



Universidad
de La Laguna



Departamento de
Ingeniería Química y
Tecnología Farmacéutica
Universidad de La Laguna

ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL OMEPRAZOL A pH SIMULADOS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

Trabajo de Fin de Grado

Carla Torres Hernández

5º Grado en Farmacia

Julio de 2022

Tutor: Dr. Javier Suárez González

Co-tutora: Dra. María Isabel Soriano Torres

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVO	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS	6
3.1. MATERIAL	6
3.2. MÉTODO ANALÍTICO	6
3.2.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	7
3.2.2. CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DEL HPLC	10
3.3. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL OMEPRAZOL	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
4.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	13
4.2. CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DEL HPLC	14
4.3. ESTABILIDAD	15
4.3.1. MEDIO GÁSTRICO	17
4.3.2. MEDIO INTESTINAL	18
4.3.3. TRANSICIÓN DE MEDIO GÁSTRICO A INTESTINAL	18
5. CONCLUSIONES	20
6. REFERENCIAS	21

RESUMEN

Las dificultades éticas y metodológicas que implican realizar ensayos en la población pediátrica han llevado al desarrollo de modelos *in vitro* que simulen las condiciones gastrointestinales a las que se somete el medicamento tras su administración oral.

El objetivo de este trabajo es estudiar la estabilidad del omeprazol simulando diferentes pH del tracto gastrointestinal de la población pediátrica mediante el uso de un aparato disolución de celda de flujo continuo, el cual permite el estudio de principios activos de baja solubilidad, como es el caso del omeprazol, además de permitir recrear las condiciones deseadas.

Para ello se adaptó y validó un método analítico que permite la cuantificación del omeprazol, además de someter al principio activo a tres ensayos diferentes recreando los medios gástrico e intestinal recogidos en la Farmacopea Europea.

Los resultados mostraron que el omeprazol se degrada casi en su totalidad en el medio gástrico, donde es muy inestable, mientras que en el medio intestinal es poco soluble, y ante el cambio de pH que supone el tránsito de medio gástrico a intestinal, precipita.

El desarrollo de este trabajo ha sido fundamental de cara a la elaboración de una formulación pediátrica a partir de principio activo puro, ya que supone una base que permitirá comprobar la estabilidad del omeprazol añadiendo otros agentes que podrían conformar dicha fórmula.

ABSTRACT

Ethical and methodological difficulties involved in carrying out trials in the paediatric population have led to the development of *in vitro* models that simulate gastrointestinal conditions to which the drug is subjected after oral administration.

The objective of this project is to study the stability of omeprazole by simulating different pH of the gastrointestinal tract of the paediatric population using a flow-through cell system, which allows the study of low solubility active substances, as omeprazole, in addition to allowing recreating desired conditions.

Analysis of variance was used to validate the method, in addition to subjecting omeprazole to three different tests recreating the gastric and intestinal medium described in the European Pharmacopoeia.

Results show that omeprazole is almost completely degraded in gastric medium, where it is very unstable. In contrast, it is poorly soluble in intestinal medium, and it precipitates as the pH value changes as a consequence of the transition from gastric to intestinal medium.

The development of this project has been essential for the elaboration of a paediatric formulation starting from a pure active substance. It serves as a basis for the study of omeprazole stability for adding further compounds that could form the magistral preparation.

1. INTRODUCCIÓN

El enfoque en la administración de fármacos para la población pediátrica ha aumentado constantemente en las últimas décadas. Dadas las dificultades éticas y metodológicas que implica realizar ensayos en este grupo de población, se han desarrollado modelos *in vitro* que simulan las características de la misma con el fin de predecir el rendimiento del medicamento después de la administración oral, y para ello es importante simular las condiciones y los procesos gastrointestinales a las que se verá sometido el medicamento tras su administración por esta vía. Para ello, se han utilizado parámetros de disolución experimental que simulan las condiciones pediátricas (1, 2).

En este sentido, el aparato de disolución tipo IV, también conocido como sistema de celda de flujo continuo, que está recogido en la Farmacopea Europea (EP, del inglés *European Pharmacopoeia*), la Farmacopea de los Estados Unidos (USP, del inglés *United States Pharmacopoeia*) y la Farmacopea Japonesa (JP, del inglés *Japanese Pharmacopoeia*) (3); ha ido ganando aceptación por su versatilidad en los ensayos de nuevas formas de dosificación (comprimidos poco solubles y de liberación prolongada, polvos, supositorios, microesferas, implantes, cápsulas de gelatina dura o blanda...) donde los aparatos de disolución y métodos tradicionales han fallado (4, 5). El sistema consta de un depósito que contiene el medio de disolución, una bomba que fuerza el avance del medio hacia arriba a través de una celda de flujo colocada verticalmente y un baño de agua que permite controlar la temperatura en la celda (5).

Asimismo, presenta muchas ventajas sobre los aparatos de disolución 1 y 2, también recogidos en las citadas Farmacopeas, puesto que imita condiciones fisiológicas, como el cambio de pH durante el ensayo de manera sencilla y progresiva. Otra ventaja es el suministro continuo de medio fresco a las celdas de disolución, que evita que haya una sobresaturación de fármaco y asegura que las pruebas de disolución de productos farmacéuticos poco solubles puedan realizarse en condiciones sumidero (*sink conditions*), ya que las mantiene cuando se opera en modo abierto. Además, permite un flujo laminar y la modificación del mismo. Por último, este aparato no solo permite la caracterización de la disolución de medicamentos, sino que también permite establecer correlaciones *in vivo-in vitro* para esas formulaciones (2, 3, 6).

Este tipo de sistemas es muy útil, como ya se ha nombrado anteriormente, para el estudio de principios activos de baja solubilidad, como es el caso del omeprazol, que se utiliza en

terapia de supresión de ácido en lactantes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) (7). En la figura 1 se observa su estructura química.

