

## ÁCIDOS ARIL-2-PROPIÓNICOS O PROFENOS

Leticia Igarza\*  
Alejandro Soraci\*\*

### RESUMEN

Los ácidos aril-2-propiónicos o profenos constituyen un grupo de medicamentos antiinflamatorios que tienen como característica estructural un carbono asimétrico que les permite existir bajo la forma de dos enantiómeros R(-) y S(+). Los enantiómeros pueden diferir ampliamente en sus propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas. La enantioselectividad es un aspecto importante en su acción inhibitoria sobre la ciclooxigenasa, pues el enantiómero-S es el único activo. Dependiendo del ácido aril-2-propiónico, el enantiómero-R inducido puede servir de sustrato al proceso de inversión quiral y a otras vías metabólicas alternativas, formar acilglucuronidos potencialmente reactivos, formar tioésteres con coenzima A y ser incorporados en glicerolípidos interfiriendo con el metabolismo lipídico y/o procesos de la membrana biológica, apareciendo así como potenciales vías toxicológicas. El proceso de inversión quiral, permite la transformación de un enantiómero en otro, proceso que repercute desde el punto de vista terapéutico. La tendencia actual es investigar las implicaciones biológicas de cada enantiómero, con el objetivo de ejercer un uso terapéutico racional de la forma enantiomérica activa o del racemato y de evitar consecuencias toxicológicas. (MÉDICAS UIS 2007;20(1):31-46).

**PALABRAS CLAVE:** Aril-2-propiónicos. Enantiómeros. Ciclooxigenasa. Metabolismo. Inversión quiral. Farmacocinética. Farmacodinámica.

### INTRODUCCIÓN

Los Ácidos Aril-2-Propiónicos (AAP) o profenos constituyen un grupo de medicamentos antiinflamatorios que presentan como característica estructural un carbono asimétrico que les permite existir bajo la forma de dos enantiómeros R(-) y S(+). Los enantiómeros pueden diferir ampliamente en sus propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas.

Por esta razón no basta recetar o conocer los efectos secundarios de estos medicamentos sino estar atento a su metabolismo y por ende cómo se deben formular estas drogas, que pueden producir efectos terapéuticos y tóxicos diferentes con los distintos profenos, en cada especie e individuos según estado fisiológico o patológico, porque cada

uno puede responder de diversa forma por el polimorfismo genético.

El objetivo de este trabajo fue realizar una actualización de conocimientos mediante una revisión sistemática sobre diferentes aspectos de la farmacocinética y farmacodinámica de los AAP.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para la búsqueda bibliográfica de artículos potencialmente relevantes, se utilizaron las siguientes fuentes: búsqueda electrónica en la base de datos bibliográficos MEDLINE (PUBMED), mediante el empleo de palabras clave (Aril-2-propiónicos, enantiómeros, ciclooxigenasa, metabolismo, inversión quiral, farmacocinética, farmacodinámica. Nombres individuales de algunos profenos), búsqueda manual de las listas de referencia de los ensayos y artículos de revisión identificados mediante la búsqueda electrónica, búsqueda manual en revistas científicas (suscripciones institucionales locales), también se hicieron búsquedas manuales en las actas de los principales congresos sobre el tema y tesis doctorales.

En una segunda etapa se analizaron los estudios encontrados calificándolos por niveles de calidad de evidencia científica. Luego de desestimados los

\*Médica Veterinaria. MSc. Profesora de Patología. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro. Buenos Aires. Argentina.

\*\*Médico Veterinario. Profesor de Toxicología. Departamento de Fisiopatología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro. Buenos Aires. Argentina.

Correspondencia Dra Igarza: Campus Universitario. Paraje Arroyo seco s/n. Tandil (7000). Buenos Aires. Argentina. Tel: 02293-439850. e-mail: letigar@vet.unicen.edu.ar

Artículo recibido el 13 de febrero de 2007 aceptado para publicación el 15 de marzo de 2007.

que no cumplieran con los criterios de inclusión (publicaciones de autores referentes en la temática, publicaciones en revistas indexadas científicamente, no repetidas), 215 referencias fueron consideradas pertinentes por los revisores y son las que configuran la bibliografía.

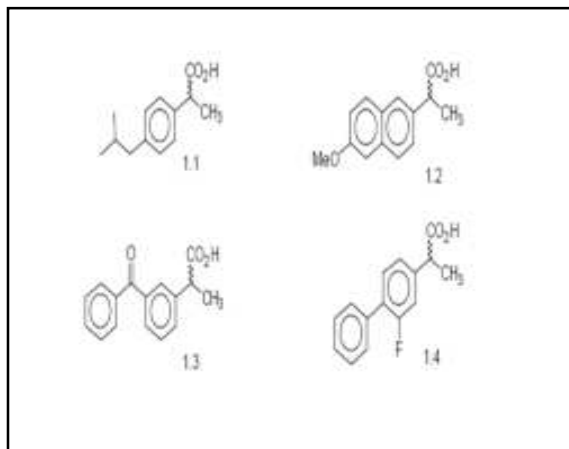
Finalmente, se agruparon todos los estudios seleccionados, se analizaron e interpretaron para especificar el estado actual del conocimiento en los distintos aspectos considerados.

Se utilizaron esquemas y tablas de los autores de esta revisión y de otros autores, para sintetizar resultados obtenidos desde diferentes ensayos.

### GENERALIDADES DE LOS ÁCIDOS ARIL-2-PROPIÓNICOS

Entre este grupo de fármacos encontramos compuestos tales como: carprofeno, Flurbiprofeno (FBP), ibuprofeno, Ketoprofeno (KTP), naproxeno, suprofeno, vedaprofeno, benoxaprofeno, cicloprofeno, entre otros, algunos de ellos de uso veterinario. Estos se caracterizan por poseer un átomo de carbono quiral adyacente a un ácido carboxílico en sus moléculas que les permite ser compuestos quirales (Figura 1)<sup>1</sup>.

El enantiómero S-(+) de los profenos es considerado como el isómero activo (eutómero) y responsable de inhibir la enzima Cicloxigenasa (COX). La proporción de potencia S:R es marcadamente a favor del enantiómero S-(+), siendo común en la mayoría de los profenos observar razones de potencia de 100:1 y mayores cuando se aplican estudios *in vitro*<sup>2</sup>.

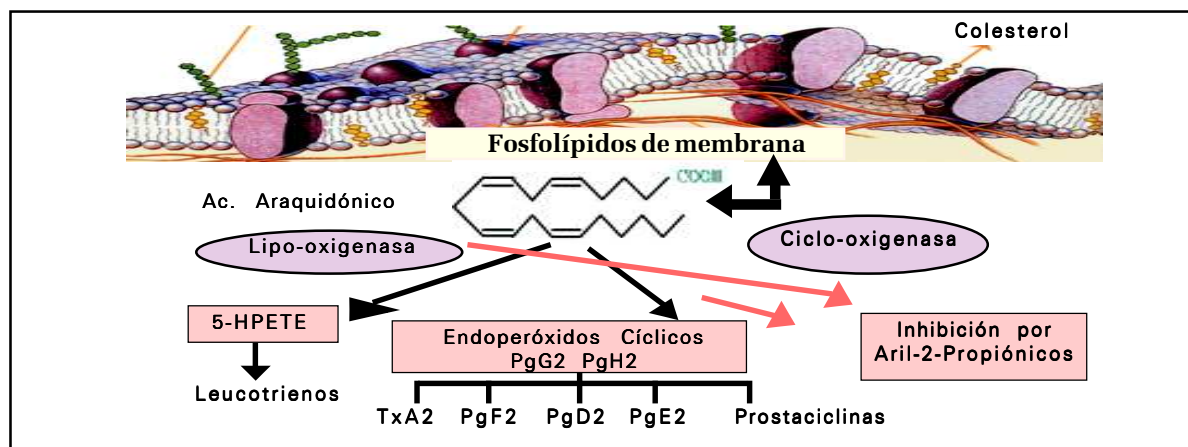


**Figura 1.** Carbono quiral (\*) (en la gráfica no se observa dicho carbono) 1.1 Ibuprofeno; 1.2 Naproxeno; 1.3 Ketoprofeno; 1.4 Flurbiprofeno . Adaptado de Igarza L. Metabolismo enantioselectivo de profenos en bovinos de leche: Implicancias de la gestación, lactación y edad sobre el mecanismo de Inversión Quiral. Tesis. Doctorado en Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires 2005.

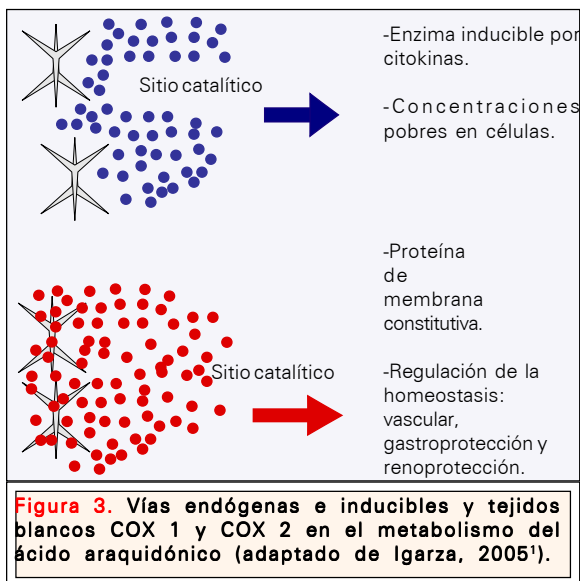
### MECANISMO DE ACCIÓN

Las acciones de los AINES a nivel molecular, han sido atribuidas a su capacidad para inhibir la sintetasa endoperóxido de prostaglandinas COX, siguiendo los estudios clásicos de Vane<sup>2</sup> y Smith y Willis<sup>3</sup>. La acción de los AINES sobre COX inhibe la síntesis de Prostaglandinas (PGs), Prstaciclina (PGI) y Tromboxano (TX) (Figura 2).

Las prostaglandinas sintetetas o COX son enzimas que catalizan el metabolismo del ácido



**Figura 2.** Mecanismo de acción de los ácidos aril-2-propiónicos. HPETE: Acidos hidroxiperoxicotetraenoico. (adaptado de Soraci, 1995<sup>4</sup>).



araquidónico, dicho ácido graso es liberado desde las membranas celulares por la acción de fosfolipasas que utilizan como sustrato los fosfolípidos de membrana. Diferentes estímulos como daño químico, mecánico o inmune mediado, activan las fosfolipasas y la subsiguiente liberación de ácido araquidónico hacia el interior de la célula, donde se producen en una secuencia de síntesis catalizada por ciclooxigenasas, las PGs, TX y leucotrienos (Figura 2). Al comienzo de la década de 1990 se reconocieron diferentes familias de COX<sup>5,6</sup> y a partir de ellas otras variantes de estas enzimas<sup>7-11</sup>. Actualmente, dos formas de ellas, COX 1 y COX 2 juegan un papel central en la génesis de la inflamación-dolor (Figura 3).

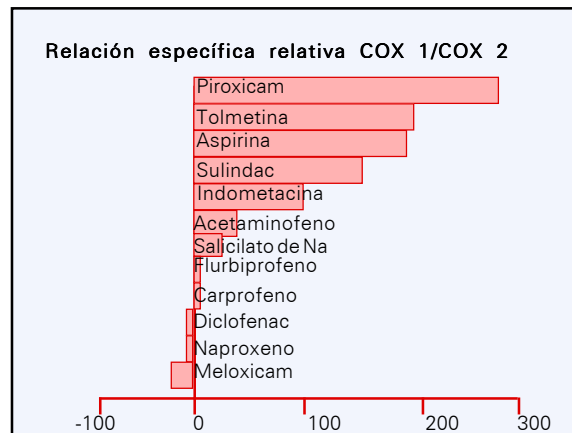
La estructura y la función enzimática de las dos enzimas son similares. Ambas enzimas son proteínas integrales de la membrana. La COX 1 es una enzima constitutiva expresada en la mayoría de los tejidos, localizada en el retículoendotelio, posee un sitio catalítico pequeño que le permite aceptar inhibidores de peso molecular bajo. PGs, PGI y TX sintetizados por esta enzima son responsables de las funciones homeostáticas como protección de la mucosa gástrica, funcionamiento de plaquetas y regulación del flujo sanguíneo para algunos tejidos. La inhibición de síntesis de PGs se ha relacionado con el efecto antiinflamatorio de los AINES *in vivo*<sup>5</sup>. Las PGs contribuyen a los cinco signos cardinales de la inflamación causando vasodilatación y modulación de los efectos de otros mediadores inflamatorios. El rol de las PGs es complejo pero generalmente existe

un balance entre ellas. Sus efectos también son complejos, y muchas de sus acciones resultan en relajación, generalmente por efecto de PGI y PGE o contracción del músculo liso o vascular. Además, las PGI<sub>2</sub> inhibe y TXA<sub>2</sub> estimula la agregación plaquetaria. La COX 2, es inducible y sintetizada por macrófagos y células inflamatorias como consecuencia de la estimulación por citoquinas y otros mediadores en la inflamación, localizada en el sistema retículoendotelial y membrana nuclear<sup>12</sup>. La COX 2 posee un sitio catalítico más amplio que le permite alojar moléculas de alto peso molecular, propiedad que ha sido utilizada por la industria farmacéutica para diseñar moléculas capaces de inhibir esta enzima sin afectar la COX 1. Los AINES son inhibidores de COX 1 y COX 2 con potencia diferente según el fármaco pero relativamente balanceada para cada isoenzima. Para suprimir la inflamación, COX 2 debería ser el blanco de los AINES, pero la mayoría de ellos inhiben ambas isoenzimas<sup>13</sup>.

