en: Inyector automático de muestras (Waters 717), bomba de alta presión (Waters 515), detector ultravioleta (Waters 486); utilizando un equipo informático (Venturis FX computer Digital) con una impresora HP Laserjet 4L, Hewlett Packard.

La adquisición e integración de los datos fue realizada con la ayuda del software Millennium³² Chromatography Manager, version 3.05.01, Waters.

La fase móvil usada fue una mezcla de agua y acetonitril en una proporción de 56:44, v/v ajustado a pH 3 con ácido sulfúrico. La velocidad de flujo fue de 1.5 mL/min. En estas condiciones el tiempo de retención de la Suxibuzona fue de 7.4 min., de 4.7 min. para la Oxifenbutazona, de 11 min. para la Fenilbutazona y sobre los 9 min. para el estándar interno (Indometacina), aproximadamente.

La lectura de las muestras se realizó en un detector UV/Visible a la longitud de onda de 250 nm.

En los cromatogramas, los picos de los productos a determinar y el estándar interno se cuantificaron y se archivaron mediante el software antes mencionado. La cuantificación se realizó mediante la integración de las áreas bien de forma automática o manual, obteniéndose la concentración plasmática por medio de la curva de calibración incluida en el método.

A1.4. Controles de calidad

A1.4.1. Controles de calidad del sistema cromatográfico

Cada día se inyectó por duplicado una solución metanólica que contenía una concentración conocida de los patrones de Oxifenbutazona, Suxibuzona y Fenilbutazona, junto a la Indometacina y se calculó la concentración con la curva que se realizó al inicio de la preparación de todas las soluciones. El valor de la concentración debía figurar entre el 80-120% del valor teórico del patrón preparado.

A1.4.2. Controles de calidad de las muestras

Los controles de calidad de las muestras fueron preparadas añadiendo a plasma sin producto, cantidades conocidas de Suxibuzona, Oxifenbutazona, Fenilbutazona y estándar interno. Estos controles fueron colocados de forma intercalada entre las muestras y su concentración real fue determinada con la ayuda de la recta de calibración diaria. El valor de concentración obtenido para estas muestras debía de encontrarse entre el 75-125% del valor teórico del patrón preparado.

A1.5. Análisis del líquido sinovial

Para el análisis del líquido sinovial se ha utilizado el mismo método analítico que el descrito y validado para el plasma, previa confirmación de que no existían interferencias debida a la matriz, utilizando controles con estándar interno para la cuantificación de Suxibuzona, Fenilbutazona y Oxifenbutazona.

En las figuras A-1 a la A-4 se pueden observar los cromatogramas obtenidos en los blancos de plasma y a distintas concentraciones de Suxibuzona, Fenilbutazona y Oxifenbutazona.

Fig. A-1: Cromatograma obtenido de una muestra de plasma blanco de caballo.

