

© Коллектив авторов, 2011

И. Е. Шохин^{1,2}, Ю. И. Кулинич^{1,2}, Г. В. Раменская^{1,2,3}, В. Г. Кукес^{1,2,3}

ВАЖНЕЙШИЕ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ НА СТАДИИ АБСОРБЦИИ В ЖКТ (ОБЗОР)

¹ ГОУ ВПО Первый московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

² ФГБУ "НЦ ЭСМП" Минздрава России, Москва, Россия;

³ Филиал "Клиническая фармакология" НЦ БМТ РАМН, Москва, Россия

Рассмотрены важнейшие биофармацевтические свойства, оказывающие влияние на достижение лекарственных веществ системного кровотока. Описаны такие свойства как биофармацевтическая растворимость, кишечная проницаемость, а также методы их определения, взаимосвязь транспорта и абсорбции ЛВ через мембраны ЖКТ и степени метаболизма. Приведены основные биофармацевтические классификации лекарственных веществ, указано их применение в регуляторной практике.

Ключевые слова: растворимость, абсорбция, проницаемость, метаболизм, биофармацевтическая классификационная система (БКС), биофармацевтическая классификация лекарственных веществ по их растворимости и метаболизму (BDDCS), биовеивер.

Одной из фундаментальных задач современной фармации и фармакологии является понимание процесса доставки лекарственного вещества (ЛВ) до определенного органа или клеток-мишеней. Важнейшей стадией данного процесса является поведение лекарственной формы в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Для того чтобы действующее вещество достигло системного кровотока, оно должно пройти через следующие стадии: высвобождение из лекарственной формы, растворение в физиологических средах ЖКТ, абсорбция через кишечную (или желудочную) мембрану [1]. Если достоверно смоделировать данные процессы в условиях *in vitro*, можно решить важнейшую задачу биофармации.

Растворимость

Растворимость ЛВ в биожидкостях ЖКТ (желудочный сок, кишечный сок) является важным биофармацевтическим свойством. Однако следует понимать, что биофармацевтическая растворимость и классическая, фармакопейная растворимость являются разными понятиями. Фармакопейная растворимость отражает количество грамм вещества, способных раствориться в 100 мл растворителя при 20 °С [2]. При определении биофармацевтической растворимости лекарственного вещества основным вопросом исследования является выяснение способности действующего вещества полностью раствориться при внутреннем применении. Поэтому биофармацевтическую растворимость определяют в диапазоне pH, соответствующем физиологическим жидкостям ЖКТ: 1,2 – 6,8 (или 1,0 – 7,5). Определение растворимости проводят методом встряхивания в термостатируемой колбе

(shake-flask method) или другим валидированным методом. Испытание проводят в течение 24 ч при постоянной температуре 37 °С, в 3 повторностях, желательно при значениях pH 1,2, 4,5, 6,8 [3 – 5]. Характеристиками биофармацевтической растворимости, позволяющими описать ЛВ как вещество с "высокой растворимостью" или "низкой растворимостью", являются отношение дозы к растворимости (Dose/Solubility Ratio, D/S) и дозовое число (Dose number, D_0). Отношение дозы к растворимости определяют по формуле: максимальная доза (мг)/водная растворимость (мг/мл). Если значение $D/S \leq 250$ мл, то ЛВ характеризуется "высокой растворимостью" в соответствующем водном растворе [3 – 5]. Дозовое число имеет аналогичный смысл и показывает, какое количество ЛВ растворится в 250 мл водного раствора (т.е. в 1 стакане воды, которым запивают ЛС для внутреннего применения при исследованиях биоэквивалентности) с pH 1,2 – 6,8 (1,0 – 7,5), учитывая его минимальную растворимость. Данный показатель рассчитывают по формуле $D_0 = M_0 / (V_0 \times C_{s, \min})$, где M_0 — максимальная доза ЛВ, V_0 — 250 мл, $C_{s, \min}$ — минимальная растворимость ЛВ. ЛВ имеет "высокую растворимость", если значение $D_0 < 1$ [6, 7]. Важно отметить, что биофармацевтическая растворимость не является постоянной величиной для конкретного ЛВ, а зависит от максимальной зарегистрированной дозировки ЛС немедленного высвобождения системного действия.