**PROPIEDADES FÁRMACODINÁMICAS ENANTIOSELECTIVAS**

Ha sido demostrado en general para los AINES que la inhibición de la síntesis de PGs mediada por COX<sub>1</sub> es altamente estereoselectiva. La figura 4 ilustra las diferencias en la inhibición de ambas COXS de diferentes AINES.

Se ha observado que diferencias en los resultados obtenidos *in vitro* entre laboratorios, métodos y especies dificultan la extrapolación *in vivo* (Tabla1).La inhibición de las COXS puede ser expresada de acuerdo a la selectividad como una



**Figura 4. Especificidad de COX 1 de drogas antiinflamatorias comunes.(Adaptada de Tannenbaum y col.1996<sup>14</sup>).**

**Tabla 1. Valores de relación IC50 para COX-1 y COX-2 para AINES racémicos.**

AINES	Relación COX-1 IC 50 / COX-2 IC50				
	Perro	Hombre	Caballo	Gato	Bovino
Carprofeno	129*	0.020**	1.6 <sup>†</sup>	5.5 <sup>†</sup>	1 <sup>††</sup>
	1.75 <sup>†</sup>		3.26 <sup>†</sup>		
	6.5 <sup>†</sup>				
	16.8 <sup>§</sup>				
	65 <sup>  </sup>				
Ketoprofeno	0.17 <sup>§</sup>	0.016-0.20**			
	0.36 <sup>†</sup>				
	0.23*	0.12 <sup>△</sup>			
	0.6 <sup>†</sup>				
buprofeno	0.74 <sup>§</sup>	0.59 <sup>††</sup>			

Una relación < 1 indica selectividad COX-1 y una relación > 1 indica selectividad COX-2.

\*<sup>18</sup>(Plaquetas lavadas caninas).

<sup>†19</sup>(Línea celular monocito/macrófago).

<sup>‡16</sup>(Sangre entera canina).

<sup>§20</sup>(Sangre entera canina).

<sup>||21</sup>(Clonación COX-1 y COX-2 canina).

<sup>¶22</sup>(Sangre entera equina)

\*\*<sup>15</sup>(Sangre entera humana).

<sup>††13</sup>(Células endoteliales de aorta bovina. J 774.2).

<sup>‡‡23</sup>(Neutrófilos y plaquetas humanas in vitro).

<sup>△24</sup>(Sangre entera humana).

(de Igarza L. Metabolismo enantioselectivo de profenos en bovinos de leche: Implicancias de la gestación, lactación y edad sobre el mecanismo de Inversión Quiral. Tesis. Doctorado en Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires 2005).

relación del IC<sub>50</sub>, o la concentración inhibitoria al 50%. El IC<sub>50</sub> es la cantidad de medicamento necesaria para inhibir la actividad de COX 1 o COX 2 en un 50% y se puede determinar mediante ensayos in vitro. Una relación mayor a 1 indica que más medicamento es necesario para inhibir COX1 que COX 2. Si la relación es inversa, un valor menor a 1 indicaría inhibición selectiva de COX1<sup>15</sup>.

Las relaciones IC<sub>50</sub> de COX 1/COX 2 han sido usadas como criterio para determinar los efectos terapéuticos y tóxicos de los AINES<sup>15,16</sup>.

#### ACCIONES ADICIONALES DE ALGUNOS AINES

Los AINES poseen acciones adicionales al mecanismo inhibitorio de COXS, que favorecen a la resolución del proceso inflamatorio, inhibiendo otras enzimas y vías asociadas con la inflamación<sup>29</sup>.

- Inhibición de 12 y 15 lipoxigenasas<sup>30,31</sup>.
- Inhibición de 5-lipoxigenasa en la cascada del ácido araquidónico<sup>32</sup>.
- Inhibición de fosfolipasa A<sup>33</sup>.
- Interferencia con síntesis de leucotrienos<sup>13</sup>.

- Inhibición de las acciones de bradikina<sup>34</sup>.
- Modulación en la liberación de citokinas (IL-1, IL-6 y TNF)<sup>35-7</sup>.
- Disminución de la síntesis de la sintasa óxido nítrico inducible<sup>38,39</sup>.
- Depuración de radicales libres<sup>40</sup>.
- Inhibición de la quimiotaxis y/o quimioquinesis del neutrófilo<sup>41</sup>.
- Inhibición de la activación del neutrófilo<sup>42</sup>.
- Inhibición de carbonil reductasa<sup>43</sup>.
- Activación de la anhidrasa carbónica<sup>44</sup>.
- Inhibición de NF-kappaB y activación de AP-1<sup>45</sup>.
- Inhibición directa sobre los canales iónicos ácido-sensibles<sup>46,47</sup>.

Además de estas acciones periféricas en los sitios de inflamación, se ha propuesto recientemente, como mecanismo para algunos AINES, un efecto analgésico mediado centralmente (médula espinal) descrito<sup>48-53</sup>. Esta nocicepción central puede estar mediada por síntesis de prostaglandinas en la médula espinal<sup>54</sup> o por la inhibición de la biosíntesis de serotonina<sup>55</sup>.

#### EFFECTOS COLATERALES (TÓXICOS) DE LOS AINES

Los AINES producen entre sus efectos adversos, consecuencia del bloqueo de COX 1, irritación gastrointestinal directa, diarrea, vómito, dolor gástrico, úlcera<sup>56-8</sup>, alteraciones en la función renal (oliguria, anuria, fallo renal)<sup>59</sup> e interferencia en el metabolismo lipídico (esteatosis microvesicular,<sup>56,57,60-3</sup>. Otros efectos colaterales estarían vinculados a influencia sobre parámetros relacionados al estrés oxidativo y sistema antioxidante de eritrocitos (incremento de la catalasa eritrocitaria, incremento de la malondialdehído plasmática)<sup>64</sup>.

#### CINÉTICA ESTEREOSELECTIVA

Los AAP comparten una serie de características farmacocinéticas, buena absorción, fuerte unión a proteínas plasmáticas (95-99%), pequeño volumen de distribución (0,1-0,3 l/kg), metabolismo mediante procesos de hidroxilación y/o tioesterificación con CoA, glucuroconjugación y/o sulfoconjugación.

#### Absorción

Los derivados de los ácidos arilpropiónicos se absorben por difusión pasiva a través de membranas, no experimentando estereoselectividad.

Esto es debido a que los enantiómeros no difieren en sus características físico-químicas<sup>65</sup>.

Así luego de la administración oral de S (+) o R(-)-KTP y/o carprofeno racémico a monos y perros respectivamente, no hubo diferencia enantioselectiva durante la absorción de los isómeros<sup>66,67</sup>. La absorción oral de FBP en humanos no es estereoselectiva<sup>68</sup>. Sin embargo, existe controversia con respecto al rol que jugaría la inversión quiral presistémica en la absorción de ibuprofeno<sup>69,70</sup>.

#### DISTRIBUCIÓN

Un importante factor que interviene en la distribución de diferentes compuestos está determinado por la unión a proteínas plasmáticas. Los AINES poseen en general un porcentaje de unión a albúmina de alrededor de 95-99%<sup>71</sup>. Este alto grado de unión restringe a estos fármacos al compartimiento plasmático, exhibiendo volúmenes de distribución relativamente bajos (0,1-0-3 l/kg).

La existencia de diferencias de unión a proteínas plasmáticas, particularmente a la albúmina, entre ambos enantiómeros puede conducir a enantioselectividad en la distribución y depuración de estos compuestos.

Los AINES se unen a dos sitios de la albúmina sérica humana, pero la mayoría de ellos interactúan con el sitio II, también llamado benzodiazepina y secundariamente con el sitio I llamado de warfarina<sup>72</sup>.

La unión a albúmina se ha estudiado para ibuprofeno en humanos. La fracción libre de S(+) fue mayor que la del R(-) ibuprofeno<sup>73,74</sup>. En contraste, estudios en humanos con carprofeno<sup>75</sup> y flurbiprofeno<sup>76,68</sup> y en conejos con ácido 2-fenilpropiónico<sup>77</sup> demostraron estereoselectividad en dirección opuesta, el porcentaje libre de R (-) enantiómero excedió al correspondiente al S(+) enantiómero. La unión de pirprofeno y KTP a la albúmina no es estereoselectiva<sup>78,79</sup>. La enantioselectividad sería una característica en la unión de los AINES quirales a las proteínas plasmáticas. La enantioselectividad contribuiría en parte, a las diferencias observadas entre los ABC de los enantiómeros y dosis. Estas diferencias son también específicas de especies (Tabla 2).

La enantioselectividad en la unión a proteínas puede tener implicación práctica, porque la disposición del fármaco en el organismo puede depender de la dosis y de la forma en que se

administra el mismo (racémico o enantiómero separado)<sup>92</sup>.

Por lo tanto ninguna generalización podría hacerse concerniente a las propiedades de unión de los enantiómeros de los AINES. Cada enantiómero debería ser individualmente estudiado.

La unión a proteínas puede estar afectada por la edad y la dosis. En ratas, la unión proteica plasmática de KTP demostró una declinación dependiente de la edad debida a disminución en la concentración de albúmina y de la afinidad de unión. La dosis también tuvo efecto importante sobre la distribución del KTP<sup>93</sup>.

#### DISTRIBUCIÓN TISULAR

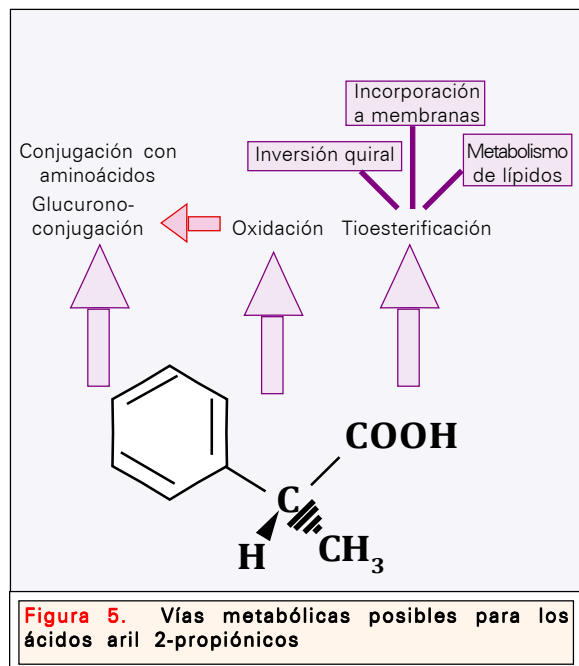
Distribución en el fluido sinovial: El transporte transinovial sería un proceso de difusión controlada, regulado principalmente por las propiedades físicoquímicas del medicamento y el estado fisiopatológico de la membrana sinovial. En pacientes con artritis que tomaban ibuprofeno racémico, se observaron ambos enantiómeros en el fluido sinovial, pero la concentración de S-(+) ibuprofeno fue 1,3 a 3,5 veces mayor que la de R(-) ibuprofeno. El análisis compartimental de los datos indica que S-(+) enantiómero entra al fluido sinovial más rápido que su antípoda, posiblemente como consecuencia de una menor unión a las proteínas del plasma<sup>94</sup>.

Esta enantioselectividad podría esperarse también en la unión a proteínas del fluido sinovial. En pacientes con artritis reumatoidea a los cuales se les había administrado flurbiprofeno racémico se observaron resultados similares<sup>95</sup>. El fluido sinovial de pacientes administrados con (RS) KTP<sup>96</sup> y con (RS) ácido tiaprofénico<sup>97</sup> contenía concentraciones similares de los enantiómeros en concordancia con la falta de enantioselectividad en la farmacocinética de estas dos drogas en el hombre. Esto mismo se observó para KTP en terneros<sup>34</sup>. Un estudio reciente con FBP racémico en equinos no demostró diferencias significativas en la distribución de los enantiómeros en líquido sinovial<sup>98</sup>.

