

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 no 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	

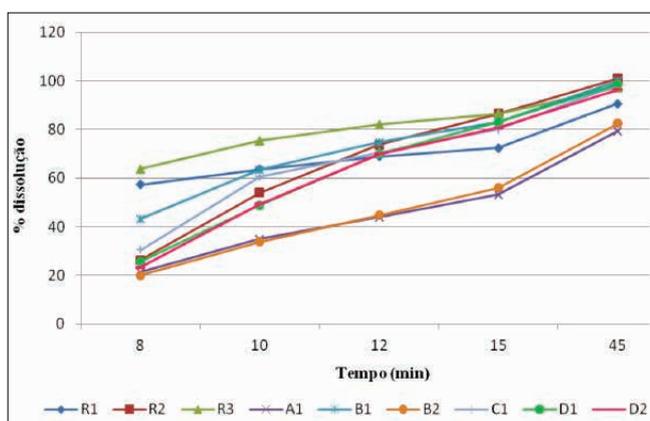


Gráfico 1: Comparação entre os perfis de dissolução dos lotes de omeprazol e do Peprazol®, em tampão fosfato pH 6.8.

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 M pH 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®.

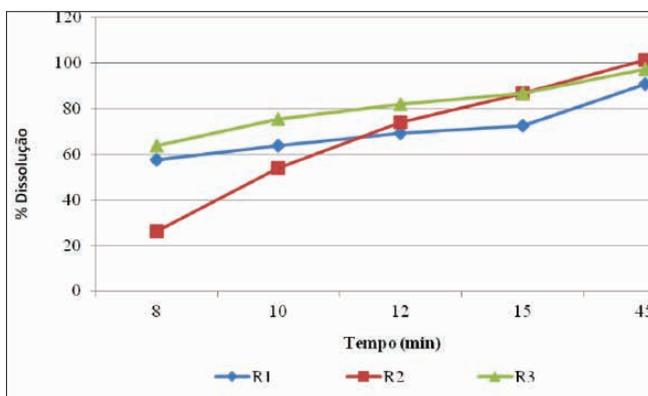


Gráfico 2: Comparação entre perfis de dissolução dos lotes de Peprazol®.

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

***IN VITRO* COMPARATIVE EVALUATION OF DISSOLUTION PROFILE OF OMEPRAZOLE ENTERIC COATED PELLETS TO THE DEVELOPMENT OF SIMILAR MEDICINE**

Received on 07/11/2014

Accepted for publication on 08/11/2014

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

ABSTRACT

The omeprazole is a proton pump inhibitor drug widely used in the treatment of gastroesophageal reflux disease, Zollinger-Ellison syndrome and peptic ulcer. Since it's unstable in acid pH, the raw material omeprazole is usually marketed as enteric-coated pellets. Differences in the quality of the coated granules can be source of *in vitro* variability in the drug dissolution with consequent changes in the product's bioavailability. The aim of this study was to assess the quality, through *in vitro* dissolution profile assays, of different batches of omeprazole enteric-coated pellets, available in the Brazilian market. The products were tested according to Test 2 of omeprazole delayed-release capsule monograph in the U.S. Pharmacopeia. None of the manufacturers presented satisfactory dissolution profiles results when compared to the reference product. Data obtained from dissolution profiles indicate that the batches may have their bioavailability affected by the poor dissolution of omeprazole in the tested conditions.

Key-words: *Omeprazole; Dissolution; Enteric-Coated Tablets.*

INTRODUCTION

Omeprazole is a specific inhibitor agent of proton pump indicated in treatment of gastro-esophageal reflux disease, peptic ulcers, eradication of *Helicobacter pylori*, Zollinger-Ellison Syndrome and other conditions of gastric hiperacidity.¹ The drug is marketed in the form of racemic mixture of two prodrug enantiomers (R and S) which are converted into active molecule in parietal cells of the stomach. The active form reacts with H⁺/K⁺ ATPase enzyme, irreversibly inactivating such enzyme and inhibiting one of the final stages in gastric acid production mechanism.²

A strategy to control the release of drugs as a function of time and location of absorption or for protection of active substance against deleterious action of the environment and biological environment was the development, from the 50's, of coated-multiparticulate systems, such as granules (pellets). These systems has as key advantages the improvement in bio-availability and safety of drug release, permitting the division of dose without changing programmed characteristics to the pharmaceutical form. Omeprazole in the form of enteric-coated pellets is an example of multiparticulate system. Due to its high chemical instability in stomach-acid pH, the drug is normally marketed as coated-spherical pellets, which allows the control of administered dose, only changing the quantity of pellets in capsule pharmaceutical form without loss of the coating purposes.³

