



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas



**Lietuvos sveikatos mokslų universitetas**  
Farmacijos fakultetas

# **Mikroadatų pritaikymas anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbai į odą gerinti**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Rugilė Dragūnaitė**

Projekto autorė

**Prof. dr. Vitalis Briedis**

Vadovas

---



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas

**Lietuvos sveikatos mokslų universitetas**  
Farmacijos fakultetas

# **Mikrodatų pritaikymas anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbai į odą gerinti**

Baigiamasis magistro projektas  
Medicininė chemija (6281CX001)

---

**Rugilė Dragūnaitė**

Projekto autorė

**Prof. dr. Vitalis Briedis**

Vadovas

**Lekt. dr. Modestas Žilius**

Recenzentas

---



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas

**Lietuvos sveikatos mokslų universitetas**  
Farmacijos fakultetas

Rugilė Dragūnaitė

## **Mikrodatų pritaikymas anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbai į odą gerinti**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Rugilės Dragūnaitės, baigiamasis projektas tema „Mikrodatų pritaikymas anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbai į odą gerinti“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

---

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

---

(parašas)

Dragūnaitė, Rugilė. Mikroadatų pritaikymas anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbai į odą gerinti. Baigiamasis magistro projektas / prof. dr. Vitalis Briedis; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Farmacijos fakultetas.

Medicininė chemija: chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: mikroadatos, oda, anestetikai, lidokainas, tetrakainas.

Kaunas, 2019. 45 p.

## Santrauka

**Darbo tikslas:** iširti ir įvertinti mikroadatų, kaip vaistinių medžiagų tiekimo sistemų, panaudojimą, siekiant pagerinti jų tiekimą ir skvarbą pro odą, *ex vivo* sąlygomis.

**Darbo uždaviniai:** sumodeliuoti mikroadatas ir įvertinti jų sukeltas odos mikropazaidas; atlikti skvarbos tyrimus *ex vivo* ir įvertinti anestezuojančių vaistinių medžiagų (lidokaino ir tetrakaino) skvarbą į odą iš skirtingų nešiklių; naudojant FT-IR spektroskopijos metodą, įvertinti galimą sąveiką tarp lidokaino ir tetrakaino.

**Darbo metodika:** skvarbos į odą *ex vivo* tyrimai atlikti naudojant *Bronaugh* tipo pratikas difuzines celes, kurios dedamos ant specifinio termostatuojamo metalinio bloko palaikant cirkuliuojančią vandens srovę. Tyrimams su žmogaus oda gautas Kauno regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimas (2016-07-14, Nr. BE-2-41).

**Darbo rezultatai:** naudojant  $P_{200} \times A_{600}$ ,  $P_{300} \times A_{400}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatas, dermoje nustatytas didesnis tiek lidokaino, tiek tetrakaino kiekis, lyginant su kiekiu epidermyje, kai tyrimui naudojamas 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinis mišinio tirpalas. Lidokaino kiekis odos sluoksniuose, naudojant 7 proc. lidokaino tirpalą, buvo mažesnis, lyginant su kontrole, o tetrakaino kiekis, naudojant 7 proc. tetrakaino tirpalą parodė reikšmingą ( $p < 0,05$ ) padidėjimą. Įvertinus gautus rezultatus, mikroadatų plotas prie pagrindo įtakos skvarbai neturėjo. Lyginant tarpusavyje lidokaino ir tetrakaino skvarbas pro odą nustatyta, kad geresnė skvarba pasiekama iš lidokaino ir tetrakaino etanolinio mišinio. Atlikus tyrimą su mikroadatomis padengtomis vaistine medžiagos plėvele nustatyta, kad medžiagų prasiskverbimas į odą nepagerėjo. Šiuos rezultatus galėjo lemti tai, kad odoje buvo nepakankamas vandens kiekis, kas galėjo sutrukdyti efektyviam medžiagų tirpimui ir jų migracijai į odos sluoksnius. Kita priežastis – susiformavęs nepakankamas medžiagos kiekis ant mikroadatų. Tai galėjo nulemti mažus lidokaino ir tetrakaino prasiskverbimo odoje kiekius.

**Išvados:** gauti tyrimų rezultatai suteikė papildomų įžvalgų apie lidokaino ir tetrakaino skvarbą naudojant mikroadatas, kaip skvarbos skatinimo sistemas. Nustatyta, kad naudojant eutektinį 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinį tirpalą kaip mišinį yra pasiekama geresnė anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbą į odą. Formuojant vaistinės medžiagos plėveles ant mikroadatų iš lidokaino ir tetrakaino etanolinių ir vandenininių tirpalų ir nustatant jų kiekius odoje, konstatuota, kad prasiskverbimas į odą nepagerėjo.

Dragūnaitė, Rugilė. Application of Microneedles to Improve Penetration of Anesthetic Drugs into the Skin. Master's Final Degree Project / prof. PhD. Vitalis Briedis; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian University of Health Science.

Medicinal chemistry: Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: microneedles, skin, anesthetics, lidocaine, tetracaine.

Kaunas, 2019. 45 pages.

### Summary

**Aim of the thesis:** to investigate and evaluate the use of microneedles as the supply systems of medicinal substances in order to improve their supply and penetration through the skin in *ex vivo* conditions.

**Tasks of the thesis:** to model the microneedles and evaluate the microdisturbances caused by them; to conduct penetration studies *ex vivo* and to evaluate the permeability of anesthetic medicinal substances (lidocaine and tetracaine) to the skin from different carriers; using the method of FT-IR spectroscopy, to evaluate potential interactions between lidocaine and tetracaine.

**Methodology of the thesis:** *ex vivo* skin penetration studies have been performed using *Bronaugh* type flux diffusers. For research on human skin, a permit was received from Kaunas Regional Biomedical Research Ethics Committee (2014-07-14, No. BE-2-41).

**Results of the thesis:** using microneedles of  $P_{200} \times A_{600}$ ,  $P_{300} \times A_{400}$  or  $P_{300} \times A_{600}$  in size, higher levels of both lidocaine and tetracaine were found in the dermis compared to the epidermis, when ethanol blend of 7 percent lidocaine and 7 percent tetracaine was used for the study. The amount of lidocaine in the skin layers using the 7 percent lidocaine solution was lower compared to the control, and the tetracaine content using the 7 percent tetracaine solution showed a significant increase ( $p < 0.05$ ). After evaluating the results, the area of the microneedles at the base had no effect on penetration. Comparing the permeation of lidocaine and tetracaine through the skin, it was found that a better penetration rate was obtained from the mixture of lidocaine and tetracaine ethanol. The study with microneedles coated with a drug substance film, showed that the penetration of substances into the skin did not improve. These results could be due to the lack of water in the skin, which could have prevented the effective solubility of the substances and their migration to the skin layers. Another reason – insufficient amount of the substance formed on the microneedles. This could have resulted in small amounts of lidocaine and tetracaine penetration in the skin.

**Conclusions:** the results of the study provided additional insights into the penetration rate of lidocaine and tetracaine using microneedles as penetration promotion systems. It has been found that using an eutectic 7 percent lidocaine and 7 percent tetracaine ethanol blend provides better penetration of anesthetic medicinal substances into the skin. The formation of a drug substance film from ethanol and aqueous solutions of lidocaine and tetracaine on the microneedles and determination of their amounts in the skin was found not to improve skin penetration.

## Turinys

Santrumpų sąrašas .....	7
Įvadas.....	8
1. Literatūros apžvalga .....	9
1.1. Odos anatomija ir funkcijos .....	9
1.2. Odos pažeidimai.....	11
1.3. Vaistinių medžiagų ir odos sąveika.....	12
1.4. Vaistinių medžiagų pernašos pro odą keliai .....	14
1.5. Aktyvi skvarba pro odą.....	14
1.6. Mikroadatos .....	15
1.6.1. Klasifikacija .....	16
1.6.2. Mikroadatų naudojimas ir taikymas .....	17
1.6.3. Lidokaino tiekimas pro odą naudojant mikroadatas.....	17
1.6.4. Tetrakaino tiekimas pro odą naudojant mikroadatas .....	18
1.6.5. Ateities perspektyvos.....	18
1.7. Literatūros apžvalgos apibendrinimas .....	18
2. Medžiagos ir tyrimų metodai .....	20
2.1. Tyrimo objektas.....	20
2.2. Reagentai ir tirpikliai .....	20
2.3. Įranga ir priemonės .....	20
2.4. Etanolinių lidokaino ir tetrakaino mišinių gamyba .....	21
2.5. Mikroadatos su vaistinės medžiagos plėvele .....	21
2.6. Mikroadatų ir odos mikroskopavimas .....	22
2.7. Lidokaino ir tetrakaino skvarbos į odą ex vivo tyrimai.....	23
2.8. Skvarbos srauto skaičiavimas .....	25
2.9. Junginių struktūros pokyčių tyrimas naudojant FT-IR.....	25
2.10. Statistinė duomenų analizė .....	26
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	27
3.1. Lidokaino ir tetrakaino skvarba į žmogaus odą.....	27
3.1.1. Lidokaino ir tetrakaino skvarba į odą iš etanolinio mišinio tirpalo .....	27
3.1.2. Lidokaino skvarba į odą iš lidokaino etanolinio tirpalo .....	31
3.1.3. Tetrakaino skvarba į odą iš tetrakaino etanolinio tirpalo.....	33
3.1.4. Vaistinių medžiagų skvarba į odą naudojant padengtas mikroadatas .....	34
3.1.5. Lidokaino ir tetrakaino skvarbos pro odą tyrimų iš eksperimentinių tirpalų apibendrinimas .....	37
3.2. Tiriamųjų junginių struktūros analizė naudojant FT-IR spektroskopiją .....	39
Išvados .....	42
Literatūros sąrašas .....	43

## Santrumpų sąrašas

°C	laipsniai Celsijaus
FT-IR	<i>Furjė</i> transformacijos infraraudonoji spinduliuotė
IR	infraraudonoji spinduliuotė
logP	n-oktanolio/vandens pasiskirstymo koeficientas ( <i>angl.</i> n-octanol/water partition coefficient)
MA	sutr. mikroadatos
MVA	JAV maisto ir vaistų administracija
p	duomenims patikrinti taikomas statistinio reikšmingumo lygmuo
pH	vandenilio potencialas
proc.	procentai
PVA	polivinilo alkoholis ( <i>angl.</i> poly (vinyl alcohol)
pvz.	sutr. pavyzdžiui
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Science</i> – Statistinių duomenų apdorojimo kompiuterinė programa
t	<i>Stjudento</i> kriterijus
TVP	transderminis vandens praradimas
UV	ultravioletinė spinduliuotė

## Įvadas

Vaistinės medžiagos į organizmą patenka naudojant įvairias vaisto formas, tokias kaip tabletės, tirpalai arba injekcijos, naudojant hipodermines adatas. Nors šie vaistinių medžiagų vartojimo būdai yra efektyvūs, tačiau turi savo privalumų ir trūkumų. Enteralinis (per virškinamąjį traktą) vaistų vartojimas yra neskausmingas, tačiau, kai kurie junginiai (pvz.: baltymai, peptidai ar DNR) negali būti šiuo būdu tiekiami į organizmą, nes patekę į virškinamąjį traktą inaktyvuojami dėl fermentų veiklos ir suskyla, taip pat kaip ir kepenyse. Kiti junginiai blogai absorbuojasi pro žarnyno epitelį, dėl to junginio biologinis pasisavinimas tampa mažesnis [43]. Baltymai, peptidai ar DNR tiekiami į organizmą naudojant hipodermines adatas, kurios veiksmingai ir efektyviai gali pernešti vaistines medžiagas. Nepaisant to, kad hipoderminių adatų naudojimas reikalauja patirties, jos dažnai yra skausmingos, sukeliančios pacientams baimę, nerimą, prastą savijautą [12].

Transderminis vaistinių medžiagų tiekimas yra susijęs su vaistinės medžiagos prisiskverbimu pro odą, tai yra patraukli ir šiuolaikiška alternatyva, išvengiama medžiagų degradacijos virškinamajame trakte ir kepenyse, todėl yra užtikrinamas stipresnis ir ilgesnis vaisto poveikis [38]. Siekiant padidinti odos pralaidumą didelėms ir hidrofilinėms molekulėms, sumažinti hipoderminių adatų sukeliama skausmą, sukurtos mikronų dydžių adatos, vadinamos mikroadatomis (MA), kurios yra pakankamai ilgos, kad pradurtų odos barjerą, bet kartu ir pakankamai trumpos, kad siektų poodiniame sluoksnyje esančias nervų galūnes. Per pastarąjį dešimtmetį sukurta įvairios geometrijos mikroadatų [38]. Atlikti tyrimai *in vivo* ir *in vitro* sąlygomis su odos mėginiais, siekiant įrodyti, kad MA padidina odos pralaidumą daugeliui vaistinių medžiagų, yra saugios naudoti, veiksmingos ir gali būti taikomos klinikiniuose tyrimuose. Ideali mikroadatų, kaip vaistinių medžiagų tiekimo sistema, turi būti saugi, palaikanti tinkamą odos pralaidumą, sukurianti ilgalaikę tirpalo infuziją, sukelti kiek įmanoma mažesnę diskomfortą, bei minimalų skausmą ir dirginimą, būti paprasta, nebrangi ir priimtina pacientams [14,20].

