

ESTUDIO COMPARATIVO DE BIODISPONIBILIDAD ENTRE DOS FORMULACIONES DIFERENTES DE OMEPRAZOL TRAS SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL A VOLUNTARIOS SANOS

Jackson, D.*, Científico Diplomado; Woodward, A. J.*, Científico Diplomado, Gerente Analítica; Morgan, R.*, Científico Diplomado, RA; Gill, T. S.*, Gerente de Investigación; Calvo, C. G.**.

* Simbec Research Ltd. South Wales, United Kingdom.

** Industrial Farmacéutica Cantabria, S. A. Madrid.

Palabras clave:

Biodisponibilidad. Bioequivalencia. Omeprazol. AUC_{0-t} . $AUC_{0-\infty}$. C_{max} . T_{max} .

Resumen:

Objetivo: Este estudio fue diseñado para comparar la biodisponibilidad oral de dos formulaciones de omeprazol, Emeprotón®, I. F. Cantabria, S. A., y Losec®, Shering-Plough.

Método: El estudio, en el que se incluyeron a 16 voluntarios sanos siguió un modelo cruzado estándar, simple ciego, con dos períodos y dos secuencias de tratamiento. En cada uno de los períodos se administran dosis únicas de 40 mg de Emeprotón® o Losec®. Las determinaciones plasmáticas de omeprazol en las muestras extraídas se realizaron mediante una técnica de HPLC de fase reversa, mientras que los parámetros farmacocinéticos se obtuvieron a partir de las curvas de concentración/tiempo de muestreo. Para el análisis estadístico se utilizó un análisis de la varianza para datos pareados. Las variables relacionadas con la concentración fueron transformadas logarítmicamente previo a su análisis, aceptándose bioequivalencia para unos intervalos de confianza clásicos del 90% comprendidos entre el 80 y el 125%.

Resultados: Los intervalos de confianza al 90% para las variables relacionadas con la concentración fueron: 99,3-112,7% para el área bajo la

curva entre el tiempo 0 hasta el último punto de muestreo (valor medio: 105,8%); 99,9-113,9% para el área bajo la curva extrapolada a infinito (valor medio: 106,9%) y 81,2-115,5% para la concentración plasmática máxima (valor medio: 96,9%). Los valores del tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima, analizados según un modelo de aproximación no paramétrica, no mostraron diferencias superiores al 20%.

Conclusiones: Este estudio demostró la bioequivalencia entre ambas formulaciones de omeprazol.

COMPARATIVE STUDY OF THE BIOAVAILABILITY OF TWO DIFFERENT OMEPRAZOLE FORMULATIONS ADMINISTERED ORALLY TO HEALTHY VOLUNTEERS

Key words:

Bioavailability. Bioequivalence. Omeprazole. AUC_{0-t} . $AUC_{0-\infty}$. C_{max} . T_{max} .

Summary:

Objective: This study compared the oral bioavailability of the omeprazole formulations, Emeprotón® (I. F. Cantabria, S. A.) and Losec® (Schering-Plough). In 16 healthy volunteers, a standard crossover, simple blind study with two periods and two treatment sequences was made. In each period, single doses of 40 mg of Emeprotón® or Losec® were administered. Plasma omeprazole was measured in samples extracted by reverse-phase HPLC. Pharmacokinetic parameters were derived from the concentration-time curves of specimens. Variance analysis of paired data was performed. The variables related with concentration were transformed logarithmically before analysis.

Correspondencia: Carmen García Calvo. Responsable Departamento Médico. Industrial Farmacéutica Cantabria, S. A. Arequipa, 1. Edificio Oficinas. 28043 Madrid.

Fecha de recepción: 18-6-99

Bioequivalence was accepted for classic 90% confidence intervals of 80 to 125%.

Results: The 90% confidence intervals for concentration-related variables were 99.3-112.7% for the area under the curve between time 0 and the last sampling point (mean: 105.8%), 99.9-113.9% for the area under the curve extrapolated to infinity (mean: 106.9%) and 81.2-115.5% for maximum plasma concentration (mean: 96.9%). The time to maximum plasma concentration, analyzed using a non-parametric estimation model, showed differences of no more than 20%.

Conclusions: This study confirmed the bioequivalence of these omeprazole formulations.