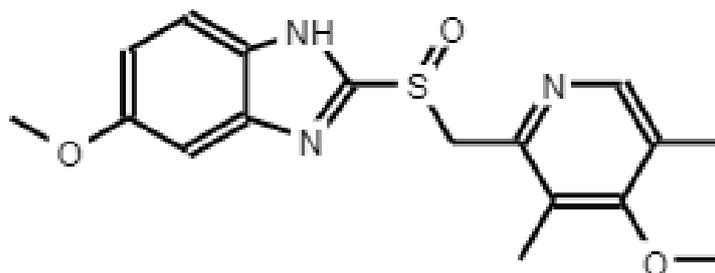


Figura 1. Estructura química del omeprazol.

Es una base débil que se concentra y pasa a la forma activa en el medio extremadamente ácido de los canalículos intracelulares de la célula parietal, inhibiendo en ellos a la enzima H⁺/K⁺-ATPasa, (la bomba de protones) (8). Este efecto en el paso final de la formación del ácido gástrico es dosis-dependiente, e inhibe las secreciones de ácido basales y estimuladas. Es muy poco soluble en agua, soluble en cloruro de metileno, escasamente soluble en etanol (96%) y metanol. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos (9). Es lábil a pH ácido, y por ello se emplea un recubrimiento entérico en la mayoría de las formulaciones orales (como comprimidos o cápsulas de liberación prolongada que contienen gránulos con cubierta entérica o pellets), el cual lo protege de la degradación en el estómago y es soluble en el ambiente alcalino del intestino delgado, lo que permite la liberación y absorción del omeprazol (7, 10).

A pesar de que es un principio activo comercializado desde hace muchos años, no existen comercializadas formulaciones adaptadas para pediatría. Esto es relevante dada la dificultad que podría suponer, para esta población, tragar un comprimido o una cápsula entera. Por ello, tanto pacientes como cuidadores prefieren las formulaciones líquidas orales, puesto que el riesgo de asfixia es menor y son, en general, más aceptadas. Así, se suelen preparar medicamentos individualizados orales de omeprazol en los servicios de farmacia hospitalaria y oficinas de farmacia para cubrir este vacío terapéutico (7, 11).

Actualmente, en los hospitales, se está siguiendo el procedimiento normalizado de trabajo elaborado por el grupo de trabajo Español de Farmacia Pediátrica de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, que se trata de una suspensión de omeprazol 2 mg/ml con bicarbonato sódico al 8,4% como excipiente. No obstante, existen discrepancias en relación a este procedimiento, ya que utiliza bicarbonato, el cual parece no ejercer un

efecto terapéutico añadido, y parte de cápsulas de omeprazol ya comercializadas para adultos para su elaboración (12, 13). Esto supone un riesgo para los niños, ya que implica la administración de excipientes que pueden no ser aceptados en pediatría e incluso llegar a ser tóxicos.

Por tanto, una formulación ideal sería aquella que se elabora a partir del principio activo puro, y no de formas farmacéuticas ya comercializadas, a la vez que mantiene la integridad del principio activo para poder seguir siendo farmacológicamente activo. Así, es fundamental conocer su estabilidad.

2. OBJETIVO

Estudiar la estabilidad del omeprazol simulando diferentes pH del tracto gastrointestinal de la población pediátrica mediante el uso de un aparato disolución de celda de flujo continuo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

Dihidrogenofosfato sódico (NaH_2PO_4 , Panreac), agua destilada tipo I, ácido ortofosfórico (Merck), acetonitrilo categoría HPLC (Honeywell), metanol categoría HPLC (Honeywell), omeprazol base (Acofarma), cloruro sódico (NaCl , Sigma-Aldrich), ácido clorhídrico 1 M (HCl , Honeywell), fosfato monopotásico (KH_2PO_4 , Supelco), hidróxido sódico (NaOH , Panreac).

3.2. MÉTODO ANALÍTICO

Para la cuantificación del omeprazol se procedió a utilizar una técnica de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, del inglés *High Performance Liquid Chromatography*). Para ello se adaptó un trabajo previamente publicado por

Bestebreurtje y colaboradores (10). Se hizo uso de un HPLC formado por una bomba (Waters 600 controller), un inyector automático (Waters 717 plus Autosampler) y un detector (Waters 2487 dual λ Absorbance detector). Como fase estacionaria se utilizó una columna C18 de 5 μm 4,6 x 150 mm (WAT 045905, Waters) y como fase móvil una mezcla de tampón fosfato pH 6,5 y acetonitrilo (73:23 v/v). El tampón es una disolución de Na_2HPO_4 10 mM y se ajustó a pH 6,5 con ácido ortofosfórico mediante un pHmetro Crison GLP21. Se utilizó un flujo de 1,5 mL/min, un volumen de inyección de 25 μL y una longitud de onda de 302 nm para su detección.

Todos los disolventes usados eran de categoría HPLC y fueron previamente desgasificados antes de su uso en el HPLC.

3.2.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Para la validación del método analítico se realizaron 5 rectas de calibrado con 8 concentraciones diferentes de omeprazol (1 - 17,5 $\mu\text{g/mL}$). Para la preparación de cada uno de estos patrones se partió de una disolución de mayor concentración de omeprazol, 500 $\mu\text{g/mL}$. Para prepararla se pesaron 12,5 mg de omeprazol (Mettler Toledo XSR105 Dual Range), se añadieron 2,5 mL de metanol para facilitar su disolución y se completó hasta 25 mL con agua.

En la figura 2 se muestra el procedimiento usado para obtener las disoluciones patrón.

