

## **Применение синтетической и биологической тест-систем при разработке трансдермальных терапевтических систем**

**Е. Г. Кузнецова, О. М. Курылева, Л. А. Саломатина, В. И. Севастьянов**

Существуют несколько подходов к моделированию чрескожной диффузии лекарственных веществ (ЛВ) и прогнозу ее эффективности при разработке новых трансдермальных терапевтических систем (ТТС): математические модели, синтетические и биологические тест-системы. Обоснована необходимость использования синтетической и биологической тест-систем на начальных этапах разработки трансдермальных терапевтических систем на примере ТТС иммуномодулятора Галавит®. Были изготовлены шесть партий лабораторных образцов ТТС с различным составом вспомогательных веществ в эмульсионных композициях. На синтетической тест-системе, представленной мембраной Strat-M (Merck Millipore), проведена скрининговая оценка данных рецептур для трансдермальных терапевтических систем. По результатам исследования отобраны два состава с лучшим показателем количества ЛВ, прошедшего в приемную камеру диффузионной ячейки Франца, составившим 30 % от заложенного количества ЛВ в форме. Использование неконсервированной кожи кролика позволило выявить достоверные различия данного показателя для ТТС этих двух составов. Масса ЛВ, прошедшего через кожу из ТТС Галавит® за 24 часа аппликации, для первой эмульсии составила 58 – 71 % и для второй — 39 – 50 %. Биологическая тест-система оказалась более чувствительной к составам эмульсионных композиций. Таким образом, последовательное применение синтетической и биологической тест-систем дает возможность значительно сократить трудоемкость и расходы на этапе доклинических исследований новых ТТС.

**Ключевые слова:** синтетическая мембрана Strat-M, неконсервированная кожа, трансдермальная терапевтическая система, Галавит®, чрескожная диффузия.

**DOI: 10.30791/1028-978X-2020-8-49-58**

### **Введение**

Прогнозирование кожной абсорбции, в том числе оптимизация доставки активных веществ, является необходимым этапом при разработке новых трансдермальных терапевтических систем (ТТС).

На сегодняшний день в мире существуют несколько подходов к моделированию чрескожной диффузии ЛВ и прогнозу ее эффективности.

Наименее трудоемким и дешевым является построение математических моделей преодоления кожного барьера: 1) модель количественного отношения структура-проницаемость (Quantitative Structure-Property Relationship), которая связывает проницаемость кожи с химической

структурой и физико-химическими свойствами кожи, 2) модель, которая учитывает неоднородность структуры кожи и опирается на законы диффузии Фика [1]. Следует заметить, что теоретический расчет диффузии лекарственного вещества может существенно отличаться от результатов экспериментов *in vitro* и *in vivo*.

При проведении модельных экспериментов *in vitro* наиболее часто используют лоскут трупной кожи человека или животных. Однако, сложная пробоподготовка, строгие требования к хранению образцов и биологической безопасности при проведении экспериментов делают эти модели трудоемкими и дорогостоящими. К тому же морально-этическая сторона таких экспериментов

ограничивает использование данной биологической тест-системы в некоторых странах [1].

Одним из решений этой проблемы в мировой практике является переход на синтетические тест-системы. Для проведения скрининга различных составов лекарственных и косметических средств предлагается использовать, в частности, мембраны Strat-M (Merck Millipore), которые отличаются воспроизводимостью результатов и хорошей корреляцией с диффузией ЛВ через кожу [2].

В России на сегодняшний день в научной литературе имеются лишь единичные данные о

применении мембраны Strat-M для разработки и исследования ТТС [3, 4].

Синтетическое низкомолекулярное соединение Галавит® (производное фталгидрозида), относится к классу иммуномодуляторов и стимулирует активность клеток врожденного и адаптивного иммунитета, повышает резистентность организма к инфекциям бактериальной, вирусной и грибковой этиологии [5].

