

УДК 615.1.015.154

О. І. Александрова, канд. біол. наук,

І. А. Кравченко, д-р біол. наук, проф.

## ПОРІВНЯННЯ ПРОЦЕСІВ ПРОНИКНОСТІ 7-БРОМ-5(ОРТО-ХЛОР)ФЕНІЛ-1,2-ДИГІДРО-3Н- 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНУ КРІЗЬ РОГОВИЙ ШАР І ЙОГО НАГРОМАДЖЕННЯ У ШКІРІ У ДОСЛІДАХ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова МОН України

Транквілізатори широко застосовуються в медичній практиці через високу ефективність при лікуванні неврозів, неврозоподібних і психопатичних станів. Вони — одне з найзначніших досягнень фармакології за останні десятиліття. Однак оптимальний вплив лікарських препаратів на організм значною мірою залежить від способу введення. Такі традиційні способи введення лікарських препаратів, як внутрішньовенний, пероральний, парентеральний, субкутальний тощо не завжди приводять до оптимального фармакотерапевтичного впливу. У зв'язку з цим, останнім часом найбільша увага приділяється дослідженню та створенню трансдермальних терапевтичних систем (ТТС) [1–4]. Використання таких систем дозволяє в повсякденній медичній практиці розв'язати проблему лікування хронічних захворювань, що потребують тривалого контрольованого введення лікарських препаратів [5]. Застосування трансдермальних систем забезпечує безупинну подачу лікарського препарату в системний кровообіг крізь неушкоджену шкіру,

що дозволяє підтримувати концентрацію препарату в організмі на необхідному терапевтичному рівні, уникаючи різких концентраційних перепадів, що знижує ризик виникнення побічних ефектів.

Слід зазначити, що багато високоактивних лікарських препаратів не здатні в достатній кількості проникати крізь шкіру, що не дозволяє використовувати їх у складі трансдермальних терапевтичних систем. Таким чином, препарати, що вводяться крізьшкірно, повинні задовольняти основним вимогам: здатності проникати крізь шкіру і бути високоєфективними в малих дозах [6]. Цим вимогам відповідають похідні 1,4-бенздіазепіну, одним із представників яких є 7-бром-5(орто-хлор)-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-он. Його використання як активного компонента у складі ТТС є перспективним, тому що він найчастіше застосовується для лікування захворювань, що потребують тривалої терапії, при цьому використання ТТС є найбільш оптимальним [7]. Для досягнення максимальної швидкості подачі лікар-

ських речовин із ТТС необхідно керуватися не тільки фізико-хімічними властивостями лікарських речовин, але і властивостями шкіри як бар'єра та фізико-хімічними властивостями компонентів ТТС.

Роговий шар виконує основну бар'єрну функцію шкіри, тому вивчення проникності шкіри та процесу дифузії крізь неї чужорідних сполук може бути обмежене дослідженням ізольованого рогового шару шкіри [8].

**Метою** даної роботи є вивчення процесів надходження 7-бром-5(орто-хлор)феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону з аплікованої ТТС у шкіру, що є важливим для подальшої оптимізації фармакологічного впливу препарату у складі ТТС. Завдання виконували у двох напрямках: дослідження процесів проникності препарату з ТТС крізь роговий шар у дослідах *in vitro* та нагромадження препарату в шкірному покриві у дослідах *in vivo* залежно від часу аплікації ТТС.

Зразки рогового шару попередньо вимочували в 0,9%-му розчині NaCl протягом 1 год. Підготовлений роговий шар за-

стосовували як мембрану в дифузійній комірці вертикального типу (комірка Франца), внутрішньою стороною до акцепторної рідини. Як донорне середовище використовували гель, що складався з води, полівінілового спирту та 1,2-пропіленгліколю (1:1:1,5), який містив  $^{14}\text{C}$ -препарат (15 мг/г). Гель наносили на зовнішню поверхню рогового шару. Акцепторне середовище являло собою розчин натрій-фосфатного буфера (0,1 М, рН=7,4), який містив 5 % поліетиленгліколю (ПЕГ-400). Комірку інкубували в термостаті при  $t = (35,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  протягом певного часу, після закінчення якого акцепторне середовище кількісно переносили в сцинтиляційні флакони, випарювали до об'єму  $\sim 0,5 \text{ см}^3$ , додавали  $1 \text{ см}^3$  тритон Х-100 і визначали загальну радіоактивність методом рідинної сцинтиляційної фотометрії.