Farm Hosp 2000;24(1):32-37

INTRODUCCIÓN

Omeprazol es un inhibidor selectivo de la bomba de protones (H⁺, K⁺-ATPasa) situada en el canalículo secretor de la célula parietal de la mucosa gástrica, cuya acción se sigue de una inhibición irreversible de la secreción ácida gástrica (1, 2).

Químicamente, el omeprazol se define como un benzimidazol sustituido, muy poco soluble en agua, pero muy soluble en soluciones alcalinas. Es una sustancia anfótera con un pK de 4 (piridinio) y de 8,8 (benzimidazol). El omeprazol, tras absorberse en el intestino delgado, es vehiculado por la sangre hasta alcanzar las células parietales, donde es protonado en el medio ácido que existe en la luz del canalículo secretor de estas células, y convertido en un derivado sulfonamido, que reacciona de forma rápida e irreversible con el grupo sulfhidrilo de la H⁺, K⁺-ATPasa, formando el denominado complejo inhibitorio (3, 4).

El efecto antisecretor mediado por omeprazol es dosis dependiente y de larga duración. Tras su absorción es metabolizado casi en su totalidad en el hígado, eliminándose rápida y prácticamente en su totalidad por orina. Aunque la vida media de eliminación plasmática del fármaco es corta, de 0,5-2 horas, la inhibición de la secreción ácida ejercida por el fármaco es mucho más larga (veinticuatro-cuarenta y ocho horas), lo que posibilita su administración en dosis única diaria (5-7). El grado de supresión de la secreción ácido gástrica alcanzado tras la administración de omeprazol está relacionado con el área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC) (5).

Omeprazol cuando es expuesto a pH bajo se comporta como una base débil ácido lábil, por lo que debe ser protegido de su exposición al jugo gástrico cuando se administra por vía oral (8, 9). Su absorción parece ser formulación y dosis dependiente. Por ello se han desarrollado distintas formulaciones para mejorar su biodisponibilidad por vía oral. Las formulaciones de omeprazol en gránulos con cubierta gastroresistente protegen al omeprazol de la agresión gástrica, como es el caso de

la especialidad farmacéutica Emeprotón[®], I. F. Cantabria, S. A., pero liberan el principio activo a nivel del intestino delgado al alcanzar el medio un pH cercano a 7. Estas formulaciones, de acuerdo con la farmacopea (USP 23), deben ser estables durante dos horas en medio de ácido clorhídrico 0,1N (pH = 1), similar al presente en la luz gástrica durante los periodos de máxima secreción ácida, y pasado este tiempo y con un pH de 6,8, similar al presente en el intestino delgado, dar lugar a una disolución de los gránulos, con la consiguiente liberación de omeprazol (10).

El objetivo de este estudio clínico fue el de demostrar la bioequivalencia, biodisponibilidad relativa, entre dos formulaciones de microgránulos de omeprazol gastroresistentes, Emeprotón[®], I. F. Cantabria, S. A. (formulación test) y Losec[®], Schering-Plough (formulación comercial tomada como referencia), tras la administración de dosis únicas a voluntarios sanos.

MÉTODO

Población del estudio

Se incluyeron en este estudio a un total de 16 voluntarios sanos (13 varones y tres mujeres) con edades comprendidas entre los dieciocho y cuarenta y cinco años y peso corporal comprendido dentro del ámbito del teórico \pm un 15%.

El estudio siguió en todo momento las directrices especificadas en la declaración de Helsinki de 1983 para la realización de ensayos clínicos en humanos. El estudio fue presentado para su valoración por el Comité Ético Independiente de Simbec Research el 11 de febrero de 1997, siendo aprobado por dicho comité el 4 de marzo de 1997.

El reclutamiento de los voluntarios se realizó entre el 3 de junio y el 10 de julio de 1997. En los 15 días previos al inicio del estudio se sometió a todos los voluntarios preseleccionados a examen físico, electrocardiograma, determinaciones hematológicas y bioquímicas, y análisis de orina, con detección de drogas. Todos los individuos incluidos en el estudio fueron debidamente informados de las características del mismo, otorgando su consentimiento informado por escrito previamente a su inclusión. En el caso de las mujeres preseleccionadas para el estudio se exigió el empleo de un adecuado método de anticoncepción y se realizó una prueba de embarazo previo a la administración de la medicación del estudio.

Diseño y desarrollo del estudio

El estudio se llevó a cabo en el Centro Clínico de Simbec Research. El primer período de tratamiento se inició el 24 de junio de 1997, dándose por finalizado el segundo período de tratamiento el 18 de julio de 1997.

