

## Diseño y Elaboración de Comprimidos de Acido Acetilsalicílico de Administración Sublingual. Evaluación Farmacocinética y de la Actividad Antiagregante Plaquetaria \*

Alberto Luis PEÑA \*\*1, Pablo LUFRAÑO 2 & Daniel MAUREL 3

<sup>1</sup> Cátedra de Farmacología, Instituto Superior de Formación Docente "Pinos de Anchorena", R. Peña 4655, 7600, Mar del Plata, Argentina.

<sup>2</sup> Cátedra de Farmacotecnia I, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 47 y 115, 1900 La Plata, Argentina.

<sup>3</sup> Centro de Geología de Costas y Cuaternario, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Funes 3250, 7600, Mar del Plata, Argentina

**RESUMEN.** El presente trabajo tuvo por objeto diseñar y elaborar comprimidos de ácido acetilsalicílico (AAS) de administración sublingual con una baja concentración de principio activo que preserve la actividad antiagregante plaquetaria, pretendiendo hallar por esta vía de administración una alternativa para la admisión de bajas dosis de AAS. Distintas formulaciones fueron evaluadas farmacocinética y hematológicamente. El estudio farmacocinético se realizó siguiendo en orina la cantidad acumulada del principal metabolito del AAS durante 30 horas, midiéndose los niveles de salicilato por espectrofotometría a 540 nm. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el test de ANOVA. Dos de las formulaciones, A-100 y C-100, mostraron una biodisponibilidad relativa superior con respecto al fármaco innovador del 11,2 y 11,9%, respectivamente. En base a los parámetros farmacocinéticos estimados y a los resultados de los ensayos de disgregación, fue seleccionada la formulación identificada como C-100 con la finalidad de verificar la actividad antiagregante plaquetaria mediante el método turbidimétrico de Born y Cross, utilizándose como inductores epinefrina, ADP y colágeno. También se analizó hematológicamente la formulación C-50, a fin de comprobar si la reducción en un 50% del principio activo no altera el efecto antitrombótico. Los valores de agregación plaquetaria, expresados como % de variación de la transmisión del plasma rico en plaquetas con respecto a la transmisión del plasma pobre en plaquetas, producidos por los comprimidos elaborados con respecto a los valores basales, demuestran que se produce una notable desagregación plaquetaria, por lo que tienen una aceptable actividad como agente antitrombótico con dosis mucho más bajas que las requeridas para otras de sus acciones. Como resultado final se propuso el comprimido C-50 para la administración de AAS por vía sublingual. Además demostró un efecto protector en los fenómenos de "hiperagregación" plaquetaria, experimentados por los buzos cuando descienden a más de 30 m de profundidad; la evaluación clínica del uso prolongado del comprimido sublingual elaborado (C-100) durante 90 días no produjo lesiones sobre la mucosa sublingual, piso de boca y encía lingual.

**SUMMARY.** "Design and production of acetyl salicylic acid sublingual administration tablets. Evaluation of pharmacokinetic parameters and the antiplatelet aggregation activity". The aim of this work was to design and elaborate acetyl salicylic acid (AAS) sublingual administration tablets with a low concentration of active principle but preserving the antiplatelet aggregation activity, as an alternative administration way for low AAS doses. The formulations were pharmacokinetically and hematologically evaluated. For the pharmacokinetic analysis the formulations were monitored in urine during 30 hours, the salicylate levels being measured spectrophotometrically at 540 nm; a series of pharmacokinetics parameters were statistically analyzed by means of the ANOVA method. The formulations A-100 and C-100 showed a higher relative biodisposability (11.2 and 11.9% with regard to the innovator, respectively). On the basis of pharmacokinetic parameters and the results of disintegration trials, formulation C-100 was selected with the purpose of verify the antiplatelet aggregation activity by means of the turbidimetric method of Born and Cross, using epinephrine, ADP, and collagen as inductors. Formulation C-50 was also analyzed, in order to check if the reduction in 50% of the active principle doesn't alter the antitrombotic effect. The values of platelet aggregation, expressed as percentage of variation of the platelet rich plasma transmission with regard to the platelet poor plasma transmission, showed that the elaborated tablets produce a remarkable platelet aggregation at much lower doses that those required for others pharmacological actions. The C-50 tablet is then proposed for AAS administration by sublingual way, which also demonstrated a protective effect in the platelet hyperaggregation phenomenon experienced by divers when they descend to more than 30 meters depth. Clinical evaluation of the lengthy use of C-100 sublingual tablets during 90 days demonstrated no lesions appearance on the sublingual mucous tissue, mouth floor nor lingual mucosa.

**PALABRAS CLAVE:** Acido acetilsalicílico, Administración sublingual, Agregación plaquetaria, Plaquetas.  
**KEY WORDS:** Acetylsalicylic acid, Platelet aggregation, Platelets, Sublingual administration.

\* Extracto del trabajo de tesis doctoral presentado en la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

\*\* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: alpena@copetel.com.ar

## INTRODUCCION

Los procesos que producen trombosis, inflamación, cicatrización de heridas y alergias son modulados por metabolitos oxigenados de araquidonato y de ácidos grasos poliinsaturados relacionados, que se denominan en forma colectiva eicosanoides. También participan en reacciones que llevan a la formación de aterosclerosis y trombosis patológicas, demostrado en numerosos estudios <sup>1</sup>. Como producto de la biosíntesis de un grupo de eicosanoides, las prostaglandinas (PGs), Hamberg & Samuelson identificaron en la sangre un poderoso agregante plaquetario y vasoconstrictor sintetizado por la plaqueta, el Tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) <sup>2,3</sup>, y Vane una sustancia que ejercía efectos opuestos a los del TXA<sub>2</sub>, sintetizado por el endotelio vascular e identificada como Prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) <sup>4</sup>. Ambas sustancias representan polos biológicamente opuestos de un mecanismo fisiológico de regulación de la interacción plaqueta-pared vascular y la formación de trombos intravasculares <sup>5</sup>.

