

Bioequivalencia *in vivo* de Dos Formulaciones Orales Gastrorresistentes de Acido Acetilsalicílico a partir de Datos de Excreción Urinaria *

Alberto Luis PEÑA **

Rodriguez Peña 4727,
(7600) Mar del Plata, Argentina

RESUMEN. Se realizó un estudio de bioequivalencia *in vivo* de dos formulaciones gastrorresistentes de ácido acetilsalicílico, una formulada como comprimido coacervado (microencapsulado) y la otra como gragea con capa entérica, en seis voluntarios sanos, en forma aleatoria. Se monitoreó durante 72 horas, midiéndose los niveles de salicilato en orina por espectrofotometría a 540 nm. Se determinó la cantidad de salicilato total excretado en orina (E_{∞}), el porcentaje acumulado de la dosis de droga recuperada en orina a la 12 horas (%R12), las constantes cinéticas de absorción (K_a) y eliminación (K). Todos estos datos se confrontaron con los valores obtenidos, en los mismos parámetros, de un comprimido de liberación normal con fines comparativos. Se analizó estadísticamente cada parámetro mediante el método de ANOVA y se compararon los datos por el método de comparación múltiple de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) para un nivel de significación de $p < 0,05$, hallándose diferencias significativas entre ambas formas farmacéuticas gastrorresistentes, por lo que se concluye que no son bioequivalentes.

SUMMARY. "In vivo Bioequivalence of Two Oral Gastro-resistant Formulations of Acetylsalicylic acid, based on Urinary Excretion Data". In vivo bioequivalence of two gastro-resistant formulations of acetylsalicylic acid was studied. One was formulated as a coated granule (microencapsulated) and the other as an enteric-coated pill. The study was conducted haphazardly on six healthy volunteers. It was monitored for 72 hours, the levels of salicylate in urine having been measured by spectrophotometry to 540 nm. A determination was made of the total quantity excreted (E_{∞}), of the accumulated percentage of the dose of drug recovered in urine after 12 hours (%R12), and of the kinetics constants of absorption (K_a) and elimination (K). These data were confronted with the values obtained, within the same parameters, from a tablet of normal liberation for comparative purposes. Each parameter was analysed statistically by the ANOVA method and the data were compared by the method of multiple comparison of the Least Significant Difference (LSD) for a level of significance of $p < 0,05$, significant differences having been found between both gastro-resistant pharmaceutical forms. That is why it was concluded are not bioequivalent.

PALABRAS CLAVE: Acido acetilsalicílico; Bioequivalencia; Capa entérica; Coacervato; Excreción Urinaria; Gastrorresistente; *In vivo*.

KEY WORDS: Acetylsalicylic acid; Bioequivalence; Enteric coated; Coated granule; Urinary Excretion; Gastro-resistant; *In vivo*.

* Trabajo presentado en el XII Congreso Farmacéutico Argentino, Mar del Plata, mayo de 1994.

** Becario del Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires.

INTRODUCCION

El efecto clínico de un fármaco puede ser modificado en forma significativa por la velocidad y magnitud de la absorción, o sea en su biodisponibilidad. Un factor importante de modificación es el referido a la formulación de las formas farmacéuticas, especialmente sólidas, donde es considerable su incidencia en la liberación del principio activo. ¹

Encontramos en la bibliografía farmacéutica una constante preocupación por establecer la real incidencia de estos factores en la biodisponibilidad. En este sentido se han estudiado formulaciones gomosas de ácido acetilsalicílico (AAS) en fluido plasmático ², así como la biodisponibilidad de un comprimido bufferado masticable de AAS comparado con un comprimido de liberación normal ³ a partir de datos sanguíneos. También se evaluó el efecto analgésico de una formulación bufferada versus una de liberación normal ⁴.

