

## ИЗУЧЕНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ КЕТОПРОФЕНА В МАЗЯХ НА ГИДРОФИЛЬНОЙ ОСНОВЕ

О. Д. Губанов, Е. Н. Вергейчик, Л. Б. Губанова

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Поступила в редакцию 2.09.2009 г.

**Аннотация.** Изучена биодоступность кетопрофена в опытах *in vitro* из мазей на гидрофильных основах, содержащих различное количество сурфактантов: лаурилового и цетилового спиртов. Разработана методика спектрофотометрического количественного определения кетопрофена в диализате при изучении его высвобождения из мазей. Валидационная оценка методики проведена по критериям точности, воспроизводимости и линейности и показано, что она может быть использована в лабораторных условиях при изучении биодоступности кетопрофена. Сравнительная оценка скорости высвобождения кетопрофена из мази позволила выбрать оптимальный состав мази.

**Ключевые слова:** мазь, кетопрофен, биодоступность, диализ, спектрофотометрический метод анализа, валидация.

**Abstract.** Ketoprofen bioavailability from the ointments with hydrophilic base containing various amounts of surfactants: lauryl and cetyl alcohols has been studied *in vitro* experiments. The method of ketoprofen spectrophotometric quantitative determination in dialysate has been developed while studying its release from ointments. The validative estimation of the technique under study was carried out by the accuracy, reproducibility and linearity criteria and it has been shown to be applied *in vitro* studies of ketoprofen bioavailability. The comparative estimation of the ointment ketoprofen release rate permitted to choose the optimal ointment composition.

**Keywords:** ointment, ketoprofen, bioavailability, dialysis, spectrophotometric method, validation.

### ВВЕДЕНИЕ

При заболеваниях опорно-двигательной системы наиболее часто используются нестероидные противовоспалительные средства, одним из которых является кетопрофен. Учитывая то, что при пероральном применении кетопрофен может оказывать ulcerogenic действие, наиболее часто используются лекарственные формы для наружного применения. Несмотря на то, что в настоящее время выпускается несколько таких препаратов, их эффективность может быть значительно повышена за счет увеличения степени биодоступности.

Целью настоящей работы является изучение скорости высвобождения кетопрофена из мази в зависимости от концентрации поверхностно-активного вещества (сурфактанта) и его природы. Для объективного контроля скорости высвобождения нами была использована методика количественного спектрофотометрического определения кетопрофена и проведена ее валидационная оценка.

В исследованиях использовали субстанцию кетопрофена, соответствующую требованиям НД

«Кетопрофен» 42-12899-03, с содержанием кетопрофена 99,0—100,5% [1].

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для проведения эксперимента нами были приготовлены мази кетопрофена на гидрофильной основе с различным содержанием сурфактантов.

Количество кетопрофена во всех образцах составляет 5%, мазевая основа состоит из полиэтиленоксида 1500, глицерина и воды очищенной. В качестве сурфактантов использовали лауриловый и цетиловый спирты в концентрациях от 1 до 10%.

В связи с ограниченной растворимостью кетопрофена в воде, в качестве растворителя использовали пропиленгликоль.

Образцы мазей готовили следующим образом. В ступке, нагретой до 40° С, смешивали пропиленгликоль, сурфактант и кетопрофен, затем добавляли расплавленную основу и тщательно перемешивали до получения гомогенной мази белого цвета.

О способности лекарственного вещества к высвобождению судили по результатам изучения его диффузии через полупроницаемую мембрану в опытах *in vitro*. В качестве полупроницаемой мембраны использовали целлофан марки «Купрофан» толщиной 45 мкм. Диализ проводили в универсаль-

ный буферный раствор с рН 5,5—5,6, в термостате при температуре  $37 \pm 1^\circ \text{C}$  в течение 10 часов. Параллельно изучали высвобождение кетопрофена из мази «Кетонал» [2].

Пробы отбирали через каждый час, количество кетопрофена в диализате определяли спектрофотометрическим методом.

Предварительно были проведены исследования по изучению влияния компонентов основы на результаты определения кетопрофена в диализате. Изучение спектральных характеристик мазевой основы и вспомогательных веществ показало, что в аналитической области кетопрофена не наблюдается поглощения электромагнитного излучения компонентами основы и вспомогательными веществами, что подтверждает и их химическое строение.

Для получения достоверных результатов спектрофотометрическая методика количественного определения кетопрофена в диализате была подвергнута валидационной оценке в соответствии с рекомендациями Международной конференции по гармонизации (ICH) по показателям: линейность, точность, воспроизводимость [3].

С этой целью нами были приготовлены пять модельных композиций с содержанием кетопрофена 1, 2, 3, 4, 5 % и цетиловым спиртом — 4 %.

