HIERDIE EKSEMPLAAR MAG ONDER GEEN OMSTANDIGHEDE UIT DIE BIBLIOTEEK VERWYDER WORD NIE

U.O.V.S. - BIBLIOTEEK
198505159101220000019

19850515 91 01

'N ONDERSOEK NA DIE WISSELWERKING VAN NATRIUMDIKLOFENAK EN ASETIELSALISIELSUUR IN DIE MENS

~~Tabel 4.2.2.3(a) bl. 60~~

DOUW GERBRANDT MüLLER

Verhandeling voorgelê om te voldoen aan die vereistes vir die graad M.Med.Sc. in die Fakulteit van Geneeskunde (departement Farmakologie) aan die Universiteit van die Oranje-Vrystaat

1980

BEDANKINGS

Baie dankie aan:

1. Professor F.O. Müller, my promotor, vir die baie bekwame hulp en leiding wat ek van hom ontvang het.

2. Professor H.K.L. Hundt vir sy lewendige belangstelling en waardevolle hulp wat hy te enige tyd tot my beskikking gestel het.

3. Dr. J.M. Steyn en Mnr. O.R. van Reenen vir hulp verleen met analises van monsters.

4. Mev. Ina Loppnow vir die baie bekwame wyse waarop hierdie verhandeling getik is.

5. My ouers wat deur hul harde werk en inspirasie my die geleentheid gebied het om te studeer.

6. My vrou, Linda, vir haar ondersteuning en inspirasie.

7. My Skepper, wat deur Sy genade my die vermoë en geleenthede gebied het.

INHOUDSOPGAWE

Bladsy

OPSOMMING 1

TERMINOLOGIE 3

HOOFSTUK 1

Doelstelling 4

1.1 Histories 4

1.1.1 Asetielsalisielsuur 4

1.1.2 Natriumdiklofenak 5

1.2 Chemie 5

1.2.1 Salisilate 5

1.2.2 Natriumdiklofenak 7

1.2.3 Chemiese struktuurformules van verwante nie-steroïed anti-inflammatoriese middels 8

1.3 In vivo studies uitgevoer met aspirien en verwante nie-steroïed anti-inflammatoriese middels 9

1.3.1 Farmakodinamiese studies 9

1.3.1.1 Proefdiere 9

1.3.1.1.1 Diklofenak 9

1.3.1.1.2 Sudoksikam 9

1.3.1.1.3 Fenielbutasoon en Indometasien 9

1.3.1.1.4 Naproksien 10

1.3.1.2 Die mens 10

1.3.1.2.1 Diklofenak 10

1.3.1.2.2 Indometasien 10

1.3.2 Farmakokinetiese studies 11

1.3.2.1 Proefdier studies 11

1.3.2.1.1 Diklofenak 11

1.3.2.1.2 Sudoksikam 12

1.3.2.1.3 Indometasien 12

1.3.2.2 Studies in mense 13

1.3.2.2.1 Diklofenak 13

1.3.2.2.2 Sudoksikam 15

1.3.2.2.3 Naproksien 15

1.3.2.2.4 Fenoprofen 16

1.3.2.2.5 Indometasien 19

Bladsy

1.4 In vitro studies uitgevoer op nie-steroïed anti-inflammatoriese middels 22

1.4.1 Proteïenbinding 22

1.4.1.1 Naproksien 22

1.4.1.2 Fenoprofen 22

HOOFSTUK 2

2.1 Studie om probleem te bevestig 23

2.2 Studies om die aard van 'n waargenome wisselwerking in die mens (Proef U.O.V.S. 5/75) te ondersoek 23

2.2.1 In vitro studies 23

2.2.1.1 Proteïenbindingstudies 23

2.2.2 In vivo studies 24

2.2.2.1 Kliniese proef U.O.V.S. 6/76 24

2.2.2.2 Ondersoek na die voorkoms van diklofenak in gal 25

2.2.2.3 Kliniese proef met ^{14}C-natriumdiklofenak 26

HOOFSTUK 3

3.1 In vitro studies 28

3.1.1 Binding van diklofenak aan plasmaproteïene en die invloed van asetielsalisielsuur en salisielsuur daarop 28

3.1.1.1 Reagense 28

3.1.1.2 Apparaat 29

3.1.1.3 Voorbereiding van die filtreermembraan 29

3.1.1.4 Metode 29

3.1.2 Bepaling van diklofenak in biologiese vloeistowwe 32

3.1.2.1 Chemiese bepalingsmetode vir diklofenak 32

3.1.2.2 Eksperimenteel 34

a. Reagense 34

b. Ekstraksie en derivatisasie 34

c. Hidrolise van biologiese vloeistowwe 35

d. Gas-vloeistofchromatografie 35

e. Kalibrasiekurwe 35

f. Bepaling van die hemoglobienkonsentrasie in bloed 36

g. Kwantitatiewe analise van radio-aktiewe monsters 36

Bladsy

3.1.3 Ondersoek na die metaboliete van diklofenak in plasma 36

3.1.3.1 Ekstraksieprosedure 36

3.1.3.2 Hoëdruk-vloeistofchromatografie 40

3.1.3.3 Identifisering van die indoolmetaboliet van diklofenak in plasma 40

3.2 In vivo studies 42

3.2.1 Vrywillige proefpersone 42

3.2.2 Standaardisasie van proewe 42

3.2.3 Monsterversameling 42

3.2.3.1 Bloed 42

3.2.3.1.1 Voorbereiding van bloedmonsters 43

3.2.3.2 Urine 43

3.2.3.3 Gal 43

3.2.3.4 Stoelgang 44

3.2.4 Doseringsvorme 44

a. Natriumdiklofenak 44

b. ^{14}C-natriumdiklofenak 44

c. Asetielsalisielsuur 44

HOOFSTUK 4

4.1 Studie om probleem te bevestig 45

4.2 Studies om die klinies-waargenome wisselwerking te verklaar 48

4.2.1 In vitro studies 48

4.2.1.1 Binding van diklofenak aan plasmaproteïene en die invloed van asetielsalisielsuur en salisielsuur daarop 48

4.2.2 In vivo studies 50

4.2.2.1 Kliniese proef U.O.V.S. 6/76 - Ondersoek na die diklofenakplasmakonsentrasies verkry na intra-muskulêre toediening daarvan in die aan- en afwesigheid van asetielsalisielsuur. 50

a. Konsentrasie diklofenak in die plasma 50

b. Konsentrasie diklofenak in urien 50

c. Hoeveelheid diklofenak in rooibloedselle 55

4.2.2.2 Kliniese proef: voorkoms van diklofenak in gal 55

Bladsy

4.2.2.3 Orale en intraveneuse toediening van ^{14}C-natriumdiklofenak in die afwesigheid en in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur 59

a. Plasmakonsentrasies 59

b. Urienuitskeiding 62

c. Hoeveelheid ^{14}C-diklofenak in die stoelgang 68

d. Ondersoek na die metaboliete van diklofenak in plasma 68

BIBLIOGRAFIE 72

OPSOMMING

Die moontlikheid van 'n farmakokinetiese wisselwerking tussen natriumdiklofenak en asetielsalisielsuur in die mens, na gesamentlike inname van die twee geneesmiddels, is ondersoek. Ook is moontlike meganismes van so 'n wisselwerking ondersoek. Dit is gevind dat aspirien 'n daling van sowat 75% in die Cmax en nagenoeg 50% in die AUC van diklofenak in die mens tot gevolg het.

Die binding van natriumdiklofenak aan plasmaproteïene en die invloed van asetielsalisielsuur daarop, is met behulp van 'n ultrafiltrasietegniek ondersoek. Dit is gevind dat diklofenak 99,3% gebonde is aan plasmaproteïene. Asetielsalisielsuur het geen invloed gehad op hierdie binding nie. Salisielsuur het egter 'n toename van 38% in die vrye diklofenak tot gevolg gehad.

Die diklofenak-inhoud van rooibloedselle is ondersoek in die afwesigheid en in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur. Geen verandering in die hoeveelheid diklofenak kon aangetoon word nie. Dit wil dus voorkom asof die distribusievolume van diklofenak nie deur asetielsalisielsuur beïnvloed word nie.

'n Ondersoek na die uitskeiding van diklofenak in gal van menslike pasiënte in die teenwoordigheid van aspirien, is uitgevoer. Geen toename in galvloei in die teenwoordigheid van aspirien kon aangetoon word nie. Geen verhoging in die uitskeiding van diklofenak in die teenwoordigheid van aspirien kon aangetoon word nie. Dit is gevind dat maar sowat 0,3% van die dosis van diklofenak deur die gal uitgeskei word.

'n Verdere ondersoek met orale en intraveneuse ^{14}C-natriumdiklofenak toediening, tesame met of sonder aspirien, het geen verskille in die oppervlakte onder die diklofenak konsentrasie-tyd krommes aangetoon nie. Hierdie verskynsel was waarskynlik as gevolg van 'n maskereffek deur die metaboliete van diklofenak. Die oksindoolvorm van

diklofenak is in die plasma geïdentifiseer. Redelik groot konsentrasies van die oksindoolvorm is aangedui na beide orale en intraveneuse toedienings. Die totale kumulatiewe diklofenakuitskeiding het aangetoon dat minder diklofenak en metaboliete in die urine verskyn wanneer aspirien toegedien word as wanneer diklofenak alleen gedoseer word.

Ter verklaring van die resultate gevind, word twee hipoteses voorgestel naamlik :(a) dat diklofenak pre-sistemies gebiotransformeer word en/of (b) dat diklofenak baie vinnig en tot 'n groot mate in die sogenaamde "first pass effect" gebiotransformeer word, en dat die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur en/of salisielsuur hierdie proses(se) "katalities" beïnvloed.

TERMINOLOGIE

Afkortings word vir die volgende begrippe in die verhandeling gebruik.

1. C_{max} - Dit verwys na die maksimum plasmakonsentrasie van 'n geneesmiddel wat bereik is na orale of parenterale toediening..

2. T_{max} - Dit verwys na die tyd na toediening van die geneesmiddel waarop maksimum plasmakonsentrasie verkry is.

3. AUC - Dit verwys na die totale oppervlakte onder die konsentrasie-tyd krommes, bereken volgens 'n trapesoïdale metode.

4. $t_{\frac{1}{2}}$ - Dit verwys na die tydsverloop benodig vir 'n gegewe plasmakonsentrasie van die onderhawige geneesmiddel en/of dié se metaboliet(e) om met 50% te verminder.

HOOFSTUK I

INLEIDING EN LITERATUUROORSIG

Doelstelling:
Die doel van hierdie ondersoek was om vas te stel hoe asetielsalisielsuur (aspirien) toediening aan die mens, indien enigsins, die farmakokinetika van diklofenak beïnvloed.

'n Farmakokinetiese wisselwerking tussen asetielsalisielsuur en natriumdiklofenak sou nie onverwags wees nie, aangesien verskeie ander nie-steroïed karboksielsuuranaloë anti-inflammatoriese middels beskryf is om wisselwerking met asetielsalisielsuur te toon.

Sudoksikam, 'n nie-steroïed anti-inflammatoriese middel (1) wat van ander soortgelyke middels verskil daarin dat dit 'n enoliese suurgroep bevat, toon geen wisselwerking met aspirien in die mens nie, maar wel in proefdiere (2).

Naproksien, ook 'n nie-steroïed anti-inflammatoriese middel (3) met analgetiese eienskappe (4),(5), toon wel 'n wisselwerking met aspirien in die mens (6). Fenoprofen behoort tot hierdie middels (7), (8), (9), (10) en het ook 'n wisselwerking met aspirien in die mens getoon (11).

Indometasien is reeds in 1868 as 'n anti-inflammatoriese middel gebruik (12). Wisselende resultate wat betref 'n wisselwerking tussen indometasien en aspirien is verkry (13), (14), (15) en (16).

1.1 HISTORIES

1.1.1 ASETIELSALISIELSUUR

Die bas van die wilgerboom (Salisa alba) is reeds van die vroegste tye bekend vir sy anti-piretiese eienskap. Leroux het reeds in 1827 'n glikosied, met die naam salisien, uit die bas geëkstraheer. In 1838 maak Piria salisielsuur vanaf salisien en in 1843 vervaar-

dig Cahours salisielsuur vanaf gautheria-olie. Die sintetiese vervaardiging van hierdie suur vanaf fenol is in 1860 deur Kolbe en Lauteman uitgevoer.

Buss het in 1875 natriumsalisilaat gebruik as 'n anti-piretiese middel en by die behandeling van rumatiekkoors. In 1879 het Sèe waargeneem dat salisilate die urienuitskeiding van uriensuur versnel.

Campbell het in 1879 reeds hierdie eienskap gebruik in die behandeling van jig.

Fenielsalisilaat is vir die eerste keer in 1886 deur Nencki, in die medisyne gebruik, terwyl aspirien in 1899 deur Dreser bekend gestel is.

1.1.2 NATRIUMDIKLOFENAK

Natriumdiklofenak (Voltaren[+]) is 'n relatief nuwe nie-steroïed anti-inflammatoriese middel wat deur Ciba-Geigy, Basle, Switzerland, ontwikkel is.

1.2 CHEMIE

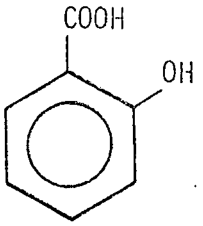
1.2.1 SALISILATE

Daar bestaan hoofsaaklik twee klasse, naamlik:

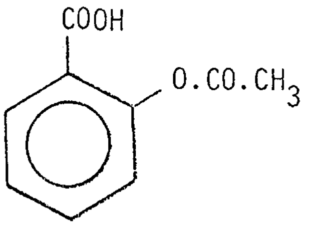
(a) die esters van salisielsuur gevorm deur kondensasie reaksies by die karboksielgroep, en

(b) salisilaat esters van die organiese sure waar die karboksielgroep van salisielsuur behou word, terwyl kondensasie kan plaasvind aan die OH-groep.

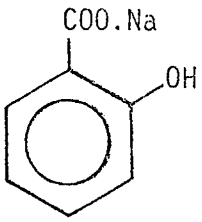
[+] Handelsnaam soos bemark deur Ciba-Geigy.



Salisielsuur



Asetielsalisielsuur

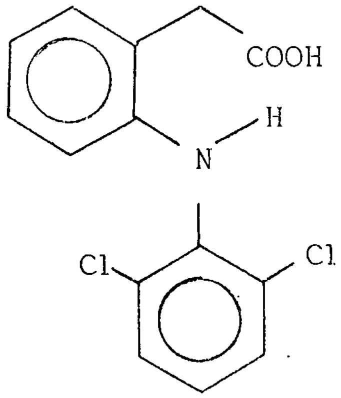


Natriumsalisilaat

Figuur 1.1 Chemiese struktuurformules van aspirien en analoë chemiese verbindings.

1.2.2 NATRIUMDIKLOFENAK

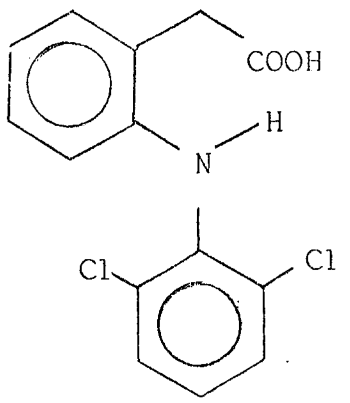
Natriumdiklofenak, die natriumsout van 0 - (2,6 dichlorofeniel-amien) - fenielasynsuur (GP. 45840) is 'n nie-steroïed anti-inflammatoriese middel met analgetiese eienskappe (17).



Figuur 1.2 Chemicse struktuurformule van diklofenak.

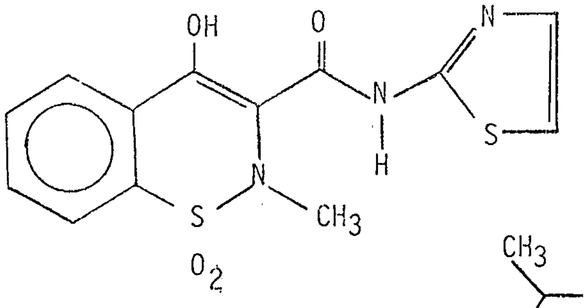
1.2.2 NATRIUMDIKLOFENAK

Natriumdiklofenak, die natriumsout van 0 - (2,6 dichlorofeniel-amien) - fenielasynsuur (GP. 45840) is 'n nie-steroïed anti-inflammatoriese middel met analgetiese eienskappe (17).

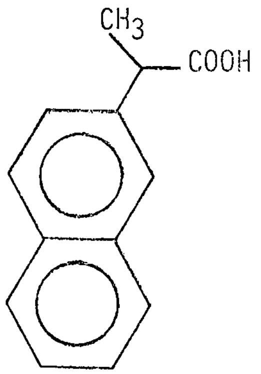


Figuur 1.2 Chemiese struktuurformule van diklofenak.

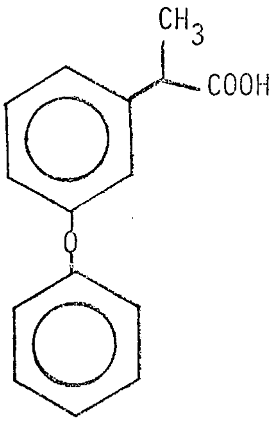
1.2.3 CHEMIESE STRUKTUURFORMULES VAN VERWANTE NIE-STEROÏED ANTI-INFLAMMATORIESE MIDDELS



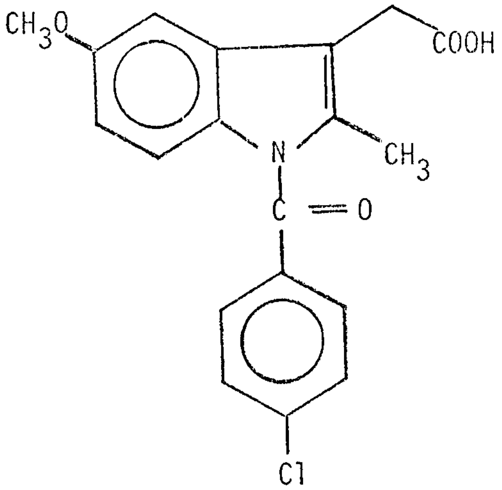
Sudoksikam



Naproksien



Fenoprofen



Indometasien

Figuur 1.3 Chemiese struktuurformules van nie-steroïed anti-inflammatoriese middels.

1.3 IN VIVO STUDIES UITGEVOER MET ASPIRIEN EN VERWANTE NIE-STEROÏED ANTI-INFLAMMATORIESE MIDDELS.

1.3.1 FARMAKODINAMIESE STUDIES

1.3.1.1 Proefdiere

1.3.1.1.1 Diklofenak

Ku en medewerkers het ondersoek ingestel na die vermoë wat diklofenak het om prostaglandien-sintetase direk te inhibeer (18). Hulle het gevind dat soos aspirien en indometasien, inhibeer diklofenak die ensiem kompetetief ten opsigte van die substraat arachidoniese suur. Diklofenak toon 'n inhibisiekonstante van 2,4 uM in vergelyking met 6,5 uM van indometasien en 5500 uM van aspirien. Hierdie lae inhibisiekonstante van diklofenak dui dus duidelik daarop dat dit 'n baie kragtige middel teen prostaglandien- bemiddelde inflammasie is.

1.3.1.1.2 Sudoksikam

Wiseman en medewerkers het gevind dat die anti-edeem effekte van sudoksikam en aspirien, wanneer die twee middels saam toegedien word, nie 'n additiewe effek in rotte openbaar nie (2).