Uno de los efectos indeseables del AAS es el trastorno irritativo que sus cristales producen sobre la mucosa gástrica ⁵. Por este motivo se han ideado formulaciones con la finalidad de reducir o anular estos efectos indeseables, como en el caso de los comprimidos bufferados ⁶. Dos coberturas usadas a tal fin son el coacervato o microencapsulación y la capa entérica. El primero es un proceso físico químico que recubre los cristales de AAS unitariamente con una fina película de naturaleza polimérica, con lo que la liberación del principio activo se produce por hidrólisis enzimática a nivel intestinal. Se han realizado estudios de biodisponibilidad en comparación con comprimidos de liberación normal a fin de observar los niveles de salicilemia ⁷. Al estudiar en un trabajo anterior ⁸ el efecto de la capa entérica, en especial la de acetofalato de celulosa, fue establecido su evidente retraso en la liberación del principio activo. Por todo ello, la forma farmacéutica elegida para administrar los fármacos tiene fundamental importancia en la acción que estos producen ^{9,10}.

El objetivo del presente trabajo es evaluar dos formulaciones orales de AAS con protección gastrorresistente, una formulada como comprimido coacervado (microencapsulado) y la otra como gragea con capa entérica.

Con la finalidad de establecer un parámetro comparativo se ensayó en las mismas condiciones de los comprimidos con protección gastrorresistente un comprimido de AAS de liberación normal, para determinar cuánto se alejan los comprimidos con protección gástrica de los parámetros obtenidos para el de liberación normal.

Del análisis compartimental se establecen los siguientes parámetros: la constante de velocidad de absorción (K_a), la constante de velocidad de eliminación (K), la vida media de absorción ($T_{1/2}$ abs.) y eliminación ($T_{1/2}$ elim.).

A fin de establecer la bioequivalencia de las formulaciones gastrorresistentes se compararon los valores del porcentaje acumulado de la dosis de AAS recuperado en orina a diferentes tiempos (%R) y los valores de la cantidad total de fármaco excretado en orina a partir de datos de excreción urinaria (E_{∞}).

PARTE EXPERIMENTAL

Formulaciones ensayadas

Formulación de liberación normal (LN)

AAS	500 mg
Almidón de maíz.....	100 mg
<i>Forma farmacéutica:</i> comprimido de liberación normal	

Formulación Gastrorresistente tipo 1 (GR1)

AAS	515 mg
(Equivalente a 500 mg de AAS)	
Excipientes: Carboximetilcelulosa y Almidón de maíz c.s.p. ...	600 mg
<i>Forma farmacéutica:</i> comprimido coacervado	

Formulación Gastrorresistente Tipo 2 (GR2)

AAS	650,000 mg
Celulosa microcristalina	46,666 mg
Almidón STA-RX 1500	18,000 mg
Almidón sodio carboximetilo	13,334 mg
Anhídrido silícico	4,666 mg
Acido esteárico.....	3,334 mg
Acetofalato de celulosa.....	40,480 mg
Ftalato de dietilo	6,720 mg
Opaspray, naranja 1-2250.....	10,800 mg
<i>Forma farmacéutica:</i> gragea con capa entérica	

Protocolo clínico

Participaron 6 voluntarios jóvenes sanos, de ambos sexos, cuyo promedio de edad oscila en 35 años y con un peso promedio de 57 kg. Se siguieron las pautas de la declaración de Helsinki ⁹, obteniéndose el consentimiento de los mismos luego que se les informara en detalle el estudio a realizar.

Todos los voluntarios ingirieron las tres formulaciones en forma aleatoria, siguiendo el método de doble cuadrado latino, con un intervalo de dos semanas entre cada formulación, a fin de depurar los organismos. La ingesta se realizó en todos los casos a la misma hora (8 horas) habiendo sido sometidos a un ayuno previo de 10 a 12 horas y continuando con el mismo hasta 30 minutos luego de la ingesta de cada formulación.

Se recolectaron muestras de orina a los 20 minutos (0,3 horas) y a las 4, 8, 12, 16, 24, 28, 32, 36, 40, 48, 52, 56, 60, 64 y 72 horas desde la ingesta. Además se advirtió a los voluntarios de no ingerir otras medicaciones durante el tiempo de realización del estudio.

De cada muestra de orina se midió el volumen total y se separaron 5 ml, conservándose en frío hasta el momento de realizar las reacciones colorimétricas.