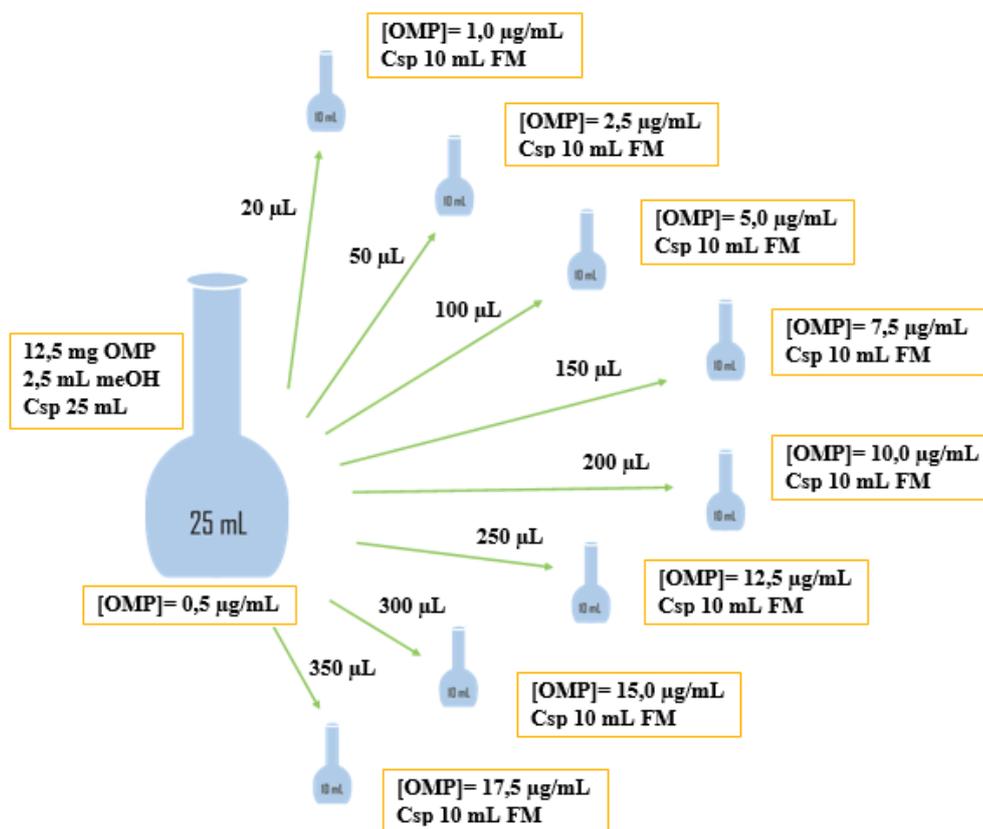


Figura 2. Procedimiento de obtención de las disoluciones patrón.

OMP: omeprazol; MeOH: metanol; FM: fase móvil; [OMP]: concentración de omeprazol; Csp: cantidad suficiente para.

Previo a su análisis, los patrones fueron filtrados con jeringa usando filtros de 0,45 micras (CHROMAFIL Xtra, PET-45/25).

La técnica estadística utilizada para la evaluación del método es el análisis de la varianza (ANOVA) de la regresión lineal. Para la verificación del modelo lineal se plantearon tres hipótesis:

- Hipótesis n°1:** se plantea si la ordenada en el origen es estadísticamente 0 ($h_0: b_0=0$), por lo que la recta pasaría por el origen de coordenadas y se tendría que recalcular la pendiente, o si es diferente de 0 ($h_1: b_0 \neq 0$). Para la verificación de las hipótesis se utiliza el estadístico t-Student mediante el cálculo de la $t_{calculada}$, ver ecuación 1.

$$t_{calculada} = \frac{b_0}{\left[s^2 \cdot \frac{\sum x^2}{N \left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N} \right)} \right]^{1/2}}$$

Ecuación 1. Obtención de $t_{calculada}$. b_0 : ordenada en el origen; s^2 : varianza; N : n° total de observaciones.

Si la ordenada en el origen fuese diferente de 0, se reestimaría la pendiente mediante el uso de la ecuación 2.

$$b_1 = \frac{\sum x \cdot y}{\sum x^2}$$

Ecuación 2. Obtención de la nueva pendiente.

- 2. Hipótesis n°2:** se plantea si la pendiente es estadísticamente 0 ($h_0: b_1=0$) y consecuentemente la variable “y” es independiente de la variable “x”, o si es diferente de 0 ($h_1: b_1 \neq 0$). La verificación de las hipótesis se realiza a través del análisis de la varianza de la regresión, utilizando la prueba F de Snedecor mediante el cálculo de la $F_{calculada}$, ver ecuación 3.

$$F_{calculada} = \frac{C.M. \text{regresión}}{C.M. \text{residual}}$$

Ecuación 3. Obtención de $F_{calculada}$. $C.M. \text{regresión}$: cuadrados medios de la regresión; $C.M. \text{residual}$: cuadrados medios del residual.

- 3. Hipótesis n°3:** se plantea que no existe desviación de la linealidad (H_0 : no existe desviación de la linealidad), y, por tanto, el modelo lineal sería correcto. La verificación de las hipótesis se realiza a través del análisis de la varianza de la regresión utilizando la prueba F de Snedecor mediante el cálculo de la $F_{calculada}$, ver ecuación 4.

$$F_{calculada} = \frac{C.M. \text{desviación de linealidad}}{C.M. \text{error puro}}$$

Ecuación 4. Obtención de $F_{calculada}$. $C.M. \text{desviación de linealidad}$: cuadrados medios de la desviación de la linealidad; $C.M. \text{error puro}$: cuadrados medios del error puro.

Por otra parte, también se evalúan la exactitud y la precisión. La exactitud expresa la cercanía entre el valor obtenido por el método analítico y el valor del patrón inicial, y se define obteniendo un intervalo de confianza bilateral, ver ecuación 5.

$$(\bar{x} - T) + t_{(n-1, \alpha/2)} \frac{s}{\sqrt{n}} \leq \mu - T \leq (\bar{x} - T) + T_{(n-1, 1-\alpha/2)} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Ecuación 5. Obtención de la exactitud. s: desviación estándar; n: n° de concentraciones.

La precisión expresa la concordancia entre una serie de medidas realizadas sobre una misma muestra homogénea, y se define obteniendo el coeficiente de variación, ver ecuación 6. Para ambos casos se establece un criterio de aceptación de un 3%.

$$CV (\%) = \left(\frac{s/b_1}{\bar{x}} \right) * 100$$

Ecuación 6. Obtención del coeficiente de variación. s: desviación estándar; b₁: pendiente.

