

# Исследование фармакокинетики 1% крема Ламизил® при местном применении

S.Hill, R.Thomas, S.Smith, A.Finlay

An investigation of the pharmacokinetics of topical Lamisil® 1% cream

S.HILL, R.THOMAS, S.SMITH, A.FINLAY

об авторах:

S.Hill — Department of Dermatology, University of Wales College of Medicine, Heath Park, Cardiff CF4 4XN, U.K.

R.Thomas — Department of Dermatology, University of Wales College of Medicine, Heath Park, Cardiff CF4 4XN, U.K.

S.Smith — Medical Department, Sandoz Products Limited, Frimley Business Park, Frimley, Camberley, Surrey GU16 5SG, U.K.

A.Finlay — Department of Dermatology, University of Wales College of Medicine, Heath Park, Cardiff CF4 4XN, U.K.

Для оценки фармакокинетики 1% крема Ламизил® проведено исследование с участием 20 добровольцев. Испытуемых рандомизировали на группы получающих лечение 1% кремом Ламизил® путем нанесения препарата на кожу спины в течение 1 дня либо 3, 5 или 7 дней подряд.

В одном из обработанных участков кожи верхней части спины брали до 5 биоптатов в разное время, в том числе во время лечения и после терапии. Уровень препарата Ламизил® в этих биоптатах анализировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Исследование показало, что увеличение числа нанесений крема от 1 до 7 не вызывало значительного увеличения его максимальной концентрации ( $C_{max}$ ) в роговом слое.

Однако при этом возрастало общее количество препарата Ламизил® в роговом слое, в результате чего Ламизил® сохранялся в коже в течение более продолжительного периода после прекращения лечения.

При 7-дневной терапии Ламизил® выявлялся в течение 7 дней после прекращения нанесения крема, при этом концентрация препарата была значительно выше концентрации, вызывающей гибель обычных возбудителей поверхностных дерматомикозов.

Это исследование показало значительные возможности дерматомикозов 1% кремом Ламизил®.

**Ключевые слова:** **крем Ламизил, фармакокинетика, короткий курс лечения.**

Twenty volunteers were entered into a study to investigate the pharmacokinetics of Lamisil® 1% cream. The subjects were randomized to receive Lamisil® 1% cream applied to the skin on the back on 1 day, or on 3, 5 or 7 consecutive days.

Up to five biopsies were taken at a site on the upper back at various time-points both during treatment and after treatment. Lamisil® levels in the biopsies were analyzed using HPLC.

The study showed that increasing the number of applications from one to seven did not significantly increase the peak concentration ( $C_{max}$ ) in the stratum corneum.

However, there was an increase in the total amount of Lamisil® found in the stratum corneum resulting in Lamisil® being detected for longer periods after cessation of therapy.

Treatment for 7 days resulted in Lamisil® still being detectable 7 days after cessation of therapy, and the drug concentration was significantly higher than the concentration killing the common causative organisms of superficial dermatomycoses.

This study indicates a significant potential for short-term treatment with Lamisil® 1% cream in superficial dermatomycoses.

**Key words:** **pharmacokinetics of Lamisil, short-term treatment.**

■ Ламизил® является синтетическим противогрибковым средством из нового класса соединений — аллиламинов. Исследованиями *in vitro* установлено, что Ламизил® оказывает первичное фунгицидное действие в отношении дерматофитов и ряда дрожжевых и плесневых грибов [1, 2]. В клинических исследованиях было показано, что препарат Ламизил® для перорального и местного применения высокоэффективен в отношении возбудителей поверхностных дерматофитий [3, 4].

В двойном слепом исследовании, в котором сравнивали эффективность 1% крема Ламизил® и 1% крема Клотримазол при лечении дерматофитии стоп в течение 4 нед., было показано, что у пациентов, леченных препаратом Ламизил®, негативация микологических посевов наблюдалась значительно раньше, чем у больных, получавших лечение Клотримазолом [5].