Metodología analítica

Aparatos y reactivos

Espectrofotómetro Crudo Caamaño 414. Solución al 1% de nitrito férrico en ácido nítrico 0,07 N. Solución de ácido nítrico 0,07 N (d = 1,4). Solución estándar de salicilato de sodio 0,025 g%.

Técnica

Se cuantificó el principal metabolito del AAS, el ión salicilato, en orina mediante el siguiente protocolo ¹¹.

Reactivos	Muestra	Blanco Muestra	Estándar	Blanco Estándar
Agua destilada	1,6	1,6	1,6	1,6
Salicilato de Sodio (25mg%)	-	-	0,4	0,4
Orina	0,4	0,4	-	-
Acido nítrico (0,07N)	-	2,0	-	2,0
Nitrato férrico (solución al 1%)	2,0	-	2,0	-

Esperar 5 minutos y leer en espectrofotómetro. El color desarrolla a 540 nm y los resultados se expresan en mg/100 ml de orina.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Las concentraciones obtenidas de salicilato en cada intervalo de recolección se multiplicaron por el volumen de orina emitido en el mismo para obtener la cantidad acumulada excretada a lo largo de las 72 horas. Estas cantidades fueron normalizadas por la dosis administrada expresada en AAS, a fin de obtener el porcentaje acumulado de la dosis recuperada en orina a diferentes tiempos (%R).

La Figura 1 muestra la velocidad de excreción urinaria en función del tiempo medio de cada intervalo de recolección. También se obtuvo el porcentaje acumulado de la recuperación de AAS en función del tiempo, para cada formulación (Figura 2) ¹². A partir de dichos datos, se realizaron ajustes de las curvas de los valores experimentales mediante análisis de regresión lineal. Aplicando el método de los residuales ¹² se determinaron las constantes cinéticas de eliminación (K) y absorción (K_a) del AAS.

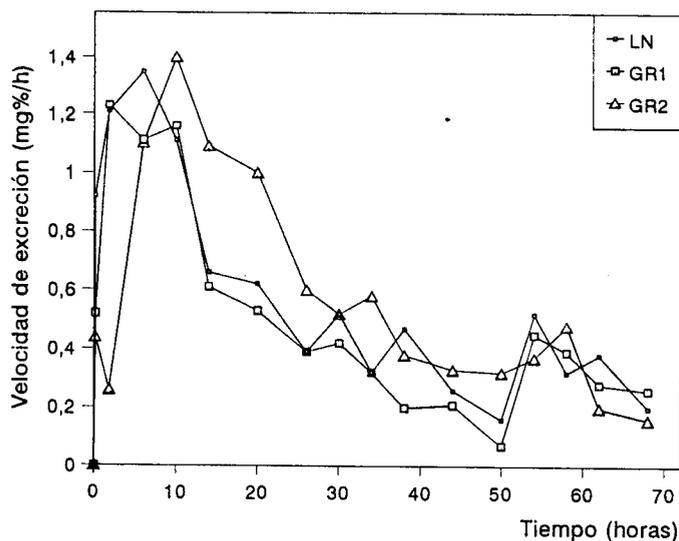
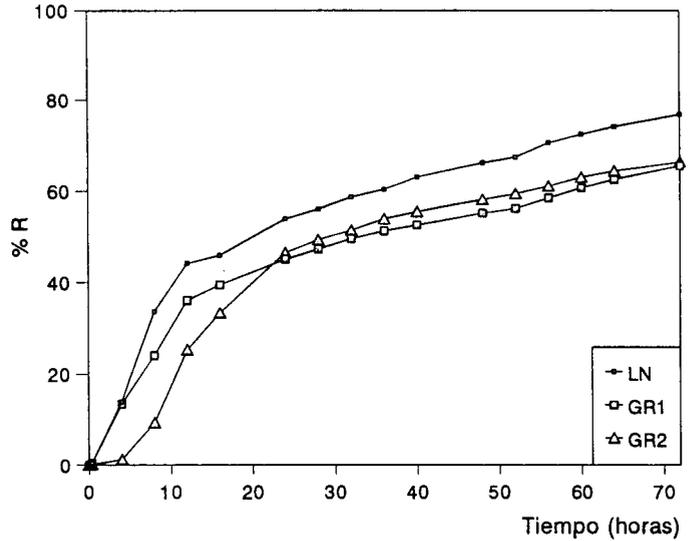


Figura 1. Velocidad de excreción urinaria de AAS en función del tiempo medio.