Vane también ha demostrado que el ácido acetilsalicílico (AAS) y otros antiinflamatorios no esteroides inhiben la biosíntesis de las PGs <sup>6</sup>, superando incluso a otros inhibidores de la ciclooxigenasa vascular <sup>7</sup>; esta inhibición de la ciclooxigenasa plaquetaria, se establece como un efecto competitivo por dicha enzima, cuya unión es de carácter irreversible <sup>8</sup>, debido a cierta similitud química de éste con los ácidos grasos insaturados precursores de las prostaglandinas, y por ende a todos los derivados de esta vía de la cascada del ácido araquidónico (AA), ya que el AAS como la mayoría de los antiinflamatorios no esteroides son también ácidos carboxílicos <sup>1,4,5,9,10</sup>.

En síntesis, el uso racional de AAS no sólo disminuye la incidencia de infarto de miocardio (66%) ó accidentes cardiovasculares, sino también la progresión de la aterosclerosis <sup>12</sup>. En la etapa inicial de la aterosclerosis las plaquetas tienen un importante papel en la formación de la placa al segregar el factor de crecimiento plaquetario (PDGF), el que para actuar necesita de la presencia de calcio (Ca<sup>++</sup>). La administración de un antiplaquetario eficaz, como el AAS, disminuye la formación de la placa de ateroma y su progresión; si bien se han evaluado otros inhibidores de la biosíntesis de eicosanoides como posibles agentes antitrombóticos, fundamentalmente por su efecto de inhibición de la tromboxano-sintetasa. Estos compuestos permiten la acumulación de endoperóxidos cíclicos intermedios, lo cual estimula la agregación plaqueta-

ria, por lo que han resultado relativamente ineficaces y no pueden competir por su costo, seguridad y eficacia con el AAS <sup>1</sup>. En un estudio realizado sobre 70 buzos de la Escuela de Buceo de la Armada Argentina, sin signo ni síntomas de enfermedad descompensada y mediante buceos simulados en cámara hiperbárica, Paoletti *et al.* demostraron que se produce una modificación del estado fisiológico plaquetario post-buceo, puesto de manifiesto como un incremento significativo de la agregación plaquetaria ("hiperagregación") con dosis menores de promotores (ADP y adrenalina) que las requeridas antes del buceo, fenómeno que fue inhibido con la ingesta previa al buceo de 600 mg de AAS <sup>11</sup>.

El empleo de AAS como antiagregante plaquetario demanda una administración permanente y por tiempos muy prolongados. Por otro lado es conocido que con la ingestión prolongada de antiinflamatorios no esteroides (AINES) es frecuente la aparición de molestias epigástricas, pudiendo producirse trastornos congestivos y hemorrágicos en la mucosa del estómago y aún ulceraciones, llegando en ocasiones a evidenciarse hemorragias gastrointestinales <sup>8</sup>. La mayor parte de estos efectos adversos producidos por los AINES es debido a la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX-1), la que está relacionada con la regulación de los procesos fisiológicos de la mucosa gástrica (citoprotección gastrointestinal), además de los del endotelio vascular (agregación plaquetaria) y la función renal. En el organismo el AAS, ingerido por vía oral, es en parte hidrolizado en el intestino y totalmente hidrolizado por las esterases plasmáticas y tisulares, sobre todo hepáticas, siendo la concentración sanguínea muy débil a la media hora de la ingestión <sup>8</sup>. No obstante, otra vía de administración, la sublingual, promueve el pasaje rápido y directo al torrente sanguíneo de fármacos con alto coeficiente de partición ó de la porción no ionizada de un electrolito débil. Las puertas de acceso son las venas linguales, tributarias de la yugular interna y maxilar interna que lleva la sangre a la yugular externa, pasando el fármaco a las venas yugulares y vena cava <sup>8,14</sup>, evitando el efecto del primer paso.

Por lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue diseñar y elaborar comprimidos de AAS de administración sublingual con una baja concentración de principio activo que preserve la actividad antiagregante plaquetaria, pretendiendo hallar por esta vía de administración una alternativa para la admisión de bajas dosis de AAS, procurando obtener una mayor disponibili-

dad del principio activo y disminuir la degradación del AAS en el tracto gastrointestinal y minimizar el efecto del primer paso. Además se determinó la acción antiagregante plaquetaria del comprimido sublingual elaborado (C-100) en estados de hiperagregación plaquetaria, a fin de establecer si una dosis de 100 mg de AAS inhibe igualmente dicho estado en buzos, luego de ser sometidos a una tarea de buceo simulada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Caracterización de la droga en polvo*

Con el propósito de seleccionar la materia prima para la elaboración de los comprimidos sublinguales se analizaron dos partidas diferentes de AAS, las que fueron identificadas como A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> evaluándose una serie de características tendientes a establecer diferencias entre las mismas. Se evaluó el tamaño de las partículas de la droga en polvo mediante microscopía con ocular micrométrico<sup>14</sup>. En el muestreo se separaron 200 cristales de cada partida de AAS y se procedió a la medición del largo del cristal de extremo a extremo, orientando la partícula en forma paralela a la escala del ocular (Length)<sup>15</sup>, empleándose para ello un microscopio binocular CARL ZEISS con ocular micrométrico H8X x M 10, con una escala correspondiente a 59,7 µm por división. La observación se completó con la determinación de la forma de las partículas.