#### METABOLISMO

Desde el punto de vista metabólico de los AAP son sustrato de diferentes vías metabólicas (Figura 5).

La naturaleza estereoquímica de los AAP tiene repercusiones a nivel metabólico que impactan a nivel terapéutico y toxicológico<sup>65, 99</sup>.



Muchos AINES necesitan de un proceso de biotransformación para ser eliminados, además de la transformación de fase I (oxidación) de la molécula madre y la conjugación con ácido glucurónico para formar acilglucurónidos (fase II), varios ácidos aril-2-propiónicos están involucrados en eventos metabólicos inusuales para los cuales la estereoquímica juega un rol vital: la inversión quiral<sup>92</sup>.

### INVERSIÓN QUIRAL

Los ácidos AAP muestran propiedades cinéticas particulares asociadas con el fenómeno metabólico de inversión quiral.

Este proceso permite la transformación en general unidireccional del enantiómero R(-), inactivo, a la forma enantiomérica S(+), responsable de los efectos terapéuticos<sup>91</sup>.

Esta inversión tiene considerable implicación terapéutica ya que la eficacia anti-inflamatoria recae principalmente en el S-enantiómero<sup>82</sup>. Además, no debe ser ignorada la contribución potencial de efectos colaterales del R-enantiómero. Dentro de ello, las consecuencias de la distribución estereoselectiva por el tejido adiposo del R-enantiómero, como la irritación gastrointestinal directa y otros efectos asociados indeseables<sup>56, 57</sup>.

El fenómeno de inversión ha sido descrito como un proceso metabólico para los derivados de AAP ampliamente variable en extensión y fuertemente

dependiente del fármaco, de la especie animal y del estado fisiológico. Por ejemplo, en humanos, la inversión es significativa para ibuprofeno<sup>100</sup>, benoxaprofeno<sup>101</sup> y fenoprofeno<sup>102</sup> pero es insignificante para carprofeno<sup>103</sup>, flurbiprofeno<sup>104</sup>, indoprofeno<sup>105</sup> y ácido tiaprofénico<sup>97</sup>.

Para la mayoría de los AINES la actividad *in vivo* reside primariamente en el enantiómero (S) (ejemplo, para la actividad ulcerogénica en ratas, de carprofeno la potencia relativa S/R es >17), lo que coincide con el cuadro de enantioselectividad observado *in vitro* con la inhibición de ciclooxigenasa (ejemplo, la potencia relativa S/R para la inhibición de la síntesis de prostaglandinas de carprofeno es > 16)<sup>105</sup>. Sin embargo, para otros compuestos como fenoprofeno e ibuprofeno, las actividades de los enantiómeros fueron prácticamente idénticas, por ejemplo, los enantiómeros de ibuprofeno fueron igualmente efectivos como agentes antiinflamatorios y analgésicos en animales experimentales, a pesar de que el enantiómero-(S) fue alrededor de 160 veces más activo que la forma (R) en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas *in vitro*<sup>106</sup>.

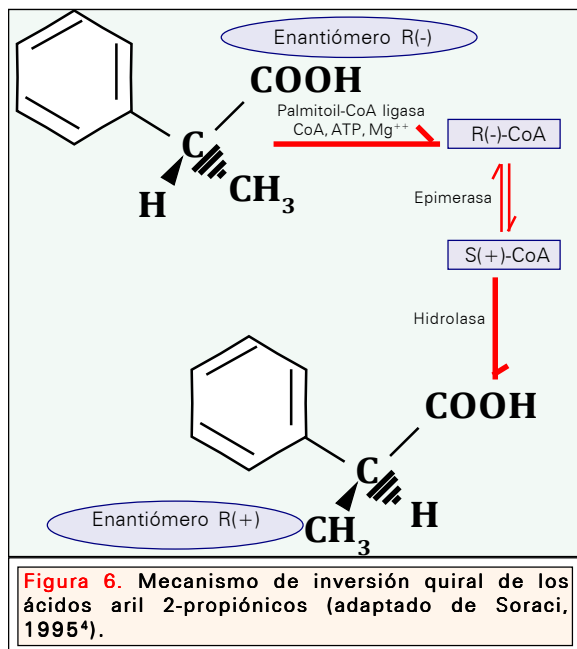
El grado de inversión quiral puede ser modificado en animales sometidos a procesos inflamatorios inducidos experimentalmente. Así diferencia sobre la tasa de inversión de KTP se observó en equinos sometidos a inflamación articular<sup>126</sup>.

### SENTIDO DE LA INVERSIÓN QUIRAL

La falta de estereoselectividad de la acil-CoA ligasa puede conducir a la formación de dos tioésteres R(-)-APA-CoA o S(+)-APA-CoA, pudiendo experimentar en ciertas especies y con determinados aril-2-propiónicos inversión recíproca o inversa. La inversión de S(+) a R(-) es más restrictiva y ha sido observada solamente para ibuprofeno en cobayos y para ácido 2-fenilpropiónico en perros. Hay sospecha de inversión quiral reversible para KTP en ratones<sup>130</sup>.

*In vivo* la mayor parte de los AINES sufren inversión unidireccional desde la configuración R a S. El mecanismo para la biotransformación involucra tres etapas<sup>131</sup>.

- 1) En una primera etapa, el sustrato carboxílico es transformado por una ligasa acil CoA microsomal o mitocondrial en un tioéster intermediario. La enzima involucrada sería la ligasa de ácidos grasos de cadena larga (E:C:6.2.1.3., según la clasificación internacional de enzimas). La tioesterificación involucra la



incorporación de CoA-SH sobre la función carboxílica del enantiómero en presencia de una enzima estereoespecífica<sup>132-5</sup>.

- 2) El tioéster formado es luego hidrolizado para regenerar el R-enantiómero o racemizado por un sistema enzimático reversible: racemasa o epimerasa de los 2-arilpropionatos a un nuevo tioéster con configuración opuesta.
- 3) Finalmente, una hidrolasa libera al enantiómero completando el proceso de inversión quiral (Figura 7).

Las ligasas dependientes de ATP se conocen como sintetetas de acil-CoA (SACs) y se han clasificado según su afinidad para conjugar ácidos grasos de diferentes longitudes de cadenas carbonadas. Las más relevantes desde el punto de vista metabólico son: butiril CoA ligasa (E.C 6.2.1.2, sintetasa acil-CoA de cadena media o sintetasa propionil-CoA) que activa ácidos grasos de cadena hidrocarbonada entre C4-C12 y la ligasa acil-CoA grasa de cadena larga (EC 6.2.1.3, sintetasa palmitoil CoA, sintetasa acil-CoA de cadena larga) que activa ácidos grasos de C10-C22. Estas dos últimas SACs están implicadas en el metabolismo de una variedad de ácidos carboxílicos xenobióticos. Vessey y Hu (1995)<sup>136</sup> purificaron tres ligasas Acil-CoA de cadena media mitocondrial de hígado bovino. Las mismas fueron designadas como XL-I, XL-II y XL-III (PM: 55000, 55500 y 53000 respectivamente) y además de estar

involucradas en el metabolismo de los ácidos grasos también lo hicieron con diversos ácidos carboxílicos xenobióticos<sup>137</sup>.

Los xenobióticos ácidos carboxílicos pueden ser sustratos y/o bajo diferentes circunstancias inhibidores competitivos de las enzimas. Por ejemplo: ibuprofeno es un sustrato para estas ligasas<sup>138</sup>, pero también se ha demostrado como inhibidor competitivo de la formación de benzoil CoA<sup>139</sup>.

Kornberg y Pricer en 1953<sup>140</sup> describieron por primera vez una CoA-ligasa de ácidos grasos de cadena larga en microsomas de cobayo. La enzima activa los ácidos grasos de cadena larga (C10-C22, ACSs) a sus ésteres acil-CoA<sup>141</sup>. La cantidad de ácidos grasos en el metabolismo celular depende de varios factores fisiológicos y patológicos. En condiciones normales los ácidos grasos son principalmente -oxidados en mitocondrias y peroxisomas o incorporados en triacilglicérol y fosfolípidos. Un prerrequisito para que estas reacciones ocurran es la activación de los ácidos grasos a sus correspondientes tioésteres CoA por SAC las cuales están presentes en varios compartimentos celulares (mitocondrias, peroxisomas, microsomas)<sup>142</sup>. Esta enzima además de su rol en el metabolismo de los ácidos grasos, participa en la activación a tioésteres de acil CoA de una variedad de agentes hipolipemiantes y proliferadores de peroxisomas<sup>143-5</sup>, en la formación de triacilglicéridos híbridos (triacilglicéridos donde un ácido graso ha sido reemplazado por un xenobiótico, ej: fenoprofeno)<sup>57</sup> y en la inversión quiral de los R(-) enantiómeros de algunos AAP<sup>67-146</sup>.

Diferentes SACs se han clonado y caracterizado en diferentes especies incluyendo humanos<sup>147-50</sup>. Cinco enzimas diferentes con una estructura común han sido caracterizadas en la rata, y cada SAC tiene una distribución marcada y regulación diferente de las otras<sup>151</sup>. Aunque la mayoría de los estudios han investigado las enzimas hepáticas, la actividad de SACs se ha demostrado también en otros tejidos (pulmón, tejido adiposo, riñón, bazo, cerebro, tejidos esteroideogénicos e intestino) y en células (linfocitos, plaquetas, músculo liso y fibroblastos)<sup>152-5</sup>. Estas diferencias pueden reflejar los roles biológicos de estas enzimas en el metabolismo de ácidos grasos en los diversos órganos<sup>155</sup>.

Un análisis cuantitativo de distribución celular de SAC en hígado humano demostró una distribución trimodal única, donde aproximadamente el 15% de la

actividad estaba asociada con peroxisomas, 25% con mitocondrias y 60% con retículo endoplásmico liso<sup>156</sup>. SACs han sido aisladas y caracterizadas de mitocondrias de hígado bovino<sup>136,139</sup>.

Las SACs se ubican sobre la cara citoplasmática de peroxisomas, microsomas y membrana externa de mitocondrias. La pérdida de actividad en presencia de un sustrato análogo disulfuro CoA-agarosa, coincide con una exposición citosólica para el dominio de unión del sitio activo. Esta orientación permitiría acceso directo de compuestos endógenos, tales como ácidos grasos, y xenobióticos al sitio activo<sup>152</sup>. En un estudio más reciente, en cultivos primarios de hepatocitos la actividad de la enzima fue muy baja, por lo que los autores concluyen que la actividad externa podría haber sido un artefacto de las técnicas utilizadas anteriormente<sup>157</sup>.

Además del rol de SAC en la activación de ácidos grasos de cadena larga, hoy existen datos suficientes para pensar que estas enzimas son capaces de aceptar xenobióticos ácidos carboxílicos como sustratos<sup>152,158,159</sup>. La enzima involucrada en los procesos de tioesterificación es una SAC de cadena larga<sup>146,158,160,161</sup>.

Sevoz et al<sup>150</sup>, han sugerido a la SAC1 como la enzima más importante involucrada en la primera etapa de inversión quiral de los AAP en estudio realizado con enzimas SAC1 y SAC2 expresadas constitutivamente en hígado y cerebro de rata respectivamente y su participación en la tioesterificación de fenoprofeno e ibuprofeno. Estos autores demostraron una alta eficiencia de tioesterificación de xenobióticos asociada con una marcada especificidad y estereoselectividad de sustrato.

Otros estudios utilizando al ácido palmítico como modelo de sustrato para la SAC de ácidos de cadena larga demostraron que las enzimas microsomales y peroxisomales tienen una cinética bifásica sobre la formación de palmitoil-CoA. Esta cinética enzimática involucraría dos isoenzimas, una de alta afinidad y baja capacidad y otra de baja afinidad y alta capacidad<sup>162</sup>. Sin embargo otros investigadores han demostrado un proceso monofásico no pudiendo determinar las implicancias de la isoenzima de alta afinidad<sup>146,150,160,163</sup>. Las SACs se consideraron inicialmente enzimas constitutivas pero ahora hay evidencias importantes de que la expresión del gen de SACs puede ser inducida e inhibida. Los factores que regulan la actividad de SACs

incluyen disponibilidad de sustrato y cofactores, unión y transporte intracelular de acil-CoA grasa por proteínas de unión de acil-CoA. Por lo tanto, algunos de esos factores tienen el potencial para regular el metabolismo xenobiótico vía conjugación CoA. En ratas, la formación de palmitoil CoA, R-ibuprofenil CoA y Nafenopin-CoA es inducida por la administración de ácido clofibrico o DEHP<sup>114,164,165,166</sup>. La actividad incrementada de SAC de ácidos grasos de cadena larga, luego de la administración de ácido clofibrico, se explicó por un mejoramiento en la expresión del gen de la ligasa. Un incremento similar en la expresión del gen se ha observado en ratas con alimentación de una dieta alta en grasa y alta en hidratos de carbono<sup>165,167</sup>. Un incremento similar en la expresión del gen también se ha observado con ácido fibrico<sup>152</sup>.