Определение *точности* методики проводили на модельной прописи, за которую был принят диализат мази с 5 % содержанием кетопрофена после 10 часового диализа [3]. Содержание кетопрофена в нем составило 1,2276 %.

Из этого диализата готовили разведения 1:2, 1:1, 1:0,5 и рассчитывали содержание кетопрофена. Затем диализат разбавляли универсальным буферным раствором в соответствии с указанными разведениями, измеряли оптическую плотность и рассчитывали фактическое содержание кетопрофена.

Результаты оценки точности методики определения кетопрофена в диализате приведены в табл. 1.

*Воспроизводимость* аналитической методики определяет степень близости между известным значением и значением определяемой величины, полученным по данной методике. Для целей фармацевтического анализа обычно достаточно определения лабораторной воспроизводимости [3]. Для этого анализу подвергали диализаты шести параллельно проведенных диализов мази кетопрофена 5 % (в течение 10 часов). Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из представленных результатов, величина относительного стандартного отклонения составила 1,37 %, что подтверждает получение достоверных результатов.

*Линейность* методики характеризует возможность получения аналитических величин, в нашем случае это значение оптической плотности, пропорциональных количеству определяемого вещества. Для проведения эксперимента были изготовлены мази кетопрофена с концентрацией 1 %, 2 %, 3 %, 4 % и 5 %. Полученные мази были подвергну-

Таблица 1  
Оценка точности методики определения кетопрофена в диализате (исходное содержание 1,2276 %)

№ п/п	Разведение модельного препарата	Расчетное содержание кетопрофена в диализате	Найденное количество кетопрофена (с учетом разведения)	Открываемость $R, \%$	Метрологические характеристики
1	1:2	0,410	0,403	98,23	$S_x = 1,06792$ $\bar{R} = 100,6$ $\Delta x = 2,4669$ $RSD = 2,45 \%$
2	1:2	0,410	0,412	100,52	
3	1:2	0,410	0,427	104,04	
4	1:1	0,614	0,597	97,26	
5	1:1	0,614	0,647	105,32	
6	1:1	0,614	0,609	99,13	
7	1:0,5	0,819	0,806	98,47	
8	1:0,5	0,819	0,857	104,65	
9	1:0,5	0,819	0,801	97,75	

Таблица 2  
Результаты тестирования методики по критерию воспроизводимости

№ п/п	Значение оптической плотности, А	Количество кетопрофена в диализате, %	Метрологические характеристики
1	0,599	1,2276	$\bar{x} = 1,2232$ $S_x = 0,006539$ $\Delta x = 0,01680$ $RSD = 1,37\%$
2	0,585	1,1994	
3	0,590	1,2086	
4	0,601	1,2315	
5	0,600	1,2301	
6	0,606	1,2421	

ты диализу по описанной выше методике, а диализаты — проанализированы.

Результаты эксперимента представлены на рис. 1.

Как следует из представленного рисунка, почти все экспериментальные точки лежат на линии тренда. Для выяснения того, насколько прочна эта зависимость, вычислен коэффициент корреляции, который равен 0,996. В аналитической химии в большинстве случаев используют линейные зависимости с коэффициентом корреляции  $\geq 0,98$ , а при анализе следовых количеств рассматривают линейные зависимости с коэффициентом корреляции  $\geq 0,9$  [4]. Поскольку рассчитанное нами значение коэффициента корреляции максимально приближено к 1, то это позволяет утверждать о наличии жесткой линейной зависимости оптической плотности от концентрации кетопрофена в диализате.

Таким образом, предложенная методика спектрофотометрического определения кетопрофена в

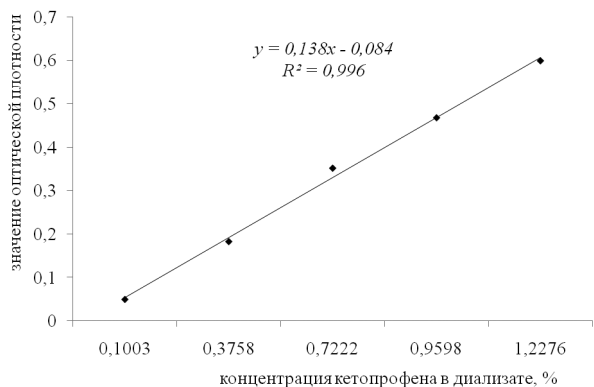


Рис. 1. График зависимости оптической плотности от концентрации кетопрофена в диализате, уравнение регрессии и коэффициент корреляции

диализате является точной, воспроизводимой и линейной и может применяться в лабораторных условиях для изучения биодоступности кетопрофена.