В недавно проведенных плацебо-контролируемых исследованиях 14-дневного курса лечения дерматофитии стоп [6] и 7-дневного курса лечения кандидоза кожи, микоза гладкой кожи и микоза паховых складок [7] была показана очень высокая эффективность препарата Ламизил® при применении его в течение короткого периода.

Эти результаты в сочетании с известными данными о фунгицидной активности препарата Ламизил® позволяют предположить, что при лечении указанных данных заболеваний Ламизил® можно использовать даже в течение более короткого периода.

Для завершения клинических испытаний в отношении минимальной продолжительности лечения микоза кожи было проведено настоящее исследование, в котором сравнивалась фармакокинетика 1% крема Ламизил® при нанесении на кожу спины здоровых добровольцев в течение 1, 3, 5 или 7 дней подряд.

Цель исследования: определить, увеличивается ли концентрация Ламизила® в роговом слое при повторном его нанесении, как долго и в какой концентрации он сохраняется после прекращения лечения и влияет ли на эти показатели продолжительность терапии.

## Методы

### *Испытуемые*

В исследовании приняли участие 10 здоровых мужчин и 10 здоровых женщин в возрасте от 18 лет и старше (медиана возраста 40 лет, диапазон от 22 до 62 лет), давших информированное согласие в письменной форме. Критериями исключения из исследования были: заболевания кожи, усиленный рост волос на коже спины, любые системные заболевания, использование любых местных средств, наличие в анамнезе реакции на препараты для местного применения, беременность и кормление грудных детей. Кроме того, обязательным условием было использование женщинами репродуктивного возраста надежных средств контрацепции.

Испытуемых рандомизировали на 4 группы по 5 человек в каждой в соответствии со сроком лечения. На поверхности спины каждого испытуемого размечали два участка размером 12 × 8 см и наносили на эти участки 0,5 г 1% крема Ламизил® один раз в день в течение 1, 3, 5 или 7 дней подряд. Крему давали подсохнуть в течение 30 мин.

### *Поверхностная биопсия кожи*

Поверхностную биопсию кожи (ПБК) осуществляли на участке кожи площадью от 6 до 10 см<sup>2</sup> по методике (R. Marks, R. Dawber) [8].

Перед первым нанесением препарата ПБК проводили у всех испытуемых. У добровольцев с 3-дневным режимом лечения биоптаты брали 2 раза — перед нанесением препарата и на 3-й день лечения, у испытуемых с 5-дневным режимом лечения — непосредственно перед нанесением, на 3-й и 5-й дни лечения, а у испытуемых с 7-дневным режимом лечения — перед нанесением, на 3, 5 и 7-й дни лечения.

У всех испытуемых ПБК проводили через 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 и 168 ч. (7 дней) после последнего нанесения препарата.

На каждом участке в каждой временной точке брали не более пяти образцов подряд. Самый верхний слой обозначен как уровень 1, а самый нижний — уровень 5.

### *Анализ образцов*

Образы помещали в 2 мл метанола на 2 ч. Затем их вынимали и промывали еще одной порцией метанола объемом 2 мл для полной экстракции тербинафина. Метанольные фракции объединяли, упаривали, а остаток повторно растворяли в 0,2 мл подвижной фазы. Затем объем 0,1 мл использовали для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Концентрацию препарата Ламизил® измеряли и интегрировали с помощью системы сбора данных JCL 6000 на ПК (Jones Automotography). Минимальная определяемая концентрация составляла 0,18 нг/см<sup>2</sup>, а концентрация, определяемая с точностью 5%, была меньше 0,48 нг/см<sup>2</sup>.

При анализе результатов для исследователя была закрыта информация относительно режима лечения после того, как была проведена последняя биопсия у последнего испытуемого.

### *Статистические методы*

Общую концентрацию препарата в роговом слое рассчитывали путем суммирования по отдельным уровням рогового слоя в каждой временной точке у каждого испытуемого.

*Расчет площади под кривыми концентрация — время (AUC)*

AUC для интервала от 0 до 168 ч. (AUC<sub>0-168 ч.</sub>) рассчитывали для каждого уровня и для суммарной концентрации у каждого испытуемого с использованием метода трапеции.

