

Universidade Estadual de Campinas

Priscilla Scaff Padilha

ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE OMEPRAZOL 20MG EM

VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia da Médica Priscilla Scaff Padilha.

Campinas, 27 de julho de 2001.



*Prof. Dr. Gilberto de Nucci
- Orientador -*

ORIENTADOR: PROF. DR. GILBERTO DE NUCCI

CAMPINAS

2001

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Universidade Estadual de Campinas

Priscilla Scaff Padilha

ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE OMEPRAZOL 20MG EM
VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA À PÓS-
GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM FARMACOLOGIA.

ORIENTADOR: PROF. DR. GILBERTO DE NUCCI

CAMPINAS

2001

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

P134e	Padilha, Priscilla Scaff Estudo de bioequivalência de duas formulações de omeprazol 20 mg em voluntários saudáveis de ambos os sexos / Priscilla Scaff Padilha. Campinas, SP : [s.n.], 2001. Orientador : Gilberto De Nucci Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. 1. Biodisponibilidade . 2. Farmacocinética. I. Gilberto De Nucci. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.
-------	---

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

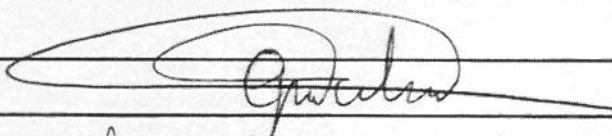
Orientador:

Prof. Dr. Gilberto De Nucci

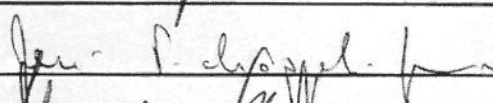


Membros:

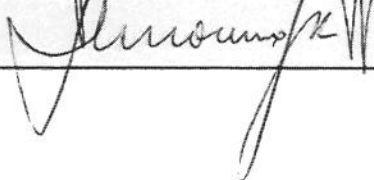
Prof. Dr. Gilberto De Nucci



Prof. Dr. José Pedrazzoli Júnior



Prof. Dr. Heitor Moreno Junior



Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 27 /07/2001

RESUMO.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Histórico da biodisponibilidade de medicamentos.....	13
1.2 Definições e conceitos.....	14
1.2.1 Alternativas farmacêuticas.....	15
1.2.2 Equivalentes farmacêuticos.....	16
1.2.3 Biodisponibilidade.....	17
1.2.4 Bioequivalência.....	18
1.3 Fatores que influem na biodisponibilidade de medicamentos.....	20
1.3.1 Fatores relacionados ao fármaco.....	20
1.3.2 Fatores relacionados à forma farmacêutica.....	24
1.3.3 Fatores relacionados à absorção dos medicamentos.....	32
1.4 Omeprazol.....	33
1.4.1 Farmacocinética.....	35
1.4.2 Indicações clínicas.....	39
1.4.3 Reações adversas.....	41
1.4.4 Toxicidade.....	41
1.5 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	42
2. OBJETIVO.....	48
3. METODOLOGIA.....	49
3.1 Planejamento do estudo.....	49
3.2 Aspectos éticos.....	49
3.2.1 Comitê de ética em pesquisa.....	49
3.2.2 Termo de consentimento livre e esclarecido.....	50
3.2.3 Confidencialidade.....	50
3.2.4 Ressarcimento.....	51
3.3 Instalações.....	51
3.4 População do estudo.....	52
3.4.1 Critérios de inclusão.....	52
3.4.2 Critérios de exclusão.....	52
3.5 Esquema do estudo.....	54

3.6 Materiais.....	58
3.6.1 Produtos.....	58
3.6.2 Equipamentos.....	59
3.6.3 Reagentes.....	60
3.6.4 Preparação das soluções padrão.....	60
3.6.5 Preparação das soluções de trabalho.....	61
3.6.6 Preparação da solução de extração.....	62
3.6.7 Preparação da fase móvel.....	62
3.6.8 Preparação das amostras de controle de qualidade.....	62
3.6.9 Preparação da curva de calibração.....	63
3.7 Posologia.....	64
3.8 Coleta de sangue.....	64
3.9 Metodologia analítica.....	65
3.9.1 Extração de amostras.....	65
3.9.2 Condições cromatográficas.....	66
3.9.3 Condições do espectrômetro de massas.....	66
3.10 Parâmetros farmacocinéticos.....	67
3.11 Análise estatística.....	67
3.12 Amostras de retenção.....	68
4. RESULTADOS.....	70
4.1 População do estudo.....	70
4.2 Metodologia analítica.....	70
4.2.1 Especificidade.....	71
4.2.2 Limite de quantificação.....	72
4.2.3 Curva de calibração.....	73
4.2.4 Controles de qualidade.....	75
4.2.5 Teste de recuperação.....	76
4.2.6 Testes de ionização.....	77
4.2.7 Estabilidade.....	79
4.2.8 Preparação da lista.....	82
4.3 Estudo de bioequivalência.....	83

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	88
6. CONCLUSÃO.....	94
7. SUMMARY.....	95
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
ANEXOS.....	112
Anexo 1 - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	112
Anexo 2 - Registro de eventos adversos.....	114
Anexo 3 - Definições de eventos adversos.....	115
Anexo 4 - Lista de randomização.....	116
Anexo 5 - Transporte de amostras.....	117
Anexo 6 - Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB.....	118
Anexo 7 - Concentrações plasmáticas individuais.....	119
Anexo 8 - Curvas individuais da concentração plasmática <i>versus</i> tempo e parâmetros farmacocinéticos.....	123

Índice de Figuras

Figura 1: Ionização por electrospray.....	45
Figura 2: Espectrometria de massas por MS/MS.....	46
Figura 3: Plasma normal, hiperlipêmico e hemolizado.....	72
Figura 4: Linearidade da curva de calibração.....	74
Figura 5a: Espectrogramas do omeprazol.....	77
Figura 5b: Espectrogramas do lansoprazol.....	78
Figura 6: Rotas de fragmentação propostas.....	79
Figura 7: Cromatograma típico.....	79
Figura 8: Curva da média de concentração plasmática <i>versus</i> tempo, obtida dos 23 voluntários.....	84
Figura 9: Curva da média de concentração plasmática <i>versus</i> tempo, obtida dos voluntários do sexo masculino.....	84
Figura 10: Curva da média de concentração plasmática <i>versus</i> tempo, obtida dos voluntários do sexo feminino.....	85

Índice de Tabelas

Tabela 1: Soluções de trabalho para o omeprazol.....	61
Tabela 2: Soluções de trabalho para o lansoprazol.....	61
Tabela 3: Preparação das amostras dos controles de qualidade.....	62
Tabela 4: Preparação da curva de calibração.....	64
Tabela 5: Tempos de retenção típicos.....	66
Tabela 6: Íons monitorizados.....	67
Tabela 7: Matrizes.....	71
Tabela 8: Dados de validação para o limite de quantificação.....	73
Tabela 9: Dados de validação da curva de calibração.....	74
Tabela 10: Definição das amostras de controle de qualidade.....	75
Tabela 11: Dados de validação intra-lista.....	75
Tabela 12: Dados de validação inter-lista.....	76
Tabela 13: Resultados de recuperação.....	76
Tabela 14: Resultados de estabilidade de amostrador automático.....	80
Tabela 15: Resultados de estabilidade para congelamento e descongelamento.....	81
Tabela 16: Resultados de estabilidade à temperatura ambiente.....	81
Tabela 17: Resultados de estabilidade de longa duração.....	82
Tabela 18: Resultados de estabilidade de soluções padrão.....	82
Tabela 19: Médias dos parâmetros farmacocinéticos.....	86
Tabela 20: Médias geométricas das razões entre Omeprazol e Peprazol®.....	87

RESUMO

O presente trabalho tem por objetivo comparar a biodisponibilidade de duas preparações comerciais de comprimidos de omeprazol: Omeprazol da Medley S/A Indústria Farmacêutica, Brasil, como formulação teste, e Peprazol® da Libbs Farmacêutica Ltda., Brasil, como formulação de referência, em vinte e quatro voluntários sadios de ambos os sexos, com idade entre 18 e 45 anos.

Realizou-se um estudo aberto, randomizado e cruzado, com intervalo de uma semana entre as duas internações. Os voluntários receberam dose única de 20mg da formulação de omeprazol de cada laboratório durante cada internação. Foram colhidas amostras plasmáticas dos voluntários antes da administração de cada formulação e em intervalos padronizados, durante vinte e quatro horas. As amostras foram processadas e as concentrações plasmáticas de omeprazol foram determinadas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massas. A partir das curvas de concentração plasmática de omeprazol *versus* tempo, determinaram-se os seguintes parâmetros farmacocinéticos: área sob a curva (AUC), concentração plasmática máxima obtida (C_{max}) e tempo para atingir a C_{max} (T_{max}). Foi calculada a média geométrica destes parâmetros e seus respectivos intervalos de confiança.

Concluiu-se que as formulações de omeprazol testadas foram consideradas bioequivalentes quanto à velocidade de absorção, segundo a EMEA e foram consideradas bioequivalentes em relação ao grau de absorção, de acordo com a FDA e a EMEA.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da biodisponibilidade de medicamentos

Muitos medicamentos são produzidos e comercializados por mais de uma indústria farmacêutica. O método de fabricação e a formulação final podem afetar a concentração do fármaco que atinge o local de ação e, conseqüentemente, oferecer riscos das doses tornarem-se subterapêuticas ou tóxicas. (Zanini et al., 1994)

A fim de avaliar a segurança e eficácia destes medicamentos, são propostos os estudos de biodisponibilidade. Este tipo de estudo relativo a uma forma farmacêutica refere-se à extensão da absorção do(s) fármaco(s) nela contido(s) e à velocidade com que esta absorção ocorre. Duas formas são ditas bioequivalentes quando, ao serem administradas ao mesmo indivíduo, nas mesmas condições experimentais e na mesma dose molar, não apresentarem diferenças significantes em relação à biodisponibilidade. (FDA, 1998)

Os estudos de biodisponibilidade são indicados para avaliação de medicamentos com novos princípios ativos e para aqueles com novas formulações ou formas farmacêuticas que contenham substâncias ativas já aprovadas para a comercialização.

O termo biodisponibilidade surgiu na literatura científica no início da década de setenta, do século XX. Sabe-se, entretanto, que na primeira metade deste século, já se desenvolviam trabalhos relacionados à absorção de fármacos, onde dados de excreção urinária de salicilato foram utilizados como medida da eficácia

de comprimidos de salicilato de sódio. Esta mesma técnica foi utilizada, em 1945, em estudos sobre vitaminas.

Nos anos cinqüenta, surgiram as primeiras bases teóricas para a avaliação de fármacos a partir de dados da excreção urinária e determinação de concentrações sangüíneas. (Abdou, 1989)

Na segunda metade do século XX, constataram-se diferenças de biodisponibilidade entre diferentes formulações orais contendo prednisona, hormônios tireoidianos, digoxina e cloranfenicol, dentre outros fármacos. (Gleiter et al., 1998)

Por volta de 1970, foram registrados episódios de intoxicação decorrentes de alteração da biodisponibilidade de comprimidos de digoxina, segundo Nyberg (1978). Este fato provocou um maior interesse por esse tipo de estudo, com maior divulgação dos conceitos relacionados à biodisponibilidade e bioequivalência, conforme Cook (1978), além de aumentar a preocupação em relação à influência de fatores fisiológicos e patológicos sobre a biodisponibilidade. (Lindahl et al., 1997)

1.2 Definições e Conceitos

Ao lado dos termos biodisponibilidade e bioequivalência, outros que estão inseridos no mesmo contexto são alternativas farmacêuticas e equivalentes farmacêuticos. Apesar das tentativas de harmonização das exigências internacionais relativas à bioequivalência de medicamentos, existem, ainda, diferenças importantes entre as definições desses termos utilizadas pelos órgãos de regulamentação de diversos países. (Schulz et al., 1991; Steinijans et al., 1992;

Nation et al., 1994)

Com especial destaque e importância junto ao desenvolvimento do presente trabalho, são apresentadas as definições adotadas pelos órgãos norte-americano (Food and Drug Administration - FDA), europeu (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products - EMEA) e brasileiro (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa), além da Organização Mundial de Saúde (WHO).

1.2.1 Alternativas farmacêuticas

Segundo a FDA (FDA, 1998), alternativas farmacêuticas são produtos farmacêuticos que contêm o mesmo fármaco, ou seu precursor, mas não necessariamente na mesma quantidade, forma farmacêutica ou mesmo sal ou éster, devendo cumprir, individualmente, com as especificações farmacopéicas, ou outros padrões aplicáveis de qualidade, em relação à identidade, teor, qualidade, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando aplicáveis.

Para a EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1998), alternativas farmacêuticas são produtos farmacêuticos que contêm o mesmo fármaco, mas diferem em relação à forma farmacêutica ou teor.

A Anvisa (Brasil, 1999b) define alternativas farmacêuticas como medicamentos que contêm a mesma molécula terapeuticamente ativa, ou seu precursor, mas não necessariamente na mesma quantidade, forma farmacêutica, sal ou éster, devendo cumprir, individualmente, com as especificações atualizadas da Farmacopéia Brasileira e, na ausência destas, com as de outros códigos autorizados pela legislação vigente ou, ainda, com outros padrões aplicáveis de

qualidade, relacionados à identidade, dosagem, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando for o caso.

1.2.2 Equivalentes farmacêuticos

De acordo com a FDA (FDA, 1998), equivalentes farmacêuticos são produtos farmacêuticos que contêm o mesmo fármaco, na mesma quantidade, forma farmacêutica e mesmo sal ou éster, mas não contêm, necessariamente, os mesmos excipientes, devendo cumprir com as especificações farmacopéicas, ou outros padrões aplicáveis de qualidade, em relação à identidade, teor, qualidade, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando aplicáveis.

A EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1998) considera equivalentes farmacêuticos como produtos farmacêuticos que contêm a mesma quantidade de fármaco(s) na mesma forma farmacêutica, e que cumprem requisitos de qualidade iguais ou comparáveis.

A Anvisa (Brasil, 1999b) classifica como equivalentes farmacêuticos aqueles medicamentos que contêm o mesmo fármaco, isto é, mesmo sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa, na mesma quantidade e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos. Devem cumprir com as mesmas especificações atualizadas da Farmacopéia Brasileira e, na ausência destas, com as de outros códigos atualizados pela legislação vigente ou, ainda, com outros padrões aplicáveis de qualidade, relacionados à identidade, dosagem, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando for o caso.

Para a Organização Mundial da Saúde (World Health Organization, 1996), equivalentes farmacêuticos são produtos que apresentam quantidades idênticas do mesmo fármaco em formas farmacêuticas iguais, cumprem com padrões de qualidade comparáveis e são administrados pela mesma via. Ressalta-se que a equivalência farmacêutica não implica, necessariamente, em equivalência terapêutica, já que diferenças de excipientes ou processo de fabricação podem ocasionar diferenças no desempenho do produto.

1.2.3 Biodisponibilidade

A FDA (FDA, 1998) define biodisponibilidade como a velocidade e extensão pelas quais um fármaco é absorvido a partir de um produto farmacêutico e torna-se disponível no local de ação.

Para a EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1998), biodisponibilidade significa a velocidade e extensão pelas quais um fármaco é absorvido a partir da forma farmacêutica e torna-se disponível no local de ação. Entretanto, como a maioria dos fármacos exerce ação sistêmica e se considera que a substância na circulação sistêmica está em contínua troca com a substância no local de ação, a seguinte definição pode ser adotada: a biodisponibilidade refere-se à extensão e à velocidade pelas quais um fármaco é liberado da forma farmacêutica para a circulação sistêmica.

No Brasil, segundo a Anvisa (Brasil, 1999b), a biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um fármaco em uma forma de dosagem, a partir de sua curva “concentração *versus* tempo” na circulação sistêmica ou sua excreção na urina. A mesma definição é adotada pela Organização Mundial da

Saúde. (World Health Organization, 1996)

As três definições concordam em que a biodisponibilidade é uma medida de velocidade e extensão da absorção de um fármaco a partir da forma farmacêutica, mas se diferenciam em relação ao local onde o fármaco deve estar disponível após a absorção: circulação sistêmica, para a EMEA, Anvisa e WHO ou local de ação, para a FDA.

A biodisponibilidade (F) pode ser determinada como sendo uma medida da fração da dose administrada que alcança a circulação sistêmica, após a administração de dose oral. Este parâmetro farmacocinético pode ser calculado como:

$$F = \frac{AUC_{v.o.} \times Dose_{i.v.}}{AUC_{i.v.} \times Dose_{v.o.}}$$

Onde: $AUC_{v.o.}$ é a área sob a curva concentração *versus* tempo após a administração oral, $Dose_{v.o.}$ é a dose oral, $AUC_{i.v.}$ é a área sob a curva concentração *versus* tempo após a administração intra-venosa e $Dose_{i.v.}$ é a dose intra-venosa. (Remington, 2000)

1.2.4 Bioequivalência

A FDA (FDA, 1998) considera bioequivalência como a ausência de diferença significativa na velocidade e extensão pelas quais o fármaco presente em alternativas ou equivalentes farmacêuticos torna-se disponível no local de ação, quando administrado na mesma dose molar e nas mesmas condições, em ensaio apropriadamente planejado. Além disso, considera que equivalentes ou alternativas farmacêuticas que apresentem diferença intencional em relação à

velocidade podem ser consideradas bioequivalentes, caso não exista diferença significativa na extensão pela qual o fármaco torna-se disponível no local de ação.

De acordo com a EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1998), dois produtos farmacêuticos são bioequivalentes se forem alternativas ou equivalentes farmacêuticos cujas biodisponibilidades, após administração da mesma dose molar, forem de tal forma semelhantes que garantam os mesmos efeitos em relação à eficácia e segurança.

No Brasil, a Anvisa (Brasil, 1999b) define medicamentos bioequivalentes como alternativas ou equivalentes farmacêuticos que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentem diferenças significantes em relação à biodisponibilidade.

A Organização Mundial da Saúde (World Health Organization, 1996) determina que dois produtos farmacêuticos são bioequivalentes quando forem equivalentes farmacêuticos e apresentarem biodisponibilidades de tal forma semelhantes que, após administração da mesma dose molar, seus efeitos possam ser considerados idênticos.

Enquanto que FDA e Anvisa citam apenas a semelhança entre biodisponibilidades; na definição de bioequivalência, EMEA e WHO incluem, também, o conceito de equivalência terapêutica.

Ao contrário dos outros órgãos, a FDA admite que produtos com diferentes velocidades de absorção do fármaco possam ser considerados bioequivalentes, embora Greenblatt et al. (1987) alerte para a importância deste parâmetro na avaliação de bioequivalência de produtos contendo fármacos de determinadas classes, tais como psicotrópicos.

Para a WHO, apenas equivalentes farmacêuticos podem ser considerados bioequivalentes, enquanto que, para os outros órgãos, também alternativas farmacêuticas podem apresentar bioequivalência.

1.3 Fatores que influem na biodisponibilidade de medicamentos

Spilker (1996) apresenta diversos fatores que podem influenciar na biodisponibilidade de medicamentos, evidenciando características intrínsecas do fármaco, assim como de sua liberação a partir da forma farmacêutica, as quais podem exercer grande influência sobre a quantidade e a velocidade de sua absorção.

1.3.1 Fatores relacionados ao fármaco

a) Solubilidade do fármaco

Para que haja absorção do fármaco, é necessário que suas moléculas se encontrem em solução no local de absorção. A dissolução de formas farmacêuticas sólidas é um pré-requisito para a disposição do fármaco na circulação sistêmica após administração oral e depende, em grande parte, da solubilidade do fármaco no fluido biológico que circunda o local de administração.

Solutos polares e espécies ionizadas são mais solúveis em água. Embora a ionização diminua a transferência de fármacos através das membranas biológicas, por outro lado aumenta sua taxa de dissolução nos fluidos gastrintestinais. Enquanto uma grande parte do fármaco se encontra ionizada, a fração não ionizada é rapidamente absorvida, sendo reposta na mesma velocidade, de forma que, dificilmente, torna-se uma etapa limitante da absorção.

A solubilidade de ácidos e bases fracas é, geralmente, dependente do pH. Portanto, fármacos pouco solúveis absorvidos por difusão passiva exibem menor velocidade de absorção que os mais solúveis.

No caso de medicamentos administrados por via tópica (dérmica, vaginal e retal, por exemplo), a solubilidade do fármaco no veículo ou excipiente tem grande influência: em geral, obtém-se o máximo de absorção quando a concentração do fármaco no veículo é igual a sua solubilidade. Concentrações abaixo da saturação diminuem a absorção, enquanto que concentrações superiores podem servir de reservatórios para manter uma solução saturada.

b) Tamanho de partícula

A área superficial das partículas do fármaco é um fator que influencia sua dissolução e, portanto, sua absorção. O tamanho da partícula determina a área superficial, sendo que quanto menores as partículas, mais rapidamente elas se dissolvem. O tamanho das partículas não parece ter grande influência em fármacos muito solúveis, entretanto exerce efeito pronunciado no caso de fármacos com baixa solubilidade.

Há exemplos de fármacos pouco solúveis cujo tamanho de partícula pode influenciar significativamente a absorção gastrointestinal, como nos corticosteróides e seus ésteres relativamente insolúveis, sulfonamidas e griseofulvina. Por essa razão, muitas vezes esses fármacos são processados na forma micronizada ou microcristalina, que além de propiciar maior absorção, podem fornecer menor variabilidade individual, como comprovado para a sulfadiazina administrada sob as formas de suspensão e comprimidos. Há casos, entretanto, cuja redução do

tamanho de partícula pode levar à diminuição da absorção e, portanto, da biodisponibilidade do fármaco por via oral.

O efeito da acidez e dos fluidos gástricos afeta a decomposição do fármaco, podendo ser acelerado se o fármaco estiver totalmente dissolvido no estômago, como o que ocorre, por exemplo, com a penicilina G e a eritromicina. Nesses casos, a desintegração deve ser preferencialmente retardada e o tamanho de partícula controlado, para que quantidades adequadas da porção inalterada possam ser absorvidas e alcançar os níveis plasmáticos terapêuticos.

Segundo Prista et al. (1982), existe um tamanho ótimo de partícula que favorece a dissolução, que deve ser suficientemente pequeno para aumentar de forma significativa a superfície de contato com o solvente, mas que não comprometa a molhabilidade do fármaco com o aparecimento de cargas elétricas no decorrer das operações de subdivisão.

Também deve ser considerado que os processos de subdivisão de partículas e micronização podem modificar a estrutura cristalina do sólido. O estradiol, barbitúricos e trióxidos de alumínio são facilmente convertidos dessa maneira, alterando suas propriedades físico-químicas.

c) Forma cristalina

Estima-se que cerca de um terço dos compostos orgânicos apresentem duas ou mais formas cristalinas diferentes. Esse fenômeno, denominado de polimorfismo, é responsável por diferenças nas propriedades físico-químicas dos polimorfos, tais como: densidade, difração de raios X, ponto de fusão e solubilidade, dentre outras. Desta forma, os fármacos no estado sólido podem

apresentar diferentes formas cristalinas com características distintas de dissolução, ocasionando alterações na biodisponibilidade. O palmitato de cloranfenicol, por exemplo, é metaestável originalmente, podendo se transformar na forma estável, com perda de atividade.

Além disso, o polimorfismo pode acarretar inúmeros problemas de formulação como crescimento de cristais e a perda de estabilidade física em suspensões, modificações do estado cristalino por processos tecnológicos e problemas de estabilidade química. Um fármaco pode não possuir forma cristalina, mas se apresentar sob forma amorfa, geralmente de maior solubilidade, o que pode levar a diferentes respostas biológicas quando administrado no estado sólido.

Outro aspecto importante com relação à forma cristalina é que esta pode apresentar diferentes estados de solvatação. Geralmente, quanto mais hidratado o cristal, menor sua solubilidade e dissolução, constituindo mais um fator que pode ser significativo na absorção de um fármaco.

d) Estabilidade no trato gastrointestinal

O fármaco não está sujeito apenas às variações de pH no trato gastrointestinal, como também não podem ser esquecidos os efeitos da ação enzimática. Nesse sentido, é necessário estudar a influência do pH e das enzimas, os mecanismos de decomposição dos fármacos e, conseqüentemente, os procedimentos de proteção que podem ser aplicados. Arancibia (1991) cita, como exemplo, a produção de ésteres como mecanismo de proteção para a eritromicina, cuja estabilidade em pH ácido pode ser significativamente aumentada com o

emprego do propionato de eritromicina laurilsulfato que após contato de quarenta minutos em meio gástrico apresenta 97,3% de atividade contra 3,5% correspondente à eritromicina base e 2,0% do estearato, estes últimos, após contato de cinco minutos.

1.3.2 Fatores relacionados à forma farmacêutica

a) Velocidade de absorção

As formas farmacêuticas têm grande influência na velocidade de absorção dos fármacos, sendo que, na administração por via oral, as formas líquidas (soluções) são aquelas que apresentam mais rápida e completa absorção. Entretanto, quando se administra uma forma sólida, os processos de desagregação, desintegração e dissolução, tendem a retardar essa absorção. De modo geral, a velocidade de liberação do fármaco, a partir de formas farmacêuticas sólidas, aumenta na seguinte ordem: comprimidos revestidos ou drágeas, comprimidos, cápsulas, pós e suspensões. As suspensões geralmente possuem melhor disponibilidade que os pós, pois o sólido apresenta-se finamente dividido e uniformemente distribuído na fase líquida, expondo maior área superficial. Por outro lado, os comprimidos são as formas que costumam apresentar mais problemas relacionados à dissolução, uma vez que há maior complexidade na adição dos adjuvantes e nos processos envolvidos para a sua fabricação.

A dificuldade em se conseguir voluntários e a inexistência de modelos animais adequados inviabilizam o estudo de biodisponibilidade como rotina no controle de qualidade de medicamentos. Por esse motivo, procuram-se métodos *in*

vitro que sejam equivalentes ou que possam prever o comportamento dos fármacos no organismo. Um desses métodos é o teste de dissolução que pode ser conduzido com a construção da curva de fármaco dissolvido em função do tempo ou quantificando sua fração dissolvida em um tempo fixo. Com o teste de dissolução pode-se, ainda, simular as variações de pH do trato gastrointestinal, com uso de tampões e metodologia adequada, obtendo um perfil de dissolução mais próximo daquele que ocorre *in vivo*. Na elaboração de um novo produto, o estudo inicial para estimar a biodisponibilidade deve ser realizado *in vivo*, sendo que, paralelamente, deve ser desenvolvido ensaio *in vitro*, cujos resultados possam ser correlacionados com aqueles obtidos no estudo de biodisponibilidade. Qualquer modificação na formulação, ou mesmo na matéria-prima, requer nova avaliação *in vivo*.

b) Dissolução dos fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas e suspensões

Quando um fármaco é administrado por via oral na forma de comprimido, cápsula ou suspensão, a velocidade de absorção é freqüentemente controlada pelo tempo de dissolução do fármaco nos fluidos biológicos do sítio de absorção, ou seja, a velocidade de dissolução é freqüentemente limitante para o processo de absorção. Neste caso, diz-se que a absorção é limitada pela dissolução. Se o processo de dissolução é rápido ou se o fármaco é administrado na forma de solução, a absorção depende apenas da sua capacidade em transpor membranas.

O ensaio de dissolução nas formas farmacêuticas sólidas substituiu, nos compêndios oficiais, o de desintegração, justificado pela dificuldade em se

relacionar o tempo de desagregação com a quantidade de fármaco dissolvida. Sanchez-Morcillo et al. (1975) estudaram a correlação entre estes dois testes, o que foi conseguido, dentro de níveis aceitáveis de confiança, com apenas cinco das oito amostras de comprimidos de dexametasona por eles estudadas.

Em termos quantitativos, Noyes & Whitney, conforme citado em Ansel et al. (1995), observaram que há uma equação geral que descreve o processo de dissolução:

$$dC/dt = k.S. (C_s - C)$$

Onde: dC/dt é a velocidade de dissolução em função do tempo, k é uma constante, S é a área superficial do sólido a dissolver, C_s é a solubilidade do fármaco no solvente e C é a concentração do fármaco no solvente no tempo t . A constante k é igual a D/h , onde D é o coeficiente de difusão do fármaco e h a espessura da camada de difusão. A camada de difusão é um fino filme estacionário de solução adjacente à superfície do sólido. Essa camada é saturada de fármaco, onde a concentração do mesmo é igual a C_s . O termo $(C_s - C)$ da equação de Noyes-Whitney representa o gradiente de concentração entre a camada de difusão e o solvente de dissolução (ou fluido biológico). Quando a absorção é limitada pela velocidade de dissolução, C é desprezível comparado a C_s e, portanto, a equação anterior pode ser escrita como:

$$dC/dt = D.S.C_s/h$$

Quando o sólido é introduzido no meio de dissolução, o fármaco rapidamente satura a camada de difusão, as moléculas do fármaco difundem-se da camada de difusão para o líquido de dissolução (etapa lenta do processo) e

são rapidamente substituídas, na camada de difusão, por novas moléculas provenientes da superfície do sólido.