1.3.1.1.3 Fenielbutasoon en Indometasien

Mielens (19) en Swingle (20) het fenielbutasoon en indometasien, onderskeidelik, saam met aspirien aan rotte toegedien. By geen kombinasie van die twee geneesmiddels is 'n statisties beketenisvolle ($p \leq 0,05$) additiewe effek gevind nie. Dit is wel gevind dat by laer konsentrasies van hierdie twee geneesmiddels, daar 'n afname in die anti-edeemeffek van beide geneesmiddels gevind is as hulle saam met aspirien toegedien is.

1.3.1.1.4 Naproksien

Wanneer naproksien en asetielsalisielsuur saam toegedien is aan rotte wat 'n inflammatoriese reaksie getoon het as gevolg van karrageenin wat aan hulle toegedien is, is geen additiewe effek verkry nie (19). Geen antagonisme is aangetoon nie.

1.3.1.2 Die mens

1.3.1.2.1 Diklofenak

In 'n dubbelblinde kliniese proef (21) op pasiënte met osteo-artritis waarin 'n vergelyk getref is tussen die effektiwiteit van natriumdiklofenak (25 mg 8-uurliks en 50 mg 8-uurliks) en asetielsalisielsuur (1000 mg 8-uurliks), is waargeneem dat die verbetering in simptome en tekens wat met natriumdiklofenak-behandeling verkry is, afneem wanneer na asetielsalisielsuur oorgeskakel word.

1.3.1.2.2 Indometasien

In 'n kliniese proef uitgevoer deur "The co-operating clinics of the American Rheumatism Association" (22), waarin meer as 'n honderd pasiënte deelgeneem het, is vasgestel dat indometasien nie beter as 'n plasebo was nie. Die pasiënte het gedurende die tydperk van ondersoek geen beperking op die gebruik van aspirien gehad nie, wat twyfel laat ontstaan oor die betroubaarheid van die gevolgtrekking.

1.3.2 FARMAKOKINETIESE STUDIES

1.3.2.1 Proefdier Studies

1.3.2.1.1 Diklofenak

Farmakokinetiese studies met ^{14}C-gemerkte diklofenak (^{14}C-gemerk in alfa-posisie van die syketting) is deur Stierlin (23) uitgevoer.

Om die absorpsie, uitskeiding en metabolisme van diklofenak te ondersoek is dit as 'n enkeldosis van 5 mg/kg intraveneus en oraal aan rotte, honde en ape toegedien. Die verspreiding in muise is bestudeer na intraveneuse toediening van 10 mg/kg en in rotte na 5 mg/kg.

In rotte, honde en ape word diklofenak vinnig en volledig vanuit die spysverteringskanaal geabsorbeer. Hierdie afleiding is gemaak vir honde en ape omdat geen betekenisvolle verskil aangetoon kon word, in die persentasie van die dosis wat in die urine uitgeskei is, na orale en intraveneuse toediening nie. In rotte kon tot dieselfde gevolgtrekking geraak word, omdat ongeveer 85% van die orale toediening in die gal uitgeskei is (23). Omdat tussen 50% en 80% van die toegediende radioaktiwiteit in die urine en stoelgang van die diere binne 24 uur herwin is, is die afleiding gemaak dat absorpsie vinnig en totaal is. Die res van die radio-aktiwiteit is binne die volgende 48 uur herwin.

Dit is gevind (23) dat diklofenak 'n hoë mate van enterohepatiese sirkulasie ondergaan in die rot. Hierdie gevolgtrekking is gemaak omdat 'n hoë uitskeiding van diklofenak in die spysverteringskanaal, via die gal, en 'n hoë konsentrasie van onveranderde diklofenak in die gal aangetoon is. Hierdie waarneming val saam met 'n vinnige afname in bloedpeile gedurende die eerste uur en 'n stadiger afname in die daaropvolgende ure. Die volgende biologiese halfleeftye is bereken vanaf die tempo waar-

teen die konsentrasie van die onveranderde geneesmiddel in die bloed gedaal het: rotte = 4,5 uur, honde = 3,5 uur en ape = 2 uur (23).

Behalwe in die lewer en niere is die konsentrasie van die geneesmiddel in organe laer as die konsentrasies gevind in die bloed. Twee-en-sewentig uur na toediening is konsentrasies van meer as 0,1 mg/g geneesmiddel slegs in die lewer en niere gevind. Na 168 uur is 0,05 mg/g in genoemde organe gevind terwyl geen aktiwiteit in ander organe gevind kon word nie.

'n Klein persentasie van die toegediende dosis diklofenak (1-2%) word deur rotte onveranderd in die urine uitgeskei. Die persentasie onveranderde geneesmiddel in urine by honde en ape is heelwat hoër naamlik 13% en 18% onderskeidelik. Nege persent van die aktiwiteit gevind in die stoelgang by rotte was onveranderde geneesmiddel teenoor 40% in honde en slegs 1% in ape.

1.3.2.1.2 Sudoksikam

In studies uitgevoer op rotte is plasma-salisielaatkonsentrasies nie deur gesamentlike dosering van sudoksikam beïnvloed nie. Plasmakonsentrasies van sudoksikam daarenteen word betekenisvol onderdruk na chroniese dosering van asetielsalisielsuur (2).

1.3.2.1.3 Indometasien

In 'n studie met rotte waarin ^{14}C-gemerkte indometasien intraveneus toegedien is, het die radio-aktiwiteit in beide serum en urien afgeneem na aspirien dosering(24). Gelyktydig hiermee het aktiwiteit in die stoelgang toegeneem. Dit is gepostuleer dat die meganisme van hierdie verskynsel 'n verhoogde biliêre uitskeiding van indometasien was in die teenwoordigheid van aspirien.

1.3.2.2 Studies in mense

1.3.2.2.1 Diklofenak

'n Kliniese proef waarin die volgende parameters ondersoek is, is uitgevoer (25):

(a) die tempo van absorpsie van diklofenak vanuit die spysverteringskanaal deur die renale uitskeiding te vergelyk na orale en intraveneuse doserings;

(b) die biologiese halflewe van die onveranderde geneesmiddel; en

(c) die metaboliete wat in die urine voorkom en hul verhoudings tot mekaar.

Alle eksperimente is uitgevoer met ^{14}C-gemerkte natriumdiklofenak.

Dit is gevind dat, in die mens, absorpsie van diklofenak vanuit die spysverteringskanaal vinnig en volledig plaasvind. Hierdie waarneming is gedoen deur die persentasie geneesmiddel wat in die urine uitgeskei na orale toediening met die persentasie uitgeskei na intraveneuse toediening, te vergelyk. Ook is die AUC (totale radio-aktiwiteit) met mekaar vergelyk na beide orale en intraveneuse doserings.

Dit is gevind dat die geneesmiddel vinnig en volledig uitgeskei word. Na beide doseringsroetes is 40% van die toegediende dosis van die geneesmiddel reeds na 12 uur in die urine gevind. Na 72 uur was uitskeiding feitlik volledig. Die totale hoeveelheid radio-aktiwiteit uitgeskei was 93%, waarvan 60% in die urine en 33% in die stoelgang herwin is.

Maksimum plasma-diklofenak-konsentrasies van 1-3 ug/ml is bereik 1 tot 4 uur na orale dosering en die biologiese halfleeftyd ($t\frac{1}{2}$) bereken het gewissel van 74 tot 96 minute.

Onveranderde geneesmiddel is gevind om slegs in klein hoeveelhede (0,8% van die dosis) in die urine voor te kom. Die persentasie van die glukuronied-metaboliet was ongeveer 4% van die dosis toegedien. Hidrolise van die gekonjugeerde metaboliet met alkalie het 7 - 8% onveranderde geneesmiddel opgelewer, terwyl die hoeveelheid van die vry suur in die laktaamvorm slegs 0,3% van die dosis was.

Die aard van die metaboliete in die urine na orale en intraveneuse doserings was dieselfde, alhoewel kwantitatiewe verskille voorgekom het met die twee toedieningsroetes en tussen die verskillende proefpersone.

Verdere eksperimente deur Geiger en Theobald (26) is uitgevoer waarin dit die doel was om te bepaal of die hoeveelheid geneesmiddel toegedien in 'n enkeldosis of ook na chroniese doserings, 'n invloed sou uitoefen op die diklofenak-plasmapeile, asook die renale uitskeiding daarvan.

Aan ses gesonde vrywilligers is 25, 50, 100 en 150 mg natriumdiklofenak toegedien in die vorm van enteries bedekte tablette, met tussenposes van een week. 'n Ander groep van ses gesonde vrywilligers het 25 mg driemaal per dag oor 'n tydperk van 15 dae ontvang, ook in die vorm van enteries-bedekte tablette. 'n Korrelasie tussen dosis en AUC en tussen dosis en C_{max} kon aangetoon word.

Die outeurs het verder gevind dat, omdat die matematiese funksie van die dalende been van die plasmakonsentrasiekurwe nie dié van 'n eerste orde funksie was nie, 'n akkurate halflewe van die geneesmiddel in die plasma nie bereken kon word nie.

Die renale uitskeiding van die onveranderde diklofenak is gevind om direk eweredig te wees aan die dosis toegedien, ongeag hoe lank die behandeling geduur het. Die totale hoeveelheid onveranderde geneesmiddel uitgeskei, bereken nadat die monsters alkalies gehidroliseer is, het gewissel van 2,8% tot 12% van die dosis.

1.3.2.2.2 Sudoksikam

Omdat die plamahalflewe van sudoksikam in die mens relatief lank is (24 tot 96 uur) (27), word gevind dat opstapeling daarvan kan plaasvind gedurende terapie. Gelykvlakke (6 - 8 ug/ml) word eers na 10 tot 14 dae bereik met 'n chroniese toediening van 20 mg per dag.

Gelyktydige akute doserings van 1,0 g aspirien en 20 mg sudoksikam het geen betekenisvolle effek op die plasmakonsentrasies van sudoksikam getoon nie.

Wiseman (2) voer aan dat, 'n moontlike verklaring vir die verskysel dat sudoksikam nie 'n wisselwerking toon met apirien in die mens nie, daarin opgesluit lê dat eersgenoemde 'n enoliese suur is.

Wiseman voer vervolgens aan dat sudoksikam om hierdie rede nie met salisilate sal kompeteer vir dieselfde plasmabindingsetels of in die lewer en niere vir eliminasiefunksies nie.

1.3.2.2.3 Naproksien

Dit is gevind dat gesamentlike toediening van naproksien en aspirien gepaardgaan met 'n afname van 15% (van 1088 tot 923 ug.hr/ml) in die AUC. Hierdie afname was statisties betekenisvol ($p \leq 0,05$) (6).

Wanneer naproksien alleen toegedien word, word slegs 1,9% van die dosis in die stoelgang aangetref. Met gesamentlike toediening van naproksien en aspirien word 2,7% van die dosis in die stoelgang aangestef (6). Na intraveneuse toediening word 1-2% van die dosis in die stoelgang aangetref, waarskynlik as gevolg van biliêre uitskeiding (28). Hierdie persentasies dui op volledige absorbsie, sodat die wisselwerking waargeneem, nie toegeskryf is aan inhibisie van absorpsie nie.

Serge en medewerkers (6) het verder gevind dat die renale opruiming van naproksien 'n funksie van die totale plasmakonsentrasie is. Sodra die totale naproksienplasmakonsentrasie verhoog is, is 'n verhoging in die opruiming aangetref. 'n Sterk toename in die naproksienopruiming in die teenwoordigheid van aspirien is aangetref. 'n Naproksienopruimingstempo van 1,125 liter per uur is bereken in die teenwoordigheid van aspirien, gedurende die tweede uur by naproksienplasmavlakke van 60 ug/ml. Waar naproksien alleen toegedien was, is 'n vergelykende naproksienopruimingstempo van 1,25 liter per uur eers waargeneem by naproksien-plasmapeile van 140 ug/ml.

1.3.2.2.4 Fenoprofen

Rubin en medewerkers het 'n studie uitgevoer om vas te stel wat die effek van aspirien op fenoprofen- en indometasienplasmakonsentrasies was (11). Die studie is in twee fases uitgevoer naamlik:

(a) Geneesmiddels oraal toegedien.
In hierdie studie het Rubin en medewerkers die effek van aspirien op die plasmakonsentrasie van fenoprofen bepaal na gelyktydige orale inname van aspirien (975 mg) en fenoprofen (600 mg).

In hierdie studie is die proefpersone ook aan chroniese toediening van aspirien (975 mg elke 6 uur) en/of fenoprofen (600 mg elke 6 uur) onderwerp. Die resultate toon dat:

1. Die AUC laer was met gesamentlike as met slegs fenoprofen toediening. Hierdie effek was statistics betekenisvol met $p \leq 0{,}01$.

2. Fenoprofen-opruiming uit die plasma het vinniger geskied in die teenwoordigheid van aspirien.

3. 'n Afname in die distribusievolume van fenoprofen het voorgekom in die teenwoordigheid van aspirien.

Hierdie kombinasie van faktore, naamlik 'n vinniger opruiming en 'n afname in die distribusievolume van fenoprofen, was waarskynlik verantwoordelik vir die aspirien-geïnduseerde afname in die oppervlakte onder die fenoprofen-plasmakromme. 'n Onderdrukking van ongeveer 19% in die AUC is verkry met enkeldoserings. Na 12 doserings was die onderdrukking in die AUC 46%.

Die plasma-$t_{\frac{1}{2}}$ van fenoprofen het geen verskil getoon na akute en chroniese toediening daarvan nie. Dit wil dus voorkom asof outo-induksie van die eliminasie van fenoprofen nie plaasgevind het nie. Geen verskille in die urinêre uitskeiding van fenoprofen en sy hoofmetaboliete kon aangetoon word na akute en chroniese doserings nie. Verder is geen bewyse gevind vir stimulasie van die hepatiese mikrosomale geneesmiddel metaboliserende ensieme in rotte na herhaaldelike toediening van fenoprofen nie. (Ongepubliseerde waarnemings deur Rubin en medewerkers).

Geen invloed van fenoprofen op plasma-salisielsuurpeile kon aangetoon word nie.

Die urine van 4 proefpersone is versamel in 6-uur-fraksies en is geanaliseer vir die verskeie metaboliete van fenoprofen naamlik onveranderde fenoprofen, 4'-hidroksiefenoprofen, 4'-hidroksiefenoprofen-glukuronied en ander suurlabiele konjugate van 4'- hidroksiefenoprofen en fenoprofen. Dit is gevind dat die 6 tot 12-uur urienfraksies meer 4'-hidroksiefenoprofen-glukuronied bevat het na aspirien inname as sonder aspirien.

Die totale herwinning van fenoprofen en sy metaboliete was feitlik identies na toediening van fenoprofen alleen, of fenoprofen saam met aspirien. Hierdie waarneming is gemaak na beide die enkel- en meervoudige-dosis studie.

(b) Fenoprofen intraveneus en aspirien oraal toegedien.
Die tweede fase van hierdie studie het dit ten doel gehad om:

1. 'n akkurate distribusievolume te bepaal vir fenoprofen;
2. te bepaal of die toediening van aspirien in staat was om fenoprofen-plasmapeile te verlaag; en
3. die verhouding tussen die dosis van aspirien en die fenoprofen - plasmakonsentrasieverlagende eienskap van aspirien te bepaal, na intraveneuse toediening van fenoprofen.

Na 200 mg fenoprofen intraveneus, tesame met verskillende dosisse aspirien oraal (325, 650 en 975 mg), is die volgende waargeneem:

1. Die AUC vir fenoprofen neem progressief af met toenemende aspiriendoserings.

2. Die $t\frac{1}{2}$ van fenoprofen het betekenisvol ($p \leq 0,01$) afgeneem met 'n toename in aspirien toediening.
3. Geen konstante effek op die distribusievolume kon aangetoon word nie.

Die verlaging in plasmapeile van fenoprofen, wanneer aspirien terselfdertyd oraal toegedien word, is hier na orale en intrave-

neuse doserings van fenoprofen waargeneem. Volgens die outeurs dui hierdie bevindings waarskynlik daarop dat die waargenome wisselwerking nie slegs tot die absorpsievlak beperk is nie.

Volgens die outeurs sou die bevindings goed verklaar kon word as aspirien fenoprofen vanaf die bindingsetels op die plasmaproteïene sou verplaas (11). Dit is egter al aangetoon dat alhoewel fenoprofen sterk gebind word aan albumien, die binding nie deur aspirien beïnvloed word nie (9).

Indien 'n afname in plasmavlakke as gevolg van 'n toename in uitskeiding deur die gal gepostuleer sou word, verklaar dit egter nie waarom geen veranderinge in die urienuitskeiding van fenoprofen in die teenwoordigheid van aspirien waargeneem word nie.

Langdurige blootstelling aan salisilate vergroot ook die intrasellulêre volume deurdat natrium en water in die sel versamel (29). So 'n toename kan tot gevolg hê dat fenoprofenplasmapeile afneem. Dit lyk egter onwaarskynlik aangesien fenoprofen sterk aan plasmaproteïene gebind word (9). Die outeurs kan ten slotte geen verklaring aan die hand doen vir die waargenome verlaagde plasmavlakke van fenoprofen in die teenwoordigheid van aspirien nie.

1.3.2.2.5 Indometasien

Jeremy en Towson (13) het in 1970 die moontlikheid van 'n wisselwerking tussen indometasien en aspirien ondersoek. Vir die ondersoek het hulle gebruik gemaak van ^{14}C-indometasien.

Serum- en urienmonsters is op bepaalde tye na toediening geneem en stoelgange is vir 6 dae versamel.

Dit is gevind dat wanneer aspirien saam met indometasien oraal toegedien is, 'n statisties betekenisvolle afname in die serum radio-aktiwiteit plaasgevind het. 'n Vertraging in die tyd om maksimum serumpeile te bereik het ook voorgekom. Ses van agt pasiënte het hierdie afname in serumradio-aktiwiteit getoon.

Vertraagde absorpsie vanuit die spysverteringskanaal is as verklaring aangevoer. Hierdie vermoede is ondersteun deur die feit dat 'n toename in radio-aktiwiteit na gesamentlike aspirien en indometasien inname in die stoelgang gevind is.

In 1973 het Rubin en medewerkers (11) 'n ondersoek gedoen na die effek van aspirien op indometasien-plasmavlakke onder dieselfde omstandighede as vir die fenoprofen-aspirien wisselwerkingstudie soos reeds beskryf.

Vier proefpersone het indometasien 100 mg oraal ontvang voor en na 3 dae van aspirien behandeling (975 mg elke 6 uur).

Hierdie behandeling het verlaagde piek indometasien-konsentrasies tot gevolg gehad. Die oppervlakte onder die konsentrasie-tyd-kromme gedurende die eerste 2 uur is verlaag, alhoewel die AUC vir indometasien nie betekenisvol verskil het nie. Geen verandering in die halfleeftyd van indometasien kon aangetoon word nie. Die outeurs kon geen moontlike meganisme vir die waargenome wisselwerking aan die hand doen nie.

Teenstrydige resultate verkry deur Champion (30) en Yesair (24) wat betref die wisselwerking tussen aspirien en indometasien het Lindquist (14) in 1973 aangespoor om hierdie verskynsel te probeer opklaar. Sy doel was om met behulp van verskillende toedieningsroetes die meganisme van die wisselwerking vas te stel.

Gevolglik het 6 proefpersone indometasien (100 mg) per rektum en aspirien (1 000 mg) oraal ingeneem. Bloedmonsters is met bepaalde tyd-intervalle geneem.