Рассмотрим определение биофармацевтической растворимости на примере кетопрофена. В литературе имеются данные о его растворимости в воде при комнатной температуре (0,010 мг/мл) [8], а также при

37 °С в растворах со значениями рН 1,2 (0,13 мг/мл), рН 4,6 (0,49 мг/мл) и рН 6,8 (40,76 мг/мл) [9]. Растворимость в воде во внимание не принимают и рассчитывают соотношение D/S (максимальная дозировка кетопрофена в лекарственных формах немедленного высвобождения для внутреннего применения, зарегистрированная к медицинскому применению в Российской Федерации — 100 мг) [10] для каждого из 3 значений рН. Рассчитанные D/S составляют 769,2 мл (для рН 1,2), 204 мл (для рН 4,6) и 2,4 мл (для рН 6,8) соответственно, кетопрофен можно считать “низко растворимым” в физиологическом диапазоне рН, при этом его растворимость при рН 4,6 и 6,8 можно охарактеризовать как “высокую” [11].

Проницаемость

Проницаемость действующего вещества через мембраны ЖКТ достоверно можно оценить 2 методами *in vivo* — определение абсолютной биодоступности, или определение коэффициента проницаемости. Критерием “высокой проницаемости” ЛВ через мембраны ЖКТ является высокая (ЕМА, ВОЗ, РФ — более 85 %, FDA — более 90 %) абсолютная биодоступность, либо высокий (относительно внутреннего стандарта — метопролола) коэффициент проницаемости $P_{eff\ in\ vivo}$, определенный методом кишечной перфузии *in vivo* [3 – 5, 12]]. Подобные данные *in vivo* являются наиболее достоверными и надежными, однако такие исследования являются достаточно трудоемкими и дорогостоящими, а также вовлекают в испытание здоровых добровольцев, что вызывает дополнительные этические сложности. Поэтому на протяжении последних 15 лет перед исследователями в области молекулярной фармации стояла задача разработать метод, позволяющий косвенно, но с достаточной степенью достоверности, надежности и воспроизводимости оценить кишечную проницаемость [13 – 16].

В [13] предположили, что кишечная проницаемость зависит от липофильности вещества — чем она выше, тем лучше ЛВ проникает через кишечные мембраны. В качестве показателя липофильности использовали коэффициент распределения в системе октанол – вода $\log P$, и сравнили его значение для 29 модельных ЛВ, для которых были известны достоверные данные по коэффициенту проницаемости $P_{eff\ in\ vivo}$. В обоих случаях в качестве стандартного вещества использовали метопролол ($\log P = 1,72$; $P_{eff\ in\ vivo} = 1,34 \times 10^{-4}$ см/с). К сожалению, корреляция этих показателей оказалась

недостаточно надежной — только для 19 веществ из 29 совпали данные по проницаемости *in vivo*, определенной методом кишечной перфузии и косвенно на основании показателей $\log P$ и $C \log P$ (то есть достоверность составила около 70 %) [13].

Были сделаны многочисленные попытки моделирования кишечной проницаемости в испытаниях *in vitro* на однослойные эпителиальные клетки. Наиболее применимой для данной цели стала культура клеток карциномы толстого кишечника — Caco-2. В то же время значения коэффициента проницаемости, полученные методами *in vivo* и *in vitro*, обычно различаются приблизительно на 2 порядка. Это связано с различными значениями показателя трансэпителиального электрического сопротивления (TEER), разным содержанием кальция в межклеточном пространстве клеток кишечника и клеток Caco-2, неспособностью клеток Caco-2 вырабатывать слизь, которая существенно влияет на всасывание. Помимо этого, на однослойные клетки Caco-2 невозможно смоделировать параклеточный транспорт, распространенный для некоторых ЛВ [17].