El diseño del estudio siguió un modelo cruzado estándar, simple ciego, con dos periodos y dos secuencias

de tratamiento. Los dos tratamientos en estudio fueron asignados según un código de aleatorización generado por Simbec Research (RANDO. SAS). Se determinó un período de lavado de al menos siete días entre la administración de los dos tratamientos.

En cada uno de los dos períodos del estudio se administraron por vía oral dosis únicas de 40 mg de omeprazol:

- *Tratamiento 1.* Emeprotón[®], I. F. Cantabria, S. A. (formulación test): dosis única administrada de dos cápsulas, conteniendo cada una 20 mg de omeprazol.
- *Tratamiento 2.* Losec[®], Shering-Plough (formulación referencia): dosis única administrada de dos cápsulas, conteniendo cada una 20 mg de omeprazol.

Durante el período de pretratamiento y a lo largo del estudio se prohibió la ingesta de otras medicaciones distintas a las administradas en el mismo, excepto paracetamol, a dosis máximas de 2 g diarios, limitando el consumo de alcohol durante el período de pretratamiento y prohibiéndolo absolutamente desde cuatro horas antes de la primera dosis hasta la finalización del estudio.

Los voluntarios acudieron al Centro Clínico de Simbec Research la tarde anterior a los dos días prefijados para la administración de la medicación, permaneciendo en éste hasta al menos doce horas tras la toma de la misma. Los voluntarios permanecieron obligatoriamente sentados (con una inclinación de al menos 45°) o de pie durante las cuatro horas siguientes a las tomas de la medicación. En estos días los voluntarios debieron permanecer en ayunas al menos ocho horas antes de la toma matinal de la medicación. A las cuatro, ocho y doce horas tras la toma de la medicación los individuos recibieron tres comidas de acuerdo con un menú previamente estandarizado.

En cada uno de los dos días del estudio, inmediatamente antes de administrar la medicación, y a la media, una, una y media, dos, dos y media, tres, cuatro, cinco, seis, nueve y doce horas siguientes a su administración se extrajeron muestras de sangre (10 ml) a través de una vía venosa periférica canalizada. Las muestras fueron inmediatamente identificadas, procediendo a su centrifugación a 1.500 G y 4° C durante diez minutos.

El plasma obtenido de cada una de las muestras fue guardado en tubos convenientemente codificados que se almacenaron a -20° C hasta su análisis. El tiempo máximo transcurrido entre la extracción y congelación de las muestras no fue superior a los treinta minutos.

Durante el tiempo que los voluntarios permanecieron en el centro los días correspondientes a las tomas de la medicación, así como al finalizar el segundo período de tratamiento, se realizaron trazados electrocardiográficos, toma de constantes vitales y determinaciones analíticas de seguridad, de acuerdo con lo especificado en el protocolo del estudio. Asimismo se registraron en el formulario de recogida de efectos adversos todos los posibles efectos adversos acaecidos durante el desarrollo del estudio, tanto aquellos referidos por los volunta-

rios como los observados por el investigador. Se estableció que cualquier alteración analítica considerada como relevante desde un punto de vista clínico fuera registrada en el correspondiente formulario.

Test de disolución *in vitro*

Con anterioridad a la realización de la parte clínica de este estudio de bioequivalencia y con la intención de confirmar que las cápsulas de Emeprotón[®] cumplen con las especificaciones descritas en las diferentes farmacopeas para las formulaciones encapsuladas de gránulos con recubrimiento entérico, se realizaron en diferentes lotes del producto determinaciones de gastrorresistencia y test de disolución *in vitro*. Asimismo se determinó el perfil de disolución *in vitro* comparativo entre Emeprotón[®] y Losec[®] utilizando los mismos lotes que los empleados para el estudio de bioequivalencia.

La determinación de la gastrorresistencia se realizó introduciendo la cápsula del producto en 500 ml de fluido gástrico artificial (pH ácido) a 37° C durante dos horas y midiendo seguidamente mediante cromatografía de líquidos de alta presión el porcentaje de omeprazol presente en los gránulos.

El porcentaje de disolución de omeprazol fue determinado *in vitro* tras introducir durante dos horas una cápsula en 500 ml de fluido gástrico artificial a 37° C, añadiendo seguidamente 400 ml de H₂NaPO₄ (pH 6,8) y determinando transcurridos treinta minutos el porcentaje de omeprazol disuelto mediante cromatografía de líquidos de alta presión.