La diabetes mellitus en humanos y animales se caracteriza por varias anomalías metabólicas incluyendo cambios en la bioquímica de los lípidos. En ratas con diabetes tipo I y tipo II incrementó la formación de ibuprofenil CoA<sup>168</sup>.

El fenoprofeno actúa como un proliferador peroxisomal en el hígado de ratón<sup>169</sup>.

#### Racemasa o epimerasa

La etapa de epimerización en el proceso de inversión quiral es poco conocida. Una epimerasa no enantioselectiva de AAP se ha aislado desde homogenato de hígado de rata. Esta enzima se ubica en mitocondrias y citosol<sup>170</sup>. Estudios de racemización de tioésteres de R(-) y S(+)-ibuprofeno en la fracción mitocondrial de homogenato de hígado de rata, han demostrado que la racemización se realiza en ambos tioésteres (R-tioéster, S-tioéster)<sup>171,163</sup>.

Para clarificar este mecanismo se ha identificado la secuencia de la epimerasa CoA-2-amilpropiónico y se ha clonado y expresado la enzima, a partir de hígado de rata. Además se encontró semejanza entre esta epimerasa y la deshidratasa de carnitina en varias especies, lo que sugiere su rol en el metabolismo lipídico además de su importancia en el metabolismo de medicamentos<sup>172</sup>.

#### Hidrolasa

La hidrolasa es una enzima citosólica y mitocondrial, carente de enantioselectividad. La misma ha sido estudiada usando homogenatos de hígado de ratas<sup>82</sup>, en la hidrólisis de tioésteres de R(-) y S(+)-ibuprofeno. La fracción



mitocondrial es capaz de hidrolizar ambos tioésteres mientras que en la fracción microsomal existirían dos hidrolasas las que actúan separadamente sobre los tioésteres de R(-) y S-(+)-ibuprofeno<sup>163,171</sup>.

#### SITIOS DE INVERSIÓN QUIRAL

Este fenómeno puede ocurrir en varios órganos hígado, intestino, riñón, pulmón, cerebro y tejido muscular, adiposo<sup>173-6</sup>. Sin embargo ha sido confirmado el rol predominante del hígado en el proceso de inversión quiral<sup>112</sup>. En la rata se ha involucrado el sistema gastrointestinal en la inversión de algunos ácidos 2-arilpropiónicos. El R (-) enantiómero de benoxaprofeno<sup>177</sup>, KTP<sup>116</sup> ibuprofeno y fenoprofeno<sup>112,178</sup>, administrados por vía oral son invertidos pre-sistémicamente. En íleon y colon humano se demostró que la inversión quiral de ibuprofeno no está influenciada por la dosis, sin embargo se favorece este proceso de inversión al prolongar el tiempo de residencia en el intestino<sup>179</sup>. Ensayos *in vitro* en ratas, intentando localizar el sitio de inversión quiral en las estructuras histológicas del intestino, demostraron que las células epiteliales representan el mayor sitio de inversión con respecto a la pared intestinal, a la capa muscular y al contenido intestinal<sup>180</sup>. May y col (1992)<sup>176</sup> han demostrado participación de los pulmones en la inversión quiral de fenoprofeno e ibuprofeno. Debido a la ubicación anatómica de estos órganos, el metabolismo pulmonar podría participar de un efecto de primer

paso después de la administración venosa de estos compuestos. Estudios más recientes han involucrado al cerebro como posible sitio de inversión quiral<sup>181</sup>.

#### IMPLICACIÓN BIOLÓGICA

Desde el punto de vista farmacológico, las consecuencias de este fenómeno sobre sus efectos antiinflamatorios son debidas a la transformación de una molécula generalmente inactiva en la forma R(-) a una activa S-(+).

Otras complicaciones biológicas, posiblemente radican en diferentes destinos del tioéster de CoA intermediario formado durante el proceso de IQ.

#### OTROS DESTINOS DE TIOÉSTERES DE COA-XENOBIÓTICOS

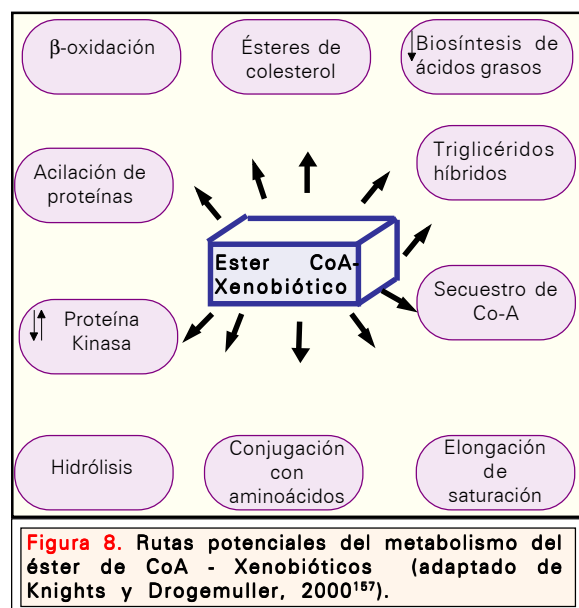
Las rutas potenciales del metabolismo del éster de CoA - Xenobióticos (figura 8)<sup>157</sup>.

Indudablemente la acil CoA juega un rol regulatorio clave en vías diferentes a las de síntesis de lípidos y de degradación de ácidos grasos. Hoy se conoce que ésteres de acil CoA de cadena larga desempeñan un rol clave como reguladores de la función celular incluyendo la expresión genética<sup>182</sup>.

Los ácidos carboxílicos activados a acil CoA podrían mimetizar las acciones endógenas de reguladores de funciones celulares pudiendo contribuir a la toxicidad de estos fármacos.

#### $\beta$ -oxidación

Los ésteres de acil-CoA son inhibidores de la carboxilasa acetil-CoA, tal como ha sido demostrado para los ésteres de CoA de ibuprofeno y FBP<sup>183,184</sup>. La formación de CoA xenobiótico puede ser catalizada por la ligasa de cadena media mitocondrial y así estos metabolitos tienen el potencial para alterar el pool de CoA mitocondrial, competir por la unión de aciltransferasa de carnitina y alterar la  $\beta$ -oxidación<sup>185</sup>. Ibuprofeno y FBP inhibieron la  $\beta$ -oxidación de palmitato in vivo en ratas en una manera análoga a aquella reportada para piroprofeno en ratón<sup>183</sup>. La inhibición de la  $\beta$ -oxidación mitocondrial por R-ibuprofeno se puede explicar por el secuestro de CoA como resultado de la formación de R-ibuprofenil-CoA. Sin embargo, S-ibuprofeno y ambos enantiómeros de FBP también inhiben la  $\beta$ -oxidación<sup>186</sup>. Esto sugiere que un proceso no dependiente de CoA está involucrado, puesto que estos enantiómeros no producen tioésteres de CoA<sup>187,188</sup>. Un desacople de



transporte de electrones y fosforilación de ADP asociados con R y S enantiómeros de las drogas usadas sugiere que las drogas madres pueden entrar a la mitocondria y directamente inhibir la  $\beta$ -oxidación. Los AINES, ácidos débiles, tienen estructura para hacer esto y actuar como desacopladores<sup>189</sup>.

Fenoprofeno inhibe la formación de palmitoil CoA en las fracciones microsomales y peroxisomales<sup>184</sup>. En hepatocitos de ratas las concentraciones crecientes de fenoprofeno inhibieron progresivamente la  $\beta$ -oxidación del ácido palmítico, probablemente como consecuencia de la inhibición de la actividad de la palmitoil CoA sintetasa<sup>184</sup>.

Altas concentraciones de piroprofeno inhiben marcadamente la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos *in vitro* e *in vivo*, resultando en la acumulación de triglicéridos hepáticos y en la esteatosis microvesicular del hígado en el ratón<sup>190</sup>.

Los ácidos grasos de cadena larga tales como palmitato no difunden fácilmente dentro de la mitocondria y son transportados a través de la membrana mitocondrial como acilcarnitinas, donde los tioésteres de CoA son intermediarios obligados. De la misma manera, los 2-arilpropionatos de CoA simulando a un ácido graso activo por CoA pueden perturbar la oxidación al afectar la formación de acilcarnitina y/o transporte a través de las membranas mitocondriales.

#### KINASA PROTEÍNA C

Los ácidos grasos per se y sus ésteres de acil-CoA regulan la actividad de varios subtipos de Proteína Kinasa C (KPC). La KPC ha estado implicado en procesos de tumorigénesis por su rol como mayor receptor para los ésteres forbol promotores de tumor. Estos compuestos sustituyen a los ligandos diacilgliceroles endógenos, activando la enzima que luego fosforila proteínas involucradas en la regulación de función, crecimiento y diferenciación celular. Aunque la unión entre la señal de transducción de KPC y la formación del tumor no es clara, la evidencia de que ésteres de ácido clofíbrico, nafenopin, ciprofibrato, etc. activan KPC, condujo a correlacionar una unión probable entre la vía metabólica conjugación CoA, activación de KPC y la observación de tumores con este grupo de compuestos<sup>191, 192</sup>.

#### Acilación de proteínas

Los ácidos grasos juegan un rol importante en la acilación postranslacional de proteínas<sup>193</sup>. Nafenopin-CoA inhibió significativamente la palmitoil-CoA de proteína hepática humana. Estos datos conducen a la posibilidad que xenobióticos ácidos carboxílicos vía sus conjugados CoA, pueden alterar la regulación y función proteica por inhibición endógena de la palmitoil-CoA<sup>194</sup>.

#### Incorporación a lípidos

En el caso de los arilpropiónicos, esta reacción está bioquímicamente unida a la bioinversión enantiomérica, siendo una alternativa metabólica del intermediario acil CoA. Las enzimas del metabolismo de lípidos toleran una variedad de sustratos incluyendo diferentes químicos sintéticos.

Lípidos xenobióticos son aquellos productos formados cuando compuestos xenobióticos o sus metabolitos actúan como sustratos para enzimas utilizando la dirección de la biosíntesis de lípidos. Los profenos, a través de grupo ácido carboxílico pueden ser reconocidos por algunas enzimas de las vías bioquímicas de los lípidos y esto puede conducir a la formación de fosfolípidos y triglicéridos híbridos con potenciales consecuencias toxicológicas<sup>61, 82, 195, 196</sup>. La incorporación de KTP en triglicéridos se produce en hepatocitos de rata en presencia de glicerol. El proceso es estereoselectivo para R-KTP. En tejido adiposo se observa una formación significativa y estereoselectiva de triglicéridos híbridos. La relación R/S es mayor en tejido adiposo (R/S: 17) que en hepatocitos (R/S:4) indicando que la grasa puede ser el tejido principal de depósito para el xenobiótico R-KTP en ratas<sup>63</sup>.

Ibuprofeno y fenoprofeno son incorporados vía sus respectivos acil-CoA en triglicéridos formando triglicéridos híbridos los cuales son depositados en el tejido adiposo<sup>56, 57</sup>.

Los ácidos grasos híbridos o xenobióticos son compuestos obtenidos por elongación de cadenas de ácidos carboxílicos xenobióticos, Cicloprato<sup>197, 198</sup>.

Los glicerolípidos y ésteres de colesterol xenobióticos son compuestos que resultan de la esterificación de un ácido carboxílico xenobiótico al esqueleto del glicerol de un lípido en lugar del ácido graso natural (Triglicilgliceroles (TGR), diglicéridos (DG), glicerosfosfolípidos (PL) y esfingolípidos (EL) y colesterol<sup>195, 199, 200-2</sup>. Por

ejemplo: ibuprofeno en TG y DG<sup>203</sup>, fenoprofeno y KTP en TGR<sup>200</sup> y fenbufen en TG, DG y PL<sup>204</sup>.

En el grupo de glicerolípidos xenobióticos se ha podido demostrar la mayor participación de los profenos. Esta ruta metabólica resulta en la formación de una unión covalente entre el xenobiótico y un constituyente del organismo, que probablemente conduce a la acumulación del xenobiótico en los tejidos grasos. Solamente el enantiómero R(-) es un sustrato para la acil CoA sintetasa, y el intermediario R-profenil CoA resultante será epimerizado o conjugado con el derivado diacilglicerol<sup>63</sup>.