A solubilidade (C_s) de muitos fármacos aumenta com o aumento da temperatura, portanto, a dissolução é um processo dependente da temperatura. O coeficiente de difusão é inversamente proporcional à viscosidade, ou seja, à medida que aumenta a viscosidade do meio, a velocidade de dissolução diminui. A agitação do meio pode afetar a espessura da camada de difusão, conseqüentemente, quanto maior a agitação, menor a espessura dessa camada e mais rápida será a dissolução. Alterações nas características do solvente, como pH, que afetam a solubilidade do fármaco, alteram a velocidade de dissolução. O mesmo pode ser dito para o uso de diferentes sais do fármaco, ou de outras formas químicas ou físicas do fármaco, com diferentes solubilidades. Aumentando a área superficial (S) do fármaco exposto ao meio da dissolução, pela redução do tamanho das partículas ou aumentando a molhabilidade do sólido pelo solvente, geralmente aumenta a dissolução. Além da diminuição do tamanho de partículas, outros processos têm sido utilizados visando a aumentar a velocidade de dissolução, como o uso de misturas eutéticas e soluções sólidas, a formação de coprecipitados e, mais recentemente, a inclusão do fármaco em ciclodextrinas.

c) Influência do pH na velocidade de dissolução

O pH pode influir sensivelmente na solubilidade e no grau de ionização de fármacos constituídos por ácidos ou bases fracos. A velocidade de dissolução de ácidos fracos aumenta com o aumento do pH, enquanto o oposto ocorre com as bases fracas, portanto, estas últimas têm velocidades máximas de dissolução no

suco gástrico, enquanto que os ácidos fracos, mínima velocidade de dissolução, que aumenta gradativamente, à medida que partículas desse ácido são transportadas através do trato gastrointestinal para regiões com maior pH. Esse fato é importante, pois é desejável que as bases fracas tenham rápida velocidade de dissolução em pH ácido, uma vez que a residência no estômago é curta e essa velocidade pode diminuir sensivelmente no intestino delgado, não permitindo que se tenha total absorção do fármaco.

d) Influência dos adjuvantes farmacotécnicos e das técnicas de produção

Os adjuvantes, também denominados excipientes, são substâncias adicionadas às formulações com finalidades diversas, tais como: diluentes, desagregantes, aglutinantes, lubrificantes, emulsificantes, agentes suspensores, flavorizantes, veículos, corretivos de pH e outros. Os adjuvantes não apresentam atividade terapêutica e, a princípio, não devem modificar as propriedades farmacológicas do fármaco. Embora sempre tenham sido considerados inertes, sabe-se hoje que podem influir de forma significativa no desempenho terapêutico dos fármacos.

Geralmente, os diluentes são substâncias digeríveis e que não deveriam retardar a liberação dos fármacos. Mas alguns diluentes insolúveis empregados não se enquadram nessa descrição. Há relatos indicando que hidróxido de alumínio, trissilicato de magnésio e óxido de magnésio diminuem a biodisponibilidade das tetraciclina e inibem a velocidade de liberação e absorção da prednisona e hidroclorotiazida. Os adjuvantes podem interagir com o fármaco formando complexos, cuja absorção através das membranas seja reduzida, como

por exemplo os cátions Ca^{2+} , Fe^{2+} e Zn^{2+} , que originam complexos com a tetraciclina de difícil absorção. Da mesma forma, sulfato de cálcio e fosfato dicálcico, usados como diluentes em comprimidos e cápsulas, quando associados às tetraciclinas, reduzem sensivelmente sua absorção, provavelmente pela formação do complexo tetraciclina-cálcio. Existem situações, entretanto, cuja complexação do fármaco pode facilitar a absorção, mediante a neutralização de cargas, como ferro-etileno diamino tetracetato, que tem maior lipossolubilidade que o ferro, e, portanto, maior absorção.

Os lubrificantes como estearato de magnésio, talco, estearato de alumínio e ácido esteárico, são agentes hidrofóbicos e, conseqüentemente, diminuem a velocidade de dissolução porque dificultam a umectação. Os lubrificantes graxos de baixa viscosidade exercem efeito retardador de dissolução mais acentuado. Isso ocorre porque, durante a compressão, há elevação da temperatura ultrapassando seu ponto de fusão, formando uma película contínua. Ao contrário, a deposição de lubrificantes graxos de alta viscosidade forma uma película porosa, o que permite a infiltração de líquido para dissolução. Por outro lado, os lubrificantes solúveis, como laurilsulfato de sódio e oleato de sódio, parecem não afetar a dissolução.

Os aglutinantes são empregados para fornecer resistência mecânica aos comprimidos e diminuir o volume dos pós. Sua adição leva ao aumento do tempo de desagregação e, conseqüentemente, maior tempo para a dissolução. A utilização de amido e goma arábica conduz a produtos com velocidades de dissolução maiores que aqueles obtidos com etilcelulose, tanto por via úmida como por via seca. A gelatina exerce efeito retardador mais acentuado, enquanto

que polivinilpirrolidona parece não influir na liberação do fármaco. Em contrapartida, dos agentes desagregantes, espera-se que aumentem a velocidade de liberação do fármaco, como de fato ocorre com amido e resinas catiônicas. Entretanto, derivados da celulose, mesmo a celulose microcristalina, melhoram a desintegração, mas podem retardar a dissolução, pois tendem a aumentar a viscosidade, diminuindo a difusão das moléculas do fármaco.

A presença de tensoativos (os polissorbatos e laurilsulfato de sódio, por exemplo) na formulação, tanto pode aumentar como diminuir a absorção do fármaco, o que é explicado por três mecanismos: aumento da dissolução do fármaco, aumento da permeabilidade das membranas biológicas e redução da porção livre do fármaco disponível para absorção pela sua incorporação em micelas. Além disso, os tensoativos podem modificar o coeficiente de difusão do fármaco alterando a tensão superficial da superfície da membrana.

As técnicas de produção dos medicamentos também têm grande participação na disponibilidade dos fármacos. Por exemplo, na elaboração de comprimidos, pode haver sensíveis diferenças relacionadas à sua preparação, aos processos de incorporação dos adjuvantes, à força de compressão empregada e, ainda, às condições e tempo de armazenamento.

A resistência mecânica dos comprimidos está diretamente relacionada à velocidade de liberação do fármaco e é determinada pelo processo de obtenção empregado, que pode ser por compressão direta, granulação úmida ou granulação seca. A velocidade de dissolução depende principalmente do aglutinante, na granulação úmida, e da força de compressão, na compressão direta. Diferenças na porosidade do granulado também influem na liberação do fármaco e dependem

do tipo de granulador empregado. Adicionalmente, o tamanho de partícula do fármaco pode sofrer modificações, por aglomeração ou ruptura durante os processos de granulação ou compressão.

A força de compressão determina a porosidade do comprimido, que por sua vez, é responsável pela penetração de líquido para desagregação e dissolução. Força de compressão baixa leva à ruptura de cristais, seguida de aglomeração, o que diminui a velocidade de dissolução. Entretanto, com o aumento da força de compressão, a ruptura desses cristais gera maior superfície e, portanto, maior a dissolução. Com forças de compressão muito elevadas, há fusão, novamente, dessas partículas e, conseqüentemente, queda na velocidade de dissolução.

No caso de cápsulas gelatinosas, a dissolução do fármaco depende, inicialmente, da dissolução da própria cápsula, da penetração de líquido na mistura de pós e da desagregação desses pós. A liberação do fármaco, assim como nos comprimidos, está sujeita ao efeito dos excipientes.

O tempo e as condições de armazenamento tendem a modificar as características das formas sólidas, aumentando a umidade, o que acarreta aumento da dureza e da velocidade de dissolução. Quanto maior a umidade inicial, maior o endurecimento com o envelhecimento da preparação. O uso da goma arábica como aglutinante diminui a velocidade de dissolução com o tempo, o que parece não ocorrer quando se emprega polivinilpirrolidona. Gordon et al. (1993) demonstraram que o tempo, a temperatura e a umidade podem influenciar a ação de substâncias como crospovidona, croscarmellose sódica e amido glicolato de sódio, empregados como “super-desintegrantes” para melhorar as características de desintegração e dissolução de fármacos em comprimidos por

granulação a seco. Nesse sentido, a embalagem e o acondicionamento adequados são fatores importantíssimos na manutenção da estabilidade e das características de dissolução das formas farmacêuticas.

1.3.3 Fatores relacionados à absorção dos medicamentos

Para um medicamento de administração extravascular, a absorção é definida como a quantidade de fármaco inalterado que atinge a circulação sangüínea. Portanto, a porção metabolizada ou quimicamente transformada no sítio de aplicação ou em trânsito, não pode ser considerada como absorvida.

Já na absorção gastrointestinal, deve-se considerar o efeito da presença de enzimas do próprio trato gastrointestinal e da flora intestinal, que podem modificar ou inativar os fármacos. A absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas administradas pelas vias oral, dérmica, vaginal, retal e parenteral, em geral, ocorre por difusão passiva através das membranas biológicas que formam barreiras lipídicas.

a) Velocidade de esvaziamento gástrico

Fármacos de caráter básico, que são preferencialmente absorvidos no intestino delgado, são absorvidos de forma retardada, se houver esvaziamento gástrico lento. A velocidade de esvaziamento gástrico pode variar em função de vários aspectos, dentre eles: nas mulheres e idosos é menor; enquanto que na posição supina, o tempo de residência no estômago é menor.

b) Influência da dieta

Os alimentos sólidos tendem a reduzir a velocidade de esvaziamento gástrico, afetando a absorção de medicamentos que se processa no intestino. A presença de alimentos no trato gastrointestinal pode diminuir significativamente a quantidade de líquido para dissolução do fármaco, exercendo efeito negativo na absorção do mesmo. Além disso, pode haver interação entre fármacos e alimentos, com a produção de compostos insolúveis ou complexos macromoleculares de difícil absorção. Os alimentos podem, ainda, influir aumentando as secreções do trato gastrointestinal, como a bilis, por exemplo, que devido a sua natureza tensoativa e solubilizante, pode acelerar a dissolução e absorção de compostos pouco solúveis.

c) Efeito de primeira passagem

Outro aspecto importante a ser considerado na absorção está relacionado com o efeito de primeira passagem, que ocorre com a metabolização dos fármacos em nível de parede intestinal e do sistema hepatoportal, resultando na diminuição da fração intacta do composto que atinge a circulação. A influência desse efeito pode ocasionar a diminuição ou até anulação da ação terapêutica.

1.4 Omeprazol

A inibição da secreção gástrica do ácido clorídrico tornou-se um importante fator na terapêutica das úlceras pépticas. Os antagonistas dos receptores histaminérgicos H_2 constituíram uma classe de inibidores da secreção ácida mais específica do que os antiácidos até 1973, quando se evidenciou o papel da bomba

de próton, a enzima $H^+ K^+ ATPase$, na secreção ácida da célula parietal. (Wallmark et al., 1986)

A bomba de próton está primariamente presente nas células parietais da mucosa gástrica, mas evidências sugerem sua existência, também, no cólon e jejuno. (Maton, 1991; Haraguchi et al., 1992)

Vários inibidores específicos para a enzima $H^+K^+ATPase$ têm sido desenvolvidos, dentre eles o omeprazol, objeto de estudo deste ensaio clínico.

O omeprazol corresponde à formulação química: 5-metoxi-2- { [(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil) -metil] sulfinil } -1H-benzimidazol, com fórmula molecular $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ e peso molecular de 345,42. (Regardh et al., 1985)

Trata-se de um fármaco que é quimicamente estável e destituído de atividade inibitória em pH neutro, mas rapidamente inativado em meio ácido. (Dollery, 1991)

O omeprazol é um derivado benzimidazol, que se liga irreversivelmente à $H^+K^+ATPase$, um sistema enzimático encontrado na superfície secretora canalicular das células parietais, resultando no bloqueio do transporte de hidrogênios para a luz gástrica. Sabe-se que o omeprazol concentra-se nos canalículos secretórios, onde é convertido para sua forma ativa, a qual se liga covalentemente à $H^+K^+ATPase$, causando a inibição da secreção ácida, diferindo portanto do mecanismo de ação dos antagonistas histamínicos dos receptores H_2 e agentes colinérgicos. A reatividade da secreção ácida após a administração do omeprazol requer nova síntese da enzima $H^+ K^+ ATPase$ na membrana luminal. (Bell et al., 1992)

Seus efeitos farmacológicos resultam da inibição dose-dependente da secreção ácida basal e aquela provocada por qualquer tipo de estímulo, que persiste mesmo após o desaparecimento da droga no plasma. Na dose de 30mg por dia, a secreção ácida pode estar reduzida em torno de 95%. A secreção ácida atinge valores semelhantes aos de pré-tratamento quatro a cinco dias após a interrupção da utilização da droga, presumivelmente o tempo necessário para a síntese da enzima $H^+K^+ATPase$. (Wallmark, 1989)

O omeprazol interage com o citocromo P-450 e pode alterar o metabolismo oxidativo de algumas drogas, tais como: diazepam, R-warfarim e fenitoína, conforme Aronson et al. (1992) e Unge et al. (1992). Um aumento significativo da concentração e o prolongamento da eliminação do diazepam foram descritos em um grupo de voluntários sadios tratados com omeprazol 40mg diários durante sete dias, segundo Gugler et. al. (1984). A administração de 60mg diários por duas semanas causou um aumento da meia-vida da aminopirina e da antipirina, enquanto que a metade desta dose não apresentou efeitos significantes. (Katz et al., 1992)

1.4.1 Farmacocinética

Dose única: estudos mostraram que a média porcentual do tempo em que um pH igual ou superior a três é mantido por mais de 24 horas, varia de 50,7% para cápsulas a 57,4% para comprimidos, após a administração de uma dose única oral de 20mg de omeprazol, não havendo diferença estatística entre comprimidos e cápsulas na diminuição da acidez gástrica. (Thomson et al., 1997a)

Doses múltiplas: doses repetidas de omeprazol causam o acúmulo do efeito inibitório da acidez gástrica nos primeiros dias, estabilizando-se após três a cinco dias. (Muller et al., 1982; Olbe et al., 1986)

Níveis de concentração do omeprazol: após a administração de uma dose única de 20 mg de duas formulações (comprimido e cápsula) de omeprazol e tendo sido calculados o pico de concentração plasmática, o tempo para atingir este pico e a área sob a curva concentração plasmática de omeprazol *versus* tempo, não se registrou diferença significativa entre ambas as formulações em relação à supressão da acidez gástrica por 24 horas. (Thomson et al., 1997)

Absorção: o omeprazol é rapidamente absorvido após administração oral, entretanto, por causa da extensiva metabolização na primeira passagem pelo fígado, a biodisponibilidade da droga, após a administração de doses de 20 a 40 mg por dia, é de aproximadamente 30% a 40%, de acordo com Andersson (1996).

O omeprazol é degradado ao ser exposto à secreção ácida, diminuindo a sua absorção. Este achado levou ao desenvolvimento da formulação de grânulos de liberação entérica, os quais liberam omeprazol somente quando o pH está acima de seis. Nesta formulação, a biodisponibilidade é de cerca de 50%, conforme Prichard et al. (1985).

A alimentação pode afetar a velocidade de absorção do omeprazol, porém, sem alterar a extensão desta absorção. O tempo para atingir a concentração plasmática máxima foi maior quando o omeprazol foi administrado após o café da manhã, comparativamente à sua administração em jejum, porém não houve

diferença significativa quanto à supressão da acidez gástrica. (Thomson et al., 1997)

O pico de concentração plasmática do omeprazol é alcançado entre 30 e 40 minutos após a administração oral de uma dose única de 40mg de acordo com Lind et al. (1983). As concentrações plasmáticas descritas após a administração de dose única oral de 30, 60, e 90mg de omeprazol, a indivíduos sadios, atingiram, respectivamente, 1,8 $\mu\text{mol/L}$; 4,8 $\mu\text{mol/L}$ e 6,1 $\mu\text{mol/L}$, conforme Londlong et al. (1983). A área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo (AUC) para o omeprazol na dose oral de 20mg a 80mg mostrou uma correlação significativa com a percentagem de inibição da secreção ácida. (Cederberg et al., 1993)

A biodisponibilidade do omeprazol aumenta aproximadamente 100% em pacientes com insuficiência hepática crônica e também está aumentada em idosos. Neste último caso, a velocidade de eliminação do omeprazol encontra-se diminuída. (Andersson, 1996)

Em pacientes com insuficiência renal crônica, que tenham "clearance" de creatinina entre 10 e 62 mL/min/1,73m², a biodisponibilidade do omeprazol não foi significativamente diferente da encontrada em pacientes com função renal normal. (Naesdal et al., 1986; Prod Info Prilosec®, 2000)

Distribuição: cerca de 95% da droga liga-se a proteínas plasmáticas, segundo Andersson (1996). A distribuição do omeprazol após a administração oral é semelhante à sua distribuição após administração intravenosa. (Regardh et al, 1985)

Estudos em animais mostraram que o omeprazol distribui-se em vários tecidos do organismo, após administração oral ou endovenosa, sendo que estudos realizados em ratos indicaram que trinta minutos após a administração de omeprazol, atingiu-se concentração máxima no fígado, rins e duodeno e concentrações altas no estômago e glândula tireóide, segundo Regardh et al.(1985). Trabalhos realizados com camundongos e carneiros evidenciaram que o omeprazol atravessa a barreira placentária. (Dollery, 1991)

No homem, o omeprazol atinge concentrações nos tecidos fetais similares à concentração atingida no plasma. (Mears & Kaplan, 1996)

Metabolismo: o omeprazol é extensivamente metabolizado pelo fígado, sendo que a principal enzima envolvida no seu metabolismo é a CYP2C19, uma isoforma do citocromo P-450. Pacientes que apresentam deficiência neste sistema enzimático irão metabolizar o omeprazol lentamente, podendo produzir concentrações plasmáticas iguais ou superiores a cinco vezes a concentração plasmática em pacientes que tenham a enzima presente. (Andersson, 1996)

Eliminação: após a metabolização do omeprazol, aproximadamente 80% dos seus metabólitos são eliminados pela urina, e os 20% restantes eliminados pelas fezes. A eliminação destes metabólitos é afetada pela insuficiência renal, sendo, neste caso, compensada pelo aumento da secreção biliar. (Prod Info Prilosec®, 2000)

O "clearance" plasmático da droga varia de 500 a 600 mL/min, segundo Dollery (1991). Este "clearance" encontra-se diminuído nos idosos, em relação a

adultos jovens saudáveis, devido à diminuição do metabolismo, secundária à diminuição do fluxo sanguíneo hepático. (Andersson, 1996)

Devido ao baixo peso molecular do omeprazol, é possível que ele seja excretado no leite materno, de acordo com Briggs et al.(1998). Segundo Marshall et al.(1998), há necessidade de mais estudos sobre esta eliminação, para que o omeprazol possa ser utilizado com segurança durante a amamentação.

Meia-vida: a meia-vida do omeprazol é de 30 a 60 minutos, segundo Lind et al. (1983); Regardh et al. (1985) ; Clissold & Campoli – Richards (1986) e de 30 a 90 minutos, de acordo com Dollery (1991). Em pacientes com insuficiência hepática crônica, a meia-vida aumenta cerca de três vezes (Prod Info Prilosec®, 2000)

1.4.2 Indicações clínicas

O omeprazol pode ser utilizado como um potente agente inibidor da secreção ácida gástrica nas condições onde a inibição desta secreção pode ser benéfica, incluindo síndromes aspirativas, dispepsia, refluxo gastro-esofágico, úlceras pépticas e Síndrome de Zollinger-Ellison. (Maton, 1991)

Na Síndrome de Zollinger-Ellison, as ulcerações esofágicas e pépticas associadas a tumores produtores de gastrina são freqüentemente de difícil tratamento. A administração oral de omeprazol promove a cicatrização destas ulcerações e os estudos têm demonstrado uma redução na recorrência em pacientes com esta condição. O principal objetivo da terapia com omeprazol é reduzir a secreção basal ácida abaixo de 10 mEq por hora. Nesta síndrome,

recomendam-se doses orais que variam de 60mg a 120mg, uma vez ao dia. (Haraguchi et al., 1992)

O omeprazol é também indicado para a terapia de curta duração das úlceras duodenais ativas. Neste caso, a dose recomendada é de 20mg por dia por quatro semanas. (Prod Info Prilosec®, 2000)

Para pacientes com *Helicobacter pylori* e úlcera duodenal ativa, recomenda-se a combinação de omeprazol e claritromicina. Estudos clínicos mostraram que a erradicação do *Helicobacter pylori* previne a recidiva e o sangramento de úlceras gástricas e duodenais. (Graham et al., 1993; Rokkas et al., 1993; Bell & Powell, 1993; Labenz & Borsch, 1993; Bianchi Porro et al., 1996, Rosengren & Polson, 1996)

Em uma meta-análise de vários regimes de tratamento para *Helicobacter pylori*, a combinação de omeprazol com claritromicina e metronidazol foi considerada um ótimo esquema terapêutico, em termos de eficácia e custo-benefício, com uma erradicação maior de 90%. (Treiber, 1996; Axon & Moayyedi, 1996; Unge, 1996)

Outra indicação do omeprazol é nas terapias de curta duração, ou de manutenção, no tratamento da esofagite erosiva, diagnosticada por endoscopia. (Prod Info Prilosec®, 2000)

No tratamento de curta duração das úlceras gástricas ativas, a dose recomendada de omeprazol é de 40mg por dia por 4 a 8 semanas. Após oito semanas de terapia, há relatos de 85% de cura (Anon, 1996; Anon, 1996a)

O uso de omeprazol na dosagem de 20 mg, uma vez ao dia, foi efetivo na profilaxia de úlcera péptica e sintomas dispépticos em pacientes com artrite que faziam uso de antiinflamatórios não esteroidais. Em comparação com placebo, o omeprazol foi mais eficaz na redução da incidência de úlceras, reduzindo a incidência de dispepsia. (Ekstrom et al, 1996)

1.4.3 Reações Adversas

As reações adversas relatadas mais freqüentemente, com o uso de omeprazol, foram distúrbios gastrintestinais, em particular diarreia. (Prod Info Prilosec®, 2000)

Há relatos de efeitos sob o sistema nervoso central, tais como: estados de confusão, agitação, depressão e alucinações em pacientes bastante comprometidos. (Varona et al., 1996)

Outros eventos adversos relatados, mais raramente, com o uso de omeprazol foram: artralgia; mialgia; parestesia; agressão; alterações visuais; distúrbios gustativos; edema periférico; hiponatremia; alterações sangüíneas, incluindo agranulocitose, leucopenia e trombocitopenia; nefrite intersticial e hepatotoxicidade. (Jones, 1994; Meier et al., 1997; Lessel, 1998)

1.4.4 Toxicidade

Estudos toxicológicos identificaram tumores na mucosa gástrica em ratos que receberam doses extremamente altas de omeprazol por longos períodos. (Ekman, 1985)

Há relatos de superdosagem com omeprazol em seres humanos, e os principais sintomas observados foram tonturas, cefaléia e taquicardia. (Ferner et al., 1993)

1.5 Cromatografia líquida de alta eficiência

Antes dos anos 1970s, poucos métodos de cromatografia confiáveis estavam comercialmente disponíveis aos cientistas. Durante os anos 70s, a maior parte das separações químicas eram realizadas utilizando-se uma variedade de técnicas, incluindo cromatografia em coluna, cromatografia em papel e cromatografia em camada delgada. Porém, estas técnicas cromatográficas eram inadequadas para a quantificação de compostos e resolução entre compostos similares. Durante este período, a cromatografia líquida de pressão começou a ser utilizada, a fim de diminuir o tempo de retenção, reduzindo o tempo de purificação de compostos isolados pela cromatografia em coluna. (Schoeff et al., 1993)

Entretanto, as velocidades de fluxo eram inconsistentes, e a dúvida sobre se seria melhor ter um fluxo de velocidade constante ou pressão constante foi amplamente debatido. (Brown, 1990)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi desenvolvida em meados de 1970s e rapidamente melhorou com o desenvolvimento dos materiais de empacotamento de coluna e o surgimento de detectores *on-line*. No final dos anos 1970s, novos métodos incluindo cromatografia líquida de fase reversa permitiram uma melhora na separação de compostos apolares. (Schoeff et al., 1993)

Já nos anos 1980s, a CLAE foi amplamente utilizada na separação de uma gama diversa de compostos químicos. Os computadores e a automação foram adicionados à conveniência da CLAE. A reprodutibilidade das análises foi melhorada pelo desenvolvimento de novos tipos de coluna, por exemplo: microcolunas e outras colunas especializadas. As dimensões típicas de uma coluna de CLAE são: entre 10 e 15 milímetros de comprimento, com um diâmetro interno entre 3 e 5 mm. A cromatografia líquida de alta eficiência rápida utiliza uma coluna que é ainda menor que a coluna típica, com um comprimento de cerca de 3mm e são empacotadas com partículas menores. (Wellinder et al., 1995)

Atualmente, tem-se a opção de se escolher dentre inúmeros tipos de coluna para a separação de compostos, assim como uma grande variedade de detectores de interface com a cromatografia líquida de alta eficiência, a fim de se obter uma análise ótima do composto. (Wellinder et al., 1995)

Embora a CLAE seja considerada uma técnica principalmente para pesquisa biotecnológica, biomédica e bioquímica, assim como para a indústria farmacêutica, estes campos perfazem apenas 50% dos que a utilizam. O restante encontra-se incluído nas áreas de cosméticos, energia, alimentação e meio-ambiente. (Brown, 1990)

A técnica de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas vem sendo utilizada na detecção de substâncias. No entanto, devido à cromatografia operar com uma fase líquida e a espectrometria de massas empregar uma fase gasosa, numerosos problemas surgiram no início desta associação e, no final da década de 70 do século XX, os problemas associados

com o acoplamento dessas duas técnicas ainda eram considerados relevantes. (Guiochon et al., 1983; Arpino, 1985)

Durante o desenvolvimento deste acoplamento entre a CLAE e o espectrômetro de massas, pesquisas centraram seus esforços na busca de novas técnicas de ionização que possibilitassem uma adequada transferência do eluente da forma líquida para a gasosa. A descoberta original, que sugeriu a utilização de um electrospray, foi inicialmente proposta por Smith e posteriormente aperfeiçoada por Hayes e colaboradores. (Smith et al, 1981; Hayes et al., 1983)

Dentre as técnicas de ionização, destacam-se duas principais: Atmospheric Pressure Chemical Ionization (Ionização Química à Pressão Atmosférica) e Electrospray. (Kato et al., 1988; Sakairi et al., 1989; Bruins, 1991; Ikonomou et al., 1994)

Devido ao fato de ter-se utilizado esta última para o desenvolvimento deste trabalho, a técnica de electrospray será descrita a seguir.