El ángulo de reposo se determinó mediante la técnica descrita por Train<sup>16</sup>, estimándose la tangente de dicho ángulo de reposo. Debido a que el efecto biológico de los polimorfos se traduce en una variabilidad de las características de la velocidad de absorción del principio activo o en manifestaciones tóxicas<sup>17</sup>, se estimó necesario determinar la presencia de polimorfos en ambas partidas de AAS (A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>); con este fin se verificó el rango de fusión, como se indica en la U.S.P. XXIII (Clase Ia), empleando para ello un equipo BÜCHI 510 y además se realizó una espectroscopía infrarroja, en muestras preparadas en Nujol (Mulls); el equipo utilizado fue un espectrofotómetro Infrarrojo SHIMADZU FTIR 8201-PC.

### *Elaboración de los comprimidos*

En la Tabla 1 se detalla la composición de los comprimidos sublinguales elaborados por compresión directa en una comprimidora Sánchez monopunzón, con un diámetro de 7 mm y una altura de 4 mm para los comprimidos de 100 mg de AAS (A-100, B-100 y C-100), en tanto se ajustó una altura de 2 mm para los comprimidos que contienen 50 mg de principio activo (A-50, B-50 y C-50). La base del diseño fue la combinación de lactosa como diluyente y celulosa microcristalina como desintegrante.

Fórmula	A-100 (mg)	B-100 (mg)	C-100 (mg)	A-50 (mg)	B-50 (mg)	C-50 (mg)
AAS	100	100	100	50	50	50
Lactosa	80	40	35	40	20	15
Almidón			10	-	-	5
Celulosa Microcristalina	20	10	5	10	5	2, 5
Talco	2	2	2	1	1	1
Estearato de Magnesio	1	1	2	1	1	1

**Tabla 1.** Composición cuantitativa de los comprimidos sublinguales elaborados.

Las formulaciones A-50, B-50 y C-50 mantienen el diseño farmacotécnico de las anteriores, pero con una reducción de la dosis de AAS en un 50%, con la finalidad de evaluar el efecto de la dosis sobre la actividad antiagregante plaquetaria. Todas las formulaciones fueron elaboradas con la droga previamente pulverizada y homogeneizada, empleando un tamiz estándar de numeración nominal N° 20.

### *Ensayos de disgregación*

El ensayo de disgregación de las formulaciones sublinguales elaboradas se realizó con un

aparato "Equipos Farmacéuticos" sin los correspondientes discos y usando como medio agua a 37° ± 2 °C<sup>19</sup>.

### *Valoración del principio activo*

Juntamente con el control del peso promedio de los comprimidos elaborados (n = 10), se valoró el principio activo empleando la técnica espectrofotométrica de Mellia *et al.*<sup>20</sup> utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 A. El contenido del AAS se expresó como porcentaje sobre el valor declarado (% S.V.D.)

### Metodología analítica utilizada en la cuantificación del AAS en orina

Para este estudio se utilizaron los comprimidos sublinguales A-100, B-100 y C-100, correspondientes a una dosis de 100 mg, con la finalidad de establecer los parámetros de absorción y eliminación, a partir de datos de excreción urinaria. Se emplearon 6 voluntarios sanos, de ambos sexos, con una edad promedio de aproximadamente 39 años, y un peso promedio de aproximadamente 65 Kg, quienes fueron evalua-

dos clínicamente y luego de ser informados del estudio a desarrollar, dieron su consentimiento en forma escrita, según los postulados de la Declaración de Helsinki y posteriores <sup>21</sup>. Cada voluntario recibió en forma aleatoria un comprimido conteniendo 100 mg de AAS identificado como innovador, de liberación normal y administración oral, que se utilizó como referencia, y los comprimidos sublinguales de 100 mg, según el diseño de administración detallado en la Tabla 2.

Voluntarios	Edad	Peso	1ª Administración	2ª Administración	3ª Administración	4ª Administración
1	25	53	I-100	A-100	C-100	B-100
2	28	62	A-100	B-100	I-100	C-100
3	32	65	B-100	C-100	A-100	I-100
4	40	49	C-100	I-100	B-100	A -100
5	44	86	I-100	A-100	C-100	B-100
6	66	73	A-100	B-100	I-100	C-100

**Tabla 2.** Esquema de administración de las formulaciones a los voluntarios, en forma aleatoria. I-100: comprimido innovador administrado por vía oral. A-100, B-100, C-100: comprimidos sublinguales elaborados, con una dosis de 100 mg de AAS.