### Определение максимальной концентрации ( $C_{max}$ )

Строили графики концентрации лекарства в роговом слое в зависимости от времени, и максимальную концентрацию лекарства ( $C_{max}$ ) определяли визуально для каждого уровня рогового слоя и для всего рогового слоя у каждого испытуемого.

### Расчет периода полувыведения ( $t_{1/2}$ )

Концентрации препарата в роговом слое для нисходящей части кривой зависимости концентрации от времени (т.е. от 4 до 168 ч. после последнего нанесения препарата) трансформировали логарифмически (натуральные логарифмы) и строили график зависимости от времени величины  $\log \times$  концентрации лекарства.

Почти во всех случаях обнаруживались два экспоненциальных компонента. В первый из них (фаза I выведения) входили точки, полученные через 4, 8 и 12 ч. Остальные точки (т.е. через 24 ч. и позже) составляли фазу II выведения. Поэтому, чтобы получить константу скорости выведения, модели линейной регрессии строили для точек 4, 8 и 12 ч.

Период полувыведения ( $t_{1/2}$ ) рассчитывали по константе скорости выведения, пользуясь следующим уравнением:

$$t_{1/2} = \frac{\log_2}{\text{Константа скорости выведения}}$$

## Результаты

После нанесения на кожу максимальная концентрация препарата Ламизил® достигалась через 4 ч. (как на разных уровнях рогового слоя, так и в роговом слое в целом).

Средние значения общей концентрации препарата в роговом слое ( $C_{max}$ ) представлены в таблице.

Фармакокинетические характеристики для суммарной концентрации препарата в роговом слое		
Группа лечения	$C_{max}$ нг/см <sup>2</sup>	AUC <sub>0-t</sub> нг/см <sup>2</sup> /ч
<b>1-й день</b>		
Среднее значение	949	9 694
Стандартное отклонение	105	1 234
<b>3-й день</b>		
Среднее значение	966	10 321
Стандартное отклонение	32	948
<b>5-й день</b>		
Среднее значение	1 049	12 544
Стандартное отклонение	57	816
<b>7-й день</b>		
Среднее значение	1 094	13 492
Стандартное отклонение	26	695

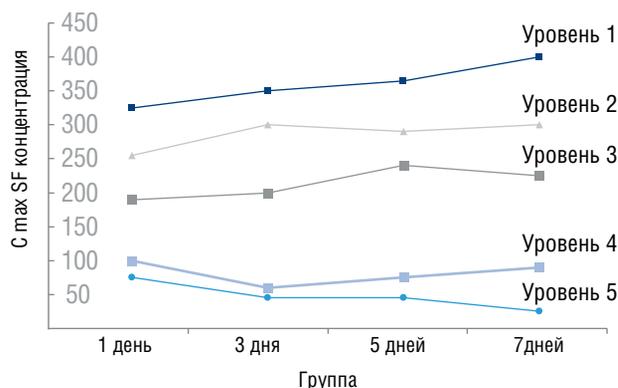
Средние значения  $C_{max}$  в роговом слое для уровней 1—5 показаны на рис. 1.

Как видно на рис. 1, величина  $C_{max}$  в роговом слое уменьшается по направлению от верхнего уровня к нижнему. В уровнях 1—3 величина  $C_{max}$  возрастает с увеличением продолжительности лечения. Однако в уровне 4 такой зависимости не наблюдается, а в уровне 5 обнаруживается обратная тенденция более высокая концентрация препарата в группе с однодневным лечением.

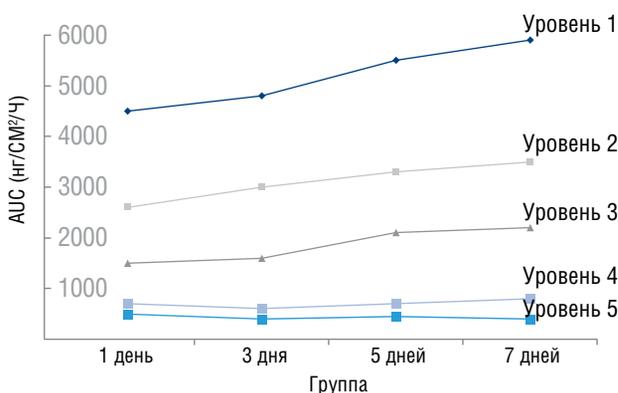
Средние значения AUC<sub>0-168 ч.</sub> для суммарной концентрации препарата в роговом слое представлены в таблице.

