
Otimização e validação de método cromatográfico (clae-uv) para determinação de omeprazol em cápsulas

Blanca Elena Ortega MARKMAN, Paulo Sergio David de MORAES, Viviane Jesus Marques da CRUZ, Elizabeth Meihuey WU

Núcleo de Ensaios Físico-Químico em Medicamentos – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

Omeprazol é um inibidor da enzima H⁺,K⁺Adenosina Tri-Fosfatase (H⁺,K⁺ATPase ou bomba de prótons), com capacidade de suprimir valores entre 80% a 95% da produção de ácido, tanto basal, quanto estimulada. Como os demais inibidores, trata-se de um pró-fármaco utilizado como primeira escolha para o tratamento de diversos distúrbios gastroesofágicos decorrentes do excesso de secreção ácida, entre eles, úlcera péptica gastroduodenal, refluxo gastro-esofágico, síndrome de Zollinger-Ellison, e em co-terapia com antibióticos em patologias relacionadas com a bactéria *Helicobacter pylori*¹.

Apesar da meia-vida plasmática do Omeprazol ser em torno 1 a 2 horas, seu efeito pode se prolongar de forma acentuada nas primeiras 24 horas e permanecer por até 3 ou 4 dias. Este efeito é promovido em decorrência da inibição irreversível da enzima H⁺,K⁺ATPase, tornando-se necessária a síntese e inserção de novas bombas de prótons pelas células parietais em sua membrana para que a produção de ácido retorne ao estado anterior¹.

A molécula do omeprazol apresenta centros quirais consistindo de uma mistura racêmica de enantiômeros R e S (S-Omeprazol ou esomeprazol e R-Omeprazol). Farmacocineticamente, o S-Omeprazol possui meia-vida maior, o que pode representar ação mais duradoura no sítio de ação¹. Atualmente, são

comercializados na forma isolada como esomeprazol ou como mistura racêmica (omeprazol).

Dentre as apresentações farmacêuticas disponíveis, encontramos as formas de administração injetáveis e orais. Pelo fato de o omeprazol ser instável no pH ácido do estômago, faz-se necessário o uso de modernas técnicas de revestimento, entre elas, comprimidos com revestimento entérico e/ou sistemas multiparticulados revestidos (pellets) contidos em cápsulas duras. Além de garantir a estabilidade, as formas multiparticuladas permitem uma liberação controlada, mantendo a concentração plasmática do fármaco estável por um período maior, promovendo uma melhoria na biodisponibilidade².

Os compêndios oficiais não contemplam métodos para verificação da qualidade do omeprazol em apresentações farmacêuticas, sendo necessário recorrer às metodologias de fabricantes e publicações científicas. A literatura reporta várias técnicas analíticas para a determinação de omeprazol: eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (CLAE-UV)³, entre outras. O objetivo deste estudo é otimizar e validar um método analítico por CLAE-UV para determinação de omeprazol na forma de pellets contidos em cápsulas duras, suprimindo a ausência na Farmacopeia Brasileira 5^a edição⁴ para apresentações farmacêuticas.

especificidade para o omeprazol. A Figura 2 demonstra o resultado da degradação forçada em meio alcalino. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro componente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam, porventura, estar presentes.

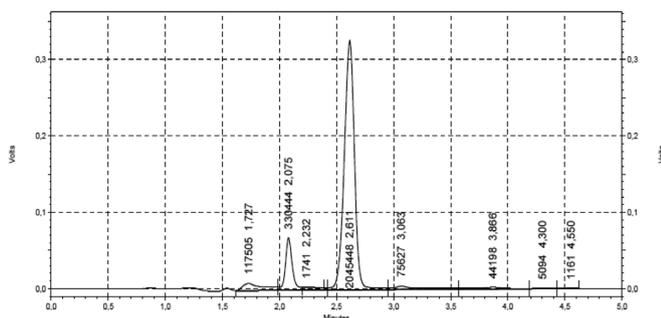


Figura 2. Cromatograma do padrão de omeprazol sob condições de degradação forçada em meio alcalino (NaOH 2N) por um período de 4 horas e temperatura de 100 °C

Exatidão

Determinou-se a exatidão mediante a recuperação do método pela adição (*spike*) do padrão a uma solução diluída do medicamento de omeprazol (concentração 46,5 µg/mL) em três níveis de concentração: 50%, 100% e 150%. A média dos nove valores de recuperação do omeprazol foi de 98%, sendo assumido como a exatidão do método.

