

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE MICROGRÂNULOS GASTRORRESISTENTES DE OMEPRAZOL PARA DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTO SIMILAR

Recebido em 11/07/2014

Aceito para publicação em 11/08/2014

1ºTen (S) Carla Giordani Testa¹
CC (S) Alex Moura da Silva²

RESUMO

O omeprazol é um inibidor da bomba de próton utilizado no tratamento do refluxo gastroesofágico, síndrome de Zollinger-Ellison e úlcera péptica. Uma vez que é instável em pH ácido, a matéria-prima omeprazol é comumente comercializada na forma de microgrânulos gastrorresistentes. Diferenças na qualidade dos grânulos revestidos podem ser fonte de variabilidade na cedência *in vitro* do fármaco com conseqüente alteração da biodisponibilidade do medicamento. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade, através de ensaios de perfil de dissolução *in vitro*, de diferentes lotes de omeprazol *pellets* disponíveis no mercado brasileiro. Os produtos foram testados de acordo com o Teste 2 da respectiva monografia na Farmacopéia Americana. Nenhum dos fabricantes avaliados apresentou resultados satisfatórios de perfil de dissolução quando comparados ao medicamento referência. Dados obtidos para os perfis indicam que os lotes avaliados podem ter sua biodisponibilidade afetada pelos baixos valores de cedência de omeprazol encontrados nas condições testadas.

Palavras- chave: Omeprazol; Dissolução; Comprimidos com Revestimento Entérico

INTRODUÇÃO

O omeprazol é um agente inibidor específico da bomba de próton indicado no tratamento da doença do refluxo gastroesofágico, de úlceras pépticas, na erradicação do *Helicobacter pylori*, da Síndrome de Zollinger-Ellison e em outras condições de hiperacidez gástrica.¹ O fármaco é comercializado na forma de uma mistura racêmica de dois enantiômeros (R e S) pró-fármacos, que são convertidos à molécula ativa nas células parietais do estômago. A forma ativa reage com a enzima H⁺/K⁺ATPase, inativando-a irreversivelmente e inibindo uma das etapas finais no mecanismo de produção do ácido gástrico.²

Uma estratégia para controle da liberação de fármacos em função do tempo ou local de absorção ou para proteção da substância ativa contra ações deletérias do meio ambiente e meio biológico foi o desenvolvimento, a partir dos anos 50, de sistemas multiparticulados revestidos, tais como grânulos (*pellets*). Estes sistemas têm como principais vantagens a melhoria da biodisponibilidade e segurança da liberação do fármaco, permitindo a divisão da dose sem alterar as características programadas para a forma farmacêutica. O omeprazol na forma de microgrânulos gastrorresistentes é um exemplo de sistema multiparticulados. Devido a sua alta instabilidade química no pH ácido do estômago, o fármaco é normalmente comercializado como grânulos esféricos revestidos, o que permite o controle da dose administrada, alterando-se apenas a quantidade de microgrânulos na forma farmacêutica cápsula sem perda das finalidades de revestimento.³

No entanto, vários trabalhos na literatura descrevem problemas relacionados à qualidade de omeprazol na forma de *pellets* gastrorresistentes.⁴⁻⁷ Fatores relacionados aos processos envolvidos na fabricação de um medicamento, bem como características físico-químicas do próprio fármaco e dos excipientes que o compõem podem modificar a absorção de um determinado princípio ativo, alterando, conseqüentemente, sua biodisponibilidade. A influência destes fatores é crítica, principalmente, nas formas farmacêuticas sólidas, considerando-se que, nestes casos, é necessária a liberação do fármaco da formulação, para a sua posterior absorção.⁸ Especificamente para o omeprazol, diferenças na qualidade dos grânulos revestidos podem levar à alteração da biodisponibilidade do medicamento.⁷

¹Mestre em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento da Indústria Farmacêutica. Ajudante da Seção de Manipulação de Sólidos do Laboratório Farmacêutico da Marinha. Mestre em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento da Indústria Farmacêutica. E-mail: carla@ifm.mar.mil.br.

²Mestre em Ciências Farmacêuticas/ UFRJ. Encarregado da Divisão de Desenvolvimento do Laboratório Farmacêutico da Marinha. Mestre em Ciências Farmacêuticas/UFRJ. E-mail: alex@ifm.mar.mil.br.

