



УДК 543.54:547

## ДИФФУЗИЯ ЦЕФАЗОЛИНА ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

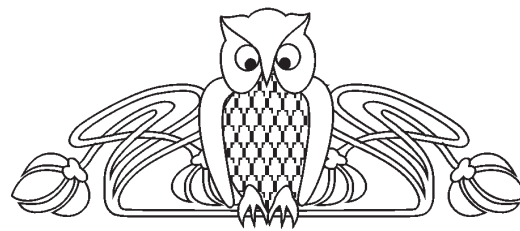
Р. К. Чернова<sup>1</sup>, Е. И. Селифонова<sup>1</sup>, О. С. Евсеева<sup>1</sup>,  
С. Ю. Доронин<sup>1</sup>, О. Ю. Алешкина<sup>2</sup>, Т. М. Загоровская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: selfif-ei@yandex.ru

<sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет

E-mail: aleshkina\_ou@mail.ru



Кожа является основным покровом тела, она выполняет множество важнейших функций в жизнедеятельности человека. Массоперенос лекарств через кожу происходит через поры потовых и сальных желез. Изучали мембранный перенос цефалоспоринового антибиотика первого поколения – цефазолина. Его молекулярные размеры соизмеримы с размером пор кожной мембраны. Наблюдается высокое значение коэффициентов диффузии ( $10^{-5} - 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ ), что говорит о «течении» вещества через поры мембраны. С ростом температуры проницаемость кожной мембраны понижается.

**Ключевые слова:** кожная мембрана, поры, антибиотик, цефазолин, диффузия, проницаемость, мембранный перенос.

### Cefazolin Diffusion Through Membranes of Human Skin

R. K. Chernova, E. I. Selifonova, O. S. Evseeva,  
S. Yu. Doronin, O. Yu. Aleshkina, T. M. Zagorovskaya

The skin is the main body of the cover, it performs many important functions in human life. Mass transport of drugs through the skin occurs through pores of the sweat and sebaceous glands. We studied the membrane transport of the first-generation cephalosporin antibiotic – cefazolin. Its molecular size is commensurate with the pore size of the membrane skin. There is a high value of the diffusion coefficients ( $10^{-5} - 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ ), which means «flow» of a substance through the pores of the membrane. The skin permeability of the membrane decreases with increasing temperature.

**Key words:** skin membrane pores antibiotic cefazolin, diffusion, permeability, membrane transport.

Исследование процесса массопереноса в мембранах имеет важное теоретическое и прикладное значение. Особенно это относится к биомембранам, имеющим сложное строение и специфический механизм трансмембранного транспорта биологически активных веществ.

Одной из таких мембран, выполняющих специфическую функцию в живом организме, является кожа.

Будучи внешним покровом тела, кожа имеет важное значение в поддержании гомеостаза и предохраняет организм от воздействий извне. Составляющие кожу ткани, такие как многослойный, ороговевающий и железистый эпителии, рыхлая волокнистая и плотная неоформленная

соединительные ткани, а также многочисленные нервные окончания обеспечивают защитную, экскреторную, кроведепонирующую, теплообменную функции кожи, функцию органа чувств и др. [1].

С транспортом лекарственных веществ через кожу сталкиваются постоянно при лечении кожных заболеваний и внутренних органов, их профилактике с помощью аппликаций и электрофоретического (фонофоретического) введения препаратов, а также при использовании косметических веществ.

Транспорт лекарственных средств через кожу *in vivo* осуществляется, согласно современным представлениям, с участием выводных протоков потовых желез, небольшая часть проходит через сальные железы, межклеточные щели эпидермиса, а также с участием липидного и белкового каналов электромиграционной диффузии ионов [2]. Во всех случаях имеет место сложный, многостадийный разнофакторный механизм, требующий более детального изучения.