Данная методика была использована для определения скорости высвобождения кетопрофена из мазей с различным содержанием лаурилового и цетилового спиртов. Были построены кривые зависимости концентрации кетопрофена в диализате при изменении концентрации сурфактанта от 1% до 10%.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

График зависимости скорости высвобождения кетопрофена из мази от концентрации сурфактанта представляет собой кривую с двумя максимумами. Характер кривой одинаков для цетилового и лаурилового спиртов. При концентрации спирта от 1,0 до 4,0% наблюдается рост скорости высвобождения, затем наблюдается снижение скорости высвобождения в пределах концентрации сурфактанта от 4,0 до 7,0%. Второй максимум скорости высвобождения наблюдается при концентрации сурфактанта  $\sim 9,0\%$ . Дальнейшее повышение концентрации сурфактанта приводит к снижению скорости высвобождения. Это соответствует стадиям мицеллообразования сурфактантов в растворах [5]. На основании проведенного исследования нами установлено, что оптимальным количеством сурфактанта является 4,0% цетилового спирта. Сравнительное изучение динамики высвобождения кетопрофена из мази «Кетонал» и из мази, содержащей 4,0% цетилового спирта, приведено на рис. 2.

Как видно из представленных данных, в течение первых двух часов концентрация кетопрофена в диализате одинакова для обоих образцов. С увеличением времени диализа высвобождение кето-

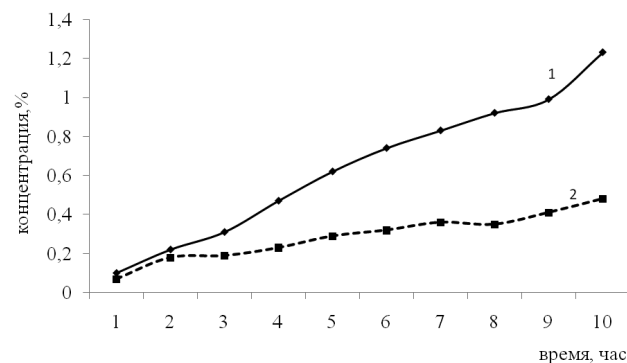


Рис. 2. Зависимость концентрации кетопрофена в диализате от времени диализа из мази с цетиловым спиртом (1), и «Кетонала» (2)

профена из мази с цетиловым спиртом возрастает по сравнению с «Кетоналом» в 2 раза.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных экспериментальных исследований выбран состав мази, из которого наблюдается наибольшее высвобождение кетопрофена, превышающее таковое из мази «Кетонал». Предложенная мазь кетопрофена содержит 5% активного вещества, 4% сурфактанта, выполнена на гидрофильной основе, состоящей из полиэтиленоксида 1500, глицерина и воды очищенной. Биодоступность мази изучена в опытах *in vitro* с использованием спектрофотометрической методики, для которой нами проведена валидационная оценка и показано, что данная методика может быть использована для получения достовер-

ных результатов при анализе диализатов для изучения высвобождения кетопрофена из мазей.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кетопрофен, НД 42-12899-03.
2. Кетонал, крем, 5%, регистрационный номер П № 013942/04.
3. Validation of analytical procedures: methodology Q2B / Intern. conf. on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.- Geneva: ICH Secretariat, 1996. — 8p.
4. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1989. — Вып. 2. — С. 147.
5. Русанов А.И. Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ/А.И.Русанов — СПб: Химия, 1992. — 280 с.

---

*Губанов Олег Дмитриевич* — аспирант кафедры фармацевтической химии Пятигорской государственной фармацевтической академии; тел.: (8793) 327-160

*Вергейчик Евгений Николаевич* — заведующий кафедрой фармацевтической химии Пятигорской государственной фармацевтической академии, профессор; тел.: (8793) 391-087

*Губанова Людмила Борисовна* — заведующая аспирантурой и докторантурой, преподаватель кафедры фармацевтической химии Пятигорской государственной фармацевтической академии; тел.: (8793) 380-616, e-mail: patentpgfa@yandex.ru

*Gubanov Oleg D.* — full-time Post-graduate Student of the Chair of Pharmaceutical Chemistry of Pjatigorsk State Pharmaceutical Academy; tel.: (8793) 327-160

*Vergeichik Evgenii N.* — the Chief of the chair of Pharmaceutical Chemistry of Pjatigorsk State Pharmaceutical Academy, professor; tel.: (8793) 391-087

*Gubanova Ludmila B.* — manager of the Post-graduate and Mastership Course, lecturer of Pharmaceutical Chemistry of Pjatigorsk State Pharmaceutical Academy; tel.: (8793) 380-616, e-mail: patentpgfa@yandex.ru