Die resultate van hierdie navorsing het egter geen lig gewerp op die wisselwerking nie. Indometasien-plasmapeile het onveranderd gebly voor en met gesamentlike aspirien toediening.

'n Verdere studie om 'n moontlike farmakokinetiese wisselwerking tussen indometasien en aspirien op te klaar, is deur Kaldestad, Hansen en Brath (15) uitgevoer.

Indometasien (4 x 25 mg per dag vir 4 dae) is oraal aan 14 pasiënte met rumatoïede artritis gegee. Gelyktydig hiermee is asetielsalisielsuur (3 x 0,9 g asook 1,0 g eenmaal per dag) oraal toegedien. Aan 21 rumatiese pasiënte is indometasien 100 mg rektaal toegedien en gelyktydig daarmee asetielsalisielsuur (3 x 0,9 g asook 1,0 g eenmaal per dag).

Resultate het getoon dat vir beide gevalle (orale en rektale toedieningsroetes van indometasien) 'n statisties betekenisvolle afname voorkom in die indometasien C_{max} indometasien wanneer asetielsalisielsuur saam toegedien word.

T_{max} vir indometasien het onveranderd gebly. AUC vir indometasien was kleiner, maar slegs statisties betekenisvol kleiner in die geval van rektale toedienings.

Volgens die outeurs is 'n statisties betekenisvolle verskil waargeneem in die serum-$t\frac{1}{2}$ van indometasien na orale en rektale dosering. Hulle het verder gevind dat gemiddelde serum-$t\frac{1}{2}$ vir indometasien langer is in die geval van gesamentlike toediening met aspirien as met indometasien alleen na orale toediening, maar korter in die geval van rektale indometasien toediening. Die outeurs kon hierdie verskynsel nie verklaar nie.

Geen invloed van indometasien op asetielsalisielsuur serumpeile

kon waargeneem word nie.

Garnham (16) het gevind dat alhoewel die gesamentlike toediening van gebufferde aspirien piek plasmapeile van indometasien nie veel beïnvloed nie, word die absorpsietempo van indometasien aansienlik verhoog. Hulle voer aan dat gebufferde aspirien die absorpsie van indometasien mag verhoog omdat deur die pH van die maaginhoud te verhoog, dissolusie van die indometasien tablette vinniger plaasvind.

1.4 IN VITRO STUDIES UITGEVOER OP NIE-STEROïED ANTI-INFLAMMATORIESE MIDDELS

1.4.1 PROTEïENBINDING

1.4.1.1 Naproksien

In 'n studie waar gebruik gemaak is van 'n ultrafiltrasietegniek (31), is aangetoon dat salisilaatvlakke soortgelyk as dié verkry na terapeutiese dosisse 'n betekenisvolle toename in die konsentrasie vry naproksien in die plasma tot gevolg gehad het.

Dit is gevind dat teen 'n plasmakonsentrasie van 70 ug/ml, naproksien ongeveer 99% gebind was aan die plasmaproteïene. In die teenwoordigheid van salisielsuur (110 ug/ml) het die ongebonde fraksie naproksien met 27% toegeneem na 1,41%; en in die teenwoordigheid van 144 ug per milliliter salisielsuur, het die vrye fraksie met 22% toegeneem na 1,65%. Die outeurs (6) meen dat hierdie verplasing van naproksien vanaf die plasma albumiene waarskynlik die rede is vir die versnelde opruimingstempo.

1.4.1.2 Fenoprofen

Rubin en medewerkers het aangetoon dat alhoewel fenoprofen sterk gebind word aan albumien, die binding nie deur aspirien beïnvloed word nie (9).

HOOFSTUK 2

BEPLANNING OM DOELSTELLING TE VERWESENLIK

2.1 STUDIE OM PROBLEEM TE BEVESTIG

'n Kliniese proef (U.O.V.S. 5/75) is uitgevoer met die doel om vas te stel of 'n akute gesamentlike toediening van diklofenak+ en asetielsalisielsuur 'n verandering in die diklofenakplasmaprofiel sou toon.

Vir hierdie doel is diklofenak, 50 mg in oplossing, toegedien aan 5 gesonde vrywilligers. 'n Plasmaprofiel is bepaal deur bloedmonsters te versamel op tye 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480 en 600 minute na inname van die geneesmiddel.

Vanaf dag 2 tot dag 7 is geen medikasie toegelaat nie. Op dag 8 is weer 'n plasmakonsentrasie-tyd profielstudie uitgevoer na inname van 50 mg diklofenak, in oplossing, 5 minute na die inname van 1000 mg aspirien in 'n nie-gebufferde oplossing.

Vanaf dag 9 tot dag 14 het die proefpersone elk 25 mg diklofenak viermaal per dag oraal ingeneem. Op dag 15 is weer 'n profielstudie, soortgelyk aan dié op dag 8 met dieselfde dosering diklofenak en aspirien uitgevoer.

2.2 STUDIES OM DIE AARD VAN 'N WAARGENOME WISSELWERKING IN DIE MENS (PROEF U.O.V.S. 5/75) TE ONDERSOEK

2.2.1 IN VITRO STUDIES

2.2.1.1 Proteïenbindingstudies

Om vas te stel of aspirien en/of salisielsuur dalk 'n effek sou

+ Diklofenak is in alle gevalle as die natriumsout toegedien.

toon op die mate waartoe diklofenak aan die plasmaproteïene gekoppel is, is hierdie studie uitgevoer. 'n Verhoogde ongebonde fraksie van diklofenak in die bloed in die teenwoordigheid van aspirien en/of salisielsuur sou moontlik 'n versnelde metabolisme en/of uitskeiding en herverspreiding tot gevolg kon hê, wat plasmakonsentrasie-tyd profiele van diklofenak sou kon beïnvloed.

2.2.2 IN VIVO STUDIES

2.2.2.1 Kliniese proef U.O.V.S. 6/76

Nadat vasgestel is dat gesamentlike orale toediening van asetielsalisielsuur en diklofenak wel aanleiding gee tot 'n afname in die AUC vir diklofenak, is diklofenak binnespiers en oraal aan vrywilligers toegedien, in die afwesigheid en in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur (1 000 mg) oraal. Die doel hiervan was om:

1. te bepaal of die setel van die waargenome wisselwerking, absorpsie vanuit die spysverteringskanaal was;

2. te bepaal of daar 'n verskil in die totale diklofenak uitgeskei deur die niere waarneembaar sou wees, na en voor gesamentlike aspirien dosering; en

3. vas te stel of 'n verandering in die eliminasietempo van diklofenak sou intree met gesamentlike aspirien dosering.

In dié proef is van 4 gesonde manlike vrywilligers gebruik gemaak. Elkeen het elk van die volgende vier behandelings ontvang:

Behandeling A : Natriumdiklofenak 75 mg/3 ml binnespiers

Behandeling B : Natriumdiklofenak 75 mg/3 ml binnespiers en asetielsalisielsuur 20 mg/kg oraal

Behandeling C : Natriumdiklofenak 75 mg oraal

Behandeling D : Natriumdiklofenak 75 mg oraal en asetielsalisielsuur 20 mg/kg oraal

Bloedmonsters is versamel op tye 5, 10, 15, 20, 30, 60, 120, 180, 240 en 360 minute na geneesmiddelinname. Urien is versamel na 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 en 24 uur na geneesmiddeldosering. Kwantitatiewe analise vir diklofenak is op al die monsters uitgevoer.

Gedurende die proef is die diklofenak-inhoud van die rooibloedselle ook bepaal. Dit is gedoen om vas te stel of:

1. diklofenak wel in rooibloedselle voorkom; en

2. of aspirien 'n verandering in die diklofenak-konsentrasie van die rooibloedselle tot gevolg sou hê, wat as 'n maatstaf sou kon dien, om te bepaal of aspirien 'n verandering in die distribusievolume van diklofenak tot gevolg het.

2.2.2.2 <u>Ondersoek na die voorkoms van diklofenak in gal</u>

Die doel van hierdie ondersoek was om die omvang van die voorkoms van diklofenak in gal vas te stel, asook om vas te stel of aspirien enige invloed daarop sou hê.

Twee pasiënte wat cholesistektomie-operasies ondergaan het, met roetine T-buis plasings vir galdreineringsdoeleindes, het deelgeneem.

Aan hierdie twee pasiënte is daar elk 75 mg natriumdiklofenak in oplossing oraal toegedien en 2 dae later aspirien (1 200 mg) saam met 75 mg natriumdiklofenak, oraal. Die gal wat deur die T-buise gedreineer het is oor 'n periode van 24 uur in fraksies versamel, op tye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 en 24 uur na geneesmiddel inname.

2.2.2.3 <u>Kliniese proef met ^{14}C-natriumdiklofenak</u>

Radio-aktief-gemerkte natriumdiklofenak is oraal en intraveneus toegedien in die aan- en afwesigheid van orale aspirien om:

1. te bepaal of 'n verskil sou bestaan in die AUC van diklofenak voor en na gesamentlike aspirien dosering (oraal), vir beide die orale en intraveneuse dosering van natriumdiklofenak. In hierdie geval is die totale konsentrasie diklofenak (vry plus metaboliete) kwantitatief bepaal;

2. die kumulatiewe urienuitskeiding van diklofenak plus metaboliete na beide toedieningsroetes voor en na aspirien inname te bepaal;

3. die persentasie diklofenak wat in die stoelgang uitgeskei word te bepaal om sodoende 'n aanduiding te verkry of 'n wisselwerking op die absorbsievlak plaasvind, al dan nie; en

4. vas te stel of daar nie dalk 'n presistemiese wisselwerking plaasvind nie. Om dit te kon doen, is gekyk of hoë konsentrasies van die indoolvorm van diklofenak in die bloedplasma aangetoon kon word.

Vier gesonde manlike vrywilligers is gebruik in die ouderdomsgroep van 21 tot 40 jaar. Vier verskillende doserings (a - d) is gebruik wat op 'n ewekansige, oorkruis grondslag aan die proefper-

sone op dae 1, 8, 15 en 22 toegedien is. Die verskillende doserings het as volg daaruit gesien:

A : ^{14}C-natriumdiklofenak intraveneus 75 mg/5 ml
B : ^{14}C-natriumdiklofenak intraveneus 75 mg/5 ml, 5 minute na orale inname van 1 000 g aspirien
B : ^{14}C-natriumdiklofenak 75 mg/5 ml oraal
D : ^{14}C-natriumdiklofenak-oplossing oraal 5 minute na orale inname van 1 000 mg aspirien.

HOOFSTUK 3

EKSPERIMENTELE METODES

3.1 IN VITRO STUDIES

3.1.1 BINDING VAN DIKLOFENAK AAN PLASMAPROTEÏENE EN DIE INVLOED VAN ASETIELSALISIELSUUR EN SALISIELSUUR DAAROP.

Die binding van diklofenak aan plasmaproteïene is met behulp van 'n ultra-filtrasietegniek ondersoek.

3.1.1.1 Reagense

A. Mens-serumalbumien 4%
'n Isosmotiese 4% mens-serumalbumien-oplossing wat met 0,004 M natriumkaprilaat en 3% glukose gestabiliseer is, is gebruik.

B. ^{14}C-natriumdiklofenak
'n ^{14}C-natriumdiklofenak-oplossing met 'n aktiwiteit van ongeveer 5100 disintegrasies per minuut per 10 ul is gebruik. Die volume gebruik het 119 ng natriumdiklofenak bevat.

C. Natriumdiklofenak
Vier verskillende konsentrasies is gebruik, naamlik 1 000 ng/ml; 1500 ng/ml; 2 000 ng/ml en 3 000 ng/ml.

D. Aspirien
Hier is gebruik gemaak van 'n 1000 ug/ml aspirienoplossing in water. Hierdie konsentrasie is gekies sodat die eindkonsentrasie, na verdunning, kon ooreenstem met konsentrasies verkry onder terapeutiese toestande.

E. Salisielsuur

'n Salisielsuuroplossing met 'n konsentrasie van 1000 ug/ml in water is gebruik.

3.1.1.2 Apparaat

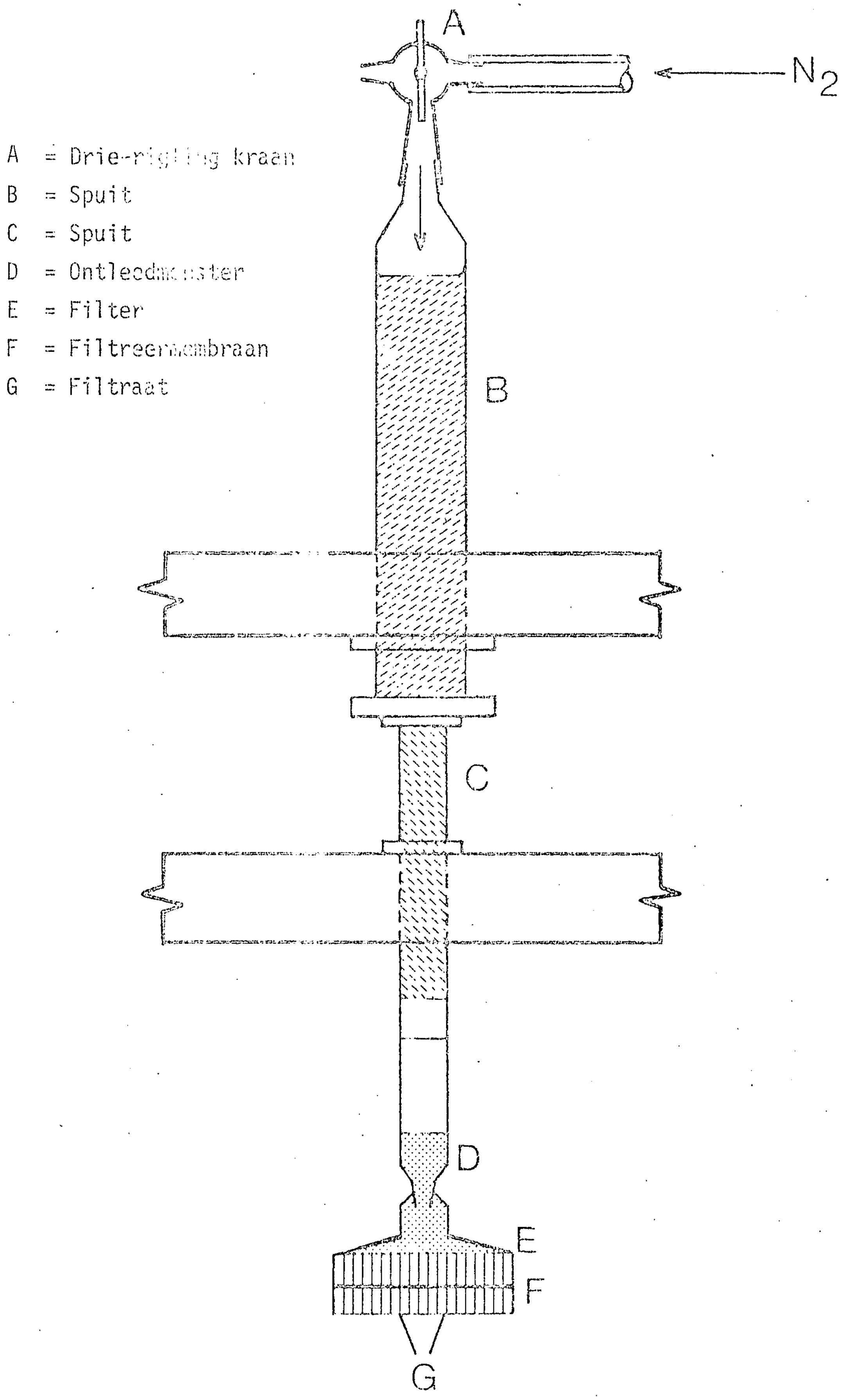
Die apparaat (figuur 3.1) het uit 'n spuit (B) bestaan wat loodreg op 'n tweede, kleiner spuit (C) geplaas is. Onderaan spuit (C) is die filter (E) bevattende die filtreermembraan (F) gekoppel. Die toetsmonster (D) is in spuit (C) opgetrek gereed vir analise. 'n Drierigtingkraan (A) het die druk (stikstofgas) beheer.

3.1.1.3 Voorbereiding van die filtreermembraan

Ongeveer 5 cm van 'n sellulose dialisemembraan is afgeknip en in water geweek. Die buisvormige membraan is aan die een kant oopgesny sodat 'n plat vierkantige membraan verkry is. Hierdie membraan is voor gebruik op kladpapier laat lê om te droog. Die gedroogde membraan is tussen die twee helftes van die mikrofilter geplaas, wat dan styf op mekaar geskroef is. Die filter (E) met membraan (F) is vervolgens onder aan spuit (C) gekoppel.

3.1.1.4 Metode

By 100 ml van 'n 4% mens-serumalbumien oplossing is 200 ul ^{14}C-natriumdiklofenak gevoeg. Hierdie oplossing is vervolgens in 4 gelyke volumes van 25 ml elk verdeel soos aangedui in meegaande skema. By elk van die 4 oplossings is natriumdiklofenak gevoeg sodat oplossing (a) 1 000 ng/ml; (b) 1 500 ng/ml; (c) 2 000 ng/ml en (d) 3 000 ng/ml diklofenak bevat het. Vervolgens is 3 monsters van 5 ml elk, uit elkeen van die oplossings (a), (b), (c) en (d) geneem. By elk van die monsters genommer (i) is 2 ml



Figuur 3.1 : Apparaat gebruik vir ultrafiltrasie

gedistilleerde water gevoeg. By die monsters genommer (ii) is 2 ml asetielsalisielsuuroplossing en dié genommer (iii) is 2 ml salisielsuuroplossing gevoeg.

4% Mens-serumalbumien (100 ml)

(a)	(b)	(c)	(d)
+	+	+	+
diklofenak (1000 ng/ml)	diklofenak (1500 ng/ml)	diklofenak (2000 ng/ml)	diklofenak (3000 ng/ml)
(i) (ii) (iii)	(i) (ii) (iii)	(i) (ii) (iii)	(i) (ii) (iii)

Hierdie oplossings is geïnkubeer by 37°C vir 60 minute voordat hulle aan ultrafiltrasie onderwerp is.

Nadat 1,5 ml toetsoplossing in spuit (C) opgetrek is, is die filter onderaan die spuit gekoppel, gereed vir ultrafiltrasie. Die drierigtingkraan (A) is dan so gedraai dat die invloei van stikstofgas druk op spuit B uitge-oefen het. Die glystuk van dié spuit is afgeforseer op die glystuk van spuit C wat 'n oplossing, bevattende die vry ongebonde fraksie geneesmiddel, deur die membraan pers. Die drukkrag wat spuit B op spuit C uitoefen is bepaal deur die verhouding, deursnee van spuit B/deursnee van spuit C. Slegs molekules met 'n bepaalde molekulêre massa en kleiner sal deur die porieë (10 - 20 nm) in die membraan kon beweeg. Onder hierdie groep molekules is ook die ongebonde geneesmiddel molekules.