### Glucuroconjugación

La glucuroconjugación es una vía metabólica importante de drogas que contienen ácidos carboxílicos, tales como las drogas AINEs de la serie de los ácidos 2-fenil-propiónicos (profenos). Esta reacción conduce a la formación de acilglucuronidos, especies electrofílicas intrínsecamente reactivas "*in vitro*" e "*in vivo*", que son eliminados por bilis o riñón. Estos compuestos sufren hidrólisis espontánea a la droga madre tanto como "migraciones" intramoleculares que conducen a la formación de 2-,3-y 4-O-acil isómeros β-glucuronidasa resistentes. Esta inestabilidad se ha comprobado para varias drogas carboxílicas, incluyendo fenoprofeno<sup>205</sup>, flurbiprofeno<sup>206</sup>, ketoprofeno<sup>207</sup>, carprofen<sup>208</sup>, ácido 2 fenilpropiónico<sup>209</sup>, entre otras. La extensión de estas reacciones aparentemente depende de la reactividad de los acil glucuronidos y varía ampliamente entre los diferentes aril-2-propiónicos. Los ácidos arilpropiónicos se caracterizan por formar conjugados acilglucuronidos inestables de fácil desconjugación. Este fenómeno puede resultar en un "ciclo fútil" donde un AINEs con pobre eliminación renal puede acumularse en pacientes con insuficiencia renal, desarrollando una potencial toxicidad<sup>59,210</sup>.

Además los acilglucuronidos se unen covalentemente a macromoléculas endógenas. Estas uniones irreversibles con proteínas plasmáticas han sido documentadas para varias drogas, incluyendo KTP, ibuprofeno, ibufenac y benoxaprofeno<sup>211-4</sup>. También se ha probado que proteínas tisulares pueden ser blanco de acilglucuronidos. Estos procesos pueden alterar la actividad de compuestos fisiológicamente activos e inducir toxicidad, anafilaxia o reacciones

anafilácticas a drogas vía la formación de hapteno<sup>215</sup>.

## CONCLUSIONES

Los AINES presentan como característica estructural un carbono asimétrico que les permite existir bajo la forma de dos enantiómeros R(-) y S(+). La mayoría de ellos son utilizados como mezclas racémicas. En los estudios de compuestos racémicos, para los cuales las concentraciones plasmáticas deben ser monitoreadas, sería necesario emplear un método analítico que permita la cuantificación de ambos enantiómeros. Las mezclas racémicas de la mayoría de los compuestos deberían ser consideradas como combinaciones de dos o más compuestos, con diferencias probablemente en la farmacocinética, farmacodinámica y perfiles tóxicos.

Las diferencias entre los resultados de inversión quiral de los distintos profenos en las diferentes especies y entre individuos de una misma especie con diferentes estados fisiológicos (edad, lactación, gestación, estado del metabolismo lipídico), deberían tenerse en cuenta para eficientizar el uso terapéutico de los profenos.

## SUMMARY

Aryl-2-propionic acids are a group of anti-inflammatory drugs that have as structural characteristic an asymmetric carbon. This allows them to exist under the form of two enantiomers R(-) and S(+). Enantiomers can differ extensively in their pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. Enantioselectivity is an important aspect in their inhibitory activity on cyclooxygenase, since only the S enantiomer is active. Depending on the aryl-2-propionic acid, the induced R-enantiomer can serve as substrate to the process of chiral inversion and to other alternative metabolic routes, form potentially reactive acylglucuronides, form thioesters with coenzyme A and be incorporated in glycerolipids. These compounds can interfere with the lipidic metabolism and with processes of the biological membrane and so appear as potentially toxicological routes. The chiral inversion process of an enantiomer into another has consequences from the therapeutical point of view. The present tendency is to investigate the biological incidences of each enantiomer with the aim of using the active enantiomeric form or the racemic one in a rational therapeutic manner, thus avoiding toxicological consequences. Keywords: Aryl-2-Propionic. Pharmacokinetics. Pharmacodynamics

## BIBLIOGRAFÍAS

- 1-Igarza L. Metabolismo enantioselectivo de profenos en bovinos de leche: Implicancias de la gestación, lactación y edad sobre el mecanismo de Inversión Quiral. Tesis. Doctorado en Ciencia Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires 2005.
- 2-Vane J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biology* 1971;3:232-5.
- 3-Smith J.B., Willis A.L. Aspirin selectively prostaglandin production in human platelets. *Nature New Biology* 1971; 231:235-7.

- 4-Soraci A. Metabolisation stereoselective comparee des acides aryl-2-propioniques. Inversion chirale et glucuroconjugaison. These. Diplôme de Doctorat. Université Claude Bernard-Lyon. France 1995.
- 5-Vane J.R., Botting, R.M. The mode of action of anti-inflammatory drugs. *Postgrado Medicine* 1990; 4:S2-17.
- 6-Vane J.R., Botting, R.M. Mechanism of action of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine* 1998; 104:25-85.
- 7-Hla T. Molecular characterization of the 5.2 KB isoform of the human cyclooxygenase-1 transcript. *Prostaglandins* 1996; 51:81-5.
- 8-Plant M.H., Laneville O. Characterization of a novel transcript of prostaglandin endoperoxide synthase 1 with a tissue-specific profile of expression. *Biochemical Journal* 1999; 344:677-85.
- 9-Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos K.L., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002; 99:13926-31.
- 10-Botting R. COX-1 and COX-3 inhibitors. *Thrombosis Research* 2003; 110:269-72.
- 11-Davies N.M., Good R.L., Roupe K.A., Yáñez J.A. Cyclooxygenase-3: Axiom, Dogma, Anomaly, Enigma or Splice Error? - Not as easy as 1,2,3. *Pharmacology and Pharmaceutical Science* 2004; 7: 217-26.
- 12-Crofford L.J. COX1 and COX2 tissue expression implications and predictions. *Journal of Rheumatology* 1997; 24:15-19.
- 13-Papich M.G. Principles of analgesic drug therapy. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery-Small Animal* 1997; 12:80-93.
- 14-Tannenbaum H, Davis P, Russell AS, Atkinson MH, Maksymowych W, Huang SH, Bell M, Hawker GA, Juby A, Vanner S, Sibley J. An evidence-based approach to prescribing NSAIDs in musculoskeletal disease: a Canadian consensus. *Canadian Medical Association Journal* 1996; 155: 77-88.
- 15-Vane J.R., Botting R.M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflammation Research* 1995; 44:1-10.
- 16-Lees P, Aliabadi F.S., Landoni M.F. Pharmacodynamics and enantioselective pharmacokinetics of racemic carprofen in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2002; 25:433-48.
- 17-Warner T.D., Giuliano F., Vojnovic I., Bukasa A., Mitchell J.A., Vane J.R. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full in vitro analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1999; 96:7563-8.
- 18-Brideau C., Van Staden C., Chung Chan C. In vitro effects of cyclooxygenase inhibitors in whole blood of horses, dogs and cats. *American Journal of Veterinary Research* 2001; 62:1755-60.
- 19-Cheng Z., Nolan A., Monteiro A., McKellar Q. Enantioselective pharmacokinetics and cyclo-oxygenase inhibition of carprofen and carprofen enantiomers in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2003; 26:391-4.
- 20-Ricketts A.P., Lundy K.M., Seibel S.B. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *American Journal of Veterinary Research* 1998; 59:1441-6.
- 21-Kay-Mugford P., Benn S.J., LaMarre J., Conlon P. In vitro effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cyclooxygenase activity in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 2000; 61:802-10.
- 22-Streppa H.K., Jones J.C., Budsberg S.C. Cyclooxygenase selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in canine blood. *American Journal of Veterinary Research* 2002; 63:91-4.
- 23-Gierse JK, Staten NR, Casperson GF, Koboldt CM, Trigg JS, Reitz BA, Pierce JL, Seibert K. Cloning, expression, and selective inhibition of canine cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Veterinary Therapeutics* 2002; 3:270-80.
- 24-Lees P., Landoni F., Armstrong S., Frean S. New insights into inflammation with particular reference to the role of COX enzymes. Plenary lecture: 8th EAVPT International Congress, Jerusalem 2000. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics (Suppl)* 2000.
- 25-Villanueva M., Heckenberger R., Strobach H., Palmer M., Schror K. Equipotent inhibition by R(-) and S(+) and racemic ibuprofen of human polymorphonuclear cell function in vitro. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1993; 35:235-42.
- 26-Cryer B., Felman M. COX 1 and COX2 selectivity of widely used NSAIDs. *American Journal of Medicine* 1998; 104: 413-21.
- 27-Carabaza A., Cabre F., Rotllan E., Gomez M., Gutierrez M., Garcia M.L., Mauléon, D. Stereoselective inhibition of inducible cyclooxygenase by chiral nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Journal of Clinical Pharmacology* 1996; 36:505-12.
- 28-Sanchez T., Moreno J.J. Ketoprofen S (+) enantiomer inhibits prostaglandin production and cell growth in 3T6 fibroblast cultures. *European Journal of Pharmacology* 1999; 370:63-7.
- 29-Spencer A.J., Steven M. F. Mechanism of action of anti-inflammatory medications used for the treatment of osteoarthritis. *JAVMA* 1997; 210:1486-92.
- 30-Siegel M.I., McConnell R.T., Porter N.A., Cuatrecasas P. Arachidonate metabolism via lipoygenase and 12L-hydroperoxy-5,8,10,14-icosatetraenoic acid peroxidase sensitive to anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the States of America* 1980; 77:308-12.
- 31-Randall R.W., Eakins K.E., Higgs G.A., Salmon J.A., Tateson J.E. Inhibition of arachidonic acid cyclo-oxygenase and lipoxigenase activities of leukocytes by indomethacin and compound BW 755C. *Agents and Actions* 1980; 10:553-5.
- 32-Sigurðsson G.H., Youssef H.A.F., Owunnwanne A. Effects of two different inhibitors of the arachidonic acid metabolism on platelet sequestration on indotoxigenic shock. *Reviews in Experimental Medicine* 1994; 194:287-95.
- 33-Raguenes-Nicol C., Russo-Marie F., Domage G., Diab N., Solito E., Dray F., Garcia Mace J.L., Streichenberger R. Anti-inflammatory mechanism of alminoprofen: action on the phospholipid metabolism pathway. *Biochemical Pharmacology* 1999; 57:433-43.
- 34-Landoni M.F., Cunningham F.M., Lees P. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ketoprofen in calves applying PK/PD modelling. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1995; 18:315-24.
- 35-Landoni M.F., Foot R., Frean S., Lees P. Effects of flunixin, tolfenamic acid and R (-) and S (+) ketoprofen on the response of equine synoviocytes to lipopolysaccharide stimulation. *Equine Veterinary Journal* 1996; 28:468-75.
- 36-Mascagni P, Sabbatini V., Biordi L., Martinotti S. Allegretti M., Marullo A., Caselli G., Bertini R. R- and S-isomers of nonsteroidal anti-inflammatory drugs differentially regulate cytokine production. *European Cytokine Network* 2000; 11:185-92.
- 37-Armstrong S., Lees P. Effects of carprofen (R and S enantiomers and racemate) on the production of IL-1, IL-6 and TNF- by equine chondrocytes and synoviocytes. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2002; 25:145-53.
- 38-Asanuma M., Nishibayashi-Asanuma S., Miyazaki I., Kohno M., Ogawa N. Neuroprotective effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs by direct scavenging of nitric oxide radicals. *Journal of Neurochemistry* 2001; 76:1895-904.
- 39-Stratman N.C., Carter D.B., Sethy V.H. Ibuprofen: effect on inducible nitric oxide synthase. *Brain Research and Molecular Brain Research* 1997; 50:1107-12.
- 40-Arouma O.I., Halliwell B. The iron-binding and hydroxyl radical scavenging action of anti-inflammatory drugs. *Xenobiotica* 1988; 18: 459-64.
- 41-Bizzarri C., Pagliei S., Brandolini L., Mascagni P., Caselli G., Transidico P., Sozzani S., Bertini R. Selective inhibition of interleukine-8-induced neutrophil chemostasis by ketoprofen isomers. *Biochemical Pharmacology* 2001; 61:1429-33.
- 42-Abramson S.B., Weissman G. The mechanism of action non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Arthritis and Rheumatism* 1989; 32:1-9.
- 43-Higuchi T., Imamura Y., Otagire M. Stereoselective inhibition of carbonyl reductase from rabbit kidney by enantiomers of carprofen. *Biochemical and Molecular Biology International* 1994; 32: 531-6.
- 44-Puscas I., Coltau M., Pasca R. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs activate carbonic anhydrase by a direct mechanism of action. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1996; 277:1464-6.
- 45-Tegeger I., Niederberger E., Israr E., Gühring H., Euchenhofer C., Grösch S., Geisslinger G. Inhibition of NF-Kappa B and AP-1 activation by R and S flurbiprofen. *FASEB* 2001; 15:2-4.
- 46-Voilley N., de Weille J., Mamet J., Lazdunski M. Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors. *Journal of Neuroscience* 2001; 21:8026-33.