Determinaciones analíticas

Las determinaciones plasmáticas de omeprazol en las muestras obtenidas se realizaron en el departamento analítico de Simbec Research, siguiendo en todo momento las GLP internacionalmente aceptadas, mediante la utilización de un método convenientemente validado. Este método presenta una linealidad en el ámbito de los estándares utilizados (9,975-987,7 ng.ml⁻¹), con una inexactitud entre el +7,6 y el -9,3% y una imprecisión no superior al 7,1%. El análisis por replicado de los controles intra e interlotes mostró una inexactitud entre el -4,0 y el -12,2% y entre el -17,0 y el -0,2%, respectivamente. La imprecisión del ensayo no excedió del 10,6%. El rendimiento medio de omeprazol por este método es del 87,5 ± 5,4%. El análisis se realizó mediante una técnica de HPLC de fase reversa con detección por luz ultravioleta. El sistema de HPLC utilizado está constituido por un autoinyector Jasco AS-950, una bomba de flujo para fase móvil Jasco PU 980, un detector Shimadzu 10AV UV (fijado a 302 nm) y un registrador Rikadenki RO1A. Para el análisis se utilizó una columna con relleno Beckman Ultrasphere C8 (15 × 0,46 cm, tamaño de partícula de 5 µm) con una precolumna Brownlee Newguard RP8.

Se utilizó una fase móvil de tampón fosfato 0,025 M/acetónitrilo, 73/27 (v/v), y 1 ml/l de n-decilamina al 95%, ajustada a pH 7, bombeada isocráticamente a un flujo de 1,0 ml.min⁻¹. Los límites máximos y mínimos de cuantificación se establecieron de acuerdo con los estándares de calibración entre 9,975 y 987,7 ng.ml⁻¹ de omeprazol.

La adquisición e integración de los datos se realizó con un soporte informático MicroVax 3100, utilizando un programa Access* Chrom.

Análisis farmacocinético

El análisis farmacocinético se realizó de acuerdo con métodos estandarizados en el departamento de farmacocinética de Simbec Research, empleando el programa de análisis farmacocinético Topfit, versión 2.0, según una aproximación no compartimental, independiente de modelo.

Los diferentes parámetros analizados se obtuvieron a partir de las curvas de concentración/tiempo de muestreo observadas tras cada una de las dosis en cada uno de los voluntarios. La concentración plasmática máxima (C_{máx}) (expresada en ng.ml⁻¹) y el tiempo máximo en alcanzarla (T_{máx}) (expresado en horas) se obtuvieron directamente a través de las concentraciones plasmáticas observadas.

El área bajo de curva extrapolada a infinito (AUC_{0-∞}) (y expresada en ng.ml⁻¹.h) se determinó mediante la suma de AUC_{0-t} (área bajo la curva entre el tiempo 0 hasta el último punto detectable de muestreo) y del área residual (área bajo la curva entre el último punto detectable de muestreo e infinito). AUC_{0-t} fue calculada mediante una regla trapezoidal, mientras que el área residual se determinó mediante el cociente C/λ_z, siendo C la última concentración detectable y λ_z la constante de eliminación, siendo ésta definida como la pendiente de la recta obtenida mediante regresión lineal logarítmica del segmento terminal de la curva de concentración/tiempo de muestreo:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C/\lambda_z$$

La vida media de eliminación (t_{1/2}) fue definida de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$t_{1/2} = \text{Ln } 2/\lambda_z$$

La biodisponibilidad relativa fue definida como la relación entre AUC_{0-∞} Emeprotón[®], I. F. Cantabria, S. A. (formulación test)/AUC_{0-∞} Losec[®], Schering-Plough (formulación de referencia).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos farmacocinéticos calculados se compararon las curvas plasmáticas

de las concentraciones de omeprazol *versus* tiempos de muestreo, según un análisis de la varianza para datos pareados, tomando en consideración las variables sujeto, secuencia y período. El test construido fue calculado para detectar diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05) entre las dos formulaciones. Se utilizó el programa PROC GLM (SAS/STAT[®], versión 6.11).