El tiempo transcurrido entre las administraciones de los comprimidos fue como mínimo de dos semanas, lapso que permitió depurar los organismos y evitar el efecto residual. Los voluntarios se abstuvieron de ingerir cualquier medicación durante el tiempo que duró el ensayo y fueron sometidos a un ayuno previo de 12 h, continuando con el mismo hasta por lo menos 4 h posteriores a la administración de los comprimidos. Los tiempos de recolección de las muestras de orina fueron a los 15, 30 y 60 min y a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 24 y 30 h desde la ingesta; se midió el volumen total de orina excretada en cada intervalo, guardándose en frío (-20 °C) 10 ml de cada muestra hasta la realización de las reacciones colorimétricas. Para la cuantifi-

cación en orina del ácido salicílico, (equivalente al AAS absorbido) se aplicó la técnica descrita por Nathelson <sup>22</sup>, donde el ácido salicílico en presencia de nitrato férrico forma salicilato férrico, producto coloreado que se lee en el espectrofotómetro Shimadzu UV 160 A a 540 nm y los resultados obtenidos fueron expresados en mg/ml. Como estándar se utilizó una solución de salicilato de sodio 25 mg/100 ml y como reactivo una solución de nitrato férrico 1% en NO<sub>3</sub> H 0.07 N. Para el análisis de las muestras de orina se siguió el siguiente esquema presentado en la Tabla 3.

La lectura fue realizada entre los 5 y los 10 min de iniciada la reacción colorimétrica y la técnica ha sido criticada respecto a la linealidad,

Reactivos	Blanco patrón	Patrón	Blanco muestra	Muestra
Agua destilada	800 µl	800 µl	800 µl	800 µl
Orina			200 µl	200 µl
Nitrato férrico al 1%		1000 µl		1000 µl
Acido nítrico 0.07N	1000 µl		1000 µl	
Solución Estándar de salicilato de sodio	200 µl	200 µl		

**Tabla 3.** Esquema seguido para el análisis de las muestras de orina.

precisión, especificidad y exactitud. El método permitió recuperar un porcentaje del 97,5% del ácido salicílico desde la orina. Para la estimación de los parámetros farmacocinéticos a partir de datos de excreción urinaria se utilizó el *Método de la cantidad que queda por excretarse (Sigma menos)* <sup>17</sup>, graficando el log de la cantidad de fármaco excretado a infinito menos la cantidad de fármaco excretado a tiempo t ( $U_{\infty}-U$ ) en función del tiempo. De este modo se obtuvo una curva biexponencial de cuyo segmento terminal se estimó la constante de velocidad de excreción urinaria (K); luego, por el método de los residuales se estimó la constante de velocidad de absorción (Ka) y a partir de estos valores se calcularon las semividas de eliminación ( $t^{1/2} e$ ) y absorción ( $t^{1/2} a$ ). Se estimaron además los valores correspondientes al Tiempo medio de residencia oral (TMR oral) y el Tiempo medio de absorción no corregido (TMA n.c) <sup>17</sup>.

**Análisis estadístico de los resultados**

Los parámetros obtenidos del análisis farmacocinético K, Ka,  $U_{\infty}$  y el porcentaje de fármaco recuperado en orina a las 12 horas de ser ingerido (% $R_{12}$ ) fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza, por medio del programa computacional *Statistix versión 3.5*. En los casos en que el ANOVA condujo al rechazo de la hipótesis nula para una de las fuentes de variación, se aplicó el test de la *Mínima Diferencia Significativa (LSD)* para un nivel de significación del 5% ( $p<0,05$ ).a fin de establecer entre cuales de los tratamientos existen diferencias significativas.

**Actividad Antiagregación Plaquetaria**

Para este estudio se emplearon 4 voluntarios

sanos a quienes se les administró, en forma aleatoria y divididos en dos fases (A y B) según el cronograma descrito en la Tabla 4, las formulaciones sublinguales identificadas como C -100 para una dosis de 100 mg, seleccionado en base a los resultados farmacocinéticos y C-50 para una dosis de 50 mg; por otra parte a algunos voluntarios también se les administró el comprimido innovador I-100. Las muestras se ensayaron en cada uno de los voluntarios dejando pasar un intervalo mínimo de 2 semanas a fin de permitir la instauración de una nueva síntesis plaquetaria.

La sangre humana se obtuvo por venopuntura de la vena antecubital (post-capilarización y eventual distribución de sustancia) y fue tratada con citrato de sodio 3,8% (1 parte de citrato por 9 partes de sangre). El *plasma rico en plaquetas* (PRP) fue preparado por centrifugación de la sangre citratada a 200 g durante 10 minutos a temperatura ambiente y luego separada. La sangre restante fue centrifugada a 2000 g por 30 min a temperatura ambiente para obtener un *plasma pobre en plaquetas* (PPP). Las plaquetas fueron ajustadas con PPP a 250.000 plaquetas/ml <sup>23,24</sup>. La agregación plaquetaria fue medida por el método turbidimétrico de Born y Cross <sup>23</sup>, en un agregómetro Chrono-log Aggrometer (USA), empleándose 500  $\mu$ l de PRP.

El equipo se ajustó con el PRP para obtener 0% de transmitancia de luz y con el PPP para un 100% de transmitancia de la luz. Luego de la incubación de las plaquetas durante 2 min a 37 °C y con agitación, se inició la agregación adicionando 45  $\mu$ l del inductor correspondiente (según se detalla en la Tabla 4) y registrando la curva de agregación durante 3-4 min.