También se obtuvieron los límites de detección (L.D.) y cuantificación (L.C.) del método analítico. El primero expresa la mínima concentración de omeprazol que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, y el segundo expresa la mínima concentración de omeprazol que puede determinarse cuantitativamente con precisión y exactitud aceptables. Ambos se obtienen teniendo en cuenta la desviación estándar de la respuesta y la pendiente, mediante las ecuaciones 7 y 8.

$$L. D. = 3,3 \frac{s}{b_1}$$

$$L. C. = 10 \frac{s}{b_1}$$

Ecuación 7. Obtención del límite de detección. s: desviación estándar; b₁: pendiente.

Ecuación 8. Obtención del límite de cuantificación. s: desviación estándar; b₁: pendiente.

3.2.2. CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DEL HPLC

Previamente a cada uno de los ensayos, se realizó una disolución patrón de omeprazol para comprobar el correcto funcionamiento del equipo.

3.3. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DEL OMEPRAZOL

Una vez validado el método analítico se procedió a desarrollar un método para evaluar la estabilidad del omeprazol simulando las condiciones gastrointestinales. Para ello se utilizó un aparato de disolución tipo IV compuesto por un calefactor (Erweka DFZ II), una bomba peristáltica (Ismatec IPC High Precision Multichannel Pump) y un baño termostatzado donde se encuentran los diferentes vasos (Erweka DH 1520 I), ver figuras 3 y 4.



Figura 3. Baño termostatzado compuesto por 7 celdas.

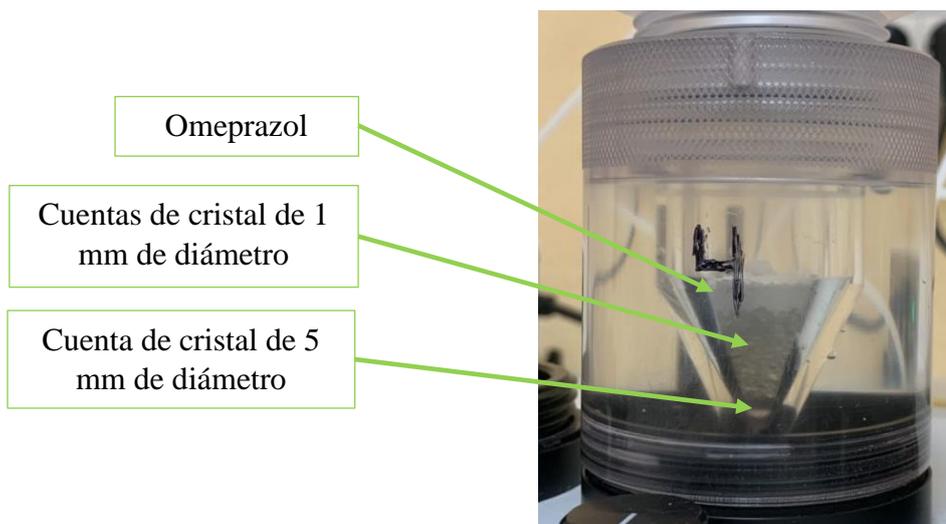


Figura 4. Celda con las cuentas de cristal y el omeprazol.

Para simular las condiciones gastrointestinales de los niños se utilizaron los medios recogidos en la EP (14) siguiendo un circuito abierto, tal y como recomendaron Van der Vossen y colaboradores (2).

Independientemente del medio utilizado, antes de comenzar cada uno de los ensayos se siguieron los siguientes pasos:

1. Encender el calefactor para que el baño de agua previamente relleno se encuentre a 37,5 °C.
2. Colocar la cuenta de cristal de 5 mm de diámetro y los 2,5 g de las de 1 mm en las celdas.
3. Añadir los 300 mg de omeprazol encima de las cuentas en cada celda.
4. Colocar un filtro de papel antes de cerrar la celda.
5. Rellenar las camisas exteriores con agua a 37,5°C para mantener el calor.
6. Colocar las mangueras en el medio y en las botellas de residuos y conectarlas con sus respectivas celdas.
7. Encender la bomba, ajustar el flujo e iniciarla.

Se realizaron un total de 3 configuraciones diferentes, cada una de ellas por duplicado.

- **Medio gástrico pH 1,13:** para la preparación del medio gástrico se utilizaron 2 g de NaCl, 80 mL de HCl 1 M y se enrasó con agua hasta 1 L en un matraz aforado. La estabilidad del omeprazol se evaluó utilizando un flujo de 5 mL/min (2) y se empezó a recolectar el fluido a los 2, 5, 10 y 15 minutos.
- **Medio intestinal pH 6,8:** para la preparación del medio intestinal se utilizaron 154 mL de disolución de NaOH 0,2 M, 250 mL de disolución de KH_2PO_4 0,1 M y se enrasó con agua hasta 1L en un matraz aforado y se ajustó el pH con disolución de NaOH 0,2 M en el pHmetro Crison GLP21. La estabilidad del omeprazol se evaluó utilizando un flujo de 4 mL/min (2) y se tomaron muestras a los 5, 15, 30, 45 y 60 minutos.
- **Transición de medio gástrico a intestinal:** la estabilidad del omeprazol se evaluó haciendo pasar medio gástrico (de igual composición que el del primer ensayo) a un flujo de 5 mL/min (2) durante 5 min. Seguidamente, se modificó

el flujo a 4 mL/min (2) y se añadió la cantidad necesaria de medio intestinal a un pH de 7,5 sobre el medio gástrico restante para así obtener un pH de 6,8. Finalmente, se tomaron muestras a los 2, 5, 15 y 45 minutos.

A cada tiempo de muestreo se tomó una muestra adecuada para poder obtener una concentración por encima del límite de cuantificación en el HPLC. Todas ellas fueron filtradas mediante filtros de jeringa de 0,45 micras (CHROMAFIL Xtra, PET-45/25) previo a su análisis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

En la figura 5 tenemos la recta de calibrado del omeprazol, en la que se representan las áreas en $\mu\text{V/s}$ obtenidas a 302 nm en el eje de ordenadas, y las concentraciones de omeprazol correspondientes en $\mu\text{g/mL}$ en el de abscisas. También se observan la ecuación de la recta y su coeficiente de correlación.

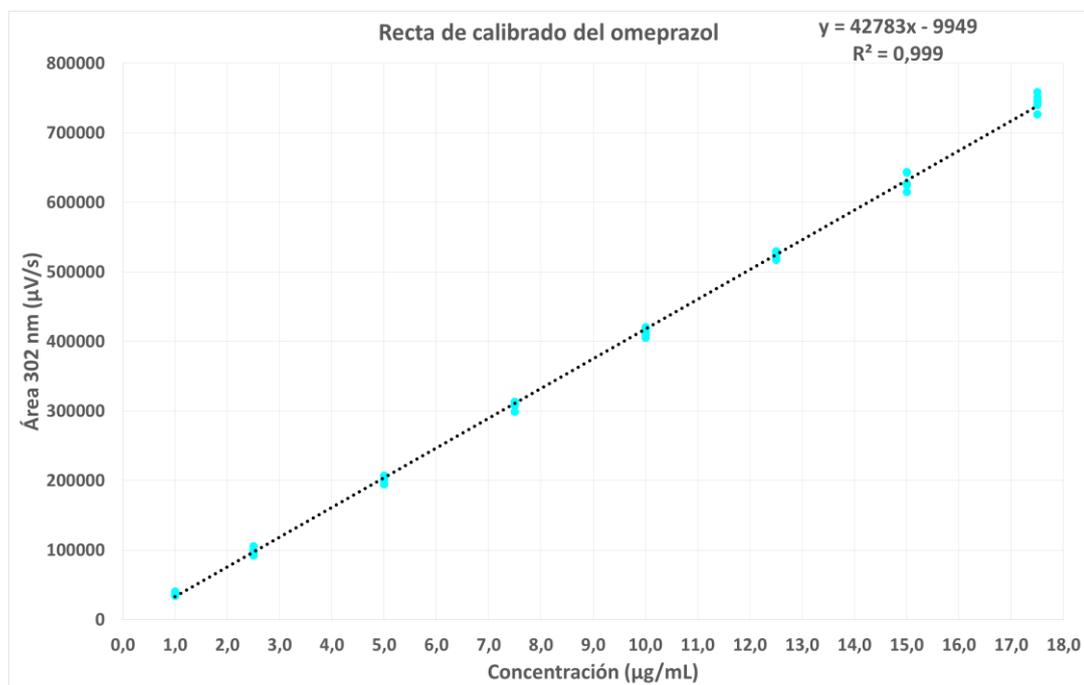


Figura 5. Recta de calibrado del omeprazol.

A continuación, se irá comentando una a una la aceptación o el rechazo de las hipótesis:

En primer lugar, dado que la t_{tabulada} para 38 grados de libertad y un valor de α de 0,05 es 2,02 y este resulta ser mayor que la $t_{\text{calculada}}$, se acepta la hipótesis nula y, por tanto, la ordenada en el origen es igual a 0 ($b_0=0$). Como consecuencia, se ha de reestimar la pendiente, obteniendo la siguiente ecuación de la recta (ecuación 9):

$$\text{Área } (\mu\text{V}/\text{s}) = 41976,29 \times \text{Concentración } (\mu\text{g}/\text{mL})$$

Ecuación 9. Ecuación de la recta.

En segundo lugar, dado que la F_{tabulada} para 1 y 38 grados de libertad y un valor de α de 0,05 resulta ser menor que la $F_{\text{calculada}}$, se rechaza la hipótesis nula y, por tanto, la pendiente de la recta es distinta a 0 ($b_1 \neq 0$) y, consecuentemente, la variable “y” depende de la variable “x”.

En tercer y último lugar, dado que F_{tabulada} para 6 y 32 grados de libertad y un valor de α de 0,05 resulta ser mayor que la $F_{\text{calculada}}$, se acepta la hipótesis nula y, por tanto, no existe desviación de la linealidad. El modelo lineal es correcto.

El intervalo de confianza para la exactitud se encuentra entre -0,264 y 0,161. Por tanto, dado que se encuentra dentro del intervalo de aceptación, -0,3 y 0,3, el método es exacto. El coeficiente de variación es del 2,10%, inferior al 3% establecido.

Los límites de detección y cuantificación son 0,61 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 1,86 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente.

4.2. CONTROL DEL FUNCIONAMIENTO DEL HPLC

En la figura 6 podemos observar que 5 patrones pinchados en diferentes ensayos se encuentran dentro del intervalo de la media y ± 2 desviaciones estándar, por lo que el método se encontraba bajo control durante la realización de los ensayos.

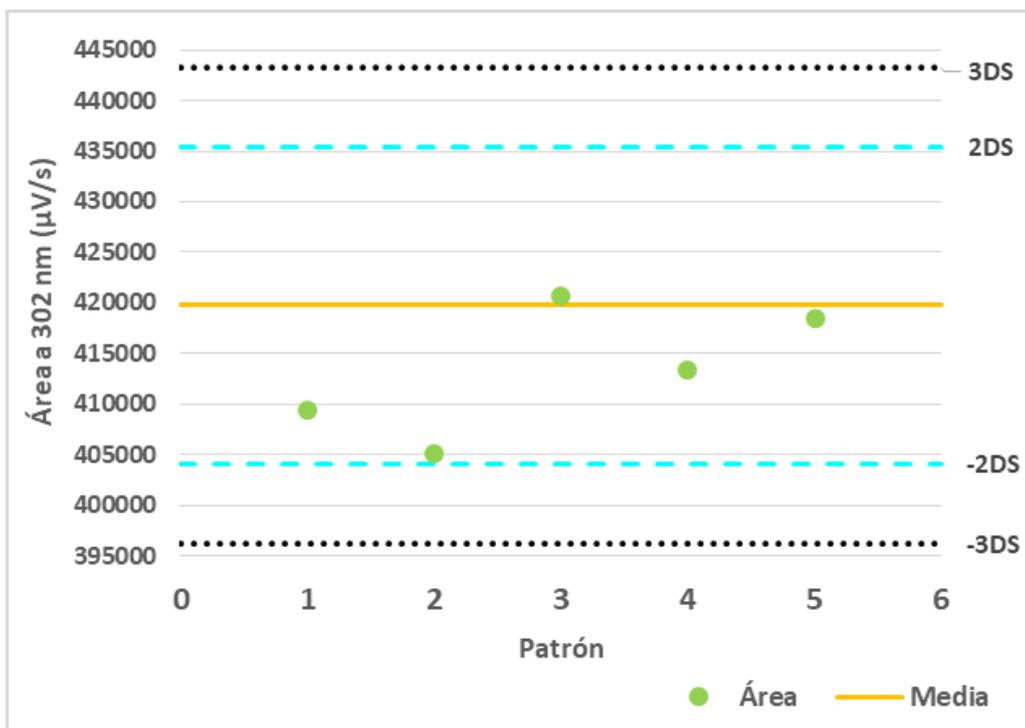


Figura 6. Carta de control del método. 3DS: valor de la media + 3 desviaciones estándar; 2DS: valor de la media + 2 desviaciones estándar; -2DS: valor de la media - 2 desviaciones estándar; -3DS: valor de la media - 3 desviaciones estándar.

4.3. ESTABILIDAD

En la figura 7 se observa, para cada una de las condiciones ensayadas, el porcentaje medio de valor declarado frente al tiempo transcurrido (en minutos), obtenido a partir de las concentraciones sacadas de las áreas medidas en el HPLC a 302 nm. También está representada la desviación estándar de cada uno de los puntos.

En la figura 8 se observa el cromatograma obtenido en el HPLC en el que se comparan las áreas obtenidas para una muestra de cada medio en comparación con la disolución patrón de omeprazol, representando las áreas frente al tiempo.

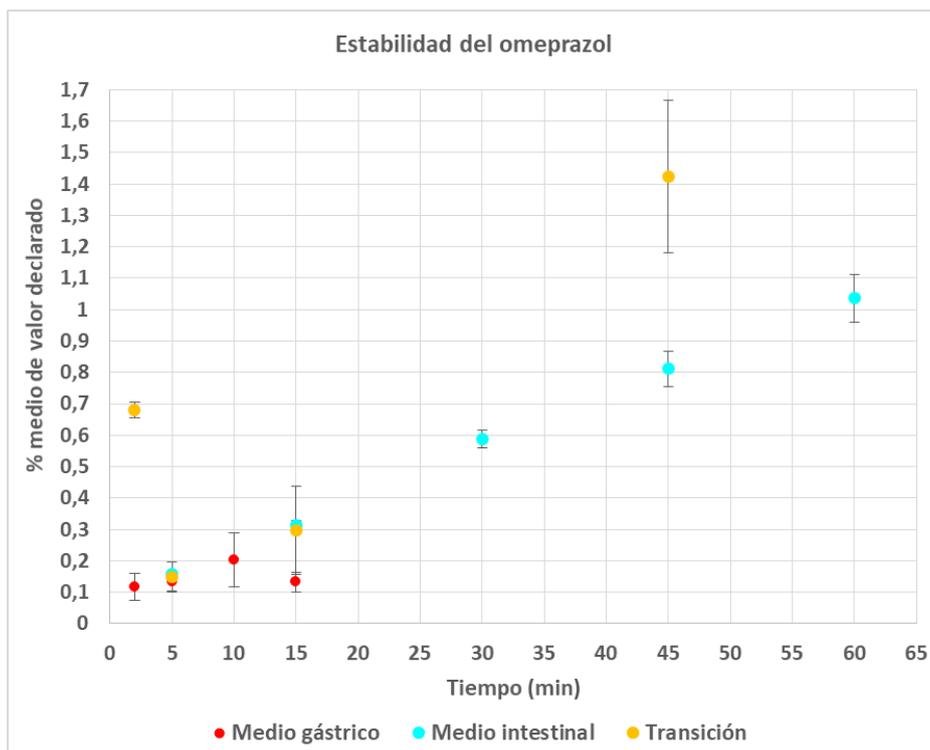


Figura 7. Estabilidad del omeprazol.

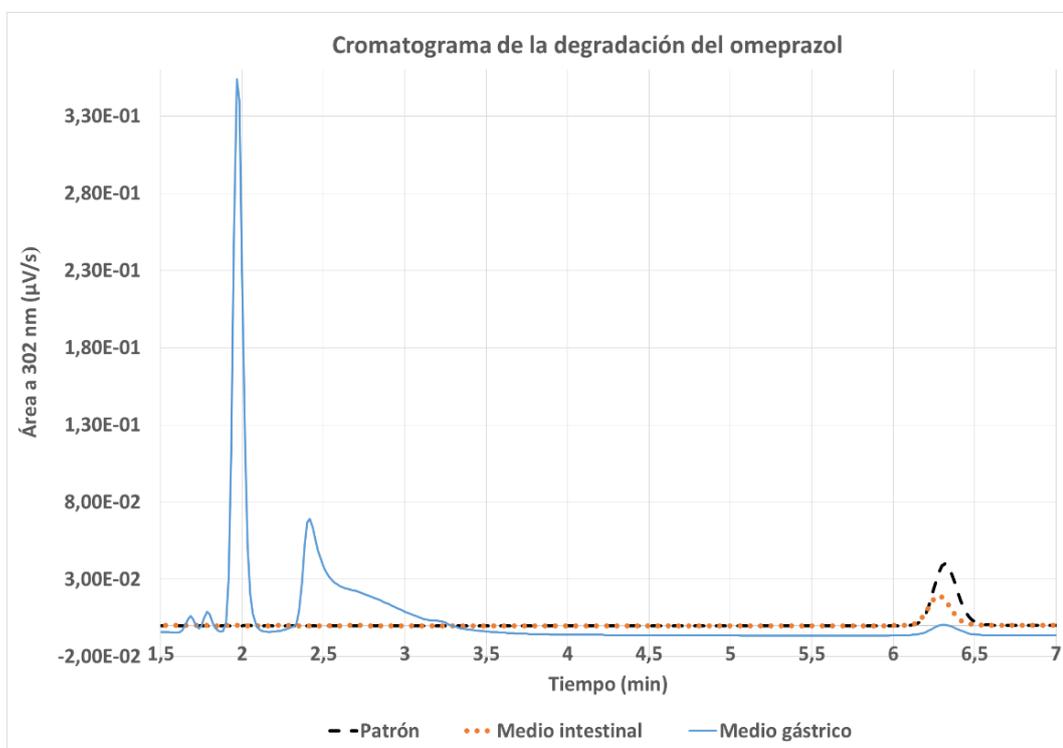


Figura 8. Cromatograma de la degradación del omeprazol comparando la disolución patrón de omeprazol (10 µg/mL), el ensayo con medio intestinal y el ensayo con medio gástrico.

4.3.1. MEDIO GÁSTRICO

El omeprazol se degrada rápidamente, habiéndose degradado casi en su totalidad transcurridos tan solo 2 minutos y manteniéndose prácticamente constantes los valores a partir de ese momento, ver figura 7. Esto se debe a su enorme inestabilidad a pH ácido, ya que su pH de máxima estabilidad es 11 (15, 16).

En la figura 8 se aprecia de manera clara que, en el medio gástrico, el omeprazol se degrada rápidamente dando una señal antes de los 2 minutos, lo que correspondería a productos de degradación, que continúan apareciendo también a los casi 2,5 minutos, para dar una mínima señal de omeprazol a su tiempo correspondiente, 6,3 minutos.

Asimismo, en las figuras 9 y 10 se puede observar cómo se produce un cambio de coloración a un amarillo cada vez más intenso en la celda a causa del paso del medio ácido y la consecuente degradación del omeprazol (15, 17).



Figura 9. Inicio del flujo de medio gástrico.



Figura 10. Aspecto de las celdas tras 3 minutos de paso de medio gástrico.

4.3.2. MEDIO INTESTINAL

Se observan cantidades de omeprazol crecientes a medida que se va disolviendo, ver figura 7. Además, a este pH es más estable y, por tanto, la degradación sería mínima. Como se puede observar en la figura 8, en el medio intestinal no existen productos de degradación y solamente aparece la señal del omeprazol.

En la figura 11 se puede observar que, tras 15 minutos de ensayo, seguía quedando omeprazol en estado sólido en la celda. Esto coincide con la baja solubilidad del omeprazol a este pH (15).



Figura 11. Celda tras 15 minutos de ensayo con medio intestinal.

4.3.3. TRANSICIÓN DE MEDIO GÁSTRICO A INTESTINAL

Se observa una disminución de la cantidad de omeprazol al comenzar el paso del medio gástrico, siendo escasa transcurridos 5 minutos, ver figura 7. Por el contrario, al comenzar a pasar medio intestinal, se observa un aumento, además de que, en la botella de recolección, comenzó a formarse un precipitado negro (ver figura 12), el cual podría deberse a la precipitación del omeprazol causada por la neutralización del medio ácido añadiendo el medio intestinal, con el consiguiente aumento de pH y reducción de la solubilidad. Esto se ha descrito con anterioridad por otros autores (15).



Figura 12. Precipitado que se formó en la botella de recolección al añadir el medio intestinal sobre el medio gástrico.

El precipitado formado se trató igual que un patrón de omeprazol y fue analizado en el HPLC. Así, se obtuvo un cromatograma muy similar al de un patrón de omeprazol, ver figura 13. Por tanto, este precipitado parece estar formado enteramente por omeprazol, o un compuesto de estructura química muy similar. No obstante, en un futuro esto será comprobado mediante el uso de otras técnicas analíticas.

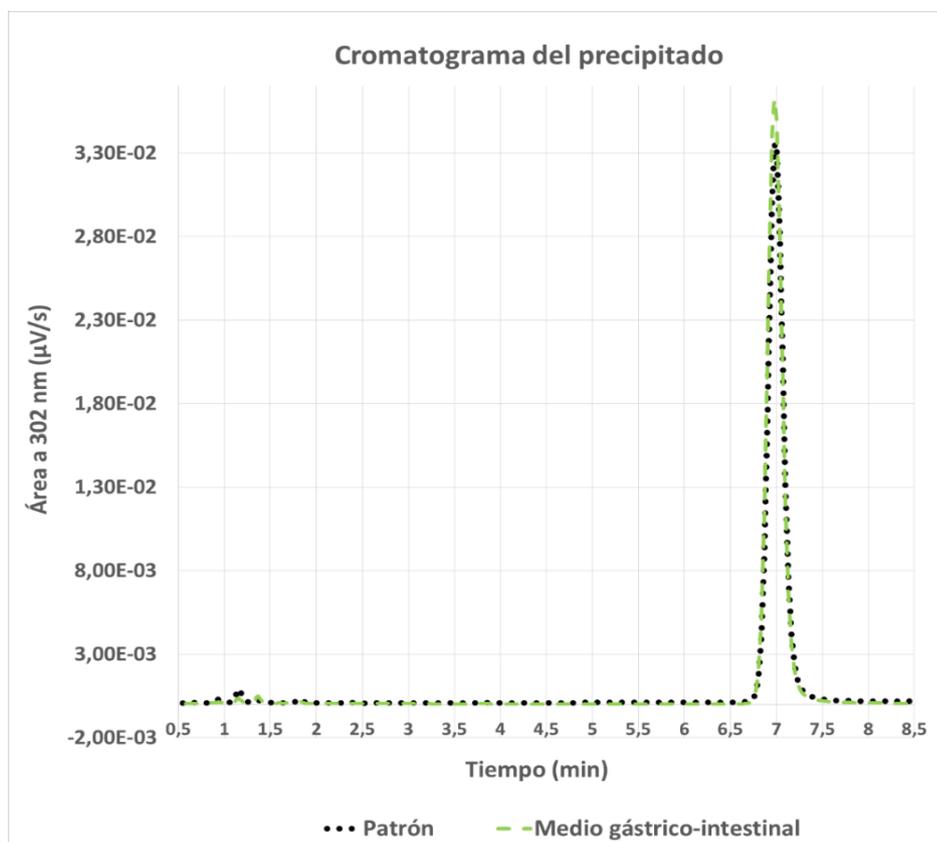


Figura 13. Cromatograma del precipitado obtenido comparando el patrón de omeprazol (10 µg/mL) y el precipitado obtenido tras el ensayo de transición de medio gástrico a intestinal.

5. CONCLUSIONES

- El método analítico desarrollado para HPLC es lineal, exacto, preciso y con límites de detección y cuantificación adecuados para la cuantificación del omeprazol.
- El uso de un aparato disolución de celda de flujo continuo permite simular las condiciones gastrointestinales, posibilitando modificaciones tanto del pH como del medio de disolución, así como del flujo.
- El omeprazol resulta más lábil e inestable a pH ácido, poco soluble a pH básico y ante un cambio drástico de pH (de ácido a básico), precipita.
- Este trabajo ha resultado fundamental de cara al desarrollo de una formulación de omeprazol pediátrica a partir de principio activo puro, ya que permitirá comprobar la estabilidad del omeprazol ante el uso de diversos agentes suspensores, diluyentes, reguladores del pH, etc.

6. REFERENCIAS

- (1) Kamstrup D, Berthelsen R, Sassene PJ, Selen A, Müllertz A. In Vitro Model Simulating Gastro-Intestinal Digestion in the Pediatric Population (Neonates and Young Infants). *AAPS PharmSciTech*. 2017 Feb;18(2):317-329.
- (2) Van der Vossen AC, Hanff LM, Vulto AG, Fotaki N. Potential prediction of formulation performance in paediatric patients using biopharmaceutical tools and simulation of clinically relevant administration scenarios of nifedipine and lorazepam. *Br J Clin Pharmacol*. 2019 Aug;85(8):1728-1739.
- (3) Yoshida H, Kuwana A, Shibata H, Izutsu K, Goda Y. Effects of Pump Pulsation on Hydrodynamic Properties and Dissolution Profiles in Flow-Through Dissolution Systems (USP 4). *Pharm Res*. 2016 Jun;33(6):1327-36.
- (4) Singh I, Aboul-Enein HY. Advantages of USP apparatus IV (flow-through cell apparatus) in dissolution studies. *Journal of the Iranian Chemical Society* 2006 Sep;3(3):220-222.
- (5) Fotaki N. Flow-Through Cell Apparatus (USP Apparatus 4): Operation and Features. *Dissolution technologies* 2011;18(4):46-49.
- (6) Paprskářová A, Možná P, Oga EF, Elhissi A, Alhnan MA. Instrumentation of Flow-Through USP IV Dissolution Apparatus to Assess Poorly Soluble Basic Drug Products: a Technical Note. *AAPS PharmSciTech*. 2016 Oct;17(5):1261-6.
- (7) Boscolo O, Perra F, Salvo L, Buontempo F, Lucangioli S. Formulation and Stability Study of Omeprazole Oral Liquid Suspension for Pediatric Patients. *Hosp Pharm*. 2020 Oct;55(5):314-322.
- (8) FICHA TECNICA OMEPRAZOL CINFAMED 40 mg CAPSULAS DURAS GASTRORRESISTENTES [Internet]. *Aemps.es*. [consultado el 18 de junio

de 2022]. Disponible en:
https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/65570/FT_65570.html

- (9) European Pharmacopoeia. Omeprazole [Internet]. 10th Edition; 2021. [consultado 4 de abril de 2022]. Disponible en: <https://pheur-edqm-eu.accedys2.bbt.k.uill.es/app/10-8/content/10-8/0942E.htm?highlight=on&terms=omeprazole>
- (10) Bestebreurtje P, Roeleveld N, Knibbe CAJ, van Sorge AA, Plötz FB, de Wildt SN. Development and Stability Study of an Omeprazole Suppository for Infants. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2020 Oct;45(5):627-633.
- (11) Milic J, Radojkovic B, Jancic-Stojanovic B, Draskovic J, Mirasevic S, Calija B. Investigation of omeprazole stability in oral suspensions for pediatric use prepared extemporaneously from omeprazole capsules. *Arh Farm (Belgr).* 2017;67(1):14–25.
- (12) Omeprazole 2 mg/mL suspensión oral [Internet]. Sefh.es. [consultado el 20 de junio de 2022]. Disponible en: <https://gruposdetrabajo.sefh.es/gefp/images/stories/documentos/formulas/o/Omeprazol2mgmlsuspensionoral.pdf>
- (13) Higuera-de-la-Tijera F. Efficacy of omeprazole/sodium bicarbonate treatment in gastroesophageal reflux disease: a systematic review. *Medwave.* 2018 Mar 14;18(2):e7179.
- (14) European Pharmacopoeia. 5.17. RECOMMENDATIONS ON METHODS FOR DOSAGE FORMS TESTING. 5.17.1. RECOMMENDATIONS ON DISSOLUTION TESTING [Internet]. 10th Edition; 2010. [consultado 4 de abril de 2022]. Disponible en: <https://pheur-edqm-eu.accedys2.bbt.k.uill.es/app/10-6/content/10-6/51701E.htm?highlight=on&terms=intestinal%20fluid&terms=fluid>

- (15) Mathew M, Gupta VD, Bailey RE. Stability of Omeprazole Solutions at Various pH Values as Determined by High-Performance Liquid Chromatography. *Drug development and industrial pharmacy* 1995;21(8):965-971.
- (16) Agatonovic-Kustrin S, Williams D, Ibrahim N, Glass BD. Influence of sulfobutylether-beta-cyclodextrin on the stability of S- and R- omeprazole. *Curr Drug Discov Technol.* 2007 Oct;4(3):192-7.
- (17) Türkoğlu M, Varol H, Celikok M. Tableting and stability evaluation of enteric-coated omeprazole pellets. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004 Mar;57(2):279-86.