В общем случае массоперенос веществ через мембраны может быть обусловлен разницей концентраций, температуры или давления по обе стороны мембраны. Движущей силой этого процесса является различие в величине химических потенциалов, причем механизм переноса зависит не только от размера пор, но и от pH, температуры, давления растворов, размеров, гидрофильных (гидрофобных) свойств, концентрации молекул диффундирующего вещества, ионной силы и состава среды. В настоящей работе исследуется массоперенос антибиотика цефазолина через мембраны кожи человека *in vitro*. Рассматривается упрощенная модель, исключая стадию мембранного транспорта через липидные и белковые каналы и основанная на переносе цефазолина в основном через протоки потовых желез, которые согласно [3] обеспечивают в основном транспорт лекарственных веществ через кожу при электрофорезе.



Перенос вещества через мембрану обычно осуществляется поэтапно: диффузия через пограничный слой, адсорбция на поверхности мембраны, перенос через мембрану, десорбция из мембраны, диффузия через пограничный слой с противоположной стороны мембраны [4].

Для количественного описания массопереноса и оценки объемных характеристик кожной мембраны нами определялся коэффициент диффузии ( $D$ ) – основной параметр, определяющий селективность ионного транспорта и коэффициент проницаемости ( $P$ ) – количество вещества, проходящего через единицу поверхности мембраны в единицу времени.

#### Экспериментальная часть, материалы, аппаратура

Для проведения экспериментов была собрана установка, представленная на рис. 1.

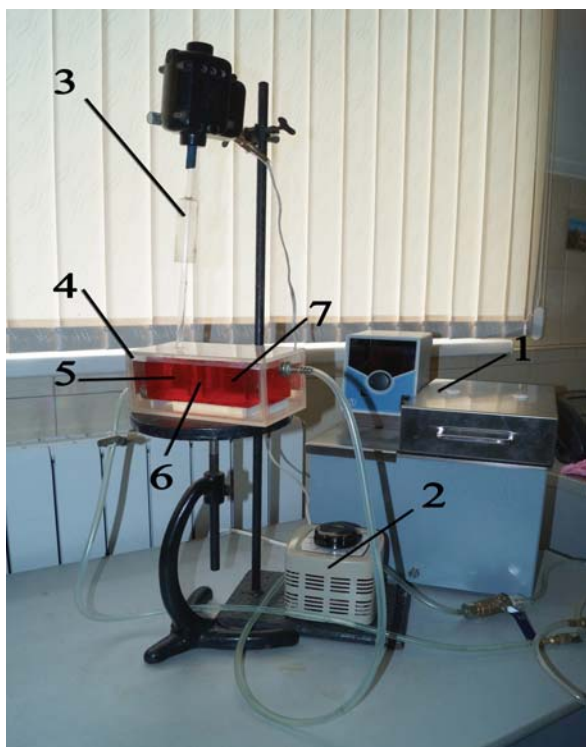
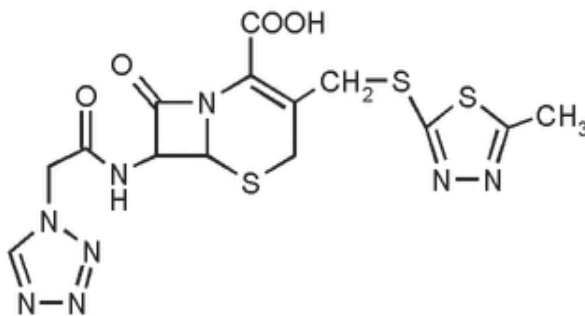


Рис. 1. Установка для изучения массопереноса цефазолина через кожную мембрану: 1 – термостат, 2 – латр, 3 – мешалка, 4 – ячейка, 5 – камера-источник, 6 – мембрана (кожа), 7 – камера-приемник

Исследование процессов диффузионного массопереноса проводили в специально сконструированной ячейке (рис. 1, 4), состоящей из двух отделений: в одном (источник) находился цефазолин в физрастворе (рис. 1, 5) (150 мл исходного  $2,1 \cdot 10^{-3}$  М раствора цефазолина идет на заполнение камеры-источника), в другом (при-

емник) – физраствор (рис. 1, 7). Между ними закреплялась кожа – мембрана (рис. 1, 6).