Цель работы — обоснование необходимости комбинированного использования синтетической и биологической тест-систем на начальных этапах

Таблица 1

Вспомогательные вещества и материалы

Table 1

Excipients and materials

№ п/п	Наименование вещества	Назначение в ТТС	Характеристика	Производитель
1	Вода очищенная	Основа водной фазы эмульсионной композиции	ФС 42-2620-97	
2	0,9 % раствор натрия хлорида	Увеличение стабильности эмульсионных композиций	Раствор для инфузий	ОАО НПК “ЭСКОМ”, Россия
3	Додецилсульфат натрия	Увеличение стабильности эмульсионных композиций	Анионоактивное поверхностно-активное вещество	AppliChem Panreac, Испания
4	Масло ядер абрикосовых косточек	Основа масляной фазы эмульсионной композиции	Содержит линолевую (30 – 45 %) и олеиновую (55 – 70 %) кислоты, за счет чего хорошо впитывается в кожу и усиливает проникновение в роговой слой активных компонентов	Desert Whale Jojoba Company Ltd., США
5	α-токоферола ацетат	Разрыхлитель кожи и антиоксидант	Липофильная жидкость	BASF SE, Германия
6	Докузат натрия	Переносчик ЛВ	Детергент анионной природы, обладающий амфифильными свойствами	Sigma, США
7	Decaglyn PR-20	Эмульгатор	Эфир декаглицерина и полимеров рецинолевой кислоты. Липофильное поверхностно-активное вещество с гидрофильно-липофильным балансом 3,2	Nikko Chemicals Co., Ltd, Япония
8	Растительный ланолин	Активатор переноса для доставки веществ в глубокие слои кожи	Воск на основе масла семян клещевины и неомыляемой фракции масла оливы	Aroma-Zone, Франция
9	Цетиловый спирт	Загуститель, со-эмульгатор	Пальмитиновый спирт (одноатомный жирный спирт)	Sigma Aldrich, США
10	Эластичный микрогубчатый материал Foam tape 9773	Подложка	Вспененный поливинилхлорид с адгезивом	3M, США
11	Сорбирующая основа ПАЛВ-01	Депо для эмульсионной матрицы	Нетканый вязкозный материал	ООО “Группа Компаний Пальма”, Россия
12	Пленка Scotchpak 9730	Защитный слой	Мультислойная пленка (полиэтилен, алюминий, полиэстер, этиленвинилацетат)	3M, США

разработки трансдермальных терапевтических систем на примере ТТС Галавит®.

### Материалы и методы

Для создания ТТС Галавит® в качестве активного вещества использовали аминокдигидрофталазиндион натрия в виде порошка для приготовления раствора для внутримышечного введения 100 мг (торговое название Галавит, производитель ООО “СЭЛВИМ”).

Аминокдигидрофталазиндион натрия — синтетическое лекарственное средство с молекулярной массой 206 Да. В настоящее время аминокдигидрофталазиндион натрия выпускается в следующих лекарственных формах: порошок для приготовления раствора для внутримышечного введения 50 и 100 мг; таблетки для рассасывания 25 мг; суппозитории ректальные 50 мг и 100 мг [6].

В составы эмульсионных композиций для ТТС были включены вспомогательные вещества и материалы, разрешенные к медицинскому применению и отвечающие требованиям действующей нормативной документации. Характеристики используемых компонентов представлены в табл. 1.

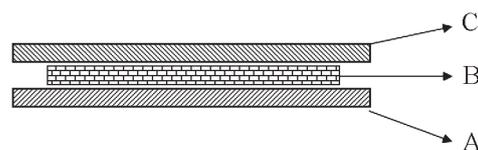


Рис. 1. Схематическое изображение поперечного разреза ТТС: А — водонепроницаемая подложка; В — сорбирующая основа; С — защитный слой.

Fig. 1. Schematic representation of the transverse section of the TTS: A — a waterproof layer; B — a sorbent base; C — a protective layer.

Оборудование, использованное для разработки и исследования ТТС Галавит®, описано в табл. 2.

### Изготовление лабораторных образцов ТТС Галавит®

При изготовлении лабораторных образцов эмульсионных ТТС Галавит® в первую очередь формируется заготовка, состоящая из вспомогательных материалов: водонепроницаемой подложки (А) и сорбирующей основы (В) (рис. 1).

Состав эмульсионных композиций для ТТС Галавит® представлен в табл. 3.