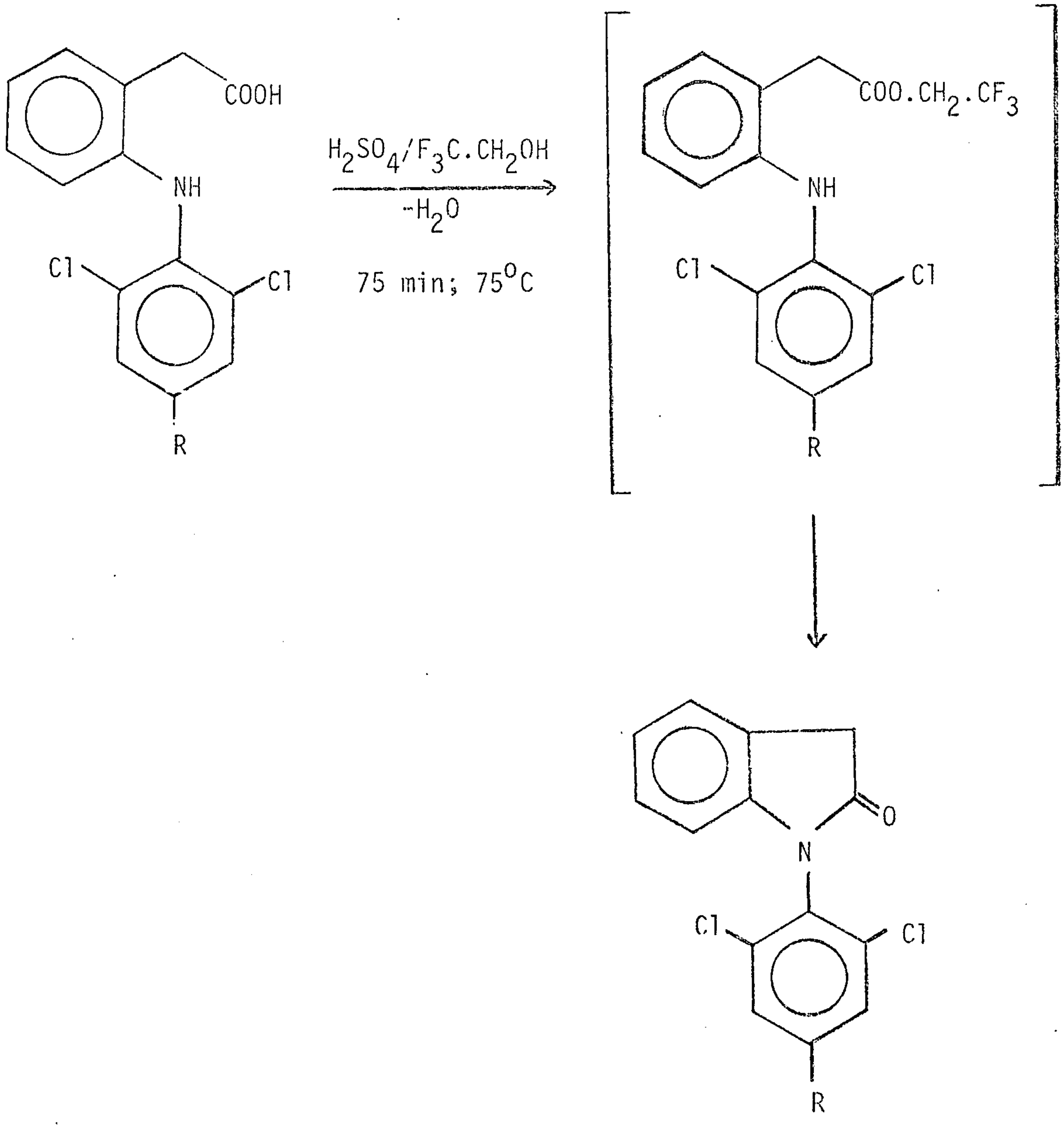
Na 1, 2 en 3 uur van filtrasie is die druk verwyder, die filter oor 'n koniese glasbuis geplaas en met 'n krag gelykstaande aan 2 maal die gravitasie krag gesentrifugeer. Van die filtraat wat so versamel is, is 'n monster geneem en na byvoeging van 10 ml sintellasievloeistof is die monster ontleed met behulp van 'n Packard vloeistofvonkelteller.

3.1.2 BEPALING VAN DIKLOFENAK IN BIOLOGIESE VLOEISTOWWE

3.1.2.1 Chemiese bepalingsmetodes vir diklofenak

Diklofenak is gaschromatografies bepaal met behulp van 'n metode ontwikkel deur Geiger en medewerkers (32). Die metode berus daarop dat die karboksielsuur, diklofenak, maklik omgeskakel kan word na die metielester deur dit te behandel met diasometaan. Wanneer hierdie metielester in die gaschromatograaf ingespuit word, verander dit na die indoloon-derivaat met die vrystelling van metanol. Dit is dus raadsaam geag om die diklofenak kwantitatief om te skakel na die indoloon-derivaat voordat gas-vloeistofchromatografie toegepas is. 'n Geskikte metode was om diklofenak te verhit saam met 'n 0,5% ($^{v}/v$)-oplossing van swawelsuur in 2, 2, 2 -trifluooretanol. Hierdie reaksie word in figuur 3.2 voorgestel.

'n Interne standaard (CGP 4287) is by die aanvanklike analitiese monster gevoeg om sodoende 'n korreksiefaktor te kon bepaal vir die veranderlike herwinnings gedurende die ekstraksie en derivatisasie prosesse.



R = H	diklofenak	
R = OCH_3	CGP 4287	(Interne standaard)

Figuur 3.2 : Voorstelling van die reaksie wat plaasvind wanneer diklofenak omgeskakel word na die indoloon derivaat.

3.1.2.2 Eksperimenteel

A. Reagense

Alle reagense gebruik was van analitiese graadgehalte en is getoets vir suiwerheid gedurende blanko bepalings.

B. Ekstraksie en derivatisasie

Stap 1 : 'n 1 ml Volume biologiese vloeistof, wat nie meer as 150 ng diklofenak bevat nie (verdun indien nodig) plus 0,5 ml van 'n 0,8 ug/ml waterige oplossing van CGP 4287 (= 400 ng interne standaard) plus 4 ml 2,5 N orto-fosforsuur plus 6,2 ml benseen is geskud vir 45 minute teen 120 skuddings/minuut en dan gesentrifugeer.

Stap 2 : 'n 5 ml Monster van die benseenlaag van stap 1 plus 1 ml 0,35 N natriumhidroksieoplossing is geskud vir 5 minute teen 120 skuddings/minuut en dan gesentrifugeer. Die benseenlaag is vervolgens kwantitatief deur middel van aspirasie verwyder.

Stap 3 : 'n 3 ml Monster van die waterige fase van stap 2 is met 1 ml 2,5 N orto-fosforsuur aangesuur en met 3,5 ml benseen geskud vir 15 minute teen 120 skuddings/minuut.

Stap 4 : 'n 3 ml Monster van die benseenlaag van stap 3 is oorgedra na 'n 5 ml leë skoon koniese fles en droog gedamp onder 'n ligte stroom stikstof.

Die geslote flessie met die residu, opgelos in 150 ul van 'n 0,5% ($^{v}/v$) swawelsuuroplossing in 2,2,2-trifluooretanol, is dan in 'n waterbad geplaas vir 75 minute by 75°C.

Nadat die flessie afgekoel het, is dit geopen en is 300 ul van 'n versadigde kaliumbikarbonaat oplossing en 1

ml n-heksaan bygevoeg. Nadat die mengsel vir 15 sekondes geskud is, is die totale heksaanfase oorgedra na 'n 2 ml glasampule waarin die heksaan onder 'n ligte stroom stikstof by 40°C afgedamp is. Die residu is vervolgens opgelos in 200 ul heksaan, waarvan 'n 3 ul-volume in die gaschromatograaf ingespuit is.

Die ekstraksie- en derivatisasieprosesse was dieselfde vir water, plasma, serum, urien en gal.

C. Hidrolise van biologiese vloeistowwe

Om die totale hoeveelheid geneesmiddel in 'n monster te kon bepaal was dit nodig om sommige urine- en galmonsters te hidroliseer. Hierdie stap was nodig omdat die chemiese analisemetode slegs geskik was om die vry moederstof te kon bepaal. Omdat die geneesmiddel egter as gevolg van metabolisme gekonjugeer word, was dit nodig om deur die proses van hidrolise die konjugaat na die moederstof om te skakel.

Hidrolise is uitgevoer deur 200 mg soliede natriumhidroksied in 4 ml urine of gal te verhit by 75°C vir 1 uur. Die alkaliese hidrolisaat is stabiel.

D. Gas-vloeistofchromatografie (GVC)

Die GVC-analise is uitgevoer op 'n Packard Model 417 gaschromatograaf, toegerus met 'n ^{63}Ni-elektronvangsdetektor. Analises is uitgevoer met 'n pulswydte van 1 u sek en 'n pulsperiode van 100 u sek en 'n detektor temperatuur van 300°C. 'n Glaskolom, 1,2 m lank met deursnit van 3 mm en gepak met 3% OV-17 op Chromosorb W, is gebruik. Die draergas was stikstof met 'n vloeitempo van 45 ml/minuut. Die temperatuur by die inspuitpoort was 240°C en die oondtemperatuur 205°C.

E. Kalibrasiekurwe

As gevolg daarvan dat die elektronvangsdetektor slegs liniêr rea-

geer vir diklofenak-konsentrasies onder 200 ng/ml, is monsters wat hoër konsentrasies bevat het, verdun voor analise.

Kontrole monsters (wat bekende hoeveelhede diklofenak bevat) wat die hele reeks van die kalibrasiekurwe dek, is saam met die onbekende biologiese monsters geanaliseer.
Die kalibrasiekurwe soos gesien in figuur 3.3, is opgestel nadat 25, 50, 100 en 150 ng diklofenak in 1 ml normale plasma geplaas is en 400 ng CGP 4 287 (interne standaard) bygevoeg is. In figuur 3.4 kan gesien word hoe 'n tipiese gaschromatogram daar uitsien.

F. Bepaling van die hemoglobienkonsentrasie in bloed

Die monsters bloedselle benodig vir analise is driemaal gewas met 5 ml 0,9% soutoplossing. 1 ml Van elke monster is dan geweeg en met behulp van 9 ml Triton-X gehemoliseer. 1 ml Van hierdie oplossing is dan verdun na 20 ml met gedistilleerde water. Die absorbansie van die oplossing is dan gemeet by 540 mu met behulp van 'n Perkin Elmer model 124 dubbelligbundel spektrofotometer.

G. Kwantitatiewe analise van radio-aktiewe monsters

Analise van plasma en serum monsters is uitgevoer na byvoeging van 10 ml sintellasievloeistof met behulp van 'n Intertechnique SL 30 vloeistofvonkelteller spektrometer.

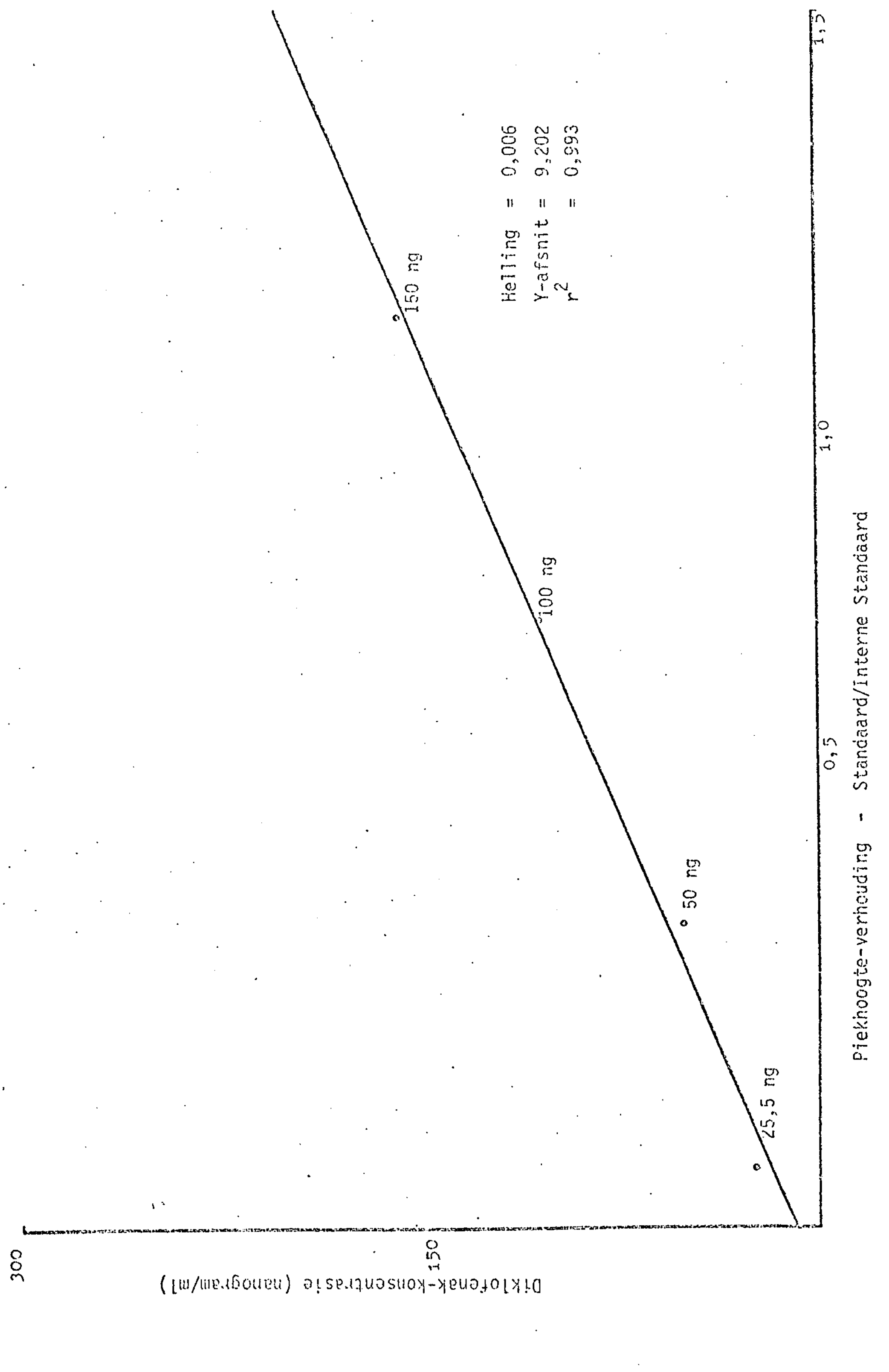
Geweegde stoelgang is eers met 'n outo-oksideer apparaat verbrand na $^{14}CO_2$ en H_2O voordat die aktiwiteit daarin bepaal is.

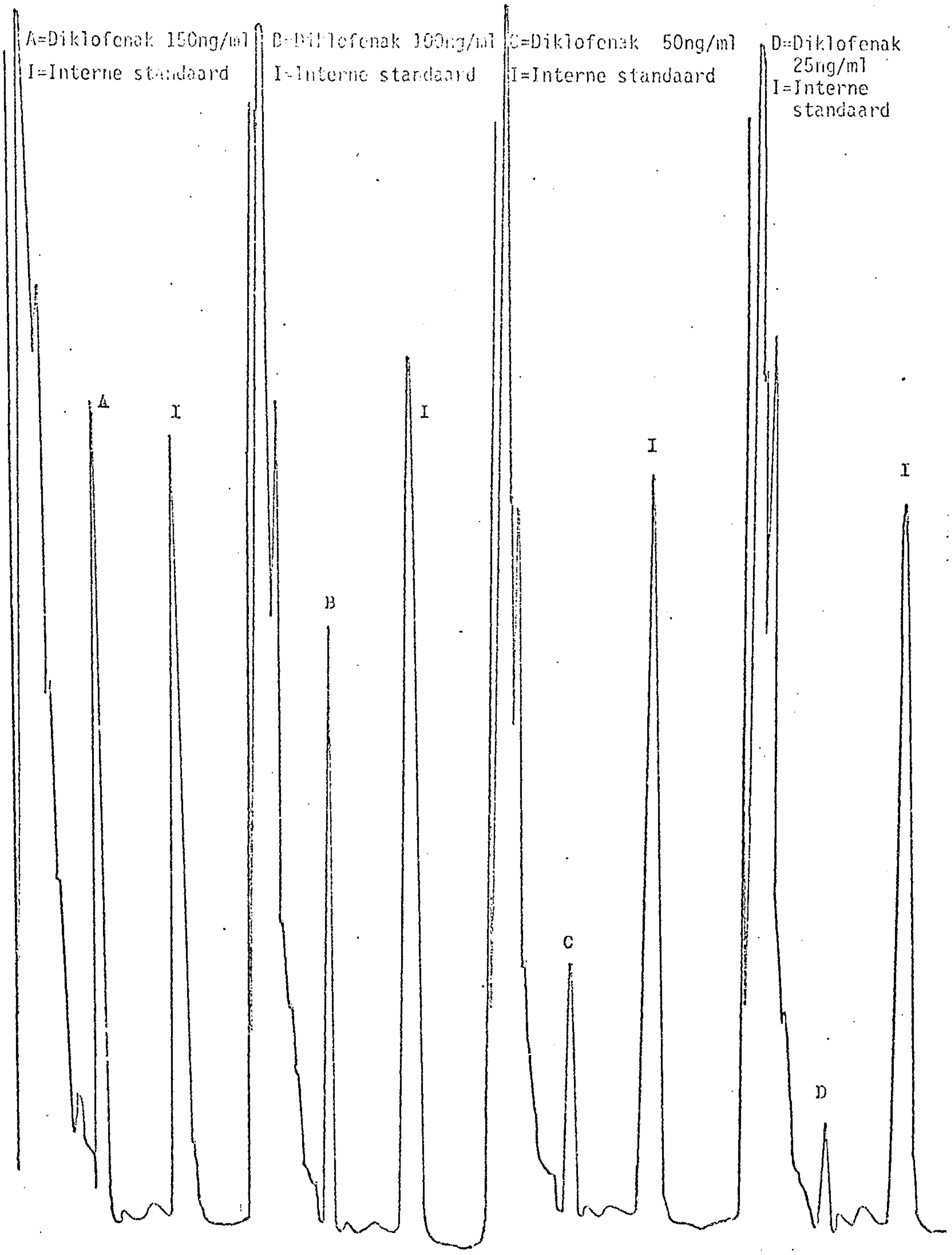
3.1.3 ONDERSOEK NA DIE METABOLIETE VAN DIKLOFENAK IN PLASMA

3.1.3.1 Ekstraksieprosedure

Uit die plasmamonsters wat versamel is van die 4 proefpersone, 8 minute na toediening van geneesmiddel(s), is 'n verteenwoordigende monster geneem en saamgevoeg. Die prosedure is herhaal vir al 4

FIGUUR 3.3 : KALIBRASIEKURWE SOOS VERKRY MET VIER VERSKILLENDE DIKLOFENAK-KONSENTRASIES





Figuur 3.4 : Tipiese elektronvangs-gaschromatogram

toedieningstipes asook vir die plasmamonsters geneem na 20, 60 120, 180, 240, 360, en 600 minute na toediening van die genesmiddel(s). Elkeen van hierdie verteenwoordigende monsters is ondersoek vir die metaboliete van diklofenak volgens die metode aangedui op die diagram.

2 ml Plasma monster (X)
2 ml 5N orto-fosforsuur

3 keer geëkstraheer met 15 ml benseen

Organiese fase (Z)

Vloeistofchromatografie

Waterige fase (Y)

Die organiese fase (Z) is ingedamp, waarna die residu opgelos is in 5 ml eter. Die eter is onder 'n ligte stroom stikstof in 'n 5 ml glas ampule ingedamp waarna die monster gereed was vir chromatografiese ondersoek.

Van die oplossing aangedui as (X) en (Y) is elk 'n 1 ml fraksie geneem.