Las variables relacionadas con la concentración C_{máx}, AUC_{0-∞} y AUC_{0-t} fueron transformadas logarítmicamente previamente a su análisis, con la intención de normalizar los datos. Se aceptó bioequivalencia para unos intervalos de confianza clásicos del 90% comprendidos entre el 80 y el 125% (para transformación logarítmica de los datos) (11). Los valores de T_{máx} fueron analizados mediante el modelo de aproximación no paramétrica de Wilcoxon Sum Rank.

RESULTADOS

Test de disolución *in vitro*

Los resultados de los test de disolución *in vitro* y de gastrorresistencia realizados con diferentes lotes de Emeprotón[®], I. F. Cantabria, S. A., fabricados entre el 15 de octubre de 1997 y el 24 de febrero de 1997 quedan resumidos en la tabla 1. El lote L-09, fabricado el 24 de febrero de 1997, fue utilizado para este estudio de bioequivalencia. En la figura 1 se presentan los resultados del test de disolución *in vitro* comparativo entre Emeprotón[®] (formulación test) y Losec[®] (formulación referencia).

Perfiles farmacocinéticos

La administración de una dosis única de 40 mg de Emeprotón[®] (20 mg × 2 cápsulas) por vía oral a 16 voluntarios sanos se siguió de valores medios de C_{máx} de 932,39 ± 702,63 ng.ml⁻¹ y de AUC_{0-∞} de 2.554,37 ± 2.655,75 ng.ml⁻¹.h, situándose la T_{máx} entre una y cuatro horas. Para la formulación de referencia, Losec[®], los valores medios de C_{máx} fueron de 976,39 ± 686,24 ng.ml⁻¹ y de 2.377,07 ± 2.587,27 ng.ml⁻¹.h para AUC_{0-∞}, siendo la T_{máx} similar a la observada para la formulación test. La vida media de eliminación (t_{1/2}) de omeprazol se situó entre 0,52 y 2,22 horas en el caso de Emeprotón[®] y

Tabla 1. Determinaciones de gastrorresistencia y test de disolución *in vitro* observados para Emeprotón[®], I. F. Cantabria, S. A.

Lotes	Gastrorresistencia (≥ 85%-2 h)*	Disolución (≥ 75%-30 min)*
27 lotes (x̄ ± DE)	96,16 ± 1,88	92,55 ± 3,43
L-09	95	91

*Especificaciones de la USP 23 (x̄ ± DE): media ± desviación estándar.

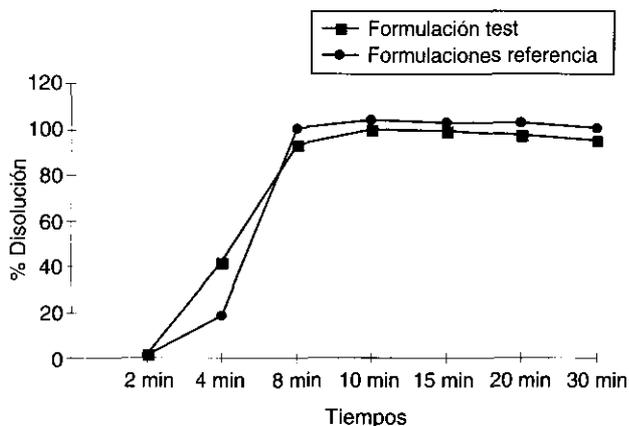


Figura 1.—Perfiles comparativos de disolución *in vitro* de Emeprotón®, I. F. Cantabria, S. A. (formulación test), y Losec®, Schering-Plough (formulación referencia).

entre 0,56 y 2,41 horas tras la administración de Losec®. En la figura 2 se muestran los perfiles plasmáticos farmacocinéticos de las concentraciones plasmáticas medias, previa transformación logarítmica de los datos (curvas de log concentración-tiempo) obtenidos para Emeprotón® (formulación test) y Losec® (formulación referencia). Los parámetros farmacocinéticos referidos a $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} y $t_{1/2}$, para ambas formulaciones, expresados como media (\pm DE), están recogidos en la tabla 2.