Швидкість дифузії препарату крізь роговий шар визначали за формулою

$$V = \frac{Q}{tS},$$

де  $V$  — швидкість дифузії феназепаму крізь роговий шар;  $Q$  — кількість препарату (мкг), який проникнув за час  $t$ ;  $S$  — площа мембрани,  $\text{см}^2$ .

Згідно з методикою, через певні проміжки часу визначали кількість препарату, яка проникла до акцепторної рідини крізь роговий шар.

Як видно з наведених даних (рис. 1), наявність бенздіазепіну в акцепторній рідині реєструється вже в перші години після аплікації гелю. Збільшення кількості препарату, що проникла крізь роговий шар, відносно часу аплікації, лінійне на ділянці кривої, яка відповідає інтервалу часу приблизно від 3-ї до 18-ї години. З 18-ї години подальше збільшення часу експозиції не приводить до лінійного збільшення кількості проникаючого в акцепторну рідину препарату, що, на нашу думку, пов'язано

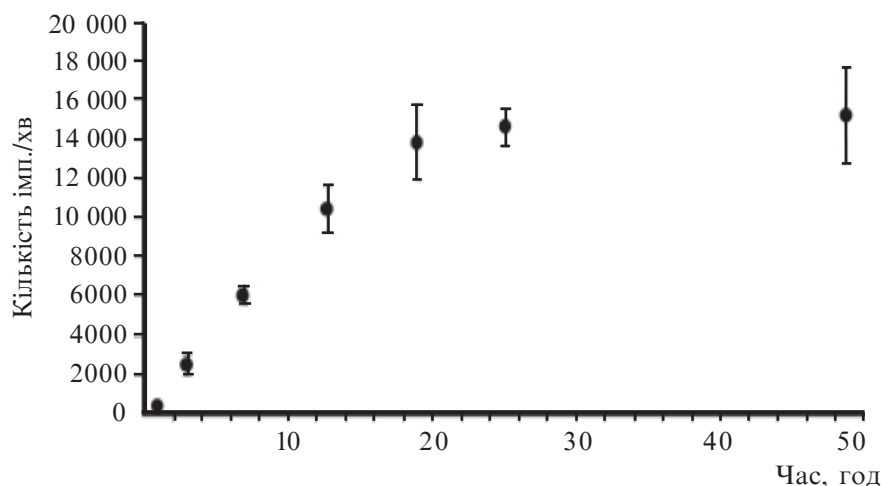


Рис. 1. Кількість 7-бром-5(орто-хлор)феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону, що проник до акцепторної рідини від часу експозиції

зі зменшенням градієнта концентрації бенздіазепіну в донорній і акцепторній фазах, що призводить до зменшення швидкості проникнення його крізь роговий шар.

Слід зазначити, що через одну годину з моменту експозиції вміст препарату в акцепторній рідині відносно низький, що пов'язано з процесом насичення препаратом рогового шару. Витрата часу на насичення рогового шару («мертвий час») для феназепаму становить приблизно 1 год.

Низьке значення коефіцієнта проникності  $k = (0,32 \pm 0,09) \times 10^{-3} \text{ імпл./}(хв \cdot \text{год})$ , що визначено в першу годину аплікації, пов'язане з великим внеском «мертвого часу» в загальний процес дифузії молекул 7-бром-5(орто-хлор)феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону крізь роговий шар. Величина константи, яка визначена на лінійній ділянці після досягнення потоком препарату крізь роговий шар постійного значення (від 3-ї до 18-ї години), незмінна і дорівнює  $(0,67 \pm 0,05) \cdot 10^{-3} \text{ імпл./}(хв \cdot \text{год})$ .