Die ekstrak in die ampule is met 200 ul mobiele fase wat koue diklofenak en oksindool as merkers bevat, opgeskud. 50 ul Hiervan is getel om te bepaal watter persentasie van die ekstrak werklik oplos. 100 ul Van die oplossing is in 'n hoëdruk-vloeistofchromatograaf ingespuit en die eluate wat ooreenstem met diklofenak en die oksindool metaboliet opgevang en getel. Die residu in die ampule is in 10 ml sintellasievloeistof opgelos en getel.

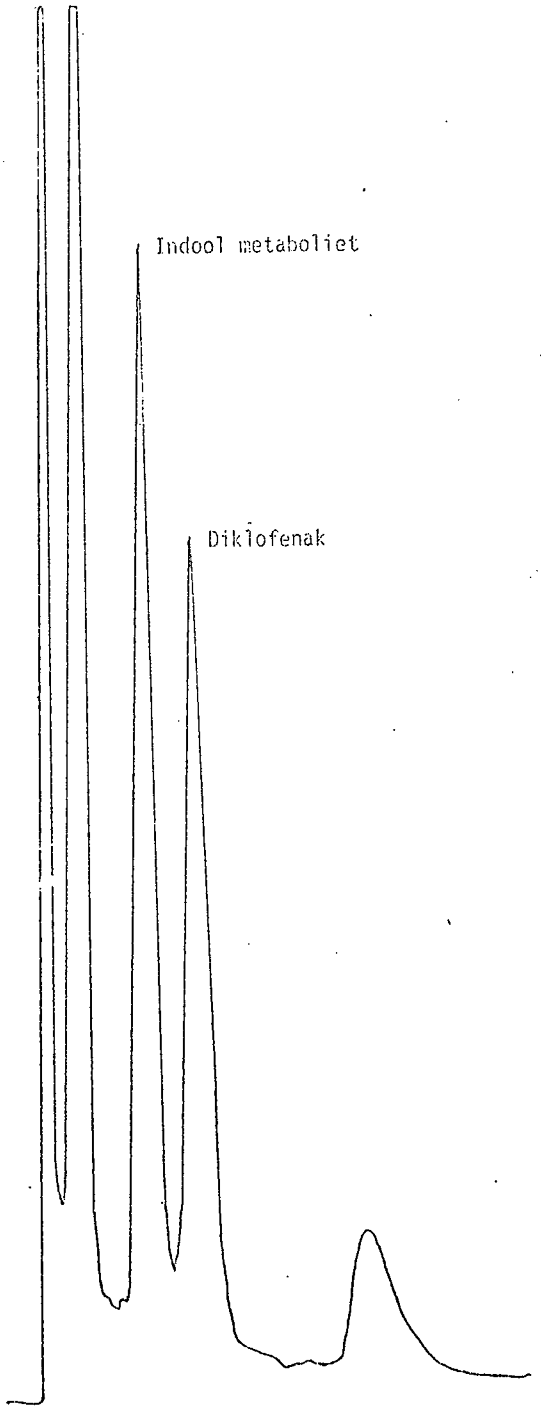
3.1.3.2 Hoëdruk-vloeistofchromatografie

Monsters is geanaliseer met behulp van 'n oplosmiddelsisteem bestaande uit 50% water/metanol en 0,1% asynsuur. In figuur 3.5 is 'n tipiese chromatogram aangedui.

3.1.3.3 Identifisering van die indoolmetaboliet van diklofenak in plasma

8 ml Plasma is versamel vanaf plasmamonsters van die 4 proefpersone verkry na 10 minute na toediening van diklofenak. Hierdie volume plasma is onderwerp aan dieselfde ekstraksieprosedure soos beskryf onder 3.1.3.1. Die benseen ekstrak is ingedamp en opgelos in 5 ml eter, waarna dit oorgedra is na 'n 5 ml ampule. Die eter is onder 'n ligte stroom stikstof ingedamp.

Hierdie ekstrak is ingespuit in 'n Varian 2700 gaschromatograaf wat toegerus was met 'n staalkolom gepak met 3% SP 2100. 'n Inlaat temperatuur van 250°C en in kolom temperatuur (isotermies) van 170°C is gebruik. Die draergas was helium. Die gaschromatograaf was gekoppel aan 'n Varian CH 5 massaspektrometer wat op sy beurt bedien is deur 'n Varian SS 100 rekenaar.



Figuur 3.5 : Tipiese chromatogram gevind met hoë-druk vloeistof-chromatografie.

3.2 IN VIVO STUDIES

In hierdie studies is hoofsaaklik gebruik gemaak van in vivo kliniese proewe op menslike proefpersone. In die proses is sekere standaard metodes en tegnieke gebruik.

3.2.1 VRYWILLIGE PROEFPERSONE

Daar is van gesonde manlike vrywilligers gebruik gemaak. Almal is aan deeglike mediese en laboratoriumtoetse onderwerp voor aanvaarding. Geskrewe, ingeligte toestemming is van elke proefpersoon verkry.

3.2.2 STANDAARDISASIE VAN PROEWE

Proefpersone moet vir 10 ure vastend wees, dit wil sê hulle het vanaf die vorige aand 22h00 geen voedsel of vloeistowwe per mond ingeneem nie. Geen medikasie of alkohol is binne 48 uur voor aanvang van die proef toegelaat nie.

Op proefdae is 'n standaard ontbyt bestaande uit 2 broodrolletjies en kaffeïenvrye koffie, 2 uur na medikasie voorgesit. Proefpersone moes 'n voorgeskrewe volume water inneem teen 'n tempo van 100 ml/uur vir 10 uur na geneesmiddeltoediening.

Geneesmiddels is waar moontlik op dieselfde dag en tyd van die week toegedien. 'n Tydperk van ten minste 6 dae het tussen enkele toedienings verloop.

3.2.3 MONSTERVERSAMELING

3.2.3.1 Bloed

Bloedmonsters is versamel in 10 ml gehepariniseerde geëvakueerde

glasbuise, gesluit met rubberproppe op tyd 0, 2, 3, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75 en 90 minute en 2, 3, 4, 5, 6, 8 en 10 uur na toediening van die geneesmiddel(s). Elke proefpersoon is voorsien van 'n intraveneuse natriumchloried (0,9%) infuus deur 'n nr. 19 "Butterfly" naald, teen 'n tempo van 60 ml per uur. Die infuus is aangebring vir doeleindes van bloedlating op die bepaalde tye en volgens 'n voorgeskrewe tegniek.

3.2.3.1.1 Voorbereiding van bloedmonsters

Die monsters is na versameling gesentrifugeer om die rooibloedselle van die plasma te skei. Die bo-liggende plasma is vervolgens met behulp van 'n Pasteurpipet oorgeplaas na 'n skoon 25 ml glasbottel vir bewaring in 'n vrieskas benede -19°C.

3.2.3.2 Urine

Urine is versamel in vooraf geweegde plastiekhouers met skroefdeksels op tye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 en 24 uur na geneesmiddel toediening. Na versameling is die houers geweeg om die volume urine in elke geval te bepaal. Die houers met urine is dadelik in kleiner plastiese houers geplaas en bewaar by 'n temperatuur van benede -19°C.

3.2.3.3 Gal

Gal is in 'n spesiale plastieksak versamel. Op bepaalde tye is sakke omgeruil. Uit so 'n sak is dan 'n verteenwoordigende monster geneem en gevries in 'n plastiekhouer met 'n skroefdelsel by 'n temperatuur van minder as -19°C.

3.2.3.4 Stoelgang

Stoelgang is volledig versamel vir 36 uur in groot plastieksakke waarna dit geweeg is. 'n Verteenwoordigende monster is geneem en geplaas in 'n plastiek bootjie met digsluitende dekseltjie wat vooraf geweeg is. Nadat dit dan weer geweeg is, is die monster gevries en teen 'n minder as -19°C bewaar.

3.2.4 DOSERINGSVORME

3.2.4.1 Natriumdiklofenak

(a) Diklofenak is in die vorm van óf enteries-bedekte tablette óf 'n intramuskulêre oplossing, intramuskulêr of oraal, toegedien.

(b) ^{14}C-natriumdiklofenak intraveneuse oplossing is berei onder aseptiese laminêre vloei toestande. Elke dosering het bestaan uit 75 mg koue natriumdiklofenak waarby ^{14}C-natriumdiklofenak met aktiwiteit van 4,15 uCi (= 0,22 mg diklofenak) gevoeg is. Die intraveneuse oplossing is ook vir orale doserings gebruik.

(c) Vier aspirientablette (300 mg aspirien per Disprin^{R} tablet) is in 'n glas water opgelos vir inname.

HOOFSTUK 4

RESULTATE EN BESPREKING

4.1 STUDIE OM PROBLEEM TE BEVESTIG

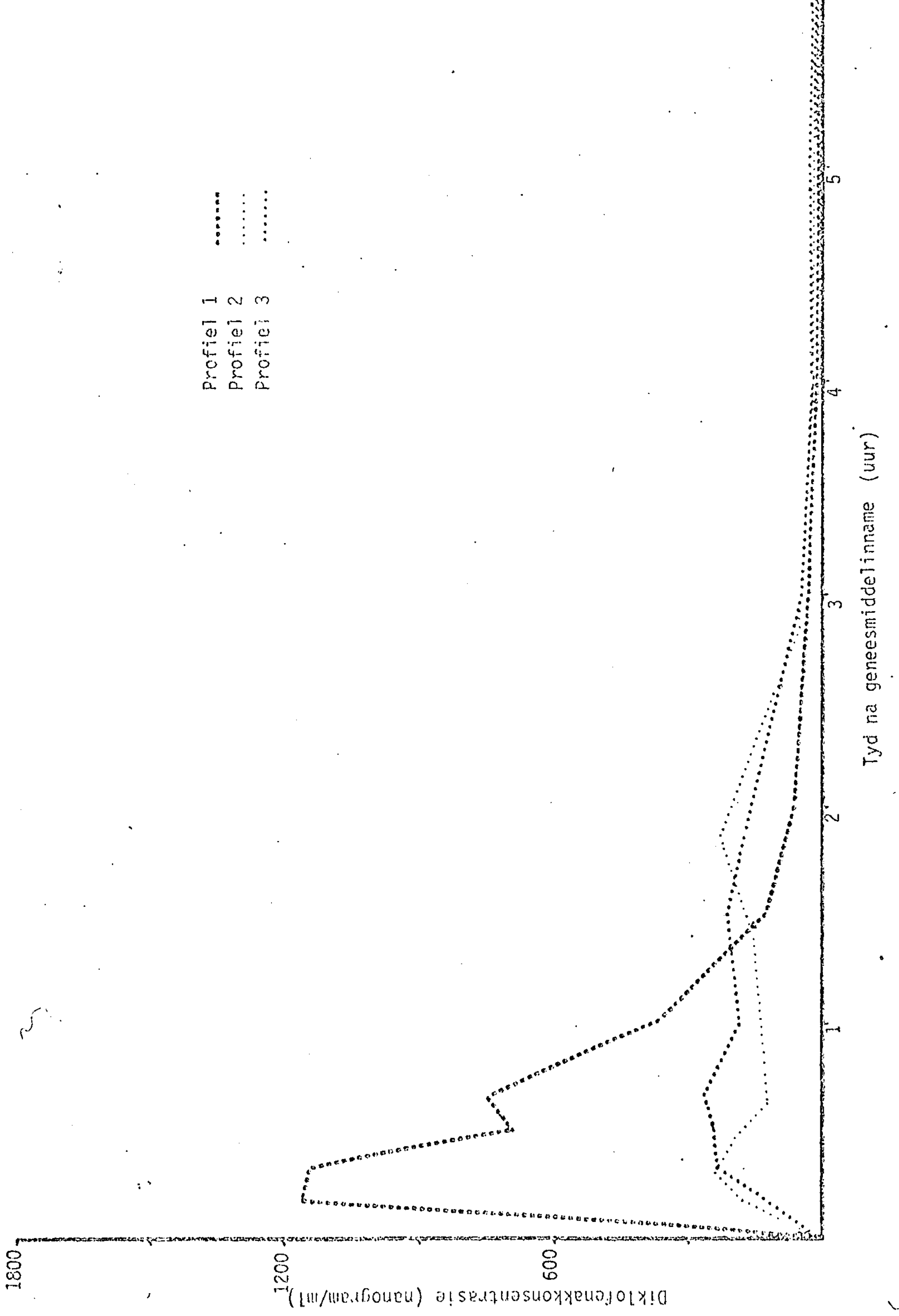
In tabel 4.1 is die resultate soos verkry in hierdie kliniese proef uiteengesit. Hierdie resultate is in figuur 4.1 grafies uiteengesit.

'n Statisties betekenisvolle verskil ($p \leq 0,05$) kom voor tussen profiel 1 en 2 asook tussen profiel 1 en 3. Aspirien het 'n daling van sowat 75% te weeg bring in die diklofenak plasmakonsentrasies (Cmax) en van nagenoeg 50% in die AUC. Dit kan dus met redelike sekerheid aanvaar word, dat 'n farmakokinetiese wisselwerking wel tussen diklofenak en aspirien in die mens bestaan.

TABEL 4.1: U.O.V.S. 5/75 - DIKLOFENAK PLASMAKONSENTRASIES (ng/ml) VERKRY IN 5 PROEFPERSONE NA TOEDIENING VAN DIKLOFENAK ALLEEN (PROFIEL 1) EN NA TOEDIENING VAN DIKLOFENAK SAAM MET ASETIELSALISIELSUUR (PROFIELE 2 & 3).

Gem. ± std. afw.	PROEFPERSONE					TYD (UUR)	
	M	L	K	J	H		
0	0	0	0	0	0		PROFIEL 1
1167 ± 800	560	178	1209	1915	1975	0,167	
1147 ± 499	908	399	1371	1396	1665	0,33	
696 ± 219	902	577	381	881	740	0,50	
754 ± 278	855	520	429	1115	851	0,67	
374 ± 176	267*	241	-	363	628	1,00	
135 ± 76	22	112	232	159	154	1,50	
66 ± 48	3	73	87	39	130	2,0	
30 ± 11	-	14	30	36	40	3,0	
12 ± 2	-	12	9	13	16	4,0	
11 ± 7	12	22	2	13	9	6,0	
0	-	4	0	0	0	8,0	
13 ± 24	9	0	0	0	57	0	PROFIEL 2
165 ± 122	57	36	108	219	112	0,167	
232 ± 176	447	65	165	91	395	0,37	
190 ± 102	315	-	190	64	191	0,50	
118 ± 104	110	6	110	78	290	0,67	
128 ± 84	132	62	200	26	220	1,0	
147 ± 19	150	124	177	138	150	1,5	
215 ± 156	207	99	117	439	-	2,0	
52 ± 9	49	43	63	62	45	3,0	
23 ± 9	-	14	-	33	24	4,0	
17 ± 13	33	-	6	0	14	6,0	
3 ± 6	-	0	0	0	15	8,0	
37 ± 46	10	45	0	16	114	0	PROFIEL 3
115 ± 158	63	38	33	45	399	0,167	
236 ± 143	254	406	63	121	337	0,33	
238 ± 128	443	276	113	184	176	0,50	
259 ± 88	285	378	234	134	266	0,67	
179 ± 67	219	265	151	86	177	1,0	
206 ± 102	167	376	183	101	203	1,5	
159 ± 25	154	202	161	143	139	2,0	
37 ± 11	24	51	36	29	47	3,0	
23 ± 10	14	34	35	18	16	4,0	
16 ± 11	8	20	35	10	7	6,0	
4 ± 4	0	5	12	11	6	8,0	

FIGUUR 4.1 : U.O.V.S. 5/75 - Gemiddelde Plasma-diklofenakkonsentrasies verkry in 5 proefpersone na toediening van diklofenak alleen (profiel 1) en na gesamentlike toediening van diklofenak en asetielsalisielsuur (profiele 2 & 3).



4.2 STUDIES OM DIE KLINIES-WAARGENOME WISSELWERKING TE VERKLAAR

4.2.1 IN VITRO STUDIES

4.2.1.1 Binding van diklofenak aan plasmaproteïene en die invloed van asetielsalisielsuur en salisielsuur daarop

Die resultate soos verkry in hierdie eksperiment, word in tabel 4.2.1.1 uiteengesit. Die volgende afleidings kan uit hierdie resultate gemaak word:

(a) Diklofenak is 99,34% gebonde aan mens-serumalbumien soos bepaal na 3 uur ultrafiltrasie.

(b) Asetielsalisielsuur het weinig invloed op die mate waartoe diklofenak gebonde is aan plasmaproteïene.

(c) Salisielsuur het wel 'n toename van 38% in die vry diklofenak tot gevolg gehad.

Die feit dat salisielsuur, wat 'n metaboliet van asetielsalisielsuur is, 'n verhoging in die vrye diklofenakkonsentrasie teweeg bring kan, waarskynlik 'n bydraende faktor wees tot die verskynsel dat diklofenak-plasmakonsentrasies onderdruk word in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur. Hoe meer diklofenak vry voorkom in die plasma, hoe meer is beskikbaar vir verspreiding, metabolisme en uitskeiding. Dit kan laer plasmavlakke van diklofenak tot gevolg hê. Hierdie resultate stem ooreen met dié verkry deur Chaplin (30) wat gevind het dat naproksien 99% gebonde is aan plasmaproteïene. Chaplin het verder gevind dat in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur neem die vrye fraksie toe met 27% na 1,41%.

TABEL 4.2.1.1: DIE PERSENTASIE ONGEBONDE DIKLOFENAK VERKRY IN MENSSERUMALBUMIEN NA INKUBASIE VAN ^{14}C-DIKLOFENAK MET EN SONDER ASETIELSALISIELSUUR (± 300 ug) EN SALISIELSUUR (± 300 ug) N = 6.

Diklofenak konsentrasie ng/ml	Plasma		Plasma + ASA⁺		Plasma + SA⁺⁺	
	Tellings	%	Telllings	%	Tellings	%
Na 1 uur filtrasie						
1000	183/39452	0,463	183/38554	0,474	368/40688	0,904
1500	205/39354	0,52	242/37602	0,643	375/39981	0,937
2000	189/39241	0,481	244/38624	0,631	404/39698	1,017
3000	268/39842	0,672	246/38078	0,64	306/39848	0,767
	Gem.	0,534	Gem.	0,597	Gem.	0,906
Na 3 uur filtrasie						
1000	274/39452	0,694	245/38554	0,635	372/40688	0,91
1500	270/39354	0,686	231/37602	0,614	389/39981	0,97
2000	264/39241	0,672	-	-	-	--
3000	224/39842	0,562	252/38078	0,66	346/39848	0,86
	Gem.	0,653	Gem.	0,636	Gem.	0,91

% Gebonde

	Plasma	Plasma + ASA⁺	Plasma + SA⁺⁺
1 uur	99,46	99,4	99,09
3 uur	99,34	99,36	99,09

⁺ ASA = Asetielsalisielsuur

⁺⁺ SA = Salisielsuur

4.2.2 IN VIVO STUDIES

4.2.2.1 Kliniese Proef U.O.V.S. 6/76 - Ondersoek na die diklofenak-plasmakonsentrasies verkry na intra-muskulêre toediening daarvan in die aan- en afwesigheid van asetielsalisielsuur

(a) Konsentrasie diklofenak in die plasma.

In tabel 4.2.2.1 (a) word die resultate soos verkry in hierdie eksperiment uiteengesit. Hierdie konsentrasie is in figuur 4.2.2.1 (a) grafies uiteengesit teenoor tyd. Alhoewel nie statisties betekenisvol nie, word die oppervlakte onder die diklofenak-konsentrasie-tyd-kromme met 29,4% verminder in die geval van gesamentlike aspirien dosering. Uit hierdie resultate blyk dit dus dat, al word natriumdiklofenak intramuskulêr toegedien, word die wisselwerking steeds waargeneem, alhoewel nie so treffend soos by orale dosering nie.