Um dos aspectos importantes no processo de desenvolvimento de um medicamento é estabelecer características da formulação *in vitro* que reflitam seu desempenho *in vivo*. Alguns destes parâmetros são determinados rotineiramente por análises como doseamento e desintegração. No entanto, o perfil de dissolução é o critério *in vitro* mais importante na análise da qualidade biofarmacêutica, principalmente em formas farmacêuticas sólidas orais.⁹

De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 31, de 11 de agosto de 2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estudo de perfil de dissolução comparativo é o ensaio analítico com coletas em múltiplos pontos para a avaliação da dissolução de uma determinada substância ativa comparando duas formulações.¹⁰

A comparação de perfis de dissolução é importante para conhecer o comportamento de cedência de um produto farmacêutico teste frente ao medicamento referência antes de submetê-lo a testes de bioequivalência/biodisponibilidade relativa, uma vez que estes são, em geral, estudos onerosos, demorados e que expõem voluntários sadios aos riscos com a utilização de medicamentos.⁹

Além de serem utilizados como fator preditivo do comportamento *in vivo* de medicamentos, os ensaios de perfil de dissolução comparativos são ferramentas úteis também na isenção de estudos de bioequivalência/biodisponibilidade relativa para dosagens menores de produtos já estudados, na avaliação do impacto de alterações pós-registro e na orientação do desenvolvimento e otimização de formulações.¹¹

Desta forma, este trabalho teve o objetivo de, através do estudo do perfil de dissolução de cápsulas contendo omeprazol microgrânulos gastrorresistentes de diferentes fabricantes, avaliar a qualidade biofarmacotécnica das matérias-primas disponíveis no mercado nacional para desenvolvimento deste medicamento.

MÉTODOS

Manipulação dos lotes teste

A matéria-prima omeprazol *pellets* é comercialmente disponível nas concentrações de 8,5 mg de omeprazol/100 mg de *pellets* (8,5%) e 10 mg de omeprazol/100 mg de *pellets* (10%).

Lotes de omeprazol microgrânulos gastrorresistentes nas concentrações de 8,5% (A₁, B₁, C₁, D₁ e D₂) e 10% (B₂), de quatro diferentes fabricantes (fabricantes A, B, C e D), foram encapsulados, utilizando encapsulador manual, em cápsulas gelatinosas duras tamanho 2, em quantidade equivalente a 20 mg de omeprazol por cápsula.

Preparo dos meios de dissolução

Os meios de dissolução utilizados (ácido clorídrico 0,1M e tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 Mph 6.8), foram preparados conforme descrito na Farmacopéia Americana.¹²

Preparo da solução padrão

A solução padrão foi preparada dissolvendo-se cerca de 22,0 mg da substância química de referência omeprazol em álcool etílico 95% (v/v) em balão volumétrico de 10 mL. Uma alíquota de 5 mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 50 mL e

o volume foi completado com tampão fosfato pH 6.8, obtendo-se solução estoque com concentração final igual a 220 µg/mL. Esta solução foi utilizada como solução padrão estoque, a partir da qual foram realizadas as diluições para preparo da curva de calibração.

Curva de calibração

Alíquotas da solução estoque foram diluídas com tampão fosfato, em concentrações na faixa de 5,5 a 22,0 µg/mL. Os valores das absorbâncias foram determinados espectrofotometricamente em comprimento de onda igual a 305 nm, contra o branco (tampão). As médias de duas leituras foram relacionadas às respectivas concentrações para elaboração da reta de calibração. A equação da reta foi obtida por regressão linear.

Perfil de dissolução

Os perfis de dissolução dos lotes teste (A₁, B₁, B₂, C₁, D₁ e D₂) e de três lotes do medicamento considerado como referência Peprazol® 20 mg cápsulas do Laboratório LIBBS (R₁, R₂ e R₃) foram determinados de acordo com o Teste 2 da monografia de omeprazol grânulos gastrorresistentes da Farmacopéia Americana 37ª edição. As condições utilizadas estão descritas na Quadro 1.

Quadro 1: Condições para perfil de dissolução de omeprazol cápsula 20 mg.