- 47-Voilley N. Acid-sensing ion channels (ASICs): new targets for the analgesic effects of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Current Drug Targets Inflammatory Allergy* 2004; 3: 71-9.
- 48-Geisslinger G., Ferreira S.H., Menzel S., Schlott D., Brune K. Antinociceptive actions of R(-)-flurbiprofen a non-cyclooxygenase inhibiting 2-arylpropionic acid in rats. *Life Science* 1994; 54: PL173-7.
- 49-Geisslinger G., Schaible H.G. New insights into the site and mode of antinociceptive action of flurbiprofen enantiomers. *Journal of Clinical Pharmacology* 1996; 36:513-20.
- 50-Geisslinger G., Muth-Selbach U., Coste O., Vetter G., Schrodter A., Schaible H.G., Brune K., Tegeder I. Inhibition of noxious stimulus-induced spinal prostaglandin E2 release by flurbiprofen enantiomers: a microdialysis study. *Journal of Neurochemistry* 2000; 74:2094-100.
- 51-Pheto G., Derow A., Reeh P.W. Bradykinin-induced nociceptor sensitization to heat is mediated by cyclooxygenase products in isolated rat skin. *European Journal of Neuroscience* 2001; 14:210-8.
- 52-Moriyama, T., Chu T., Ubeda O., Beech W., Cole G. M. Selective inhibition of A 42 production by NSAID R-enantiomers. *Journal of Neurochemistry* 2002; 83:1009-10.
- 53-Averbeck B., Peisler M., Izydorczyk I., Reeh P.W. Inflammatory mediators do not stimulate CGRP release if prostaglandin synthesis is blocked by S(+)-flurbiprofen in isolated rat skin. *Inflammation Research* 2003; 52:519-23.
- 54-Herrero J.F., Parrado A., Cervero F. Central and peripheral actions of the NSAID Ketoprofen on spinal cord nociceptive reflexes. *Neuropharmacology* 1997; 36:1425-31.
- 55-Miranda H.F., Lemus I.A., Pinardi G. Effect of the inhibition of serotonin biosynthesis on the antinociception induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Brain Research Bulletin* 2003; 30:417-25.
- 56-Williams K., Day R., Knihimicki R., Duffield A.P. The stereoselective uptake of ibuprofen enantiomers into adipose tissue. *Biochemical Pharmacology* 1986; 35:3403-5.
- 57-Sallustio B.C., Meffin P.J., Knights M. The stereospecific incorporation of fenoprofen into rat hepatocyte and adipocyte triacylglycerols. *Biochemical Pharmacology* 1988; 37:1919-23.
- 58-Cabr e F., Fern andez F., Zapatero M., Ara o A., Garcia L., Maule n D. Intestinal ulcerogenic effect of S(+)-ketoprofen in rat. *Journal of Clinical Pharmacology* 1998; 38:27S-32S.
- 59-Murray M.D., Craig Brater D. Renal toxicity of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1993; 32:435-65.
- 60-Caldwell J., Marsh M.V. Interrelationships between xenobiotic metabolism and lipid biosynthesis. *Biochemical Pharmacology* 1983, 32:1667-72.
- 61-Caldwell J., Hutt A.J., Fournel-Gigleux S. The metabolic chiral inversion and dispositional enantioselectivity of the 2-arylpropionic acids and their biological consequences. *Biochemical Pharmacology* 1988, 37:105-114.
- 62-Mayer J.M., Roy-De Vos M., Audergon C., Testa B., Etter J.C. Interactions of anti-inflammatory 2-arylpropionates (profens) with the metabolism of fatty acids: in vitro studies. *International Journal of Tissue Reactions-Experimental and Clinical Aspects* 1994; 16:59-72.
- 63-Carabaza A., Suesan N., Tost D., Pascual J., Gomez M., Gutierrez M., Ortega E., Montserrat X., Garcia A.M., Mis R., Cabre F., Mauleon D., Carganico G. Stereoselective metabolic pathways of ketoprofen in the rat: incorporation into triacylglycerols and enantiomeric inversion. *Chirality* 1996; 8:163-72.
- 64-Orhan H., Inanici F., Arslan S., Hascelik Z., Sahin G. In vivo effects of non-steroidal antiinflammatory drugs on oxidative stress-related parameters of human erythrocytes. *Experimental Toxicology and Pathology* 1999; 51: 403-8.
- 65-Jamali F., Mehvar R., Pasutto F.M. Enantioselective aspects of drug action and disposition: therapeutic pitfalls. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1989; 78:695-712.
- 66-Mauleon D., Mis R., Ginesta J., Ortega E., Vilageliu J., Basi N., Carganico G. Pharmacokinetics of ketoprofen enantiomers in monkeys following single and multiple oral administration. *Chirality* 1994; 6:537-42.
- 67-McKellar Q.A., Delatour P., Lees P. Stereospecific pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1994; 17:447-54.
- 68-Knadtler M.P., Brater D.C., Hall S.D. Stereoselective disposition of flurbiprofen in normal volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1992; 33:369-75.
- 69-Jamali F., Singh N.N., Pasutto F.M. Pharmacokinetics of ibuprofen enantiomers in human following oral administration of tablets with different absorption rates. *Pharmacology Research* 1988; 5:40-3.
- 70-Hall S.D., Rudy A.C., Knight P.M., Brater D.C. Lack of presystemic inversion of (R)- to (S)-ibuprofen in humans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1993; 53:393-400.
- 71-Lin J.H., Cochetto, D.M., y Duggan D.E. Protein binding as a primary determinant of the clinical pharmacokinetic properties of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical Pharmacokinetics* 1987; 12:402-32.
- 72-Deschamps-Labat L., P ehourcq F., Jagou M., Bannwarth B. Relationship between lipophilicity and binding to human serum albumin of arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 1997; 16:223-9.
- 73-Evans A.M., Nation R.L., Samson L.M., Bochner F., Somogyi A.A. Stereoselective plasma protein binding of ibuprofen enantiomers. *European Journal of Clinical Pharmacology* 1989; 36: 283-0.
- 74-Davies N.M. Clinical pharmacokinetics of ibuprofen. The first 30 years. *Clinical Pharmacokinetics* 1998; 34:101-54.
- 75-Iwakawa S., Spahn H., Benet L.Z., Lin E.T. Stereoselective binding of the glucuronide conjugates of carprofen enantiomers to human serum albumin. *Biochemical Pharmacology* 1990; 39:949-53.
- 76-Knadtler M.P., Brater D.C., Hall S.D. Plasma protein binding of flurbiprofen: enantioselectivity and influence of pathophysiological status. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1989; 249:378-85.
- 77-Jones M.E., Sallustio B.C., Purdie Y.J., Meffin P.J. Enantioselective disposition of 2-arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. II. 2-Phenylpropionic acid protein binding. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1986; 238: 288-94.
- 78-Otagiri M., Masuda K., Imai T., Imamura Y., Yamasaki M. Binding of piroprofen to human serum albumin studied by dialysis and spectroscopy techniques. *Biochemical Pharmacology* 1989; 38:1-7.
- 79-Hayball P.J., Nation R.L., Bochner F., Newton J.L., Massy-Westropp R.A., Hamon D.P.G. Plasma protein binding of ketoprofen enantiomers in man: Method development and its application. *Chirality* 1991; 3:460-6.
- 80-Landoni F., Soraci A. Pharmacology of chiral compounds: 2-Arylpropionic acid derivatives. *Current Drug Metabolism* 2001; 2:37-57.
- 81-Jamali F. Pharmacokinetics of enantiomers of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1988; 13:1-9.
- 82-Hutt A., Caldwell J. The metabolic chiral inversion of 2-arylpropionic acids - a novel route with pharmacological consequences. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1983; 35:693-704.
- 83-Soraci A., Jaussaud P., Benoit E., Delatour P. Chiral inversion of fenoprofen in horses and dogs: an in vivo-in vitro study. *Veterinary Research* 1996; 27:13-22.
- 84-Soraci A., Benoit E., Delatour P. Comparative metabolism of (R)-fenoprofen in rats and sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1995; 18:1-5.
- 85-Delatour P., Benoit E., Bourdin M., Gobron M., Moysan F. Enantioselective comparison of the disposition of two anti-inflammatory non-steroidal drugs, ketoprofen and carprofen, in man and the animal. *Bulletin de l'Academie Nationale de Medecine* 1993; 177:515-27.
- 86-Landoni M.F., Lees P. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ketoprofen enantiomers in the horse. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1996; 19:466-74.
- 87-Landoni M.F., Comas W., Mucci N., Anglarilli G., Bidal D., Lees P. Enantiospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics of ketoprofen in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1999; 22:349-59.
- 88-Dixon P.A.F., Caldwell J., Smith R.L. Studies on the metabolism of arylacetic acids. The metabolic fate of (1C)-naphthylacetic acid and its variation with species and dose. *Xenobiotica* 1977; 7: 695-706.
- 89-Lees P., McKellar Q., May, S., Ludwig B. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen in the horse. *Equine Veterinary Journal* 1994; 26:203-8.
- 90-Prymeko N., Garnier F., Ferre J., Delatour P., Toutain P. Enantioselectivity of the enterohepatic recycling of carprofen in the dog. *Drug Metabolism and Disposition* 1998; 26:170-6.
- 91-Iwakawa S., Spahn H., Benet L.Z., Lin E.T. Stereoselective disposition of carprofen, flunoxaprofen, and naproxen in rats. *Drug Metabolism and Disposition* 1991; 19:853-7.