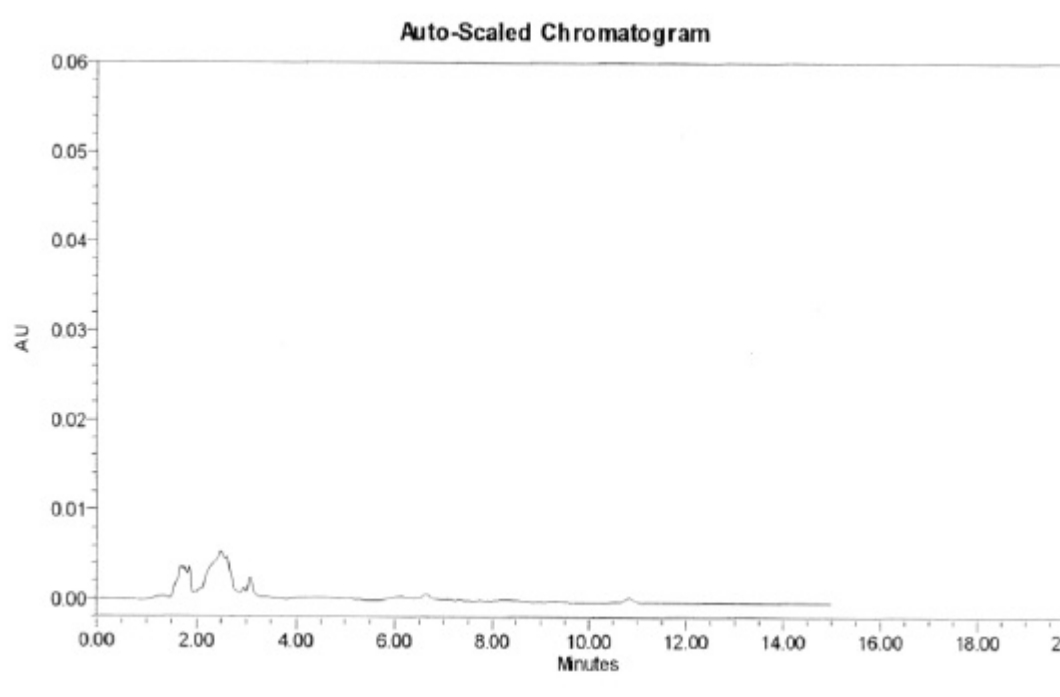


Fig. A-2: Cromatograma obtenido de una muestra de plasma blanco de caballo al que se le ha añadido el estándar interno (Indometacina).

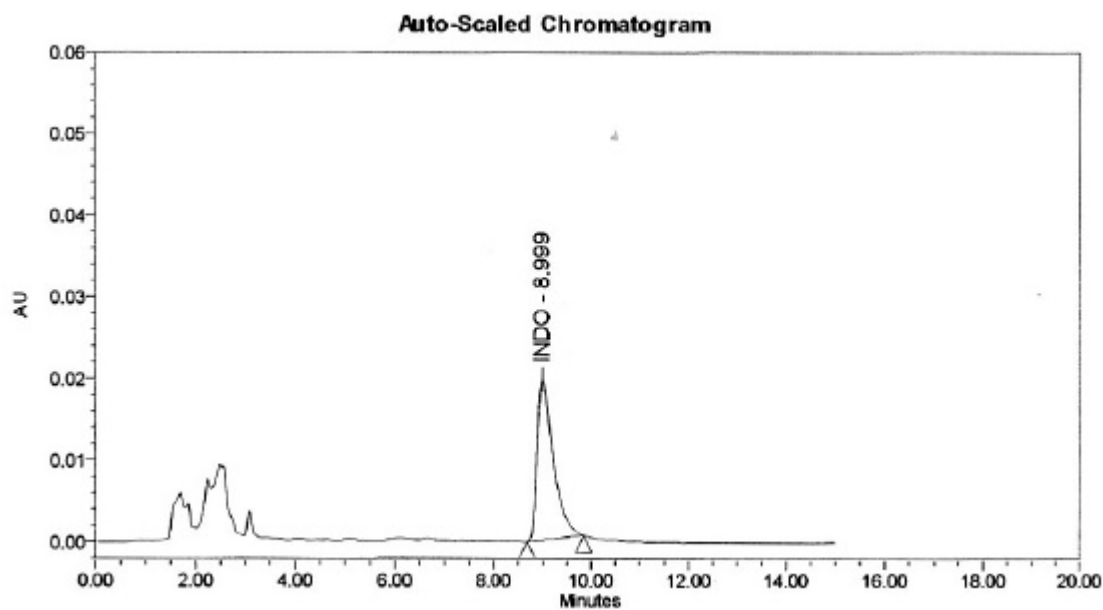


Fig. A-3: Cromatograma obtenido de una muestra de plasma blanco de caballo al que se le han añadido la concentración de 0.5 µg/mL de Suxibuzona, Fenilbutazona y Oxifenbutazona.