PARÂMETRO	ESPECIFICAÇÃO
ESTÁGIO DE RESISTÊNCIA ÁCIDA	
Temperatura	37°C ± 0,5°C
Sistema de agitação	Aparato 1 (cesto 40 mesh)
Velocidade	100 rpm
Meio de dissolução	Ácido clorídrico 0,1 M
Volume	900 mL
ESTÁGIO TAMPONADO	
Temperatura	37°C ± 0,5°C
Sistema de agitação	Aparato 1 (cesto 40 mesh)
Velocidade	100 rpm
Meio de dissolução	Tampão fosfato 0,05 Mph 6.8
Volume	900 mL

Para realização dos perfis de dissolução, as cápsulas foram submetidas às condições descritas para o estágio ácido resistente, por 2 horas. Ao final deste tempo, o meio ácido foi removido e substituído por tampão fosfato e o teste continuado por mais 45 minutos.

As amostras foram coletadas em 8, 10, 12, 15 e 45 minutos, filtradas em filtro de nylon de porosidade de 0,2 µm e analisadas, sem diluição prévia, por espectrofotometria no ultravioleta em comprimento de onda igual a 305 nm. Comparando-se os resultados das leituras com a curva de calibração, obteve-se a porcentagem de omeprazol dissolvido em função do tempo.

Os perfis de dissolução dos lotes galênicos foram comparados aos perfis obtidos para o medicamento referência através do Modelo Independente Simples utilizando o Fator de similaridade (F2), conforme equação;¹⁰

$$F2 = 50 \times \log \left[100 / \sqrt{1 + \sum (Rt - Tt)^2 / n} \right]$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados dos valores médios de dissolução dos lotes do medicamento referência (R_1 , R_2 e R_3) e dos seis lotes de omeprazol microgrânulos gastrorresistentes testados (A_1 , B_1 , B_2 , C_1 , D_1 e D_2), em tampão fosfato pH 6.8. Os perfis de dissolução obtidos são apresentados no Gráfico 1.

Tabela 1: Valores médios de dissolução dos lotes de referência e genéricos em meio de dissolução tampão fosfato pH 6.8.

Tempos (min)	Dissolução do fármaco (%)									
	R_1	R_2	R_3	A_1	B_1	B_2	C_1	D_1	D_2	
8	57,34	26,27	63,71	21,32	43,17	19,97	30,49	25,58	23,41	
10	63,63	54,01	75,33	34,91	63,44	33,78	60,64	48,90	49,33	
12	68,99	73,75	81,94	43,96	74,74	44,68	70,57	69,90	69,93	
15	72,43	86,51	86,55	53,22	83,04	55,92	80,01	82,99	80,63	
45	90,60	101,14	97,29	79,40	99,90	82,48	98,32	98,53	96,40	

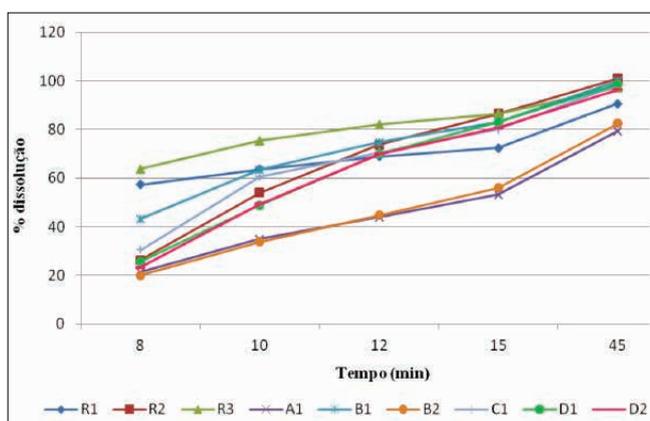


Gráfico 1: Comparação entre os perfis de dissolução dos lotes de omeprazol e do Peprazol®, em tampão fosfato pH 6.8.

Através da comparação entre os resultados de dissolução obtidos, pode-se observar que todos os lotes avaliados, exceto o lote A_1 , atendem ao critério de aceitação da Farmacopéia Americana para dissolução: não menos que $Q(75\%) + 5\%$, ou seja, 80% da quantidade declarada de omeprazol dissolvidos em 45 minutos.¹²

No entanto, de acordo com a RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010, os medicamentos teste e de referência devem apresentar tipos de dissoluções correspondentes, ou seja, se o medicamento inovador apresenta dissolução média de 85% em 15 minutos (dissolução muito rápida), o medicamento teste também deve apresentar dissolução muito rápida.¹⁰ No caso dos lotes avaliados, os lotes R_2 e R_3 de Peprazol® apresentaram dissolução muito rápida. Da mesma forma, para serem considerados equivalentes farmacêuticos, os lotes testados deveriam apresentar tipos de dissolução semelhantes à referência. Nenhum dos seis lotes avaliados atendeu a esta exigência, indicando que os insumos testados apresentam problemas em seus perfis.