Средние значения AUC<sub>0-168 ч.</sub> в пяти уровнях приведены на рис. 2.

Представленные на рис. 2 данные свидетельствуют об отчетливом росте как суммарной концентрации



**Рис. 1. Максимальная концентрация тербинафина ( $C_{max}$  в нг/см<sup>2</sup>) по уровням в 4 группах лечения**



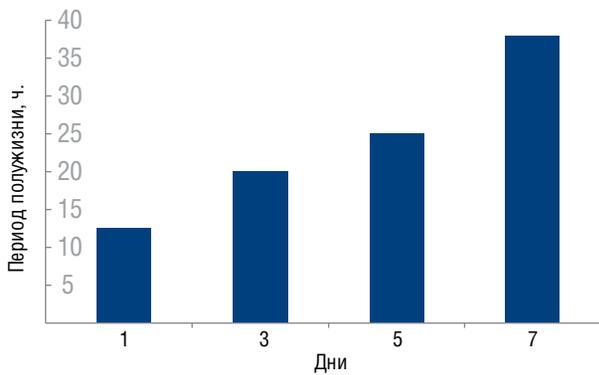
**Рис. 2. Средние показатели AUC (в нг/см<sup>2</sup>/ч) по уровням для 4 групп лечения**

препарата, так и концентрации на уровнях 1—4 по мере увеличения длительности лечения. В уровне 5 не обнаружено такой тенденции к увеличению концентрации препарата.

Оказалось, что двумерная кинетическая модель наилучшим образом аппроксимирует данные отдельных пациентов. По этим данным был рассчитан период полувыведения препарата (рис. 3).

Средние общие концентрации тербинафина в роговом слое представлены на рис. 4.

Представленные на рис. 4 данные свидетельствуют об увеличении времени, необходимого для полного выведения препарата из рогового слоя, при увеличении продолжительности лечения.



**Рис. 3. Период полувыведения препарата (в ч.) в разные сроки лечения**

### Обсуждение

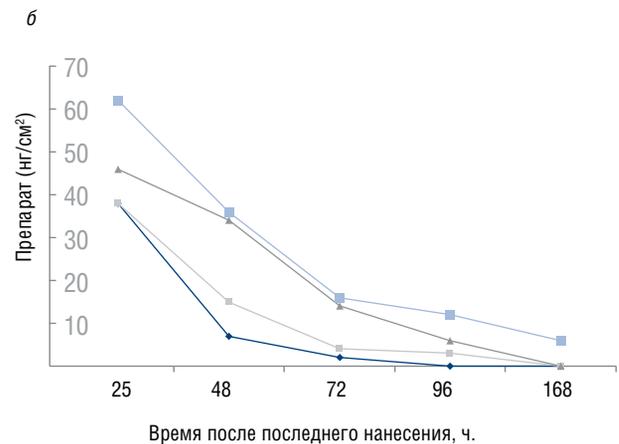
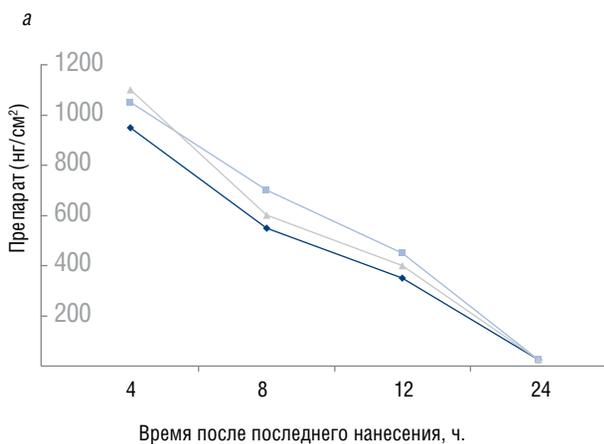
Основной целью настоящего исследования было определение увеличения концентрации препарата в роговом слое при повторном нанесении 1% крема Ламизил®.