Известно, что возможно прохождение через мембрану (в том числе кожу) веществ, соизмеримых с размером пор мембраны. Учитывая, указанный фактор, а также антибактериальные свойства и способность образовывать анионную форму в среде физиологического раствора, изучался транспорт цефалоспоринового антибиотика первого поколения широкого спектра бактерицидного действия. Он активен в отношении грамположительных бактерий: *Staphylococcus* spp. (штаммы, продуцирующие и не продуцирующие пенициллиназу), *Streptococcus* spp. (в том числе *Streptococcus pneumoniae*), *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus anthracis*; грамотрицательных бактерий: *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. Активен также в отношении *Spirochaetaceae*, *Leptospira* spp. Не активен в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, индол-положительных штаммов *Proteus* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, анаэробных бактерий.



Исследовались образцы кожи человека размером  $3,2 \times 3,5$ , толщиной 4 мм, которые хранились в растворе формалина, физиологическом растворе (в холодильнике), в замороженном состоянии.

Исходный  $2,1 \cdot 10^{-3}$  М раствор цефазолина готовили, помещая в мерную колбу на 200 мл цефазолина и доведя до метки 0,9% раствором NaCl. В камерах ячейки цефазолин находился в физиологическом растворе.

Измерения концентраций цефазолина в источнике и в приемнике проводили через 5, 10, 15 ... 40 мин после начала эксперимента при диффузионном массопереносе. Определение концентрации цефазолина в приемнике проводили на спектрофотометре SHIMADZU UV-2550 (Kyoto, Japan) при  $\lambda = 271$  нм в соответствии с положением максимумов спектров их индивидуальных растворов (рис. 2).

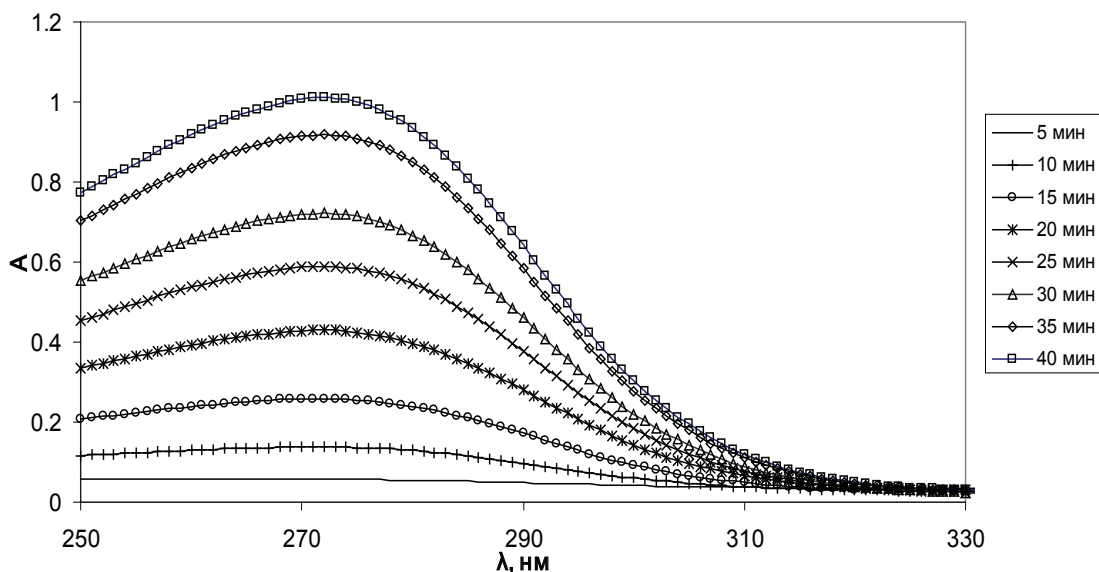


Рис. 2. Спектры поглощения цефазолина в приемнике через разные интервалы времени при 39,5 °С

Для построения градуировочной характеристики (рис. 3) из исходного раствора пипеткой отбирали 2,5 мл и переносили в колбу на 100 мл, доводили до метки 0,9% раствором NaCl. После перемешивания получали раствор цефазолина  $5,3 \cdot 10^{-5} \text{M}$ . Путем последовательного разбавления в 2, 4, 8, 16 раз получали серию растворов

$5,3 \cdot 10^{-5} \text{M}$ ,  $2,6 \cdot 10^{-5} \text{M}$ ,  $1,3 \cdot 10^{-5} \text{M}$ ,  $6,6 \cdot 10^{-6} \text{M}$ ,  $3,3 \cdot 10^{-6} \text{M}$  (растворы № 1, 2, 3, 4, 5).