Estudio de bioequivalencia

Los valores de la biodisponibilidad relativa, entendida ésta como la relación formulación referencia/formulación test (R/T), así como los intervalos de confianza al 90% para las variables analizadas, $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} y $C_{m\acute{a}x}$, previa transformación logarítmica de los datos,

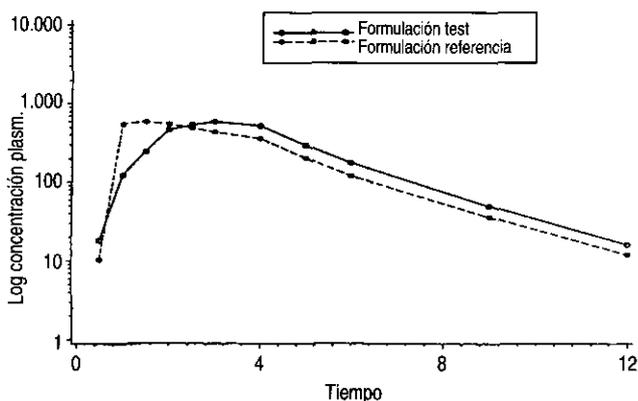


Figura 2.—Perfiles plasmáticos farmacocinéticos de las concentraciones plasmáticas medias, previa transformación logarítmica de los datos (curvas de log concentración-tiempo) obtenidos para Emeprotón®, I. F. Cantabria, S. A. (formulación test), y Losec®, Schering-Plough (formulación referencia).

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos observados para Emeprotón®, I. F. Cantabria, S. A., y Losec®, Schering-Plough

Parámetros	Emeprotón®, I. F. Cantabria*	Losec®, Schering-Plough*
$C_{m\acute{a}x}$ (ng.ml ⁻¹)	932,39 (702,63)	976,39 (686,24)
$T_{m\acute{a}x}$ (h)	2,59 (1,05)	2,03 (0,99)
$AUC_{0-\infty}$ (ng.ml ⁻¹ .h)	2.554,37 (2.655,75)	2.377,07 (2.587,27)
AUC_{0-t} (ng.ml ⁻¹ .h)	2.470,12 (2.561,53)	2.312,81 (2.497,69)
$t_{1/2}$ (h)	1,04 (0,55)	1,03 (0,51)

* Desviación estándar. $C_{m\acute{a}x}$: concentración máxima. $T_{m\acute{a}x}$: tiempo en alcanzar $C_{m\acute{a}x}$. $AUC_{0-\infty}$: área bajo la curva extrapolada a infinito. AUC_{0-t} : área bajo la curva entre el tiempo 0 hasta el último punto detectable de muestreo. $t_{1/2}$: vida media de eliminación.

quedan resumidos en la tabla 3. No se observaron diferencias significativas para $T_{m\acute{a}x}$ entre la formulación test y la de referencia ($p = 0,1206$).

DISCUSIÓN

El objetivo de cualquier estudio de bioequivalencia es determinar si dos formulaciones son o no esencialmente similares, aceptándose en general una bioequivalencia, biodisponibilidad relativa, entre ambas cuando se determina una diferencia inferior al 20%, para un nivel de significación alfa del 0,05% y un poder del 80%. Según consenso, los parámetros farmacocinéticos más adecuados para determinar esta diferencia son AUC , $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$. El método estadístico utilizado en este estudio, y más frecuentemente utilizado en la mayoría de los estudios de bioequivalencia realizados, es el análisis de la varianza para datos pareados, tomando en consideración las variables sujeto, secuencia y periodo. Las variables relacionadas con la concentración, $C_{m\acute{a}x}$, $AUC_{0-\infty}$ y AUC_{0-t} fueron transformadas logarítmicamente previamente a su análisis con la intención de normalizar los datos, utilizándose como criterio de equiva-

Tabla 3. Relación R/T e intervalos de confianza al 90% para omeprazol, previa transformación logarítmica de los datos

Parámetros	IC 90% (límite inferior)	IC 90% (relación R/T)	IC 90% (límite superior)
$C_{m\acute{a}x}$ (ng.ml ⁻¹)	81,2	96,6	115,5
$AUC_{0-\infty}$ (ng.ml ⁻¹ .h)	99,9	106,9	113,9
AUC_{0-t} (ng.ml ⁻¹ .h)	99,3	105,8	112,7

IC 90%: intervalos de confianza al 90%. R/T: referencia/test. $C_{m\acute{a}x}$: concentración máxima. $T_{m\acute{a}x}$: tiempo en alcanzar $C_{m\acute{a}x}$. $AUC_{0-\infty}$: área bajo la curva extrapolada a infinito. AUC_{0-t} : área bajo la curva entre el tiempo 0 hasta el último punto detectable de muestreo. Análisis de la varianza para datos pareados (PROC GLM, SAS/STAT®, versión 6.11).