В [14] был рекомендован следующий критерий “высокой проницаемости”, определенной на монокультуре клеток — значение кажущегося коэффициента кишечной проницаемости $P_{app\ in\ vivo}$ должно превышать 1×10^{-6} см/с [14], однако существуют и другие критерии, например 10×10^{-6} см/с [15]. В руководстве по определению биоэквивалентности ЕМА указано, что данные по проницаемости, полученные методом *in vitro*, могут считаться достоверными, если исследование проводилось с использованием внутреннего стандарта (например, метопролола или атенолола), и была определена пригодность системы клеток [5].

Одной из последних разработок в области определения проницаемости стало исследование *in situ* на кишечнике крыс. В этом исследовании [15] была определена проницаемость 19 модельных ЛВ с известными данными по коэффициенту проницаемости $P_{eff\ in\ vivo}$. При использовании метопролола в качестве внутреннего стандарта исследования на крысах показали хорошую корреляцию с данными, полученными в испытаниях *in vivo*, — для всех 19 веществ показатель “высокой проницаемости” на крысах совпал с таковым при исследованиях на людях. Авторами был предложен критерий “высокой проницаемости” методом *in situ*: нижняя граница 90 % доверительного интервала для среднего значения $P_{eff\ in\ situ}$ относительно внутреннего стандарта (метопролола) должна превышать 0,8.

Таблица 1
Биофармацевтическая классификационная система

Класс	Растворимость	Проницаемость	Внутренний стандарт
I	высокая	высокая	парацетамол
II	низкая	высокая	диклофенак
III	высокая	низкая	ранитидин
IV	низкая	низкая	ципрофлоксацин

Таблица 2
Биофармацевтическая классификация лекарственных веществ по их растворимости и метаболизму (BDDCS)

Класс	Растворимость	Метаболизм	Препарат
I	высокая	интенсивный	леводопа
II	низкая	интенсивный	кетопрофен
III	высокая	слабый	каптоприл
IV	низкая	слабый	доксидиклин

Несмотря на высокую достоверность, испытания *in situ* также являются достаточно дорогостоящими [16]).

В настоящее время Международной Фармацевтической Федерацией (FIP) проводится разработка нового определения проницаемости методом *in vitro* (проект Viotree), однако результаты пока еще не опубликованы [11].

На основании биофармацевтической растворимости (solubility) и кишечной проницаемости (permeability) впервые биофармацевтическую классификационную систему (БКС), подразделяющую все ЛВ на 4 класса (табл. 1) [1].

За последние 15 лет БКС прошла путь от теоретической гипотезы до важнейшего и незаменимого инструмента для оценки взаимозаменяемости воспроизведенных лекарственных средств (процедура “биовер”). БКС нормируется в руководствах по определению биоэквивалентности и изучению кинетики растворения всех ведущих регуляторных агентств [3–5, 12]. Некоторые исследователи отмечают, что с момента разработки БКС тест “Растворение” перешел на принципиально новый уровень — от метода контроля качества ЛС до альтернативы исследований биоэквивалентности [18].

Метаболизм

В 2005 г. был введен дополнительный критерий классификации проницаемости действующих веществ — степень интенсивности их метаболизма [19]. Теоретическим базисом данной гипотезы является положение о том, что основное предназначение метаболизма — это усиление элиминации ЛВ из организма [20]. Лекарственные вещества, подвергающиеся интенсивному метаболизму (более 70 %), относятся к веществам с “высокой проницаемостью”, а вещества, степень метаболизма которых менее 70 %, т. е. они элиминируются печенью и почками в частично неизменном состоянии, классифицируются как вещества с “низкой проницаемостью”. На основании данного положения предложена новая биофармацевтическая классификационная система — биофармацевтическая классификация лекарственных веществ по их растворимости и метаболизму (biopharmaceutical drug disposition classification system — BDDCS) [19]. Таким образом, действующие вещества согласно BDDCS подразделяются на 4 класса: 1 класс (“высокая” растворимость, “интенсивный” метаболизм), 2 класс (“низкая” растворимость”, “интенсивный” метаболизм), 3 класс (“высокая” растворимость, “слабый” метаболизм), 4 класс (“низкая” растворимость”, “слабый” метаболизм) (табл. 2).