Таблица 2

Оборудование и его назначение

Table 2

Equipment and its purpose

№ п/п	Наименование прибора	Назначение	Марка, производитель
1	Дистиллятор	Подготовка воды очищенной	2004 GFL, Германия
2	Фильтр		Simplicity UV, MERK Millipore, США
3	Весы лабораторные	Взвешивание лекарственной субстанции и вспомогательных веществ	Vibra-AF-R220CE, Япония
4	Магнитная мешалка с подогревом	Растворение компонентов эмульсионной композиции	IKA RST basic, Германия
5	Погружной диспергатор	Смешивание водной и масляной фазы эмульсионной композиции	T18 basic Ultra-Turrax IKA-WERKE GmbH&Co.Kg, Германия
6	Ультразвуковой гомогенизатор		Heilscher UIS250V, Германия
7	Анализатор дисперсий	Определение времени расслоения и размера частиц эмульсионной композиции	LUMiSizer, Германия
8	Анализатор диффузии препаратов	Исследование диффузии ЛВ через кожу in vitro	HDT 1000 Copley Scientific Ltd., Великобритания
9	Спектрофотометр	Измерение оптической плотности исследуемых растворов	UV-2600 Shimadzu, Япония

Составы эмульсионных композиций

Table 3

The compositions of emulsions

Компоненты эмульсионной композиции		Номер эмульсионной композиции					
		1	2	3	4	5	6
Водная фаза	Галавит®	+	+	+	+	+	+
	Вода	+					
	0,9 % раствор натрия хлорида		+	+	+	+	+
	Додецилсульфат натрия	+		+	+	+	+
Масляная фаза	Масло абрикосовых ядер	+	+	+	+	+	+
	$\alpha$ -токоферола ацетат	+	+	+	+	+	+
	Докузат натрия	+	+	+	+	+	+
	Decaglyn PR-20	+	+	+	+	+	+
	Ланолин		+	+	+		
	Цетиловый спирт			+		+	

Для изготовления лабораторных образцов эмульсионных ТТС Галавит® необходимую навеску додецилсульфата натрия растворяли в дистиллированной воде или физиологическом растворе. В составе 2 использовали физиологический раствор без додецилсульфата натрия. Точную навеску ЛВ растворяли в получившемся растворе. В отдельном флаконе масляный раствор  $\alpha$ -токоферола ацетата с заранее растворенным в нем докузатом натрия соединяли с ланолином или цетиловым спиртом, а также с эмульгатором Decaglyn PR-20 и нагревали до 60 °С в течение 10 мин при постоянном перемешивании при 400 об/мин. Затем в масляную фазу эмульсии по каплям добавляли водную фазу и перемешивали 2 мин погружным диспергатором, а затем 5 минут ультразвуковым гомогенизатором.

Полученную эмульсионную композицию наносили на сорбирующую основу площадью 1 см<sup>2</sup> в количестве 0,1 г, затем закрывали защитным слоем (С) (рис. 1). Одна трансдермальная система содержала 4,6 мг ЛВ Галавит®.

#### Лабораторные животные

В экспериментах *in vitro* по изучению диффузии иммуномодуляторов из ТТС были использованы кролики породы новозеландский белый мужского пола массой 2 – 2,5 кг.

Кролики получены из питомника лабораторных животных ООО “КролИнфо”. Производитель предоставил ветеринарное свидетельство последнего контроля здоровья животных. Все экспериментальные животные разведены специально и ранее не

участвовали в исследованиях. Карантин составил 14 дней. Все манипуляции с животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986).

#### Определение стабильности и размеров частиц эмульсионных композиций

Для определения времени расслоения эмульсионных композиций и размера их частиц исследовали седиментацию при центрифугировании образца при скорости вращения ротора 4000 об/мин. Профили прохождения в инфракрасном свете (865 нм) при 25 °С записывали каждые 600 с, световой фактор был выбран равным 3 [7].

#### Синтетическая и биологическая тест-системы трансдермального переноса

Синтетическая тест-система для исследования диффузии ЛВ Галавит® — это мультислойная мембрана Strat-M (Merck Millipore) на основе двух полимеров: полиэфирсульфона и полиолефина. Несколько слоёв мембраны создают структуру похожую на человеческую кожу. Верхний очень плотный слой мембраны подобен роговому слою кожи. Последующие мембранные слои становятся все более пористыми и рыхлыми, увеличиваются по толщине, имитируя тем самым эпидермис, дерму