Проводили исследования переноса ионов цефазолина через кожные мембраны при варьировании температуры (36,5 °С, 37,5 °С, 38,5 °С, 39,5 °С, 40,5 °С), времени и разных способов консервации препаратов.

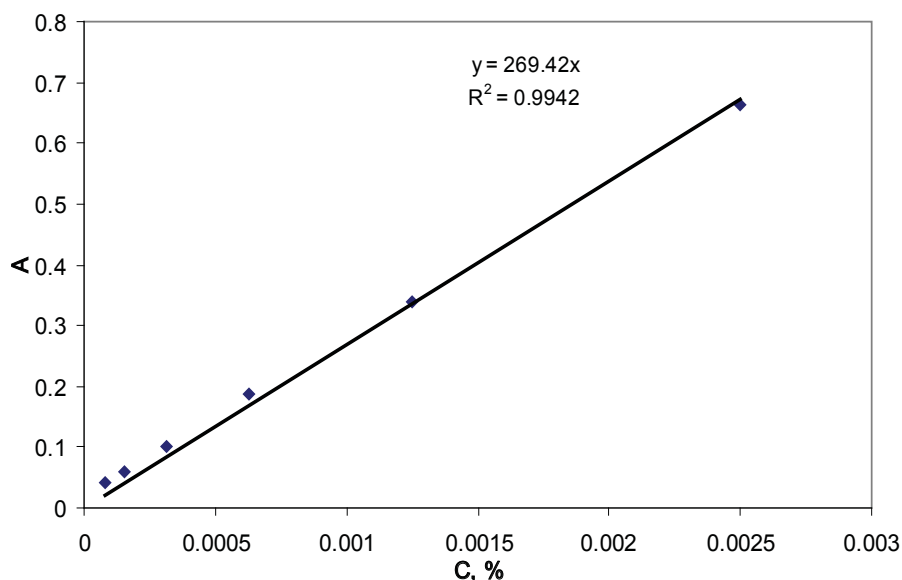


Рис. 3. Градуировочный график для определения концентрации цефазолина в приемнике

Кинетика переноса ионов цефазолина через кожную мембрану при разных значениях температуры представлена на рис. 4. Можно отметить некоторую тенденцию снижения скорости переноса с ростом температуры в изученном интер-

вале (36,5–40,5 °С). На рис. 5 представлены те же кривые в логарифмических координатах.

Данные для расчета величины коэффициента проницаемости и коэффициента диффузии приведены в табл. 1.