Grupo	Voluntario	Primera Administración	Inductor	Segunda Administración	Inductor
A	1	C-100	Adrenalina	I-100	Adrenalina
	2	I-100	Adrenalina	C-100	Adrenalina
	3	C-100	Adrenalina	I-100	Adrenalina
	4	I-100	Adrenalina	C-100	Adrenalina
B	1	C-100	Colágeno	C-50	Colágeno
	2	C-50	ADP	C-100	ADP
	3	C-100	Colágeno	C-50	Colágeno
	4	C-50	ADP	C-100	ADP

**Tabla 4.** Esquema de administración de las formulaciones a los voluntarios, en forma aleatoria. C-100: comprimido sublingual seleccionado (100 mg) C-50: comprimido sublingual seleccionado (50 mg).

### Hiperagregación plaquetaria

El ensayo se efectuó con 10 buzos, a 6 de los cuales se les administró un comprimido sublingual C-100 antes de iniciar la inmersión; el resto de los voluntarios no recibieron la medicación. Se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena cubital, tal como se describió en los ensayos anteriores, antes y después del buceo. Las muestras fueron tratadas de la misma forma antes descritas y la agregación plaquetaria fue medida por el método de Born y Cross <sup>23</sup>. La experiencia fue realizada en el simulador de buceo de gran profundidad del Centro Hiperbárico de la Escuela de Buceo de la Armada Argentina con sede en la Base Naval Argentina, delegación Mar del Plata, bajo las siguientes condiciones: Mezcla respiratoria de aire, presurización a 4,9 ATA (presión atmosférica absoluta) que corresponde a una profundidad de 39 m y un tiempo de permanencia de 39 min. La descompresión se realizó de acuerdo a las tablas E.D.U 40/40 de la Armada de los Estados Unidos de Norteamérica, actualmente en uso en la Armada Argentina. La presión parcial de O<sub>2</sub> fue mantenida constante a 1,47 ATA; mientras que la presión parcial de CO<sub>2</sub> fue conservada por debajo de 0,0025 ATA, mediante los

equipos regeneradores del sistema y medido con un analizador de CO<sub>2</sub> por absorción en el espectro infrarrojo Shlumberger ANIR <sup>12</sup>. El dosaje de O<sub>2</sub> fue realizado en un analizador polarográfico Sodelec <sup>11</sup>.

### Efecto queratolítico del AAS

A fin de evaluar el efecto queratolítico del AAS sobre la mucosa sublingual, se administró a 2 voluntarios un comprimido sublingual de C-100 en forma diaria durante tres meses. La evaluación del estado clínico de la mucosa sublingual, piso de boca y encía lingual se realizó con la colaboración de un profesional odontólogo, testimoniando cada examen clínico con tomas fotográficas al día 0 (basal) y a los 1, 7, 14, 21, 30, 45, 60 y 90 días de iniciado el tratamiento. Para ello se empleó un máquina Luxon Super 1000 - 35 mm TTL-SLT con lentes de aproximación Hoya 49 mm ± 4 y espejos especiales.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tamaños de las partículas observadas en el microscopio con ocular micrométrico, se expresan en  $\mu\text{m}$  (valores promedio  $\pm$  d.s.) y se detallan en la Tabla 5.

AAS	Micrómetro $\mu\text{m}$	Milímetro mm	Angstrom $\text{\AA}$
Partida A <sub>1</sub>	443.6 $\pm$ 10.2	0.443	4.4 x 10 <sup>6</sup>
Partida A <sub>2</sub>	660.3 $\pm$ 13.9	0.660	6.6 x 10 <sup>6</sup>

**Tabla 5.** Resultados de la determinación de la granulometría con microscopio con ocular micrométrico. (Valores promedio  $\pm$  d.s.).

Las partículas examinadas poseen una forma acicular, con una estructura de tipo triclinico, teniendo ambas partidas el mismo hábito y de acuerdo a lo reportado por Neumann, la relación entre los ejes es :  $a_1 \geq a_2$  y  $a_2 \approx a_3$ , por lo

que el radio de elongación es grande y el radio planar está próximo a la unidad

Los valores correspondientes al ángulo de reposo y al coeficiente de fricción se muestran en la Tabla 6.

AAS	Coefficiente de fricción ( $\mu$ )	Angulo de reposo
Partida A <sub>1</sub>	0.674 $\pm$ 0.07	33° 58' 48" $\pm$ 0.07
Partida A <sub>2</sub>	0.663 $\pm$ 0.09	33° 32' 40" $\pm$ 0.09

**Tabla 6.** Determinación del ángulo de reposo y coeficiente de fricción de los cristales de AAS de las partidas identificadas como A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>. (Valores promedio  $\pm$  d.s., n=15).

Los resultados detallados en la Tabla 7 corresponden al rango de fusión, considerándose como punto de fusión al valor máximo de dicho rango ( A<sub>1</sub> =132 °C y A<sub>2</sub> = 135 °C). Se observa que ambos puntos de fusión corresponden al

polimorfo designado por Tawashi como "Forma I", obtenidos mediante una lenta recristalización en etanol (96%) a 20 °C, por lo que ambas partidas son estructuras cristalinas semejantes <sup>26</sup>.

Partida	Aspecto	Rango de fusión (°C)
A <sub>1</sub>	Polvo blanco cristalino	131 - 132
A <sub>2</sub>	Polvo blanco cristalino	133 - 135

**Tabla 7.** Determinación del punto de fusión de los cristales de AAS, de ambas partidas.

El análisis espectral en el rango del infrarrojo realizado sobre ambas partidas de cristales de AAS (A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>) nos indica que los principales grupos característicos tienen las mismas bandas de absorción, por lo que se verifica que no existen diferencias en la estructura cristalina entre ambas muestras de AAS, lo que ratifica los resultados obtenidos en la determinación del punto de fusión. Los comprimidos elaborados presentaron como aspecto general una forma redonda, caras planas y color blanco.