A técnica de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas com ionização por electrospray tem se apresentando como uma técnica analítica que combina a eficiência das colunas cromatográficas na separação de substâncias com um método de ionização suave próprio para a identificação de substâncias termolábeis. (Smith et al., 1990)

A ionização por electrospray consiste na pulverização da amostra em pequenas gotas. Estas gotas caminham contra um fluxo de nitrogênio que as faz diminuir de tamanho por evaporação do solvente. Neste ambiente, existe uma grande diferença de potencial elétrico, que faz com que moléculas carregadas sejam retiradas das gotas. No final deste trajeto, as espécies iônicas e agregados

eletricamente carregados (clusters) são puxados para dentro do primeiro quadrupolo (Q1), conforme a figura 1. (Bruins, 1998)

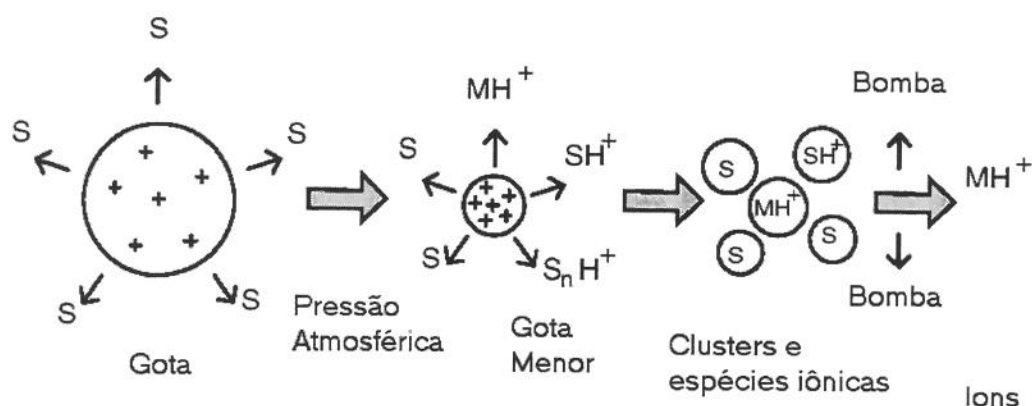


Figura 1: Ionização por electrospray

A análise através da espectrometria de massas por MS-MS (também denominada tandem) pode ser descrita pela seguinte seqüência de etapas: todos os íons formados pelo electrospray (fonte de íons) entram no primeiro quadrupolo (Q1), onde será separada, por potencial elétrico e rádio-freqüência, apenas a molécula com a massa atômica desejada $[MH]^+$. No segundo quadrupolo (Q2), o íon $[MH]^+$ colide com um gás inerte (argônio) e produz fragmentos também carregados. Estes fragmentos são denominados íons filhos e são característicos para cada substância. Os íons filhos são separados no terceiro quadrupolo (Q3), para serem analisados e quantificados no detector, conforme a figura 2. (Bruins, 1998)

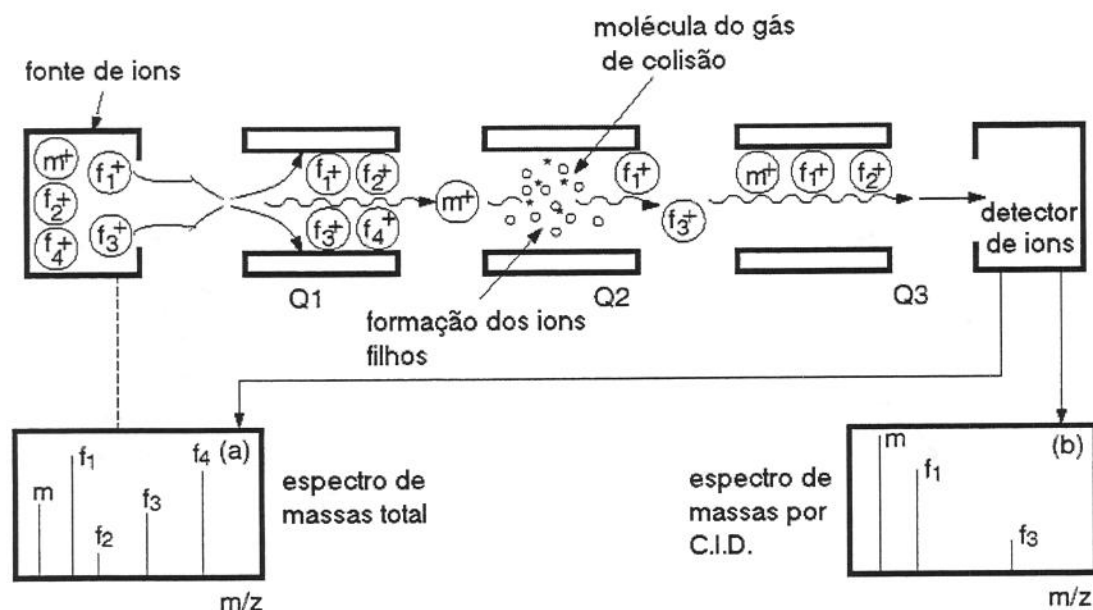


Figura 2: Espectrometria de massas por MS/MS

Desta forma, um padrão da substância a ser analisada é infundido no electrospray sem a operação do segundo e terceiro quadrupolo (modo scan). Isso gera espectrogramas de massas totais onde todas as moléculas do padrão são registradas. Ajustes são feitos para que o sinal da molécula em estudo seja máximo. Após estes ajustes para que o sinal do íon filho selecionado seja o máximo, o gás de colisão é ligado e os espectrogramas de massas, por *collision induced dissociation* (C.I.D.), são registrados. (Niessen et al., 1995)

A grande vantagem da cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas em relação às demais, como por exemplo ultravioleta, é sua alta seletividade. Caso a substância a ser analisada co-elua com uma outra, o primeiro quadrupolo irá separar somente a massa atômica desejada. Se mesmo assim, ambas apresentarem as mesmas massas atômicas, após a colisão no segundo

quadropolo, o terceiro quadropolo irá separar apenas o íon filho desejado.
(Hopfgartner et al., 1993)

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi comparar a biodisponibilidade de duas formulações de omeprazol: omeprazol cápsula (Omeprazol) produzida pela Medley S/A Indústria Farmacêutica e omeprazol cápsula (Peprazol®) elaborado pela Libbs Farmacêutica Ltda. e avaliar sua possível bioequivalência em voluntários sadios de ambos os sexos, com base na administração oral de dose única de 20mg.

3. METODOLOGIA

3.1 Planejamento do estudo

O presente trabalho consistiu em um estudo aberto, aleatório, cruzado, de um grupo de voluntários. Depois da seleção e observado um período de pelo menos duas semanas sem fazer uso de qualquer medicação, os voluntários que foram considerados qualificados para participar do estudo foram internados por dois períodos de aproximadamente 24 horas, com intervalo de uma semana entre as internações, para receberem os medicamentos teste e referência.

Na realização do presente estudo de bioequivalência, empregou-se a metodologia de estudo cruzado, o que permite administrar a todos os voluntários os dois produtos, mediante a implementação de duas fases distintas, com um intervalo de tempo que possibilite a completa eliminação do fármaco presente no organismo, a fim de evitar que parte do fármaco detectado corresponda a uma fração administrada na fase anterior, o que é de fundamental importância para o sucesso do estudo. (Pidgen, 1992)

Uma grande vantagem do estudo cruzado é que cada voluntário constitui-se no seu próprio controle, o que reduz os problemas advindos da variação individual. (Bolton, 1990)

3.2 Aspectos éticos

3.2.1 Comitê de ética em pesquisa

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento livre e esclarecido, foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, credenciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa - Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, Brasil. Para qualquer mudança no protocolo, seria necessária a aprovação do Comitê.

O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1965) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983) e África do Sul (1996), e as Resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde - Brasil.

3.2.2 Termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1)

Os voluntários receberam uma explanação da natureza e dos objetivos do estudo. Foi enfatizado que o estudo tinha a finalidade de pesquisa e que o voluntário não poderia esperar que houvesse qualquer efeito terapêutico. O voluntário também entendeu que era livre para se retirar a qualquer momento do estudo sem que isto causasse qualquer prejuízo no seu atendimento junto à Unidade Analítica Cartesius.

Foi solicitado a cada voluntário que, caso concordasse, assinasse o termo de consentimento livre e esclarecido para participar no estudo, antes da administração da medicação.

3.2.3 Confidencialidade

Os resultados do exame médico e testes laboratoriais foram registrados na folha individual do voluntário. Toda a informação obtida durante o estudo referente ao estado de saúde do voluntário estava disponível aos médicos do Hospital Universitário. Cópias dos exames laboratoriais, realizados antes e depois do estudo, foram fornecidas aos voluntários.

3.2.4 Ressarcimento

Os voluntários foram ressarcidos no valor de R\$300,00 (trezentos reais), relativos às despesas e pelo tempo utilizado durante o estudo.

Durante um período de seis meses, a partir da data de início do estudo clínico, os voluntários estiveram sob cobertura de um Seguro de Vida em Grupo da Companhia Vera Cruz para casos de morte, invalidez permanente e acidentes relacionados ou não ao ensaio clínico.

3.3 Instalações

Os voluntários foram confinados no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, que possui uma unidade para ensaios clínicos.

Esta unidade de ensaios clínicos dispõe de uma estrutura assistencial própria que consiste em treze leitos, um posto de enfermagem, uma copa, uma sala de expurgo, uma sala de limpeza e uma sala para guarda de materiais, destinados, exclusivamente, a ensaios clínicos e farmacoclinicos, além de toda infra-estrutura para internamento de voluntários, equipado com desfibrilador, monitor, oxímetro, respirador, material para pequena cirurgia e com medicação de

urgência para qualquer eventualidade. Além disso, conta com uma unidade de terapia intensiva.

Sua estrutura laboratorial possui equipamentos para processamento e armazenamento de amostras biológicas.

3.4 População do estudo

A população do estudo foi composta por voluntários sadios, que satisfizeram os critérios de inclusão (item 3.4.1), não se situando em nenhum dos critérios de exclusão (item 3.4.2).

3.4.1 Critérios de inclusão

a) Homem ou mulher que não estivesse grávida, com idade entre 18 e 45 anos;

b) O voluntário deveria ter seu peso dentro de uma variação de 15%, de acordo com sua altura e estrutura óssea;

c) O voluntário seria submetido a uma história clínica, exame físico, eletrocardiograma e exames laboratoriais complementares, tendo sido considerado saudável;

d) O voluntário concordaria livremente e assinaria o termo de consentimento livre e esclarecido, após todos os elementos essenciais do protocolo terem sido esclarecidos, antes da administração da medicação.

3.4.2 Critérios de exclusão

a) Resultados dos exames laboratoriais complementares fora dos valores considerados normais ($\pm 10\%$), a menos que tivessem sido considerados clinicamente irrelevantes;

b) O voluntário teria participado de qualquer estudo experimental ou teria ingerido qualquer droga experimental durante os três meses que precederam o início deste estudo;

c) O voluntário teria feito uso de medicação regular dentro das duas semanas que antecederam o início deste estudo, ou teria feito uso de qualquer medicação uma semana antes deste início;

d) O voluntário teria sido internado por qualquer motivo, até oito semanas antes do início deste estudo;

e) O voluntário tinha história de abuso no consumo de álcool ou drogas, ou havia ingerido bebidas alcoólicas nas 48 horas que antecederam o período de internação para iniciar o estudo;

f) O voluntário tinha história de doença hepática, renal, pulmonar, gastrointestinal, epilética, hematológica ou psiquiátrica; tinha hipotensão ou hipertensão de qualquer etiologia que necessitasse de tratamento farmacológico; tinha antecedentes ou teve infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;

g) O voluntário havia doado ou perdido 450 mL ou mais de sangue dentro dos três meses que antecederam o estudo;

h) O voluntário seria mulher, com teste positivo para gravidez;

i) O voluntário tinha qualquer condição que o impedisse de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

3.5 Esquema do estudo

Os voluntários foram aceitos no estudo somente quando considerados saudáveis, conforme determinado pela história médica, exame físico, exames laboratoriais e eletrocardiograma, que antecederam o início do estudo, tendo sido reavaliados, conforme esquema abaixo:

Período pré-estudo:	História Médica
	Exame Físico Geral
	Exames Laboratoriais
	Eletrocardiograma

Períodos:(1, 2)	Tempo (h)	Atividades	Outras atividades (PA = Pressão Arterial)
	0:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	0:10	Coleta de sangue	PA, pulso
	0:20	Coleta de sangue	
	0:30	Coleta de sangue	
	0:40	Coleta de sangue	PA, pulso
	0:50	Coleta de sangue	PA, pulso
	1:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	1:30	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	2:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	3:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	4:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	5:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura

	6:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	8:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	12:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
	24:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura

Período Pós-Estudo:	Exame Físico Geral, Frequência Cardíaca e Pressão Arterial
	Eletrocardiograma
	Exames Laboratoriais

Uma vez avaliada a higidez, os voluntários foram submetidos a uma entrevista livre para a avaliação de sua saúde mental, bem como de suas condições emocionais para participar da investigação. A seguir, os voluntários tiveram esclarecidas todas as dúvidas restantes, e quando concordavam, assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo 1) para participação no estudo, antes da administração da medicação.

Foram realizados os seguintes exames laboratoriais antes e após o estudo: análise hematológica: hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de leucócitos, contagem de plaquetas; análise bioquímica: uréia, creatinina, bilirrubina total, proteína total, albumina, glicemia em jejum, colesterol total, triglicérides, ácido úrico, transaminase glutâmico oxalacética, transaminase glutâmico pirúvica, gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina e urina: urina tipo I. As análises sorológicas para: hepatite B, hepatite C e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e o exame protoparasitológico foram realizados somente antes do estudo. Um teste de gravidez foi realizado no pré-estudo para os voluntários do sexo feminino.

Foram realizados dois períodos de internação. No primeiro, o voluntário recebeu uma das formulações de omeprazol, conforme descrito no item posologia (item 3.7) e, após uma semana de intervalo, administrou-se a outra formulação de omeprazol, de acordo com a lista de randomização no anexo 4.

Foi solicitado, aos voluntários, que se apresentassem para internação no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo aproximadamente às 21h00 do dia anterior de cada período e que permanecessem na unidade por 24 horas após a administração da medicação.

Eles permaneceram em jejum a partir das 23h00 do dia da internação até três horas após a ingestão da medicação, prevista para a manhã do dia seguinte, quando uma refeição foi servida. Posteriormente, foram oferecidos almoço, jantar e um lanche. Líquidos foram permitidos *ad libitum* após as refeições, mas bebidas contendo xantinas (incluindo chá, café e cola) tiveram que ser evitadas.

Os voluntários receberam assistência e cuidados especializados durante todo o período do estudo.

Não foi permitido fumar durante o período de internação. O consumo de álcool foi limitado durante o período de estudo e evitado completamente durante as 48 horas que antecederam cada dose.

Medicações concomitantes foram evitadas, porém qualquer medicação administrada foi registrada em folha apropriada.

As seguintes condições foram consideradas como critérios de retirada do estudo:

- a) Voluntário não desejava continuar no estudo por razões pessoais;
- b) Efeitos adversos da droga do estudo;

c) Voluntário não desejava continuar no estudo por razões outras que a ocorrência de eventos adversos da droga de estudo, por exemplo: indisponibilidade ou intolerância aos procedimentos do estudo;

d) Testes laboratoriais anormais julgados de relevância clínica;

e) Doença intercorrente requerendo medicação.

Foi solicitado aos voluntários que relatassem qualquer evento adverso, quando ocorreram e que notificassem ao investigador se foi necessário usar medicação adicional, sendo de responsabilidade do investigador clínico documentar todas as experiências adversas que ocorressem durante o estudo.

Uma experiência adversa incluía qualquer alteração prejudicial, patológica ou indesejada, nas funções anatômicas, físicas ou metabólicas, conforme indicada pelos sinais físicos, sintomas e/ou alterações laboratoriais, que ocorresse em qualquer fase do estudo clínico, associada ou não com o medicamento do estudo.

Todas as experiências adversas que ocorreram após o início do estudo foram relatadas. Todas as reações adversas subseqüentes, no período onde não era administrado nenhum medicamento (isto é, durante o período de "wash out"), foram registradas, indiferentemente se eram ou não consideradas relacionadas com o medicamento.

Qualquer evento adverso ocorrido durante o período de estudo era registrado em detalhes na página apropriada para relato de evento adverso (anexo 2). As perguntas realizadas para saber se o voluntário teve algum evento adverso foram limitadas a perguntas gerais, tais como: "Como vai você?"

O investigador clínico deveria empreender todos os esforços para explicar cada reação adversa e avaliar sua relação, se houvesse, com o medicamento do

estudo. A causalidade deveria se avaliada utilizando-se as seguintes categorias: não relacionada, desconhecida, possível ou sim, de acordo com o anexo 3.

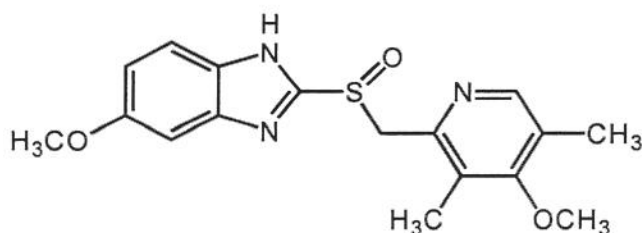
Qualquer voluntário com evento adverso seria seguido clinicamente e por estudos laboratoriais, quando indicados, até que os parâmetros voltassem ao normal.

A partir do terceiro dia após o final do estudo, os voluntários foram reavaliados clinicamente e por exames laboratoriais subsidiários.

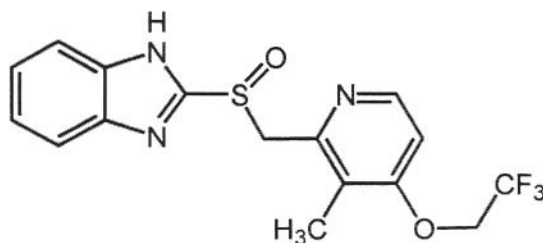
3.6 Materiais

3.6.1 Produtos

a) Composto referência: omeprazol – Medicorp, Índia. Lote: OMP / WS / 001 / 00



b) Padrão interno: lansoprazol – Cipla Ltda., Índia. Lote: WS/BL/L1/2



c) Formulação teste: omeprazol cápsula de 20mg (Omeprazol) – Medley S/A Indústria Farmacêutica. Lote OPZ 03/00-4, com validade até março de 2002.

d) Formulação referência: omeprazol cápsula de 20mg (Peprazol®) – Libbs Farmacêutica Ltda. Lote 0,0509, com validade até junho de 2002.

3.6.2 Equipamentos

Pipetas ajustáveis (100µL, 200µL, 1000µL) - Gilson Pipetman, França

Ponteiras de plástico descartáveis - Unilab, Brasil

Pipetas "Pasteur" - Costar, Estados Unidos da América

Misturador Vortex - Fisher Scientific Laboratory Equipment, Estados Unidos da América

Tubos de vidro descartáveis - Unilab, Brasil

Tubos "Eppendorf" - Unilab, Brasil

Balança Analítica Ohaus - Suíça

pH-metro - Hanna Instruments, Portugal

Cromatógrafo líquido de alta eficiência: modelo G1312-A com uma coluna analítica: Genesis C₈, 4µm (150mm x 4,6mm de diâmetro interno)

Espectrômetro de massas: Micromass Quattro II, com técnica de ionização por electrospray.

Banco de dados: Programa MassLynx (versão 3.2) operado em ambiente Windows NT (versão 4.0) num computador pessoal Digital Celebris GL 6200.

3.6.3 Reagentes

Acetonitrila – grau de cromatografia líquida de alta eficiência

Diclorometano – grau analítico

Ácido fórmico – grau analítico 88%

Éter-etílico – grau analítico

Metanol – grau de cromatografia líquida de alta eficiência

Água desmineralizada

Pools de plasma humano para o preparo das curvas de calibração e das concentrações utilizadas como controle de qualidade

3.6.4 Preparação das soluções padrão

a) Solução padrão do analito: omeprazol (M)

Foi pesada uma quantidade apropriada de omeprazol em um recipiente de polipropileno e capacidade de 40mL e foi pipetada uma quantidade apropriada de uma mistura metanol/água (50%), de forma a se obter uma concentração 1mg/mL. Esta mistura foi agitada vagarosamente até a total dissolução do material. A solução, assim preparada, foi estocada a +4°C.

b) Solução padrão do padrão interno: lansoprazol (MI)

Foi pesada uma quantidade apropriada de lansoprazol em um recipiente de polipropileno e capacidade de 40mL e foi pipetada uma quantidade apropriada de uma mistura metanol/água (50%), de forma a se obter uma concentração 1mg/mL. Esta mistura foi agitada vagarosamente até a total dissolução do material. A solução, assim preparada, foi estocada a +4°C.

3.6.5 Preparação das soluções de trabalho

De forma a preencher os requisitos necessários para as validações de pré-estudo, foram preparadas as seguintes soluções de trabalho, a partir da correspondente solução padrão. As mesmas condições de estocagem definidas para a solução padrão foram seguidas para as soluções de trabalho.

a) Soluções de trabalho para o analito omeprazol (Tabela 1)

Diluyente utilizado: éter-etílico/diclorometano (70/30)

	Concentração final	Volume e concentração da solução padrão		Volume do diluyente	Volume total	Fator de diluição
A	100,0 µg/mL	0,5 mL	de M (1,0 mg/mL)	4,5	5	10
B	10,0 µg/mL	2,0 mL	de A (100,0 µg/mL)	18,0	20	10
C	5,0 µg/mL	10,0 mL	de B (10,0 µg/mL)	10,0	20	2
D	500,0 ng/mL	2,5 mL	de C (5,0 µg/mL)	22,5	25	10
E	50,0 ng/mL	2,5 mL	de D (500,0 ng/mL)	22,5	25	10
F	5,0 ng/mL	1,0 mL	de E (50,0 ng/mL)	9,0	10	10

Tabela 1: Soluções de trabalho para o omeprazol

b) Soluções de trabalho para o padrão interno lansoprazol (Tabela 2)

Diluyente utilizado: éter-etílico/diclorometano (70/30)

	Concentração final	Volume e concentração da solução padrão		Volume do diluyente	Volume total	Fator de diluição
A	100,0 µg/mL	0,5 mL	de MI (1,0 mg/mL)	4,5	5	10
B	10,0 µg/mL	0,5 mL	de A (100,0 µg/mL)	4,5	5	10
C	100,0 ng/mL	0,5 mL	de B (10,0 µg/mL)	49,5	50	100

Tabela 2 : Soluções de trabalho para o lansoprazol

3.6.6 Preparação da solução de extração

Solução éter-etílico/diclorometano (70/30).

Foram colocados 70mL de éter-etílico em uma proveta provida de tampa e completou-se com diclorometano até o volume final de 100mL. A seguir, esta mistura foi agitada para total homogeneização.

3.6.7 Preparação da fase móvel

Solução 90% acetonitrila, 10% água contendo 10mM de ácido fórmico.

Foi preparada uma solução de ácido fórmico, pipetando-se 0,6mL de ácido numa proveta provida de tampa contendo 100mL de água. Adicionou-se acetonitrila até completar o volume de 1000mL. Esta solução foi agitada até total homogeneização.

3.6.8 Preparação das amostras de controle de qualidade

As amostras de controle de qualidade (A, B e C) foram preparadas a partir da contaminação de plasma humano, com as soluções de trabalho apropriadas de omeprazol, conforme tabela 3:

CQ	Analito	Concentração no plasma	Volume e concentração da solução de trabalho		Volume de plasma adicionado	Volume total de plasma
LoQ	Omeprazol	2,5 ng/mL	0,5 mL	de E (50,0 ng/mL)	9,5 mL	10 mL
A	Omeprazol	5,0 ng/mL	1,0 mL	de E (50,0 ng/mL)	9,0 mL	10 mL
B	Omeprazol	600,0 ng/mL	0,6 mL	de B (10,0 µg/mL)	9,4 mL	10 mL
C	Omeprazol	1500,0 ng/mL	1,5 mL	de B (10,0 µg/mL)	8,5 mL	10 mL

CQ: Controle de Qualidade LoQ: Limite de quantificação

Tabela 3 : Preparação das amostras dos controles de qualidade

Os controles de qualidade foram preparados em quantidade suficiente para a monitorização contínua da precisão e exatidão do método analítico. Após o preparo, os controles foram aliquotados em tubos e estocados a -20°C até posterior análise.

3.6.9 Preparação da curva de calibração

Para a construção da curva de calibração, foi utilizada uma mistura de plasmas obtidos das amostras de sangue colhidas dos voluntários antes da administração da droga.

A curva de calibração consistiu em dez pontos em duplicata, em plasma, contendo concentrações conhecidas de omeprazol. As amostras foram preparadas com a substância química de referência (omeprazol) nas concentrações: 2,5; 5; 10; 20; 50; 100; 200; 500; 1000 e 2000ng/mL, conforme a tabela 4:

	Analitos	Concen- tração no plasma	Volume e Concentração da solução de trabalho		Volume de plasma adiciona do	Volume total	Fator de diluição
10	Omeprazol	2000,0 ng/mL	1,0 mL	de B (10,0 µg/mL)	4 mL	5 mL	5
9	Omeprazol	1000,0 ng/mL	0,5 mL	de B (10,0 µg/mL)	4,5 mL	5 mL	10
8	Omeprazol	500,0 ng/mL	0,5 mL	de C (5,0 µg/mL)	4,5 mL	5 mL	10
7	Omeprazol	200,0 ng/mL	0,2 mL	de C (5,0 µg/mL)	4,8 mL	5 mL	25
6	Omeprazol	100,0 ng/mL	1,0 mL	de D (500,0 ng/mL)	4,0 mL	5 mL	5
5	Omeprazol	50,0 ng/mL	0,5 mL	de D (500,0 ng/mL)	4,5 mL	5 mL	10
4	Omeprazol	20,0 ng/mL	0,2 mL	de D (500,0 ng/mL)	4,8 mL	5 mL	25
3	Omeprazol	10,0 ng/mL	1,0 mL	de E (50,0 ng/mL)	4,0 mL	5 mL	5
2	Omeprazol	5,0 ng/mL	1,0 mL	de E (50,0 ng/mL)	9,0 mL	10 mL	10

1	Omeprazol	2,5 ng/mL	0,25 mL	de E (50,0 ng/mL)	4,75 mL	5 mL	20
Z	Padrão zero *	0	-	-	-	-	-
X	Padrão branco**	0	-	-	-	-	-

Z: matriz biológica mais o padrão interno

X: matriz biológica isenta do padrão do fármaco e do padrão interno

Tabela 4 : Preparação da curva de calibração

3.7 Posologia

Os voluntários receberam, em cada um dos períodos de internação, uma cápsula de 20mg de uma das formulações de omeprazol, por via oral, em dose única, com um copo de água (200 mL), conforme a lista de randomização no anexo 4.

3.8 Coleta de sangue

A coleta das amostras foi feita através de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário.

Após as 8 horas de jejum, o estudo teve início com uma coleta de sangue (6 mL) imediatamente antes da administração de uma cápsula contendo 20mg de uma das preparações de omeprazol, seguida de outras coletas aos seguintes intervalos a partir da administração: 10; 20; 30; 40 e 50 minutos e 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12 e 24 horas. Este procedimento foi repetido após uma semana, com a administração de 20mg da outra preparação de omeprazol, conforme a lista de randomização no anexo 4.

No total, foram coletadas trinta amostras de sangue (quinze em cada etapa) para dosagem plasmática de omeprazol.

3.9 Metodologia analítica

As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3500 r.p.m. (4550 x g) por um período de 10 minutos à temperatura ambiente e o plasma foi removido e armazenado a -20°C , até a utilização da amostra. Os procedimentos para o transporte do material do Hospital Universitário ao laboratório onde foram realizadas as análises encontram-se descritos no anexo 5. Todas as amostras de um único voluntário foram analisadas no mesmo dia, a fim de evitar variações inter-ensaio.

O omeprazol e o padrão interno lansoprazol foram extraídos do plasma humano por uma extração líquido-líquido, utilizando-se uma mistura de éter-etílico/diclorometano (70:30), como solvente de extração. Após a evaporação da fase orgânica, os analitos foram dissolvidos em um pequeno volume de fase móvel, e uma alíquota desta mistura foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas.

3.9.1 Extração de amostras

No presente estudo, 200 μL de plasma foram adicionados a um tubo de vidro. Posteriormente, foram adicionados 50 μL de uma solução 100 ng/mL de padrão interno (lansoprazol). Cada tubo foi agitado por 10 segundos e foram adicionados 4 mL de uma mistura éter-etílico/diclorometano (70:30). O tubo foi agitado por 40 segundos e depois centrifugado por 10 minutos a 2000 r.p.m. A camada orgânica foi, então, transferida para um outro tubo de vidro que foi colocado sob fluxo constante de nitrogênio a 37°C , a fim de que a fase orgânica evaporasse. Após a evaporação, foram adicionados 0,2mL de fase móvel (90% de

CH₃CN e 10% de água contendo 10mM de ácido fórmico) e o tubo foi agitado por 15 segundos. Esta solução foi transferida para o frasco apropriado, onde foi acondicionada para posterior análise.

3.9.2 Condições cromatográficas

A cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada em uma coluna analítica Genesis C₈, 4µm (150mm x 4,6mm de diâmetro interno). A pressão do sistema na cabeça da coluna foi de 50 a 70 bar. A coluna foi operada a uma temperatura de 40°C, com fluxo de 0,5mL/min de fase móvel. O volume de injeção foi de 50µL. O tempo total de corrida foi de 5 minutos. Os tempos de retenção típicos estão mostrados na tabela 5:

Padrão		Tempo de retenção (min)
Omeprazol	(MRM de 345,0 >197,3)	3,9
Lansoprazol	(MRM de 369,8 >118,5)	3,9

MRM: Monitorização de reações múltiplas

Tabela 5 : Tempos de retenção típicos

Foi incluída uma válvula divisória de fluxo (switch column) de aproximadamente 1 para 10, de modo que somente um fluxo de 50µL/min entrasse no espectrômetro de massas.

3.9.3 Condições do espectrômetro de massas

O espectrômetro de massas operou no modo de ionização Electrospray positivo e os íons assim gerados foram monitorados no modo MRM (monitorização

de reações múltiplas). Os parâmetros de monitorização estão mostrados na tabela 6:

	Canal de massa	Íon filho	Intervalo de tempo (s)	Cone (V)	Energia de colisão (eV)
1	345,0	197,3	0,5	20	10
2	369,8	118,5	0,5	20	15

Tabela 6: Íons monitorizados

Devido às características do equipamento, não foi necessário o corte do tempo de solvente.

3.10 Parâmetros farmacocinéticos

Foram analisados os seguintes parâmetros:

$AUC_{(0-24h)}$: Área sob a curva de concentração da droga *versus* tempo, com origem no tempo zero, variando até o tempo 24 horas, calculada pelo método trapezoidal;

C_{max} : Pico de concentração máxima da droga, obtido diretamente dos dados;

T_{max} : Tempo para atingir C_{max} .

3.11 Análise estatística

Foram aplicados testes estatísticos convencionais, para comprovar, ou não, a bioequivalência das formulações do produto teste em relação ao produto de referência.

A análise estatística foi realizada com o auxílio dos seguintes softwares: WinNonLin Professional Network Edition, Version 1.5 adquirido da Scientific Consulting, Inc., registrado na Unidade Analítica Cartesius ICB-USP (número de série disponível, se solicitado); Bioequivalence Program for Two-Period Crossover Studies - Version 3.4, por Herman P. Wijnand; Microsoft Excel Version 7.0 e Graph Pad Prism Version 3.02.