However, a number of works in literature describes problems related to the quality of omeprazole under the form of enteric-coated pellets.⁴⁻⁷ Factors related to process involved in manufacturing of a medicine, such as physic-chemical characteristics of the drug itself and excipients composing it may change the absorption of a certain active principle, consequently, changing its bio-availability. The influence of these factors is critical, mainly in solid-pharmaceutical forms, taking into consideration that, in such cases, it is necessary the release of formulation drug, for its further absorption.⁸ Specifically for omeprazole, differences in quality of coated pellets may lead to change of the drug bio-availability.⁷

¹Master of Management, Research and Development of the Pharmaceutical Industry. Assistant of Solid Manipulation Section of the Navy Pharmaceutical Laboratory. E-mail: carla@ifm.mar.mil.br.

²Master of Pharmaceutical Sciences/UFRJ (Federal University of Rio de Janeiro). Commissioner of Development Division of the Navy Pharmaceutical Laboratory. E-mail: alex@ifm.mar.mil.br.

One of the most important aspects in development process of a medicine is to establish characteristics of *in vitro* formulation which reflects in its *in vivo* performance. Some of these parameters are determined in a routine basis by analysis such as evaluation and disintegration. However, the profile of dissolution is the most important *in vitro* criterion in analysis of biopharmaceutical quality, primarily in oral-solid pharmaceutical forms.⁹

According to the Resolution of Board of Directors (RDC) No. 31, of August 11th 2010, of ANVISA (Brazilian National Sanitary Surveillance Agency), comparative dissolution profile study is the analytical assay with collection in multiple points for dissolution evaluation of a certain active substance comparing two formulations.¹⁰

The comparison of dissolution profiles is important to know the yield behavior of a test-pharmaceutical product before the reference medicine prior to its submission to relative bioequivalence/bio-availability tests, once such tests are expensive, time-consuming studies in general, and which expose wealthy volunteers to risks with the use of medicines.⁹

In addition to be used as predictive factors of medicine *in vivo* behavior, comparative dissolution profile essays are also useful tools in exemption of relative bioequivalence/bio-availability studies to minor dosing of products already studied, in impact evaluation of post-register changes and development orientation and formula optimization.¹¹

Thus, this work aimed at, by means of dissolution profile study of capsules containing omeprazole enteric-coated pellets from different manufacturers, to evaluate the bio-pharmacotechnique quality of raw materials available in the national market to develop this medicine.

METHOD

Manipulation of test batches

The raw material omeprazole pellets is commercially available in concentrations of 8.5 mg of omeprazole/100 mg of pellets (8.5%) and 10 mg of omeprazole/100 mg of pellets (10%).

Omeprazole enteric-coated pellets batches in concentrations 8.5% (A₁, B₁, C₁, D₁ e D₂) and 10% (B₂) of four different manufacturers (manufactures A, B, C and D) were encapsulated, using manual encapsulator, in hard gelatin capsules size 2, in quantity equivalent to 20 mg of omeprazole per capsule.

Preparation of dissolution media

The dissolution medias which were used (hydrochloric acid 0.1 M and monobasic potassium phosphate buffer 0.05 MpH 6.8) were prepared as described in the American Pharmacopeia.¹²

Preparation of standard solution

The standard solution was prepared by dissolving about 22.0 µmg of omeprazole reference chemical substance in ethyl alcohol 95% (v/v)

in volumetric flask of 10 mL. A rate of 5 mL of this solution was transferred to the volumetric flask of 50 mL and volume was completed with phosphate buffer pH 6.8, obtaining stock solution with final concentration equal to 220 µg/mL. This solution was used as stock standard solution, from which dilution was performed for preparation of calibration curve.

Calibration Curve

Rates of stock solution were diluted with phosphate buffer, in concentration within range from 5.5 to 22.0 µg/mL. Values of absorbance were determined in spectrophotometer with wave length equal to 305 nm, against the blank (buffer). The averages of two readings were related to respective concentrations for preparation of calibration line. Line equation was obtained by linear regression.

Dissolution Profile

The dissolution profile of test batches (A₁, B₁, B₂, C₁, D₁ e D₂) and three batches of the medicine considered as reference Peprazol® 20 mg capsules of LIBBS Laboratory (R₁, R₂ e R₃) were determined according to the Test 2 of enteric-coated pellets omeprazole monograph of American Pharmacopeia 37th edition. The conditions used are described in the Frame 1.

Frame 1: Conditions for dissolution profile of omeprazole capsule 20 mg.

PARAMETER	SPECIFICATION
ACID RESISTANCE STAGE	
Temperature	37°C ± 0,5°C
Agitation System	Apparatus 1 (basket 40 mesh)
Speed	100 rpm
Dissolution Media	Chloridric Acid 0.1 M
Volume	900 mL
BUFFERED STAGE	
Temperature	37°C ± 0,5°C
Agitation System	Apparatus 1 (basket 40 mesh)
Speed	100 rpm
Dissolution Media	Phosphate Buffer 0.05 MpH 6.8
Volume	900 mL

For realization of dissolution profiles, the capsules were submitted to conditions described to the stage resistant acid, by 2 hours. In the end of this time, the acid media was removed and replaced by phosphate buffer and test continued for more than 45 minutes.

The samples were collected in 8, 10, 12, 15 and 45 minutes, filtered in nylon filter with 0.2 µm porosity and analyzed, without prior dilution, by spectrophotometry in ultraviolet in wave length equal to 305 nm. By comparing the results of readings with calibration curve, it was obtained the percentage of dissolved omeprazole in function of time.

The dissolution profiles of galenic batches were compared to profiles obtained to the reference medicine by means of Simple Independent Template using the similarity Factor (F2), as the equation:¹⁰

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

RESULTS AND DISCUSSION

The Table 1 presents the results of batch dissolution average values of the reference drug (R_1 , R_2 e R_3) and six batches of tested omeprazole enteric-coated pellets (A_1 , B_1 , B_2 , C_1 , D_1 e D_2), in phosphate buffer pH 6.8. Dissolution profile that was obtained is shown in Chart 1.

Table 1: Conditions for dissolution profile of omeprazole capsule 20 mg.

Times (min)	Drug Dissolution (%)								
	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

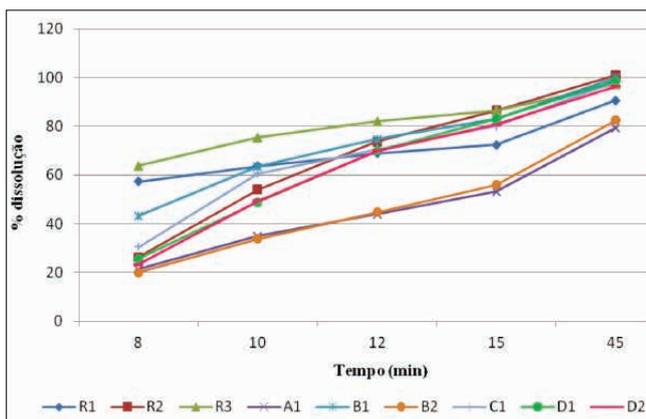


Chart 1: Comparison between dissolution profiles of omeprazole and Peprazol® batches, in phosphate buffer pH 6.8.

By means of comparison between results of achieved dissolution, we may observe that all evaluated batches, except batch A_1 , comply with the acceptance criterion of American Pharmacopeia for dissolution: not less than $Q (75\% + 5\%)$, in other words, 80% of omeprazole stated quantity dissolved in 45 minutes.¹²

However, according to RDC No. 31 of August 11th, 2010, the test and reference drugs must present corresponding dissolution types, in other words, if the innovative medicine presents average dissolution of 85% in 15 minutes (very quick dissolution), the test medicine shall also present very quick dissolution.¹⁰ In case of evaluated batches, the batches R_2 and R_3 of Peprazol® showed very quick dissolution. In the same way, to be considered as pharmaceutical equivalents, tested batches should present types of dissolution similar to the reference. None of six batches complied with this requirement, indicating that tested inputs showed problems in their profiles.

Once that batch A_1 was the only batch that did not comply with pharmacopeic requirements for dissolution, additional studies were carried out assessing the release profile of this batch in phosphate buffer pH 6.8 without previously subjecting it to acid stage, with the objective of assessing the acid resistance of granules. Comparative results of dissolution values for this batch, in these two conditions, are described in the Table 2.

Table 2: Comparative results of dissolution averages of batch A_1 with and without the performance of acid stage.

Times (min)	Phosphate Buffer 0.05 M pH 6.8	
	Without previous acid stage	With previous acid stage
8	32.09%	21.32%
10	46.57%	34.91%
15	72.54%	53.22%
45	96.52%	79.40%

The results presented in Table 2 clearly show that there was a substantial reduction in dissolution values of batch A_1 , when subjected to acid resistance stage provided in the pharmacopeic method. These results indicate a possible deficiency in the polymer-enteric coating. In this case, the drug is exposed to acid pH, suffering degradation and compromising the dissolution levels of further stage (buffer).

The Chart 2 makes comparison of dissolution curves of three batches of the drug Peprazol®.

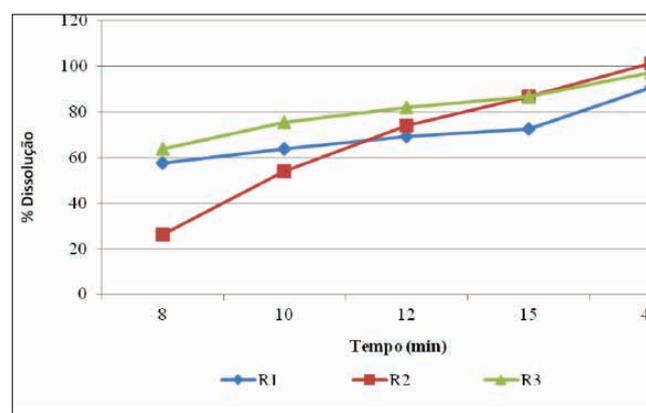


Chart 2: Comparison between dissolution profiles of Peprazol® batches.

The evaluation of drug dissolution as a function of time showed that there is a large variation in the dissolution behavior not only from tested manufacturers Table 1, mainly as among batches from the medicine used as reference Figure 1, mainly in the first evaluated times. The batch R_1 presented only 72.43% of omeprazole yield in 15 minutes of analysis. Low release values of batch R_1 , in relation to other two batches of the reference medicine, may be related to proximity of expiration date of this bath at the time of analysis, indicating that dissolution is compromised due to fall in the product content.

The great difference between the reference medicine batches is the complicator to the development of similar medicines, once that their registers is based on the similarity between profiles.

Table 3 shows the values of F2 obtained for each of the assessed batches when compared to three batches of the reference product.

Table 3: F_2 values resulting from comparison between omeprazole enteric-coated pellets test batches and reference product, in phosphate buffer pH 6.8.

R_1 x Test	F2	R_2 x Test	F2	R_3 x Test	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

According to the legislation in force, the acceptance value of F2 shall be between 50 and 100.¹⁰

Considering F2 values computed for all test batches in relation to three batches of Peprazol[®], we may observe that, depending on the selected reference drug batch for comparison, the values of F2 may vary in or out of the specified. For instance, the batches C_1 , D_1 e D_2 show F2 values within the acceptable range when compared to batch R_2 of Peprazol[®]. However, if compared to batches R_1 and R_3 , such batches C_1 , D_1 and D_2 would not comply with the specified requirements. The same happens for batch B_1 , which presents acceptable values of F2 when compared to batch R_1 and R_2 , but not in comparison to batch R_3 .

CONCLUSIONS

In pharmaceutical industry, the dissolution profile is a very important tool, not only to the development of new products, supporting in basement to selection of best formulation and process, as well as in assessment of product and input quality.

Results shows severe problems in the bio-pharmaceutical quality of omeprazole pellets raw materials with available enteric coating for development of medicines in Brazil. Among the evaluated batches, none of them presented very quick dissolution similar to the drug considered as reference, which compromises the equivalent between the drugs.

Once that problems in the dissolution profiles may compromise the bio-availability of drugs from different formulations, manufacturers which were tested do not comply with necessary specifications for its use in the development of similar product that shall be subjected to equivalence and bioequivalence studies.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. 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.
2. Gilman AG, Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 10^a ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill; 2005.
3. Kratz CP, Mayorga PE, Petrovick PR. Formas farmacêuticas monolíticas como sistemas multiparticulados. *Cad Farm.* 2001 out/dez;17(1):19-26.

4. Storpirtis 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.

5. Palummo M, Cingolani A, DallL, Volonté MG. Stability of capsules containing omeprazole in enteric coated pellets. *Boll Chim Farm.* 2000 May/Jun;139(3):124-8.

6. 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.

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

8. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. 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.

9. 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.

10. 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.

11. 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.

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

How to cite this article: Testa CG, Silva AM. Comparative evaluation of dissolution profile in vitro of omeprazole enteric coated pellets to the development of similar medicine. *Arq Bras Med Naval.* 2014 jan/dez;75(1):18-21