La Tabla 8 muestra los resultados obtenidos en los ensayos de disgregación; la formulación B, que contiene un 50% menos de diluyente (lactosa) con respecto a la formulación A, se desintegra casi 3 veces más rápido que ésta. Los comprimidos que contienen solamente celulosa

microcristalina como disgregante (A-100, B-100, A-50, B-50 ) cumplen perfectamente con los ensayos de disgregación, lo que contradice la opinión de algunos autores que ponen en dudas el poder disgregante de la celulosa microcristalina en comprimidos elaborados por compresión directa; no obstante la incorporación de almidón en las formulaciones C-100 y C-50, produjo un aumento en la velocidad de disgregación de los comprimidos elaborados. Del análisis de los valores obtenidos en el ensayo, se desprende que las formulaciones que mejor se adaptan para ser administradas por vía sublingual son la C-100 y la C-50.

Los resultados del análisis compartimental se resumen en la Tabla 9.

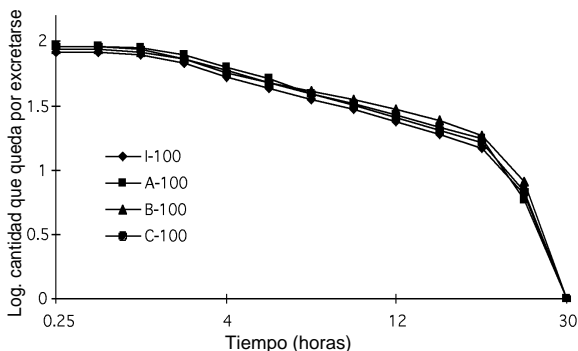
Fórmula	Peso promedio (n = 10, mg)	Valoración principio activo (% S.V.D.)	Ensayo de Disgregación Tiempo Máximo / Tiempo Mínimo
A-100	200,1 ± 0,004	99,8	8 min / 3 min
B-100	150,2 ± 0,01	97,7	3 min / < 30 seg
C-100	155,8 ± 0,01	100,6	< 30 seg
A-50	108,1 ± 0,007	54,8	3 min / < 30 seg
B-50	73,3 ± 0,007	48,2	1 min / < 30 seg
C-50	72,0 ± 0,008	46,8	< 30 seg

**Tabla 8.** Valores correspondientes al peso promedio expresados en mg (n = 10); valoración del principio activo, expresado como porcentaje sobre el valor declarado (%SVD, n = 10) y de los ensayos de disgregación según la técnica descrita en la FA 6° Ed. (n = 6), de los comprimidos sublinguales elaborados.

Parámetro	I-100	A-100	B-100	C-100
K (h <sup>-1</sup> )	0,129804204 ± 0,02	0,153037715 ± 0,02	0,145094239 ± 0,03	0,146637574 ± 0,03
Ka (h <sup>-1</sup> )	0,616742783 ± 0,49	0,311314236 ± 0,09	0,261006635 ± 0,05	0,437114788 ± 0,26
T <sub>máx</sub> (h)	3,89 ± 1,50	4,62 ± 0,70	5,38 ± 0,94	4,38 ± 1,66
t <sup>1/2</sup> elimin (h)	5,41 ± 0,6	4,58 ± 0,56	4,94 ± 0,97	4,90 ± 0,9
t <sup>1/2</sup> absorc (h)	1,70 ± 1,03	2,39 ± 0,67	2,73 ± 0,52	2,20 ± 1,3
U <sub>∞</sub>	83,24 ± 5,0	92,8 ± 5,7	87,6 ± 8,8	92,63 ± 5,08
%R <sub>12</sub>	59,6 ± 6,0	66,6 ± 6,1	58,8 ± 11,4	66,8 ± 10,9
F %	- - - -	111,5	105,2	111,3
TMA n.c. (h)	2,98 ± 2,1	3,6 ± 1,19	4,18 ± 0,79	5,88 ± 1,88
TMR oral (h)	10,9 ± 2,1	9,80 ± 1,24	11,7 ± 2,09	10,24 ± 2,40

**Tabla 9.** Valores promedio de los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de datos de excreción urinaria utilizando 6 voluntarios (valores promedio ± d.s.)

Las curvas correspondientes al logaritmo de la cantidad de fármaco que queda por excretarse en función del tiempo se muestran en la Figura 1.