A concentração de eliminação (K_e) foi estimada por regressão linear, com base nos pontos que descreveram a fase de eliminação no gráfico logarítmico. O tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) derivou desta constante ($t_{1/2} = \ln(2)/K_e$).

A concentração plasmática máxima observada (C_{max}) e o tempo para atingir este nível máximo (T_{max}) foram obtidos diretamente das curvas de concentração *versus* tempo do produto teste e referência.

As áreas sob a curva concentração *versus* tempo do omeprazol, de zero a 24 horas (AUC_{all}) e de zero até a última concentração detectável (AUC_{last}), foram calculadas utilizando-se o método trapezoidal. A extrapolação para o infinito ($AUC_{0-\infty}$) foi feita pela adição do valor C_{24}/K_e ao AUC_{last} , onde o C_{24} é a concentração plasmática calculada a partir da regressão linear para o estimado valor de K_e , 24 horas após a administração da dose.

De acordo com as agências reguladoras, os parâmetros AUC e C_{max} foram analisados como a média entre as razões dos parâmetros farmacocinéticos dos produtos teste e referência, enquanto que o T_{max} foi analisado como diferença individual: teste-referência.

3.12 Amostras de retenção

Foram mantidas, em local próprio, amostras de retenção, tanto da formulação teste, quanto da formulação referência. Estas amostras serão mantidas até o prazo de validade especificado na embalagem do produto.

4. RESULTADOS

4.1. População do estudo

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (anexo 6) e todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes de realizarem qualquer procedimento relacionado ao estudo.

O grupo do sexo masculino foi composto por doze voluntários, com idade entre 21 e 45 anos ($33 \pm 7,0$ anos, média $\pm$ desvio-padrão), altura entre 162 e 183cm ($171,9 \pm 5,9$ cm), peso entre 49,6 e 87,1kg ($71,1 \pm 10,9$ kg). Quanto ao grupo do sexo feminino, também foi composto por doze voluntárias, com idade entre 25 e 44 anos (35 ± 7 anos), altura entre 150 e 164cm ($158,8 \pm 4,5$ cm) e peso entre 47,1 e 76,2kg ($58,6 \pm 9,1$ kg).

Um dos voluntários, do sexo feminino, foi retirado do estudo por não ter sido possível coletar sangue de sua veia no segundo período de internação. Cada formulação de omeprazol foi bem tolerada pelos voluntários, quando de sua administração. Todos os parâmetros bioquímicos permaneceram dentro dos limites de aceitação e não houve relato, nem observação, de eventos adversos.

4.2 Metodologia analítica

A validação da metodologia analítica foi estabelecida através da especificidade, do limite de quantificação, dos controles de qualidade, das curvas de calibração e da recuperação do analito e do padrão interno.

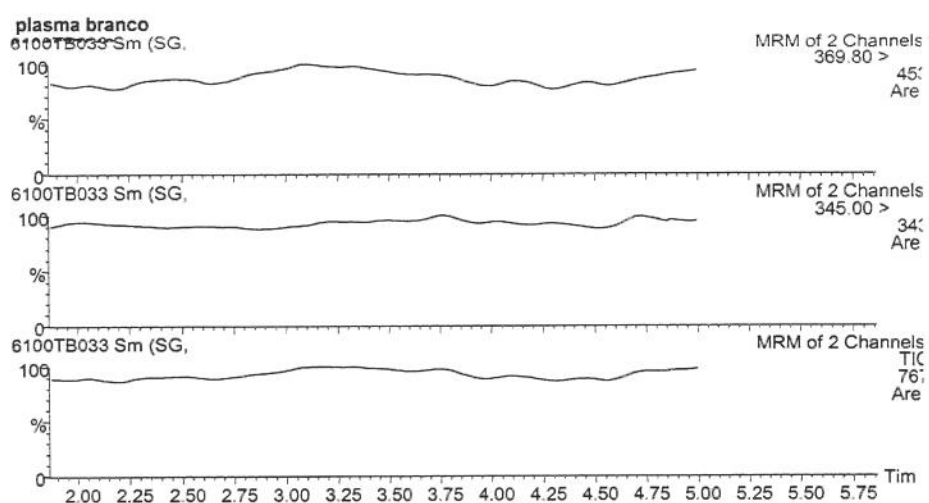
4.2.1 Especificidade: para testar a especificidade, amostras branco de plasma humano foram obtidas a partir de três matrizes, descritas na tabela 7:

Indiv.	Descrição	Fonte
1	Plasma Humano Normal	Hospital Universitário - SP
2	Plasma Humano Hiperlipêmico	Unidade Analítica Cartesius
3	Plasma Humano Hemolizado	Unidade Analítica Cartesius

Tabela 7: Matrizes

Cada amostra branco foi testada para a verificação de possíveis interferências, utilizando-se o procedimento de extração proposto e as condições cromatográficas do estudo.

Foi observado que não houve interferência no tempo de retenção da droga, como mostrado na figura 3:



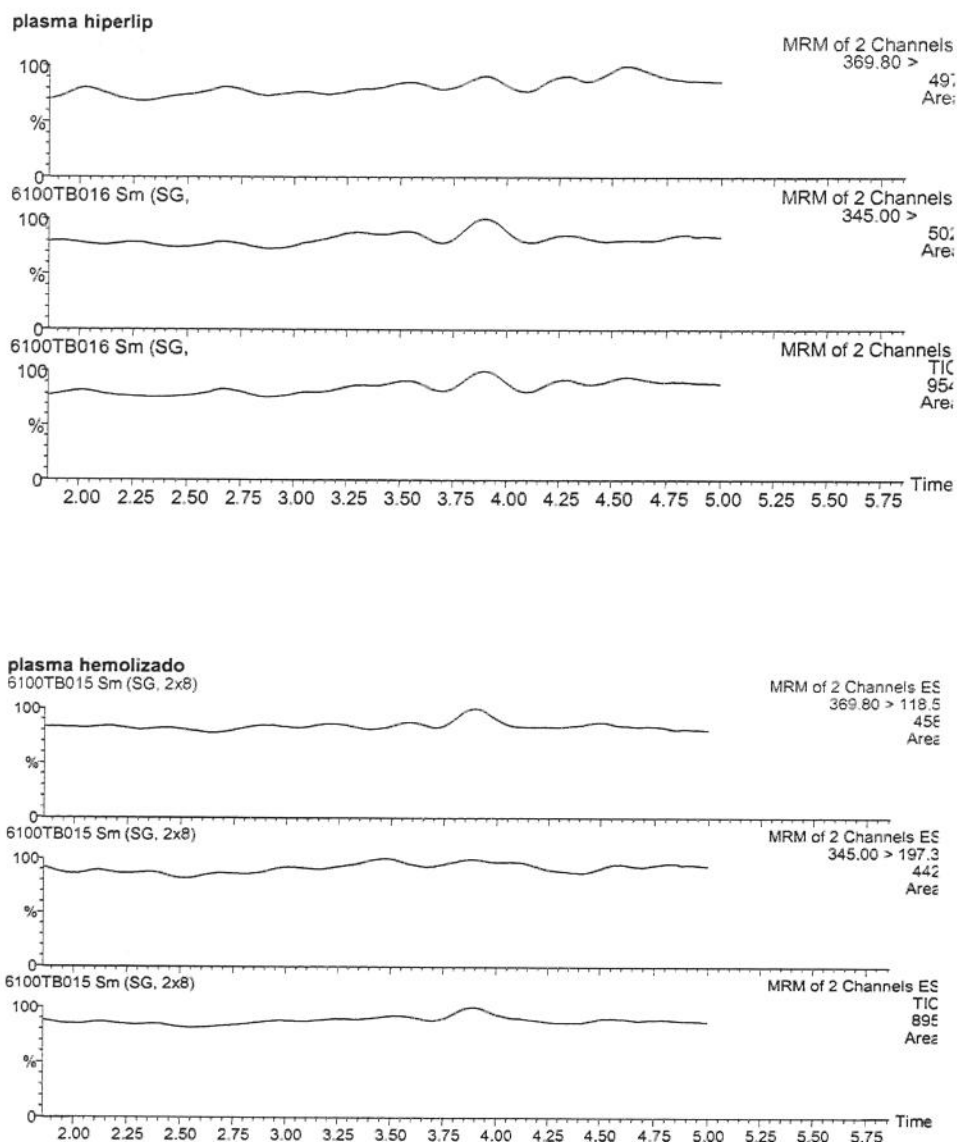


Figura 3 – Plasma normal, hiperlipêmico e hemolizado

4.2.2 Limite de quantificação: o limite de quantificação detectável do omeprazol foi de 2,5ng/mL, sendo que o coeficiente de variação foi de 7,2%, conforme mostrado na tabela 8. O valor aceitável pelas normas do FDA é de até 20%.

Lista de validação		Terceira validação
Código da amostra		Limite de quantificação
Amostra #	Concentração quantificada (ng/mL)	Precisão individual (%)
27	2,3	92,0
28	2,4	94,8
29	2,6	103,2
30	2,6	103,2
31	2,2	88,8
32	2,7	106,4
33	2,3	92,4
34	2,2	89,2
Média (ng/mL)		2,4
Precisão (CV%)		7,2%
Exatidão (%)		96,3%

Tabela 8: Dados de validação para o limite de quantificação

4.2.3 Curva de calibração: a curva de calibração apresentou-se linear na faixa de 2,5 a 2000ng/mL e os coeficientes de determinação em todos os casos foram superiores a 0,98. Dados específicos de uma das curvas estão apresentados na tabela 9, assim como a curva de calibração correspondente encontra-se na figura 4:

Concentração nominal (ng/mL)	Concentr. quantificada (ng/mL)	Desvio %	Analito aprovado?	Concentração aprovada?
2,5	2,6	5,1	Sim	Sim
	2,6	1,9	Sim	
	4,8	-3,5	Sim	
5				Sim

	4,5	-10,1	Sim	
10	9,2	-7,5	Sim	Sim
	9,5	-5,5	Sim	
20	20	-1,5	Sim	Sim
	20	0,7	Sim	
50	49	-1,9	Sim	Sim
	50	0,7	Sim	
100	95	-4,6	Sim	Sim
	101	1,0	Sim	
200	211	5,3	Sim	Sim
	217	8,6	Sim	
500	527	5,3	Sim	Sim
	536	7,3	Sim	
1000	974	-2,6	Sim	Sim
	1086	8,6	Sim	
2000	1870	-6,5	Sim	Sim
	1985	-0,7	Sim	
Coeficiente de determinação:			0,996154	

Tabela 9: Dados de validação da curva de calibração

Coefficiente de determinação: 0,996154
 Curva de calibração: $0,429584 \cdot x + 0,810225$

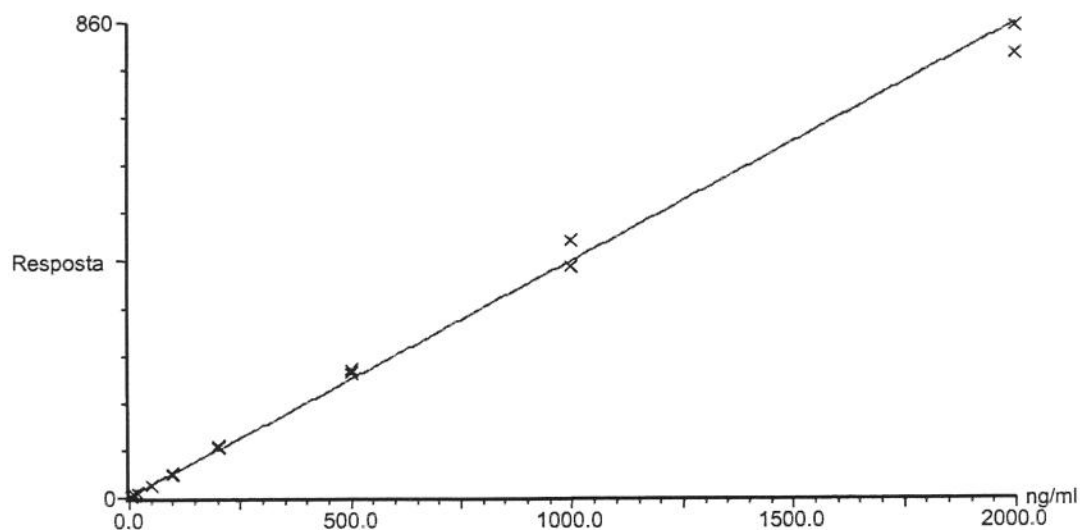


Figura 4: Linearidade da curva de calibração

4.2.4 Controles de qualidade: valores específicos dos controles de qualidade foram definidos baseados nos critérios apresentados na tabela 10:

Tipo de controle de qualidade (CQ)	Código CQ	Variação	Valor definido
Amostra LoQ CQ	LoQ	Mesma concentração do LoQ	2,5 ng/mL
Amostra CQ baixo	CQA	$\leq 3 \times \text{LoQ}$	5,0 ng/mL
Amostra CQ médio	CQB	Entre o CQ alto e baixo	600,0 ng/mL
Amostra CQ alto	CQC	75% - 90% do maior valor da curva de calibração	1500,0 ng/mL

Tabela 10: Definição das amostras de controle de qualidade

A seguir, procedeu-se a validação dos controles de qualidade previamente definidos. Cabe ressaltar que cada amostra do controle de qualidade foi preparada a partir de uma solução de trabalho diferente da utilizada para a preparação da curva de calibração.

Os dados de validação intra-lista (teste de validação realizada na mesma lista) estão mostrados na tabela 11:

	Concentração quantificada (ng/mL) de amostras individuais								Lista de validação 2		
									Quarta validação		
Cód.	1	2	3	4	5	6	7	8	Média	CV	Exatidão
LoQ	-	2,8	2,8	2,7	2,7	2,7	2,6	2,6	2,7	7,2%	110,2%
CQA	5,1	5,2	5,1	5,0	5,0	4,8	4,8	4,9	4,9	2,9%	99,7%
CQB	601	572	596	560	601	591	589	620	591	3,1%	98,5%
CQC	1427	1422	1412	1389	1477	1425	1427	1442	1428	1,8%	95,2%

Tabela 11 : Dados de validação intra-lista

Os dados de validação inter-lista (teste de validação realizado em listas diferentes) estão mostrados na tabela 12:

Código da amostra	Concentração média (µg/mL) de listas individuais			Precisão e exatidão inter-lista		
	Lista 1	Lista 2	Lista 3	Média	CV (%)	Exatidão (%)
LoQ	2,4	2,7	2,4	2,6	7,1	102,1
CQA	4,3	4,9	4,3	4,8	10,0	96,0
CQB	648	591	648	620	4,6	103,4
CQC	1551	1428	1551	1510	4,7	100,6

Tabela 12: Dados de validação inter-lista

Conforme observado nas tabelas 11 e 12, o protocolo de metodologia analítica inter e intra-lista foi aprovado, pois se encontra de acordo com os critérios de validação, a saber: menor que 15% para o coeficiente de variação e exatidão. (FDA, 1998)

4.2.5 Teste de recuperação: a recuperação foi avaliada calculando-se a razão entre as áreas obtidas a partir de uma amostra extraída e do padrão em fase móvel. Os dados estão descritos na tabela 13:

	Conc. da amostra	Área média (n=5)		Recuperação (%)	
		Amostras extraídas	Amostras do padrão em fase móvel		
Omeprazol	200 ng/mL	11078	15070	73,5	
Lansoprazol	500 ng/mL	79566	97,087	82,0	

Tabela 13: Resultados de recuperação

4.2.6 Testes de ionização: foram realizados testes de injeção direta ao espectrômetro de massas, a partir dos quais foram selecionadas as transições: 346,0>197,3 para o omeprazol (figura 5a) e 369,8>118,5 para o lansoprazol (figura 5b).

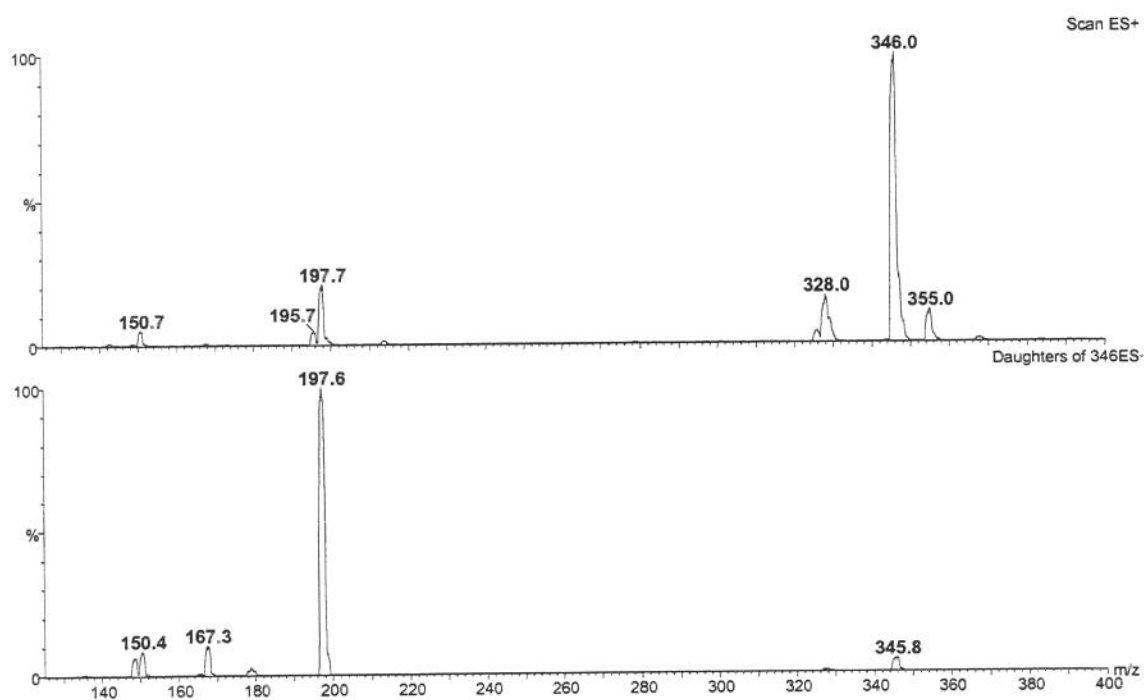


Figura 5a: Espectrogramas do omeprazol

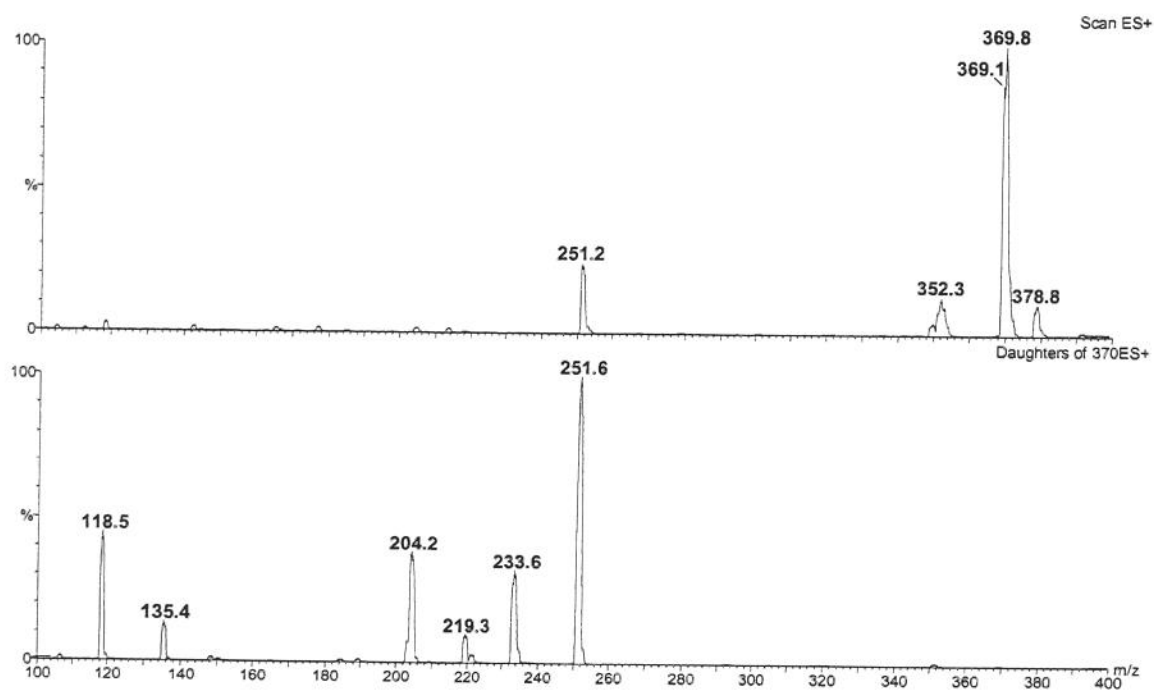
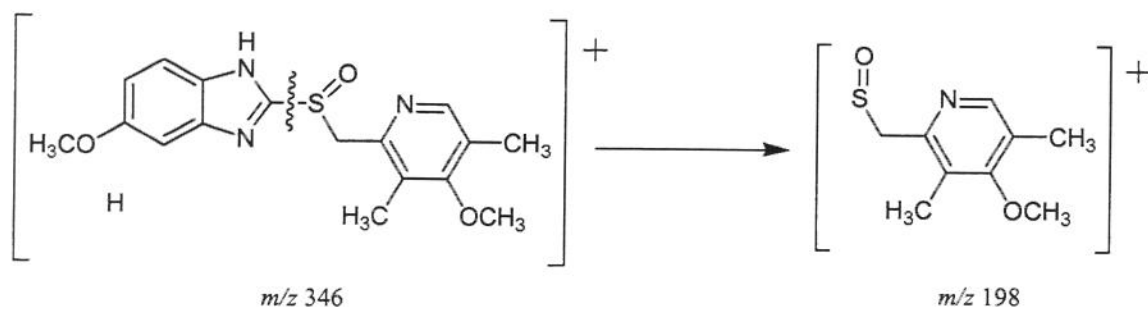


Figura 5b: Espectrogramas do lansoprazol

A partir dos espectrogramas acima, a proposta de rota de fragmentação está ilustrada na figura 6:

Para o omeprazol:



Para o lansoprazol:

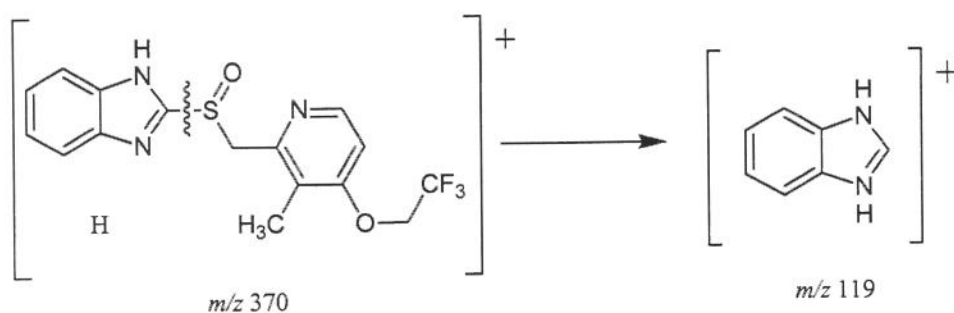


Figura 6: Rotas de fragmentação propostas

Um cromatograma típico nas condições descritas no item 3.9.2 está ilustrado na figura 7:

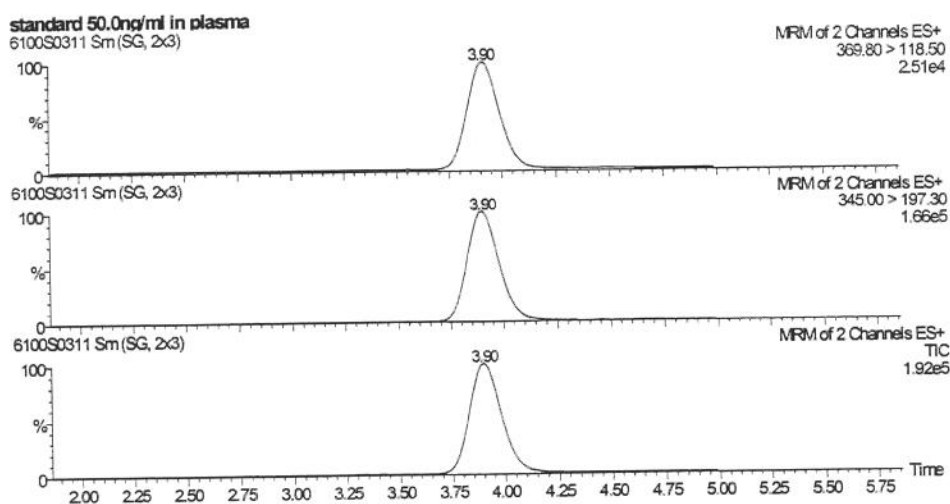


Figura 7: Cromatograma típico

4.2.7 Estabilidade: estes testes avaliam a estabilidade do analito e do padrão interno em plasma humano, sob diferentes condições de tempo e temperatura.

Para testar a estabilidade do omeprazol e lansoprazol, uma série de amostras-padrão foi preparada a fresco. Os seguintes itens descrevem os procedimentos realizados e os correspondentes resultados.

1) Estabilidade em amostrador automático (Tabela 14)

Três alíquotas de cada amostra foram mantidas na temperatura de amostrador automático utilizado durante a análise e durante o tempo previsto para cada lista, nas seguintes condições de análise:

- Temperatura: 10°C
- Tempo estimado de duração da lista: 12 horas
- Tempo de teste: 12 horas

Simulação de amostrador automático 10°C		Média dos valores a fresco		Média dos valores após 24 horas		Variação (%)	
Analito	Conc. De referência	Área	Res posta	Área	Res posta	Área	Res posta
Omeprazol	3500 ng/mL	1693270	709	1433997	982	-15,3	38,4
Lansoprazol	100 ng/mL	2388	---	1460	---	-38,9	---

Tabela 14: Resultados de estabilidade de amostrador automático

2) Estabilidade para congelamento e descongelamento (Tabela 15)

Para avaliar a estabilidade para congelamento e descongelamento, foram definidos três ciclos de congelamento e descongelamento para duas amostras de concentrações diferentes.

As amostras foram congeladas a -20°C e descongeladas à temperatura ambiente. As amostras foram quantificadas após o terceiro ciclo, confrontando-se com amostras de referência preparadas a fresco.

Teste a -20 °C			Área		
Analito	Tipo de amostra	Conc. de referência	Valores a fresco	Três ciclos de congelamento e descongelamento	Var.
Omeprazol	Baixa	20 ng/mL	24987	23849	-4,6%
	Alta	2000 ng/mL	1991386	2376813	+19,4%

Tabela 15: Resultados de estabilidade para congelamento e descongelamento

3) Estabilidade de curta duração à temperatura ambiente (Tabela 16)

Duas amostras de diferentes concentrações foram mantidas imediatamente após preparação, à temperatura ambiente durante 6 horas. A estabilidade foi comparada com amostras preparadas a fresco.

Estabilidade à temperatura ambiente			Área		
Analito	Tipo de amostra	Conc. de referência	Valores a fresco	Após 10 horas	Var.
Omeprazol	Alta	2000 ng/mL	1766801	1126665	-36,2%
	Baixa	20 ng/mL	17119	12091	-29,4%

Tabela 16: Resultados de estabilidade à temperatura ambiente

4) Estabilidade de longa duração (Tabela 17)

A estabilidade de longa duração consiste na avaliação do analito no intervalo de tempo entre a data da primeira e da última avaliação.

Duas amostras de diferentes concentrações foram inicialmente congeladas a -20°C e descongeladas, extraídas e analisadas após 13 dias, confrontando-se com amostras preparadas a fresco.

Valores de concentração (ng/mL)			Teste à -20 °C
Analito	Tipo de amostra	Concentração de referência	Variação após 13 dias
Omeprazol	Baixa	100 ng/mL	150 %
	Alta	1000 ng/mL	138 %

Tabela 17: Resultados de estabilidade de longa duração

5) Estabilidade das soluções padrão

Cada solução padrão do analito e do padrão interno foi pesada e preparada a fresco ao final do estudo e comparada com a mesma solução padrão preparada inicialmente, sob as condições descritas na tabela 18:

Média dos valores das áreas		Armazenamento à +4 °C		
Analito	Conc. de referência	Valores a fresco	Estabilidade da solução após 13 dias	Var.
Omeprazol	1000 ng/mL	627084	457112	-27,1%
Lansoprazol	1000 ng/mL	232697	198843	-14,6%

Tabela 18: Resultados de estabilidade de soluções padrão

4.2.8 Preparação da lista

Após a validação da metodologia analítica, procedeu-se a quantificação das amostras organizadas por lista. As listas foram geradas na seguinte seqüência:

- Duas amostras branco;
- Duas amostras zero;
- Curva de calibração em duplicata;
- Limite de quantificação em triplicata;

e) Amostras de voluntários;

f) A cada dez amostras de voluntário, incluiu-se um controle de qualidade (A, B ou C)

Deve-se observar que cada lista foi composta por dois voluntários e que os controles de qualidade foram intercalados seqüencialmente (CQA, CQB, CQC).