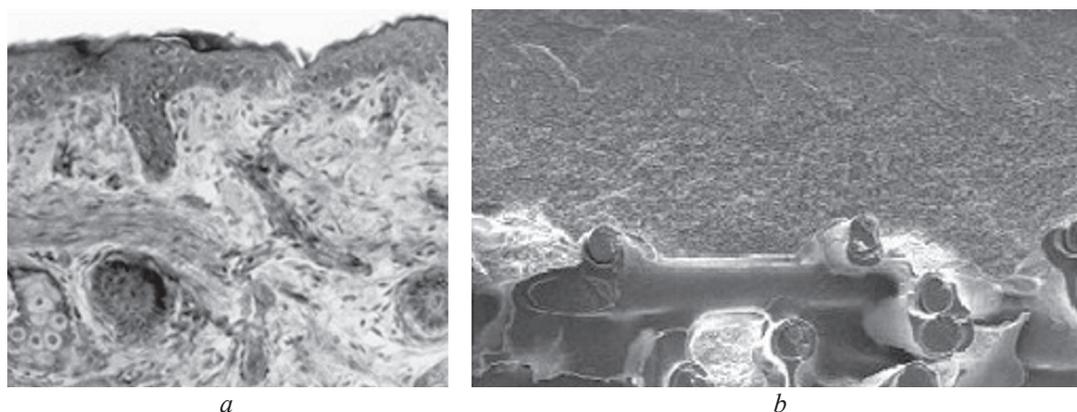


Рис. 2. Фотографии: *a* — кожи, *b* — синтетической мембраны Strat-M, в разрезе [2, 8].

Fig. 2. Sectional view of: *a* — the skin, *b* — the Strat-M synthetic membrane [2, 8].

и подкожную клетчатку. Кожа содержит различные фосфолипиды и керамиды, которые придают ей гидрофобные свойства. Аналогично этому, пористая структура мембраны пропитана смесью синтетических липидов с вкраплениями белков, подобных белкам кожи. Общая толщина мембраны составляет приблизительно 300 мкм, что в среднем соответствует толщине кожного лоскута (рис. 2) [2, 8].

В качестве биологической тест-системы использовали лоскуты неконсервированной кожи кролика с предварительно удаленным волосным покровом. После эвтаназии животного проводили забор лоскута кожи в области живота, затем удаляли гиподерму.

#### **Исследование скорости диффузии в ячейках Франца**

Диффузию иммуномодулятора из ТТС через неконсервированную кожу кролика *in vitro* или мембрану изучали в стеклянных диффузионных ячейках Франца. Кожу или мембрану, на которую сверху помещали ТТС, фиксировали между фланцами донорской и приемной камер диффузионной ячейки. Приемную камеру заполняли физиологическим раствором. Ячейку помещали в анализатор диффузии, где её термостатировали при температуре 32 °С при постоянном перемешивании (400 об/мин). Отбор проб проводили из стеклянного патрубка приемной камеры. Концентрацию иммуномодулятора в полученных растворах изучали, используя метод УФ-спектрофотометрии в диапазоне длин волн 350 – 200 нм с максимумом спектра поглощения при 297 ± 2 нм [9].

В качестве отрицательного контроля использовали раствор из приемной камеры диффузионной

ячейки при аппликации плацебо на кожу или мембрану. Тот же раствор с добавлением известного количества ЛВ использовали как положительный контроль.

#### **Расчет параметров диффузии ЛВ Галавит® из ТТС через мембрану/кожу**

Концентрацию раствора лекарственного вещества (*C*) в приемной камере диффузионной ячейки определяли по формуле:

$$C = \frac{AC_k}{A_k}, \quad (1)$$

где *A* — оптическая плотность исследуемого раствора; *C<sub>k</sub>* — концентрация калибровочного раствора ЛВ Галавит® (10 мкг/мл); *A<sub>k</sub>* — оптическая плотность калибровочного раствора (0,311).

Далее рассчитывали количество ЛВ Галавит® (*X*), перешедшего в раствор:

$$X = \frac{CV}{1000}, \quad (2)$$

где *C* — концентрация ЛВ Галавит®, мкг/мл; *V* — объем образца, мл; 1000 — фактор пересчета мг в мкг.