**Figura 1.** Gráfico del logaritmo de la cantidad de AAS que queda por excretarse, en función del tiempo.

**Análisis estadístico de los resultados**

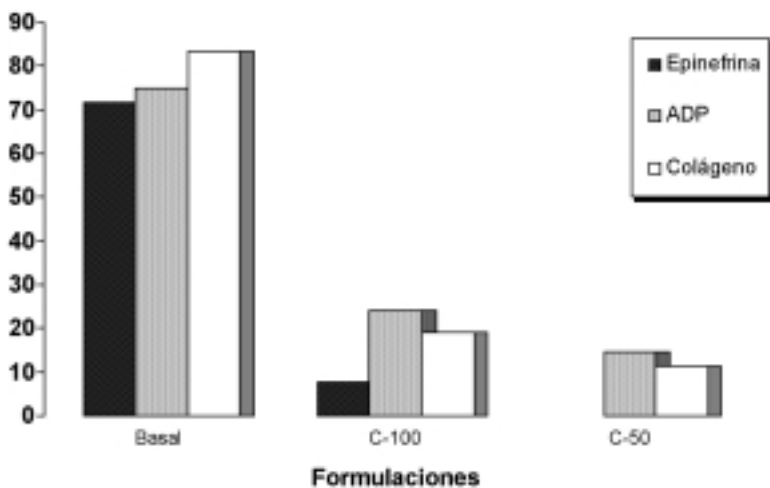
De los parámetros farmacocinéticos analizados estadísticamente  $K$ ,  $K_a$ ,  $U_\infty$  y el porcentaje de fármaco recuperado en orina a las 12 h desde la ingesta ( $\%R_{12}$ ), sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones para la cantidad total de fármaco excretado a tiempo infinito ( $U_\infty$ ), por lo que se aplicó el test de comparaciones múltiples LSD. Como resultado de la aplicación del mismo, se desprende que existen dos grupos homogéneos que no poseen diferencias significativas dentro de ellos. Entre las formulaciones C-100, A-100 y B-100 no existen diferencias significativas en los valores de la cantidad total de fármaco excretado a tiempo infinito ( $U_\infty$ ) para un nivel de significación de  $p > 0,05$ . Resultados similares se ob-

servan entre la formulación B-100 y el innovador I-100, pero sí pudo ponerse de manifiesto diferencias significativas entre la formulación A-100 y el innovador I-100 y entre C-100 y el innovador I-100.

**Actividad antiagregante plaquetaria**

En la fase A se evalúa la actividad antiagregante plaquetaria del comprimido sublingual elaborado (C-100) en comparación con el innovador (I-100), empleando adrenalina como inductor. Los resultados se cuantifican como porcentaje de variación en la transmisión del *plasma rico en plaquetas (PRP)* en relación al *plasma pobre en plaquetas (PPP)* (Figura 2). Se observa que el promedio de dicho valor es semejante para ambos comprimidos (C-100 e I-100), lo que se traduce en un efecto antiagregante plaquetario muy similar, con una disminución del orden del 64,8% y del 64% con respecto al basal, para I-100 y C-100, respectivamente. El grupo B se diseñó a fin de verificar el porcentaje de variación en la transmisión del PRP en relación al PPP del comprimido sublingual C-100, ante la inducción con colágeno y ADP; asimismo se verifican los efectos de la reducción de la concentración del principio activo (AAS) en un 50%, por lo que clínicamente podemos inferir que las formulaciones ensayadas tienen una aceptable actividad como agente antitrombótico.

En los ensayos de hiperagregación plaquetaria, el porcentaje de variación de la transmisión del PRP con respecto al PPP en los voluntarios medicados fue de  $10,7 \pm 3,9$  y  $8,7 \pm 8,2$  para las condiciones de pre- y post-inmersión, respectivamente, lo que demuestra que el comprimido elaborado protege del efecto hiperagregante plaquetario que se produce en el 60% de



**Figura 2.** Porcentaje de variación de la transmisión del plasma rico en plaquetas con respecto a la transmisión del plasma pobre en plaquetas.

los buzos que descienden a más de 30 m de profundidad <sup>11</sup>, ya que el porcentaje de variación de la transmisión del PRP en relación a la transmisión del PPP, es menor luego de la inmersión simulada. Los casos evaluados de los voluntarios que no ingirieron medicación fue de  $41,0 \pm 1,4$  y  $58,5 \pm 2,1$  para la condición de pre- y post-inmersión, respectivamente, donde se observa un aumento en la cuantificación del ensayo como porcentaje de variación de la transmisión del PRP con respecto a la transmisión del PPP.

En la evaluación clínica de la mucosa sublingual, piso de boca y encía lingual de ambos voluntarios, no se observaron lesiones ni alteraciones a simple vista, por lo que el aspecto fue normal en todos los casos. Por lo tanto se concluye que la administración diaria del comprimido sublingual identificado como C-100 no produce ningún tipo de lesiones o alteraciones visibles en las zonas de la boca antes mencionadas, durante el tiempo de desarrollo de la experiencia (90 días).

## CONCLUSIONES

De la precedente discusión de los resultados obtenidos se extraen las siguientes conclusiones:

1. La formulación sublingual representa una novedad en cuanto a la forma de administración del AAS.
2. La vía de administración sublingual, de acuerdo a las respuestas clínicas, permite suministrar una menor dosis de AAS (50 mg) para mantener la actividad antiagregante plaquetaria en niveles buenos y posibilitar un uso más racional de AAS.
3. La formulación elaborada, induce niveles de desagregación, expresados como Porcentaje de variación de la transmisión del PRP con respecto a la transmisión del PPP, clínicamente aceptables, con la ventaja con respec-

to a las formulaciones de administración oral, que ante un régimen posológico prolongado, por su forma de administración, elimina la incidencia de sangrado gastrointestinal y síndrome ácido-sensitivo; además minimiza la degradación del AAS por las esterasas intestinales y el efecto del primer paso a ácido salicílico.

4. Proporciona una forma rápida y práctica de administración, en los casos donde se aconseja la ingesta de aspirina ante un posible evento cardiovascular (padecimiento de fuerte dolor precordial).
5. Demostró un efecto protector en los fenómenos de hiperagregación plaquetaria experimentados por los buzos cuando descendieron a más de 30 m de profundidad, presentándose como una medicación ventajosa, debido a lo práctico y factible de su empleo en estas condiciones laborales.