4.3 Estudo de bioequivalência

A partir da metodologia descrita, foram obtidos os valores quantificados de concentrações plasmáticas individuais, que se encontram descritos no anexo 7. De posse destes valores, foram construídas as curvas farmacocinéticas individuais de cada voluntário (anexo 8).

A curva da média da concentração plasmática *versus* tempo, com os respectivos erros-padrão, obtida dos vinte e três voluntários, após a administração de dose única de 20mg de ambas as formulações de omeprazol, é mostrada na figura 8.

Nas figuras 9 e 10, encontram-se as curvas das médias obtidas para os voluntários do sexo masculino e feminino, respectivamente.

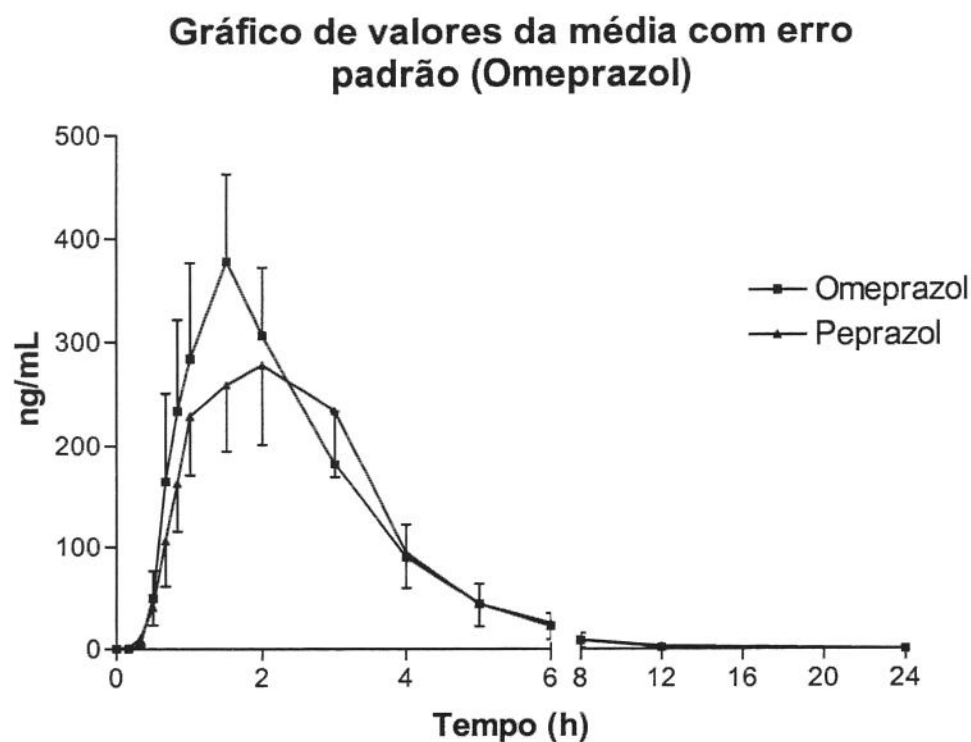


Figura 8: Curva da média de concentração plasmática *versus* tempo, obtida dos 23 voluntários

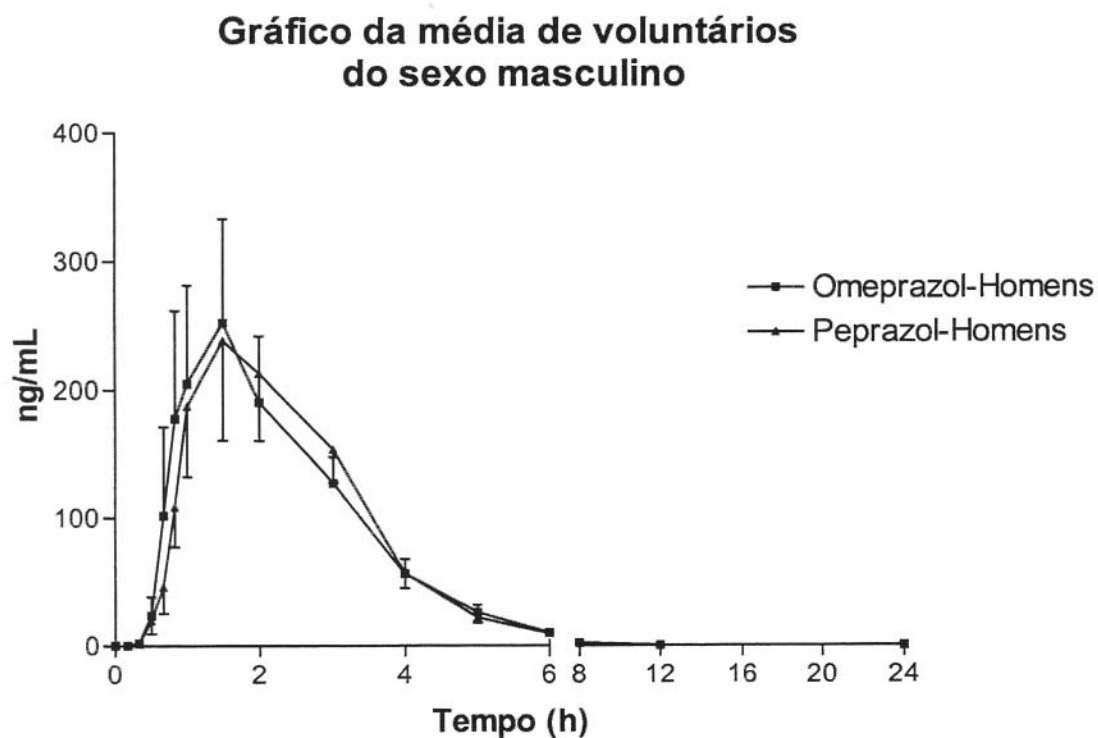


Figura 9: Curva da média de concentração plasmática *versus* tempo, obtida dos voluntários do sexo masculino

Gráfico da média de voluntários do sexo feminino

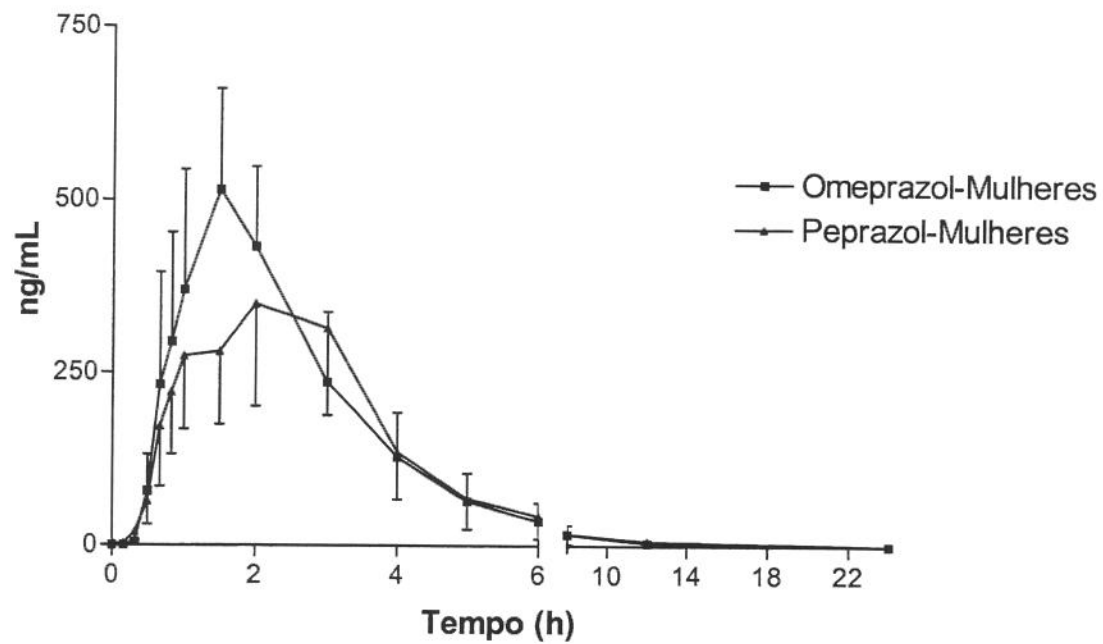


Figura 10: Curva da média de concentração plasmática *versus* tempo, obtida dos voluntários do sexo feminino

A tabela 19 mostra as médias dos parâmetros farmacocinéticos obtidos dos vinte e três voluntários após administração de 20mg de ambas as formulações de omeprazol. Os dados da tabela 19 foram obtidos após o tratamento estatístico dos dados quantificados nos programas WinNonLin e Bioequivalence Program for Two-Period Crossover Studies.

Parâmetro	Omeprazol 20mg	Peprazol® 20mg
AUC_{last} ([ng*h]/mL)		
Média Geom.	956	895
IC 90%	62 - 6910	81 - 6637
AUC_{0-∞} ([ng*h]/mL)		
Média Geom.	971	913
IC 90%	64 - 7030	93 - 6861
AUC_{all} (0-24h)([ng*h]/mL)		
Média Geom.	975	921
IC 90%	64 - 7153	86 - 7050
C_{max} (ng/L)		
Média Geom.	490	437
IC 90%	47 - 2078	58 - 1772
Ke (h⁻¹)		
Média Geom.	0,99	0,92
IC 90%	0,34 - 1,82	0,,1 - 1.79
T_{1/2} (h)		
Média Geom.	0,70	0,80
IC 90%	0,40 - 2,10	0,40 - 2,30
T_{max} (h)		
Média Geom.	1,50	2,00
IC 90%	0,83 - 4,00	0,83 - 3,00

Tabela 19: Média dos parâmetros farmacocinéticos

As médias geométricas das razões entre omeprazol/peprazol® 20 mg dos parâmetros farmacocinéticos analisados encontram-se na tabela 20:

Omeprazol/Peprazol® - 20mg	Análise estatística	
	Média Geom.	IC 90%
Razão AUC_{all} %	104,76%	89,11 – 123,16%
Razão AUC_{last} %	104,69%	88,53 – 123,79%
Razão AUC_{0-∞} %	104,57%	88,99 – 122,89%
Razão C_{max} %	111,06%	90,63 – 136,08%

Tabela 20: Médias geométricas das razões entre Omeprazol e Peprazol®

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A avaliação da biodisponibilidade implica na determinação da quantidade de fármaco absorvida e da velocidade com que ocorre este processo. (Ritschel, 1992)

Nos estudos de bioequivalência, o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos é comumente obtido a partir da curva de concentração sangüínea do fármaco *versus* tempo, após administração das preparações em estudo. Nesse caso, determina-se a área sob a curva (AUC), a máxima concentração sangüínea obtida (C_{max}) e o tempo em que esta concentração é atingida (T_{max}).

Com relação aos voluntários selecionados para este estudo, constatou-se que todos encontravam-se em bom estado geral, o que foi determinado por exame físico completo e exames de laboratório.

O produto Peprazol® foi escolhido por se tratar de um medicamento referência, no mercado farmacêutico brasileiro, para o tratamento de úlceras gástricas e duodenais, esofagite ulcerativa, bem como na terapêutica da Síndrome de Zollinger-Ellison.

O método de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas para a quantificação de drogas utilizado neste trabalho está de acordo com os conceitos de alta especificidade e sensibilidade requeridos pelos estudos de farmacocinética, segundo Bennett et al. (1997), e como pode ser observado no item (4.2), o método foi totalmente validado, pois está de acordo com as exigências da FDA. (FDA, 1998)

Os níveis de omeprazol têm sido detectados em plasma e soro humanos por outros métodos analíticos, como a cromatografia líquida de alta eficiência com ultravioleta, conforme Sane et al. (1992), Najib et al. (1995), Pillai et al. (1996), Garcia et al. (1999), Farinha et al. (1999) e Tayebi et al. (1999).

Porém, este método apresenta limite de quantificação (de 5 a 10ng/mL) maior dos que o obtido no presente estudo (2,5 ng/mL). Em alguns casos, a extração é em fase sólida, processo mais trabalhoso e oneroso do que a extração líquido-líquido. Além disso, os tempos de retenção são mais longos. Cabe ressaltar que no método de cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta, conforme Kang et al. (1999), onde após a extração em fase líquido-líquido com dietil-éter, a camada orgânica foi re-extraída com solução alcalina de hidróxido de sódio, registrou-se um limite de quantificação menor (2,0ng/mL), entretanto os tempos médios de retenção para o omeprazol e lansoprazol (5,8 e 13,8 minutos, respectivamente), foram maiores que no método empregado no presente estudo (3,9 minutos) para ambos os fármacos. Portanto, o método utilizado neste estudo é mais vantajoso em termos de rapidez na quantificação de grandes quantidades de amostras.

A ionização por electrospray no caso do omeprazol (346,0) mostrou um íon filho de m/z 197,3, enquanto que a do lansoprazol (369,8), um íon filho de m/z 118,5 (vide fragmentação item 4.2.6) semelhantes aos descritos por Woolf et al. (1998) e Langerstrom et al. (1999).

Na literatura, existem alguns trabalhos de quantificação de omeprazol em plasma através da técnica de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas.

Woolf et al.(1998) descreveram uma técnica de quantificação por ionização química à pressão atmosférica (APCI). No entanto, o limite de quantificação foi quatro vezes maior do que o atingido neste estudo e os tempos de retenção na corrida cromatográfica também foram maiores (9 minutos).

Por outro lado, Lagerstrom et al. (1999) publicaram um método de determinação de omeprazol utilizando ionização à pressão atmosférica (método semelhante ao electrospray), onde o limite de quantificação foi de 10 nmol/L (3,45 ng/mL) e o tempo de corrida foi de 6 minutos, semelhantes aos resultados obtidos no presente trabalho. O diferencial, porém, foi a utilização, por Langerstrom et al. (1999), do análogo deuterado como padrão interno, que proporciona um ganho de sensibilidade na metodologia analítica.

O método analítico desenvolvido neste estudo apresentou-se robusto o suficiente para a análise de bioequivalência de duas formulações de omeprazol.

Com a descoberta e síntese de novos fármacos, as indústrias farmacêuticas nacionais e internacionais, incessantemente, colocam no mercado novos medicamentos à disposição da classe médica e, portanto, de toda a população. Imprescindível, torna-se portanto, viabilizarem-se estudos para comprovar a eficácia dos medicamentos, a eventual bioequivalência entre medicamentos similares e ainda garantir o controle de sua qualidade.

A busca de novos medicamentos envolve anos de pesquisa e grandes investimentos das indústrias farmacêuticas, visando a fornecer novas alternativas terapêuticas. Quando uma indústria encontra novas drogas ou classes terapêuticas eficientes, seguras e de importante emprego clínico, outras tendem a utilizá-las, respeitando ou não o seu patenteamento. Assim, outras indústrias

podem produzir equivalentes farmacêuticos que serão lançados no mercado, às vezes, sem os respectivos estudos que comprovem as mesmas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do produto original.

Até meados da década de setenta do século XX, produtos que continham o mesmo fármaco, na mesma dosagem e apresentados sob forma farmacêutica semelhante eram considerados similares intercambiáveis. Dentro desta perspectiva, deles se esperava que exibissem o mesmo desempenho quando administrados no organismo. Entretanto, sabe-se hoje que a eficácia clínica de um medicamento não pode ser atribuída somente à atividade intrínseca de seu princípio ativo.

Fatores ligados às propriedades físico-químicas dos fármacos e excipientes empregados na formulação, além das características dos processos de manufatura, são responsáveis pela alteração do efeito dos medicamentos, uma vez que afetam a biodisponibilidade dos mesmos.

A popularização dos ensaios de bioequivalência tem se justificado principalmente porque os custos envolvidos nos ensaios de bioequivalência são muito menores do que aqueles relativos a uma triagem clínica completa, mas também pelos elevados padrões de exatidão e precisão obtidos na determinação do fármaco e de seus metabólitos nos fluidos biológicos, o que permite obter uma melhor compreensão do perfil de absorção do fármaco.

No Brasil, a publicação do decreto número 793 de 5 de abril de 1993 (Brasil, 1993), que trata da denominação genérica dos medicamentos, trouxe à tona diversos problemas, dentre eles, a intercambialidade de medicamentos

considerados similares por conterem um certo fármaco no mesmo teor e apresentação.

Com a publicação da lei número 9787, de 10 de fevereiro de 1999 (Brasil, 1999a) e da resolução número 391, de 9 de agosto de 1999 (Brasil, 1999b), a implantação do medicamento genérico passou a ser considerada prioridade da política de medicamentos do Ministério da Saúde do Brasil, definindo-se critérios para registros de tais medicamentos, de forma que fossem garantidas eficácia e segurança equivalentes às do produto original.

O aumento do número de produtos disponíveis no mercado que contém omeprazol vem provocando dúvidas sobre a equivalência terapêutica e sua substituição genérica.

No presente estudo da bioequivalência de duas formulações de omeprazol, a concentração plasmática máxima atingida para ambas as formulações de omeprazol e o tempo para atingir estas concentrações foram similares às relatadas na literatura. (Anderberg et al., 1998)

Nos gráficos classificados por sexo (Figuras 9 e 10), pode-se observar uma sensível diferença, tanto no valor do pico de concentração atingido, quanto na área sob a curva, comparando-se os voluntários do sexo masculino e feminino. As mulheres apresentaram C_{max} superior aos homens, tanto no caso do Omeprazol quanto do Peprazol®.

Este achado pode ser explicado, provavelmente, pelo fato de que a massa corpórea dos voluntários do sexo feminino eram menores os que a dos voluntários do sexo masculino.

Estudos em ratos de ambos os sexos mostraram que o omeprazol é metabolizado duas a três vezes mais rapidamente em ratos do sexo masculino, em comparação aos ratos do sexo feminino. (Löfberg et al., 1986)

Outra possível explicação para a diferença observada em relação aos voluntários, pode ser a diferente capacidade de metabolização. A população, de maneira geral, pode ser classificada em possuidora de fenótipos de metabolização fracos ou intensos, como resultado da heterogeneidade do sistema do citocromo P-450. Em especial, a isoforma CYP2C19 é conhecida por apresentar um polimorfismo genético. Assim, indivíduos que participam de estudos com compostos metabolizados por esta enzima podem apresentar diferenças na biodisponibilidade. (Woolf et al., 1998)

6. CONCLUSÃO

Considerando que a razão da concentração máxima plasmática obtida entre o Omeprazol e Peprazol® está dentro do intervalo de 70% a 143% aceito pela Agência Europeia para a Avaliação de Produtos Médicos (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1998), de acordo com a eficácia e segurança do produto em estudo, conclui-se que a formulação omeprazol testada é bioequivalente ao Peprazol®, quanto à velocidade de absorção, segundo a EMEA.

Como a razão da AUC_{last} , $AUC_{0-\infty}$ e AUC_{all} encontram-se dentro do intervalo de 80% a 125% proposto pela FDA (FDA, 1998) e pela EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1998), conclui-se que a formulação de omeprazol estudada é bioequivalente ao Peprazol®, quanto à extensão de absorção, de acordo com os critérios da FDA e EMEA.

A conclusão de que os produtos são bioequivalentes revela que eles têm um efeito terapêutico similar quando utilizados sob as mesmas condições terapêuticas, demonstrando que o novo produto pode ser utilizado de maneira confiável.

7. SUMMARY

Objective: To compare the bioavailability of two omeprazole capsule (20mg) formulations (Omeprazol capsules from Medley S/A Indústria Farmacêutica, Brazil as test formulation and Peprazol® from Libbs Farmacêutica Ltda., Brazil as reference formulation) in 24 volunteers of both sexes. **Material and methods:** The study was conducted open with randomized two-period crossover design and one week washout period. Plasma samples were obtained over a 24-hour interval. Omeprazole concentrations were analyzed by combined reversed phase high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry (HPLC-MS-MS) with positive ion electrospray ionization using selected daughter ion monitoring method (MRM). From the omeprazole plasma concentration versus time curves the following pharmacokinetic parameters were obtained: AUC_{last} , $AUC_{0-\infty}$, AUC_{all} and C_{max} . **Results:** Geometric mean of Omeprazol/Pepazol® 20mg individual percent ratio was 104.69% for AUC_{last} , 104.57% for $AUC_{0-\infty}$, 104.76% for AUC_{all} and 111.06% for C_{max} . The 90% confidence intervals were 88.53 - 123.79%, 88.99 - 122.89%, 89.11 - 123.16% and 90.63 - 136.08%, respectively. **Conclusion:** Since the 90% CI for C_{max} was inside the 70-143% interval proposed by the European Community Agency, it was concluded that omeprazol 20mg coated capsule formulation is bioequivalent to Peprazol® 20mg capsule formulation for the rate of absorption according to the European Community Agency criteria. Since the 90% CI for AUC_{last} , $AUC_{0-\infty}$ and AUC_{all} ratios were within the 80-125% interval proposed by the Food and Drug Administration Agency and

the European Community Agency, it was concluded that Omeprazol 20mg coated capsule formulation is bioequivalent to Peprazol[®] capsule 20mg, for the extent of absorption, according to both the Food and Drug Administration Agency and the European Community Agency.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, H.M. *Dissolution, bioavailability and bioequivalence*. Easton: Mack Printing, 1989, p.554.

ANDERBERG, E.K., CULLBERG, M., LANGSTROM, G., NAESDAL, J., ROSEN, E. Bioequivalence between omeprazole MUPS tablets and omeprazole capsules. *Gastroenterology*, 114(4:2):A56, 1998, (Abstract G0228).

ANDERSSON, T. Pharmacokinetics, metabolism and interactions of acid pump inhibitors: focus on omeprazole, lansoprazole, and pantoprazole. *Clin. Pharmacokinet.*, 31: 9-28, 1996.

ARANCÍBIA, A. Calidad Biofarmacéutica: estudios in vitro e in vivo. *Acta Farm. Bonarense*, 10, (2): 123-133, 1991.

ANON: New indication. Facts and Comparisons on Drugs, St. Louis, MO, 1996.

ANON: Omeprazole. FDC Reports: Prescription and OTC Pharmaceuticals - The Pink Sheet. April 22, 1996a.

ANSEL, H.C., POPOVICH, N.G., ALLEN, L.V. *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 6. ed. Malvern: Williams & Wilkins, 1995. p.61-98.

- ARONSON, J.K., HARDMAN, M., REYNOLDS, D.J.M. Phenytoin. *Brazilian Medical Journal*, 305:1215-1218, 1992.
- ARPINO, P.J. Ten years of liquid chromatography – mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 323: 3-11, 1985.
- AXON, A.T.R. & MOAYYEDI, P. Eradication of *Helicobacter pylori*: omeprazole in combination with antibiotics.. *Scand. J. Gastroenterol.*, 215 (suppl.): 82-89, 1996.
- BELL, G.D. & POWELL K.U. Eradication of *Helicobacter pylori* and its effect in peptic ulcer disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 196 (suppl.):7-11, 1993.
- BELL, N.J.V., HUNT, R.H. Progress with proton pump inhibition. *J. Biol. Med.*, 65 (6): 649-657, 1992.
- BENNETT, P.K., YU-TSYR, L., EDOM, R., HENION, J. Quantitative determination of orlistat (tetrahydrolipostatin, Ro18-0647) in human plasma by HPLC coupled with ion spray tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 32:739-749, 1997.
- BIANCHI PORRO, G., LAZZARONI, M., BARGIGGIA, S., et al. Omeprazole coupled with two antibiotics for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of ulcer recurrence. *Am. J. Gastroenterol.*, 91: 695-700, 1996.

BOLTON, S. *Pharmaceutical statistics: practical and clinical applications*. 2.ed., New York: Marcel Dekker, 1990. p.646.

BRASIL. *Leis, decretos, etc.* Decreto 793, de 5 abr. 1993. *Diário Oficial da União*, Brasília, 6 abr. 1993, Seção 1, p.4398. [Institui a obrigatoriedade do uso das denominações genéricas dos medicamentos comercializados no país], 1993.

BRASIL. *Leis, decretos, etc.* Lei número 9787, de 10 fev. 1999. *Diário Oficial da União*, Brasília, n. 29, 11 fev. 1999. Seção 1, p. 1-2. [Altera a Lei número 6360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências], 1999a.

BRASIL. *Leis, decretos, etc.* Resolução número 391, de 9 ago. 1999. *Diário Oficial do União*, Brasília, n. 152, 10 ago. 1999. Seção 1, p.62-69. (A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico para medicamentos genéricos], 1999b.

BRIGGS, G.G., FREEMAN, R.K., YAFFE, S.J.: *Drugs in pregnancy and lactation*. 5th ed. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1998.

BROWN, P.R. *Analytical Chemistry* 62, p.995-1008, 1990.

BRUINS, A.P. Mass spectrometry with ion sources operating at atmospheric pressure. *Mass-Spectrom. Rev.*, 10: 53-77, 1991.

BRUINS, A.P. Mechanistic aspects of electrospray ionization. *Journal of Chromatography A*, 794: 345-57, 1998.

CEDERBERG, C., ROHSS, K. LUNDBORG, P, OLBE, L. Effect of once daily intravenous and oral omeprazole on 24 hour intragastric acidity in healthy subjects. *Scand. J. Gastroenterol.*, 28:179-184, 1993.

CLISSOLD, S.P. & CAMPOLI-RICHARDS, D.M.: Omeprazole: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peptic ulcer disease and Zollinger-Ellison syndrome. *Drugs*, 32:15-47, 1986.

COOK, D. Bioequivalence and clinical significance. *Acta Pharm.*, 15 (4): p.291-2, 1978.

DOLLERY, C. Omeprazole. In: *Therapeutic Drugs*. London: Churchill Livingstone, 1991. p.17-20.

EKMAN, L. Toxicological studies on omeprazole. *Scan. J. Gastroenterol*, 20 (suppl 108): 53-69, 1985.

EKSTROM, P., CARLING, L., WETTERNHUS, S., et al.: Prevention of peptic ulcer and dyspeptic symptoms with omeprazole in patients receiving continuous non-steroidal anti-inflammatory drug therapy: a Nordic multicentre study. *Scand. J. Gastroenterol.*, 31:753-758, 1996.

EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS.
Human Medicines Evaluation Unit. Committee for Proprietary Medicinal Products. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. London: EMEA, 1998. p.16.

FARINHA, A., BICA, A., PAIS, J.P., TOSCANO, M.C., TAVARES, P.
Bioequivalence evaluation of two omeprazole enteric coated formulations in humans. *Eur J Pharm Sci*, 7:311-5, 1999.

FERNER, F.E., ALLISON, T.R. Omeprazole overdose. *Hum. Exp. Toxicol.*, 12: 541-542, 1993.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. National Archives and Records Service.
Office of the Federal Register. Code of Federal Regulations. Title 21: Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Part 320. *Bioavailability and bioequivalence requirements.* Washington: FDA, 1998. p.185-195.

GARCIA E. G., FARRAN, R., PUIG, S., MARTINEZ, L. Validation of an automated liquid chromatographic method for omeprazole in human plasma using on-line solid-phase extraction. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 21(2):371-382, 1999.

GLEITER, C.H., KLOTZ, U., KUHLMANN, J., BLUME, H., STANISLAUS, F., HARDER, S., PAULUS, H., POETHKO-MÜLLER, C., HOLZ-SLOMCZYK, M. When are bioavailability studies required? A German proposal. *J. Clin. Pharm.*, 38, (10): 904-911, 1998.

GORDON, M. S., RUDARAJU, V. S., RHIE, J. K., CHOWHAN, Z. T. The effect of aging on the dissolution of wet granulated tablets containing super disintegrants. *Int. J. Pharm.*, 97 (11):119-131, 1993.

GRAHAM, D.Y., HEPPEL, K.S., RAMIREZ, F.C., et al.: Treatment of *Helicobacter pylori* reduces the rate of rebleeding in peptic ulcer disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 28:939-942, 1993.

GREENBLATT, D.J., SHADER, R.I. Drug absorption rate: a critical component of bioequivalence assessment in psychopharmacology. *J. Clin. Pharmacol.*, 27 (2) 85-86, 1987.

GUIOCHON, G., ARPINO, P.J. How to interface a chromatographic column to a mass spectrometer. *J. Chromatogr. Rev.*, 27: 13-25, 1983.

- GUGLER, R., JENSEN, J.C. Omeprazole inhibits elimination of diazepam. *Lancet*, 28: 969, 1984.
- HARAGUCHI, T., KOROLKOVAS, A. Omeprazol, um novo agente anti-úlceras. *Rev. Bras. Med.*, 49 (11): 853-860, 1992.
- HAYES, M.J., LANKMAYER, E.P., VOUIROS, P. KARGER, B.L. McGUIRE, J.M. Moving-belt interface with spray deposition for liquid chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 55: 1745-52, 1983.
- HOPFGARTNER, G., BEAN, K., HENION, J. HENRY, R. Ion spray mass-spectrometric detection for liquid chromatography: a concentration or a mass-flow-sensitive device? *J. Chromatogr.*, 647: 51-61, 1993.
- IKONOMOU, M.G., KEBARLE, P. A heated electrospray source for mass spectrometry of analytes from aqueous solutions. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 5(9): 791-99, 1994.
- JONES, B. Acute interstitial nephritis due to omeprazole. *Lancet*, 344:1017-18, 1994.
- KANG, W.K., KIM, D.S., KWON, K.I. Advanced method for determination of omeprazole in plasma by HPLC. *Arch. Pharm. Res.*, 22 (1):86-88, 1999.