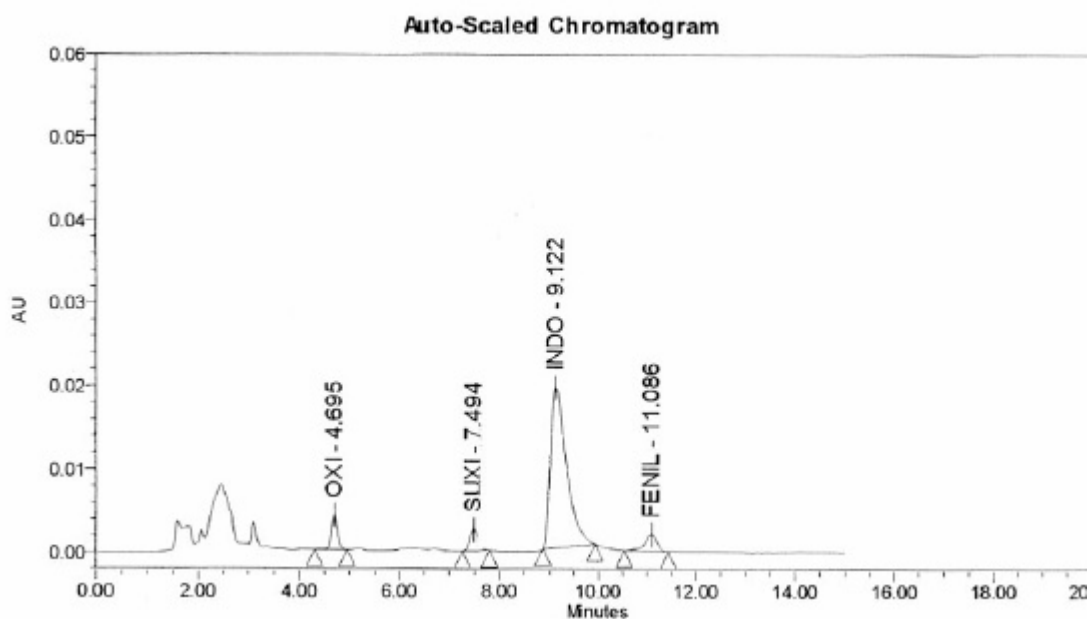
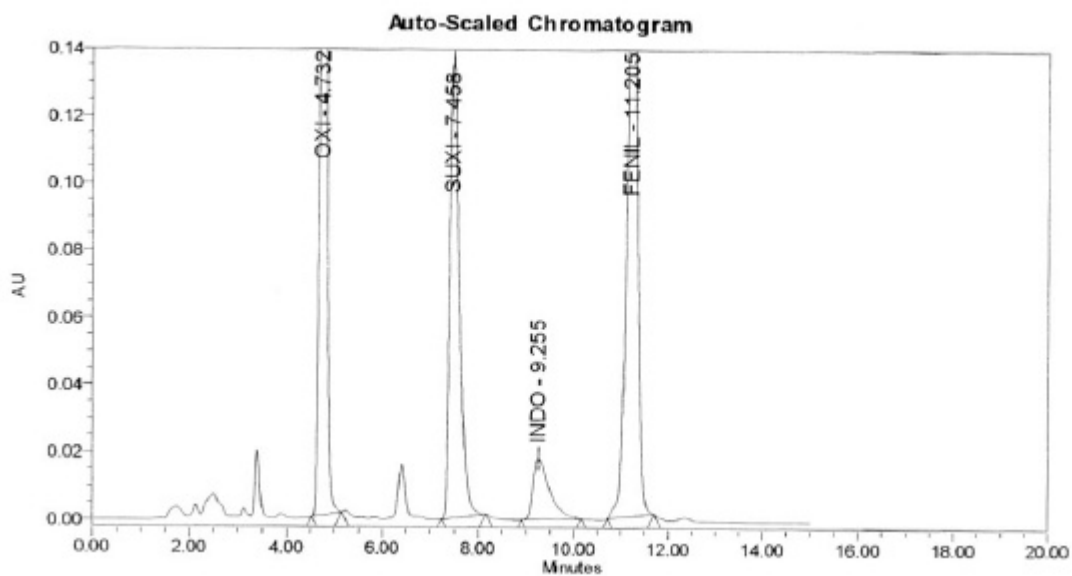


Fig. A-4: Cromatograma obtenido de una muestra de plasma blanco de caballo al que se le han añadido la concentración de 25 µg/mL de Suxibuzona, Fenilbutazona y Oxifenbutazona.



A2 . VALIDACIÓN ANALÍTICA

Para la validación del método de análisis cromatográfico de Suxibuzona, Fenilbutazona y Oxifenbutazona se han determinado los siguientes parámetros:

- Linealidad
- Precisión y exactitud intra-días
- Precisión y exactitud inter-días
- Límite de cuantificación
- Especificidad
- Estabilidad
- Recuperación

A2.1. Linealidad

Para establecer la linealidad, se ha calculado la ecuación de la curva de calibración entre el cociente de áreas (substancia test/estándar interno) frente a la concentración teórica de la substancia test por regresión lineal de mínimos cuadrados ponderando por $1/x^2$.

Se calculó el coeficiente de correlación para cada curva en el rango de concentraciones siguientes: 0.2-50 $\mu\text{g/mL}$ para Suxibuzona y 0.1-50 $\mu\text{g/mL}$ para Oxifenbutazona y Fenilbutazona (Tablas A-1, A-5 y A-9) y la exactitud para cada concentración utilizada (Tablas A-2, A-6 y A-10).

A2.2. Precisión y exactitud intra-día y entre-días

La precisión refleja la variabilidad en los resultados obtenidos en el análisis de las muestras de la misma concentración dentro del mismo día y en distintos días siguiendo el mismo método.

La exactitud refleja la proximidad entre el valor medido y el teórico.

La precisión y la exactitud del método se expresan como el coeficiente de variación (C.V. %) y la media del error relativo (e%) de los valores obtenidos en el mismo día (intra-día) o en diferentes días (entre-días).

La precisión y la exactitud se determinaron a partir de los controles de calidad a tres concentraciones diferentes en tres días distintos, realizándolos por quintuplicado el primer día y por triplicado los días segundo y tercero.

Los resultados obtenidos diariamente se engloban en las Tablas A-3, A-7 y A-11. En las Tablas A-4, A-8 y A-12 se observan los resultados globales de los tres días.

A2.3. Límite de cuantificación

El límite de cuantificación se corresponde con la concentración más baja de la curva de calibración cuya precisión y exactitud es aceptable, siendo de 0.2 µg/mL para Suxibuzona, 0.1 µg/mL para Oxifenbutazona y Fenilbutazona. Tal como se muestra en las Tablas A-3, A-7 y A-11 en ningún caso los coeficientes de variación ni la exactitud calculada tuvieron una variación superior al 20%.

A2.4. Especificidad

La especificidad del método fue verificada a lo largo del estudio mediante el análisis del plasma basal (blanco) de cada caballo.

No se detectaron interferencias significativas para Suxibuzona, Oxifenbutazona y Fenilbutazona en los tiempos de retención del plasma blanco obtenido de dos caballos diferentes y analizado durante el proceso de la validación.

A2.5. Estabilidad

Durante el almacenaje, Suxibuzona, Oxifenbutazona y Fenilbutazona fueron estables en plasma a 25°C (aprox.). A fin de poder verificar dicha estabilidad en esas condiciones se prepararon controles de calidad en plasma (de baja, media y alta concentración) y se almacenaron en las mismas condiciones que las muestras de caballo. Los controles y las muestras se analizaron simultáneamente.

A2.6. Recuperación

El método de recuperación se calculó a diferentes concentraciones comparando extractos de plasma.

El método de recuperación para Suxibuzona, Oxifenbutazona y Fenilbutazona entre 0.1 y 50 µg/mL fue del 76.6%, 70.7% y 72.6% respectivamente.

Estos valores fueron suficientes para la lectura de los límites de cuantificación.

En las tablas siguientes se resumen los resultados obtenidos en la validación:

SUXIBUZONA**Linealidad****Tabla A-1**

Concentración teórica (µg/mL)	Curva nº 1		Curva nº 2		Curva nº 3	
	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)
0.2	0.195	-2.3	0.195	-2.2	0.208	4.0
0.5	0.53	5.6	0.54	7.5	0.48	-4.8
1	1.02	2.5	0.96	-3.6	0.88	-12.0
5	4.57	-8.6	4.84	-3.3	5.35	7.1
10	9.34	-6.5	10.12	1.2	9.89	-1.1
25	25.48	1.9	25.17	0.7	25.56	2.3
50	53.70	7.4	49.83	-0.3	52.25	4.5

Tabla A-2

		Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación (r ²)
Curva nº 1	Curva entre 0.2 50 µg/mL	0.169	-0.020	0.995
Curva nº 2	Curva entre 0.2 50 µg/mL	0.180	-0.023	0.998
Curva nº 3	Curva entre 0.2 50 µg/mL	0.185	-0.031	0.994

Precisión y exactitud intra-día (Suxibuzona)

Tabla A-3

Resultados día 1:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.2	0.19	0.003	1.5	-6.0
5	4.67	0.06	1.2	-6.6
50	54.72	0.35	0.6	9.4