В качестве примера ЛВ, абсолютная биодоступность которого не характеризует его кишечную проницаемость, можно привести амлодипин. Так, его значение F_a составляет 60–65 %, что должно определять его кишечную проницаемость как “низкую”. Однако данное низкое значение абсолютной биодоступности связано с тем, что амлодипин подвергается пресистем-

ному метаболизму (эффект первого прохождения через печень), при этом содержание его метаболитов в моче составляет 90–95 % [21], то есть его метаболизм согласно BDDCS можно охарактеризовать как “интенсивный”. Таким образом, принимая во внимание “высокую” растворимость амлодипина, его можно достоверно отнести к 1 классу БКС и BDDCS, и соответственно рекомендовать его воспроизведенные ЛС к процедуре “биовер” вместо исследований биоэквивалентности *in vivo*.

Пригодность BDDCS для оценки кишечной проницаемости была оценена в [18]. У 27 из 29 модельных ЛВ “высокий” (относительно метопролола) показатель кишечной проницаемости совпал с “интенсивным” метаболизмом, т. е. достоверность критерия BDDCS составила около 93 %. Степень метаболизма и проницаемость не совпала у 2 ЛВ — цефалексина и лозартана, что можно объяснить тем, что их значения $P_{eff\ in\ vivo}$ ($1,56 \times 10^{-4}$ и $1,15 \times 10^{-4}$ см/с соответственно) близки к таковому у ЛВ, которое было принято за внутренний стандарт — метопролол ($1,34 \times 10^{-4}$ см/с). Таким образом, степень метаболизма ЛВ свыше 70 % с высокой степенью надежности свидетельствует о его “высокой” кишечной проницаемости [22].

В то же время критерий “интенсивного” метаболизма 70 % до сих пор является предметом научных дискуссий. При установлении более жесткого критерия (90 %), такого же, как и для абсолютной биодоступности, согласно Руководству FDA [3] метаболизм лозартана будет коррелировать с его кишечной проницаемостью, в то же время он будет не совпадать для ряда других ЛВ [22]. Разработчики BDDCS, напротив, рекомендуют снизить требования к “интенсивному” метаболизму до 50 % [19]. Таким образом, проработка валидированного критерия приемлемости для оценки кишечной проницаемости на основании степени метаболизма ЛВ является важной задачей современной фармации.

В настоящее время (2010 г.) BDDCS не упоминается ни в одном из действующих нормативных документах по БКС и биоверу [3–5, 12]. Однако необходимо учитывать, что утверждение подобных регуляторных инструментов является весьма длительным процессом. Следует отметить, что с момента разработки биофармацевтической классификационной системы [1] до внедрения ее в фармацевтическую практику на уровне национальных регуляторных органов (руководство FDA) прошло 6 лет [3]; в российской фармацевтической отрасли первые Методические рекомендации по БКС и процедуре “биовер” были утверждены только в 2010 г. [12].

Понимание процесса абсорбции ЛВ невозможно без учета его биофармацевтических свойств. Наиболее важными из них является биофармацевтическая растворимость и кишечная проницаемость, причем вопрос определения проницаемости ЛВ через мембраны до сих пор является предметом научных дискуссий. На основании биофармацевтических свойств разработаны различные биофармацевтические классификаци-