- KATO, Y., TAKAHASHI, S., HIROSE, H., SAKAIRI, M., KAMBARA, H. Application of high-performance liquid chromatography – atmospheric pressure ionization mass spectrometry for the analysis of non-volatile compounds. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, 16: 331-34, 1988.
- KATZ, K.D., HOLLANDER, D. Practical pharmacology and cost-effective management of peptic ulcer disease. *Am. J. Surg.*, 163: 349-359, 1992.
- LABENZ, J. & BORSCH, G.: Helicobacter pylori eradication prevents peptic ulcer bleeding relapse (abstract). *Acta Gastroenterol. Belg.*, 56 (suppl): 143, 1993.
- LAGERSTROM, P.O., STENHOFF, H., BLOMQVIST, A. Determination of the enantiomers of omeprazole in blood plasma by normal-phase liquid chromatography and detection by atmospheric pressure ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatog. Biomed. Sci. Appl.*, 734(2):191-201, 1999.
- LESSEL, S. *Omeprazole and ocular damage*. *Br. Med. J.*, 316:67, 1998.
- LIND, T., CEDERBERG, C., EKENVED, G., HAGLUND, U., OLBE, L. *Effect of omeprazole: a gastric proton pump inhibitor on pentagastrin stimulated acid secretion in man*. *Gut.*, 24: 270-276, 1983.
- LINDAHL, A., UNGELL, A.L., KNUTSON, L., LENNERNÄS, H. Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharm. Res.*,

14, (4): 497-502, 1997.

LÖFBERG, I., GUNNARSON, K., LAGERSTROM, P.O., SKANBERG, I. Sex-related difference in the metabolism of omeprazole in Sprague-Dawle rats. *Annual Pharmaceutical Congress*, Stockholm, Sweden, Oct. 13-15, 1986. (Abstract).

LONDLONG, W., LONDLONG, V., CEDERBERG, C., STEFFEN, H. Dose-response study of omeprazole on meal-stimulated gastric acid secretion and gastrin release. *Gastroenterology*, 85: 1373-1378, 1983.

MARSHALL, J.K. THOMSON, A.B.R. & ARMSTRONG, D. : Omeprazole for refractory gastroesophageal reflux disease during pregnancy and lactation. *Can. J. Gastroenterol.*, 12(3):225-227, 1998.

MATON, P.N. Drug therapy: omeprazole. *New England Journal of Medicine*, 324:(14): 965-975, 1991.

MEARS, J.M. & KAPLAN, B.: Proton pump inhibitors: new drugs and indications. *Am. Fam. Physician*, 53:285-292, 1996.

MEIER, C.R., JICK, H. Omeprazole, H₂ blockers and polyarthralgia: case-control study. *Br. Med. J.*, 315(15): 1283, 1997.

- MULLER, P., SEITZ, H., SIMON, B. et al.: Acid secretion after omeprazole treatment of several days. *Dtsch Med Wochenschr*, 107: 1985, 1982. (Letter).
- NAESDAL, J., ANDERSSON, T., BODEMAR, G. et al.: Pharmacokinetics of (14C) omeprazole in patients with impaired renal function. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 40:344-351, 1986.
- NAJIB, N.M., PILLAI, G.K., SALEM, M. S., HASSAN, M.M., GHANEM, F., SALLAM, E., SHUBAIR, M.S., AL-DELQ, S. Bioequivalence study of two tablet formulations of omeprazole. *First World Meeting in Pharmaceutics, Biopharmaceutic and Pharmaceutical Technology*, 915-6, 1995.
- NATION, R.L., SANSOM, L.N. Bioequivalence requirements for generic products. *Pharmacol. Ther.*, 62 (1/2): 41-55, 1994.
- NIESSEN, W.M.A. & TINKE, A.P. *Liquid chromatography - mass spectrometry*. General principles and instrumentation. *J.Chromatogr. A*, 703: 37-57, 1995.
- NYBERG, L. Inequivalent digoxin tablets: a harsh but useful alarm. *Acta Pharm.*, 15, (4): 293, 1978.
- OLBE, L., LIND, T., CEDERBERG, C., et al.: Effect of omeprazole on gastric acid secretion in man. *Scand. J. Gastroenterol.*, 21:105-107, 1986.

PIDGEN, A.W. Statistical aspects of bioequivalence - a review. *Xenobiotica*, 22 (7): 881-893, 1992.

PILLAI, G.K., SALEM, M.S., NAJIB, N.M., JILANI, J., HASSAN, M.M., GHANEM, F., SALLAM, E., SHUBAIR, M.S., AL-DELQ, S. Bioequivalence study of two capsule formulations of omeprazole. *Acta Pharm Hung*, 66:231, 1996.

PRICHARD, P.J., YEOMANS, N.D., MIHALY, G.W., JONES, B.D., BUCKLE, P.J., SMALLWOOD, R.A., LOUIS, W.J. Omeprazole: more effective given in the morning. *Gastroenterology*, 88: 64-69, 1985.

PRISTA, L. N., PINHO, A. A., MORGADO, R. R. Sobre a velocidade de absorção de sais de ácidos fracos administrados por via oral. *Rev. Port. Farm.*, 32 (1):1-6, 1982.

PRODUCT INFORMATION PRILOSEC®, omeprazole. Merck & Company, West Point, PA, (PI revised 12/98), reviewed 5/2000.

REGARDH, C.G., GABRIELSSON, M., HOFFMAN, K.J., LOFBERG, I., SKANBERG, I. Pharmacokinetics and metabolism of omeprazole in animals and man - an overview. *Scand J Gastroenterol.*, 20 (suppl 108): 79-94, 1985.

REMINGTON: the science and practice of pharmacy. 20th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.995-1004.

RITSCHER, W.A. *Handbook of basic pharmacokinetics*. 4a. ed. Hamilton: Drug Intelligence, 1992. p.588.

ROKKAS, T., MAVROGEORGIS, A. RALLIS, E., et al.: Helicobacter pylori eradication reduces the possibility of rebleeding in peptic ulcer disease. *Gut* 34(suppl):188, 1993. (Abstract).

ROSENGREN, H. & POLSON, R.J.: The role of screening for Helicobacter pylori in patients with duodenal ulceration in the primary health care setting. *Br. J. Gen. Pract.*, 46:177-179, 1996.

SAKAIRI, M., KAMBARA, H. Atmospheric-pressure spray ionization for liquid chromatography – mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 61: 1159-64, 1989.

SANCHEZ-MORCILLO, J., CEREZO, A., SUÑE, J.M. Estudios de disolución in vitro en comprimidos de dexametasona. *Boll. Chim. Farm.*, 114 (8) 457-467, 1975.

SANE, R.T., GHADGE, J.K., JANI, A.B., VAIDYA, A.J., KOTWAL, S.S. Comparative evaluation of pharmacokinetic and bioequivalence study of omeprazole capsules in healthy Indian men. *Indian drugs*, 29:445-6, 1992.

SCHOEFF, M.S., WILLIAMS, R.H. *Principles of Laboratory Instruments*. St Louis: Mosby, 1993.

SCHULZ, H.U., STEINIJANS, V.W. Striving for standards in bioequivalence assessment: a review. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 29 (8): 293-298, 1991.

SMITH, R.D., JOHNSON, A.L. Deposition method for moving-ribbon liquid chromatograph – mass spectrometer interfaces. *Anal. Chem.*, 53: 739-40, 1981.

SMITH, R.D, LOO, J.A., EDMONDS, C.G., BARINAGA, C.J., UDSETH, H.R. New developments in biochemical mass spectrometry: electrospray ionization. *Anal. Chem.*, 62: 882-99, 1990.

SPIPKER, B. *Guide to clinical trials*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p. 638-647.

STEINIJANS, V.W., HAUCK, W.W, DILETTI, E., HAUSCHKE, D., ANDERSON, S. Effect of changing the bioequivalence range from (0.80, 1.20) to (0.80, 1.25) on the power and sample size. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 30 (12): 571-575, 1992.

- TAYEBI, L., MOTEVALIAN, M., SAEEDI, G., KEYHANFAR, L. MAHMOUDIAN, M.
Simultaneous determination of omeprazole and its metabolites in human plasma by HPLC using solid-phase extraction. *Pharma Pharmacol. Commun., (Tehran)*, 5: 265-268, 1999.
- THOMSON, A.B.R., SINCLAIR, P., MATISKO, A., et al.: Influence of food on the bioavailability of an enteric-coated tablet formulation of omeprazole 20 mg under repeated dose conditions. *Can. J. Gastroenterol.*, 11(8):663-667, 1997.
- THOMSON, A.B.R., KIRDEIKIS, P., LASTIWKA, R., et al.: Pharmacokinetics and pharmacokinetics during treatment with omeprazole 20 mg enteric-coated tablet and 20 mg capsule in asymptomatic duodenal ulcer patients. *Can. J. Gastroenterol.*, 11(8):657-660, 1997a.
- TREIBER, G.: The influence of drug dosage on *Helicobacter pylori* eradication: a cost-effectiveness analysis. *Am. J. Gastroenterol.*, 91: 246-257, 1996.
- UNGE, P., SVEDBERG, L.E., NORDGREN, A., BLOW, H., ANDERSSON, T. LAGERSTROM, P.D., IDSTROM, J.P. A study of the interaction of omeprazole and warfarin in anticoagulated patients. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 34:509-512, 1992.
- UNGE, P.: Review of *helicobacter pylori* eradication regimens. *Scand. J. Gastroenterol.*, 215 (suppl.):74-81, 1996.

VARONA, L., RUIZ, J. & ZARRANZ, J.J.: Gait ataxia during omeprazole therapy.
Ann. Pharmacother, 30:192, 1996.

WALLMARK, B. CARLSSON, E., LARSSON, H., BRÄNDSTRÖM, A. LINDBERG, P. New inhibitors of gastric acid secretion: properties and design of H⁺K⁺ATPase blockers. In: LAMBERT, R.W., 3rd Ed. SCI-RSC Medical Chemistry Symposium. London: Whitstable Litho, 1986. p. 293-311.

WALLMARK, B. Omeprazole: mode of action and effects on acid secretion in animals. *Scand. J. Gastroenterol.*, 24 (suppl 166): 12-18, 1989.

WELLINDER, B.S., KORNFELT, T., SORENSEN, H.H.; *Analytical Chemistry*, 67, p. 39-43, 1995.

WOOLF, E.J., MATUSZEWSKI, B.K. Simultaneous determination of omeprazole and 5'-hydroxyomeprazole in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*; 828:229-38, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. 34 Report. Geneva: WHO, 1996 p.44.

ZANINI, A.C., OGA, S. *Farmacologia Aplicada*. 5.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 1994. p.11-21, 45-63.

Anexo 1

Estudo de bioequivalência de uma formulação de omeprazol cápsula 20mg Medley S/A Indústria Farmacêutica *versus* uma formulação de omeprazol cápsula 20mg da Libbs Farmacêutica Ltda. em Voluntários Sadios de Ambos os Sexos.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Responsáveis:

O abaixo-assinado, _____, _____ anos, RG número _____ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade dos médicos Gilberto de Nucci e Celso Henrique de Oliveira da Unidade Analítica Cartesius - ICB -USP. O abaixo-assinado está ciente de que:

i - O objetivo da pesquisa é verificar se cápsula de 20mg de omeprazol (Omeprazol) da Medley S/A Indústria Farmacêutica atinge nível no sangue equivalente à cápsula de 20mg de omeprazol (Peprazol®) – da Libbs Farmacêutica Ltda.

ii - Durante o estudo, será internado duas vezes por 24 horas cada período, com intervalo mínimo de 7 dias. Em cada internamento, serão administrados por boca 20mg de omeprazol na forma de cápsula. Serão coletadas 15 amostras de sangue de 6 mL cada, através de agulha introduzida na veia de antebraço, em cada internamento.

iii - A participação neste estudo não tem objetivo de submetê-lo a um tratamento terapêutico.

iv - A administração por boca de omeprazol de maneira continuada pode causar reações como coceira pelo corpo, queda de pelos e cabelos, fraqueza muscular, dores nas juntas, dores nos músculos das pernas, dor de cabeça, cansaço, sonolência, falta de sono, diarreia, dor na barriga, vômitos, excesso de gases. Entretanto, o aparecimento de efeitos indesejáveis após administração de dose única de omeprazol tem menor probabilidade de aparecer. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

v - Será submetido antes da primeira e após a segunda internação aos seguintes exames laboratoriais: de sangue (hemograma, transaminases, fosfatase alcalina, bilirrubina total, proteínas, colesterol, triglicérides, uréia, creatinina e ácido úrico), de urina (sumário de urina), e do coração (eletrocardiograma). Exames para HIV, hepatites B e C e parasitológico de fezes serão realizados apenas antes da primeira internação.

vi - Obteve todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido ensaio clínico.

Anexo 2

Registro de eventos adversos

Voluntário nº: _____ Iniciais do Voluntário: _____

Eventos Adversos

Efeitos adversos durante o estudo? () Sim () Não

Descrição	Data de início	Severidade			Atribuída a droga?				Ação adotada
		Leve	Mod.	Sev.	Sim	Pos	Não	Des	
1.		()	()	()	()	()	()	()	
2.		()	()	()	()	()	()	()	
3.		()	()	()	()	()	()	()	

Mod. = Moderada Sev. = Severa Pos. = Possível Des = Desconhecida

Comentários

MEDICAÇÃO PARA TRATAMENTO DE EVENTOS ADVERSOS

Voluntário nº: _____ Iniciais do Voluntário: _____

Medicação

Se o voluntário teve qualquer efeito adverso que necessitou uso de drogas para tratamento, abaixo encontram-se todas as informações correspondentes

Nº do efeito adverso	Droga administrada (nome genérico ou comercial)	Via (oral, IV., IM.)	Dosagem (mg/dose, nº doses/dia)	Dose total administrada (mg)
1.				
2.				
3.				

Comentários

Anexo 3

Definições de eventos adversos

Intensidade

Leve	Experiência adversa facilmente tolerada.
Moderada	Experiência adversa desagradável o bastante para interferir na atividade cotidiana.
Severa	Experiência adversa que impossibilita a realização da atividade cotidiana normal.

Relacionamento suposto com a droga experimental

Não	A experiência adversa definitivamente não está relacionada à droga em teste.
Desconhecida	Há outras causas mais prováveis e não há suspeitas de que a droga seja a causa.
Possível	Não foi demonstrado um relacionamento de causa e efeito direto entre a droga e a experiência adversa, porém, há uma possibilidade razoável de que a droga esteja envolvida.
Sim	Há um relacionamento direto de causa e efeito entre a experiência e a droga em estudo.

EVENTO ADVERSO SÉRIO

É qualquer experiência:

- Que é fatal
- Que põe a vida em risco
- Que debilita/incapacita
- Que resulta em hospitalização
- Que o pesquisador interpreta como séria ou que sugere um risco, contra-indicação, efeito colateral ou precaução significativa(o) que possa estar associada(o) ao uso da droga e que deve ser relatada como séria.

Quaisquer experiências (eventos) adversas sérias que ocorram a qualquer tempo durante o estudo clínico ou dentro de cinco meias-vidas, desde a última dose da medicação em estudo, que estejam ou não relacionadas com a medicação em estudo, devem ser relatadas pelo investigador clínico.

Caso ocorra uma experiência adversa séria, entre em contato com o coordenador e/ou monitor do estudo imediatamente (em até 24 horas).

Anexo 4

Estudo de bioequivalência de uma formulação de omeprazol cápsula 20mg da Medley S/A Indústria Farmacêutica *versus* uma formulação de omeprazol cápsula 20mg da Libbs Farmacêutica Ltda. em Voluntários Sadios de Ambos os Sexos.

Lista de randomização

Seqüência de Administrações			
Voluntários		Período I	Período II
01		Omeprazol	Peprazol®
02		Peprazol®	Omeprazol
03		Omeprazol	Peprazol®
04		Peprazol®	Omeprazol
05		Omeprazol	Peprazol®
06		Peprazol®	Omeprazol
07 - Retirado		Peprazol®	Omeprazol
08		Omeprazol	Peprazol®
09		Peprazol®	Omeprazol
10		Omeprazol	Peprazol®
11		Omeprazol	Peprazol®
12		Peprazol®	Omeprazol
13		Peprazol®	Omeprazol
14		Omeprazol	Peprazol®
15		Peprazol®	Omeprazol
16		Omeprazol	Peprazol®
17		Peprazol®	Omeprazol
18		Peprazol®	Omeprazol
19		Omeprazol	Peprazol®
20		Omeprazol	Peprazol®
21		Peprazol®	Omeprazol
22		Omeprazol	Peprazol®
23		Peprazol®	Omeprazol
24		Omeprazol	Peprazol®

Teste Omeprazol – Medley S/A Indústria Farmacêutica
Referência **Peprazol®** - Libbs Farmacêutica Ltda.

Anexo 5

Transporte de Amostras

Procedimentos Operacionais Padrão para Transporte das Amostras do Hospital Universitário- USP
para a Unidade Analítica Cartesius - ICB - USP

As amostras de sangue serão centrifugadas logo após a coleta na área destinada a ensaios clínicos nos Hospital Universitário, e o plasma será colocado dentro de tubos identificados com o nome do estudo, iniciais e número do voluntário, horário da coleta. Serão embalados por voluntário e por fase e colocados em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas no próprio Hospital.

Ao término do período do estudo, serão retiradas do freezer e acondicionadas em caixa térmica, mantidas em baixa temperatura, através da adição de gelo em quantidade suficiente para mantê-las congeladas.

A caixa térmica será isolada e embalada adequadamente para evitar troca de temperatura.

Em seguida, a caixa térmica será identificada e transportada para a Unidade Analítica Cartesius, onde serão armazenadas à temperatura de vinte graus Celsius negativos, em freezer exclusivo para amostras biológicas, após terem sido verificadas as condições de congelamento. A temperatura máxima e mínima atingida durante o transporte serão verificadas.

Em caso de descongelamento durante o transporte, e conforme as características de estabilidade térmica do fármaco em estudo, as amostras poderão ser descartadas.

Anexo 6



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2419 - cep. 05306-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (65) (11) 38190600 - telefax : (66) (11) 3818-7428
e-mail: icbcedir@icb.usp.br

São Paulo, 25 de setembro de 2000

PARECER 083 /CEP

Prezado Professor,

Atendendo sua solicitação a *Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB*, em sua décima sétima reunião, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulado: **"ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE OMEPRAZOL 20mg (Medley versus Libbs) EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS SEXOS"**.

Informo que, após análise e discussão, o referido projeto foi aprovado por esta Comissão.

Atenciosamente,

Prof. Dr. GERHARD MALNIC
Vice-Presidente da Comissão de Ética
em Pesquisas com Seres Humanos - ICB /USP
Em exercício

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. GILBERTO DE NUCCI
Departamento de Farmacologia
Instituto de Ciências Biomédicas - USP

Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas / USP
Aprovada pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, em 10 de fevereiro de 1998.

Anexo 7

Concentrações plasmáticas individuais

Concentração Plasmática: ng/mL

Voluntário	1		2		3		4	
Hora	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol
0.00	0.0	0.0	0.0	8.9	0.0	0.0	0.0	0.0
0.17	0.0	0.0	0.0	3.4	0.0	0.0	0.0	0.0
0.33	0.0	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.50	0.0	21.3	0.0	3.3	8.8	4.4	0.0	0.0
0.67	0.0	48.8	114.8	0.0	39.7	76.0	2.9	4.6
0.83	3.2	79.9	301.4	0.0	76.6	349.0	26.2	31.5
1.00	5.4	91.9	327.4	6.9	275.6	746.3	49.4	66.9
1.50	500.2	343.3	220.4	23.4	739.1	569.9	304.3	96.5
2.00	687.4	625.0	127.5	32.4	753.0	532.8	302.4	230.7
3.00	303.7	244.7	39.9	249.1	244.1	208.3	91.0	124.8
4.00	116.6	76.8	12.0	61.3	184.7	96.6	27.6	35.4
5.00	54.2	33.5	2.5	22.2	51.7	55.6	3.4	3.5
6.00	19.2	16.0	0.0	8.7	21.1	26.0	0.0	0.0
8.00	4.7	3.0	0.0	0.0	5.1	6.6	0.0	0.0
12.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	5		6		7		8	
0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	Drop Out	Drop Out	0.0	0.0
0.17	0.0	0.0	0.0	0.0	Drop Out	Drop Out	0.0	0.0
0.33	6.0	67.7	32.0	5.7	Drop Out	Drop Out	3.0	0.0
0.50	140.4	160.3	611.9	149.9	Drop Out	Drop Out	21.2	3.0
0.67	194.0	308.7	1917.3	942.3	Drop Out	Drop Out	66.0	11.8
0.83	262.1	385.7	1856.0	796.8	Drop Out	Drop Out	105.1	24.5
1.00	298.0	435.1	2078.0	1034.5	Drop Out	Drop Out	346.7	35.5
1.50	260.4	238.7	1808.2	1235.9	Drop Out	Drop Out	792.4	63.5
2.00	149.4	156.0	1434.6	1772.1	Drop Out	Drop Out	333.1	62.5
3.00	40.7	43.8	1240.5	1486.7	Drop Out	Drop Out	319.8	734.6
4.00	16.0	7.7	756.3	802.5	Drop Out	Drop Out	208.3	302.7
5.00	0.0	0.0	478.9	525.0	Drop Out	Drop Out	72.8	84.9
6.00	0.0	0.0	304.5	383.1	Drop Out	Drop Out	37.0	26.8
8.00	0.0	0.0	162.8	167.7	Drop Out	Drop Out	2.9	4.8
12.00	0.0	0.0	40.4	68.8	Drop Out	Drop Out	0.0	0.0
24.00	0.0	0.0	0.0	0.0	Drop Out	Drop Out	0.0	0.0

Concentração Plasmática: ng/mL

Voluntário	9		10		11		12	
Hora	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol
0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.17	0.0	0.0	0.0	24.4	0.0	0.0	0.0	0.0
0.33	0.0	0.0	9.6	136.1	5.6	0.0	0.0	0.0
0.50	0.0	0.0	80.9	358.4	0.0	0.0	0.0	3.8
0.67	0.0	0.0	210.8	475.3	10.1	0.0	0.0	19.6
0.83	0.0	0.0	595.9	767.3	10.6	0.0	0.0	0.0
1.00	15.4	0.0	642.8	579.7	29.2	0.0	0.0	10.4
1.50	325.1	6.8	647.6	387.7	59.3	31.3	3.5	86.8
2.00	292.8	12.3	401.0	249.0	21.3	79.5	254.3	85.1
3.00	141.4	209.0	122.1	109.3	3.8	11.1	50.5	28.3
4.00	31.2	55.9	43.3	32.0	0.0	0.0	8.0	13.2
5.00	8.9	16.0	20.0	12.1	0.0	0.0	17.1	0.0
6.00	2.7	5.6	10.4	4.8	0.0	0.0	0.0	0.0
8.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
12.00	0.0	0.0	0.0	0.0	Not Included	0.0	0.0	0.0
24.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	13		14		15		16	
0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.17	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.33	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.4
0.50	0.0	0.0	0.0	6.4	0.0	0.0	9.8	24.0
0.67	0.0	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0	239.4	133.0
0.83	0.0	93.7	0.0	17.6	0.0	2.9	412.6	281.7
1.00	0.0	207.9	0.0	15.4	2.7	133.5	404.7	376.1
1.50	0.0	527.7	5.0	18.0	14.7	140.5	233.8	270.2
2.00	0.0	367.5	11.4	58.2	46.2	130.4	163.2	179.0
3.00	183.3	79.7	47.1	35.6	235.9	231.9	40.9	64.0
4.00	48.8	31.5	9.3	7.1	127.8	79.8	14.7	25.7
5.00	51.7	11.5	0.0	0.0	62.7	37.8	4.7	11.3
6.00	18.9	3.4	0.0	0.0	23.2	18.2	0.0	4.3
8.00	0.0	0.0	0.0	0.0	4.4	3.4	0.0	0.0
12.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Concentração Plasmática: ng/mL

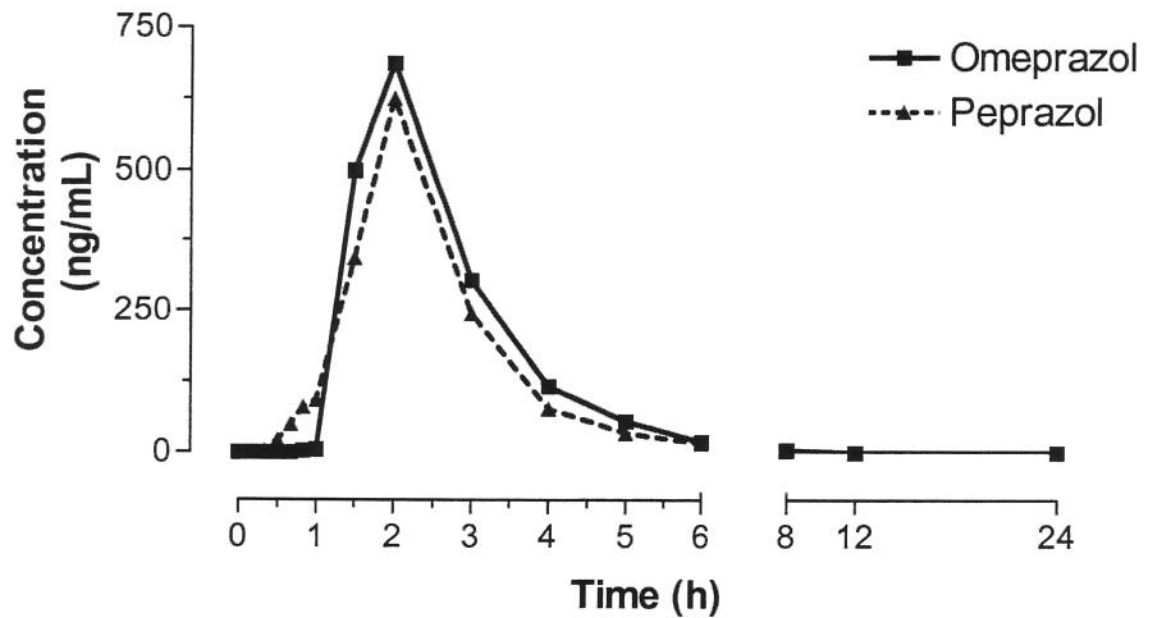
Voluntário	17		18		19		20	
Hora	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol	Omeprazol	Peprazol
0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.17	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.33	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.1	2.8	0.0
0.50	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	24.9	3.8	0.0
0.67	5.4	5.7	4.2	28.7	2.8	70.3	6.1	3.0
0.83	258.9	21.4	50.2	62.7	0.0	174.2	9.0	3.4
1.00	565.4	33.8	333.5	61.2	0.0	233.5	46.6	4.6
1.50	739.8	47.0	745.4	102.1	0.0	139.2	286.3	9.9
2.00	421.0	84.1	568.9	286.7	0.0	87.2	279.1	134.8
3.00	141.3	290.5	146.2	178.3	55.3	Not Included	120.5	126.9
4.00	57.6	153.7	45.5	44.7	123.0	50.4	31.2	46.6
5.00	25.7	34.6	23.6	26.0	33.2	20.1	18.8	18.4
6.00	9.8	15.9	8.1	11.7	25.1	11.8	5.4	7.8
8.00	0.0	0.0	0.0	0.0	9.8	3.9	2.7	3.9
12.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	21		22		23		24	
0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.17	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.33	5.4	0.0	2.9	6.0	10.8	0.0	0.0	4.3
0.50	30.7	4.1	59.1	55.5	178.0	0.0	0.0	121.2
0.67	10.8	25.5	121.0	44.9	833.2	0.0	0.0	235.9
0.83	111.1	169.5	312.7	188.4	980.2	0.0	0.0	285.6
1.00	56.7	648.7	275.0	280.6	776.2	3.1	0.0	253.4
1.50	465.7	850.1	171.5	571.5	369.8	12.6	0.0	175.1
2.00	253.3	619.7	92.6	456.4	246.1	42.0	208.3	110.4
3.00	237.4	203.8	Not Included	165.6	77.4	270.3	115.9	44.2
4.00	90.4	74.7	76.5	65.6	28.0	96.8	27.3	9.4
5.00	43.9	33.0	33.3	30.3	9.3	40.5	6.8	0.0
6.00	17.1	15.4	13.6	13.1	3.6	14.4	0.0	0.0
8.00	5.1	4.0	3.2	3.8	0.0	2.9	0.0	0.0
12.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
24.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

* Para análise estatística, todos os pontos 'not included' foram interpolados. Zeros são zeros verdadeiros ou valores não quantificáveis.