Скорость диффузии ЛВ (*v*) вычисляли по формуле:

$$v = \frac{X_{24} - X_4}{20}, \quad (3)$$

где *X<sub>4</sub>*, *X<sub>24</sub>* — количество ЛВ Галавит®, перешедшего в приемную камеру диффузионной ячейки за 4 и 24 часа эксперимента соответственно; 20 — отрезок времени от 4 до 24 ч эксперимента.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью стандартного паке-

Таблица 4

Количественный выход ЛВ Галавит® из эмульсионных ТТС ( $n = 15$ ) через мембрану Strat-M

Table 4

Quantitative output of drug Galavit® from emulsion TTS ( $n = 15$ ) through the Strat-M membrane

		Номер эмульсионной композиции					
		1	2	3	4	5	6
Масса ЛВ Галавит®, мг		1,37	1,43	0,90	0,40	0,60	0,90
прошедшее через мембрану	%	29,8 ± 7,1	31,0 ± 5,6	19,0 ± 4,0	8,0 ± 2,1	14,0 ± 3,7	20,0 ± 5,2

Таблица 5

Время расслоения и размер частиц эмульсионных композиций

Table 5

The time of separation and the particle size of emulsion compositions

Номер эмульсионной композиции	Время расслоения, мин	Размер частиц, мкм	Медиана, мкм ( $n = 5$ )
1	90 – 95	0,1 – 1,0	0,39 ± 0,01
2	40 – 44	0,1 – 1,2	0,52 ± 0,02

та Microsoft Excel 2007. Кроме того, использовали двусторонний t-критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$  [10].

## Результаты и обсуждение

Главным критерием оценки результатов диффузии *in vitro* при использовании синтетической и биологической тест-систем служило количество лекарственного вещества, вышедшего из ТТС и прошедшего в приемную камеру диффузионной ячейки через мембрану или кожу.

### Исследование диффузии лекарственного вещества Галавит® из ТТС на синтетической тест-системе

Было проведено исследование выхода ЛВ Галавит® из эмульсионных ТТС шести различных составов через мембрану Strat-M за 24 часа аппликации (табл. 4). Каждая ТТС содержала 4,6 мг Галавит®.

Как видно из табл. 4 из ТТС Галавит® с составами №1 и №2 в приемные камеры диффузионных ячеек через мембрану перешло примерно 30% лекарственного вещества. Данный результат является хорошим показателем выхода ЛВ для трансдермальных терапевтических систем. При исследовании других составов результат диффузии составил от 8 до 20 %.

В соответствии с выбранным критерием оценки исследуемых трансдермальных терапевтиче-

ских систем из шести эмульсионных композиций были отобраны две для дальнейших испытаний на биологической тест-системе.

### Исследование стабильности эмульсионных композиций

Стабильность эмульсионной композиции является важным технологическим параметром при изготовлении ТТС.

Результаты определения времени расслоения эмульсионных композиций и размеров частиц исследуемых составов представлены в табл. 5.

Как видно из табл. 5, у эмульсионного состава 1 время расслоения больше (90 – 95 мин), чем у состава 2 (40 – 44 минуты) при одинаковых условиях проведения исследований.

Размер частиц эмульсионной композиции 1 варьируется от 0,1 до 1,0 мкм, в то время как эмульсия 2 имеет более крупные частицы, достигающие размера 1,2 мкм, что так же подтверждается большим значением медианы (0,52 мкм по сравнению с 0,39 для эмульсии 1).

### Исследование диффузии лекарственного вещества Галавит® из ТТС на биологической тест-системе *in vitro*

В каждом эксперименте по изучению диффузии через неконсервированную кожу кролика *in vitro* исследовали 5 образцов ТТС одного состава. Для каждого состава ТТС было проведено по 3 эксперимента.

Таблица 6

Количественный выход ЛВ Галавит® из эмульсионных ТТС через неконсервированную кожу кролика

Table 6

Quantitative output of drug Galavit® from emulsion TTS ( $n = 15$ ) through non-preserved rabbit skin

Состав ТТС	Масса, мг ( $n = 5$ )			Масса средняя, мг ( $n = 15$ )	Диффузия через кожу, %
	Номер эксперимента				
	1	2	3		
№ 1	$2,7 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,4$	58 – 71
№ 2	$2,1 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,4$	$1,8 \pm 0,6$	$2,1 \pm 0,4$	39 – 50
$p$	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,01$		

В табл. 6 представлены результаты расчета массы лекарственного вещества, прошедшего через кожу за 24 ч аппликации ТТС.

Как видно из табл. 6 в трех экспериментах с использованием кожных лоскутов трех кроликов масса ЛВ, диффундировавшего через кожу из ТТС с эмульсией №1 достоверно больше при 5% уровне значимости, чем из ТТС с эмульсией № 2.

Масса ЛВ, прошедшего через кожу из ТТС Галавит® за 24 часа аппликации, для первой эмульсии составила 58 – 71 % от заложенного количества ЛВ в форме и 39 – 50 % для второй. Учитывая собственный многолетний опыт работы в области создания и исследования трансдермальных терапевтических систем, можно отметить, что такой показатель выхода ЛВ из ТТС через неконсервированную кожу кролика *in vitro* является очень высоким.

На рис. 3 представлены графики зависимости количества лекарственного вещества, прошедшего

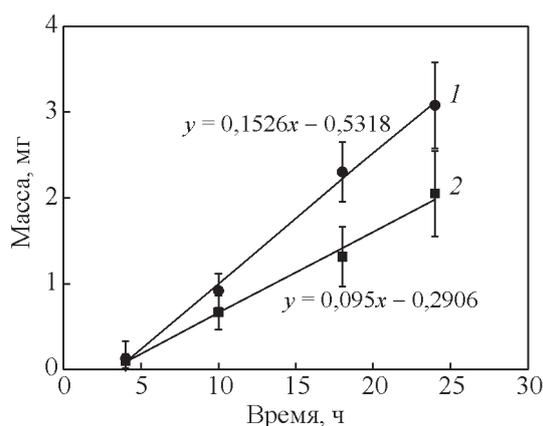


Рис. 3. Диффузия ЛВ Галавит® через неконсервированную кожу кролика *in vitro*

Fig. 3. *In vitro* diffusion of drug Galavit® through non-preserved rabbit skin.

через кожу кролика из ТТС с эмульсионными композициями 1 и 2, от времени аппликации.

Как видно из рис. 3, скорость накопления ЛВ Галавит® в приемной камере диффузионной ячейки остается постоянной как для первого, так и для второго состава ТТС на протяжении времени от 4 до 24 ч эксперимента. Средняя скорость диффузии ЛВ через кожу для состава 1 равна 0,153 мг/ч, а для состава 2 — 0,095 мг/ч. При такой скорости диффузии Галавит® из ТТС площадью 1 см<sup>2</sup> в приемную камеру ячейки поступает в среднем  $3,1 \pm 0,4$  г и  $2,1 \pm 0,4$  мг лекарственного вещества для составов 1 и 2 соответственно.

Следует отметить, что использование неконсервированной кожи кролика позволило выявить различие в скорости диффузии ЛВ из ТТС двух составов, в отличие от синтетической тест-системы. Таким образом, биологическая тест-система оказалась более чувствительной к составам эмульсионных композиций.

### Выводы

При скрининговой оценке новых рецептов для трансдермальных терапевтических систем предложено использовать синтетическую тест-систему, представленную мембраной Strat-M. В данной работе это позволило нам из шести исследуемых составов эмульсионных композиций для ТТС выбрать лучшие два с практически одинаковыми показателями диффузии ЛВ Галавит® для дальнейшего исследования на биологической тест-системе. В обоих случаях выход лекарственного вещества составил в среднем 30 % от заложенного количества в форме.

Использование лоскута неконсервированной кожи кролика позволило выявить достоверно значимую разницу в показателях диффузии ЛВ из ТТС Галавит® между двумя исследуемыми составами. Масса ЛВ, прошедшего через кожу из ТТС Галавит® за 24 часа аппликации, для первой эмульсии составила 58 – 71 % и 39 – 50 % для второй.

Показана необходимость последовательного использования синтетической и биологической тест-систем на начальных стадиях разработки трансдермальных терапевтических систем на примере ТТС Галавит®. Это дает возможность значительно сократить трудоемкость и расходы на этапе доклинических исследований новых ТТС.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

## Литература

1. Tsakovska I., Pajeva I., Sharif M. A., Alov P., Fioravanzo E., Kovarich S., Worth A.P., Richarz A.-N., Yang C., Mostrag-Szlichtyng A., Mark T.D. Quantitative structure-skin permeability relationships. *Cronine Toxicology*, 2017, v. 387, pp. 27 – 42.
2. Janani N.S., Kumar G.B., Balakrishna P., Sruthi D., Kumar M.S., Mantry S. A review of Strat-M membrane. *International journal of innovative pharmaceutical sciences and research*. 2014; no. 2(4), pp. 962 – 977.
3. Кузнецова Е.Г., Курьлева О.М., Саломатина Л.А., Белов В.Ю., Севастьянов В.И. Исследование возможности трансдермального переноса циклоsporина на модельных средах. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*, 2019, № 1, с. 135 – 141.
4. Кузнецова Е.Г., Курьлева О.М., Саломатина Л.А., Севастьянов В.И. Экспериментальное исследование диффузии иммуномодулятора Галавит® в модельной системе. *Разработка и регистрация лекарственных средств*, 2020, № 9(1), с. 92 – 97.
5. Орел А.А. Обзор российского рынка иммуномодуляторов. *Смоленский медицинский альманах*, 2016, с. 174 – 177.
6. Государственный реестр лекарственных средств 2019 г.
7. Gross-Rother J., Herrmann N., Blech M., Pinnapireddy S.R., Garidel P., Bakowsky U/Int J. The application of STEP-technology® for particle and protein dispersion detection studies in biopharmaceutical research. *Pharm.*, 2018, v. 543 (1 – 2), pp. 257 – 268. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.03.050.
8. Haqa A., Goodyear B., Ameena D., Joshic V., Michniak-Kohn B. Strat-M® synthetic membrane: Permeability comparison to human cadaver skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018, v. 547, pp. 432 – 437, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.012.
9. Штанько И.Н., Хонина Т.Г. Разработка и валидация методики количественного определения галавита в мягкой лекарственной форме на гидрофильной кремнийсодержащей основе. *Фундаментальные исследования*, 2013, № 10 – 11, с. 2491 – 2494.
10. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. М.: Издательский дом “ГЭОТАР-МЕД”, 2001, 256 с.
11. Quantitative structure-skin permeability relationships. *Toxicology*, 2017, vol. 387, pp. 27 – 42.
12. Janani N.S., Kumar G.B., Balakrishna P., Sruthi D., Kumar M.S., Mantry S. A review of Strat-M membrane. *International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014, no. 2(4), pp. 962 – 977.
13. Kuznecova E.G., Kuryleva O.M., Salomatina L.A., Belov V.YU., Sevast'yanov V.I. Issledovanie vozmozhnosti transdermal'nogo perenosa ciklosporina na model'nyh sredah [Investigation of the possibility of cyclosporine transdermal transfer on models]. *Vestnik Transplantologii i Iskusstvennykh Organov — Vestnik Journal of Transplantation and Artificial Organs*, 2019, no. 1, pp. 135 – 141.
14. Kuznecova E.G., Kuryleva O.M., Salomatina L.A., Sevast'yanov V.I. Eksperimental'noe issledovanie diffuzii immunomodulyatora Galavit® v model'noj sisteme [Experimental investigation diffusion of immunomodulator Galavit® in a model system]. *Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv — Drug development and registration*, 2020, no. 9(1), pp. 92 – 97.
15. Orel A.A. Obzorrossijskogo rynka immunomodulyatorov [Overview of the Russian market of immunomodulators]. *Smolenskij medicinskij al'manah — Smolensk medical almanac*, 2016, pp. 174 – 177.
16. State Register of Medicines RF 2019.
17. Gross-Rother J., Herrmann N., Blech M., Pinnapireddy S.R., Garidel P., Bakowsky U/Int J. The application of STEP-technology® for particle and protein dispersion detection studies in biopharmaceutical research. *Pharm.*, 2018, vol. 543(1 – 2), pp. 257 – 268, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.03.050.
18. Haqa A., Goodyear B., Ameena D., Joshic V., Michniak-Kohn B. Strat-M® synthetic membrane: Permeability comparison to human cadaver skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018, vol. 547, pp. 432 – 437, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.06.012.
19. Shtan'ko I.N., Honina T.G. Razrabotka i validaciya metodiki kolichestvennogo opredeleniya galavita v myagkoj lekarstvennoj forme na gidrofil'noj kremnijsoderzhashchej osnove [Development and validation of a method for the quantitative determination of galavit in a soft dosage form on a hydrophilic silicon-containing base]. *Fundamental'nye issledovaniya — Fundamental research*, 2013, no. 10 – 11, pp. 2491 – 2494.
20. Sergienko V.I., Bondareva I.B. *Matematicheskaya statistika v klinicheskikh issledovaniyah* [Mathematical statistics in clinical trials]. Moscow, GEOTAR-MED Publ., 2001, 256 p.