онные системы, которые не только отражают поведение ЛВ в ЖКТ, но и являются незаменимым инструментом в области регулирования качества, эффективности и безопасности воспроизведенных лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. G. L. Amidon, H. Lennerlas, V. P. Shah, J. R. Crison, *Pharm. Res.*, № 12, 413 – 420 (1995).
2. United States Pharmacopeia and National Formulary. USP 31—NF 26. 2008. Rockville, MD, USA: The United Pharmacopoeial Convention (2008).
3. Guidance for industry: Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. U. S., Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (HHS-FDA), Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2000).
4. 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, 40th Report, Annex 8 of WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. World Health Organization (WHO) (2006).
5. Guidance on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP) (2010).
6. M. Tubic-Grozdanis, M. B. Bolger, P. Langguth, *AAPS J.*, **10**(1), 213 – 226 (2008).
7. M. Yasir, M. Asif, A. Kumar, A. Aggarwal, *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, **2**(3), 1681 – 1690 (2010).
8. L. Thorsteinn, H. Dagny', *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **7**(1), (2006). Article 4. URL: <http://www.aapspharmscitech.org/articles/pt0701/pt070104/pt070104.pdf>. (проверено 20 сент. 2010 г.).
9. M. Yazdaniyan, K. Briggs, C. Jankovsky, A. Hawi, *Pharm. Res.*, **21**, 293 – 299 (2004).
10. База данных ФГБУ “НЦ ЭСМП” Минздравсоцразвития России. URL: <http://www.regmed.ru> (проверено 20 сент. 2010 г.).
11. International Pharmaceutical Federation (FIP). Biopharmaceutics Classification System (BCS). URL: <http://www.fip.org/bcs> (проверено 20 сент. 2010 г.).
12. Методические рекомендации для разработчиков и производителей лекарственных средств по оценке эквивалентности *in vitro* генерических лекарственных средств согласно процедуре “биоэвейвер”, Утв. Росздравнадзором, 2010, ООО “Издательство “Ремедиум”, Москва (2010).
13. N. A. Kasim, M. Whitehouse, C. Ramachandran, et al., *Mol. Pharm.*, **1**(1), 85 – 96 (2004).
14. E. Rinaki, G. Valsami, P. Macheras, *Pharm. Res.*, **20**, 1917 – 1925 (2003).
15. J.-S. Kim, S. Mitchell, P. Kijek, et al., *Mol. Pharm.*, **3**(6), 686 – 694 (2006).
16. H. Vogelpoel, J. Welink, G. L. Amidon, et al., *J. Pharm. Sci.*, **93**, 1945 – 1956 (2004).
17. S. Yee, *Pharm. Res.*, **14**(6), 763 – 766 (1997).
18. A. Dahan, J. M. Miller, G. L. Amidon, *AAPS J.*, **11**(6), 740 – 746 (2009).
19. C.-Y. Wu, L. Benet, *Pharm. Res.*, **22**(1), 11 – 23 (2005).
20. С. В. Грачев, В. Г. Кукес, Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, *Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2008).
21. И. Е. Шохин, Г. В. Раменская, Г. Ф. Василенко, Е. А. Малащенко, *Фармация*, **5**, 13 – 15 (2010).
22. L. Benet, G. L. Amidon, D. Barends, et al., *Pharm. Res.*, **52**(3), 483 – 488 (2008).

Поступила 20.10.10

ESSENTIAL BIOPHARMACEUTICAL PROPERTIES OF DRUGS AT GASTROINTESTINAL ABSORPTION STAGE (A REVIEW)

I. E. Shokhin^{1,2}, Yu. I. Kulinich^{1,2}, G. V. Ramenskaya^{1,2,3}, and V. G. Kukes^{1,2,3}

¹ Sechenov Medical Academy, Moscow, Russia;

² State Scientific Center for Drug Expertise and Control, Ministry of Public Health of the, Russian Federation, Moscow, Russia;

³ Scientific Center for Biomedical Technologies, State Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Moscow, Russia

Important biopharmaceutical properties of drugs that influence their absorption and access to systemic circulation are considered, including solubility and intestinal permeability. Methods of evaluation and relationship of drug transport, absorption and metabolic intensity are described. Main biopharmaceutical classification systems are presented and their use in regulatory practice and science is described.

Key words: Solubility, absorption, permeability, metabolism, biopharmaceutical classification system (BCS), biopharmaceutical drug disposition classification system (BDDCS), biowaiver