Anexo 8

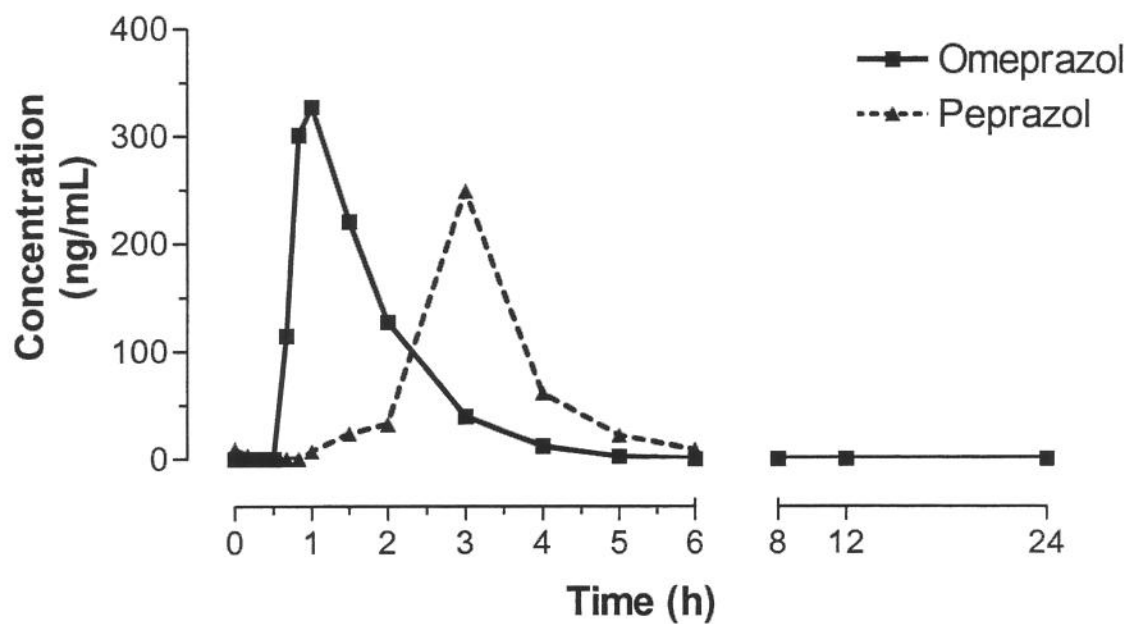
Curvas individuais da concentração plasmática *versus* tempo e parâmetros
farmacocinéticos

Vol. I - ARCR



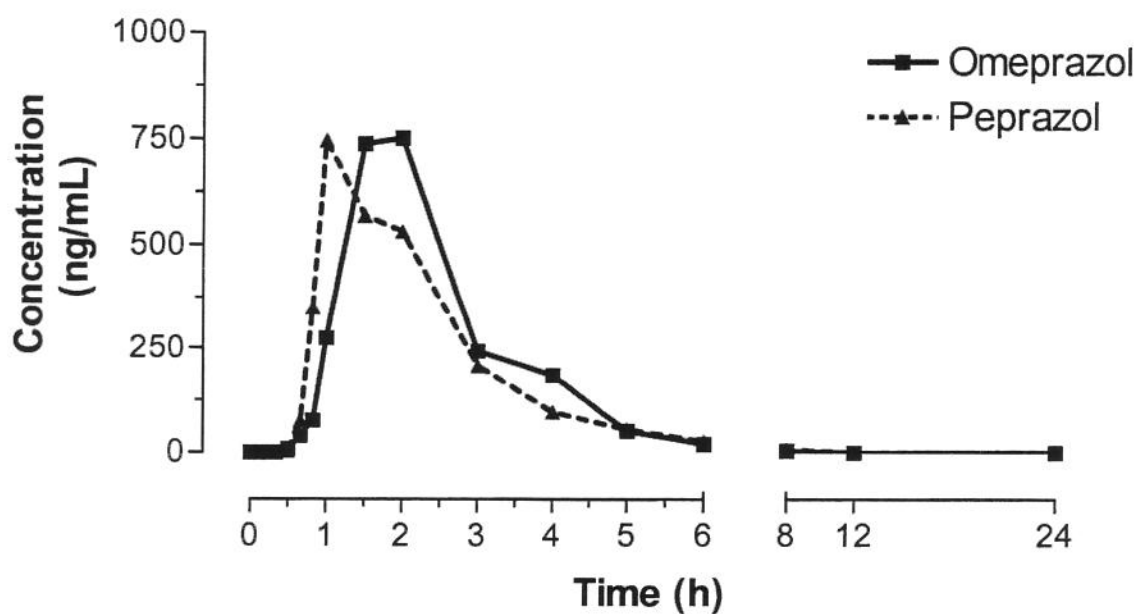
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	1276	1079
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1281	1082
AUC last / Inf (%)	99.6	99.7
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1285	1085
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.3	100.2
Cmax (ng/ml)	687	625
Tmax (h)	2.00	2.00
T _{1/2} (h)	0.8	0.9
Ke (1/h)	0.84	0.81

Vol. II - MN



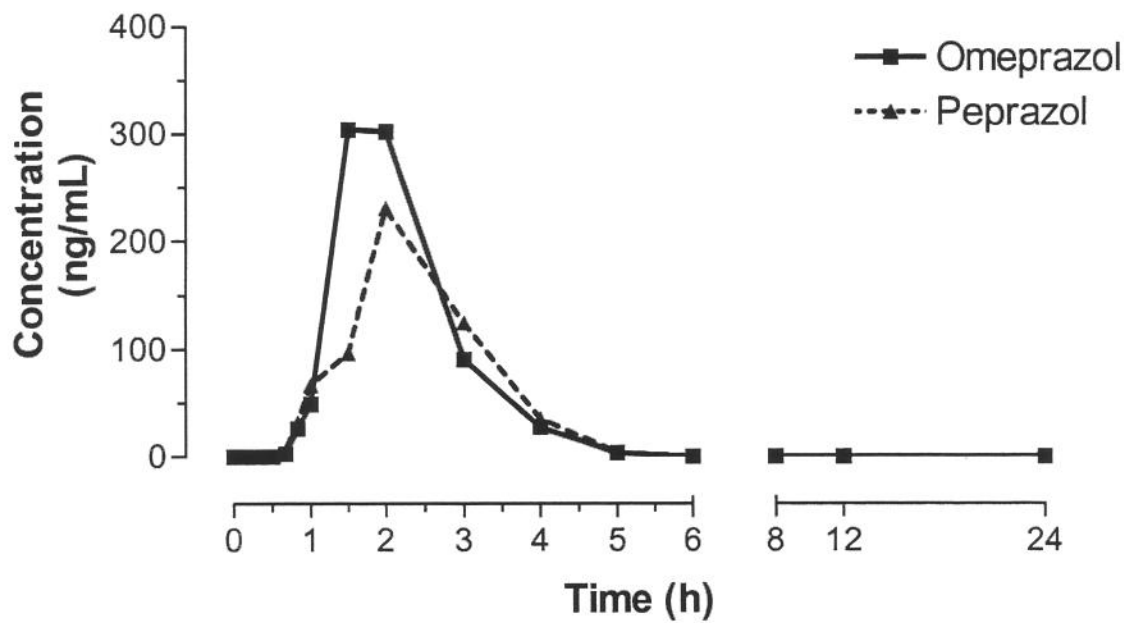
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	5	5
AUC last ([ng * h]/ml)	437	362
AUC Inf ([ng * h]/ml)	439	386
AUC last / Inf (%)	99.5	93.7
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	439	386
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.8	99.9
Cmax (ng/ml)	327	249
Tmax (h)	1.00	3.00
T _{1/2} (h)	0.5	0.7
Ke (1/h)	1.26	0.98

Vol. III - MJM



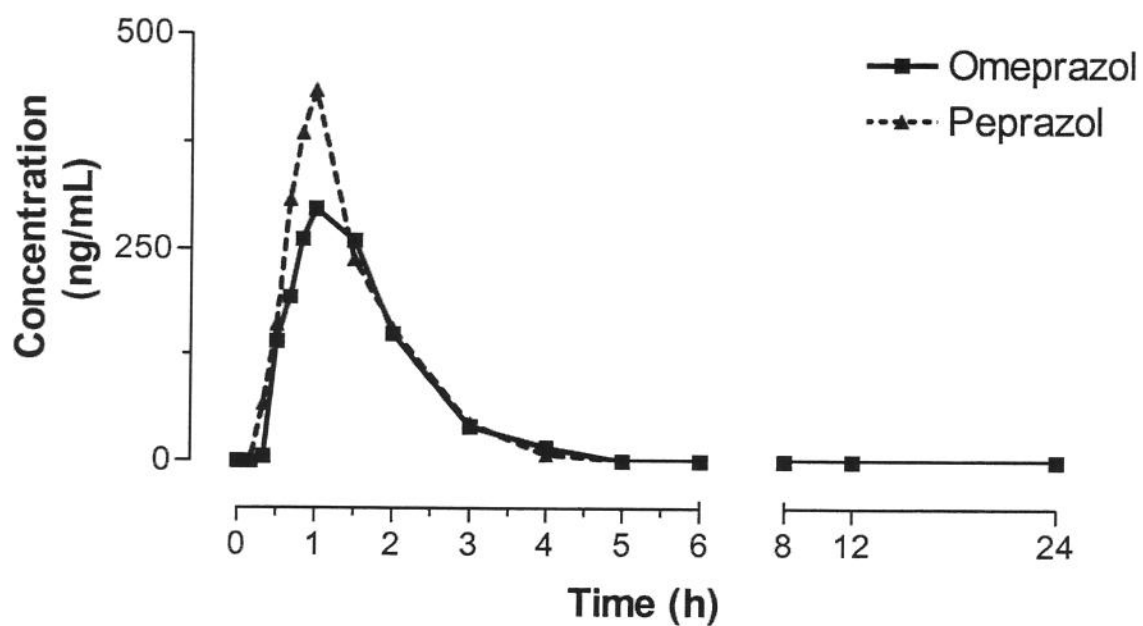
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	1564	1411
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1571	1420
AUC last / Inf (%)	99.6	99.3
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1574	1424
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.2	100.3
Cmax (ng/ml)	753	746
Tmax (h)	2.00	1.00
T _{1/2} (h)	0.9	1.0
Ke (1/h)	0.76	0.71

Vol. IV - SRL



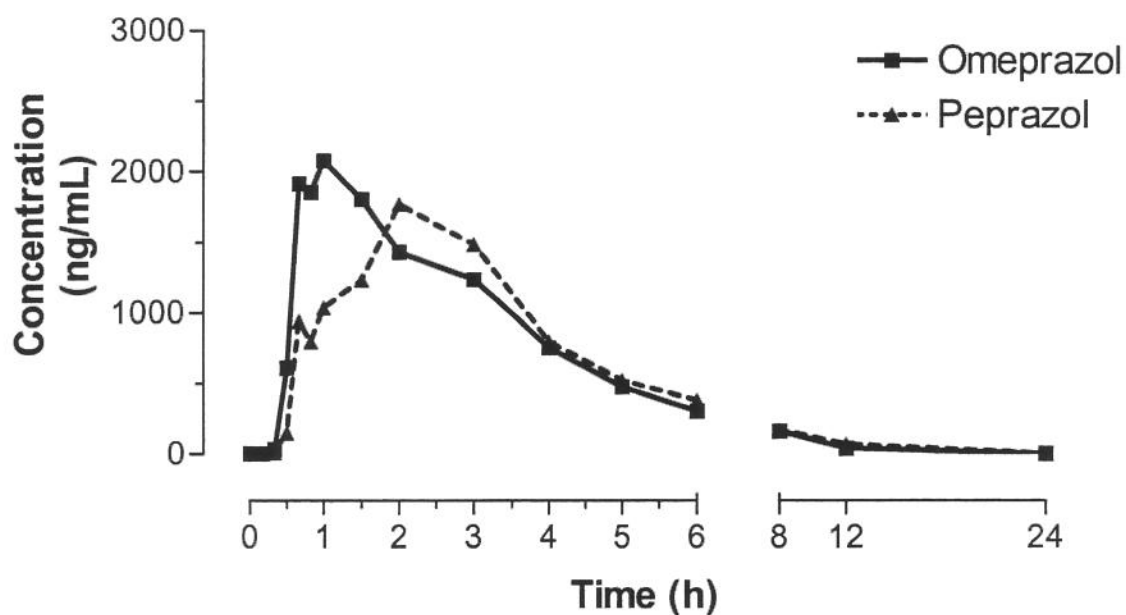
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	5	5
AUC last ([ng * h]/ml)	521	411
AUC Inf ([ng * h]/ml)	523	413
AUC last / Inf (%)	99.6	99.5
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	522	413
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.9	100.0
Cmax (ng/ml)	304	231
Tmax (h)	1.50	2.00
T _{1/2} (h)	0.5	0.4
Ke (1/h)	1.46	1.79

Vol. V - ASSS



	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	4	4
AUC last ([ng * h]/ml)	491	583
AUC Inf ([ng * h]/ml)	505	588
AUC last / Inf (%)	97.2	99.1
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	499	587
AUCall (0-24h) / Inf (%)	98.8	99.8
Cmax (ng/ml)	298	435
Tmax (h)	1.00	1.00
T _{1/2} (h)	0.6	0.5
Ke (1/h)	1.13	1.51

Vol. VI - GFV

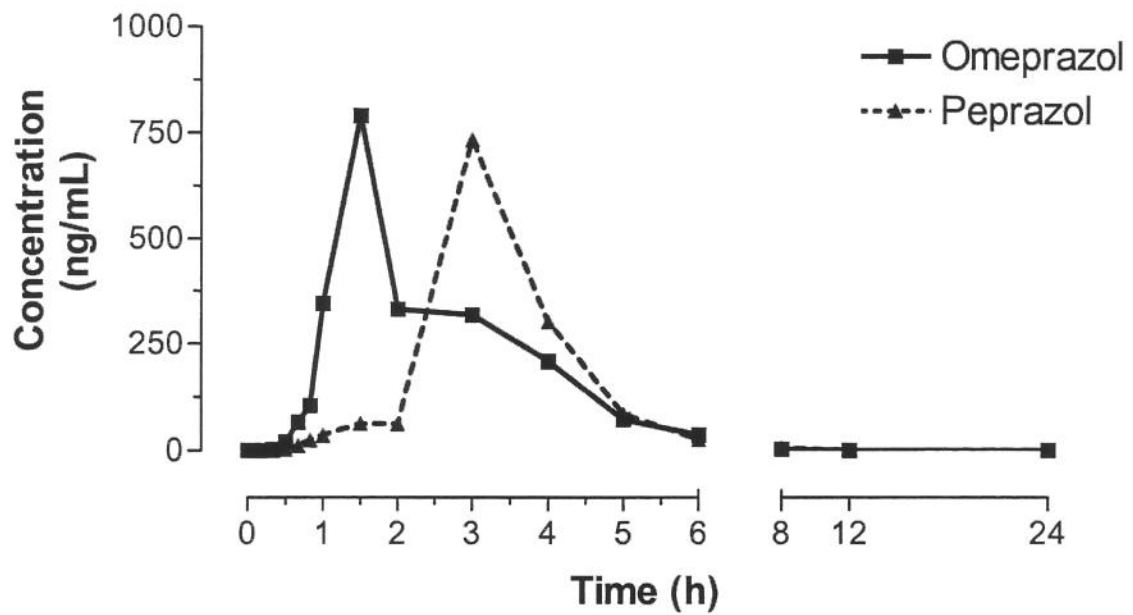


	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	12	12
AUC last ([ng * h]/ml)	6910	6637
AUC Inf ([ng * h]/ml)	7030	6861
AUC last / Inf (%)	98.3	96.7
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	7153	7050
AUCall (0-24h) / Inf (%)	101.8	102.7
Cmax (ng/ml)	2078	1772
Tmax (h)	1.00	2.00
T _{1/2} (h)	2.1	2.3
Ke (1/h)	0.34	0.31

DROP OUT

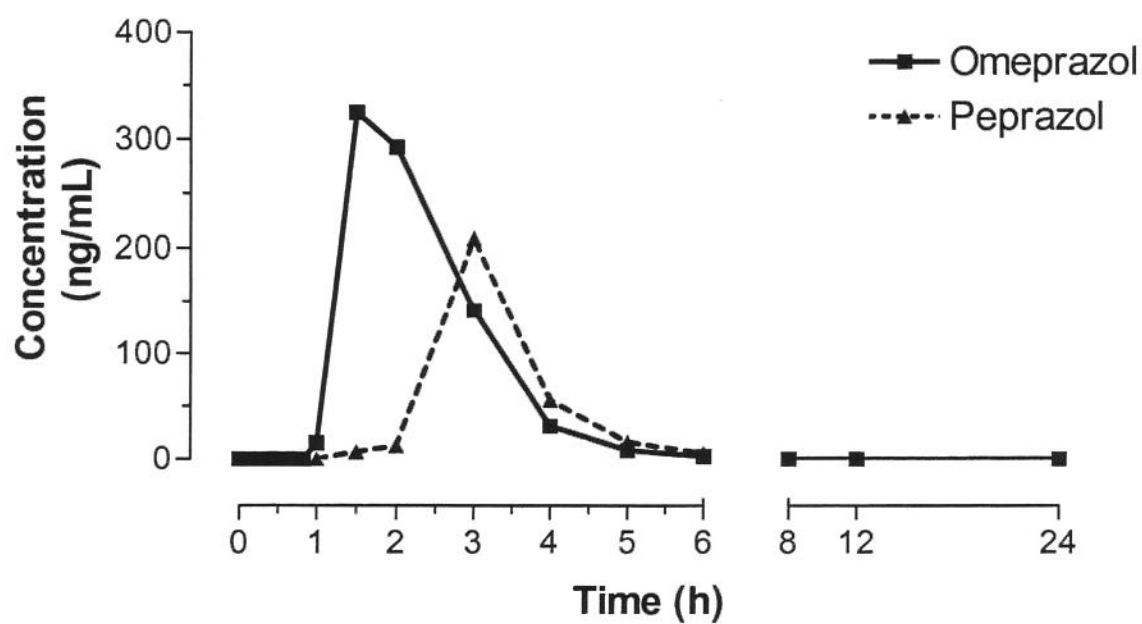
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)		
AUC last ([ng * h]/ml)		
AUC Inf ([ng * h]/ml)		
AUC last / Inf (%)		
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)		
AUCall (0-24h) / Inf (%)		
Cmax (ng/ml)		
Tmax (h)		
T _{1/2} (h)		
Ke (1/h)		

Vol. VIII - MSS



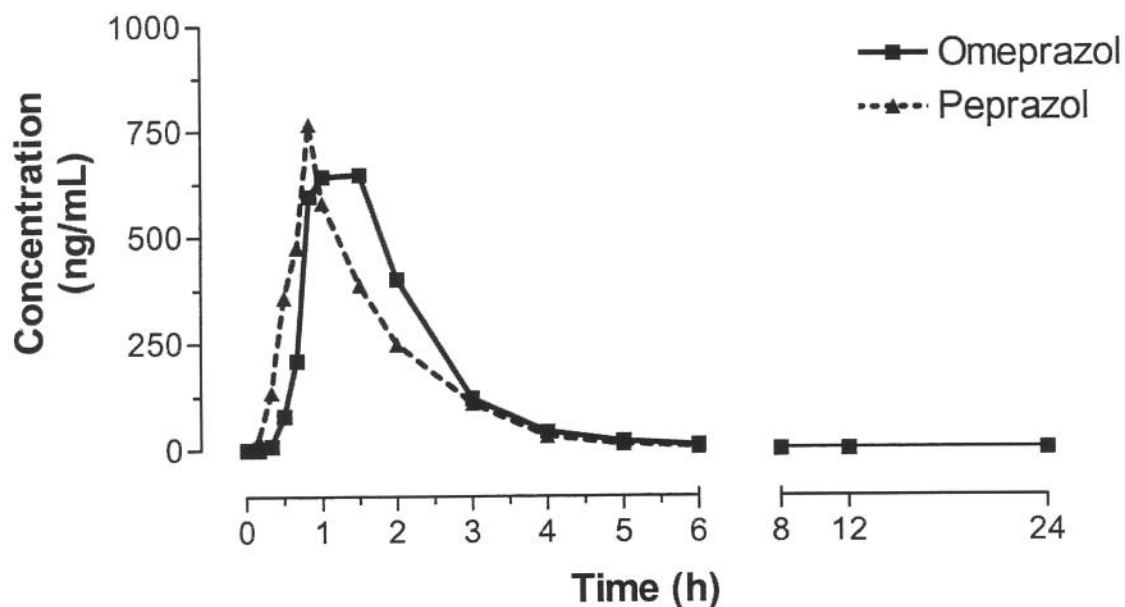
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	1453	1264
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1456	1269
AUC last / Inf (%)	99.8	99.6
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1459	1274
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.2	100.4
Cmax (ng/ml)	792	735
Tmax (h)	1.50	3.00
T _{1/2} (h)	0.7	0.7
Ke (1/h)	1.06	1.03

Vol. IX - DRS



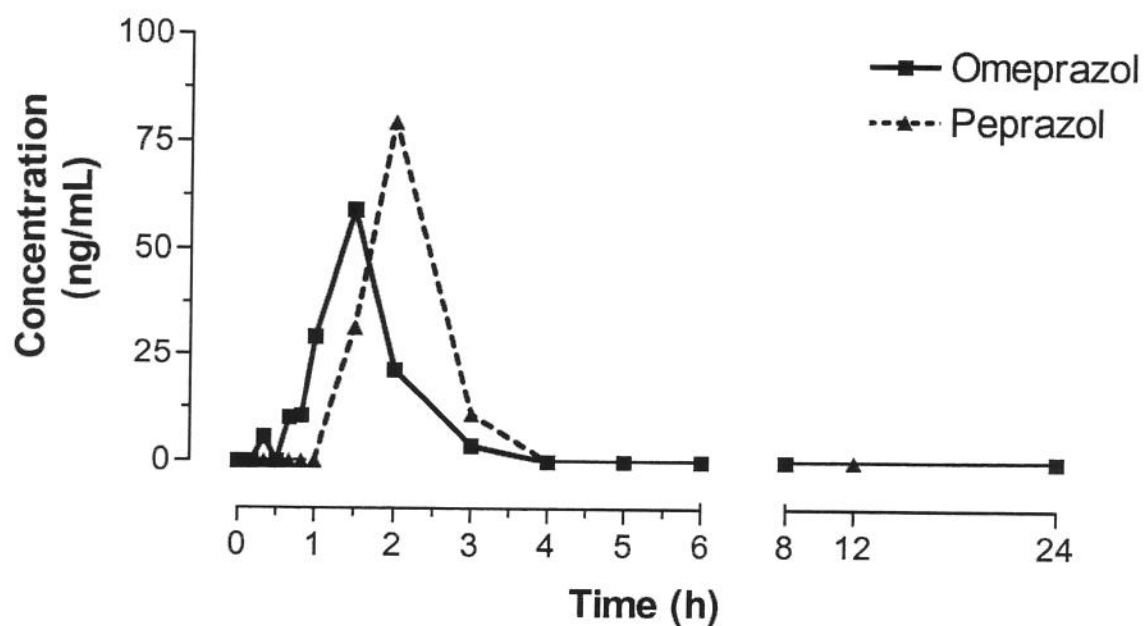
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	6	6
AUC last ([ng * h]/ml)	570	296
AUC Inf ([ng * h]/ml)	572	301
AUC last / Inf (%)	99.6	98.4
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	573	302
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.1	100.3
Cmax (ng/ml)	325	209
Tmax (h)	1.50	3.00
T _{1/2} (h)	0.6	0.6
Ke (1/h)	1.22	1.21

Vol. X - ECR



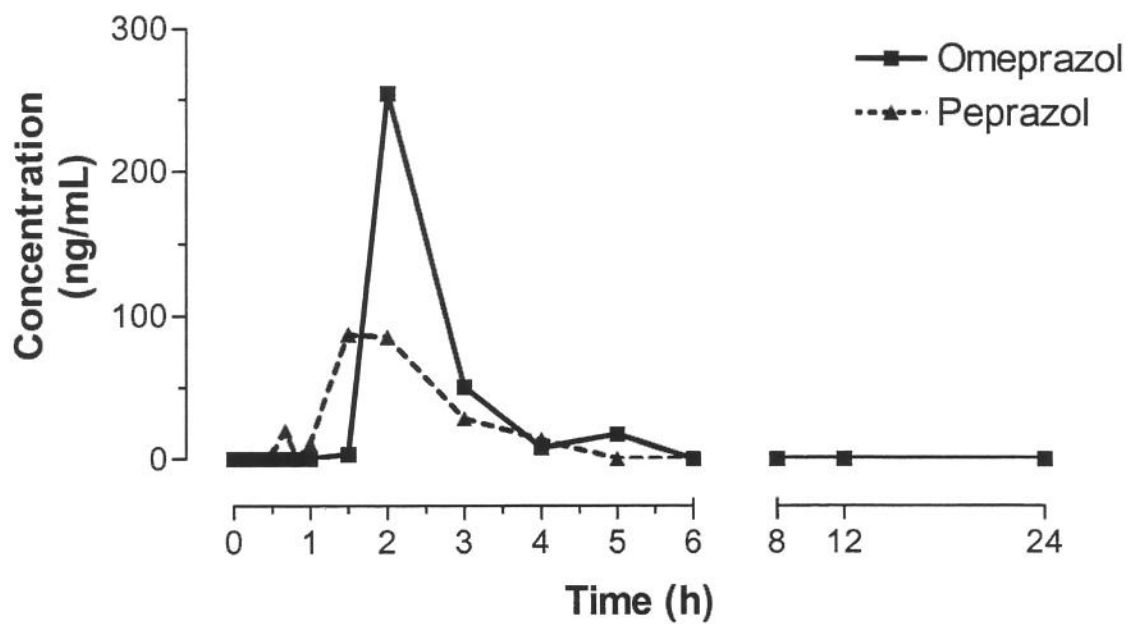
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	6	6
AUC last ([ng * h]/ml)	1179	1023
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1193	1028
AUC last / Inf (%)	98.8	99.5
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1189	1028
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.7	100.0
Cmax (ng/ml)	648	767
Tmax (h)	1.50	0.83
T _{1/2} (h)	1.0	0.7
Ke (1/h)	0.71	0.95

Vol. XI - ICS



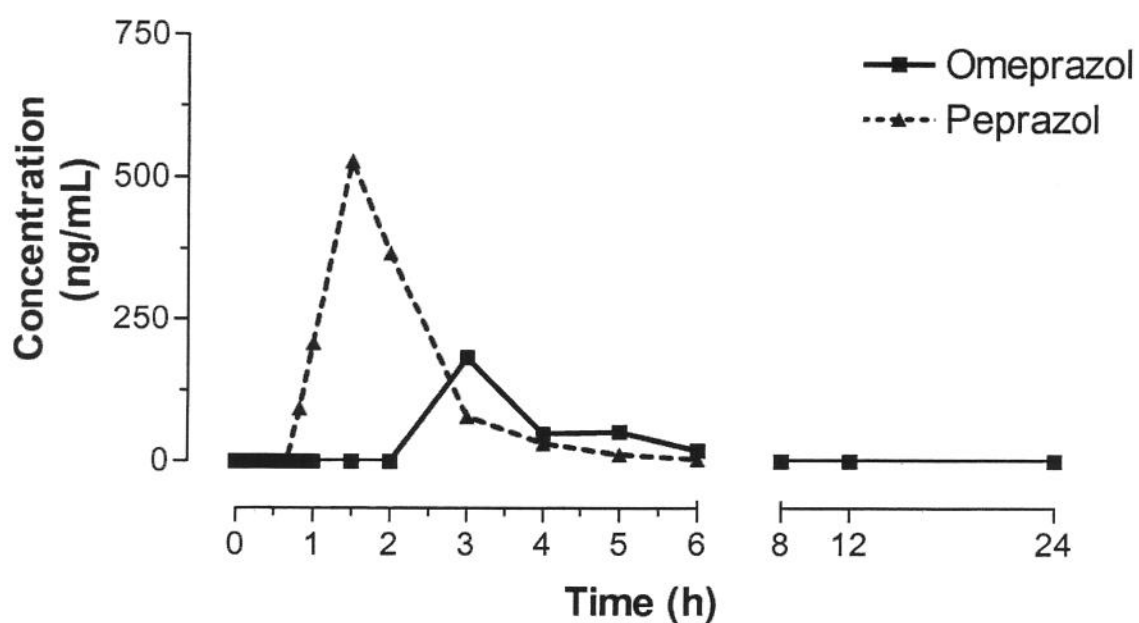
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	3	3
AUC last ([ng * h]/ml)	62	81
AUC Inf ([ng * h]/ml)	64	93
AUC last / Inf (%)	96.7	86.5
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	64	86
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.7	92.4
Cmax (ng/ml)	59	80
Tmax (h)	1.50	2.00
T _{1/2} (h)	0.4	0.8
Ke (1/h)	1.82	0.88