(b) Uitskeiding van diklofenak in urien.

In tabel 4.2.2.1 (b) word die urien uitskeiding van diklofenak weergegee soos gevind in een van die proefpersone wat die grootste afname in diklofenak-plasmapeile getoon het met gesamentlike dosering van asetielsalisielsuur. In figuur 4.2.2.2 (b) word die kumulatiewe uitskeiding van diklofenak voor en na aspirien dosering weergegee.

Soos gesien kan word, word meer onveranderde diklofenak deur die niere uitgeskei wanneer diklofenak alleen ingeneem is, as by gelyktydige inname saam met asetielsalisielsuur. Die totale hoeveelheid diklofenak gevind in die urine na 24 uur met alleen-dosering van natriumdiklofenak is 2,454 mg wat 3,3% van die dosis is. Die hoeveelheid gevind in die urine na gesamentlike asetielsalisielsuurdosering is 1,989 mg na 24 uur, wat slegs 2,65% van die dosis is. Daar is dus 0,62% minder van die dosis in die urine uitgeskei wanneer asetielsalisielsuur gelyktydig toegedien is.

TABEL 4.2.2.1(a): U.O.V.S. 6/76 - DIKLOFENAK-PLASMAKONSENTRASIES (ng/ml) NA DOSERING VAN NATRIUMDIKLOFENAK INTRAMUSKULêR (B) EN NATRIUMDIKLOFENAK INTRAMUSKULêR EN ASETIELSALISIELSUUR ORAAL (A).

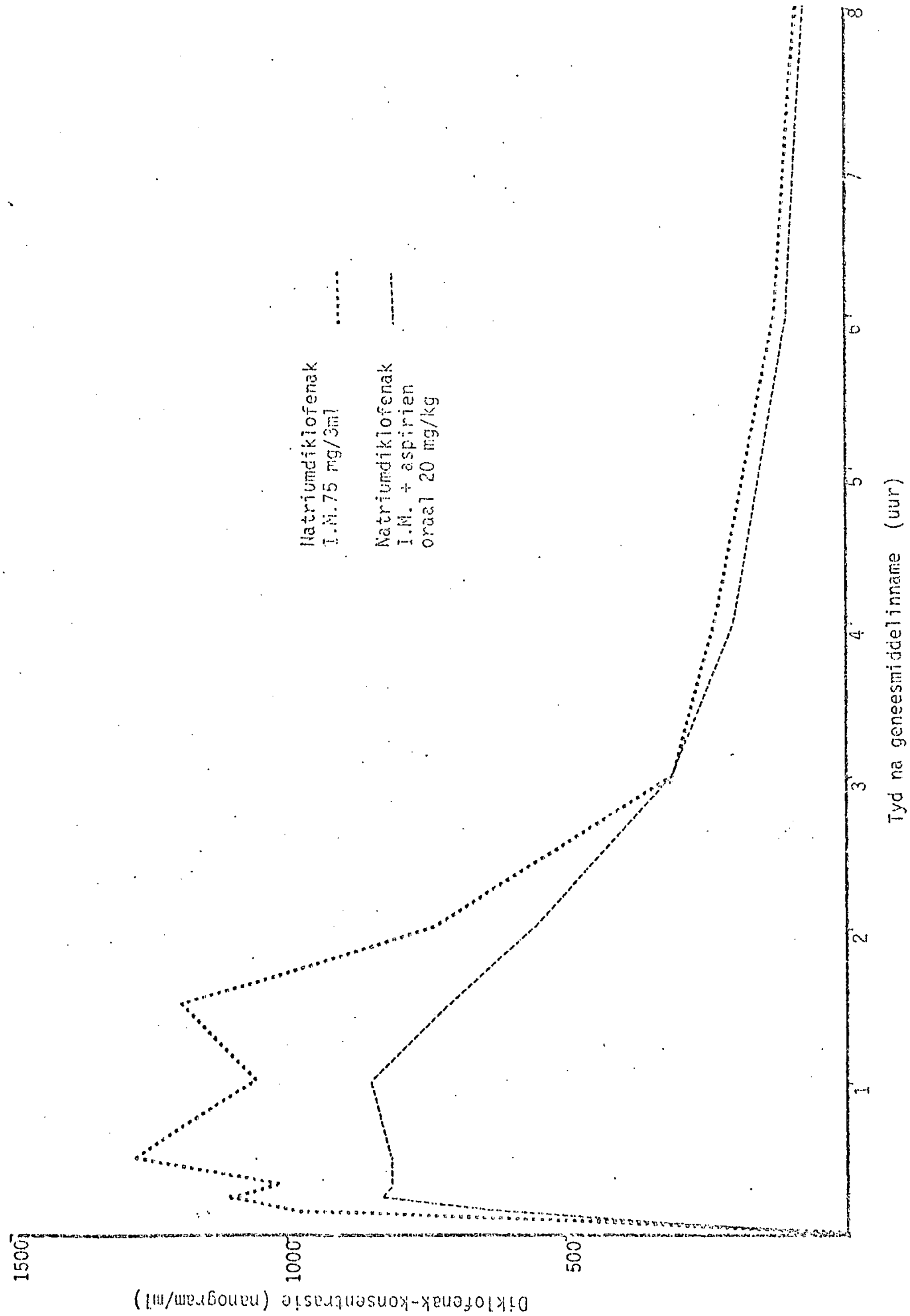
A

TYD	PROEFPERSONE				
	D M	L B	J M	F P	Gem. ± Std. Afw.
5 min.	142	724	214	229	327 ± 267
10 min.	172	1260	620	511	640 ± 454
15 min.	346	1164	1052	736	825 ± 366
20 min.	316	1337	891	701	811 ± 424
30 min.	348	1324	828	755	814 ± 400
60 min.	728	1082	900	685	849 ± 181
90 min.	707	612	909	601	707 ± 142
2 uur	510	595	522	596	556 ± 46
3 uur	324	297	336	303	315 ± 18
4 uur	201	214	304	192	228 ± 8
6 uur	131	103	162	123	130 ± 23
8 uur	110	60	70	90	83 ± 21

B

5 min.	567	565	845	245	556 ± 245
10 min.	881	720	1639	711	988 ± 441
15 min.	971	1042	1726	677	1104 ± 443
20 min.	543	1042	1508	978	1018 ± 394
30 min.	1140	1170	1645	1150	1276 ± 245
60 min.	1068	770	1179	1217	1059 ± 202
90 min.	616	786	2243	1114	1190 ± 731
2 uur	319	767	956	904	736 ± 289
3 uur	181	421	241	393	309 ± 105
4 uur	165	267	223	291	236 ± 55
6 uur	108	121	111	177	129 ± 32
8 uur	77	112	72	100	90 ± 20

FIGUUR 4.2.2.1 (a): U.O.V.S. G/76 - Gemiddelde diklofenak-plasma=
konsentrasies na intramuskulêre toediening
voor en na gesamentlike aspirientoediening.



TABEL 4.2.2.1(b): U.O.V.S. 6/76 - DIKLOFENAK-URIENKONSENTRASIE VAN EEN VAN DIE PROEFPERSONE NA DOSERING VAN NATRIUMDIKLOFENAK INTRAMUSKULêR (A) EN NATRIUMDIKLOFENAK INTRAMUSKULêR PLUS ASETIELSALISIELSUUR ORAAL (B).

A

	A. DIKLOFENAK					B. DIKLOFENAK EN ASPIRIEN				
Tyd h	Vol. ml	Ongebonde ng/ml	Gebonde & Ongebonde ng/ml	Ongebonde Totaal ug	Gebonde & Ongebonde Totaal ug	Vol. ml	Ongebonde ng/ml	Gebonde & Ongebonde ng/ml	Ongebonde Totaal ug	Gebonde & Ongebonde Totaal ug
1	37	21990	21523	822	632	31	1990	7838	61	243
2	32	25677	25576	831	488	27	17177	16924	470	463
3	13	4502	12820	62	331	17	3867	10649	67	185
4	13	5520	18830	72	246	13	3535	12534	47	166
5	17	1476	11430	25	196	10	2640	11477	26	114
6	14	1764	12180	25	176	16	1305	9251	22	156
8	33	539	3335	18	112	60	291	5033	17	304
10	76	99	1385	7	106	102	223	2239	22	229
12	90	52	980	4	89	104	70	270	7	28
24	178	17	422	3	75	150	57	645	8	97
Kumulatiewe hoeveelheid				1873	2454				751	1989

Vry Diklofenak : 1873 ug

Gekonjugeerde diklofenak : 581 ug

Totale diklofenak : 2454 ug

% Vry diklofenak : 76,3%

% Gekonjugeerde : 23,7%

Vry Diklofenak : 751 ug

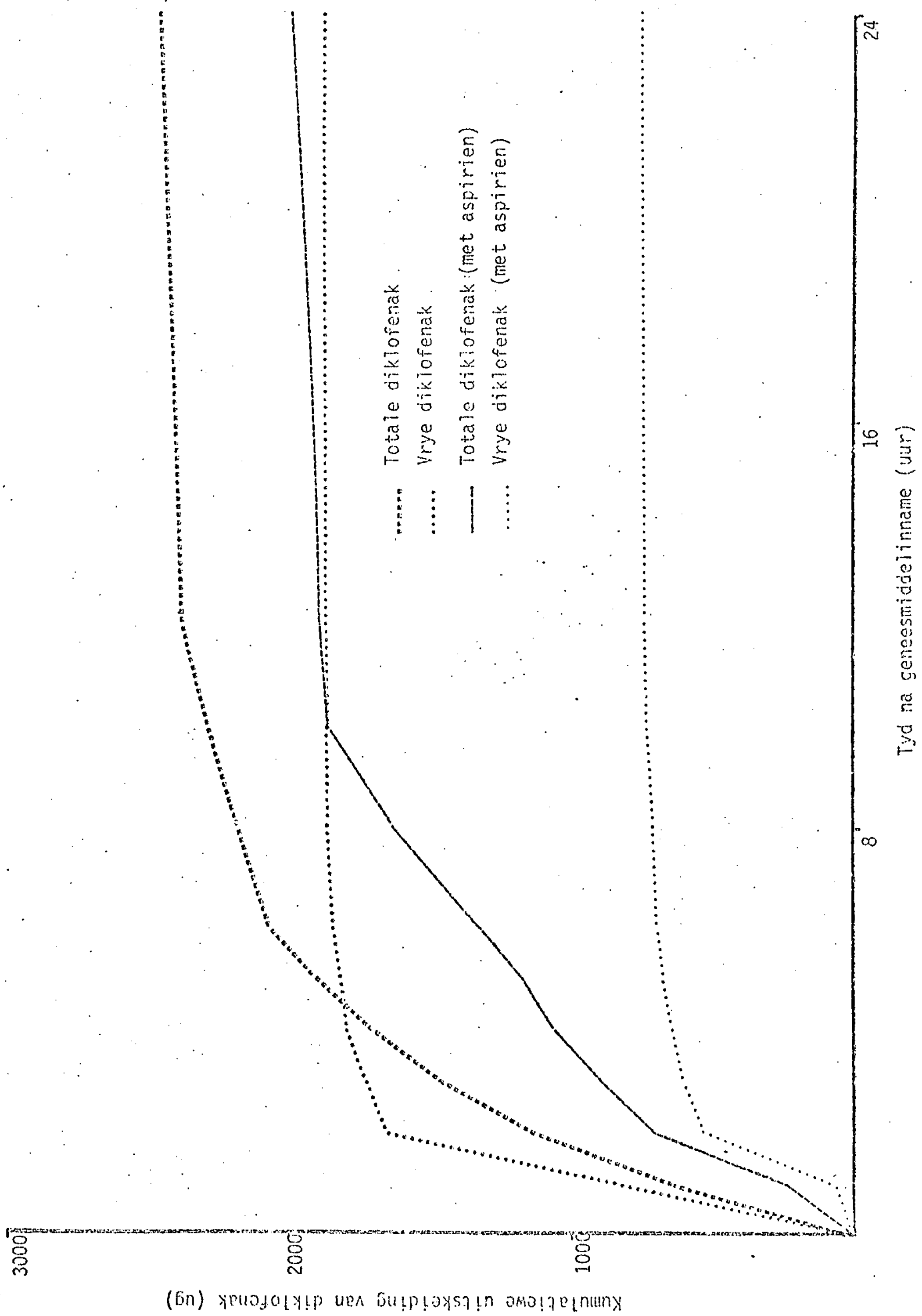
Gekonjugeerd : 1237 ug

Totaal : 1989 ug

% Vry diklofenak : 37,7%

Gekonjugeerde : 62,2%

FIGUUR 4.2.2.1 (b): KUMULATIEWE HOEVEELHEID DIKLOFENAK IN URINE



Dit wil dus voorkom asof baie min onveranderde diklofenak (3,3% van die dosis) binne 24 uur deur die niere uitgeskei word. Dit kan afgelei word dat alhoewel daar verskille voorkom wat betref die urienuitskeiding van diklofenak na intramuskulêre toediening, met en sonder aspirien dosering, die persentasie wat uitgeskei word so laag is dat 'n verskil in die urienuitskeiding van onveranderde diklofenak nie 'n aanvaarbare verklaring vir die waargenome wisselwerking kan bied nie.

(c) Hoeveelheid diklofenak in rooibloedselle.

Onmeetbaar lae hoeveelhede diklofenak is in die bloedselle gevind met en sonder aspirien behandeling.

4.2.2.2 <u>Kliniese proef : voorkoms van diklofenak in gal</u>

In tabelle 4.2.2.2 (a) en (b) word die resultate weergegee soos in hierdie proef verkry. 'n Beknopte weergawe as volg:

	Diklofenak 75 mg	Diklofenak en aspirien
<u>Persoon 1</u> (Manlik) - 53 jr.		
1. Volume gal versamel	544 ml	476 ml
2. Totale diklofenak in gal	0,190 mg	0,280 mg
3. Totale vry diklofenak	0,075 mg	0,091 mg
4. % van dosis	0,26%	0,38%
<u>Persoon 2</u> (Vroulik) - 56 jr.		
1. Volume gal versamel	681 ml	658,5 ml
2. Totale diklofenak in gal	0,754 mg	0,419 mg
3. Totale vry diklofenak	0,248 mg	0,268 mg
4. % van die dosis	1,01%	0,564%

TABEL 4.2.2.2(a): DIKLOFENAK-GALUITSKEIDING SOOS GEVIND IN PASIëNT 1 NA NATRIUMDIKLOFENAK (A) EN NATRIUDIKLOFENAK EN ASETIELSALISIELSUUR (B) DOSERING.

A. DIKLOFENAK						B. DIKLOFENAK EN ASPIRIEN				
Tyd h	Vol. ml	Vry Diklofenak		Totale Diklofenak		Vol. ml	Vry Diklofenak		Totale Diklofenak	
		ng/ml	Totaal ug	ng/ml	Totaal ug		ng/ml	Totaal ug	ng/ml	Totaal ug
1	10	21	0	372	3	14,5	86	1	935	13
2	23	1316	30	4417	101	26,0	246	6	2553	66
3	20	1118	22	1095	21	30,5	356	10	490	14
4	24,5	418	10	703	17	28	754	21	709	19
5	16	218	3	609	9	20	1167	23	2643	52
6	28	94	2	411	11	23	287	6	1491	34
8	44,5	176	7	244	10	40	504	20	994	39
10	55	29	1	126	6	44	65	2	341	15
24	323	0	0	38	12	250	10	2	114	28
Kumulatiewe hoeveelheid			75		190			91		280

A:

1. Dosis
2. Totale Vol. Gal: 544,0 ml
3. Totale vry diklofenak: 75 ug
4. Totale diklofenak: 190 ug
5. % Van dosis: 0,26%

B:

1. Dosis
2. Totale Vol. Gal: 476 ml
3. Totale vry diklofenak: 91 ug
4. Totale diklofenak: 280 ug
5. % Van dosis: 0,38%

TABEL 4.2.2.2(b):

DIKLOFENAK-GALUITSKEIDING SOOS GEVIND IN PASIëNT 2 NA NATRIUMDIKLOFENAK (A) EN NATRIUMDIKLOFENAK EN ASETIELSALISIELSUUR (B) DOSERING

A. DIKLOFENAK						B. DIKLOFENAK EN ASPIRIEN				
Tyd h	Vol. ml	Vry Diklofenak		Totale Diklofenak		Vol. ml	Vry Diklofenak		Totale Diklofenak	
		ng/ml	Totaal ug	ng/ml	Totaal ug		ng/ml	Totaal ug	ng/ml	Totaal ug
1	32	1938	62	6699	214	27	950	25	2119	57
2	30	1167	35	1915	57	34	1447	49	2408	81
3	29,5	1221	36	4596	135	16	4950	79	7014	112
4	27	1580	42	4596	124	32	1417	45	1864	59
5	33	840	27	4069	134	35,5	950	34	821	29
6	32	574	18	1272	40	30	455	13	686	20
8	605	300	18	508	30	56	306	17	312	17
10	52	48	2	171	8	58	112	6	159	9
24	385	22	8	31	12	370	0	0	97	35
Kumulatiewe hoeveelheid			248		754			268		419

A:

1. Dosis: 75 mg diklofenak
2. Totale volume gal: 681 ml
3. Totale vry diklofenak: 248 ug
4. Totale diklofenak: 754 ug
5. % van dosis: 1,01%

B:

1. Dosis: 75 mg diklofenak en 1200 mg aspirien
2. Totale volume gal: 648,5 ml
3. Totale vry diklofenak: 268 ug
4. Totale diklofenak: 419 ug
5. % van dosis: 0,564%

Dit wil voorkom asof biliêre uitskeiding van onveranderde diklofenak in die teenwoordigheid van aspirien nie 'n rol in die wisselwerking kan speel nie, omdat gemiddeld slegs sowat 0,55% van die dosis toegedien, onveranderd deur die gal uitgeskei word. Hierdie hoeveelheid is te klein om 'n groot rol te kan speel by die wisselwerking tussen diklofenak en asetielsalisielsuur en stem ooreen met resultate verkry met indometasien deur Duggan (33).

As na die afsonderlike persone gekyk word, kan gesien word dat persoon 1 'n effense toename in totale diklofenak in die gal met gesamentlike aspirieninname toon, terwyl persoon 2 weer 'n afname toon onder dieselfde omstandighede.

Geen toename in galvloei is waargeneem met asetielsalisielsuur toediening nie.

Alhoewel slegs twee pasiënte in hierdie kliniese ondersoek gebruik is, wil dit voorkom asof 'n verhoogde uitskeiding van diklofenak in die gal in die teenwoordigheid van aspirien nie die oorsaak van die wisselwerking tussen diklofenak en aspirien is nie.

4.2.2.3 Orale en intraveneuse toediening van ^{14}C-natriumdiklofenak in die afwesigheid en in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur

(a) Plasmakonsentrasies

In tabelle 4.2.2.3 (a) en (b) word totale radio-aktiwiteit in plasma, omgereken na die plasmakonsentrasies van onveranderde diklofenak na orale en intraveneuse doserings van ^{14}C-natriumdiklofenak onderskeidelik aangedui. Figure 4.2.2.3 (a) en (b) gee hierdie resultate grafies weer.