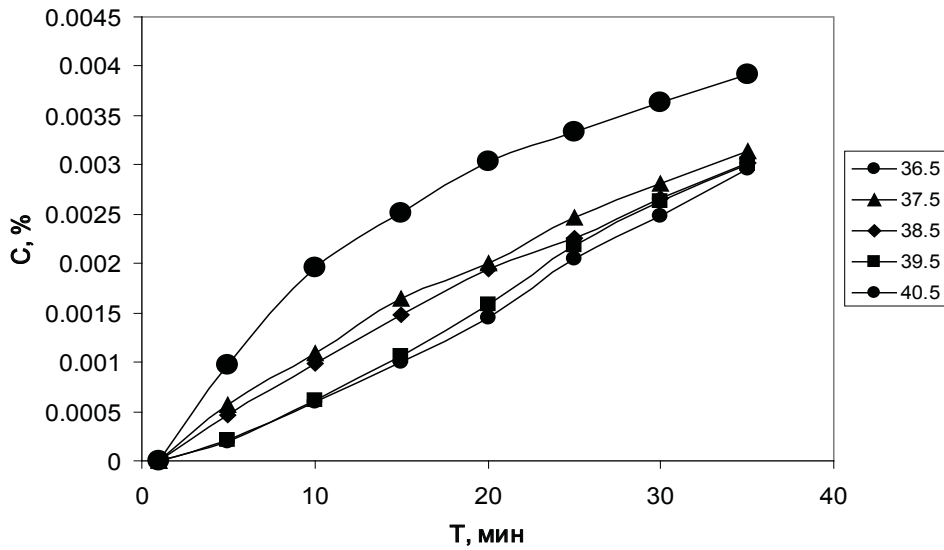


Рис. 4. Кинетика переноса анионов цефазолина через кожную мембрану. Зависимость  $c$  от  $t$

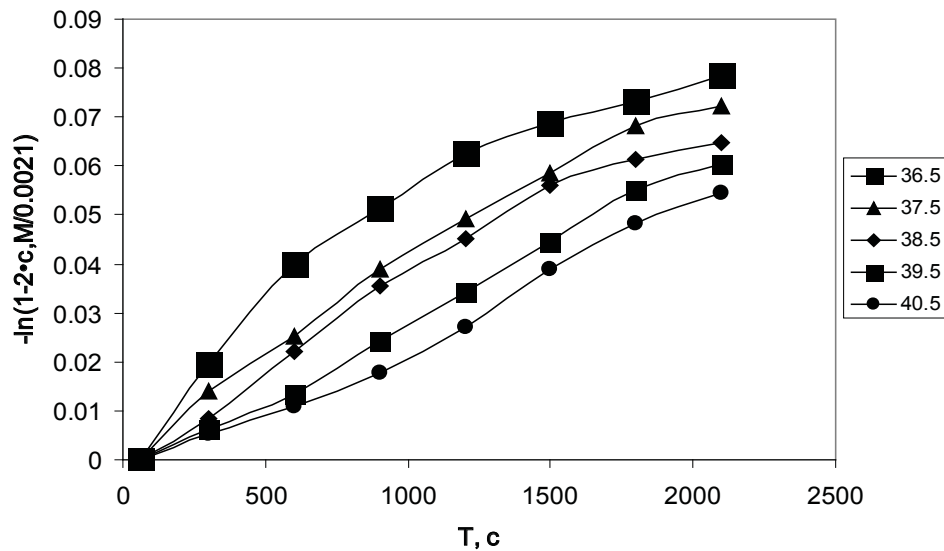


Рис. 5. Кинетика переноса анионов цефазолина через кожную мембрану. Зависимость  $-\ln(1-2 \cdot c(t)/c(0))$  от  $t$

Таблица 1

Зависимость величин оптической плотности (A) и концентрации цефазолина в приемнике от времени при разных температурах

Температура в диффузионной ячейке 36.5 °C							
$t$ , мин	5	10	15	20	25	30	35
A	0.072	0.145	0.274	0.367	0.572	0.683	0.814
$c$ , М	$5.61 \cdot 10^{-6}$	$1.13 \cdot 10^{-5}$	$2.13 \cdot 10^{-5}$	$2.86 \cdot 10^{-5}$	$4.46 \cdot 10^{-5}$	$5.32 \cdot 10^{-5}$	$6.34 \cdot 10^{-5}$
$-\ln(1-2 \cdot c(t)/c(0))$	0.0054	0.0108	0.0205	0.0276	0.0434	0.0520	0.0623
Температура в диффузионной ячейке 37.5 °C							
$t$ , мин	5	10	15	20	25	30	35
A	0.262	0.526	0.675	0.816	0.897	0.952	1.054
$c$ , М	$2.04 \cdot 10^{-5}$	$4.1 \cdot 10^{-5}$	$5.26 \cdot 10^{-5}$	$6.36 \cdot 10^{-5}$	$6.99 \cdot 10^{-5}$	$7.42 \cdot 10^{-5}$	$8.21 \cdot 10^{-5}$
$-\ln(1-2 \cdot c(t)/c(0))$	0.0196	0.0398	0.0514	0.0624	0.0689	0.0732	0.0814