**Projektinio darbo tikslas:** ištirti ir įvertinti mikroadatų, kaip vaistinių medžiagų tiekimo sistemų, panaudojimą, siekiant pagerinti jų tiekimą ir skvarbą pro odą, *ex vivo* sąlygomis.

### Darbo uždaviniai:

1. sumodeliuoti mikroadatas ir įvertinti jų sukeliamas odos mikropažaidas;
2. atlikti skvarbos tyrimus *ex vivo* ir įvertinti anestezuojančių vaistinių medžiagų (lidokaino ir tetrakaino) skvarbą į odą iš skirtingų nešiklių;
3. naudojant FT-IR spektroskopijos metodą, ištirti galimą sąveiką tarp lidokaino ir tetrakaino.



## 1. Literatūros apžvalga

### 1.1. Odos anatomija ir funkcijos

Oda yra didžiausias kūno organas, apimantis maždaug 10–16 % bendro suaugusio žmogaus kūno masės. Pagrindinė odos funkcija yra apsauginė, tai tarsi barjeras tarp kūno ir aplinkos apsaugantis organizmą nuo tiesioginės ultravioletinės (UV) spinduliuotės, cheminių medžiagų, alergenų ir mikroorganizmų. Svarbu paminėti, kad oda turi įtakos homeostazei, reguliuodama kūno temperatūrą ir kraujo slėgį, veikia kaip jutimo organas, sąveikaudamas su aplinka, temperatūra [3,10]. Įskaitant apsaugą nuo išorinių fizinių, cheminių ir biologinių faktorių, oda dalyvauja užkertant kelią vandens nuostoliams iš organizmo ir atlieka termoreguliacijos vaidmenį [28].

Oda suteikia idealią terapinių junginių įvedimo vietą dėl vietinio ir sisteminio poveikio, tačiau yra efektyvus barjeras daugelio junginių prasiskverbimui [3]. Odą sudaro 4 pagrindiniai sluoksniai: raginis sluoksnis, epidermis, derma ir poodinis sluoksnis. Juose lokalizuojasi specifiniai dariniai: prakaito liaukos, plaukų folikulai, kraujagyslės ir kt. Epidermis susideda iš specifinių ląstelių, vadinamų keratinocitais, kurių funkcija yra sintezuoti keratiną – baltymą, palaikantį audinių struktūrinį vientisumą. Vidinis sluoksnis derma, iš esmės susideda iš fibrilinių struktūrinių baltymų, vadinamų kolagenu. Derma yra ant poodinio audinio, kuris sudarytas iš mažų riebalų ląstelių skilčių. Visų šių sluoksnių storis skiriasi, priklauso nuo vietos, kurioje yra (ploniausia – akių vokų oda, storiausia – delnų ir pėdų) [28,32].

Epidermis yra sluoksniuotas, sudarytas iš dviejų tipų ląstelių: keratinocitų (jos sudaro apie 90% epidermio ląstelių) ir dendritinių ląstelių. Pats epidermis dar gali būti skirstomas į keletą sluoksnių (**1 lentelė**): pamatinį sluoksnį, grūdėtąjį, dygliuotąjį, skaidrųjį ir raginį sluoksnį. Kaip nuolat atsinaujinantis darinys, epidermis turi išlaikyti santykinai pastovų ląstelių skaičių, reguliuoti jų sąveikas ir jungtis visą gyvavimo laikotarpį [28,37]. Jame nėra kraujagyslių, todėl ląstelės privalo būti aprūpinamos maistinėmis medžiagomis bei iš jų turi būti pašalinami metabolizmo produktai difuzijos būdu per epidermio–dermos sluoksnį [33].

**1 lentelė.** Epidermio sluoksniai

<b>Pamatinis (bazinis) sluoksnis</b>	Sudarytas iš keratinocitų, kurie yra prisitvirtinę prie pamatinės membranos baltymų – desmosomų. Dėl neefektyvaus keratinocitų prikibimo prie membranos baltymų išsivysto lėtinės pūslių ligos, tokios kaip pūslinė epidermolizė. Epidermio viduje desmosomos veikia kaip molekulinės „kniedės“, jungiančios gretimas keratino ląsteles ir tokiu būdu užtikrina odos struktūros vientisumą. Lagenharso ląstelės – dendritinės, antigeną pristatančios ląstelės. Jos generuojamos kaulų čiulpuose ir migruoja į savo buvimo vietą – pamatinį epidermio sluoksnį. Melanocitai gamina didelės molekulinės masės polimerus – melaninus, kurie atsakingi už odos, plaukų ir akių spalvas. Pagrindinė šio polimero funkcija apsaugoti odą nuo žalingos UV spinduliuotės sugeriant ją, taip sumažinamas laisvųjų radikalų susidarymą baziniame epidermio sluoksnyje. Merkelio ląstelės susietos su nervų galūnėmis ir susitelkę jautriose
--------------------------------------	--

	kūno vietose, jų pagrindinė funkcija susijusi su jutimu [3].
<b>Dygliuotasis sluoksnis</b>	Dygliuotasis epidermio sluoksnis susideda iš keleto sluoksnių keratinocitų susiformavusių ant pamatinio sluoksnio. Šios ląstelės turi išsiplėtusias citoplazmas, kuriose gausu organelių ir tonofilamentų prijungtų desmosomomis. Čia vyksta keratino sintezė [3, 45].
<b>Grūdėtasis sluoksnis</b>	Grūdėtasis sluoksnis sudarytas iš kelių ląstelių storio sluoksnių [3]. Šiame sluoksnyje keratinocitai pradeda plokštėti ir praranda savo branduolius, čia gaminama tarpląstelinė medžiaga, kurioje gausu riebalų [45].
<b>Skaidrusis sluoksnis</b>	Labai plonas ir sunkiai nustatomas sluoksnis [3]. Šis sluoksnis mažina trintį tarp grūdėtojo ir raginio sluoksnių. Čia vyksta ląstelių ragėjimo procesai [45].
<b>Raginis sluoksnis</b>	Išorinis arba raginis sluoksnis pasižymi dideliu tankiu ir mažu hidratacijos lygiu, tačiau tarnauja kaip pagrindinis odos barjeras, reguliuojantis vandens netekimo nuostolius, užkertant kelią potencialiai kenksmingoms medžiagoms ir mikroorganizmams patekti nuo odos paviršiaus [3].

Epidermį nuo dermos atskiria pamatinė membrana. Ši jungiamoji sritis yra gan sudėtingas makromolekulių tinklas, jungiantis tarpinius keratino filamentus su kolageno skaidulomis paviršiniame dermos sluoksnyje. Pagrindinė šios zonos funkcija užtikrinti efektyvų epidermio-dermos ląstelių sukibimą, o defektai susidarę šioje srityje sukelia odos pažeidimus – pūsles [33].

Derma yra 0,5–5 mm storio odos sluoksnis, sudarytas iš: speninės dermos, kuri liečiasi su pamatine membranos zona, šiame sluoksnyje gausu kraujagyslių ir juntamųjų nervų galūnėlių, ir tinklinės dermos, kuri yra pagrindinė dermos dalis ir liečiasi su hipoderma [33]. Visa derma yra sudaryta iš kolageno skaidulų, kurios suteikia ląstelėms atramą ir elastingo jungiamojo audinio, užtikrinančio audinio elastingumą ir lankstumą. Yra įvairių struktūrų dermos viduje: kraujo, limfmazgių, nervų galūnėlių, plaukų folikulų, riebalų ir prakaito liaukų. Viduje yra platus kraujagyslių tinklas, reguliuojantis kūno temperatūrą, tiekiantis ląstelėms deguonį, maistines medžiagas, šalina toksinus bei metabolizmo produktus iš audinių bei palengvina žaizdų gyjimą. Didelis kraujotakos tinklas užtikrina efektyvią kraujotaką, todėl vyksta greitas šilumos reguliavimas odoje ir yra užtikrinama, kad skvarbios molekulės būtų pašalinamos iš dermos. Limfmazgiai, esantys dermoje, atlieka svarbų vaidmenį reguliuojant kraujospūdį, šalinant metabolizmo produktus. Jie yra plačiai išsiplėtę ir apima epidermio-dermos jungtį, todėl gali pašalinti įsiskverbusias molekules iš audinių. Nors mažos molekulės, pavyzdžiui, vanduo, yra pašalinamos per kraują, buvo įrodyta, kad limfmazgių klirensas yra labai svarbus didelių interferono molekulių pašalinimui [33,40]. Taip pat svarbu paminėti, kad padidėjęs odos kraujo srautas kartu su prakaitavimu yra svarbūs kūno šilumos išsklaidymui net ir fizinio krūvio metu. Peršalimo metu oda susitrauka ir sumažina karštį odoje, tam, kad kūno neištiktų hipotermija. Pasikeitus odos kraujotakai gali stipriai sumažėti gebėjimas išlaikyti pastovią ir tinkamą kūno temperatūrą (panašiai menopauzės hormonai sukelia karščio bangų atsiradimą). Nervinės skaidulos esančios dermoje taip pat atlieka svarbias funkcijas, tarpininkauja nervinio impulso perdavime, todėl kūnas gali jausti skausmą, temperatūros pokyčius, niežulį, šios skaidulos išsidėstę aplink plauko

folikulus bei speninėje dermoje. Homeostazė taip pat yra reguliuojama nervų sistemos pluoštų. Ši sistema atsakinga už specifinių liaukų sekciją ir prie plaukų folikulų esantis plauką pakeliantis raumuo susitraukia arba atsipalaiduoja [13,40].

Hipodermą arba poodinį sluoksnį sudaro riebalų ląstelių sluoksnis išsidėstęs kaip lobulės, jungiančios kolageną ir elastino pluoštą. Šio sluoksnio pagrindinė funkcija šilumos izoliacija ir apsauga nuo fizinio smūgio. Taip pat, hipoderma veikia kaip energijos rezervuaras, tiekiantis energiją organizmui, ir šis rezervuaras organizmui gali būti prieinamas tada, kai organizmui to reikia. Kraujo indai ir nervai su oda jungiasi per hipodermą. Kitaip tariant, poodinis sluoksnis yra jungiamojo audinio dalis, pro jį praeina nervai, kraujagyslės, o tarpus užpildo riebalų ląstelės. Kai susidaro didelis kiekis riebalų odoje pradeda formotis nelygumai, vadinami gravitacinėmis raukšlėmis, dažniausiai šios raukšlės atsiranda papildvėje, pagurklyje. Poodyje susiformavę riebalai taip pat turi endokrininę funkciją, tai reiškia, kad generuodami hormonus, tokius kaip leptinas, padeda reguliuoti apetitą ir metabolinę energijos kontrolę [33].

Visi trys odos sluoksniai sudaro veiksmingą barjerą nuo išorinės aplinkos, leidžia perduoti jutimą, atlieka svarbius vaidmenis palaikant homeostazę. Epidermis nuolat gamina apsauginį išorinį korneocitų sluoksnį. Dermos sluoksnyje esantys kolagenas ir elastiniai filamentai suteikia odai elastingumo, tvirtumo, tamprumo, o poodinio sluoksnio riebalai kaupiasi ir suteikia organizmui energijos. Didelis ląstelių poliferacijos santykis įrodo, kad epidermyje ir epiteliniame audinyje nuolatos vyksta fizinės ir cheminės pažaidos [28]. Dėl savo savybių oda suteikia patrauklias sąlygas vaistinių medžiagų tiekimui ir dėl to verta atlikti daugiau mokslinių tyrimų, kad būtų surasti optimaliausi būdai, pagerinantys medžiagų pernašą pro odą.

## 1.2. Odos pažeidimai

Nors raginis odos sluoksnis yra puikus odos vandens barjeras, jis nėra visiškai nepralaidus ir vanduo iš gilesnių, hidratuotų vandens sluoksnių lėtai migruoja į viršutinį odos sluoksnį ir išgaruoja. Ši išorinė vandens sklaida pro odą vadinama transepiderminiu vandens praradimu (TVP). Bet koks raginio sluoksnio pažeidimas lemia vandens praradimo padidėjimą, o kai yra išgarinamas didelis kiekis vandens, sutrinka odos struktūra ir funkcijos, todėl jos turi būti atstatomos [30,34]. Pirmasis odos atkūrimo „žingsnis“ – greitas ląstelių dauginimasis. Šios ląstelės – epidermio plokšteliniai kūnai, kurie tarnauja kaip raginio sluoksnio lipidų pirmtakų nešėjai. Dėl padidėjusių ląstelių kiekio, odoje sukeliama raginio sluoksnio lipidų (cholesterolio, riebalų rūgščių) sintezė. Susikaupę lipidai yra grupuojami į dvisluoksnius, tokiu būdu atkuriant raginio sluoksnio funkcijas [14]. Odos atkūrimo procesas tęsiasi raginio sluoksnio pašalinimu, kuris yra būtinas normaliam odos epidermio funkcionavimui.

Dažnai pažeidžiant odą rekomenduojamos priemonės su okliuzijos efektu – oda padengiama membrana, kuri nepralaidi orui arba drėgmei. Kaip anksčiau minėta, raginio sluoksnio pažeidimai lemia TVP padidėjimą, tačiau jei ant pažeistos odos paviršiaus dedama okliuzinė membrana, ji veikia kaip dirbtinis barjeras, o raginio sluoksnio atkūrimas sulėtėja, nes užblokuojamos TVP atkūrimo signalas. Tai trukdo odos lipidų ir DNR sintezei, tačiau, tokiu būdu, didėja korneocitų kiekis, kuris

skatina raginio sluoksnio hidrataciją, vandens įsisavinimą. Didelis kiekis susidariusių korneocitų didėja tol, kol susijungia ir sudaro sluoksnį su poromis, kuris gali padidinti odos pralaidumą [14,30].

Odos pažeidimai sutrikdo jos pralaidumą, todėl vaistinės medžiagos yra sunkiai pasisavinamos arba nepasisavinamos. Siekiant pagerinti vaistinių medžiagų prasiskverbimą, reikia tobulinti ir kurti sistemas, kurios pagerintų odos pralaidumą ir pagerintų vaistinių medžiagų transderminį tiekimą [38].

### 1.3. Vaistinių medžiagų ir odos sąveika

Atsižvelgiant į odos struktūrą ir funkcijas, svarbu išanalizuoti kaip odos komponentai sąveikauja su vaistinėmis medžiagomis. Nepaisant to, kad odos pagrindinė funkcija yra apsauginė, ji taip pat yra organas, kuris panaudojamas transderminiam ir vietiniam vaistinių medžiagų tiekimui. Vienos vaistinės medžiagos gali paveikti tik odos paviršių, kitos medžiagos gali būti skirtos gilesniems odos sluoksniams, trečios – transderminės medžiagos, naudojamos aktyviam vaistinės medžiagos tiekimui į organizmo sisteminę kraujotaką [1,3]. Svarbu tai, kad kiekviena vaistinė medžiaga sukelia individualų poveikį odai.

Dauguma vaistinių medžiagų, kurios tiekiamos transderminiu būdu, yra hidrofobinės, todėl turėtų būti pernešamos per lipidinius kanalus. Tai rodo, kad tarpląstelinis tiekimo būdas yra pagrindinis transderminių vaistinių medžiagų absorbcijos metodas [3]. Visi transderminiai vaistinių medžiagų tiekimo būdai yra didelis pranašumas lyginant su vaistais naudojamais per burną, kadangi susiduriama su pirminiu metabolizmu ir virškinimo traktu, kurie daro įtaką vaisto išskyrimui [3,9].

Išorinis odos sluoksnis yra raginis sluoksnis, todėl jis svarbus ne tik apsaugant organizmą nuo išorinių teršalų, bet ir ribojant vaistinių medžiagų veiksmingumą gydymo metu. Matematiniais metodais skvarbos procesas yra aprašomas kaip priklausomybė nuo [3,9]:

- koncentracijos (C);
- pasiskirstymo koeficiento (K);
- difuzijos koeficiento (D);
- difuzijos kelio/raginio sluoksnio storio (h).

Siekiant sėkmingai suformuoti vietinių ir transderminių vaistinių medžiagų modelius, reikia išanalizuoti odos pralaidumą ir tinkamą vaisto formos modeliavimą [3]. Nustatyta, kad pro odą geriausiai prasiskverbia vidutinio lipofiliškumo medžiagos ( $\log P < 4$ ) ir mažos molekulinės masės medžiagos (<500 Da). Didelės molekulės, pavyzdžiui, baltymai ir peptidai nėra geri vietinio ir transderminio vartojimo kandidatai, išskyrus tuos atvejus, kai medžiagų tiekimas gali būti palengvintas (pvz.: dėl fizinio barjero) [3,41].

Didelė raginio sluoksnio drėgmė padidina odos pralaidumą, o vanduo yra laikomas natūraliu odos prasiskverbimo stiprikliu įvairiose vaisto formose, tačiau diskutuojant apie transderminių vaistinių medžiagų formų įtaką odos hidratacijai, vis dar vyrauja skirtingos nuomonės [3]. Neatsižvelgiant į išvardintus privalumus, transdermiškai tiekiamos medžiagos taip pat gali susidurti su tam tikromis

kliūtėmis, nes tiekimas gali būti ribojamas dėl nepakankamo odos pralaidumo, t.y. pažeistų odos sluoksnių, todėl dažnai vaistas tampa terapiškai neefektyvus [3].

Įvairūs vaistai naudojami tiesiogiai ant odos ar gleivinės sukelia terapinį poveikį, ten kur buvo aplikuoti. Tokios medžiagos veikimas pasireiškia dėl savo fizinių, mechaninių, cheminių ar biologinių savybių. Nors vaisto tam tikra dalis yra absorbuojama, ji neturi daug sisteminių poveikių, nebent yra naudojama labai ilgą laiką [1,39].

Kalbant apie vaistinės medžiagos poveikį odai, jis gali būti slopinantis arba skatinantis (agonistinis ir antagonistinis). Pavyzdžiui, viena vaistinė medžiaga absorbuoja kitą vaistinę medžiagą, dėl to sumažėja odos dirglumas, kurį gali sukelti absorbuojamoji medžiaga (tretinoinas absorbuoja hidrochinoną ir deksametazoną) [39].

Yra keletas veiksnių, kurie veikia odos barjerą, todėl odos pralaidumas gali dėl to sumažėti. Amžius, vaisto naudojimo sritis, odos ir vaisto kontakto laikas, visi šie parametrai yra skirtingi, bet visi jie mažina odos pralaidumą [3,41]. Vienas iš svarbiausių veiksnių, prisidedančių prie odos pokyčių yra amžius, arba senėjimas, - tai biologiniai procesai, kurie vyksta visą organizmo gyvenimą ir sukelia pasikeitimus odoje. Prie senėjimo prisideda ir kiti veiksniai – saulės spinduliuotė, rūkymas [7]. Vykstant odos senėjimo procesams yra sutrikdoma odos barjerinė funkcija, pažeidžiamas struktūrinis vientisumas ir prarandamos fiziologinės funkcijos dėl odoje susidariusių laisvųjų radikalų. Dėl senėjimo procesų išauga ir piktybinių navikų rizika. Dažnai šios priežastys būna įvardintos kaip nepageidaujamos kosmetikos pasekmės, todėl svarbu kurti tinkamus odos priežiūros produktus, kurie lėtina odos senėjimą ir mažina pavojingą jo poveikį [7,26].

Kai kuriais atvejais vaistinių medžiagų sąveika gali turėti rimtą neigiamą klinikinę išraišką. Pagrindinis dėmesys skiriamas odos barjerinės funkcijos sutrikimams, įskaitant egzemą, dermatitą, aknę (*acne vulgaris*). Odos infekcijos sukeliančius paviršiaus pokyčius skatina ir mikroorganizmai bei grybeliai (pvz.: *Herpes virusas*) [3].

Atitinkamai medžiagai ar keletui medžiagų sąveikaujant su oda aktualiausia ir svarbiausia yra išvengti šalutinių poveikių, nes neigiamas ir nepageidaujamas poveikis gali pasireikšti kaip farmakologinio gydymo komplikacija [39,41]. Pavyzdžiui, apie 90 % pacientų, kuriems atliekama chemoterapija, atsiranda odos bėrimas, kserozė, niežulys, paronichija, plaukų anomalija ir mukozitas kaip šalutinis vaistinės medžiagos poveikis [15]. Neigiamas vaisto poveikis odai neretai būna pavojingas gyvybei, pvz.: ūminė pustuliozė yra sunki reakcija į vaistą, kuriai būdingas ūminis pustulių atsiradimas, tačiau labai retai ši reakcija yra pripažįstama kaip vaisto sukeliama odos reakcija [37].

Nors jau iki dabar yra atlikta nemažai mokslinių tyrimų su oda, tačiau trūksta konkrečių tyrimų su individualiomis vaistinėmis medžiagomis, siekiant įvertinti vaistinių medžiagų pasiskirstymą tarp odos sluoksnių.

#### 1.4. Vaistinių medžiagų pernašos pro odą keliai

Vaistinių medžiagų tiekimo būdai apima įvairius farmacinius metodus, skirtus pernešti atitinkamą vaistinę medžiagą į žmogaus kūną ir (arba) optimizuoti norimą (-us) terapinį (-ius) poveikį (-us) su, kuo įmanoma, mažesniu (-iais) neigiamu (-ais) šalutiniu (-iais) poveikiu (-iais). Vaisto tiekimo būdai nepakeičia esminių farmakodinaminių jo savybų, tačiau gali pakeisti farmakokinetines, o dėl pasikeitusių farmakokinetinių savybių, kinta farmakodinaminė veikla. Kiekvienas vaisto tiekimo būdas turi savų privalumų ir trūkumų, tačiau pasirenkant tinkamiausią vaisto tiekimo sistemą, galima pasiekti optimalių rezultatų. Kuriant vaistą labai svarbu tiksliai išanalizuoti vaisto veikimo vietą – vaisto taikinį (*target*). Yra daug būdų užtikrinančių tinkamą vaistinės medžiagos tiekimą siekiant gauti norimą klinikinį rezultatą. Kai kurie tradiciniai metodai remiasi vaisto tirpumo gerinimu, skirtu blogai tirpiems vaistams, kiti pralaidumo gerinimu – prastai skvarbiems vaistams. Kai kuriais atvejais kuriami provaistai, kurie užtikrina geresnę vaistinių medžiagų skvarbą į odą [47].

Skvarba pro odą išlieka opi tema jau daug metų, kadangi oda yra gerai prieinama, dėl didelio jos kiekio, ir labai patraukli vieta vaistinių medžiagų tiekimui. Yra trys potencialūs skvarbos keliai per raginį sluoksnį į epidermį bei gilesnius odos sluoksnius [3,41]:

1. Intraląstelinis;
2. Tarpląstelinis;
3. Skvarba pro odos intarpus.

Intraląstelinis kelias vykdomas intraląstelinės difuzijos būdu per lipidų lameles [3], tai reiškia, kad molekulės difunduoja tik tarpląstelinio matriksu. Tarpląstelinis – kuomet vaistinė medžiaga migruoja per ląstelių membranas, tokiu būdu geba difunduoti tarpląstelinio skysčiu arba ląstelės citoplazma. Vienu ar kitu būdu medžiagos perėjusios tiek raginį sluoksnį, tiek epidermį greitai prasiskverbia per odos sluoksnius ir patenka į kapiliarų sistemą, esančią odoje [3,10]. Skvarba pro odos intarpus apima medžiagos molekulių prasiskverbimą per prakaito liaukas ir plaukų folikulus.

Žmogaus oda yra heterogeninė sistema, todėl siekiant įvertinti vaistinės medžiagos sukeltą poveikį, svarbu atsižvelgti ir į odos hidrofobines bei lipofilines savybes. Visame organizme yra apie 70 proc. vandens, iš jų, 70 proc. yra pasiskirstę įvairiuose odos sluoksniuose. Raginiame odos sluoksnyje vandens yra nedaug, epidermyje vandens daugiau nei raginiame sluoksnyje, tačiau žymiai mažiau nei dermoje, joje vanduo sudaro iki 80 proc. audinio masės. Odos epidermyje yra mažiau vandens, todėl jis yra hidrofobiškesnis, tai reiškia, kad per jį gali lengviau difunduoti vandenyje netirpios medžiagos. Derma yra hidrofiliškesnė – joje vandens daugiau, todėl pro ją gali lengviau difunduoti vandenyje tirpios medžiagos, jungdamosios su vandens molekulėmis ir sudarydamos vandenilinius ryšius [34,49].

#### 1.5. Aktyvi skvarba pro odą

Norint pagerinti vaisto molekulių skvarbą, pravartu remtis įvairiomis priemonėmis, skirtomis odos barjerinei funkcijai sumažinti. Vaistinių medžiagų molekulių skvarba gali būti padidinta įvairiomis

priemonėmis: ultragarsu, odos apdorojimu lazeriu, šiluminiais procesais, radiodažniais, mikroadatomis ir kt. [5,35].

Vaistinės medžiagos molekulių skvarbą pro odą lemia keletas veiksnių: vaistinė medžiaga turi būti tirpi nešiklyje, iš tirpiklio medžiaga turi lengvai išsiskirti ir skverbtis pro odos sluoksnius. Skvarba pro raginį sluoksnį yra lėta, todėl tai turi įtakos vaisto prasiskverbimo greičiui [3]. Vaistinių medžiagų, kurių  $\log P$  yra didelis, negali pasiskirstyti raginiame sluoksnyje, todėl jie sunkiai skvarbūs pro odą arba visiškai neskvarbūs [3,41].

## 1.6. Mikroadatos

Enteralinis vaistų vartojimo būdas yra vienas iš populiariausių ir patogiausių metodų vaistinių medžiagų tiekimui, tačiau, kai kuriais atvejais, vaistinė medžiaga nebūna absorbuojama dėl fermentų veiklos virškinamajame trakte arba kepenyse. Kaip veiksminga vaistinių medžiagų tiekimo sistema, jau daugiau nei prieš 100 metų, buvo pradėtos kurti injekcijos, naudojant hipodermines mikroadatas. Tačiau, adata injekcijos metu sukelia skausmą, pažaidas. Su hipoderminėmis adatomis įterptas vaistas patenka į giliuosius odos sluoksnius, vaistinės medžiagos gali patekti ir į raumenis, tačiau raumenyse imunologinės reakcijos bus silpnesnės nei odoje. Transderminis vaistinės medžiagos tiekiamas yra alternatyva anksčiau minėtiems metodams, nes lyginant su enteraliniu bei poodiniu vaistinių medžiagų tiekimu, transderminio vaistinės medžiagos tiekimo metu galima išvengti metabolizmo kepenyse. Svarbu tai, kad viršutinis odos sluoksnis yra sudarytas iš negyvų korneocitų ir tai formuoja pagrindinį barjerą vaistinių medžiagų tiekimui, kuris sumažina tiekimo greitį [29].

Kaip visiškai nauja technologija, mikroadatos (MA) pirmiausiai buvo panaudotos siekiant įveikti įprastinius bajorus, su kuriais susiduria transderminės vaistinės medžiagos. Po devintojo dešimtmečio su tobulėjančiomis technologijomis sėkmingai pagaminta daug ir įvairių tipų mikroadatų. Pačių mikroadatų tipų dydis svyruoja nuo 25–2000  $\mu\text{m}$  ir gali sėkmingai suardyti odos paviršinį barjerą. Naudojant hipodermines adatas iškyla rizika sužaloti nervinius pluoštus ir kraujagysles. Vaistinių medžiagų tiekimas mikroadatomis gali būti efektyvus, prasiskverbti į gilesnius odos sluoksnius be didelio skausmo bei sukelti minimalias pažaidas. Atlikta daugybė ikiklinikinių tyrimų, kuriuose gauti reikšmingi rezultatai. Nustatyta, kad mikroadatos gali būti naudojamos kaip priemonės pernešti per odą oligonukleotidus, desmopresiną, DNR, insuliną ir žmogaus augimo hormoną. Be to, MA buvo plačiai tiriamos kraujo mėginių paėmimui, intraskleriniam vaistinių medžiagų tiekimui (į tinklainę) ir t.t. Žinoma, kad MA turi būti mechaniškai stiprios ir kietos, kad suardytų raginį sluoksnį, tačiau kartu ir pakankamai mažos, kad nesukeltų didelio skausmo. Mechaninės mikroadatų savybes apibūdinantys parametrai yra gan komplikuoti ir todėl turi būti tiksliai nustatyti: įvertintas adatų tankis, dydis, geometrija ir sudedamosios medžiagos. Ir visi šie parametrai turės įtakos vaistinių medžiagų tiekimo pro odą efektyvumui. Todėl, kuriant optimizuotas ir tinkamas mikroadatas, kurios būtų patikimos, neskausmingos, mikroadatų dizainas turi būti nuosekliai ir tiksliai ištirtas [29].

### 1.6.1. Klasifikacija

Mikroadatos gaminamos iš įvairių medžiagų. Jau yra sukurta silikoninių, stiklinių, keramikinių, metalinių ir net polimerinių mikroadatų. Pačios pirmosios mikroadatos buvo silikoninės, pagamintos iš silicio, nes silicis pasižymi gan dideliu kietumu, yra pakankamai standus, kad lengvai pradurtų odą [13,31,46].

Mikroadatos gali būti klasifikuojamos pagal savo struktūrą: lygiagrečios (išsidėstę lygiagrečiai substrato plokštei) ir plokštuminės (išsidėstę statmenai plokštumoje). Tiek vienos tiek kitos turi savų privalumų ir trūkumų. Pavyzdžiui, lygiagrečių MA tankis gali būti labai didelis, o tai gali būti naudinga norint padidinti vaistinės medžiagos sukeliama poveikio efektyvumą, tačiau didelio tankio adatas sunku padaryti ilgas, naudojant ėsdinimo ar liejimo metodus. Jei mikroadatos yra išdėstytos statmenai plokštumoje, tai jų tankis negali būti labai didelis, tačiau jų ilgis gali būti lengvai reguliuojamas. Mikroadatos dar gali būti kietosios arba tuščiavidurės. Tokios MA turi specialias sistemas vaistinių medžiagų tiekimui į odą. Aštrios kietosios adatos įsiskverbia į odą ir sukuria nedideles skylės, pro kurias vaistinė medžiaga gali migruoti į gilesnius odos sluoksnius sukeldama vietinį poveikį odoje, arba sisteminį, patekdama į odos kapiliarus. Naudojant tokias MA, vaistinei medžiagai pernešti geriausia naudoti įprastines transderminių medžiagų tiekimo sistemas – gelius, kremus, emulsijas, tirpalus [31,46]. Kietasias MA galima naudoti ne tik kaip odos pažeidimo struktūrą, bet ir kaip vaisto transporto priemonę, skirtą nešti ir deponuoti vaistą odoje ar kituose audniuose. Tai galima padaryti padengiant mikroadatas atitinkama vaisto forma, tačiau vaisto forma turi gerai tirpti ir būti tam tinkama. Tokiu būdu norima vaisto dozė greičiau nukeliauja į odos sluoksnius arba kitus audinius. Vaisto dozės kiekis užnešamas ant mikroadatų yra ribotas ir, paprastai, mažesnis nei 1 mg, jei MA nėra didelės ir nesiekia 1000-2000 μm. MA gali būti padengtos įvairiais būdais, dauguma jų apima adatų mirkymą arba purškimą, naudojant vandenininius tirpalus, arba tirpalus, kurie suformuoti, kad padidintų klampumą, ilgai išsilaikytų ant mikroadatų. Tam, kad MA būtų stabilios jas džiovinant ar laikant atitinkamose vietose, gali būti panaudojamos paviršių aktyvinamos medžiagos ar kiti aktyvūs agentai. MA dengimai dažniausiai atliekami panardinant jas vieną arba kelis kartus į vonelę su tirpalu, nepažeidžiant adatų ir jų pagrindo [19,24]. Keli sluoksniai taip pat gali būti fiksuojami ant mikroadatų paviršiaus. Pavyzdžiui, DNR arba baltymų molekulės dengiamos ant metalinių arba polimerinių mikroadatų pakaitomis panardinant į du tirpalus, kuriuose yra priešingai įkrautų tirpiklių: DNR ir teigiamo krūvio polimeras suformuoja daugiasluoksnį polielektrolitą [24,42]. Šie mikroadatų dengimo būdai yra labai universalūs, tai įrodo atlikti tyrimai su makromolekulėmis, kuriomis taip pat gali būti dengiamos MA, pvz.: vitaminu B, insulinu, desmopresinu, galvijų serumo albuminu, lidokainu ir t.t. [24,31]. Tyrimai su lidokainu parodė mikroadatų gebėjimą greitai pernešti vaistinę medžiagą į odą, o tai įrodė, kad nebūtina naudoti skausmingų adatų, norint greito anestezinio poveikio [31].

Vystantis pramonei ir technologijoms, mikroadatos yra gaminamos skirtingais metodais, o naudojant skirtingas mikroadatas galima pasiekti pageidaujamą poveikį.



### 1.6.2. Mikrodatų naudojimas ir taikymas

Kai pirmą kartą buvo panaudotos mikrodatos kaip vaistinių medžiagų tiekimo sistemos, pagrindinis tikslas buvo padidinti odos pralaidumą ir palyginti su įprastomis hipoderminėmis adatomis. Tačiau, pastaruoju metu, MA taikymas yra išplėtotas ir naudojamas daugelyje mokslo sričių [24]. Pavyzdžiui, tuščiavidurės mikrodatos galima panaudoti injekcijoms ir laboratorijose, jas taikant gyvūnų klonavime arba klinikinėje medicinoje (pvz.: apvaisinime *in vitro*). Kadangi, MA pritaikytos tam, kad būtų pasiekta veiksminga vaistinių medžiagų pernaša į ląsteles, viename ankstyvajame tyrime MA buvo dengiamos DNR su kitos kilmės genu, kurios perkeliamos per antodį į ląsteles. Apie 8 % visų ištirtų palikuonių pasireiškė minėtas kitakilmis genas [24,22,34].

Pažeidus odą mikrodatomis mikroninės skylės odoje ilgai neišlieka, nes oda turi savybę greitai atsinaujinti. Tai atrodytų nenaudinga, tačiau greitas skylių užsidarymas yra naudingas saugumo sumetimais, tam, kad būtų išvengta odos užteršimo ar infekcijų. Nustatyta, kad odą pažeidus MA, ji visiškai atgauna savo barjerines savybes po 2 valandų, jei neužsikimšusios ir nėra blokuojamos pažeidimo vietos, o jei skylės užsikimšusios, oda atsigauna po 3–40 valandų [9,24]. Mikrodatų pažeidimai odoje gali sukelti lengvą ir trumpalaikį odos paraudimą – eritemą. Nustatyta, kad kietųjų MA dydis yra labai svarbus, kalbant apie sukeliamas pažaidas odoje, pvz.: 400 µm ilgio adatos sukelia didesnę eritemą, o kraujo tekėjimą gali sukelti ir 200 µm adatos, tačiau, remiantis atliktais tyrimais, eritema išnyksta per kelias valandas arba, kai kuriais atvejais, dienas [24,36]. Tyrimai rodo, kad dažniausiai pažeidimai, naudojant MA, matomi tik odos paviršiuje, o naudojant švirkštus gali pasireikšti rimti pažeidimai ir gilesniuose odos ar kitų audinių sluoksniuose. Iki šiol sukaupta patirtis apie mikrodatas atitinka lūkesčius ir mažai tikėtina, kad jos gali sukelti infekcijas odoje, kadangi nebuvo pranešta apie jokias odos infekcijas testuojant adatas su žmonėmis ar gyvūnais [24].

Svarbu paminėti medicininius mikrodatų taikymo tikslus. Galima pernešti reikiamą vaistinę medžiagą į kraujagyslių sienelės, širdies ir kraujagyslių sutrikimams gydyti. MA pritaikomos ir žemės ūkyje. Jos dengiamos auksu, kad elektrochemiškai būtų galima aptinkti *p*-krezolą, kuris sukelia audinių irimą, esantį tam tikrose augalų rūšyse [21]. Vis dėlto, dominuoja transderminis MA taikymas – skvarba pro odą. Pastaruoju metu, MA dažniausiai naudojamos komerciniais tikslais, pvz.: kosmetologijoje ir dermatologijoje siekiant pagerinti odos valymą gliceroliu, padidinti odos pralaidumą kitoms medžiagoms (pvz.: chondroitino sulfatu) [23,24], arba paruošti odą prieš kosmetinių priemonių panaudojimą.

### 1.6.3. Lidokaino tiekimas pro odą naudojant mikrodatas

Odos paruošimui prieš kosmetinę ar dermatologinę procedūrą daugiausia naudojamos mažos molekulinės masės vaistinės medžiagos, o dengtos ir tuščiavidurės adatos gali būti panaudojamos su hidrofobiniu junginiu – lidokainu vietiniam anestezijos poveikiui sukelti [2,24].

Lidokainas buvo formuojamas ant netirpios polimerinės mikrodatos. Tyimas atliekamas naudojant kiaulių odą. Įvertinus lidokaino kiekį odoje po MA panaudojimo nustatyta, kad lidokaino kiekis odoje

buvo pakankamas, kad sukeltų ilgalaikę vietinę anesteziją [25]. Kitame tyrime mikroadatos buvo testuojamos su žmonėmis. Lidokainas buvo švirkščiamas į žmogaus odą naudojant vienkartinius švirkštus su hipoderminėmis adatomis ir, palyginimui, naudojamos tuščiavidurės mikroadatos su lidokainu pripildytais kanalais. Vietinė lidokaino anestezija pasireiškė naudojant abu metodus, tačiau tiriamieji pastebėjo, kad skausmas sumažėja naudojant MA ir išreiškė pirmenybę MA metodui, dėl mažesnį skausmą sukeliama dūrio [24,31]. Svarbu pabrėžti, kad lidokainas greitai pasiskirsto odoje, o praėjus 1 min po dūrio mikroadatomis, susidarė reikiama lidokaino koncentracija audinyje anestezijai sukelti. Taip pat buvo nustatytos terapinės lidokaino ribos, kurios įvertintos matuojant bendrą lidokaino kiekį odoje po 1 valandos laiko [31].

#### **1.6.4. Tetrakaino tiekimas pro odą naudojant mikroadatas**

Tetrakaino pralaidumą į gilesnius odos sluoksnius gerokai padidina mikroadatų naudojimas [24,31]. Nors MA neprasiskverbia taip giliai į odą kaip hipoderminės adatos, tačiau sukelia mažesnę ir skausmą, ir odos pažeidimą, o MA didelis bendras paviršiaus plotas palengvina vaistinės medžiagos tiekimą ir odos pralaidumą. Šiuo atveju, MA turi labai didelį potencialą, nes perpus sutrumpino anestezijos pradžios laiką, lyginant, su geliais [11,17].

#### **1.6.5. Ateities perspektyvos**

Mikroadatų gamybos technologijos leidžia gaminti įvairaus dizaino modelius, skirtus vaistinių medžiagų tiekimui į odą [24].

Pacientai ir sveikatos priežiūros darbuotojai rodo didelį susidomėjimą ir reiškia pirmenybę vaistinių medžiagų tiekimui mikroadatomis nei hipoderminėms adatoms. Tai aktualu, nes priklausomai nuo MA dizaino, pasireiškia nedidelis skausmas, arba jo iš vis nėra, oda nestipriai pažeidžiama. Moksliniai tyrimai su MA per pastaruosius 15 metų išplito, mikroadatos tapo transderminių vaistinių medžiagų tiekimo priemonės [24,39]. Jau dabar mastoma apie mikroadatų ateitį ir svarstoma apie galimybes integruoti į adatas elektrodus, su laiko jutikliais, išdėstytas adatų galuose. Tos sistemos būtų įterpiamos į odą per poringas matricas arba gelius, o šios sistemos tikslas – diagnozuoti odos vėžį per elektrodus ir taip įvertinti vėžio apimtą zoną. Taip pat į mikroadatas gali būti integruojamos mikrofluidinės sistemos, leidžiančios vietinį medžiagų išsiskyrimą, jei toks įrenginys būtų sėkmingai sukurtas, galėtų būti naudojamas tose vietovėse, kuriose trūksta ligoninių ir gydytojų, ar medicininės pagalbos [44].

### **1.7. Literatūros apžvalgos apibendrinimas**

Įvertinus paskelbtus mokslinių tyrimų duomenis, galima teigti, kad mikroadatos yra labai perspektyvi priemonė, transderminiam vaistinių medžiagų tiekimui pro odą. Jos ne tik stipriai nepažeidžia naudojimo vietos, bet atlikti tyrimai rodo, kad naudojant mikroadatas yra 2 kartus pagreitinamas

vaistinės medžiagos poveikis organizme nesukeliant skausmo [25]. Mikrodatos galėtų tapti puikia alternatyva skaudžioms hipoderminėms injekcijoms.

Transderminis vaistinių medžiagų tiekimas sektorius toliau auga ir sparčiai tobulėja. Tikimasi, kad transderminių vaistinių medžiagų tiekimo technologijų, šiuo atveju mikrodatų, pažanga padės išvengti arba apsisaugoti nuo kai kurių ligų, padės jas lengviau diagnozuoti [1] ir galės prisidėti prie klinikinės medicinos tyrimų [24].

## 2. Medžiagos ir tyrimų metodai

### 2.1. Tyrimo objektas

Tyrimų objektu laikomos mikrodatos, naudotos odos pažeidoms sukelti ir taip pagerinti vaistinių medžiagų patekimą į odos sluoksnius.

### 2.2. Reagentai ir tirpikliai

- Išgrynintas vanduo, paruoštas *Milipore* vandens gryninimo sistema (Bedford, MA);
- Etanolis (96,3 proc.) gautas iš AB „Stumbras“ (Kaunas, Lietuva);
- Lidokainas, gautas iš „*MOEHS Productos Quimicos*“ (Barselona, Ispanija);
- Tetrakainas, gautas iš „*Siegfried*“ (Vokietija);
- Polivinilo alkoholis (PVA), gautas iš „*EMPROVE*“ (Vokietija);
- Acetonitrilas (Sigma-Aldrich Chemie, Vokietija);
- Metanolis (Sigma-Aldrich Chemie, Vokietija);
- Trifluoracto rūgštis (Sigma-Aldrich Chemie, Vokietija);
- Mikrodatų gamybai 3D spausdintuvu naudotos fotoreaktyvios dervos: metakrilinti oligomerai, metakriliniai monomerai, fotoiniciatoriai, pigmentai, specialūs priedai.
- 

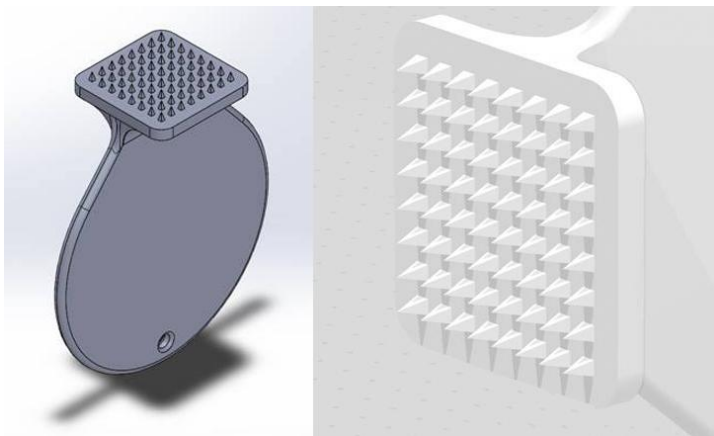
### 2.3. Įranga ir priemonės

- Svarstyklės *Scaltec SBC 31* (Scaltec Instruments GmbH, Vokietija);
- Analitinės svarstyklės *GX-200-EC* (A&D Instruments, Japonija);
- Modifikuotos *Bronaugh* tipo pratakios difuzinės celės sujungtos su cirkuliacine vandens vonele *Grant GDI20* (Grant Instruments Ltd.,UK), peristaltiniu siurbliu (Masterflex L/S) bei daugiakanale siurblio galva (Cole-Parmer Instrument Co., Ilinojus, JAV);
- Ultragarso vonelė (DT 156, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlynas, Vokietija);
- Ultra-efektyvusis skysčių chromatografas gautas iš Waters Acquity UPLC System, Waters, (MA, JAV);
- Automatinės pipetės (Transferpette, Vokietija);
- Magnetinė maišyklė su kaitinimo įranga: IKA® C – MAG H57 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Vokietija);
- Vakuuminė džiovyklė *BINDER* (Tutlingenas, Vokietija);
- Optinis mikroskopas *OPTIKA* (Ponteranica, Italija).

Mikrodatos pagamintos pagal suformuluotas dydžių charakteristikas:

- Pirmoji modifikacija: mikrodatos plokštelė sudaryta iš 64 mikrodatų, kurių kiekvienos plotis 200 μm prie pagrindo ir 600 μm aukščio (P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub>), plokštelės dydis – 0,49 cm<sup>2</sup>;
- Antroji modifikacija – 300 μm pločio prie pagrindo ir 400 μm aukščio (P<sub>300</sub>×A<sub>400</sub>), plokštelės dydis – 0,49 cm<sup>2</sup>;

- Trečioji modifikacija – 300  $\mu\text{m}$  pločio prie pagrindo ir 600  $\mu\text{m}$  aukščio ( $P_{300 \times A_{600}}$ ), plokštelės dydis – 0,49  $\text{cm}^2$ ;
- Ketvirtoji modifikacija – 400  $\mu\text{m}$  pločio prie pagrindo ir 800  $\mu\text{m}$  aukščio ( $P_{400 \times A_{800}}$ ), plokštelės dydis – 0,49  $\text{cm}^2$ .



**1 pav.** Mikroadatų vizualizacija

Mikroadatų forma – piramidė, kurios pagrindas kvadratas, atstumas tarp gretimų piramidės viršūnių 850  $\mu\text{m}$ , adatų skaičius  $8 \times 8$ . **1 pav.** pavaizduota mikroadatų vizualizaciją, kuri buvo sukurta projektuojant mikroadatas. Tyrimui naudotos kietosios mikroadatos pagamintos 3D spausdinimo technologijų pagalba specialiai tik šiam tyrimui.

#### **2.4. Etanolinių lidokaino ir tetrakaino mišinių gamyba**

- 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinys gaminamas į 25 ml kolbą, analitinėmis svarstyklėmis atsveriant po 1,75 g miltelių ir ištirpinant su 96,3 proc. etanoliu.
- 7 proc. lidokaino tirpalas gaminamas į 10 ml kolbas, analitinėmis svarstyklėmis atsveriant po 0,7 g miltelių ir ištirpinant su 96,3 proc. etanoliu.
- 7 proc. tetrakaino tirpalas gaminamas į 10 ml kolbą, analitinėmis svarstyklėmis atsveriant po 0,7 g miltelių ir ištirpinant su 96,3 proc. etanoliu.
- 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio su polivinilo alkoholi (PVA) gamybai naudojame 0,7 g PVA, prieš tai jį šildant 10 ml išgrynintame vandenyje, naudojant magnetinę maišyklę su kaitinimo įranga (80  $^{\circ}\text{C}$ ). PVA ištirpus dedamas atitinkamas kiekis lidokaino ir tetrakaino miltelių. Viskas gerai ištirpinama.
- Visi tirpalai laikomi  $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, apsaugant nuo šviesos, neilgiau kaip 48 valandos iki panaudojimo.

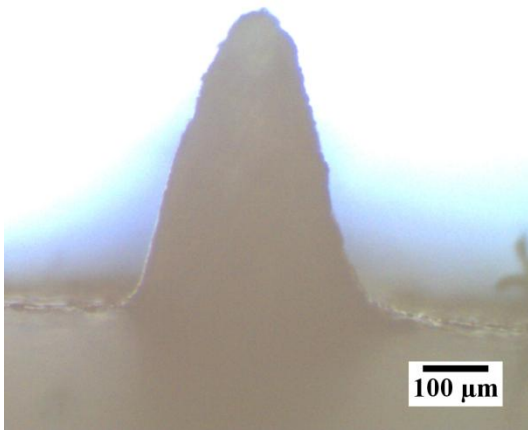
#### **2.5. Mikroadatos su vaistinės medžiagos plėvele**

Dvi 400  $\mu\text{m}$  pločio prie pagrindo ir 800  $\mu\text{m}$  aukščio ( $P_{400 \times A_{800}}$ ) plokštelės su mikroadatomis panardinamos į 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinį ir leidžiama joms išdžiūti, naudojant vakuuminę džiovyklę *BINDER* (Tutlingenas, Vokietija). Kitos dvi 400  $\mu\text{m}$  pločio prie pagrindo ir 800  $\mu\text{m}$  aukščio ( $P_{400 \times A_{800}}$ ) plokštelės su mikroadatomis panardinamos į 7 proc. lidokaino ir 7 proc.

tetrakaino tirpalą su PVA ir taip pat išdžiovinamos, tokiu būdu ant adatų suformuojama vaistinės medžiagos sluoksnis.

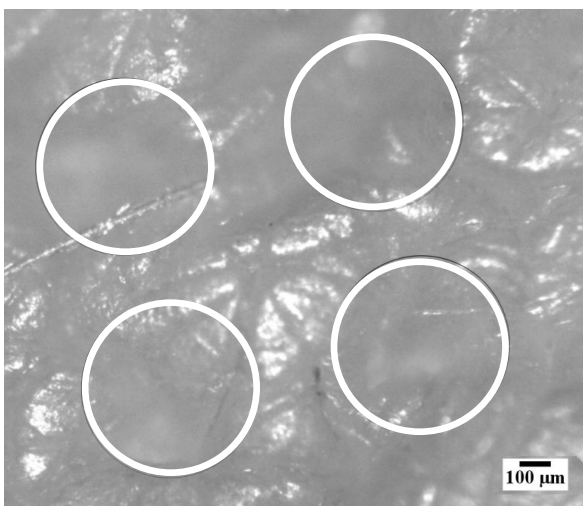
## 2.6. Mikroadatų ir odos mikroskopavimas

Mikroadatos ir odos mėginiai mikroskopuojami *OPTIKA* optiniu mikroskopu, turinčiu plataus lauko okuliarus su mikrometrine skale ir skaitmenine vaizdo kamera. Analizuojami mikroadatų, nepažeistos odos, bei odos, pažeistos mikroadatomis vaizdai. Analizės metu odos mėginys transportuojamas ant mikroskopavimo stikliukų, mikroskopavimo ir fotografavimo metu naudojami keli didinimai:  $\times 150$ ,  $\times 300$  ir  $\times 750$ . Gauti skaitmeniniai vaizdai apdoroti, nurodant dydžių skales, *ImageJ* programa, iliustracijos paruoštos, koreguojant nuotraukos dydį, šviesumą ir kontrastą *Photoshop CS4* programa (*Adobe Systems*, San Jose, USA).

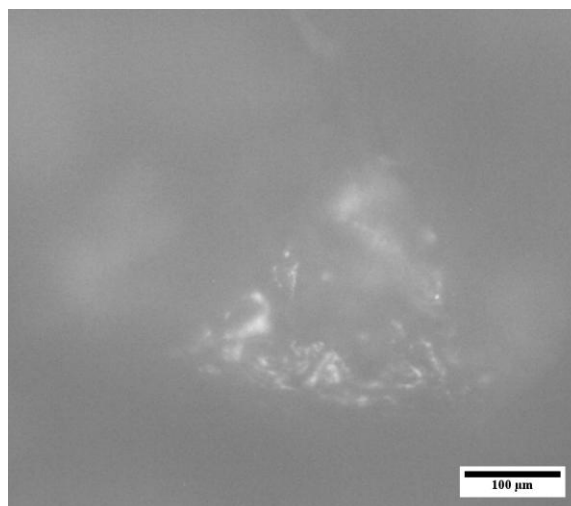


**2 pav.** P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatos nuotrauka

**2 pav.** Pateikiama P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatos nuotrauka, užfiksuota mikroskopuojant. Nuotraukos patvirtino, kad mikroadatos yra piramidės formos. Odos paviršiaus nuotraukos (**3 pav.**) patvirtino mikroadatų sukeliamas pažaidas.



**3 pav.**  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis sukelta pažaida odoje



**4 pav.** Mikroadatos sukelta pažaida odoje

Nuotraukoje matomi taisyklingai išsidėsčiusios nepakankamo ryškumo zonos, kurios patvirtina odos paviršiaus pokyčius šiose srityse. **4 pav.** matoma trikampio formos pažaida odoje. Dūrio vietoje yra matoma tamsesnė zona, tai patvirtina, kad toje vietoje yra skylė ir oda yra giliai pradrurta.

## 2.7. Lidokaino ir tetrakaino skvarbos į odą *ex vivo* tyrimai

Skvarbos į odą *ex vivo* tyrimai atlikti naudojant *Bronaugh* tipo pratakias difuzines celes, kurios dedamos ant specifinio termostatuojamo metalinio bloko. Jame yra palaikoma 37 °C temperatūra, naudojant cirkuliuojantį vandenį, iš termostatuojamo cirkuliacinio vandens vonelės *Grand GDI20* (Grant Instruments Ltd., Kembridžas, Didžioji Britanija). Efektyvus difuzijos plotas celėse – 0,64 cm<sup>2</sup>.

Kaip akceptorinė terpė naudojamas 0,9 proc. natrio chlorido tirpalas. Terpės cirkuliavimas ir greitis (0,6 ml/min) po oda palaikomas naudojant peristaltinį siurblių *Masterflex® L/S®* su daugiakanale siurblio galva (Cole-Parmer Instrument Co., Ilinojus, JAV).

*Ex vivo* tyrimams naudojama baltaodžių žmonių oda. Ji gauta Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Plastinės ir rekonstrukcinės chirurgijos klinikoje. Oda laikoma šaldiklyje esant -20 °C temperatūrai, tačiau ne ilgiau kaip šešis mėnesius prieš naudojimą. Šiems tyrimams su žmogaus oda gautas Kauno regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimas (2016-07-14, Nr. BE-2-41).

Vienam skvarbos į odą tyrimui naudojamos 7 celės. Pirmoji skvarbos į odą fazė prasideda *ekvilibracija*:

- Žmogaus oda yra atšildoma, ruošiama tyrimui: įvertinami galimi pažeidimai, tinkamumas tyrimui, pašalinami poodinio sluoksnio riebalų likučiai ir plaukeliai. Oda paruošiama taip, kad atitiktų difuzinės celės dydį;
- Ant odos gabalėlio vidurio su atitinkama mikroadata padaroma pažaida duriant mikroadatą į odą, oda dedama į celes ir užtvirtinama;

- Ekvilibracijos proceso metu celėse, po oda cirkuliuoja 0,9 proc. natrio chlorido tirpalas;
- Ekvilibracijos procesas vykdomas 30 min.
- Po ekvilibracijos celėse ant odos užnešama donorinės fazės dozė – 500 µl 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinys arba 7 proc. lidokaino, arba 7 proc. tetrakaino mišiniai.
- Naudojant su ant adatų esančiomis plėvelėmis su vaistinėmis medžiagomis pažaida daroma duriant mikroadata į odą ir laikant ją 5 minutes, kad nuo mikroadatų į odą patektų vaistinė medžiaga, tuomet vykdoma ekvilibracija.

Skvarbos į odą *ex vivo* tyrimai vykdomi 4 valandas.

Odos mėginių paruošimas ir analizė:

- po 4 valandų donorinė fazė yra nuimama nuo žmogaus odos paviršiaus naudojant vienkartinės pipetes;
- odos paviršius plaunamas 4–5 kartus su 0,9 proc. NaCl tirpalu ir 96,3 proc. etanoliu, nusausinamas, išimamas iš celės;
- iškerpami 0,64 cm<sup>2</sup> dydžio odos gabalėliai;
- atskiriamas epidermis nuo dermos. Atskirimas vykdomas taikant „sauso karščio“ metodą, kurio metu iškirpti odos gabalėliai keletui sekundžių priglaudžiami prie įkaitinto metalinio paviršiaus, šiuo atveju metalinės mentelės, apie 60 °C temperatūroje. Tokiu būdu epidermis atsargiai nuo dermos nulupamas pincetu;
- atskirti odos sluoksniai dedami į *Eppendorf* tipo mėgintuvėlius ir užpilami metanolio-vandens mišiniu, santykiu 1:1;
- mėginiai ekstrahuojami 30 minučių, naudojant *Bande-lin Sonorex Digitec* ultragarsinę vonelę (DT 156, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlynas, Vokietija);
- metanolinis tirpalas nusiurbiamas, filtruojamas per *Chromafil*® *Xtra PA-20/13* arba *Chromafil*® *AO-20/25* membraninius filtrus ir perkeliamas į chromatografijai skirtas talpas;
- gautos ištraukos analizuojamos laboratorijoje įdiegtu ir validuotu UPLC metodu, pritaikytu nustatyti junginių koncentracijas, naudotas odos skvarbos tyrime (1 lentelė) [50]:

**1 lentelė.** UPLC metodo parametrai lidokaino ir tetrakaino nustatymui

<b>Kolonėlė</b>	<i>ACQUITY UPLC®BEH C18</i>
<b>Kolonėlės parametrai</b>	2,1 X 50 mm, dalelių dydis – 1,7µm
<b>Kolonėlės temperatūra</b>	30 °C
<b>Eliuentai</b>	A – 0,1 trifluoracto rūgštis (TFA) B – acetonitrilas C – Vanduo D – Metanolis
<b>Gradientas</b>	0 – 0,1 min. 10 % B 0,1 – 5 min. 10–60 % B 5 – 8 min. 60–80 % B



	Vieno mėginio analizės trukmė 10 min.
<b>Tekėjimo greitis</b>	0,7 ml/min
<b>Injekcijos tūris</b>	1 μl
<b>Detekcija</b>	λ <sub>LIDOKAINAS</sub> = 230 nm λ <sub>TETRAKAINAS</sub> = 300 nm

## 2.8. Skvarbos srauto skaičiavimas

Skvarbos srauto skaičiavimas rodo, kiek vaistinės medžiagos prasiskverbė per vieną kvadratinį odos centimetrą. Skvarbos srautą apibūdina Fiko difuzijos lygtis, ją galime apskaičiuoti naudojant formulę [20]:

$$J_s = \frac{dQ}{dt} = \left( \frac{D \times K \times A}{h} \right) \times \delta c = K_p \times c$$

$J_s$  – veikliosios medžiagos srautas, esant pusiausvyros sąlygoms;

$Q$  – per odą prasiskverbusio vaisto kiekis;

$t$  – skvarbos tyrimo trukmė;

$D$  – vaisto difuzijos koeficientas;

$h$  – raginio sluoksnio storis;

$A$  – membranos (odos) plotas;

$K$  – vaisto pasiskirstymo tarp odos raginio sluoksnio ir nešiklio koeficientas;

$\delta c$  – vaisto koncentracijos gradientas abipus raginio sluoksnio;

$c$  – vaisto, ištirpinto nešiklyje, koncentracija;

$K_p$  – vaisto skvarbos pro odą koeficientas, priklausantis nuo vaisto nešiklio.

## 2.9. Junginių struktūros pokyčių tyrimas naudojant FT-IR

FT-IR (angl. *Fourier Transform infraRed*) spektroskopija, tai metodas, kuriuo galima tiksliai ir greitai nustatyti tiriamųjų junginių struktūros pokyčius įvykus galimai sąveikai. Naudojant šį metodą užrašomi IR spektrai, kurie leidžia nustatyti sąveikas tarp junginių [23].

Junginių spektrai užrašyti *Perkin Elmer UATR Two* spektrometru, užnešant nedidelį tiriamojo junginio kiekį ant cinko selenido kristalo. Spektroskopo pagalba užrašomas junginio FT-IR spektras 450–4000  $\text{cm}^{-1}$  bangos skaičiaus intervale. Gauti spektrai analizuojami naudojant *Essential FTIR*®: *Software for Optical Spectroscopy* ir *ChemDraw* programas.

## 2.10. Statistinė duomenų analizė

Rezultatai pateikiami kaip matavimų vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai, taikant t-testą (*T-test for Independent Samples*) arba dispersinę faktoriinę analizę (*ANOVA*). Matavimų skaičius ne mažesnis nei 2, skirtumai laikyti patikimais, kai  $p < 0,05$ . Gauti tyrimų rezultatai statistiškai apdoroti naudojant statistinius duomenų analizės paketus: *IBM SPSS* ir vaizdiniam duomenų pateikimui – *Microsoft Office Excel 2007*.

### 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

#### 3.1. Lidokaino ir tetrakaino skvarba į žmogaus odą

Siekiant išanalizuoti lidokaino ir tetrakaino skvarbos į odą galimybes *ex vivo* sąlygomis, buvo atlikti skvarbos tyrimai: 1) naudojant skirtingų dydžių mikroadatų pažaidas odoje anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarba pro odą vertinama iš 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio tirpalo; 2) naudojant skirtingų dydžių mikroadatų pažaidas odoje lidokaino skvarba pro odą vertinama iš 7 proc. lidokaino etanolinio tirpalo; 3) naudojant skirtingų dydžių mikroadatų pažaidas odoje tetrakaino skvarba pro odą vertinama iš 7 proc. tetrakaino etanolinio tirpalo; 4) formuojant ant skirtingų dydžių mikroadatų vaistines medžiagos plėveles iš 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio tirpalo bei 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio vandeninio tirpalo su PVA.

*Ex vivo* skvarbos į pažeistą ir nepažeistą odą (kontrolę) tyrimai atlikti siekiant nustatyti lidokaino ir tetrakaino skvarbą bei vaistinių medžiagų pasiskirstymą skirtinguose odos sluoksniuose.

##### 3.1.1. Lidokaino ir tetrakaino skvarba į odą iš etanolinio mišinio tirpalo

Pažaidai sukelti naudotos trys skirtingų dydžių mikroadatų modifikacijos:  $P_{200} \times A_{600}$ ,  $P_{300} \times A_{400}$ ,  $P_{300} \times A_{600}$ . Tyrimai atlikti siekiant įvertinti vaistinių medžiagų skvarbą į odą po to, kai odoje buvo suformuotos pažaidos skirtingo tipo mikroadatomis::

- Oda pažeista  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio adatomis;
- Oda pažeista  $P_{300} \times A_{400}$  dydžio adatomis;
- Oda pažeista  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio adatomis;
- Mechanškai nepažeista oda – kontrolė.

Lidokaino skvarbos į odą per 4 valandas tyrimų rezultatai pateikti **2** ir **2.1 lentelėse**. Lidokaino skvarbos, naudojant 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio tirpalą, esant pažaidai, rezultatai pateikti **5 pav.** Kontrolė buvo atliekama įvertinant lidokaino ir tetrakaino skvarbą per nepažeistą odą.

*Ex vivo* skvarbos į odą tyrimai dažniausiai atliekami nuo 8-24 valandų per nepažeistą odą, kuriu metu į odą prasiskverbiam iki kelių procentų vaistinės medžiagos. Prasiskverbimas pro odą priklauso nuo vaistinės medžiagos hidrofiliškumo ir hidrofobiškumo. Pro odą geriausiai prasiskverbiam vidutinio lipofiliškumo medžiagos ( $\log P < 4$ ) [2,32]. Kadangi, oda buvo pažeidžiama skirtingo dydžio mikroadatomis, kurios praduria tiek raginį tiek epidermio sluoksnį, skvarbos tyrimas buvo sutrumpintas iki 4 valandų.

**2 lentelė.** Lidokaino skvarbos į odą tyrimų rezultatai

I tyrimas			
	$P_{200} \times A_{600}$	$P_{300} \times A_{400}$	$P_{300} \times A_{600}$
Epidermis	4,166 ± 0,005 µg/ml	7,217 ± 0,002 µg/ml	14,683 ± 0,190 µg/ml

<b>Derma</b>	5,875 ± 0,050 µg/ml	12,060 ± 0,060 µg/ml	50,516 ± 0,089 µg/ml
<b>II tyrimas</b>			
	<b>P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub></b>	<b>P<sub>300</sub>×A<sub>400</sub></b>	<b>P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub></b>
<b>Epidermis</b>	5,308 ± 0,026 µg/ml	13,824 ± 0,067 µg/ml	5,323 ± 0,011 µg/ml
<b>Derma</b>	15,499 ± 0,125 µg/ml	25,221 ± 0,129 µg/ml	15,923 ± 0,119 µg/ml

**2.1 lentelė.** Lidokaino skvarbos į nepažeistą odą tyrimų rezultatai

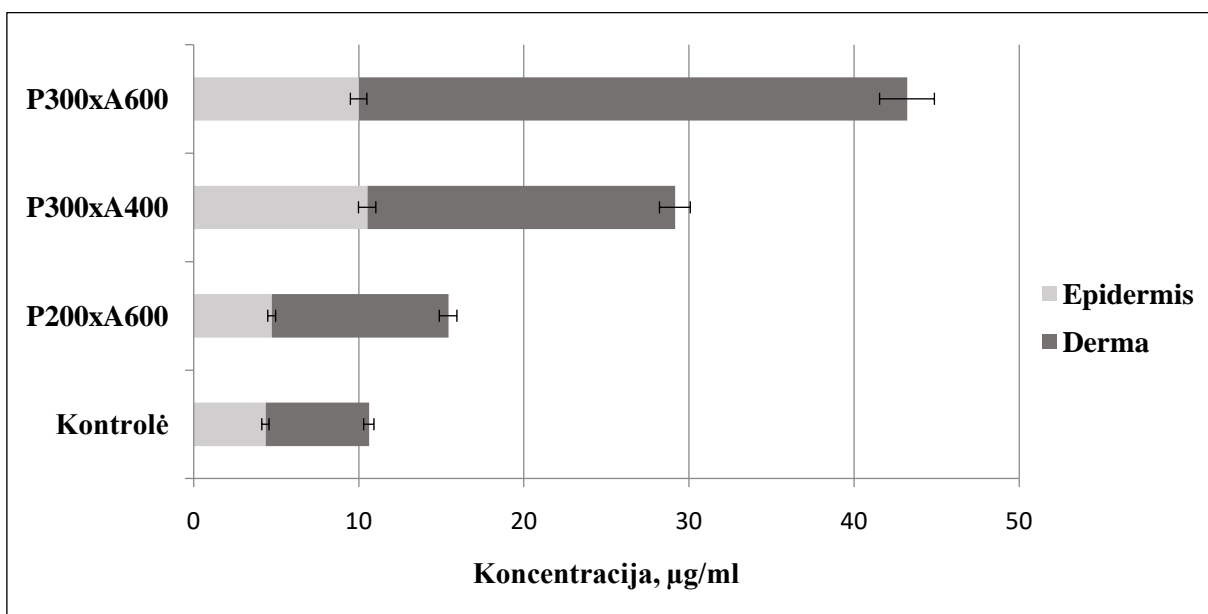
	<b>Kontrolė</b>
<b>Epidermis</b>	4,355 ± 0,014 µg/ml
<b>Derma</b>	6,264 ± 0,033 µg/ml

Gauti tyrimų rezultatai parodė statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp pažeistos P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub> ir P<sub>300</sub>×A<sub>400</sub> dydžio mikroadatomis odos skvarbos ir nepažeistos odos, bei statistiškai nereikšmingą skirtumą ( $p > 0,05$ ) tarp P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomis pažeistos odos skvarbos ir kontrolės. Nustatyta, kad per 4 valandas, pažeidžiant odą P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomis epidermyje lidokaino susikaupė 1,08 karto, kai, tuo tarpu, dermoje – 1,7 karto daugiau, lyginant su kontroliniu variantu. Kontrolėje lidokaino srautas į epidermį siekė 6,804 ± 0,022 µg/cm<sup>2</sup>, o į dermą – 9,787 ± 0,053 µg/cm<sup>2</sup>, kai lidokaino srautas į epidermį ir dermą iš lidokaino ir tetrakaino mišinio, su P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub> mikroadatų pažeida, atitinkamai, 7,401 ± 1,262 µg/cm<sup>2</sup> ir 16,699 ± 10,633 µg/cm<sup>2</sup>. Taigi, vaistinės medžiagos srautas per odą su pažeida buvo didesnis į epidermį ir dermą 1,09 ir 1,7 karto, lyginant su kontrole.

Pažeidus odą P<sub>300</sub>×A<sub>400</sub> dydžio mikroadatomis, lidokaino epidermyje susikaupė 2,41 karto daugiau nei epidermyje odos, kuri buvo nepažeista. Dermoje, atitinkamai, 2,97 karto daugiau. Lidokaino srautas į epidermį siekė 16,438 ± 7,300 µg/cm<sup>2</sup>, į dermą – 29,126 ± 14,541 µg/cm<sup>2</sup>. Rezultatai parodė, kad iš lidokaino ir tetrakaino mišinio, lidokainas skverbėsi statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) į žmogaus odos epidermį, tačiau neturėjo reikšmingos įtakos ( $p > 0,05$ ) dermoje.

Pažeidus odą P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomi užfiksuotas lidokaino kiekis epidermyje ir dermoje buvo atitinkamai 2,29 ir 5,30 karto didesnis lyginant su kontrole. Šis padidėjimas reikšmingos įtakos lidokaino skvarbai iš lidokaino ir tetrakaino mišinio neturėjo ( $p > 0,05$ ), o lidokaino srautas į epidermį ir dermą nustatytas 22,942 ± 10,341 µg/cm<sup>2</sup> ir 51,905 ± 38,219 µg/cm<sup>2</sup>, tai reiškia, kad odoje su pažeida vaistinės medžiagos srautas į epidermį ir dermą buvo 3,37 karto ir 5,3 karto didesnis nei mechaniškai nepažeistoje odoje.

Gauti tyrimų rezultatai leidžia spręsti, kad naudojant visų trijų dydžių mikroadatas pasiekama geresnė skvarba į odą, naudojant lidokaino ir tetrakaino mišinio tirpalą. Didžiausio pločio ir aukščio mikroadata padidino medžiagos skvarbą į epidermį daugiau nei 2 kartus, o į dermą daugiau nei 5 kartus.



**5 pav.** Lidokaino skvarba per 4 valandas į odos epidermį ir dermą iš 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio

Gauti tyrimo rezultatai patvirtina paskelbtus mokslinių tyrimų duomenis, kad tiriant skvarbą į žmogaus odą yra svarbios veikliųjų medžiagų lipofilinės savybės. Pagal nustatytą lidokaino  $\log P=2,44$  galima daryti prielaidą, kad lidokainas turėtų kauptis raginiame sluoksnyje arba epidermyje [32,33], tačiau pradūrus mikroadatomis raginį sluoksnį ir epidermį vaistinė medžiaga gali lengviau nukeliauti į dermą. Kai kuriais atvejais, priklausomai nuo mikroadatų dydžio, praduriamas ir dermos paviršius, todėl vaistinės medžiagos daugiau susitelkia dermoje. Atliktas tyrimas patvirtina iškelta hipotezę ir įrodo, kad pažeidžiant odą skirtingų dydžių mikroadatomis, didesnis vaistinės medžiagos kiekis randamas dermoje, šiuo atveju, naudojant  $P_{200} \times A_{600}$ ,  $P_{300} \times A_{400}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatas, dermoje nustatytas didesnis vaisto kiekis, lyginant su kiekiu epidermyje, atitinkamai 2,25, 1,77 ir 3,32 karto.

Tetrakainas, lyginant su lidokainu, pasižymi šiek tiek didesniu lipofiliškumu ( $\log P=3,54$ ). Tetrakaino skvarbos į odą tyrimo rezultatai pateikti **3** ir **3.1 lentelėse**. Tetrakaino skvarba vykdyta naudojant 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio tirpalą, pateikta **6 pav.** Kontroliniame variante pažaida nebuvo sukelta ir skvarbos rezultatai lyginti su tetrakaino skvarba per nepažeistą odą.

**3 lentelė.** Tetrakaino skvarbos į odą tyrimų rezultatai

I tyrimas			
	$P_{200} \times A_{600}$	$P_{300} \times A_{400}$	$P_{300} \times A_{600}$
<b>Epidermis</b>	$6,617 \pm 0,004 \mu\text{g/ml}$	$11,092 \pm 0,009 \mu\text{g/ml}$	$20,884 \pm 0,089 \mu\text{g/ml}$
<b>Derma</b>	$3,141 \pm 0,034 \mu\text{g/ml}$	$9,81 \pm 0,016 \mu\text{g/ml}$	$35,643 \pm 0,0007 \mu\text{g/ml}$
II tyrimas			
	$P_{200} \times A_{600}$	$P_{300} \times A_{400}$	$P_{300} \times A_{600}$

<b>Epidermis</b>	7,755 ± 0,028 µg/ml	21,910 ± 0,038 µg/ml	9,005 ± 0,039 µg/ml
<b>Derma</b>	9,460 ± 0,043 µg/ml	23,953 ± 0,033 µg/ml	14,016 ± 0,004 µg/ml

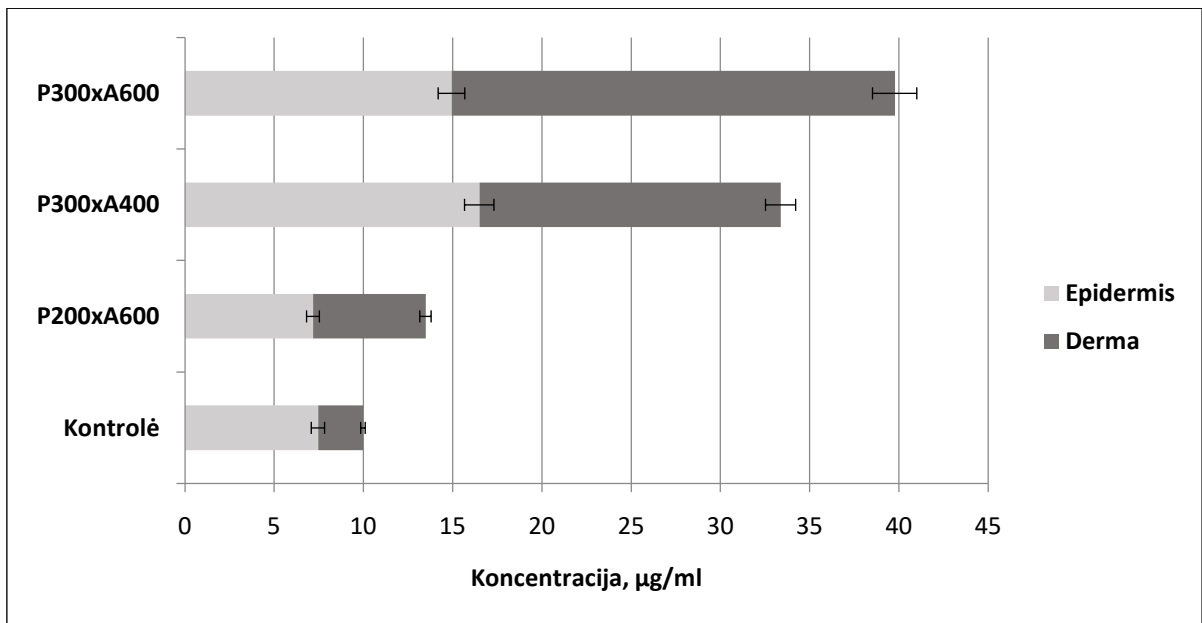
**3.1 lentelė.** Tetrakaino skvarbos į nepažeistą odą tyrimų rezultatai

	<b>Kontrolė</b>
<b>Epidermis</b>	7,463 ± 0,045 µg/ml
<b>Derma</b>	2,521 ± 0,017 µg/ml

*Ex vivo* skvarbos tyrimų rezultatai rodo statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp pažeistos visais mikroadatų dydžiais odos skvarbos ir skvarbos per nepažeistą odą. Remiantis gautais tyrimų rezultatais, sukeltą pažeidimą su  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis, po 4 valandų, nustatyta, kad tetrakaino epidermyje susikaupė 0,96 karto mažiau, tačiau dermoje 2,49 karto daugiau nei kontrolinėje grupėje. Kontrolinio varianto skvarbos srautas epidermyje siekė  $11,660 \pm 0,070 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o dermoje  $3,939 \pm 0,027 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , kai, tuo tarpu, pažeistoje odoje atitinkamai  $11,228 \pm 1,256 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $9,845 \pm 6,981 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Pažeidžiant odą  $P_{300} \times A_{400}$  dydžio mikroadatomis, tetrakaino epidermyje susikaupė 2,21 karto daugiau nei odoje, kuri buvo nepažeista, o dermoje atitinkamai 6,69 karto daugiau. Tetrakaino srautas į epidermį  $25,783 \pm 11,952 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , į dermą –  $26,377 \pm 15,626 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Remiantis rezultatais, tetrakaino, mišinyje su lidokainu, kiekiai turėjo statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) odos skvarbai tiek į epidermį, tiek į dermą, kai pažeidžiama  $P_{300} \times A_{400}$  dydžio mikroadatomis.

Sukėlus pažeidimą su  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis užfiksuotas reikšmingas ( $p < 0,05$ ) skirtumas tarp tetrakaino kiekio epidermyje ir dermoje, atitinkamai 2 ir 9,84 karto daugiau nei mikroadatomis nepažeistoje odoje. Tetrakaino srautas epidermyje siekė  $23,351 \pm 13,125 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o dermoje –  $38,796 \pm 19,895 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .



**6 pav.** Tetrakaino skvarba per 4 valandas į odos epidermį ir dermą iš 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio

Taigi, gauti rezultatai įrodo, kad naudojant skirtingų dydžių mikroadatas odos pažeidimai sukelti, pasiekama geresnė tetrakaino skvarba į odą, kai naudojamas 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio tirpalas. Didžiausio pločio ir aukščio mikroadatomis padaryta pažeidima reikšmingai ( $p < 0,05$ ) padidino tetrakaino skvarbą tiek į epidermį, tiek į dermą lyginant su kitų mikroadatų suformuotomis odos pažeidimais ir nepažeista oda. Įvertinus prasiskverbimą į abu tirtus odos sluoksnius, nustatyta, kad pažeidžiant odą skirtingų dydžių mikroadatomis, didesnis vaistinės medžiagos kiekis aptinkamas dermoje, kai naudotos  $P_{300} \times A_{400}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatos (1,02 ir 1,66 karto).