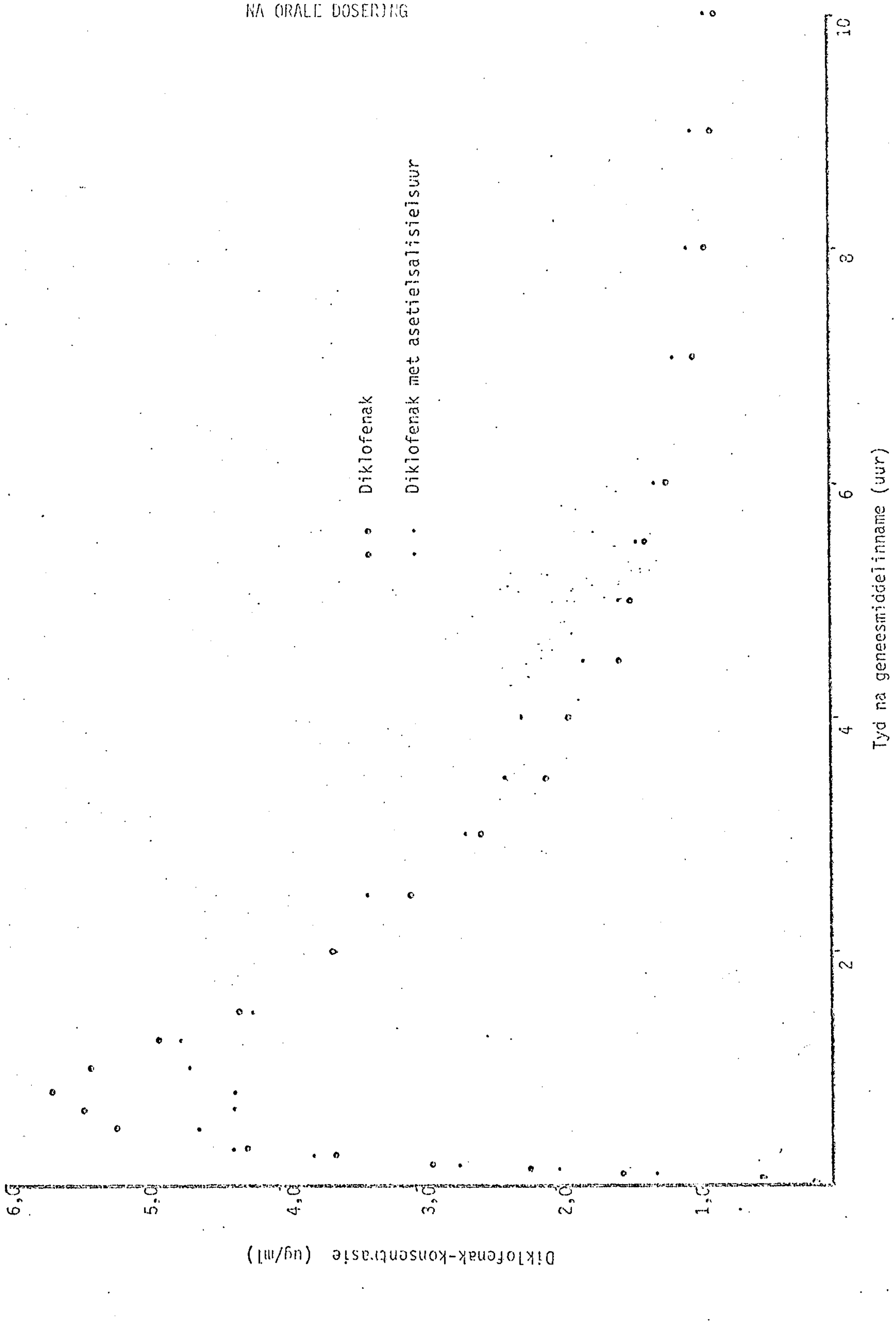
As figuur 4.1 vergelyk word met figuur 4.2.2.3 (a) kan gesien word dat Cmax in laasgenoemde geval ongeveer 5 keer hoër is. Hierdie verskynsel word toegeskryf daaraan dat die analise-metode in laasgenoemde geval, ook die metaboliete "waargeneem" het, anders as by die voorafgaande krommes waar slegs die onveranderde diklofenak weergegee is met behulp van 'n "koue" analise metode. Dié waarneming dui ook waarskynlik daarop dat diklofenak baie vinnig gebiotransformeer word.

'n Verdere waarneming uit figuur 4.2.2.3 (a), is dat daar geen verskil bestaan tussen die twee profiele voor en na gesamentlike aspirien dosering nie. Slegs 'n klein, onbeduidende verskil kom voor wat betref die Cmax. Dit wil dus voorkom asof die wisselwerking wat hier nie waargeneem word nie, gemasker word deur die metaboliete wat ook deur die bepalingsmetode waargeneem word. Uit hierdie gegewens kan dit duidelik gesien word dat ewe-veel radio-aktiwiteit na albei doserings (diklofenak en diklofenak met aspirien) geabsorbeer is uit die spysverteringskanaal.

TABEL 4.2.2.3(a): DIKLOFENAK-PLASMAKONSENTRASIES (ug/ml) VERKRY NA ORALE DOSERING SONDER (A) EN MET (B) GESAMENTLIKE ASPIRIENDOSERING.

Tyd min.	A. DIKLOFENAK					B. DIKLOFENAK EN ASPIRIEN				
	PROEFPERSONE				Gem. ± std. afw.	PROEFPERSONE				Gem. ± std. afw.
	I	II	III	IV		I	II	III	IV	
2	0	0	0,530	0	0,132 ±0,27	0,072	0,125	0,222	0,056	0,118 ±0,07
4	0,113	0,083	1,723	0,321	0,56 ±0,78	0,549	0,595	0,462	0,623	0,557 ±0,557
6	0,555	0,417	3,965	1,233	1,543 ±1,65	0,875	1,695	0,846	1,769	1,296 ±0,5
8	0,909	0,770	4,453	2,709	2,210 ±1,74	1,036	2,820	1,301	2,830	1,996 ±0,95
10	1,067	0,973	5,365	4,240	2,911 ±2,23	1,329	4,278	1,503	3,698	2,702 ±1,51
15	1,586	1,535	4,590	6,679	3,597 ±2,5	1,780	6,491	1,778	4,994	3,760 ±2,37
20	2,346	2,637	4,722	7,254	4,239 ±2,27	2,725	7,158	1,846	5,638	4,341 ±2,48
30	3,109	5,780	4,670	7,253	5,203 ±1,75	3,629	6,283	2,327	6,266	4,626 ±1,98
40	3,971	6,003	5,846	5,988	5,452 ±0,99	3,842	5,433	2,260	5,901	4,359 ±1,65
50	5,955	5,327	5,480	5,972	5,683 ±0,33	4,200	4,707	2,929	5,513	4,337 ±1,08
60	6,575	4,531	5,014	5,373	5,373 ±0,87	4,641	4,342	3,963	5,737	4,670 ±0,76
75	6,126	3,981	5,658	4,885	5,163 ±0,94	5,400	3,927	4,026	5,610	4,740 ±0,89
90	6,094	3,285	3,519	4,371	4,317 ±1,27	5,160	3,261	3,584	4,872	4,219 ±0,94
120	5,179	2,811	2,616	3,795	3,600 ±1,17	4,168	2,592	3,388	4,366	3,628 ±0,81
150	3,917	2,5	2,466	3,219	3,051 ±0,66	4,637	2,709	2,224	3,826	3,349 ±1,09
180	3,320	2,189	2,016	2,588	2,528 ±0,58	3,349	1,931	2,199	3,085	2,641 ±0,68
210	2,661	1,897	1,746	2,362	2,165 ±0,42	3,135	1,723	1,795	2,817	2,367 ±0,72
240	2,279	1,582	1,632	2,088	1,895 ±0,34	3,403	1,664	1,606	2,363	2,259 ±0,84
270	1,886	1,233	1,3	1,802	1,555 ±0,34	2,203	1,333	1,451	2,299	1,821 ±0,5
300	1,862	1,142	1,26	1,706	1,492 ±0,35	1,926	1,101	1,311	1,931	1,567 ±0,43
330	1,632	1,155	1,149	1,511	1,362 ±0,25	1,736	1,189	1,094	1,666	1,421 ±0,33
360	1,446	1,116	0,934	1,348	1,211 ±0,23	1,459	1,017	0,988	1,682	1,286 ±0,29
390	1,273	0,837	0,883	1,124	1,029 ±0,21	1,386	0,843	0,920	1,494	1,160 ±0,33
480	1,129	0,669	0,813	1,048	0,914 ±0,21	1,196	0,788	0,829	1,422	1,058 ±0,3
540	0,956	0,703	0,9	0,935	0,873 ±0,12	1,190	0,793	0,892	1,174	1,012 ±0,2
600	0,938	0,635	0,864	0,899	0,846 ±0,15	1,087	0,777	0,834	1,00	0,924 ±0,14
24h	-	0,559	0,464	0,328	0,450 ±0,12	0,454	0,295	-	0,479	0,409 ±0,1

FIGUUR 4.2.2.3(a) : GEMIDDELDE ^{14}C DIKLOFENAK-PLASMAKONSENTRASIES NA ORALE DOSERING



Ook in die geval van intraveneuse dosering (figuur 4.2.2.3 (b) is geen verskil aangetref in die gemiddelde plasmaprofiele voor en na gesamentlike asetielsalisielsuur toediening nie. Die "maskereffek" van metaboliete het, ook hier 'n rol gespeel en verdere afleidings wat betref die waargenome wisselwerking is nie opvallend voorhande nie.

Gemiddelde maksimum plasma-diklofenak- en metabolietkonsentrasies van 5,683 ug/ml is na 50 minute bereik na orale dosering. Hierdie konsentrasie het gedaal na 0,450 ug/ml binne 24 uur. In gevalle waar aspirien ingesluit is in die dosis, is gemiddelde maksimum plasma-diklofenak- en metabolietkonsentrasies van 4,74 ug/ml eers na 75 minute bereik. Daar kan egter nie veel waarde aan hierdie syfers geheg word nie, aangesien die skommelinge in die tyd tot piekvlak te groot is.

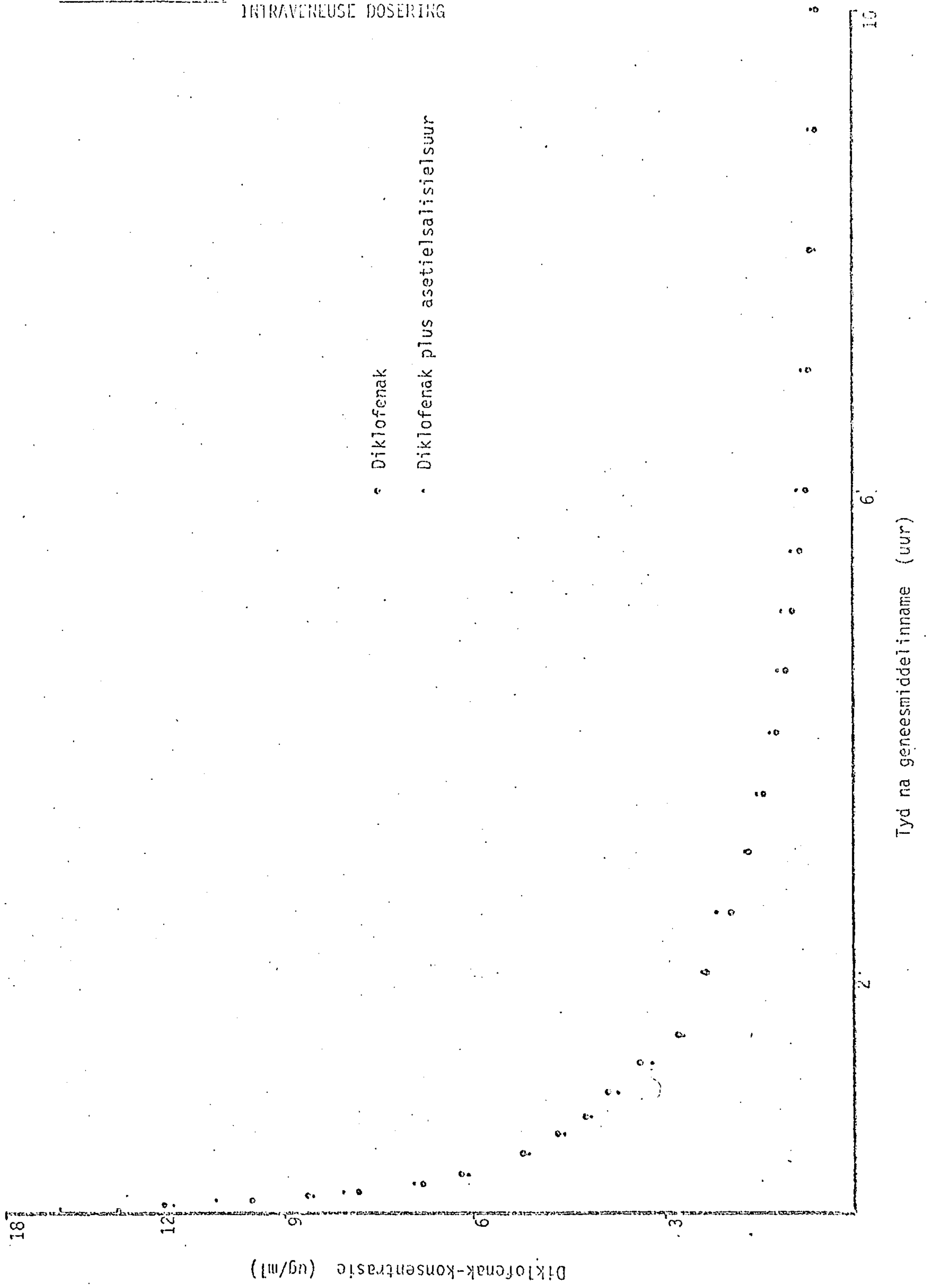
(b) Urienuitskeiding

In tabel 4.2.2.3 (c) word die konsentrasies weergegee van ^{14}C-diklofenak en sy metaboliete soos verkry in die urien voor en na gesamentlike orale dosering met asetielsalisielsuur. In tabel 4.2.2.3 (d) word dié konsentrasies weergegee na intraveneuse toediening van ^{14}C-natriumdiklofenak met en sonder gesamentlike orale aspirien inname. Soos aangedui is die gemiddelde kumulatiewe hoeveelheid diklofenak en metaboliete gevind na 48 uur in die urien 51,22 mg en 53,4 mg wanneer slegs 75 mg natriumdiklofenak onderskeidelik oraal en intraveneus toegedien is. By gesamentlike dosering met aspirien is die herwinning, onderskeidelik 44,38 mg en 45,32 mg. Dit wil dus voorkom asof minder diklofenak en metaboliete daarvan deur die niere uitgeskei word in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur en/of salisielsuur.

TABEL 4.2.2.3(b): ^{14}C-DIKLOFENAK (EN METABOLIET)-PLASMAKONSENTRASIES (ug/ml) VERKRY NA INTRAVENEUSE DOSERING SONDER (A) EN MET (B) GESAMENTLIKE ASPIRIENDOSERING.

	A. DIKLOFENAK					B. DIKLOFENAK EN ASPIRIEN				
Tyd min.	PROEFPERSONE I	II	III	IV	Gem. ± Std.afw.	PROEFPERSONE I	II	III	IV	Gem. ± Std.afw.
2	17,361	15,446	14,198	15,607	15,653 ±1,30	21,573	15,024	14,864	16,004	16,886 ±3,18
4	16,950	12,817	14,053	14,841	14,665 ±1,74	16,372	14,233	13,674	13,572	14,462 ±1,31
6	14,178	11,748	12,431	12,613	12,742 ±1,03	14,198	14,142	12,111	13,551	13,50 ±0,97
8	13,009	10,485	11,079	11,539	11,528 ±1,08	12,324	10,396	10,476	12,410	11,401 ±1,12
10	11,842	10,047	9,820	10,198	10,476 ±0,92	11,703	10,047	10,026	11,236	10,750 ±0,85
15	10,111	9,059	8,321	8,793	9,071 ±0,76	10,174	8,33	8,347	9,998	9,212 ±1,01
20	9,628	8,231	7,407	7,576	8,210 ±1,01	9,257	6,605	7,469	9,095	8,106 ±1,26
30	7,816	6,995	6,103	6,937	6,962 ±0,70	7,613	5,430	6,165	8,220	6,857 ±1,28
40	7,454	6,801	5,327	6,224	6,451 ±0,9	6,757	5,415	5,163	7,039	6,093 ±0,94
50	6,402	5,745	4,785	5,532	5,616 ±0,67	6,398	4,532	4,963	6,224	5,529 ±0,92
60	6,002	5,277	4,494	5,019	5,19 ±0,63	5,737	3,968	4,243	5,853	4,950 ±0,98
75	5,037	4,435	4,157	4,383	4,503 ±0,38	4,753	3,467	3,667	5,113	4,25 ±0,81
90	4,155	3,373	3,352	3,889	3,692 ±0,4	4,190	3,00	3,358	3,969	3,629 ±0,55
120	3,217	2,907	3,151	3,310	3,146 ±0,17	3,445	2,493	2,684	4,390	3,253 ±0,86
150	2,67	2,298	2,437	2,976	2,595 ±0,3	3,364	2,22	2,529	3,638	2,937 ±0,67
180	2,449	2,237	2,050	2,431	2,291 ±0,23	2,730	1,823	1,102	2,689	2,336 ±0,45
210	2,009	1,805	1,906	2,194	1,978 ±0,17	2,425	1,611	1,947	2,388	2,085 ±0,39
240	1,724	1,39	1,582	1,987	1,670 ±0,25	2,173	1,324	1,675	2,198	1,842 ±0,42
270	1,509	1,287	1,520	1,647	1,490 ±0,15	1,848	1,162	1,524	1,930	1,616 ±0,25
300	1,326	1,152	1,251	1,590	1,329 ±0,18	1,784	1,016	1,386	1,884	1,517 ±0,4
330	1,261	1,012	1,207	1,246	1,181 ±0,12	1,496	0,967	1,441	1,654	1,389 ±0,3
360	1,067	0,812	1,017	1,248	1,036 ±0,18	1,457	0,872	1,185	1,434	1,237 ±0,27
390	1,062	0,862	1,00	1,230	1,038 ±0,15	1,440	0,751	1,258	1,307	1,189 ±0,3
480	0,962	0,684	1,042	1,178	0,966 ±0,21	1,110	0,659	0,853	1,123	0,936 ±0,22
540	0,856	0,674	0,876	1,051	0,864 ±0,15	1,062	0,698	0,988	1,033	0,945 ±0,17
600	0,743	0,718	1,002	0,907	0,842 ±0,14	1,019	0,669	0,956	0,939	0,895 ±0,16
24h	0,35	-	0,390	0,352	0,364 ±0,02	0,334	0,329	0,384	-	0,349

FIGUUR 4.2.2.3(b): GEMIDDELDE ^{14}C DIKLOFENAK-PLASMAKONSENTRASIES NA INTRAVENEUSE DOSERING



TABEL 4.2.2.3(c):

^{14}C-DIKLOFENAK (EN METABOLIET)-URIENUITSKEIDING SOOS VERKRY NA ORALE INNAME VAN NATRIUMDIKLOFENAK SONDER (A) EN MET (B) ASETIELSAILISIELSUUR

A

Tyd uur	PROEFPERSONE I	II	III	IV	Gem. ± Std. Afw.
	Hoeveelheid ug				
1	5960,5	7768,7	12415,6	12392,3	9634,2 ± 3282,25
2	11655,6	8186,4	8566,4	10674,3	9770,7 ± 1666,3
3	4752,9	4679,1	4612,4	6493,7	5134,5 ± 786,29
4	6037,0	3484,6	4241,5	4892,4	4663,9 ± 1081,17
5	4331,5	2363,8	3158,9	3555,6	3352,4 ± 819,49
6	3263,6	1687,8	2519,3	3245,2	2678,9 ± 746,17
7	2141,6	1537,7	630,0	2989,7	1824,9 ± 994,18
8	2125,2	1035,6	1911,2	1652,3	1652,3 ± 477,58
9	1650,9	1122,2	-	1469,3	1414,1 ± 268,63
10	1313,1	975,7	1562,5	1236,3	1271,9 ± 241,62
24	8456,4	6765,5	6406,7	10316,3	7986,2 ± 1792,15
36	-	740,2	1973,4	2880,7	1864,76 ± 1074,38
48	-	783,6	447,9	1942,3	1057,9 ± 784,06
Kum. hoeveelheid mg	51,688	41,131	48,072	63,999	51,22mg ± 9,58 mg

B

Tyd uur	I	II	III	IV	Gem. ± Std. Afw.
1	2368,1	6591,4	3148,7	6385,5	4623,4 ± 2178,62
2	6873,4	5250,8	5916,7	7836,8	6469,4 ± 1128,93
3	6179,6	3737,7	4797,6	6410,6	5281,4 ± 1224,49
4	5377,2	2881,6	5311,7	4613,9	4546,1 ± 1162,18
5	4115,6	2101,9	2443,3	3785,8	3111,6 ± 900,13
6	3399,2	1818,8	2297,6	3266,4	2552,6 ± 763,34
7	1572,0	1274,6	1525,6	2694,7	1766,7 ± 632,29
8	5012,0	1218,0	1269,3	2303,7	2450,7 ± 1779,24
9	2050,9	1036,6	1370,8	1617,5	1518,9 ± 427,12
10	1708,4	1069,0	139,8	1793,8	1177,7 ± 763,82
24	1078,4	5361,8	468,1	10401,1	4327,4 ± 4597,46
36	1553,1	3197,9		1728,9	2159,9 ± 903,16
48	1276,5	1005,7		1186,8	1156,3 ± 137,95
Kum. Hoeveelheid mg	42,564	36,546	28,689	54,025	44,39mg ± 8,88mg

TABEL 4.2.2.3(d): ^{14}C-DIKLOFENAK (EN METABOLIET)-URIENUITSKEIDING (ug) SOOS VERKRY NA INTRAVENEUSE DOSERING VAN NATRIUMDIKLOFENAK SONDER (A) EN MET (B) GESAMENTLIKE ORALE ASTIELSALISIELSUUR INNAME.