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro.

Precisão

A precisão do método foi avaliada mediante a determinação da repetitividade intra-dia (n = 9) do padrão de omeprazol na concentração de 50,06 µg/mL. O desvio-padrão relativo calculado foi de 0,14%. A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de

medição, chamadas de condições de repetitividade: mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local; e repetições em um curto intervalo de tempo.

Linearidade

A linearidade do método proposto foi determinada com a utilização de cinco concentrações diferentes, em quadruplicata. Os intervalos de concentrações estabelecidos através do procedimento analítico foram: 25,03 µg/mL, 50,01 µg/mL, 75,01 µg/mL, 100,01 µg/mL e 125,01 µg/mL. A plotagem da representação gráfica da área dos picos versus concentração gerou a curva de calibração, da qual se obteve o coeficiente de regressão linear $r^2 > 0,9993$. Segundo a RDC nº 899/03, o r^2 deve ser igual ou superior a 0,99. O teste de Cochran aplicado às respostas (unidades de área) dos cinco níveis de concentração mostrou homogeneidade das variâncias (homoscedasticidade).

O método otimizado e validado na determinação de omeprazol em pellets contidos em cápsulas foi comparado com a técnica de espectrofotometria na região do UV, utilizando-se duas amostras de medicamento genérico e uma de medicamento similar. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Comparação entre resultados obtidos nos métodos CLAE-UV (otimizado) e espectrofotometria na região do ultravioleta.

| Amostras | CLAE (mg/ conteúdo médio) | UV (mg/ conteúdo médio) |
|-------------------|----------------------------|-------------------------|
| 1 (med. similar) | 17,6 | 23,0 |
| 2 (med. genérico) | 20,0 | 27,4 |
| 3 (med. genérico) | 20,6 | 29,0 |

A técnica de espectrofotometria na região do ultravioleta foi utilizada na análise comparativa porque é a técnica mais utilizada para determinação deste fármaco em apresentações farmacêuticas, além de ser oficial para identificação do omeprazol em matéria-prima de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

Os resultados obtidos para omeprazol por espectrofotometria na região do ultravioleta, conforme demonstradas na Tabela 1, evidenciaram a interferência dos excipientes, apresentando valores acima da especificação do produto de 20 mg, podendo ser aceitos valores entre 18 e 22 mg. Quando comparado com o método otimizado e validado por CLAE-UV, isto não é observado por ser este um método de separação, reportando valores reais para os produtos analisados. Estes resultados demonstram bom desempenho do método otimizado.

A otimização do método analítico, partindo do método publicado por Linden et al³, envolveu vários estágios, como: alteração do pH da fase móvel, da temperatura, coluna, fluxo e do volume de injeção. Cada alteração foi avaliada mediante o desempenho do método, levando-se em conta a simetria do pico e um tempo de retenção curto para o omeprazol. A validação do método analítico é importante porque garante o sucesso da utilização da metodologia desenvolvida e/ou otimizada, além de detectar erros de procedimento analítico e oferecer evidências comprovadas da eficiência do método.

O método CLAE-UV otimizado e validado no presente trabalho é simples, seletivo, exato e preciso

para a quantificação de omeprazol em formulações farmacêuticas e matérias-primas, podendo ser alternativo ao oficial.

REFERÊNCIAS

1. Hardman JG, Limberd LE (eds.). Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw- Hill: New York; 2001.
2. Murakami FS, Mendes C, Pereira RN, Valente BR. Estudo de Estabilidade de Comprimidos Gastro-Resistentes contendo 20 mg de Omeprazol. *Lat. Am J Pharm.* 2009; 28 (5):645-52.
3. Linden R, Ziulkoski AL, Wingert M, Tonello P, Souto AA. Simultaneous determination of omeprazole, hidroxiomeprazole and omeprazole suphone in human plasma by isocratic HPLC-DAD: Application to the phenotyping of CYP2C19 and CYP3A4 in Brazilian volunteers. *J Braz Chem Soc.* 2007;18(4):733-40.
4. Farmacopeia Brasileira. 5ª edição. Parte 2. Brasília: Fiocruz; 2010.
5. United States Pharmacopeia. 32. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Conventions. 2009;734-7.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos" anexo, fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. *Diário Oficial [da] União, Brasília, Seção 1, DF, p. 56-9, 2 de junho de 2003.*