Vol. XII - RVB



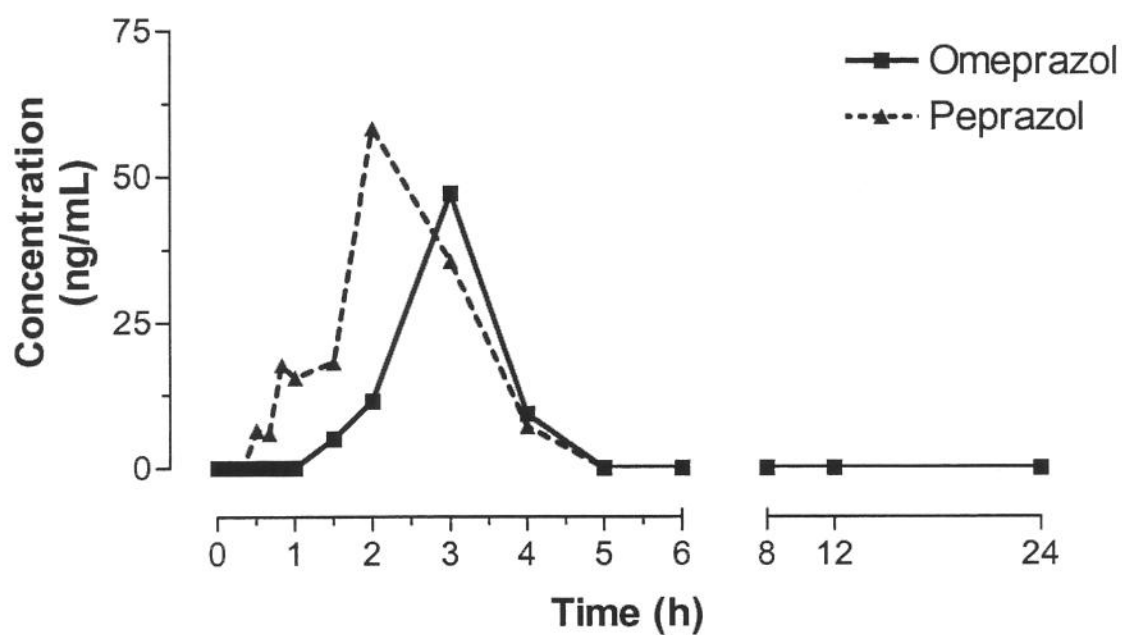
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	4	4
AUC last ([ng * h]/ml)	247	150
AUC Inf ([ng * h]/ml)	277	164
AUC last / Inf (%)	89.2	91.3
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	268	156
AUCall (0-24h) / Inf (%)	96.9	95.4
Cmax (ng/ml)	254	87
Tmax (h)	2.00	1.50
T _{1/2} (h)	0.7	0.7
Ke (1/h)	0.99	0.93

Vol. XIII - AMI



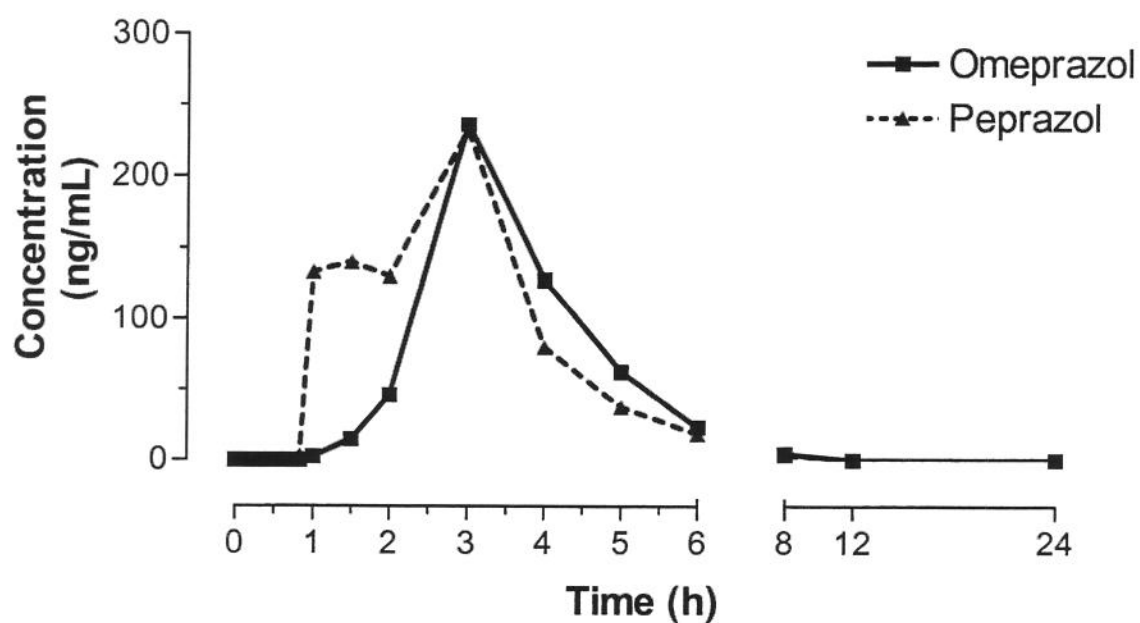
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	6	6
AUC last ([ng * h]/ml)	293	749
AUC Inf ([ng * h]/ml)	321	752
AUC last / Inf (%)	91.3	99.6
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	312	752
AUCall (0-24h) / Inf (%)	97.2	100.0
Cmax (ng/ml)	183	528
Tmax (h)	3.00	1.50
T _{1/2} (h)	1.0	0.7
Ke (1/h)	0.68	1.04

Vol. XIV - CCR



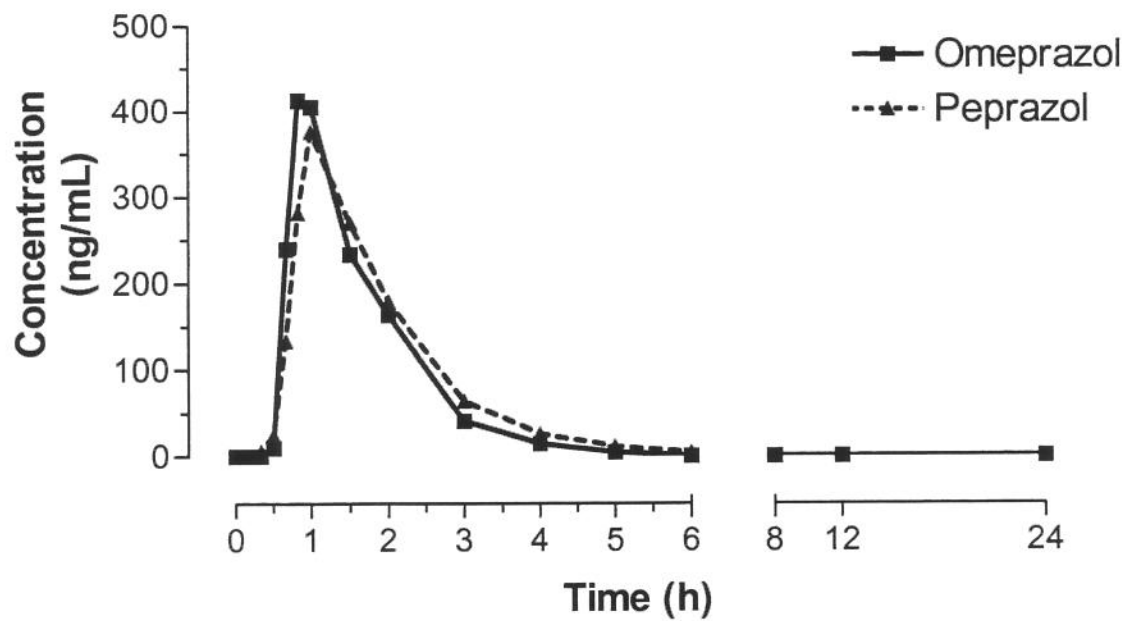
	Omeprazol	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	4	4
AUC last ([ng * h]/ml)	63	102
AUC Inf ([ng * h]/ml)	69	109
AUC last / Inf (%)	91.7	93.8
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	67	105
AUCall (0-24h) / Inf (%)	98.5	97.1
Cmax (ng/ml)	47	58
Tmax (h)	3.00	2.00
T _{1/2} (h)	0.4	0.7
Ke (1/h)	1.63	1.05

Vol. XV - A C N

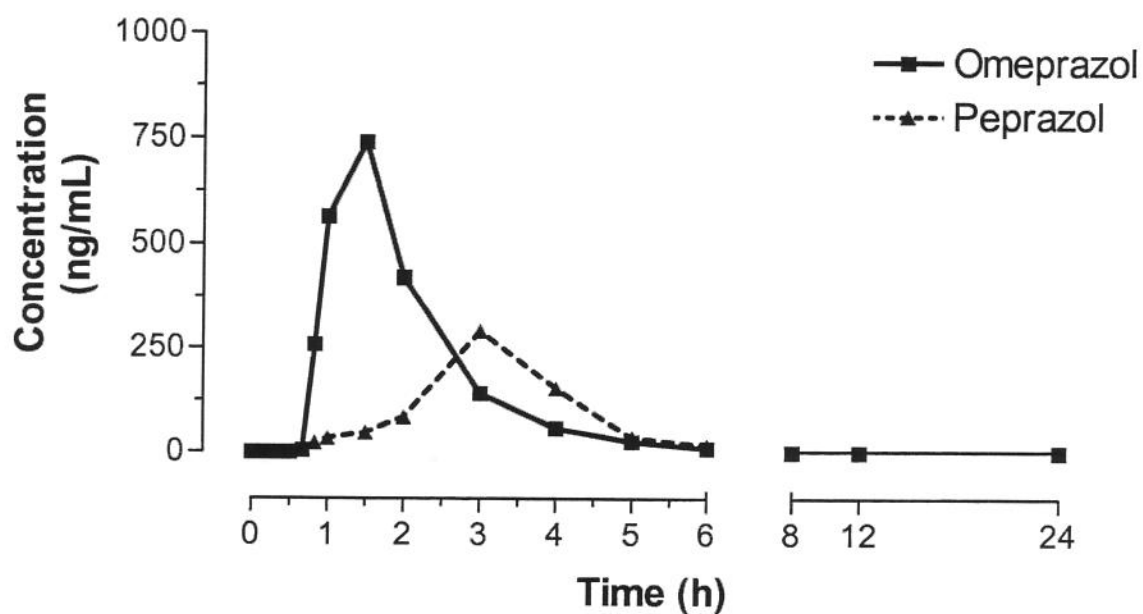


	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	508	593
AUC Inf ([ng * h]/ml)	514	597
AUC last / Inf (%)	99.0	99.3
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	517	600
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.7	100.4
Cmax (ng/ml)	236	232
Tmax (h)	3.00	3.00
T _{1/2} (h)	0.8	0.9
Ke (1/h)	0.85	0.79

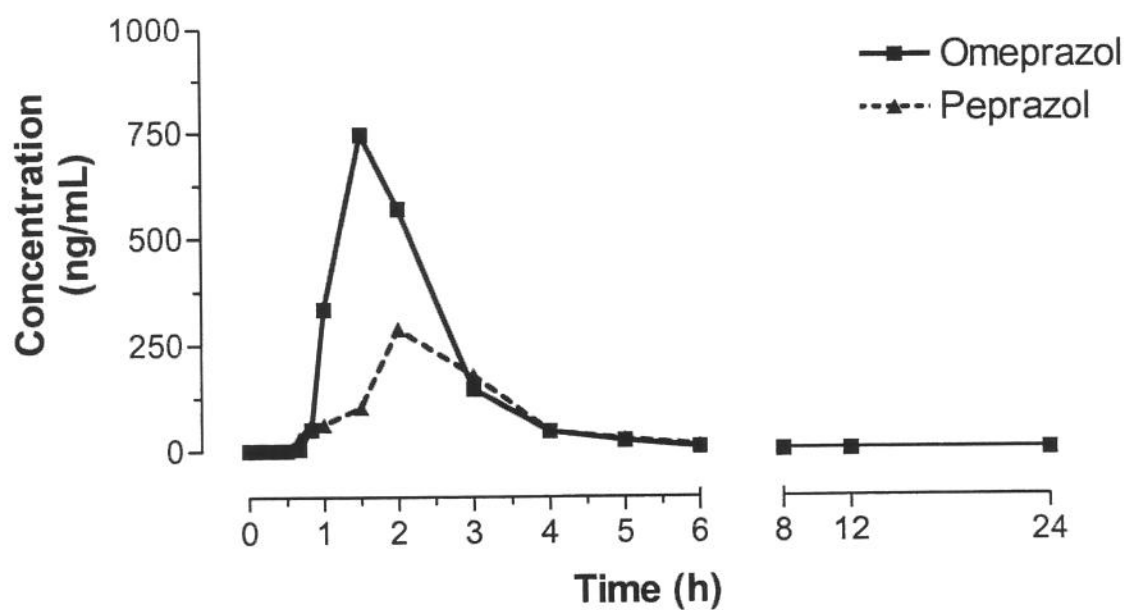
Vol. XVI - CAPS



	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	5	5
AUC last ([ng * h]/ml)	542	564
AUC Inf ([ng * h]/ml)	547	576
AUC last / Inf (%)	99.2	97.8
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	545	576
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.6	99.9
Cmax (ng/ml)	413	376
Tmax (h)	0.83	1.00
T _{1/2} (h)	0.6	0.8
Ke (1/h)	1.08	0.92

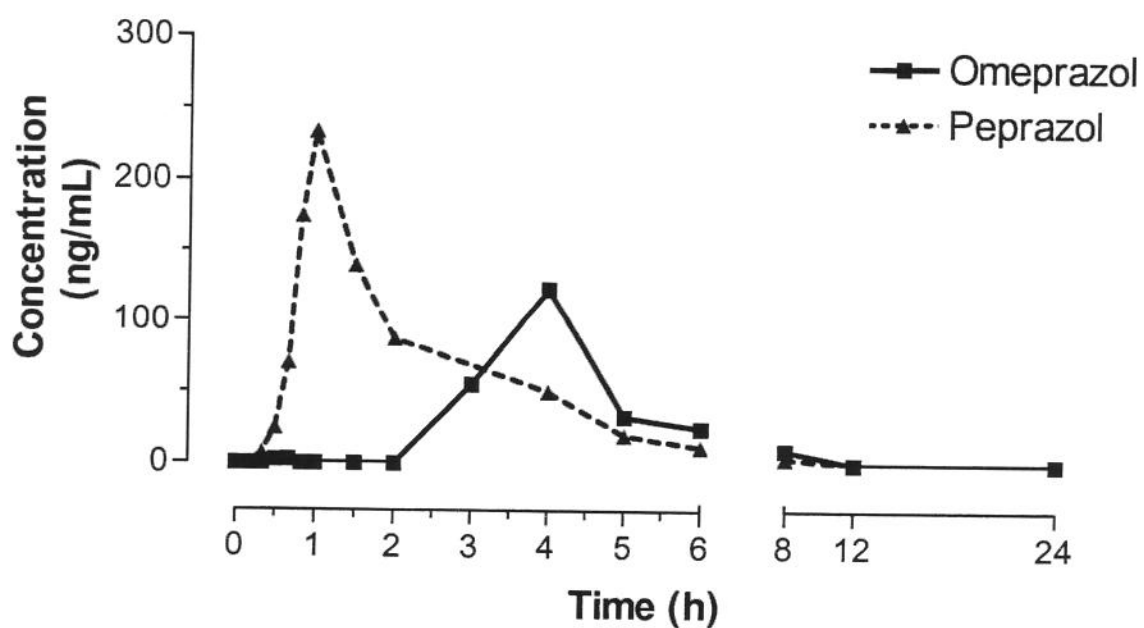


	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	6	6
AUC last ([ng * h]/ml)	1148	589
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1159	605
AUC last / Inf (%)	99.0	97.4
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1157	605
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.9	100.1
Cmax (ng/ml)	740	290
Tmax (h)	1.50	3.00
T _{1/2} (h)	0.8	0.7
Ke (1/h)	0.88	1.02

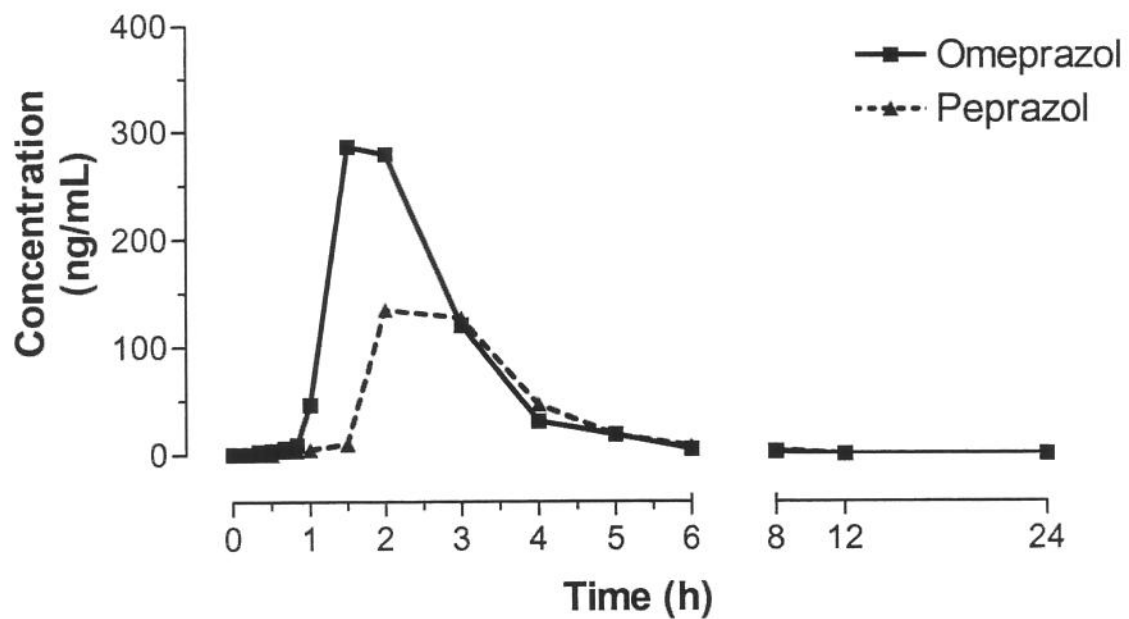


	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	6	6
AUC last ([ng * h]/ml)	1139	557
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1147	574
AUC last / Inf (%)	99.3	96.9
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1147	568
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.0	99.0
Cmax (ng/ml)	745	287
Tmax (h)	1.50	2.00
T _{1/2} (h)	0.7	1.0
Ke (1/h)	1.03	0.67

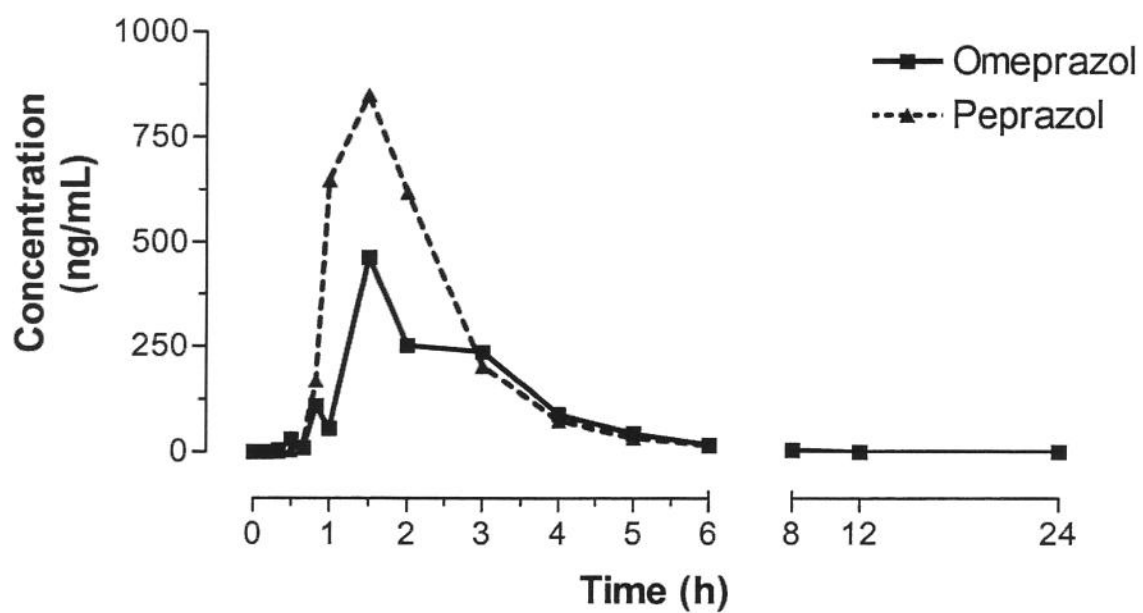
Vol. XIX - FACC



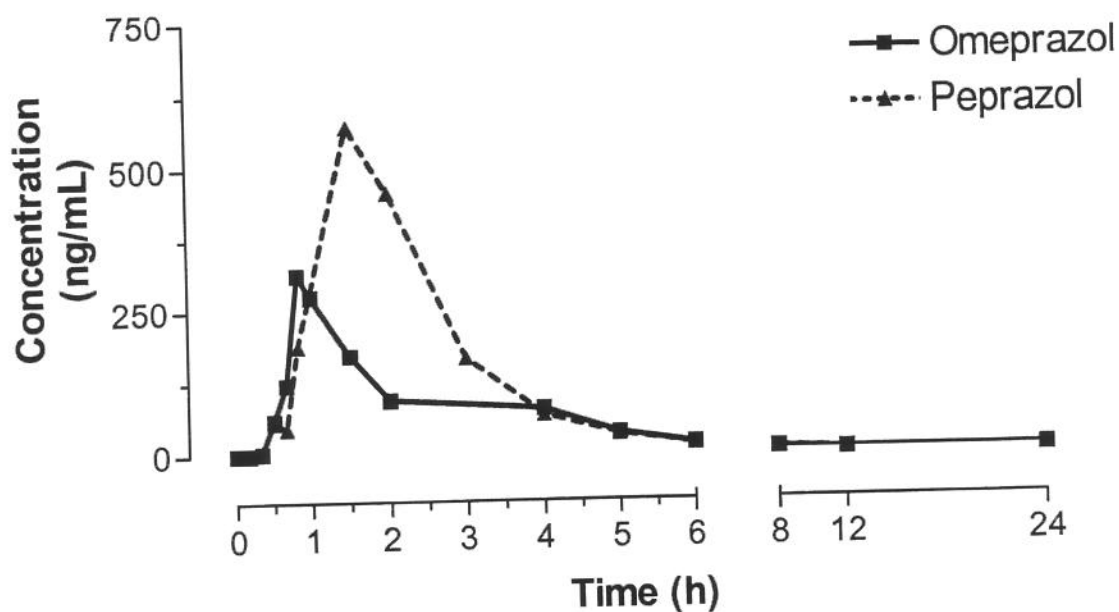
	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	260	420
AUC Inf ([ng * h]/ml)	284	427
AUC last / Inf (%)	91.7	98.3
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	280	428
AUCall (0-24h) / Inf (%)	98.6	100.2
Cmax (ng/ml)	123	233
Tmax (h)	4.00	1.00
T _{1/2} (h)	1.7	1.3
Ke (1/h)	0.42	0.54



	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	553	316
AUC Inf ([ng * h]/ml)	556	322
AUC last / Inf (%)	99.4	98.2
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	558	324
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.4	100.6
Cmax (ng/ml)	286	135
Tmax (h)	1.50	2.00
T _{1/2} (h)	0.9	1.0
Ke (1/h)	0.79	0.66

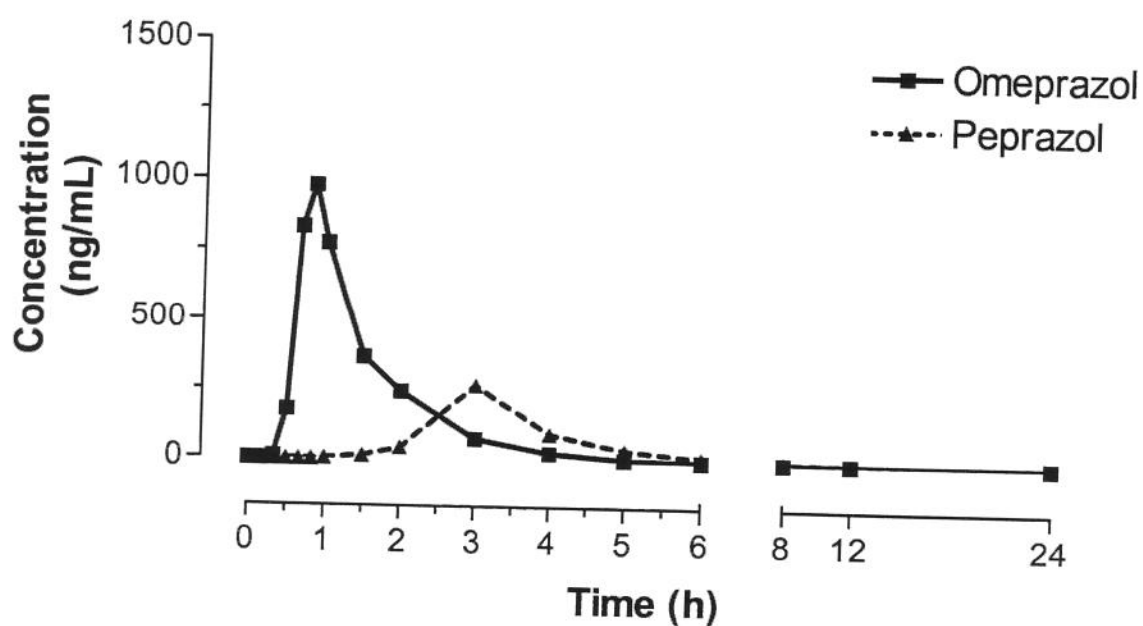


	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	870	1478
AUC Inf ([ng * h]/ml)	877	1484
AUC last / Inf (%)	99.2	99.6
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	880	1486
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.4	100.2
Cmax (ng/ml)	466	850
Tmax (h)	1.50	1.50
T _{1/2} (h)	0.9	1.0
Ke (1/h)	0.77	0.70

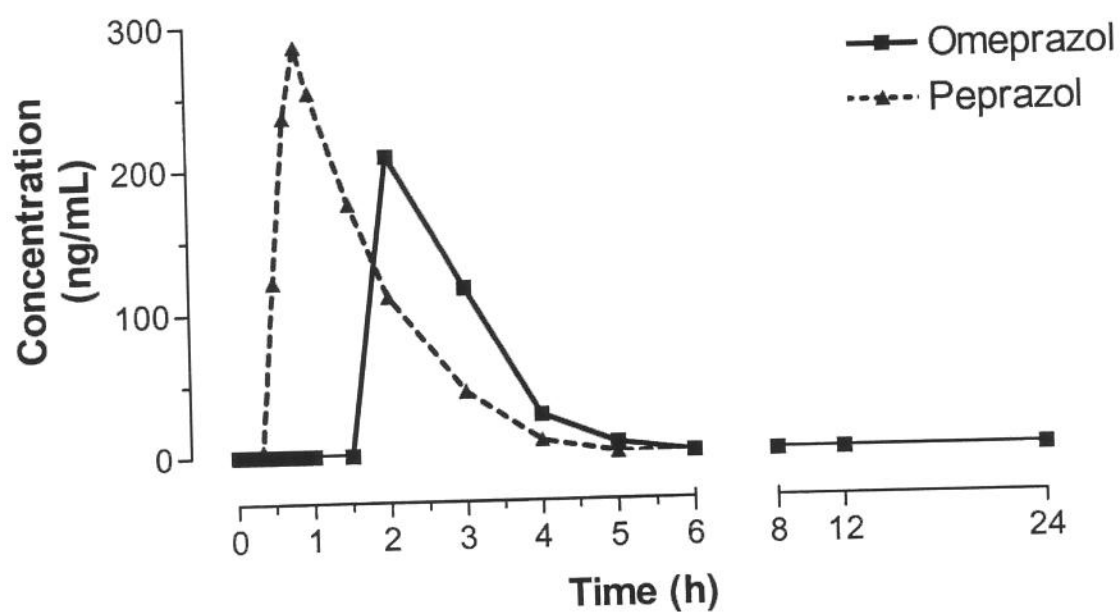


	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	8	8
AUC last ([ng * h]/ml)	548	1056
AUC Inf ([ng * h]/ml)	552	1061
AUC last / Inf (%)	99.3	99.5
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	554	1063
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.4	100.2
Cmax (ng/ml)	313	571
Tmax (h)	0.83	1.50
T _{1/2} (h)	0.9	1.0
Ke (1/h)	0.79	0.71

Vol. XXIII - MF



	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	6	6
AUC last ([ng * h]/ml)	1078	454
AUC Inf ([ng * h]/ml)	1082	474
AUC last / Inf (%)	99.7	95.7
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	1082	477
AUCall (0-24h) / Inf (%)	100.0	100.5
Cmax (ng/ml)	980	270
Tmax (h)	0.83	3.00
T _{1/2} (h)	0.7	0.8
Ke (1/h)	1.05	0.91



	Omeprazole	
	Omeprazol	Peprazol
T last (h)	4	4
AUC last ([ng * h]/ml)	286	412
AUC Inf ([ng * h]/ml)	308	421
AUC last / Inf (%)	92.9	97.9
AUC all (0-24h) ([ng * h]/ml)	306	416
AUCall (0-24h) / Inf (%)	99.5	99.0
Cmax (ng/ml)	208	286
Tmax (h)	2.00	0.83
T _{1/2} (h)	0.5	0.7
Ke (1/h)	1.42	1.05

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE