

**Ю.И. Кулинич,**  
аспирант кафедры фармацевтической  
и токсикологической химии Первого МГМУ  
им. И.М. Сеченова

**Yu.I. Kulnich,**  
Post-graduate student of the chair of pharmaceutical  
and toxicological chemistry of the First MSMU  
named after I.M. Sechenov

## БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

## BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES OF THE NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Юлия Игоревна Кулинич,** аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии  
**Адрес:** 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2  
**Телефон:** 8 (495) 248-04-37; 8 (495) 708-35-73  
**E-mail:** pharma@bk.ru

**Аннотация.** В данной статье рассматривается вопрос о специфических особенностях нестероидных противовоспалительных средств.

**Annotation.** This article observes the specific features of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).

**Ключевые слова.** Нестероидные противовоспалительные средства, биофармацевтические свойства.

**Key words.** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), biopharmaceutical properties.

Важнейшими биофармацевтическими свойствами, оказывающими влияние на достижение ЛВ системного кровотока, являются растворимость и проницаемость. Выделяют следующие стадии на пути проникновения ЛВ в системный кровоток: высвобождение ЛВ из ЛФ, растворение в физиологических средах ЖКТ, абсорбция через кишечную (или желудочную) мембрану.

Для того чтобы определить биофармацевтическую растворимость ЛВ, необходимо проводить эксперимент в условиях, наиболее приближенных к физиологическим параметрам организма. Рекомендуется использовать буферные растворы со значениями pH 1, 2, 4, 5, 6, 8, которые позволяют оценить поведение ЛВ в ЖКТ [2]. Возможно проводить исследования и в других буферных растворах, если это теоретически обосновано и представляет интерес для изучаемого ЛВ.

Растворимость ЛВ определяют методом встряхивания в термостатируемой колбе при постоянной температуре или другим альтернативным способом (например, на приборе для проведения теста «Растворение», с помощью потенциометрического титрования) [2, 5, 6, 8]. Применяемый метод должен имитировать растворение ЛВ в физиологических условиях организма. Испытание проводят при

температуре 37°C до полного насыщения раствора (обычно 24–48 часов) с использованием валидированных методик количественного определения, которые предусматривают построение калибровочной кривой. Определение концентрации ЛВ исследуемых образцов проводят спектрофотометрическим или хроматографическим методом.

Процесс всасывания ЛВ через эпителиальную мембрану кишечника называют абсорбцией, которая зависит от многих факторов, но прежде всего пропорциональна степени липофильности ЛВ. Абсорбция ЛВ является качественной характеристикой, которая позволяет описать процесс проникновения вещества в системный кровоток.

Для определения степени проникновения ЛВ через стенку кишечника определяют показатель кишечной проницаемости ( $P_{\text{eff in vivo}}$ ), который позволяет с количественной точки зрения оценить его всасывающую способность. Наиболее достоверную информацию о степени проницаемости ЛВ получают при проведении фармакокинетических испытаний и определении абсолютной биодоступности ( $F_a$ ), а также методом кишечной перфузии на людях [7].

Критерием «высокой» проницаемости является высокая (ЕМА, ВОЗ, РФ — более 85%, FDA — более

90%) абсолютная биодоступность, либо высокий коэффициент проницаемости, относительно внутреннего стандарта — метопролола, значение  $P_{\text{eff}}$  *in vivo* которого составляет  $1,5 \times 10^{-4}$  см/с. Полученные данные *in vivo* являются наиболее надежными. Однако такие исследования считаются достаточно трудоемкими, продолжительными и дорогостоящими, а также вовлекают в испытание здоровых добровольцев, что вызывает дополнительные этические сложности.

Существует возможность определить коэффициент проницаемости альтернативным методом на животных *in situ* (на тонком кишечнике крыс, собак и кроликов). Однако метод определения проницаемости на животных является достаточно дорогостоящим, что не позволяет использовать его для рутинных или скрининговых исследований [7].

В настоящее время наиболее часто применяют косвенные методы исследования проницаемости, которые с достаточной степенью достоверности, надежности и воспроизводимости позволяют смоделировать процессы абсорбции ЛВ через желудочную или кишечную мембрану. К таким методам относится моделирование кишечной проницаемости на монокультуре эпителиальных клеток *in vitro*, прогнозирование кишечной проницаемости с применением компьютерного моделирования *in silico* и

расчет коэффициента распределения октанол-вода ( $\log P$ ) [2].

Цель исследования — изучить биофармацевтические свойства (растворимость и проницаемость) ибупрофена, кетопрофена и пироксикама, а также подтвердить принадлежность ко II классу согласно Биофармацевтической Классификационной Системе.

Задачи исследования:

- изучить биофармацевтические свойства (растворимость и проницаемость) ибупрофена, кетопрофена и пироксикама на основании литературных данных;
- определить биофармацевтическую растворимость ибупрофена, кетопрофена и пироксикама;
- определить биофармацевтическую равновесную растворимость пироксикама.

Изучение биофармацевтической растворимости осуществляли на ультразвуковой бане при постоянной температуре в течение 24 часов в соответствии с требованиями руководства для производителей «*Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system*» (Food and Drug Administration) [5]. Кроме того, для субстанции пироксикама измерение растворимости подтвердили также на приборе для теста «Растворение».

Таблица 1

Растворимость ибупрофена, кетопрофена и пироксикама в диапазоне pH от 1 до 7,4

| Ибупрофен                                     | Значение pH |        |       |       |        |       |
|-----------------------------------------------|-------------|--------|-------|-------|--------|-------|
|                                               | 1           | 3      | 4,5   | 5,5   | 6,8    | 7,4   |
| Растворимость, мг/мл                          | 0,038       | 0,043  | 0,084 | 0,685 | 3,370  | 3,440 |
| Максимальная дозировка ЛС 400 мг <sup>1</sup> |             |        |       |       |        |       |
| D/S, мл                                       | 10526       | 9302   | 4762  | 584   | 119    | 116   |
| D <sub>0</sub>                                | 42,10       | 37,20  | 19,00 | 2,30  | 0,47   | 0,46  |
| Высокая (B)/низкая (H)                        | H           | H      | H     | H     | B      | B     |
| Кетопрофен                                    | Значение pH |        |       |       |        |       |
|                                               | 1,2         | 2,0    | 4,0*  | 5,0   | 6,8*   |       |
| Растворимость, мг/мл                          | 0,130       | 0,205  | 0,280 | 0,380 | 40,760 |       |
| Максимальная дозировка ЛС 50 мг <sup>2</sup>  |             |        |       |       |        |       |
| D/S, мл                                       | 385         | 244    | 179   | 132   | 1,2    |       |
| D <sub>0</sub>                                | 1,54        | 0,97   | 0,71  | 0,52  | 0,005  |       |
| Высокая (B)/низкая (H)                        | H           | B      | B     | B     | B      |       |
| Пироксикам                                    | Значение pH |        |       |       |        |       |
|                                               | 1,2         | 4,0*   | 5,0*  | 6,0*  | 7,0*   | 7,4   |
| Растворимость, мг/мл                          | 0,09        | 0,0320 | 0,012 | 0,198 | 1,37   | 0,26  |
| Максимальная дозировка ЛС 20 мг <sup>3</sup>  |             |        |       |       |        |       |
| D/S, мл                                       | 222         | 625    | 1667  | 101   | 14     | 77    |
| D <sub>0</sub>                                | 0,89        | 2,50   | 6,70  | 0,40  | 0,06   | 0,31  |
| Высокая (B)/низкая (H)                        | B           | H      | H     | B     | B      | B     |

**Примечание.** \*Буфер Макильвейна (смесь соответствующих объемов 0,1 М раствора лимонной кислоты и 0,2 М раствора натрия гидрофосфата; 1 — максимальная зарегистрированная дозировка ибупрофена в ЛФ «таблетки покрытые оболочкой»; 2 — максимальная зарегистрированная дозировка кетопрофена в ЛФ «капсулы»; 3 — максимальная зарегистрированная дозировка пироксикама в ЛФ «капсулы».

Определение растворимости проводили в буферных растворах со значениями pH 1, 2, 4, 5 и 6, 8, которые готовили по методикам, описанным в Европейской Фармакопее 6-го издания.

Растворимость субстанций ибупрофена, кетопрофена и пироксикама определяли, используя следующую формулу:

$$X, \text{ мг/мл} = (M \times C \times P \times D) / (V \times D_0),$$

где M — масса навески субстанции, мг;

P — разведение пробы;

C — чистота субстанции;

D — оптическая плотность изучаемой субстанции;

D<sub>0</sub> — оптическая плотность раствора стандарта;

V — объем колбы, мл.

Растворимость ибупрофена, кетопрофена и пироксикама в воде при комнатной температуре (22–24°C) не превышает 0,010 мг/мл. При повышении температуры воды до 37°C растворимость кетопрофена возрастает, но незначительно и составляет 0,253 мг/мл [10].

В табл. 1 представлены литературные значения растворимости изучаемых ЛВ в диапазоне pH от 1 до 7,4 [3, 4, 9, 10]. Как видно из данной таблицы, ибупрофен и кетопрофен при значении pH, которое соответствует физиологическому значению pH желудка (в сытом состоянии pH 1–2), обладают «низкой» растворимостью, поскольку данные ЛВ характеризуются слабыми кислотными свойствами (pKa ибупрофена и кетопрофена 4,5 и 4,4 соответственно). При значениях pH соответствующих физиологическим значениям pH тонкого кишечника (pH 5,5–7,2) ибупрофен и кетопрофен характеризуются высокой растворимостью.

Поскольку пироксикам является амфотерным соединением (кислотные свойства связаны с подвижным протоном гидроксильной группы, основные свойства — с атомом азота пиридинового кольца) с более выраженными кислотными свойствами (pKa<sub>1</sub> = 1,86, pKa<sub>2</sub> = 5,46), при низких и высоких значениях pH изучаемое вещество характеризуется высокой растворимостью и низкой растворимостью при pH от 4–5.

### Определение биофармацевтической растворимости ибупрофена, кетопрофена и пироксикама экспериментальным путем

В табл. 2 представлены результаты определения биофармацевтической растворимости субстанции ибупрофена в солянокислом, ацетатном и фосфатных буферных растворах. Экспериментальные значения растворимости отличаются от литературных данных (табл. 1), но подтверждают низкую растворимость при pH 1,2–4,5 и высокую растворимость при pH 6,8. Значения RSD не превышали допустимого значения 2%.

Таблица 2

#### Экспериментальные значения биофармацевтической растворимости ибупрофена

| № пробы                 | pH 1,2        | pH 4,5        | pH 6,8         |
|-------------------------|---------------|---------------|----------------|
| 1                       | 0,099         | 0,143         | 10,46          |
| 2                       | 0,095         | 0,147         | 10,40          |
| 3                       | 0,101         | 0,144         | 10,42          |
| <b>Среднее значение</b> | <b>0,098</b>  | <b>0,145</b>  | <b>10,43</b>   |
| RSD, %                  | 0,099         | 1,46          | 0,30           |
| D/S, мл                 | 4081,6        | 2758,6        | 38,4           |
| <b>Высокая/низкая</b>   | <b>Низкая</b> | <b>Низкая</b> | <b>Высокая</b> |

В табл. 3 представлены результаты определения биофармацевтической растворимости субстанции кетопрофена в солянокислом, ацетатном и фосфатных буферных растворах.

Экспериментальные результаты определения незначительно отличаются от литературных данных и подтверждают низкую растворимость при pH 1,2 и высокую — при pH 4,5 и 6,8.

Таблица 3

#### Экспериментальные значения биофармацевтической растворимости кетопрофена

| № пробы                 | pH 1,2        | pH 4,5         | pH 6,8         |
|-------------------------|---------------|----------------|----------------|
| 1                       | 0,116         | 0,334          | 30,76          |
| 2                       | 0,120         | 0,330          | 31,12          |
| 3                       | 0,119         | 0,332          | 30,15          |
| <b>Среднее значение</b> | <b>0,118</b>  | <b>0,332</b>   | <b>30,68</b>   |
| RSD, %                  | 1,80          | 0,60           | 1,30           |
| D/S, мл                 | 423,7         | 150,6          | 1,6            |
| <b>Высокая/низкая</b>   | <b>Низкая</b> | <b>Высокая</b> | <b>Высокая</b> |

В табл. 4 представлены результаты определения биофармацевтической растворимости субстанции пироксикама в солянокислом, ацетатном и фосфатных буферных растворах.

Таблица 4

#### Экспериментальные значения биофармацевтической растворимости пироксикама

| № пробы                 | pH 1,2         | pH 4,5        | pH 6,8         |
|-------------------------|----------------|---------------|----------------|
| 1                       | 1,060          | 0,0200        | 0,490          |
| 2                       | 1,090          | 0,0210        | 0,500          |
| 3                       | 1,100          | 0,0230        | 0,470          |
| <b>Среднее значение</b> | <b>1,083</b>   | <b>0,021</b>  | <b>0,486</b>   |
| RSD, %                  | 1,96           | 0,57          | 0,10           |
| D/S, мл                 | 18,5           | 971,0         | 41,2           |
| <b>Высокая/низкая</b>   | <b>Высокая</b> | <b>Низкая</b> | <b>Высокая</b> |

Полученные результаты свидетельствуют, что субстанция пироксикама характеризуется низкой растворимостью при pH 4,5 и высокой — при pH 1,2 и 6,8.

# **Определение биофармацевтической равновесной растворимости пироксикама на приборе для теста «Растворение»**

В табл. 5 представлены результаты определения равновесной растворимости субстанции пироксикама в солянокислом, ацетатном и фосфатных буферных растворах.

Таблица 5

**Экспериментальные значения биофармацевтической растворимости пироксикама**

| Растворимость, мг/мл | Солянокислый буфер pH 1,2 | Ацетатный буфер pH 4,5 | Фосфатный буфер pH 6,8 |
|----------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|
| 2 ч.                 | 1,05                      | 0,021                  | 0,53                   |
| 3 ч.                 | 1,05                      | 0,022                  | 0,47                   |
| 4 ч.                 | 1,09                      | 0,022                  | 0,47                   |

Следует отметить, что для всех трех сред растворения, в которых проводили изучение растворимости субстанции, значение равновесной растворимости значительно не изменялось. Таким образом, сделано заключение о том, что в течение 4 часов было достигнуто термодинамическое равновесие процесса перехода пироксикама в раствор. В связи с этим значение концентрации пироксикама в среде растворения спустя 4 часа после начала испытания было принято за значение его равновесной биофармацевтической растворимости.

При сравнении экспериментальных данных с литературными по определению растворимости пироксикама, которые были установлены методом встряхивания в термостатируемой колбе (табл. 1), следует обратить внимание на достаточно неплохое совпадение значений растворимости в диапазоне pH, соответствующем двенадцатиперстной кишке (pH 4,0–5,0, значения растворимости от 0,12 до 0,39 мг/мл). Наблюдались существенные различия (более чем в 10 раз) в значениях растворимости для солянокислого буферного раствора. Литературные данные (растворимость около 0,09 мг/мл) кажутся недостаточно достоверными, поскольку пироксикам является амфолитом и его растворимость в кислой среде должна существенно отличаться от растворимости при значениях pH, близким к изоэлектрической точке (3,65). Расчет дозового числа ( $D_0$ ) и отношения дозы к растворимости ( $D/S$ , мл) проводили для временной точки — 4 часа (табл. 6).

Таблица 6

**Оценка равновесной растворимости субстанции пироксикама**

| Среда растворения | $D_0$ (критерий приемлемости $D_0 > 1$ ) | $D/S$ , мл (критерий приемлемости $D/S < 250$ мл) | Заключение |
|-------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------|
| pH 1,2            | 13,7                                     | 18,3                                              | высокая    |
| pH 4,5            | 0,27                                     | 909                                               | низкая     |
| pH 6,8            | 5,9                                      | 42,5                                              | высокая    |

На основании экспериментальных данных равновесная биофармацевтическая растворимость субстанции пироксикама в физиологическом диапазоне pH (1,0–6,8) может быть классифицирована как «низкая». В то же время его растворимость при низком значении pH переклассифицирована как «высокая». На примере субстанции пироксикама подтверждено, что значения растворимости, полученные при проведении эксперимента в ультразвуковой бане и на приборе для растворения, качественно совпадают.

## **Изучение кишечной проницаемости субстанций ибупрофена, кетопрофена и пироксикама**

Оценка проницаемости изучаемых нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) проводилась на основании литературных данных, полученных при проведении фармакокинетических исследований, кишечной перфузии *in vivo* на людях и *in situ* на животных, а также *in vitro* на культуре эпителиальных клеток Caco-2. Ибупрофен, кетопрофен и пироксикам быстро и почти полностью абсорбируются в желудочно-кишечном тракте, абсолютная биодоступность составляет более 90%.

Характерной особенностью для НПВС является то, что лекарственное вещество (ЛВ) легко связывается с белками плазмы крови (>90%), а именно не связанная часть ЛВ определяет его терапевтическое, а следовательно и токсическое действие на организм, поэтому заболевания, которые сопровождаются снижением количества альбумина в плазме крови, способствуют увеличению риска развития побочных эффектов. Поскольку ибупрофен и кетопрофен представляют собой рацемическую смесь, в которой только S-энантиомер оказывает фармакологическое действие, то данные ЛВ подвергаются превращению неактивного R-изомера в активный S-изомер.

Максимальная концентрация в плазме крови для ибупрофена и кетопрофена наступает через 1–2 часа после приема, а для пироксикама — через 3–5 часов. Метаболизм данных НПВС протекает в печени: путем конъюгирования с глюкуроновой кислотой для ибупрофена и кетопрофена и посредством гидроксилирования пиридинового кольца боковой цепи с последующей конъюгацией для пироксикама. Выведение из организма осуществляется преимущественно через почки. Период полувыведения кетопрофена составляет 1,6–2 часа, ибупрофена — 24 часа, пироксикама — 24–50 часов.

Хорошо известно, что ЛС с коротким периодом полувыведения представляют наименьший риск из-за быстрой элиминации в случае возникновения нежелательных побочных эффектов. Изучаемые НПВС не обладают кумулятивными свойствами [1].

Таблица 7

Проницаемость ибупрофена, кетопрофена и пироксикама

| Показатель/ЛС                              | Ибупрофен           | Кетопрофен           | Пироксикам             | Эталон                            |
|--------------------------------------------|---------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------------|
| $P_{\text{eff}}$ ( <i>in vivo</i> ), см/с  | $10 \times 10^{-4}$ | $8,7 \times 10^{-4}$ | $6,65 \times 10^{-4}$  | Метопролол $1,5 \times 10^{-4}$   |
| $P_{\text{eff}}$ ( <i>in situ</i> ), см/с  | Нет данных          | $1,9 \cdot 10^{-4}$  | $2,26 \times 10^{-4}$  | Метопролол $0,2 \times 10^{-4}$   |
| $P_{\text{app}}$ ( <i>in vitro</i> ), см/с | $53 \times 10^{-6}$ | $40,6 \cdot 10^{-6}$ | $46,25 \times 10^{-6}$ | Пропранолол $27,5 \times 10^{-6}$ |
| Заключение по проницаемости                | Высокая             | Высокая              | Высокая                |                                   |

В табл. 7 представлены основные сведения по проницаемости изучаемых ЛС в сравнении с эталонными ЛС (из перечня референтных субстанций для оценки кишечной проницаемости), степень проницаемости которых принято считать «высокой» [2, 5, 7, 8, 10].

### Выводы

Таким образом, полученные литературные данные в отношении растворимости и проницаемости субстанций ибупрофена, кетопрофена и пироксикама совместно с экспериментальными результатами по оценке биофармацевтической растворимости подтверждают их «низкую» растворимость и «высокую» проницаемость и позволяют классифицировать достоверно ко II классу Биофармацевтической Классификационной Системы.

### Список литературы

1. Дубиков А.И. Нестероидные противовоспалительные препараты: возвращаясь к основам // Медицинский совет. — 2008. — № 5–6. — С. 62–67.
2. Методические рекомендации по оценке результатов изучения сравнительной кинетики растворения лекарственных средств, а также эквивалентности *in vitro* генерических лекарственных средств согласно процедуре «биоэвейвер». — М.: ООО «Изд-во «Ремедиум», 2010.
3. Potthast H. et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage Forms: Ibuprofen // Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2005. — Vol. 94. — № 10. — P. 2121–2131.
4. Jinno J. et al. Dissolution of ionizable water-insoluble drugs: the combined effect of pH and surfactant // Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2000. — Vol. 89. — № 2. — P. 268–274.
5. Guidance for industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. — FDA, 2000.
6. Guidance on the investigation of bioequivalence. european medicines agency (EMA). — CHMP, 2010.
7. Hilfinger J. Permeability Classification. *In vitro* and *in situ* methodology. URL // <http://www.aapspharmaceutica.com/meetings/files/90/13Hilfinger.pdf>
8. Proposal to waive *in vivo* bioequivalence requirements for WHO model list of essential medicines immediate-release solid oral dosage forms / Technical Report Series, No 937, 40<sup>th</sup> Report, Annex 8 of WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. — WHO, 2006.
9. Sheng J. et al. Solubilization and dissolution of insoluble weak acid, ketoprofen: Effects of pH combined with surfactant // European Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2006. — № 29. — P. 306–314.
10. Tubic-Grozdanis M., Bolger M.B., Langguth P. Application of Gastrointestinal Simulation for Extensions for Biowaivers of Highly Permeable Compounds // The AAPS Journal. — 2008. — Vol. 10. — № 1. — P. 213–226.