Uma vez que o lote A_1 foi o único a não atender aos requisitos farmacopeicos para dissolução, foram feitos estudos adicionais avaliando o perfil de liberação deste lote em tampão fosfato pH 6.8 sem submetê-lo, previamente, a etapa ácida, com o objetivo de avaliar resistência ácida dos grânulos. Os resultados comparativos dos valores de dissolução para este lote, nestas duas condições, encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados comparativos das médias de dissolução do lote A_1 com e sem a realização da etapa ácida.

Tempos (min)	Tampão fosfato 0,05 MpH 6.8	
	Sem etapa ácida prévia	Com etapa ácida prévia
8	32,09%	21,32%
10	46,57%	34,91%
15	72,54%	53,22%
45	96,52%	79,40%

Os resultados apresentados na Tabela 2 demonstram claramente que houve uma redução significativa nos valores de dissolução do lote A_1 quando submetido à etapa de resistência ácida prevista no método farmacopeico. Estes resultados indicam uma possível deficiência no revestimento polimérico gastrorresistente. Neste caso, o fármaco fica exposto ao pH ácido, sofrendo degradação e comprometendo os níveis de dissolução da etapa posterior (tampão).

O Gráfico 2 compara as curvas de dissolução dos três lotes do medicamento Peprazol®.

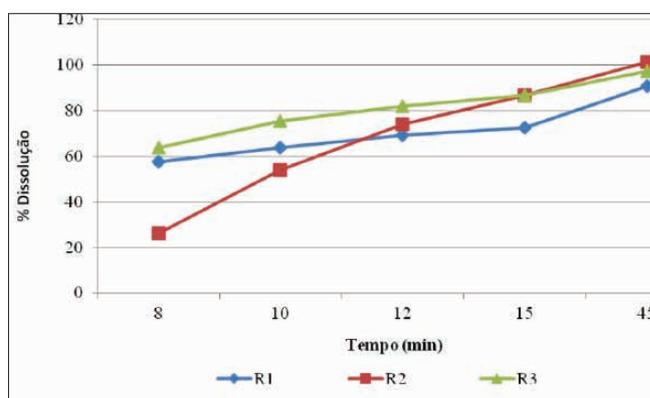


Gráfico 2: Comparação entre perfis de dissolução dos lotes de Peprazol®.

A avaliação da dissolução do fármaco em função do tempo demonstrou que existe uma grande variação no comportamento de dissolução não somente dos fabricantes testados Tabela 1, como principalmente entre lotes do próprio medicamento usado como referência Gráfico 1, principalmente nos primeiros tempos avaliados. O lote R_1 apresentou apenas 72,43% de cedência de omeprazol em 15 minutos de análise. Os baixos valores de liberação do lote R_1 , em relação aos outros dois lotes do medicamento referência, podem estar relacionados à proximidade do final do prazo de validade deste lote no momento da análise, indicando comprometimento da dissolução em função de queda no teor do produto.

A grande diferença entre os lotes do medicamento referência é complicador para o desenvolvimento de medicamentos similares, uma vez que o registro destes é baseado na semelhança entre perfis.

A Tabela 3 demonstra os valores de F2 obtidos para cada um dos lotes avaliados quando comparados aos três lotes do produto referência.

De acordo com a legislação vigente, o valor de aceitação de F2 deve estar compreendido entre 50 e 100.¹⁰

Considerando-se os valores de F2 calculados para todos os lotes teste em relação aos três lotes de Peprazol®, pode-se observar que, dependendo do lote do medicamento referência escolhido

para comparação, os valores de F2 podem variar dentro ou fora do especificado. Por exemplo, os lotes C₁, D₁ e D₂ apresentam valores de F2 dentro da faixa aceitável quando comparados ao lote R₂ de Peprazol®. No entanto, se comparados aos lotes R₁ e R₃, estes mesmo lotes C₁, D₁ e D₂ não atenderiam aos requisitos especificados. O mesmo acontece para o lote B₁, que apresenta valores de F2 aceitáveis quando comparado ao lote R₁ e R₂, mas não em comparação ao lote R₃.