- 92-Evans A.M. Enantioselective pharmacodynamics and pharmacokinetics of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Clinical Pharmacology* 1992; 42:237-56.
- 93-Satterwhite J.H., Boudinot F.D. Pharmacokinetics of ketoprofen in rats: effect of age and dose. *Biopharmaceutics & Drug Disposition* 1992; 13:197-212.
- 94-Day R.O., Williams K.M., Graham G.G., Lee E.J., Knihinicki R.D., Champion G.D. Stereoselective disposition of ibuprofen enantiomers in synovial fluid. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1988; 43:480-7.
- 95-Young M.A., Aarons L., Toon S. The pharmacokinetics of the enantiomers of flurbiprofen in patients with rheumatoid arthritis. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1991; 31:102-4.
- 96-Foster R.T., Jamali F., Russell A.S. Ketoprofen enantiomers in synovial fluid. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1989; 78:881-2.
- 97-Singh N.N., Jamali F., Pasutto F.M., Russell A.S., Coutts R.T., Drader K.S. Pharmacokinetics of the enantiomers of tiaprofenic acid in humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1986; 75:439-42.
- 98-Soraci A.L., Tapia O., Garcia J. Pharmacokinetics and synovial fluid concentrations of flurbiprofen enantiomers in horses: chiral inversion. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics* 2005; 28:65-70.
- 99-Williams K.M., Lee E.J.D. Importance of drug enantiomers in clinical pharmacology. *Drugs* 1985; 30:333-54.
- 100-Lee E.J.D., Williams K., Day R., Graham G., Champion D. Stereoselective disposition of ibuprofen enantiomers in man. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1985; 19:669-74.
- 101-Boop R.J., Nash J.F., Ridolfo A.S., Shepard E.R. Stereoselective inversion of (R)-(-) benoxaprofen to the (S)-(+)-enantiomer in humans. *Drug Metabolism and Disposition* 1979; 7:356-9.
- 102-Rubin A., Knadler M.P., Ho P.P., Bechtol L.D., Wolen R.L. Stereoselective inversion of (R)-fenoprofen to (S)-fenoprofen in humans. *Journal of Pharmaceutical Science* 1985; 74:82-4.
- 103-Stoltenborg J.K., Puglisi C.V., Rubio F., Vane F.M. High-performance liquid chromatographic determination of stereoselective disposition of carprofen in humans. *Journal of Pharmacological Science* 1981; 70:1207-12.
- 104-Jamali F., Berry B.W., Tehrani M.R., Russell A.S. Stereoselective pharmacokinetics of flurbiprofen in human and rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1988; 77:666-9.
- 105-Tamassia V., Jannuzzo M.G., Moro E., Stegnajch S., Groppi W., Nicolis F.B. Pharmacokinetics of the enantiomers of indoprofen in man. *International Journal of Clinical Pharmacology Research* 1984; 4:223-30.
- 106-Igarza L., Soraci A., Auza N., Zeballos H. Chiral inversion of R(-)-ketoprofen: influence of age and different physiological status in dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 2002; 20:29-37.
- 107-Igarza L., Soraci A., Auza N., Zeballos H. Some pharmacokinetic parameters of R(-) and S(+)-flurbiprofen: The influence of age and differing physiological status in dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 2006; 30:513-22.
- 108-Gaut ZN, Baruth H., Randall L.O., Ashley C., Paulsrud J.R. Stereoisomeric relationships among anti-inflammatory activity, inhibition of platelet aggregation, and inhibition of prostaglandin synthetase. *Prostaglandins* 1975; 10:59-66.
- 109-Adams S.S., Bresloff P., Mason C.G. Pharmacological differences between the optical isomers of ibuprofen: evidence for metabolic inversion of the (-)-isomer. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1976; 28:256-7.
- 110-Benoit E., Soraci A., Delatour P. Chiral inversion as a parameter for interspecies and intercompound discrepancies in enantiospecific pharmacokinetics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 1994; 7:153-4.
- 111-Hayball P.J., Meffin P.J. Enantioselective disposition of 2-arylpropionic acid nonsteroidal-<sup>\*</sup>Therapeutics 1987; 240: 631-6.
- 112-Berry B.W., Jamali F. Presystemic and systemic chiral inversion of R(-) fenoprofen in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1991; 25B:695-701.
- 113-Castro E., Soraci A., Tapia O., Fogel F. Compared chiral inversion of fenoprofen and ketoprofen in cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2000; 23:265-71.
- 114-San Martín M.F., Soraci A., Fogel F., Tapia O., Islas S. Chiral inversion of (R)-(-) fenoprofen in guinea pigs pretreated with clorfenibate. *Veterinary Research Communications* 2002; 26:323-32.
- 115-Rudy A.C., Liu Y., Brater C., Hall S.D. Stereoselective pharmacokinetics and inversion of (R)-ketoprofen in healthy volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology* 1998; 38:3S-10S.
- 116-Foster R.T., Jamali F. Stereoselective pharmacokinetics of ketoprofen in the rat: influence of route of administration. *Drug Metabolism and Disposition* 1988; 16:623-6.
- 117-Abas A., Meffin P.J. Enantioselective disposition of 2-arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. IV. Ketoprofen disposition. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1987; 240:637-41.
- 118-Menzel-Soglowek S., Geisslinger G., Beck W.S., Brune K. Variability of inversion of (R)-flurbiprofen in different species. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1992; 81:888-91.
- 119-Leipold D.D., Kantoci D., Murray E.D. Jr, Quiggle D.D., Wechter W.J. Bioinversion of R-flurbiprofen to S-flurbiprofen at various dose levels in rat, mouse and monkey. *Chirality* 2004; 16: 379-87.
- 120-Geisslinger G., Menzel-Soglowek S., Beck W.S., Brune K. R-flurbiprofen: isomeric ballast or active entity of the racemic compound? *Agents and Actions* 1993; Suppl. 44:1-6.
- 121-Benoit E., Soraci A., Delatour P. An in vivo-in vitro correlation in the chiral inversion of Carprofen, Ketoprofen and Fenoprofen. V European ISSX Meeting Tours (France) 1993.
- 122-Lees P., Delatour P., Benoit E., Foster A. Pharmacokinetics of carprofen enantiomers in the horse. *Acta Veterinaria Scandinavica* 1991; 87:249-51.
- 123-Soraci A., Benoit E., Jaussaud P., Delatour P. Enantioselective glucuronidation and subsequent biliary excretion of carprofen in horses. *American Journal of Veterinary Research* 1995; 56:358-61.
- 124-Knihinicki R.D., Day R.O., Graham G.G., Williams K.M. Stereoselective disposition of ibuprofen and flurbiprofen in rats. *Chirality* 1990; 2:134-40.
- 125-Ahn H.Y., Amidon G.L., Smith D.E. Stereoselective systemic disposition of ibuprofen enantiomers in the dog. *Pharmaceutical Research* 1991; 9:1186-90.
- 126-Williams K.M., Knihinicki R.D., Day R.O. Pharmacokinetics of the enantiomers of ibuprofen in the rabbit. *Agents and Actions* 1991; 34:381-6.
- 127-Vakily M., Jamali F. Pharmacokinetics of Tiaprofenic Acid in humans: Lack of stereoselective in plasma using both direct and precolumn derivatization methods. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1995; 85:638-42.
- 128-Shinohara Y., Magara H., Baba S. Stereoselective pharmacokinetics and inversion of suprofen enantiomers in humans. *Journal of Pharmaceutical Science* 1991; 11:1075-8.
- 129-Verde C.R., Simpson M.I., Frigoli A., Landoni M.F. Enantioselective pharmacokinetics of ketoprofen in plasma and synovial fluid of horses with acute synovitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2001; 4:179-85.
- 130-Jamali F., Lovlin R., Aberg G. Bi-directional chiral inversion of ketoprofen in CD-1 mice. *Chirality* 1997; 9:29-31.
- 131-Nakamura Y., Yamaguchi T., Takahashi S. Optical isomerisation mechanism of R (-) hydratropic acid derivatives, *Journal of Pharmacobio-Dynamics* 1981; 4:S-1.
- 132-Knights K.M., Drew R., Meffin P.J. Enantiospecific formation of fenoprofen coenzyme A thioester in vitro. *Biochemical Pharmacology* 1988; 37:3539-42.
- 133-Knihinicki R.D., Williams K.M., Day R.O. Chiral inversion of 2-arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory-1. In vitro studies of ibuprofen and flurbiprofen. *Biochemical Pharmacology* 1989; 38:4389-95.
- 134-Knadler M.P., Hall S.D. Stereoselective arylpropionic-CoA thioester formation in vitro. *Chirality* 1990; 2:67-73.
- 135-Menzel-Soglowek S., Waibel R., Brune K., Geisslinger G. Is the formation of R-ibuprofen-adenylate the first stereoselective step in chiral inversion. *Biochemical Pharmacology* 1994; 48: 1056-8.
- 136-Vessey D.A., Hu J. Isolation from bovine liver mitochondria and characterization of three distinct carboxylic acid:CoA ligases with activity toward xenobiotics. *Journal of Biochemical Toxicology* 1995; 10:329-37.
- 137-Vessey D.A., Kelly M., Lau E. Development of a radiolabeled ATP assay for carboxylic acid:CoA ligases and its use in the characterization of the xenobiotic carboxylic acid:CoA ligases of bovine mitochondria. *Journal of Biochemical Molecular and Toxicology* 1998; 12:151-5.

- 138-Shirley M.A., Guan X., Kaiser D.G., Halstead G.W., Baillie T.A. Taurine conjugation of ibuprofen in humans and in rat liver in vitro. Relationship to metabolic chiral inversion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1994; 269:1166-75.
- 139-Vessey D.A., Hu J., Kelly M. Interaction of salicylate and ibuprofen with the carbaxylic acid:CoA ligases from bovine liver mitochondria. *Journal of Biochemical Toxicology* 1996; 11:73-8.
- 140-Kornberg A., Pricer W.E. Enzymatic synthesis of the coenzyme A derivatives of long chain fatty acids. *Journal of Biological Chemistry* 1953; 204:329-43.
- 141-Tanaka T, Hosaka K.T., Hoshimaru M., Numa S. Purification and properties of long-chain acyl-coenzyme A synthetase from rat liver. *The European Journal of Biochemest* 1979; 98:165-172.
- 142-Svensson L.T, Wilcke M., Alexon S.E. Peroxisome proliferators differentially regulate long-chain acyl-CoA thioesterases in rat liver. *European Journal of Biochemistry* 1995; 230:813-20.
- 143-Bronfman M., Amigo L., Morales M.N. Activation of hypolipidaemic drugs to acyl-Coenzyme A thioesters. *Biochemical Journal* 1986; 239:781-4.
- 144-Bronfman M., Amigo L., Morales M.N. Hypolipidaemic drugs are activated to acyl-CoA esters in isolated rat hepatocytes. Detection of drug activation by human liver homogenate and by human platelets. *Biochemical Journal* 1992; 284:283-7.
- 145-Heuvel J.P.V., Kuslikis B.I., Shragos E., Peterson R.E. Inhibition of long-chain acyl-CoA synthetase by the peroxisome proliferator perfluorodecanoic acid in rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology* 1991; 42:295-302.
- 146-Soraci A., Benoit E. In vitro fenoprophenyl-coenzyme A thioester formation: Interspecies variations. *Chirality* 1995; 7:534-40.
- 147-Ghosh B., Barbosa E., Singh I. Molecular cloning and sequencing of human palmitoyl-CoA ligase and its tissue specific expression. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1995; 151:77-81.
- 148-Minekura H., Fujino T., Kang M.J., Fujita T., Endo Y., Yamamoto T. Human acyl-coenzyme A synthetase 3 cDNA and localization of its gene (ACS3) to chromosome band 2q34-q35. *Genomics* 1997; 42:180-1.
- 149-Piccini M., Vitelli F., Bruttini M., Pober B.R., Jonsson J.J., Villanoba M., Zollo M., Borsani G., Ballabio A., Renieri A. . *FAcL4*, a new gene encoding long-chain acyl-CoA synthetase 4, is deletd in a family with Alport syndrome, eliptycotosis, and mental retardation. *Genomics* 1998; 47:350-8.
- 150-Sevoz C., Benoit E., Buronfosse T. Thioesterification of 2-arylpropionic acids by recombinant acyl-coenzyme A synthetases (ACS1 and ACS2). *Drug Metabolism and Disposition* 2000; 28:398-402.
- 151-Suzuki H., Watanabe M., Fujino T., Yamamoto T. Multiple promoters in rat acyl-CoA synthetase gene mediate differential expression of multiple transcripts with 5'-end heterogeneity. *Journal of Biological Chemistry* 1995; 270:9676-82.
- 152-Knights K.M. Role of hepatic fatty acid coenzyme A ligases in the metabolism of xenobiotic carboxylic acids. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 1998; 25:776-82.
- 153-Suzuki W., Kawarabayasi Y.U., Kondo T., Abe K., Nishikaw K., Kimura S., Hashimoto T., Yamamoto T. Structure and regulation of rat long-chain acid-CoA synthetase. *Journal of Biological Chemistry* 1990; 265:8681-5.
- 154-Kang M.J., Fujino T., Sasano H., Minekura H., Yabuki N., Nagura H., Iijima H., Yamamoto, T. A novel arachidonate-preferring acyl-CoA synthetase is present in steroidogenic cells of the rat adrenal, ovary and testis. *Proceeding of the Nathonale Academic Science USA* 1997; 94:2880-4.
- 155-Oikawa E., Iijima H., Suzuki T., Sasano H., Sato H., Kamataki A., Nagura H., Kang M.J., Fujino T., Suzuki H., Yamamoto T. A novel acyl-CoA synthetase, ACS5, expressed in intestinal epithelial cells and proliferating preadipocytes. *Journal of Biochemistry* 1998; 124:679-85.
- 156-Bronfman M., Inestrosa N.C., Nervi F.O., Leighton F. Acyl-CoA synthetase and the peroximal enzymes of -oxidation in human liver. *Biochemical Journal* 1984; 22:709-20.
- 157-Knights K.M., Drogemuller C.J. Xenobiotic-CoA Ligases: Kinetic and Molecular Characterization. *Current of Drug Metabolism* 2000; 1:49-66.
- 158-Bruggera R, Garcia Alia B., Reichel C., Waibel R., Menzel S., Brune K., Geisslinger G. Isolation and characterization of rat liver microsomal R-ibuprofenyl-CoA synthetase. *Biochemical Pharmacology* 1996; 52:1007-13.
- 159-Bruggera R., Reichel C., Garcia Alia B., Brune K., Yamamoto T., Tegeder I., Geisslinger G. Expression of rat liver long-chain acyl-CoA synthetase and characterization of its role in the metabolism of R-ibuprofen and other fatty acid-like xenobiotics. *Biochemical Pharmacology* 2001; 61:651-6.
- 160-Benoit E., Delatour P., Olivier L., Caldwell J. (-)-R-fenoprofen: formation of fenoprofenyl-coenzyme A by rat liver microsomes. *Biochemical Pharmacology* 1995; 49:1717-20.
- 161-Roberts B.J., Macleod J.K., Singh I., Knights K.M. Kinetic characteristics of rat liver peroxisomal nafenopin-CoA ligase. *Biochemical Pharmacology* 1995; 49:1335-9.
- 162-Knights K.M., Jones M.E. Inhibition kinetics of hepatic microsomal long-chain fatty acid-CoA ligase by 2-arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biochemical Pharmacology* 1992; 43:1465-71.
- 163-Tracy T.C., Hall S.D. Metabolic inversion of (R)-ibuprofen. Epimerization and hydrolysis of ibuprofenyl-Coenzyme A. *Drug Metabolism and Disposition* 1992; 2:322-7.
- 164-Knights K.M., Addinall T.F., Roberts B.J. Enhanced chiral inversion of R-ibuprofen in liver from rats treated with clofibrac acid. *Biochemical Pharmacology* 1991; 41:1775-77.
- 165-Roberts B.J., Knights K.M. Differential induction of rat hepatic microsomal and peroxisomal long-chain and nafenopin-CoA ligases by clofibrac acid and di-2-(ethylhexyl) phthalate. *Xenobiotica* 1995; 25:469-76.
- 166-Roy-de Vos M., Mayer J.M., Etter J.C., Testa B. Clofibrac acid increases the unidirectional chiral inversion of ibuprofen in rat liver preparations. *Xenobiotica* 1996; 26:571-82.
- 167-Schoonjans K., Staels B., Grimaldi P., Auwerx J. Acyl-CoA synthetase mRNA expression is controlled by fibric, feeding and liver proliferation. *European Journal of Biochemistry* 1993; 216: 615-22.
- 168-Oian X., Hall S.D. Enantioselective effects of experimental diabetes mellitus on the metabolism of ibuprofen. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1995; 274: 1192-8.
- 169-De Craemer D., Van den Branden C. Pauwels M., Vamecq J. Peroxisome-proliferating effects of fenoprofen in mice. *Lipids* 1998; 33:539-43.
- 170-Shieh W.R., Chen C.S. Purification and characterization of novel 2-arylpropionyl-CoA epimerases from rat liver cytosol and mitochondria. *Journal of Biological Chemistry* 1993; 268: 3487-91.
- 171-Knihinicki R.D., Day R.O., Williams K.M. Chiral inversion of 2-arylpropionic acid non-steroidal anti-inflammatory drugs- II Racemization and hydroysis of R(-) and S(+)-ibuprofen-CoA thioesters. *Biochemical Pharmacology* 1991; 42: 1905-11.
- 172-Reichel C., Bruggera R., Bang H., Geisslinger G., Brune K. Molecular cloning and expression of a 2-arylpropionyl-coenzyme A epimerase: a key enzyme in the inversion metabolism of ibuprofen. *Molecular Pharmacology* 1997; 51:576-82.
- 173-Cox J.W., Cox S.R., Vangiessen G., Ruwart M.J. Ibuprofen stereoisomer hepatic clearance and distribution in normal and fatty in situ perfused rat liver. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1985; 232:636-43.
- 174-Mehvar R., Jamali, F. Pharmacokinetic analysis of enantiomeric inversion of chiral nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Pharmaceutical Research* 1988; 5:76-9.
- 175-Jeffrey P., Tucker G.T., Bye A., Crewe H.K., Wright P.A. The site of inversion of R(-)-ibuprofen: Studies using rat in situ perfused rat liver. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1991; 43:715-20.
- 176-Hall S.D., Hassanzadeh-Khayyat M., Knalder M.P., Mayer P.R. Pulmonary inversion of 2-arylpropionic acids: Influence of protein binding. *Chirality* 1992; 4:349-52.
- 177-Simmonds R.G., Woodage T.J., Duff S.M. Stereospecific inversion of R(-)-benoxaprofen in rat and man. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin* 1980; 5:169-72.
- 178-Sattari S., Jamali F. Evidence of absorption rate dependency of ibuprofen inversion in the rat *Chirality* 1994; 6:435-9.
- 179-Jamali F., Mehvar R., Russell A.S., Sattari S., Yakimets W.W., Koo J. Human pharmacokinetics of ibuprofen enantiomers following different doses and formulations: intestinal chiral inversion. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1992; 81:221-5.