Figura 2. Porcentaje de recuperación acumulado de AAS en función del tiempo.



Parámetro	LN	GR1	GR2
K (h-1)	0,10164	0,09835	0,100022
DS	0,009	0,012	0,03
T1/2 elim.	6,09	7,13	7,55
DS	0,6	0,9	2,6
Ka (h-1)	0,66233	0,51681	0,439224
DS	0,2	0,2	0,2
T1/2 abs.	1,17	1,56	2,04
DS	0,4	0,7	1,2
E∞ (mg%)	425,88	372,57	579,31
DS	53,7	54,5	22,3
%R12	44,18	36,07	25,29
DS	1,76	2,9	6,4

Tabla 1. Parámetros obtenidos después de administrar las tres formulaciones de AAS a seis voluntarios sanos. LN = Formulación de liberación normal, GR1 = Formulación Gastroresistente Tipo 1, GR2 = Formulación Gastroresistente Tipo 2, E∞ = Cantidad total media de fármaco excretado en orina, K= Constante de velocidad de eliminación, T1/2 elim = Vida media de eliminación del AAS, Ka = Constante de velocidad de absorción, T1/2 abs. = Vida media de absorción del AAS, %R12 = Porcentaje acumulado de la dosis recuperado en orina a las 12 horas. (Valores promedio ± desviación estándar).

A fin de obtener la cantidad total de fármaco excretado en orina (E∞) a partir de datos de excreción urinaria se aplicó la ecuación de Niébergall ¹³. Se analizó cada parámetro estadísticamente aplicando el método de ANOVA y el método de comparación múltiple de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) para un nivel de significación del 5% (p<0,05). La Tabla 1 contiene un resumen de los datos obtenidos para cada parámetro evaluado. Los resultados nos permiten comprobar que la vida media de eliminación para el AAS es de 6,9 horas (K=0,100004) y la vida media de absorción insume aproximadamente 1,3 horas (Ka=0,539455), evidenciando la no influencia de los factores farmacotécnicos de las dos formulaciones gastro-

resistentes en la absorción y eliminación del AAS. Con respecto a la biodisponibilidad existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambas formulaciones gastroresistentes en los parámetros analizados a tal fin, la cantidad total de fármaco excretado en orina (E_{∞}) y el porcentaje acumulado de la dosis recuperado en orina al cabo de las 12 horas de la ingesta, lo que confirma un evidente retraso en la liberación del principio activo por parte de la formulación GR2, por lo que se concluye que ambas formulaciones gastroresistentes no son bioequivalentes.

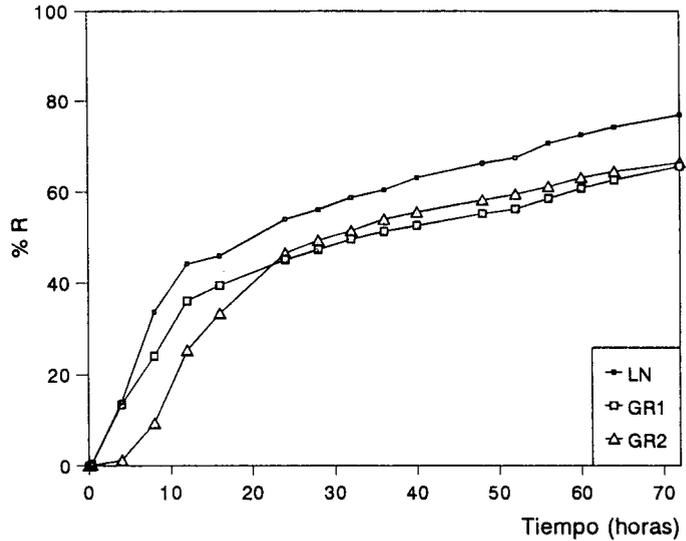
La determinación de la bioequivalencia in vivo se realizó con la idea de probar que los diferentes elementos usados para lograr una protección gástrica influyen decididamente en la biodisponibilidad del principio activo, lo que a la hora de prescribir se debe conocer, ya que en general se los considera como bioequivalentes cuando en realidad no lo son, por lo que la difusión de estos datos permitirá adecuar los intervalos de administración para evitar la acumulación (salicilemia).