A

Tyd uur	PROEFPERSONE I	II	III	IV	Gem. ± std. dev.
1	11063,0	9214,9	11154,2	12508,4	10985,2 ± 1352,62
2	9915,5	5583,9	7127,1	8927,2	7888,4 ± 1921,68
3	6167,2	3205,9	-	5442,1	4938,4 ± 1543,57
4	4150,2	2192,2	-	4527,5	3623,3 ± 1253,64
5	2745,7	1857,8	12357,9	3530,3	5122,93 ± 4871,47
6	2519,9	1288,9	-	2982,2	2263,67 ± 875,25
7	1448,3	1282,5	2723,3	2046,3	1875,03 ± 653,6
8	1794,1	811,9	2035,8	1953,3	1648,8 ± 566,86
9	1171,1	637,9	1079,6	1368,9	1064,4 ± 308,89
10	1052,9	-	1132,3	1481,0	1222,0 ± 185,94
24	7166,0	6168,5	9044,4	7659,6	7509,63 ± 1196,48
36	1801,4	-	1376,9	2719,3	1965,87 ± 686,15
48	1978,4	-	857,8	3331,6	2055,93 ± 1238,72
Kum. hoeveelheid mg	52,973	32,304	48,889	58,47	53,4 ± 4,81 mg.

B

Tyd uur	I	II	III	IV	Gem. ± std. dev.
1	6401,7	8506,7	8478,1	11527,5	8728,5 ± 2110,32
2	7126,5	5340,4	6015,3	8006,2	6622,1 ± 1180,55
3	4765,2	3009,2	4453,2	6533,4	4543,7 ± 1447,4
4	3913,1	2665,3	5962,6	4437,8	4244,7 ± 1365,4
5	3266,8	1984,1	2858,3	4182,8	3073,0 ± 913,06
6	2328,4	1635,4	2504,5	2951,5	2354,9 ± 546,72
7	1985,3	979,4	1775,8	2270,3	1752,7 ± 553,94
8	1385,1	1224,3	1966,7	1410,3	1496,6 ± 324,05
9	1278,5	858,4	1163,1	1970,0	1317,5 ± 469,71
10	1260,2	1037,2	1575,8	1538,8	1353,0 ± 253,31
24	7516,9	5743,9	6065,9	10880,1	7551,7 ± 2349,13
36	1179,1	1048,5	3230,3	-	1819,3 ± 999,15
48	784,3	466,7	1820,0	-	1023,7 ± 707,69
Kum. Hoeveelheid mg	43,191	34,499	47,869	55,708	na 24 uur 45,32 ± 8,87 mg

Gemiddeld het 68,3% en 71,2% van die dosis diklofenak toegedien na 48 uur in die urine verskyn, wanneer slegs diklofenak oraal en intraveneus toegedien is. Na gesamentlike orale aspirien toediening is onderskeidelik 59,2% en 60,4% van die dosis na 48 uur in die urine uitgeskei.

Dit is dus duidelik dat diklofenak en sy metaboliete, in die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur en/of salisielsuur, stadiger uitgeskei word deur die niere. 'n Verklaring hiervoor kan wees dat die eliminasie $t\frac{1}{2}$ vir diklofenak en sy metaboliete verleng in die teenwoordigheid van aspirien en/of salisielsuur. 'n Ander moontlikheid is dat aspirien en/of salisielsuur die verspreiding van diklofenak en/of sy metaboliete na dieper kompartemente veroorsaak en op so 'n wyse veroorsaak dat die radioaktiwiteit stadiger in die urien te voorskyn kom. Dit kan egter ook wees dat minder diklofenak en metaboliete uitgeskei word in die urine in die teenwoordigheid van aspirien deurdat 'n groter mate van uitskeiding in die stoelgang kan plaasvind.

(c) Hoeveelheid ^{14}C-diklofenak in die stoelgang.

In tabel 4.2.2.3 (e) is die hoeveelheid diklofenak en metaboliete wat na 48 uur in die stoelgang voorgekom het aangedui. Hierdie waardes is nie baie akkuraat en van groot waarde nie om twee redes, naamlik:

1. die proefpersone het probleme ondervind met akkurate monsterversameling as gevolg van hardlywigheid en
2. die tydperk van monsterversameling was nie voldoende nie.

(d) Ondersoek na die metaboliete van diklofenak in plasma.

Die bestaan van die oksindool-metaboliet is bo alle twyfel in die plasma vasgestel deur middel van die GC-MS-ondersoek. In tabel 4.2.2.3 (f) word die persentasie van die radio-aktiwiteit as die oksindool-metaboliet en onveranderde diklofenak in die plasma gevind, onderskeidelik aangedui na elke toedieningstipe. Hierdie persentasies kan slegs as growwe aanduidings geneem word as gevolg van die semi-kwantitatiewe analisemetode gebruik.

Uit hierdie gegewens is dit baie duidelik dat die oksindool-metaboliet reeds op 'n baie vroeë stadium na toediening (oraal en intraveneus), in die plasma teenwoordig is. Dit is verder opmerklik dat hierdie metaboliet reeds kort na inname van die geneesmiddel 'n hoë persentasie van die totale geneesmiddel/metaboliet konsentrasie uitmaak.

Uit figuur 4.2.2.3 (a) en tabel 4.2.2.3 (a) blyk dit dat, behalwe vir groter skommelings in die piekvlakke en tyd-tot-piekvlakke in die geval van gesamentlike aspirien inname, daar geen beduidende verskille in die plasmakonsentrasie-profiele vir die twee behandelings bestaan nie. Daar is egter sonder twyfel gewys dat daar wel beduidende verskille bestaan tussen die plasmakonsentrasie-profiele van onveranderde diklofenak vir die twee behandelings wanneer met die "koue" analise-metode spesifiek onveranderde diklofenak bepaal word.

TABEL 4.2.2.3(e): ^{14}C-DIKLOFENAK SOOS VERKRY IN STOELGANG NA 48 UUR (ug)

Proefpersoon	Behandeling	Hoeveelheid
I	A. ^{14}C-diklofenak oraal	-
	B. ^{14}C-diklofenak intraveneus	3,597
	C. ^{14}C-diklofenak en Aspirien oraal	8,054
	D. ^{14}C-diklofenak intraveneus en Aspirien oraal	17,602
II	A. ^{14}C-diklofenak oraal	13,154
	B. ^{14}C-diklofenak intraveneus	23,123
	C. ^{14}C-diklofenak en Aspirien oraal	10,215
	D. ^{14}C-diklofenak intraveneus en Aspirien oraal	16,294
III	A. ^{14}C-diklofenak oraal	1,789
	B. ^{14}C-diklofenak intraveneus	0,679
	C. ^{14}C-diklofenak en Aspirien oraal	0,1032
	D. ^{14}C-diklofenak intraveneus en Aspirien oraal	5,883
IV	A. ^{14}C-diklofenak oraal	9,253
	B. ^{14}C-diklofenak intraveneus	12,128
	C. ^{14}C-diklofenak en Aspirien oraal	1,064
	D. ^{14}C-diklofenak intraveneus en Aspirien oraal	0,1802

TABEL 4.2.2.3(f):

GEMIDDELDE PERSENTASIE VAN DIE TOEGEDIENDE RADIO-AKTIWITEIT AS OKSINDOOL-METABOLIET EN DIKLOFENAK IN DIE PLASMA, VERKRY OP BEPAALDE TYE NA DOSERING.

N=4.

TYD (min)	% Oksindool-Metaboliet				% Diklofenak			
	Behandeling				Behandeling			
	A	B	C	D	A	B	C	D
8	5,2	18,4	21,5	10,8	25,9	35,3	30,1	41,8
20	11,2	17,1	12,5	13,1	14,1	13,6	22,1	17,2
60	11,3	10,4	7,6	14,3	11,9	13,7	14,5	0
120	8,5	5,6	3,1	3,6	5,9	6,5	7,5	2,7
180	-	7,7	3,3	2,8	-	5,0	3,0	3,3
240	-	5,1	5,6	0,8	-	4,1	1,7	2,8
360	-	8,6	0,1	9,8	-	1,2	0,5	0
600	-	16,1	8,1	2,3	-	0,2	0	5,3

Behandeling

A. ^{14}C-Diklofenak oraal

B. ^{14}C-Diklofenak intraveneus

C. ^{14}C-Diklofenak oraal en asetielsalisielsuur oraal

D. ^{14}C-Diklofenak intraveneus en asetielsalisielsuur oraal

Ter verduideliking van hierdie gegewens kan dus die volgende gevolgtrekkings gepostuleer word:

a. Diklofenak word tot 'n groot mate (± 80% van die toegediende dosis) presistemies, waarskynlik prehepaties, gebiotransformeer.

b. Die absorpsie van die metaboliete wat so gevorm word, word nie deur die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur beïnvloed nie.

c. Onveranderde diklofenak (± 20% van die toegediende dosis) word ook geabsorbeer maar die absorpsie van hierdie verbinding word wel beïnvloed deur die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur.

Alternatiewe gevolgtrekkings:

a. Diklofenak word tot 'n groot mate in die sogenaamde "first pass effect" in die lewer gebiotransformeer nadat dit as diklofenak geabsorbeer is.

b. Die teenwoordigheid van asetielsalisielsuur of salisielsuur verhaas die biotransformasie van diklofenak, wat alreeds baie vinnig is, op een of ander katalitiese wyse.

BIBLIOGRAFIE

1. Lombardino, J.G., & Wiseman, E.H. (1972):
Sudoxicam and related N-heterocyclic carboxamides of 4-hydroxy -2H - 1,2-benzothiazine 1,1 dioxide - potent non-steroidal anti-inflammatory agents.
J. Med. Chem. 15: 848-849.

2. Wiseman, E.H., Chang, Yi-Han, Hobbs, D.C. (1975):
Interaction of sudoxicam and aspirin in animals and man.
Clin. Pharm. Therap. 18: 441-448.

3. Harrison, I.T., Lewis, B., Nelson, P., Rooks, W., Roszkowski, A., Tomolonis, A. & Fried, J.H. (1970):
Non-steroidal anti-inflammatory agents: 6-substituted 2-naphthylacetic acids.
J. Med. Chem. 13: 203-205.

4. Ruedy, J. & McCullough, W. (1973):
A comparison of the analgesic efficacy of naproxen and propoxyphene in patients with pain after orthopedic surgery.
Scand. J. Rheumatol. Suppl. 2: 56-59.

5. Stetson, J.B., Robinson, K., Wardell, W.M. & Lasagna, L. (1973):
Analgesic activity of oral naproxen in patients with post-operative pain.
Scand. J. Rheumatol. Suppl. 2: 50-55.

6. Sergre, E.J., Chaplin, M., Forchielli, E. & Sevelius, H. (1974):
Naproxen-aspirin interactions in man.
Clin. Pharmacol. Ther. 15: 375-379.

7. Rubin, A., Rodda, B.E. & Warrick, P. (1971):
Physiological disposition of fenoprofen in man: I. Pharmacokinetic comparison of calcium and sodium salts administered orally.
J. Pharm. Sci. 60: 1797-1801.

8. Rubin, A., Rodda, B.E. & Warrick, P. (1972):
Physiological disposition of fenoprofen in man: II. Plasma and urine pharmacokinetics after oral and intraveneous administration.
J. Pharm. Sci. 61: 739-745.

9. Rubin, A., Warrick, P. & Wolen, R.L. (1972):
Physiological disposition of fenoprofen in man: III. Metabolism and protein binding of fenoprofen.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 183: 449-457.

10. Chernish, S.M., Rubin, A. & Rodda, B.E. (1972):
The physiological disposition of fenoprofen in man IV. The effects of position of subject, food ingestion and antacid ingestion of the plasma levels or orally administered fenoprofen.
J. Med. Chem. 3: 249-257.

11. Rubin, A., Rodda, B.E., Warrick, P., Gruber, C.M. & Ridolfo, A.S. (1973):
Interactions of aspirin with non-steroidal anti-inflammatory drugs in man.
Arthritis and Rheumatism. 16: 635-645.

12. O'Brien, W. (1968):
Indomethacin: A survey of clinical trials.
Clin. Pharmacol. Ther. 9: 94-107.

13. Jeremy, R. & Towson, J. (1970):
Interaction between aspirin and indomethacin in the treatment of rheumatoid arthritis.
Med. J. of Australia. 2: 127-129.

14. Lindquist, B., Moller Jensen, K., Johansson, H. & Hansen, T. (1974):
Concurrent administration of acetylsalicylic acid and indomethacin. Effect on blood levels.
Clin. Pharmacol. Ther. 15: 247-252.

15. Kaldestad, E., Hansen, T. & Brath, H.K. (1975):
Interaction of indomethacin and acetylsalicylic acid as shown by the serum concentrations of indomethacin and salicylate.
Europ. J. Clin. Pharmacol. 9: 199-207.

16. Garnham, J.C., Raymond, K., Shotton, E. & Turner, P. (1974):
The effect of buffered aspirin on plasma indomethacin.
Europ. J. Clin. Pharmacol. 8: 107-113.

17. Krupp, P.J., Menassé-Galynio, R., Sallmann, A., Wilhelmi, G., Ziel, R. & Jacques, R. (1973):
Sodium-(o-(2,6-dichlorophenyl)-amino)-phenyl)-acetate (G.P. 45840), a new non-steroidal anti-inflammatory agent.
Experientia 29: 450.

18. Ku, E.C., Wasvary, J.M. & Casch, W.D. (1974):
Diclofenac sodium (GP 45840, Voltaren) a potent inhibitor of prostaglandin synthetase.
Biochem. Pharmacol. 24: 641-643.

19. Mielens, Z.E., Drobeck, H.P., Rozitis, J.Jr. & Swansone, V.J. Jr. (1968):
Interaction of aspirin with non-steroidal anti-inflammatory drugs in rats.
J. Pharm. Pharmacol. 20: 567-569.

20. Swingle, K.F., Grant, T.J., Jacques, L.W. & Kvam, D.C. (1970)
Interactions of anti-inflammatory drugs in carrageenin-induced foot edema of the rat.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 172: 423-425.

21. Joubert, P.H., Kushlick, A.R., McNeill, W.G., Sheard, E.S.C. & Müller, F.O. (1974):
South African multicentre trial with voltaren in osteo-arthritis of the knee.
S.A. Medical J. 48: 1973-1978.

22. Mainland, D. (1967):
The co-operating clinics committee of the American rheumatism association. A three months trial of indomethacin in rheumatoid arthritis, with special reference to analysis and inference.
Clin. Pharmacol. Ther. 8: 11-38.

23. Stierlin, H. (1972):
GP 45840: Pharmacokinetics and metabolism in animals (mouse, rat, dog and monkey).
Verslag No. 5/1972. Ciba-Geigy Ltd. Basle.

24. Yesair, D.W., Remington, L., Callahan, M. & Kensler, C.J. (1970):
Comparative effects of salicylic acid, phenylbutazone, probenecid and other anions on the metabolism, distribution and excretion of indomethacin in rats.
Biochem. Pharmacol. 19: 1591-1600.

25. Stierlin, H., Imhof, P. & Theobald, W. (1972):
GP 45840: Blood concentration, excretory balance and metabolism in man.
Verslag No. 28/1972. Ciba-Geigy Ltd. Basle.

26. Geiger, U.P. & Theobald, W. (1973):
GP 45840: Pharmacokinetic study in man.
Verslag No. 24/1973. Ciba-Geigy Ltd. Basle.

27. Wiseman, E.H. & Chiaini, J. (1972):
Anti-inflammatory and pharmacokinetic properties of sudoxicam, N-(2-thiazolyl)-4-carboxamide-1,1-dioxide.
Biochem. Pharmacol. 21: 2323-2334.

28. Rumkel, R., Chaplin, M., Boost, G., Segre, E. & Forchielli, E. (1972):
Absorption, distribution, metabolism and excretion of naproxen in various laboratory animals and human subjects.
J. Pharm. Sci. 61: 703-707.

29. Goodman, L.S. & Gilman, A. (1970):
The pharmacological basis of therapeutics.
(Vierde uitgawe) p. 314.

30. Champion, G.D., Paulus, H.E., Mongan, E., Okun, R., Pearson, C.M. & Sarkissian, E. (1972):
The effect of aspirin on serum indomethacin.
Clin. Pharmacol. Ther. 13: 239-244.

31. Chaplin, M.D. (1973):
Lowering of plasma concentrations of (+)-6-methoxy-alpha-methyl-2-naphthylene-acetic acid (naproxen) in rats.
Biochem. Pharmacol. 22: 1589-1598.

32. Geiger, U.P., Degen, P.H. & Sioufi, A. (1975):
Quantitative assay of diclofenac in biological material by gas-liquid chromatography.
J. of Chromatoraphy 111: 293-298.

33. Duggan, D.E., Hogans, A.F., Kwan, K.C. & McMahon, F.G. (1972):
The metabolism of indomethacin in man.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 181: 563-575.