Tabela 3: Valores de F₂ resultantes da comparação entre os lotes teste de omeprazol microgrânulos gastrorresistentes e do medicamento referência, em tampão fosfato pH 6.8.

R ₁ x Teste	F2	R ₂ x Teste	F2	R ₃ x Teste	F2
R ₁ x A ₁	29,68	R ₂ x A ₁	31,05	R ₃ x A ₁	22,48
R ₁ x B ₁	51,44	R ₂ x B ₁	52,59	R ₃ x B ₁	47,33
R ₁ x B ₂	29,77	R ₂ x B ₂	32,17	R ₃ x B ₂	22,68
R ₁ x C ₁	44,18	R ₂ x C ₁	64,87	R ₃ x C ₁	38,09
R ₁ x D ₁	38,78	R ₂ x D ₁	72,04	R ₃ x D ₁	33,35
R ₁ x D ₂	38,35	R ₂ x D ₂	66,76	R ₃ x D ₂	32,59

CONCLUSÕES

Na indústria farmacêutica, o perfil de dissolução é uma ferramenta muito importante não só no desenvolvimento de novos produtos, auxiliando no embasamento para escolha da melhor formulação e processo, como também na avaliação da qualidade dos produtos e insumos.

Os resultados encontrados demonstraram sérios problemas na qualidade biofarmacêutica de matérias-primas omeprazol grânulos com revestimento entérico disponíveis para desenvolvimento de medicamentos no Brasil. Dos seis lotes avaliados, nenhum apresentou dissolução muito rápida semelhante ao medicamento considerado referência, o que compromete a equivalência entre os medicamentos.

Uma vez que problemas no perfil de dissolução podem comprometer a biodisponibilidade dos fármacos a partir de diferentes formulações, os fabricantes testados não atendem às especificações necessárias para sua utilização no desenvolvimento de produto similar que será submetido a estudos de equivalência e bioequivalência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rhim SY, Park YS, Lee MH, Hwang KG; Kim YS, Shaw LM et al. Pharmacokinetics and bioequivalence of 20 mg omeprazole capsule in 24 healthy Korean male volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2009 Jan;47(1):23-9.
- Gilman AG, Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 10ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2005.
- Kratz CP, Mayorga PE, Petrovick PR. Formas farmacêuticas monolíticas como sistemas multiparticulados. *Cad Farm*. 2001 out/dez;17(1):19-26.
- Storpiritis S, Rodrigues, D. In Vitro Evaluation of Dissolution Properties and Degradation Products of omeprazole in Enteric-Coated Pellets. *Drug Dev Ind Pharm*. 1998 Nov;24(11):1101-7.
- Palummo M, Cingolani A, Dall, Volonté MG. Stability of capsules containing omeprazole in enteric coated pellets. *Boll Chim Farm*. 2000 May/Jun;139(3):124-8.

- El-Sayed A, Boraie NA, Ismail FA, El-Khordaghi LK, Khalil SA. Assessment of the pharmaceutical quality of omeprazole capsule brands marketed in Egypt. *East Mediterr Health J*. 2007 Nov/Dec;13(6):1427-37.

- Moore T, Smith A, Ye W, Toler DY, Westenerberger BJ, Lionberger R, et al. Generic omeprazole delayed-release capsules: in vitro performance evaluations. *Drug Dev Ind Pharm*. 2009 Aug;35(8):917-21.

- Amidon GL, Lennemäs H, Shah VP, Crison JRA. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res*. 1995 Mar;12(3):413-20.

- Flach AOP, Dalla Costa T. Avaliação dos critérios de isenção de estudos de bioequivalência in vivo para medicamentos orais em formas farmacêuticas de liberação imediata. *Cad Farm*. 1999 jul/dez;15(2):49-58.

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução RDC no 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. *Diário Oficial da União*. 12 de ago 2010; Seção 1.

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução RE no 483, de 19 de março de 2002. Determina a publicação do Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI). *Diário Oficial da União*. 20 mar 2002; Seção 1.

- USP United States Pharmacopeia. 37ª ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2014.

Como citar este artigo: Testa CG, Silva AM. Avaliação comparativa do perfil de dissolução *in vitro* microgrânulos gastrorresistentes de omeprazol para desenvolvimento de medicamento similar. *Arq Bras Med Naval*. 2014 jan/dez;75(1): 14-17