**Agradecimientos.** Los autores quieren agradecer a la Dra. Nora Priolo por la colaboración brindada. Al Centro de Investigaciones Biológicas de la Fundación para las Investigaciones Biológicas Aplicadas (FIBA) por permitir el uso del espectrofotómetro. Al Dpto. de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata, por el uso del Microscopio con ocular micrométrico. Al Laboratorio de Control de Calidad e Investigaciones Toxicológicas del Colegio de Farmacéuticos de la Pcia. de Bs. As., por los ensayos de disgregación y los espectros infrarrojos. Al odontólogo Rubén Bagnarelli, por la evaluación clínica de la mucosa sublingual. A la bioq. Diana García por el uso del agregómetro. A la Escuela de Buceo de la Armada Argentina (Base Naval Mar del Plata) por la colaboración prestada. El presente trabajo fue financiado en parte, con una Beca de Perfeccionamiento en Investigación otorgada a uno de los autores (ALP) por el Colegio de Farmacéuticos de la Pcia. de Buenos Aires. A todas aquellas personas que ha brindado su entera y desinteresada colaboración como voluntarios.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Goodman Gilman, A.; L. S. Goodman; A. Gilman (2000) *"Las bases Farmacológicas de la Terapéutica"* 9º ed. Vol. I y II Ed. Médica Panamericana S.A.-México D. F. págs: 661-705.
2. Hamberg, M., J. Svensson, T. Wakabayashi & B. Samuelson (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **71**: 345-9.
3. Hamberg, M., I. Svensson & B. Samuelson (1975) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **72**: 2994-8 .
4. Moncada, S., R.J. Gryglewsky, S. Bunting & J. R. Vane (1976) *Nature* **263**: 663-5.
5. Fraguera, J.M. & C. Touloupas (1993) "Farmacología del dolor, la Fiebre, la Inflamación y la Agregación Plaquetaria" en *"Taller del uso racional de medicamentos"*, Módulo 2: Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, pág 3-18.

6. Vane, J.R. (1971) *Nature* **231**: 232-5.
7. Delacruz, J.P., J.M. Mata & F.S. Delacuesta (1992) *General Pharmacol.* **23**: 2-9.
8. Litter, M. (1988) "Farmacología Experimental y Clínica" VII Ed., Editorial El Ateneo. ps. 1261, 1296-99, 1317-22.
9. Czervionke, R.L. , J.B. Smith, G.L. Fry & J.C. Hoak (1979) *J. Clin. Invest.* **63**: 1089-92.
10. Remington's Pharmaceutical Sciences (1987) 17º ed. Tomos 1 y 2 Ed. Médica Panamericana S. A. -México D.F., págs: 112, 768, 1136-7 y 1284.
11. Paoletti, D.G. de, E. Paoletti, C.A. Espinosa, G.A. Mauvecin & J.D. Brandon (1995) *Revista Oficial de la Federación Argentina de Actividades Subacuáticas* (F.A.A.S.) N° 0 : 25-30.
12. Fuster, V. (1992) "Aterosclerosis y trombogenesis" XIV Congreso Europeo de Cardiología, Barcelona.
13. Fuster, V. (1992) "Terapéutica Antiplaquetaria en la Progresión de la Enfermedad Coronaria" *Cardiología Práctica-Congresos*, Vol. 13 N° 2. XIV Congreso Europeo de Cardiología. Barcelona.
14. Nogueira Prista, L., A. Correia Alves & R. Morgado (1975) "Técnica Farmacéutica e Farmacia Galénica" Vol. 1 Fundação Calouste Gibenkian, Lisboa-Portugal, págs: 551 y 797.
15. *United States Pharmacopeia U.S.P.* (1990) XXII ed., pág 14.
16. Train, D. (1958) *J. Pharm. Pharmacol.* **10** : 127 T.
17. Cárcamo Cid, E. (1993) "Control de Calidad Biofarmacéutico de Medicamentos" Imprenta Balgraf Ltda, Sazié 1960, Santiago de Chile págs. 91-4.
18. *United States Pharmacopeia* (1995) XXIII edición, Págs. 1834.
19. *Farmacopea Nacional Argentina* (1978) 6ª Edición, Talleres gráficos Editorial Codex S.A., Buenos Aires Argentina, pág. 1096.
20. Mellia, J.A. & M. Alvarez Sotolongo (1987) *Rev. Cubana Farm.* **21**: 5-18.
21. Declaration of Helsinki-World Medical Association (1964) Declaration of Helsinki: Recommendations Guiding Medical Doctors in Biomedical Research Involving Human Subjects - Adopted by the 18<sup>th</sup> World Medical Assembly, Helsinki, Finland, 1964 and as revised by the World Medical Assembly in Tokyo, Japan in 1975, in Venice, Italy in 1983, and in Hong Kong in 1989.
22. Nathelson, S. (1972) "Microtechniques of clinical chemistry" pág 372.
23. Born, G.V.R. & M.J. Cross (1963) *J. Physiol.* **168**: 178-95.
24. Monge A., P. Parrado, M. Font & E. Fernández Alvarez (1987) *J. Med.Chem.* **30**: 1029-35.
25. Neumann, B. (1967) "Advances in Pharmaceutical Sciences" Vol. 2, Ed. Beckett, Bean & Carless. London: Academic Press.
26. Tawashi, R. (1968) *Science* **160**: 76.