- 180-Sattari S., Jamali F. Involvement of the rat epithelial and muscular layer, and microflora in chiral inversion and acyl-glucuronidation of R-fenoprofen. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1997; 22:97-101.
- 181-Sevoz C., Rousselle C., Benoit E., Buronfosse T. In vitro study of fenoprofen chiral inversion in rat: comparison of brain versus liver. *Xenobiotica* 1999; 29:1007-16.
- 182-Faegerman N.J., Knudsen J. Role of long-chain acyl-CoA esters in the regulation of metabolism and in cell signalling. *Biochemical Journal* 1997; 323:1-12.
- 183-Zhao B., Geisslinger G., Hall I., Day R.O., Williams K.M. The effect of the enantiomers of ibuprofen and flurbiprofen on the beta-oxidation of palmitate in the rat. *Chirality* 1992; 4:137-41.
- 184-Lageweg W., Wanders R.J. Studies on the effect of fenoprofen on the activation and oxidation of long chain and very long chain fatty acids in hepatocytes and subcellular fractions from rat liver. *Biochemical Pharmacology* 1993; 46:79-85.
- 185-Vessey D.A., Chen W., Ramsay R.R. Effect of carboxylic acid xenobiotics and their metabolites on the activity of carnitine acyltransferases. *Biochemical Journal* 1991; 279:895-7.
- 186-Freneaux E., Fromenty B., Berson A., Labe G., Degott C., Letteron P., Larrey D., Pessayre D. Stereoselective and nonstereoselective effects of ibuprofen enantiomers on mitochondrial  $\beta$ -oxidation of fatty acids. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1990; 255:529-35.
- 187-Tracy T.C., Wirthwein D.P., Hall S.D. Metabolic inversion of R(-)-ibuprofen. Formation of ibuprofenyl-coenzyme A. *Drug Metabolism and Disposition* 1993; 21:114-20.
- 188-Geisslinger G., Lötsch J., Menzel S., Kobal G., Brune, K. Stereoselective disposition of flurbiprofen in healthy subjects following administration of the single enantiomers. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1994; 37:392-4.
- 189-Browne G.S., Nelson C., Nguyen T., Ellis B.A., Day R.O., Williams K.M. Stereoselective and substrate-dependent inhibition of hepatic mitochondria  $\beta$ -oxidation and oxidative phosphorylation by the non-steroidal anti-inflammatory drugs ibuprofen, flurbiprofen and ketorolac. *Biochemical Pharmacology* 1999; 57:837-44.
- 190-Geneve J., Hayat-bonnan B., Labbe G., Degott C., Letteron P., Freneaux E., Dinh T.L., Larrey D., Pessayre D. Inhibition of mitochondrial  $\beta$ -oxidation of fatty acids by pirprofen. Role in microvesicular steatosis due to this nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1987; 42:1133-37.
- 191-Bronfman M., Orellana A., Morales M.N., Bieri F., Waechter F., Stäubli W., Bentley P. Potentiation of diacylglycerol-activated protein kinase C by acyl-coenzyme A thioesters of hypolipidaemic drugs. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1989; 159:1026-31.
- 192-Moorhouse K.G., Hutson D.H., Dodds P.F. Activation of protein kinase C by an aromatic xenobiotic diacylglycerol analogue. *FEBS Letter* 1989; 256:43-6.
- 193-Deschenes R.J., Resh M.D., Broach J.R. Acylation and prenylation of proteins. *Current Opinion in Cell Biology* 1990; 2:1108-13.
- 194-Sallustio B.C., Nunthasomboon S., Drogemuller C.J., Knights K.M. In vitro covalent binding of nafenopin-CoA to human liver proteins. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2000; 163:176-82.
- 195-Fears R., Baggaley K.H., Walker P., Hindley R.M. Xenobiotic cholesteryl ester formation. *Xenobiotica* 1982; 12:427-33.
- 196-Fears R. Lipophilic xenobiotic conjugates: The pharmacological and toxicological consequences of the participation of drugs and other foreign compounds as substrates in lipid biosynthesis. *Progress in Lipid Research* 1995; 24:177-95.
- 197-Dodds P.F. Xenobiotic lipids: The inclusion of xenobiotic compounds in pathways of lipid biosynthesis. *Progress in Lipid Research* 1995; 34:219-47.
- 198-Schooley DA, Quistad GB, Staiger LE. Cyclopropanecarboxylic acid: chain elongation to omega-cyclopropyl fatty acids by mammals and plants. *Science* 1978; 199:544-5.
- 199-Dodds P.F. Incorporation of xenobiotic carboxylic acids into lipids. *Life Science* 1991; 49:629-49.
- 200-Vickery S., Dodds P.F. Incorporation of xenobiotic acids in lipid by cultures 3T3-L1 adipocytes. *Xenobiotica* 2004; 34:1025-42.
- 201-Moorhouse K.G., Logan C.J., Hutson D.H., Dodds P.F. The incorporation of 3-phenoxybenzoic acid and other xenobiotic acids in xenobiotic lipids by enzymes of the monoacylglycerol pathway in microsome from adult and neonatal tissues. *Biochemical Pharmacology* 1990; 39:1529-36.
- 202-Moorhouse K.J., Dodds P.F., Hutson D.H. Xenobiotic triacylglycerol formation in isolated hepatocytes. *Biochemical Pharmacology* 1991; 41:1179-85.
- 203-Fears R., Baggaley K.H., Alexander R., Morgan B., Hindley R.M. The participation of ethyl 4-benzoate (BRL 10894) and other aryl-substituted acids in glycerolipid metabolism. *Journal of Lipid Research* 1978; 19:3-11.
- 204-Dodds P.F., Chou S.C., Ranasinghe A., Coleman R.A. Metabolism of fenbufen by cultured 3T3-L1 adipocytes: synthesis and metabolism of xenobiotic glycerolipids. *Journal of Lipid Research* 1995; 36:2493-503.
- 205-Volland C., Sun H., Dammeyer J., Benet L.Z. Stereoselective degradation of the fenoprofen acyl glucuronide enantiomers and irreversible binding to plasma protein. *Drug Metabolism and Disposition* 1991; 19:1080-6.
- 206-Knadler M.P., Hall S.D. Stereoselective hydrolysis of flurbiprofen conjugates. *Drug Metabolism and Disposition* 1991; 19:280-2.
- 207-Hayball P.J., Nation R.L., Bochner F. Stereoselective interactions of ketoprofen glucuronides with human plasma protein and serum albumin. *Biochemical Pharmacology* 1992; 44:291-99.
- 208-Iwakawa S., Spahn H., Benet L.Z., Lin E.T. Carprofen acyl glucuronides: stereoselective degradation and interaction with human serum albumin. *Pharmacology Research* 1988; 5(Suppl.): S-214.
- 209-Tanaka Y., Shimomura Y., Hirota T., Nozaki A., Ebata M., Takasaky W., Sieghara E., Hayashi R., Caldwell J. Formation of glycine conjugate and (-) and (+)-enantiomers from (+)-(S)-2-phenylpropionic acid suggesting the formation of the CoA thioester intermediate in dogs. *Chirality* 1992; 4:342-48.
- 210-Grubb N.G., Rudy D.W., Brater D.C., Hall S.D. Stereoselective pharmacokinetics of ketoprofen and ketoprofen glucuronide in end-stage renal disease: evidence for a "futile cycle" of elimination. *British Journal of Clinical Pharmacology* 1999; 48:494-500.
- 211-Presle N., Lapique F., Fournel-Gigleux S., Magdalou J., Netter P. Stereoselective irreversible binding of ketoprofen glucuronides to albumin. Characterization of the site and the mechanism. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1996; 24:1050-57.
- 212-Castillo M., Smith P.C. Disposition and reactivity of ibuprofen and ibufenac acyl glucuronides in vivo in the Rhesus monkey and in vitro with human serum albumin. *Drug Metabolism and Disposition* 1995; 23:566-72.
- 213-Spahn H., Nätke I., Mohri K., Zia-Amirhosseini P., Benet L.Z. Preliminary characterization of proteins to which benoxaprofen glucuronide binds irreversibly. *Pharmacology Research (NY)* 1990; 7:S257.
- 214-Dubois N., Lapique F., Maurice M-H, Pritchard M., Fournel-Gigleux S., Magdalou J., Abiteboul M., Siest G., Netter P. In vitro irreversible binding of ketoprofen glucuronide to plasma proteins. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1993; 21:617-22.
- 215-Terrier N., Benoit E., Senay C., Lapique F., Radomska-Pandya A., Magdalou J., Fournel-Gigleux S. Human and rat liver UDP-Glucuronosyltransferases are targets of ketoprofen acylglucuronide. *Molecular Pharmacology* 1999; 56:226-34.