Шкіра являє собою трикомпонентну тканинну систему, яка утворена епідермісом, дермою та підшкірною жировою клітковиною, що перебувають у морфологічній єдності та складаються з безлічі функціонально-структурних елементів [9], тому були проведені до-

слідження *in vivo*, мета яких полягала у встановленні динаміки нагромадження препарату у шкірі та проникнення препарату до внутрішнього середовища організму крізь неушкоджену шкіру. У досліджах були використані ТТС із концентрацією бенздіазепіну 0,1; 0,2; 0,3 і 0,6 мг/см<sup>2</sup>, що відповідає попереднім нашим дослідженням із фармакодинамічної дії препарату у складі ТТС [10]. Для визначення  $^{14}\text{C}$ -матеріалу у шкірі попередньо зважені та поміщені в окремі пробірки ділянки шкіри тварин (до яких аплікувалися ТТС) піддавали гідролізу концентрованою мурашиною кислотою ( $1 \text{ см}^3$ ) протягом 1 год на киплячій водній бані. Від остиглого гідролізату відбирали аліквоту ( $0,5 \text{ см}^3$ ) у сцинтиляційні флакони, додавали  $1 \text{ см}^3$  суміші толуол : тритон Х-100 (1:1), заливали  $10 \text{ см}^3$  толуольно-спиртового сцинтилятора і визначали радіоактивність на рідинному сцинтиляційному фотометрі TRI-CARB 2700 (Canberra PACKARD, США).

Як видно з наведених даних (рис. 2), максимальний вміст  $^{14}\text{C}$ -матеріалу у шкірі досягається на 6-ту годину після аплікації ТТС, що зумовлено формуванням шкірного депо в перші години аплікації. Надалі кількість  $^{14}\text{C}$ -матеріалу у шкірі залишається на стаціонарному рівні протягом 48 год, за рахунок

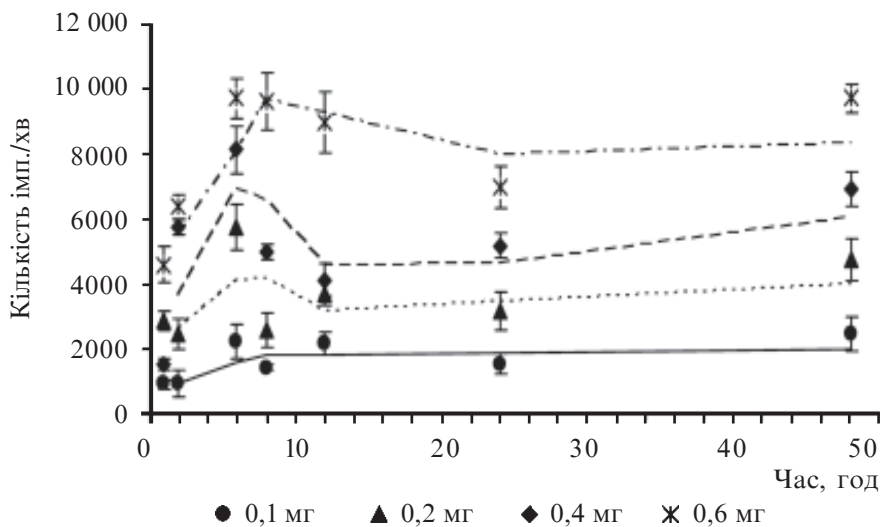


Рис. 2. Вміст загальної радіоактивності у шкірі при трансдермальному введенні  $^{14}\text{C}$ -матеріалу, залежно від його концентрації у складі ТТС

постійного надходження препарату з аплікованої ТТС. Це можна пояснити встановленням рівноваги між процесами, що відбуваються внаслідок досягнення потоком  $^{14}\text{C}$ -матеріалу крізь шкіру свого максимального значення. Необхідно відзначити, що зі збільшенням концентрації  $^{14}\text{C}$ -матеріалу в трансдермальній системі відбувається збільшення вмісту загальної радіоактивності в шкірі експериментальних тварин, яке пов'язане, на нашу думку, зі збільшенням швидкості надходження з ТТС у шкіру  $^{14}\text{C}$ -матеріалу за рахунок градієнта концентрацій.

Таким чином, дослідження *in vitro* та *in vivo* демонструють, що проникнення даного бенздіазепіну за

допомогою ТТС призводить до встановлення стаціонарного рівня кількості препарату як у донорній рідині, так і в самій шкірі. Останнє, у свою чергу, призводить до встановлення стаціонарного рівня препарату у внутрішньому середовищі організму протягом 48 год, що важливо при довготривалому лікуванні. Слід зазначити, що при збільшенні концентрації препарату у складі ТТС відбувається збільшення концентрації препарату у шкірі, що важливо з точки зору оптимізації фармакологічної дії препарату у складі ТТС.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Budd K. Buprenorphine and the transdermal system: the ideal match in

pain management // Int. J. Clin. Pract. Suppl. — 2003. — Vol. 133, N 2. — P. 9-14.