Данные о максимальной концентрации ( $C_{max}$ ) препарата в роговом слое показали, что увеличение числа нанесений тербинафина от 1 до 7 повышает его максимальную концентрацию в роговом слое.

Однако при семи нанесениях препарата Ламизил® средняя его концентрация увеличивалась только на 15% по сравнению с однократным нанесением.

Как видно на рис. 1, изменения максимальной концентрации на уровне 1 отражают динамику суммарной концентрации. Однако по мере продвижения вглубь рогового слоя зависимость концентрации препарата от продолжительности лечения становится менее отчетливой, а на самом нижнем уровне — 5 эта зависимость становится обратной. При этом самая высокая концентрация обнаруживалась при однодневном нанесении препарата. Это можно отчасти объяснить трудностью получения воспроизводимых образцов на самом нижнем уровне биоптата, так как большая часть рогового слоя изымается при ПБК у испытуемых с более продолжительным периодом лечения. Следовательно, на уровне 5 воспроизводимость качества биоптатов может уменьшаться, особенно у испытуемых, леченных в течение большего времени, что и могло вызвать вариацию этих результатов.

Отмечена отчетливая зависимость общей концентрации препарата и концентраций на уровнях 1, 2 и 3 от продолжительности лечения (см. рис. 2). На уровнях 4 и 5 эта зависимость была менее выраженной.



**Рис. 4. Средняя суммарная концентрация препарата (в нг/см<sup>2</sup>) в роговом слое для каждой группы: а — фаза выведения I; б — фаза выведения II**

Величина  $AUC_{0-t}$  во всем роговом слое после семи нанесений препарата была примерно на 40% выше, чем после одного нанесения.

Дополнительной целью исследования было определить, в течение какого времени и в какой концентрации препарат Ламизил® сохраняется в роговом слое после прекращения лечения и влияет ли на этот показатель длительность лечения.

Период полувыведения возрастал с увеличением числа нанесений препарата (см. рис. 3). После 7 дней лечения он увеличивался в 3 раза по сравнению с однодневным лечением. Этот вывод подтверждается данными, касающимися полного выведения препарата из рогового слоя.

После однократного нанесения препарат Ламизил® не обнаруживался в роговом слое через 96 ч. (4 дня) (см. рис. 4 б).

После 3 и 5 дней лечения препарат Ламизил® не определялся через 96 и 168 ч. (7 дней) после лечения.

Однако после 7 дней лечения препарат можно было обнаружить даже через 168 ч. (7 дней) после прекращения лечения.

Дальнейшие вопросы возникли в связи с данными, получение которых не входило в исходные цели, но которые, однако, заслуживают обсуждения.

Выведение препарата является двухфазным процессом с быстрым выведением за первые 12 ч. и постепенным выведением в течение последующих 1—7 дней. Такая же кинетика была обнаружена и при местном нанесении других соединений [9].

Это может быть связано с тем, что в начале лечения после нанесения препарата роговой слой перенасыщен препаратом Ламизил®. Сверхнасыщающая концентрация теряется очень быстро (фаза выведения I). При этом в коже остается меньшее количество препарата, которое связано с липидными компонентами рогового слоя и удерживается ими. Это количество теряется более медленно (фаза выведения II).

Во время фазы выведения препарат Ламизил® сначала теряется из нижних уровней. Это может происходить двумя путями:

- а) диффузия из нижних уровней рогового слоя на верхние уровни по градиенту концентрации;
- б) путем замещения клеток нижних уровней рогового слоя из зачаточного слоя и отшелушивания клеток верхних уровней рогового слоя.