Agradecimientos. Al Instituto Nacional de Epidemiología de Mar del Plata por permitir el uso del espectrofotómetro. A la Cooperativa ACOFAR, por el aporte económico para el financiamiento del presente trabajo. Al Dr. Edgardo Rodríguez por el sistema de procesamiento estadístico de los datos. Al Dr. Prof. Edison Cid Cárcamo de la Universidad de Chile por su valiosa colaboración. Al Prof. Carlos Domínguez por su colaboración en los textos en inglés. Un especial agradecimiento al Dr. Pablo Lufrano por su invaluable apoyo y asistencia al presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cárcamo Cid, E. (1988) *Revista Farmacéutica* **130**: 27-33
2. Bousquet, E., S. Tirendi, F.P. Bonina, L. Montenegro y A. Bianchi (1992) *Pharmazie* **47**: 607-9
3. Luecker, P.W., N. Wetzelsberger, T. Schettler y K. Rogalla (1992) *Exp. Clin. Pharmacol.* **14**: 805-11
4. Seymour, R.A., M. Weldon, P. Kelly, E. Nicholson y J.E. Hawesford (1992) *Br. J. Clin. Pharmacol.* **33**: 395-9
5. Blase, C.M. y G.E. Peck (1992) *Drug Develop. Ind. Pharm.* **18**: 869-93
6. Jost, V., I. Kuhn, K. Rogalla, V. Theiss y P.W. Lucker (1992) *Arzneim. Forsch.* **42**: 650-3
7. Vignaolu, J. y H. Beck (1967) *Therapie* **22**: 967-75
8. Peña, A.L. (1992) *Acta Farm. Bonaerense* **11**: 17-24
9. OMS (1974) "Biodisponibilidad de los medicamentos: Principios y problemas Organización Mundial de la Salud", Serie de informes técnicos N° 536, Ginebra
10. Arancibia, A. (1991) *Acta Farm. Bonaerense* **10**: 123-33
11. Cárcamo Cid, E. (1982) "Introducción a la farmacocinética" Dpto. Asuntos Científicos y Tecnológicos de la Secretaría General de la OEA, Washington D.C., págs.17-18,84-85 y 93
12. Nathelson, S. "Microtechniques of clinical chemistry", pág 372
13. Niebergall, P.J., E.T. Sugita y R.I. Schnnare (1975) *J. Pharm. Sci.* **64**: 1721-2

Figura 2. Porcentaje de recuperación acumulado de AAS en función del tiempo.



Parámetro	LN	GR1	GR2
K (h-1)	0,10164	0,09835	0,100022
DS	0,009	0,012	0,03
T1/2 elim.	6,09	7,13	7,55
DS	0,6	0,9	2,6
Ka (h-1)	0,66233	0,51681	0,439224
DS	0,2	0,2	0,2
T1/2 abs.	1,17	1,56	2,04
DS	0,4	0,7	1,2
E∞ (mg%)	425,88	372,57	579,31
DS	53,7	54,5	22,3
%R12	44,18	36,07	25,29
DS	1,76	2,9	6,4

Tabla 1. Parámetros obtenidos después de administrar las tres formulaciones de AAS a seis voluntarios sanos. LN = Formulación de liberación normal, GR1 = Formulación Gastroresistente Tipo 1, GR2 = Formulación Gastroresistente Tipo 2, E∞ = Cantidad total media de fármaco excretado en orina, K= Constante de velocidad de eliminación, T1/2 elim = Vida media de eliminación del AAS, Ka = Constante de velocidad de absorción, T1/2 abs. = Vida media de absorción del AAS, %R12 = Porcentaje acumulado de la dosis recuperado en orina a las 12 horas. (Valores promedio ± desviación estándar).