Resultados día 2:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.2	0.19	0.002	0.8	-4.2
5	4.94	0.03	0.7	-1.2
50	49.34	0.22	0.4	-1.3

Resultados día 3:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.2	0.21	0.002	0.8	3.5
5	5.26	0.07	1.4	5.2
50	51.70	0.45	0.9	3.4

Precisión y exactitud inter-día (Suxibuzona)**Tabla A-4**

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.2	0.20	0.01	5.1	-2.2
5	4.96	0.30	6.0	-0.9
50	51.92	2.70	5.2	3.8

OXIFENBUTAZONA**Linealidad****Tabla A-5**

Concentración teórica (µg/mL)	Curva nº 1		Curva nº 2		Curva nº 3	
	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)
0.1	0.104	3.8	0.104	3.8	0.101	1.0
0.5	0.43	-14.5	0.43	-14.3	*	*
1	0.91	-9.0	0.92	-8.0	0.93	-7.3
5	4.84	-3.2	4.44	-11.2	4.31	-13.7
10	10.24	2.4	10.41	4.1	9.65	-3.5
25	27.64	10.6	28.10	12.4	27.50	10.0
50	54.98	10.0	56.61	13.2	56.77	13.5

Tabla A-6

		Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación (r ²)
Curva nº 1	Curva entre 0.1 50 µg/mL	0.222	-0.015	0.990
Curva nº 2	Curva entre 0.1 50 µg/mL	0.226	-0.018	0.986
Curva nº 3	Curva entre 0.1 50 µg/mL	0.240	-0.022	0.989

Precisión y exactitud intra-día (Oxifenbutazona)**Tabla A-7****Resultados día 1:**

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.10	0.001	1.2	4.0
5	4.90	0.07	1.5	-2.0
50	56.13	0.55	1.0	12.3

Resultados día 2:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.11	0.002	2.2	6.7
5	4.50	0.03	0.7	-10.1
50	56.28	0.25	0.4	12.6

ANEXO: MÉTODO Y VALIDACIÓN ANALÍTICA

Resultados día 3:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.10	0.001	0.6	2.7
5	4.44	0.01	0.1	-11.1
50	56.15	0.55	1.0	12.3

Precisión y exactitud inter-día (Oxifenbutazona)

Tabla A-8

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.11	0.002	2.0	4.7
5	4.61	0.25	5.4	-7.7
50	56.19	0.08	0.1	12.4

FENILBUTAZONA**Linealidad****Tabla A-9**

Concentración teórica (µg/mL)	Curva nº 1		Curva nº 2		Curva nº 3	
	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)	Concentración medida (µg/mL)	Exactitud e (%)
0.1	0.104	3.5	0.104	4.3	0.101	1.4
0.5	0.43	-13.3	0.43	-14.0	*	*
1	0.91	-8.6	0.85	-14.5	0.87	-13.1
5	4.77	-4.6	4.29	-14.2	4.48	-10.5
10	10.15	1.5	11.04	10.4	10.21	2.1
25	27.65	10.6	28.33	13.3	26.70	6.8
50	55.43	10.9	57.32	14.6	56.61	13.2

Tabla A-10

		Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación (r ²)
Curva nº 1	Curva entre 0.1 50 µg/mL	0.216	-0.015	0.990
Curva nº 2	Curva entre 0.1 50 µg/mL	0.209	-0.020	0.979
Curva nº 3	Curva entre 0.1 50 µg/mL	0.210	-0.019	0.989

Precisión y exactitud intra-día (Fenilbutazona)

Tabla A-11

Resultados día 1:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.11	0.003	2.6	5.6
5	4.84	0.07	1.5	-3.3
50	56.87	0.58	1.0	13.7

Resultados día 2:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coefficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.12	0.004	3.0	15.3
5	4.60	0.03	0.7	-8.1
50	57.25	0.11	0.2	14.5

Resultados día 3:

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.10	0.004	3.9	3.7
5	5.10	0.14	2.7	2.1
50	55.84	0.12	0.2	11.7

Precisión y exactitud inter-día (Fenilbutazona)**Tabla A-12**

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración medida media (µg/mL)	D.S.	Coficiente de variación (%)	Exactitud e (%)
0.1	0.11	0.01	5.4	8.3
5	4.85	0.25	5.2	-3.1
50	56.66	0.73	1.3	13.3