Важно также определить клиническую значимость этих данных. Известно, что фунгицидная концентрация препарата Ламизил®, необходимая для гибели обычных дерматофитов кожи, таких как *T. rubrum*, составляет примерно 0,003 мкг/мл [1]. Мы можем сравнить уровни, обнаруженные в роговом слое в настоящем исследовании, с фунгицидными концентрациями, используя следующие допущения:

примерная толщина 1 см<sup>2</sup> поверхности при ПБК = 2,5 мкм (0,0025 мм).

Следовательно, объем ПБК = 10 · 10 · 0,0025 мм = 0,25 мм<sup>3</sup>;

значит, 1 нг/см<sup>2</sup> ПБК = 1 нг в 0,25 мм<sup>3</sup>, или 4 нг в 1 мм<sup>3</sup>.

Так как 1000 мм<sup>3</sup> = 1 мл,

то 1 нг/см<sup>2</sup> ПБК = 4 мкг/мл.

Следовательно, концентрация 1 нг/см<sup>2</sup> примерно в 1000 раз выше известной фунгицидной концентрации для *T. rubrum*, а концентрация 0,33 нг/см<sup>2</sup>, обнаруживаемая через 7 дней после прекращения лечения, все еще в 100 раз больше концентрации, вызывающей гибель гриба.

Следует также отметить, что минимальная концентрация, которую может обнаружить этот метод, составляет примерно 0,2 нг/см<sup>2</sup> (или 0,8 мкг/мл). Это не исключает возможности, что фунгицидная концентрация препарата Ламизил® сохраняется в роговом слое в течение большего времени, чем показано в настоящем исследовании.

Полученные нами данные позволяют сделать вывод о том, что увеличение числа нанесений препарата не приводило к статистически значимому возрастанию концентрации препарата Ламизил® в роговом слое, но значительно увеличивало суммарную концентрацию препарата. Последнее приводило к тому, что обнаруживаемая концентрация препарата Ламизил® сохранялась в роговом слое в течение большего времени после прекращения лечения.

Уровень препарата Ламизил®, обнаруженный после прекращения лечения, был значительно выше, чем известные концентрации тербинафина, которые вызывают гибель дерматофитов. Это указывает на значительные потенциальные возможности кратковременного лечения или использования меньших концентраций местного препарата Ламизил® при лечении поверхностных микозов. ■

---

## Литература

1. Petranyi G., Meingassner J.G. Mieth H. Antifungal activity of the allylamine derivative terbinafine in vitro. *Ancimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 1365—8.
2. Clayton Y.M. In vitro activity of terbinafine. *Clin Exp Dermatol* 1989; 14: 101—3.
3. Villars V., Jones T.C. Clinical efficacy and tolerability of terbinafine (Lamisil) — a new topical and systemic fungicidal drug for treatment of dermatomycoses. *Clin Exp Dermal* 1989; 14: 124—7.
4. Smith E.S., Zaias N., Savin R. Topical terbinafine in tinea pedis. *J Clin Pharmacol* 1987; 27: 720.
5. Jones T.C., Villars V. Terbinafine. In: *Chemotherapy antifungal Diseases (Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 96)* (Ryley J.F., ed.). Berlin: Springer-Verlag, 1990: 483—501.
6. Evans E.G.V., James I.G.V., Joshipura R.C. Two-week treatment of tinea pedis with terbinafine (Lamisil) 1% cream: a placebo-controlled study. *J Dermatol Treat* 1990; 2: 95—7.
7. Zaias N. The efficacy of 1% terbinafine cream in cutaneous candidiasis and tinea corporis/cruris once a day applications for one week (a double-blind study comparing active cream to vehicle cream). In: *Clinical Dermatology in the Year 2000 (programme and abstracts of symposium. London, 22—25 May 1990)* (Greaves M.W., ed.). London: COT Presentations, 1990: 53.
8. Marks R., Dawber R.P.R. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br J Dermatol* 1971; 84: 117—23.
9. Watson W.S., Finlay A.Y. The effect of the vehicle formulation on the stratum corneum penetration characteristics of clobetasol 17-propionate in vivo. *Br J Dermatol* 1999; 118: 523—30.