A fin de obtener la cantidad total de fármaco excretado en orina (E∞) a partir de datos de excreción urinaria se aplicó la ecuación de Nièbergall¹³. Se analizó cada parámetro estadísticamente aplicando el método de ANOVA y el método de comparación múltiple de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) para un nivel de significación del 5% (p<0,05). La Tabla 1 contiene un resumen de los datos obtenidos para cada parámetro evaluado. Los resultados nos permiten comprobar que la vida media de eliminación para el AAS es de 6,9 horas (K=0,100004) y la vida media de absorción insume aproximadamente 1,3 horas (Ka=0,539455), evidenciando la no influencia de los factores farmacotécnicos de las dos formulaciones gastro-

resistentes en la absorción y eliminación del AAS. Con respecto a la biodisponibilidad existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambas formulaciones gastroresistentes en los parámetros analizados a tal fin, la cantidad total de fármaco excretado en orina (E_{∞}) y el porcentaje acumulado de la dosis recuperado en orina al cabo de las 12 horas de la ingesta, lo que confirma un evidente retraso en la liberación del principio activo por parte de la formulación GR2, por lo que se concluye que ambas formulaciones gastroresistentes no son bioequivalentes.

La determinación de la bioequivalencia in vivo se realizó con la idea de probar que los diferentes elementos usados para lograr una protección gástrica influyen decididamente en la biodisponibilidad del principio activo, lo que a la hora de prescribir se debe conocer, ya que en general se los considera como bioequivalentes cuando en realidad no lo son, por lo que la difusión de estos datos permitirá adecuar los intervalos de administración para evitar la acumulación (salicilemia).

Agradecimientos. Al Instituto Nacional de Epidemiología de Mar del Plata por permitir el uso del espectrofotómetro. A la Cooperativa ACOFAR, por el aporte económico para el financiamiento del presente trabajo. Al Dr. Edgardo Rodríguez por el sistema de procesamiento estadístico de los datos. Al Dr. Prof. Edison Cid Cárcamo de la Universidad de Chile por su valiosa colaboración. Al Prof. Carlos Domínguez por su colaboración en los textos en inglés. Un especial agradecimiento al Dr. Pablo Lufrano por su invaluable apoyo y asistencia al presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cárcamo Cid, E. (1988) *Revista Farmacéutica* **130**: 27-33
2. Bousquet, E., S. Tirendi, F.P. Bonina, L. Montenegro y A. Bianchi (1992) *Pharmazie* **47**: 607-9
3. Luecker, P.W., N. Wetzelsberger, T. Schettler y K. Rogalla (1992) *Exp. Clin. Pharmacol.* **14**: 805-11
4. Seymour, R.A., M. Weldon, P. Kelly, E. Nicholson y J.E. Hawesford (1992) *Br. J. Clin. Pharmacol.* **33**: 395-9
5. Blase, C.M. y G.E. Peck (1992) *Drug Develop. Ind. Pharm.* **18**: 869-93
6. Jost, V, I. Kuhn, K. Rogalla, V. Theiss y P.W. Lucker (1992) *Arzneim. Forsch.* **42**: 650-3
7. Vignaolu, J. y H. Beck (1967) *Therapie* **22**: 967-75
8. Peña, A.L. (1992) *Acta Farm. Bonaerense* **11**: 17-24
9. OMS (1974) "Biodisponibilidad de los medicamentos: Principios y problemas Organización Mundial de la Salud", Serie de informes técnicos N° 536, Ginebra
10. Arancibia, A. (1991) *Acta Farm. Bonaerense* **10**: 123-33
11. Cárcamo Cid, E. (1982) "Introducción a la farmacocinética" Dpto. Asuntos Científicos y Tecnológicos de la Secretaría General de la OEA, Washington D.C., págs. 17-18, 84-85 y 93
12. Nathelson, S. "Microtechniques of clinical chemistry", pág 372
13. Niebergall, P.J., E.T. Sugita y R.I. Schnnare (1975) *J. Pharm. Sci.* **64**: 1721-2