## References

Статья поступила в редакцию — 27.02.2020 г.  
после доработки — 11.03.2020 г.  
принята к публикации — 12.03.2020 г.

**Кузнецова Евгения Геннадьевна** — Федеральное государственное бюджетное учреждение “Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова” Министерства Здравоохранения Российской Федерации (123182, Москва, ул. Щукинская, 1), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, специалист в области биомедицинских технологий и систем доставки лекарственных веществ. E-mail: kuzneugenia@gmail.com.

**Курьева Ольга Михайловна** — Федеральное государственное бюджетное учреждение “Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова” Министерства Здравоохранения Российской Федерации (123182, Москва, ул. Щукинская, 1), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, специалист в области биомедицинских технологий и систем доставки лекарственных веществ. E-mail: olga-ms13@yandex.ru.

**Саломатина Лидия Анатольевна** — Федеральное государственное бюджетное учреждение “Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова” Министерства Здравоохранения Российской Федерации (123182, Москва, ул. Щукинская, 1), старший научный сотрудник, специалист в области биотехнологий и систем доставки лекарственных веществ. E-mail: liansa@mail.ru.

**Севастьянов Виктор Иванович** — Федеральное государственное бюджетное учреждение “Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова” Министерства Здравоохранения Российской Федерации (123182, Москва, ул. Щукинская, 1), доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом биомедицинских технологий и тканевой инженерии, специалист в области биоматериаловедения, тканевой инженерии и регенеративной медицины, систем доставки лекарственных веществ. E-mail: viksev@yandex.ru.

---

## The combined use of synthetic and biological test-systems in the development of transdermal therapeutic systems

E. G. Kuznetsova, O. M. Kuryleva, L. A. Salomatina, V. I. Sevastianov

There are several approaches to modeling percutaneous diffusion of drugs and predicting its effectiveness in the development of new transdermal therapeutic systems (TTS): mathematical models, synthetic and biological test-systems. The aim of the work is to substantiate the need to combined use synthetic and biological test systems at the initial stages of the transdermal therapeutic systems development using the Galavit® immunomodulator TTS as an example. Six batches of laboratory samples of TTS were made with a different composition of excipients in emulsions. Transdermal therapeutic systems formulations were screened on the synthetic test-system represented by Strat-M membrane (Merck Millipore). Based on the results of the study, two formulations with the best data of the drugs amount passed into the receiving chamber of the Franz diffusion cell were selected. Amount of drugs in the form were amounted 30 %. The use of non-preserved rabbit skin was revealed significant differences in this indicator for TTS of these two compositions. The mass of drugs passing through the skin from the TTS Galavit® for 24 hours of application for the first emulsion was 58 – 71 % and was 39 – 50 % for the second. The biological test-system turned out to be more sensitive to the emulsion compositions. Thus, the combined use of synthetic and biological test-systems makes it possible to significantly reduce the complexity and costs of preclinical studies of new TTS.

**Keywords:** synthetic Strat-M membrane, non-preserved skin, transdermal therapeutic systems, Galavit®, percutaneous diffusion.

**Kuznetsova Eugenia** — Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health of the Russian Federation. (Moscow, 123182, Schukinskaya street, 1), PhD (Biology), senior scientific researcher; specialist in biomedical technology, drug delivery systems. E-mail: kuzeugenia@gmail.com.

**Kuryleva Olga** — Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health of the Russian Federation. (Moscow, 123182, Schukinskaya street, 1), PhD (Medicine), senior scientific researcher; specialist in biomedical technology, drug delivery systems. E-mail: olga-ms13@yandex.ru.

**Salomatina Lidiya** — Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health of the Russian Federation. (Moscow, 123182, Schukinskaya street, 1), senior scientific researcher; specialist in biotechnology, drug delivery systems. E-mail: liansa@mail.ru.

**Sevastianov Viktor** — Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health of the Russian Federation. (Moscow, 123182, Schukinskaya street, 1), Dr. Sci. (Biology), professor, head of laboratory tissue engineering and delivery systems, specialist in biomaterials, tissue engineering and regenerative medicine, drug delivery systems. E-mail: viksev@yandex.ru.