2. Driving ability under long-term treatment with transdermal fentanyl / R. Sabatowski, S. Schwalen, K. Rettig et al. // J. Pain. Symptom. Manage. — 2003. — Vol. 25, N 1. — P. 38-47.

3. Bioadhesive film for the transdermal delivery of lidocaine: *in vitro* and *in vivo* behavior / C. Padula, G. Colombo, S. Nicoli et al. // J. Control. Release. — 2003. — Vol. 88, N 7. — P. 277-285.

4. Potts R. O., Cleary G. W. Transdermal drug delivery: useful paradigms // J. Drug Target. — 1995. — Vol. 3, N 4. — P. 247-251.

5. Ranade V. V. Drug delivery systems. 6. Transdermal drug delivery // J. Clin. Pharmacol. — 1991. — Vol. 31, N 5 — P. 401-418.

6. Xu P., Chien Y. W. Enhanced skin permeability for transdermal drug delivery: physiopathological and physicochemical considerations // Crit. Rev. Drug Carrier Syst. — 1991. — Vol. 3, N 8. — P. 211-236.

7. Brown L., Langer R. Transdermal delivery of drugs // Annu. Rev. Med. — 1998. — Vol. 39. — P. 221-229.

8. Modeling of percutaneous drug transport *in vitro* using skin-imitating Carbosil membrane / M. M. Feldstein, I. M. Raigorodskii, A. L. Lordanskii, J. Hadraft // J. Control. Release. — 1998. — Vol. 52, N 1-2. — P. 25-40.

9. Alien A. C. The Skin. A Clinico-pathological Treatise. — N. Y.: Grune & Stratton, 1967. — 1182 p.

10. Залежність доза — фармакологічний ефект феназепаму при його трансдермальному введенні / О. І. Александрова, І. А. Кравченко, Н. В. Овчаренко, В. Б. Ларіонов // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 6, № 7-8. — С. 252-256.

УДК 615.1.015.154

О. І. Александрова, І. А. Кравченко

ПОРІВНЯННЯ ПРОЦЕСІВ ПРОНИКНОСТІ 7-БРОМ-5(ОРТО-ХЛОРО)ФЕНІЛ-1,2-ДИГІДРО-3Н-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНУ КРІЗЬ РОГОВИЙ ШАР І ЙОГО НАГРОМАДЖЕННЯ У ШКІРІ У ДОСЛІДАХ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

Дана робота присвячена вивченню процесів проникнення 7-бром-5(орто-хлор)феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону у складі ТТС крізь роговий шар шкіри в дослідженнях *in vitro* та дослідженню динаміки процесів нагромадження препарату у шкірі тварин у дослідженнях *in vivo*. Було встановлено (*in vitro*), що лінійне збільшення кількості бенздіазепіну, яка проникла крізь роговий шар, відносно часу аплікації відбувається приблизно від 3 до 18 год, надалі кількість препарату залишається на постійному рівні. *In vivo* було встановлено, що кількість препарату у шкірі досягає свого стаціонарного рівня через 6 год із моменту аплікації трансдермальних систем і з підвищенням концентрації препарату у складі трансдермальних систем зростає його рівень у шкірі.

**Ключові слова:** похідні бенздіазепіну, пропіленгліколь, проникність шкіри.

UDC 615.1.015.154

О. І. Александрова, І. А. Кравченко

THE COMPARISON OF PERMEABILITY PROCESSES AND ACCUMULATION OF 7-BROM-5(O-CHLOR)PHENIL-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZDIAZEPIN-2-ON THROUGH STRATUM CORNEUM *IN VIVO* AND *IN VITRO*

The aim of this work is studying the penetration processes of 7-brom-5(o-chlor) phenil-1,2-dihydro-3H-1,4-benzdiazepine-2-on through stratum corneum *in vitro* and dynamics of accumulation of this substance in the mice skin *in vivo* when administered transdermally. In *in vitro* experiments the linear increase of benzdiazepine quantity, passing through the stratum corneum, had place from 3 to 18 h after application and after this period trend to hold the reached level of concentration. *In vivo* experiments have shown that drug quantity in the skin approaches stationary level during 6 h after TTS application; increase in TTS drug concentration leads to its augmentation in the skin.

**Key words:** benzdiazepine derivatives, propyleneglykol, skin permeability.