Окончание табл. 1

Температура в диффузионной ячейке 38.5°C							
<i>t</i> , мин	5	10	15	20	25	30	35
A	0.073	0.24	0.428	0.54	0.666	0.759	0.846
<i>c</i> , M	$5.69 \cdot 10^{-6}$	$1.87 \cdot 10^{-5}$	$3.33 \cdot 10^{-5}$	$4.21 \cdot 10^{-5}$	$5.19 \cdot 10^{-5}$	$5.91 \cdot 10^{-5}$	$6.59 \cdot 10^{-5}$
$-\ln(1-2 \cdot c(t)/c(0))$	0.0054	0.0180	0.0323	0.0409	0.0507	0.0579	0.0648
Температура в диффузионной ячейке 39.5°C							
<i>t</i> , мин	5	10	15	20	25	30	35
A	0.057	0.138	0.258	0.429	0.588	0.721	0.917
<i>c</i> , M	$4.44 \cdot 10^{-6}$	$1.07 \cdot 10^{-5}$	$2.01 \cdot 10^{-5}$	$3.34 \cdot 10^{-5}$	$4.58 \cdot 10^{-5}$	$5.62 \cdot 10^{-5}$	$7.14 \cdot 10^{-5}$
$-\ln(1-2 \cdot c(t)/c(0))$	0.0042	0.0103	0.0193	0.0323	0.0446	0.0550	0.0705
Температура в диффузионной ячейке 40.5°C							
<i>t</i> , мин	5	10	15	20	25	30	35
A	0.068	0.186	0.386	0.633	0.766	0.939	1.011
<i>c</i> , M	$5.3 \cdot 10^{-6}$	$1.45 \cdot 10^{-5}$	$3.01 \cdot 10^{-5}$	$4.93 \cdot 10^{-5}$	$5.97 \cdot 10^{-5}$	$7.31 \cdot 10^{-5}$	$7.88 \cdot 10^{-5}$
$-\ln(1-2 \cdot c(t)/c(0))$	0.0051	0.0139	0.0291	0.0481	0.0585	0.0722	0.0779

Найденные параметры переноса ионов цефазолина через мембрану кожи приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Коэффициенты диффузии (*D*) и проницаемости (*P*) ионов цефазолина при разных температурах**

Параметр	Температура, °C				
	36,5	37,5	38,5	39,5	40,5
<i>P</i> , см/с	$6,99 \cdot 10^{-9}$	$2,58 \cdot 10^{-9}$	$7,82 \cdot 10^{-10}$	$3,00 \cdot 10^{-10}$	$4 \cdot 10^{-10}$
<i>D</i> , см <sup>2</sup> /с	$8,48 \cdot 10^{-5}$	$3,24 \cdot 10^{-5}$	$9,48 \cdot 10^{-6}$	$3,64 \cdot 10^{-6}$	$3,44 \cdot 10^{-6}$

Полученные, достаточно высокие значения коэффициентов диффузии для кожных мембран свидетельствуют скорее не о диффузии, а о «течении» ионов цефазолина через поры кожи, что согласуется с известными литературными данными [3], а также с аномальным понижением скорости диффузии с ростом температуры, которое может быть обусловлено набуханием кожи и, как следствие, уменьшением размера пустот (пор, сальных желез, межклеточных щелей эпидермиса). Изучение диффузионного массопереноса ионов цефазолина через мембраны кожи, хранившейся в течение нескольких недель в хлороформе, спирте, физрастворе, показало, что в случае таких растворителей как хлороформ и спирт проводимость

кожи резко снижается (обезвоживание и сжатие пор). Наилучшие результаты можно получить при хранении препаратов кожи в замороженном состоянии (–20 °C) с последующим медленным размораживанием перед проведением эксперимента.

**Список литературы**

1. Волкова О. В., Елецкий Ю. К. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас. М., 1996. 292с.
2. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. М., 2004. 469 с.
3. Улащик В. С. Физико-фармакологические методы лечения и профилактики. Минск, 1979. 223 с.
4. Морф В. Принципы работы ионселективных электродов и мембранный транспорт. М., 1985. 280 с.