Lyginant tarpusavyje lidokaino ir tetrakaino skvarbą į odą naudojant tokio pat dydžio mikroadatas ir lidokaino bei tetrakaino tirpalo mišinį, nustatyta, kad į odą (tiek į epidermį tiek į dermą) prasiskverbia didžiausias lidokaino ir tetrakaino kiekis, kai buvo naudotos didžiausio pločio ir didžiausio aukščio ( $P_{300} \times A_{600}$ ) mikroadatos pažeidoms sukelti.

Lidokaino ir tetrakaino mišinys pradėtas naudoti visai neseniai. Klinikiniai tyrimai įvertino šio mišinio anestezijos poveikį ir nustatė, kad lidokaino ir tetrakaino derinys sukelia greitą ir ilgai trunkančią vietinę anesteziją, jį lengva naudoti, turi nedaug šalutinių poveikių, lyginant su kitais anestetikais. Dažniausiai šis mišinys praktikoje naudojamas kaip 7 % / 7% kremas arba pleistras. Svarbu atkreipti dėmesį ir į šių medžiagų farmakokinetiką. Anestezija, kurią sukelia lidokainas yra greitesnė, instensyvesnė ir ilgiau užsitęsianti, todėl lidokainas yra alternatyvus pasirinkimas tiems, kurie yra jautrūs esterio tipo vietiniams anestetikams. Tetrakainas yra ilgai veikiantis amino-esteris, lipofiliškesnis už lidokainą, koncentruojasi į epidermio sluoksnį, kuriame lėtai pasiskirsto, todėl veikimo trukmė yra ilgesnė, o sisteminis pasisavinimas ribotas [33].

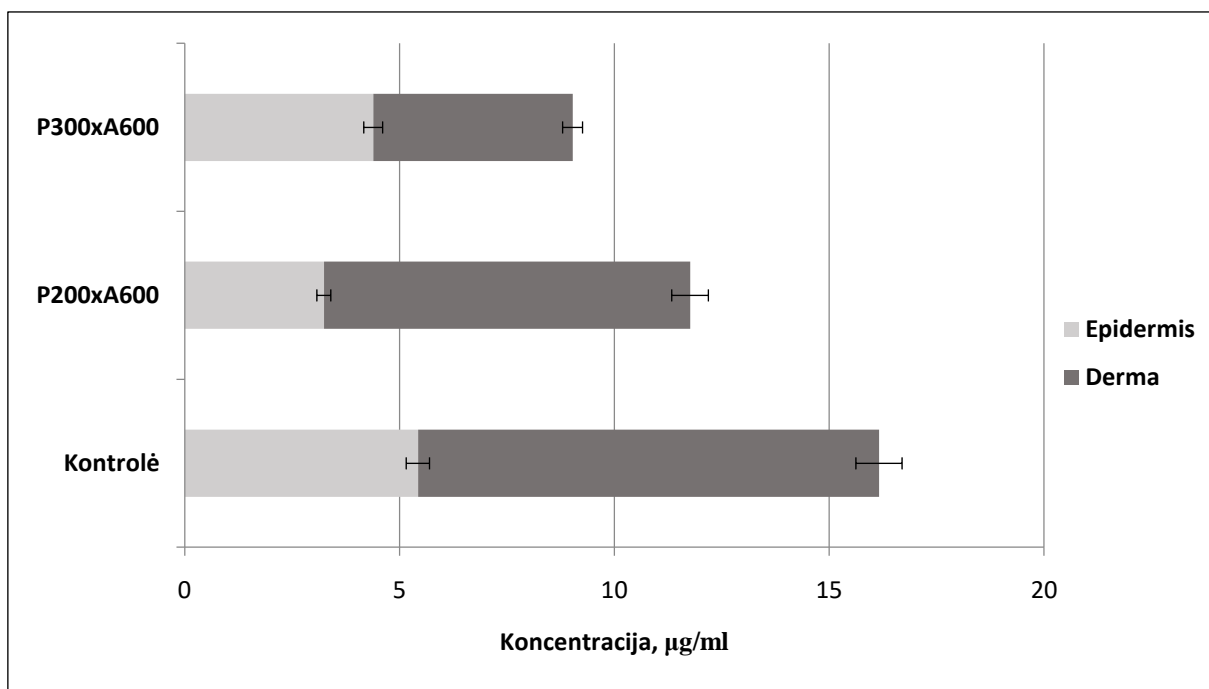
### 3.1.2. Lidokaino skvarba į odą iš lidokaino etanolinio tirpalo

Tyrimas buvo atliktas nustatyti, kaip lidokainas skverbiasi į odos sluoksnius iš 7 proc. lidokaino etanolinio tirpalo ir palyginti su jo skvarba į odą iš mišinio su tetrakainu. Šiam tyrimui buvo

naudotos dvi skirtingų modifikacijų mikroadatų plokštelės:  $P_{200} \times A_{600}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$ . Tyrimai atlikti vertinant skvarbą per skirtingas odos pažaidas:

- Oda pažeista  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio adatomis;
- Oda pažeista  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio adatomis;
- Mechanškai nepažeista oda – kontrolė.

Lidokaino skvarbos į odą, per 4 valandas, nustatymo rezultatai pateikti **7 pav.**:



**7 pav.** Lidokaino skvarba į odos epidermį ir dermą iš lidokaino etanolinio tirpalo

Atliktų tyrimų rezultatai parodė statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp pažeistos  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis odos skvarbos ir nepažeistos odos, tačiau statistiškai nereikšmingą skirtumą ( $p > 0,05$ ) tarp  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadata pažeistos odos skvarbos ir kontrolės. Nustatyta, kad per 4 valandas, pažeidžiant odą  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis epidermyje lidokaino susikaupe 1,67 karto mažiau epidermyje, lyginant su nepažeista oda, kai dermoje susikaupe 1,25 karto mažiau. Mechanškai nepažeistoje odoje lidokaino srautas į epidermį siekė  $8,483 \pm 0,007 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o į dermą –  $16,770 \pm 0,017 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , kai lidokaino srautas į epidermį ir dermą iš 7 proc. lidokaino tirpalo su  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatų pažaidomis, atitinkamai,  $5,064 \pm 0,036 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $13,318 \pm 0,029 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Pažeidžiant odą  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis nustatytas lidokaino kiekis epidermyje ir dermoje atitinkamai 1,23 ir 2,31 karto mažiau lyginant su kontrole. Lidokaino kiekis neturėjo reikšmingos įtakos skvarbai ( $p > 0,05$ ) dermoje, kai naudotos  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatos. Nustatytas lidokaino srautas į epidermį ir dermą  $6,860 \pm 0,104 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $7,250 \pm 0,111 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Vertinant šiuos rezultatus, nustatyta, kad mikroadatų plotas prie pagrindo neturėjo įtakos lidokaino skvarbai. Maži lidokaino prasiskverbimo kiekiai į odos sluoksnius iš 7 proc. lidokaino etanolinio tirpalo galėjo daryti įtakos tai, kad lidokainas, esantis mišinyje su tetrakainu pagerina vienas kito skvarbą į odą.

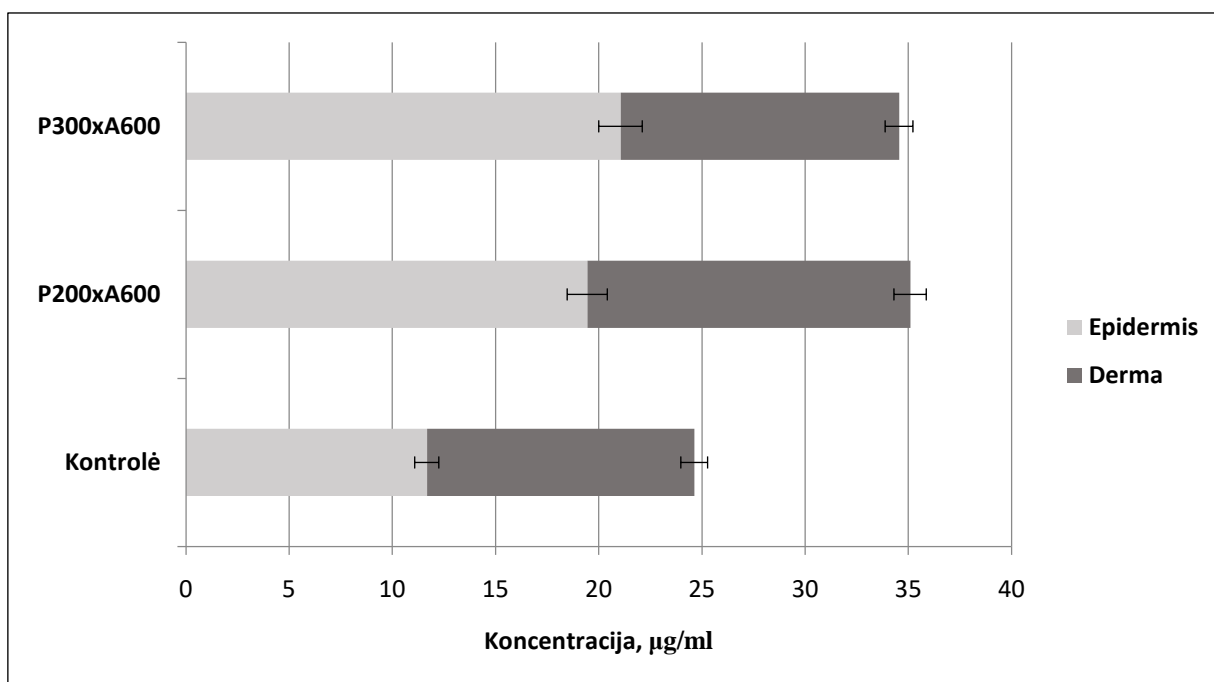


### 3.1.3. Tetrakaino skvarba į odą iš tetrakaino etanolinio tirpalo

Tyrimas buvo atliktas nustatyti, kaip tetrakainas skverbiasi į odos sluoksnius iš 7 proc. tetrakaino etanolinio tirpalo ir palyginti su jo skvarba į odą iš mišinio su lidokainu. Šiam tyrimui buvo naudotos dvi skirtingų modifikacijų mikroadatų plokštelės:  $P_{200} \times A_{600}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$ . Tyrimai atlikti vertinant skvarbą per skirtingas odos pažaidas:

- Oda pažeista  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio adatomis;
- Oda pažeista  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio adatomis;
- Mechanškai nepažeista oda – kontrolė.

Tetrakaino skvarbos į odą, per 4 valandas, tyrimų rezultatai pateikti **8 pav.** Atlikus tyrimą nustatytas reikšmingas skirtumas ( $p < 0,05$ ) tarp tetrakaino skvarbos į  $P_{200} \times A_{600}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis pažeistą odą ir nepažeistos odos, tiek epidermyje, tiek dermoje, išskyrus  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis pažeistos odos dermoje ( $p > 0,05$ ). Vykdamas skvarbos į odą tyrimą, kuriame naudotos pažaidai sukelti  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis, nustatytas tetrakaino skvarbos į epidermį ir dermą padidėjimas, lyginant su tetrakaino kiekiais tuose pačiuose sluoksniuose, kai oda nebuvo pažeidžiama mikroadatomis. Epidermyje tetrakaino skvarba padidėjo 1,66 karto daugiau, o dermoje – 1,20 karto. Nepažeistoje odoje tetrakaino srautas į epidermį siekė  $11,228 \pm 9,829 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , dermoje –  $9,845 \pm 0,103 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Srautas į epidermį ir dermą su  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatų pažaidomis nustatytas, atitinkamai,  $25,783 \pm 0,517 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $26,377 \pm 0,056 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .



**8 pav.** Tetrakaino skvarba į odos epidermį ir dermą iš tetrakaino etanolinio tirpalo

Pažeidžiant odą su  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis, taip pat nustatytas skvarbos padidėjimas tiek epidermyje, tiek dermoje. Epidermyje užfiksuotas tetrakaino kiekis 1,80 karto didesnis, o dermoje 1,04 karto didesnis, lyginant su nepažeista oda. Epidermyje tetrakaino srautas, naudojant didžiausio pločio ir didžiausio aukščio mikroadatas, siekė  $23,351 \pm 0,187 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o dermoje –  $38,796 \pm 0,046 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Įvertinus gautus rezultatus, mikroadatų plotas prie pagrindo, kaip ir lidokaino atveju, įtakos skvarbai neturėjo. Lyginant tarpusavyje lidokaino ir tetrakaino prasiskverbimo pro odą rezultatus naudojant jų etanolinius tirpalus, nustatyta, kad geresnė skvarba pasiekama naudojant 7 proc. tetrakaino tirpalą. Tokius tyrimo rezultatus galėjo lemti tai, kad tetrakainas pasižymi didesniu lipofiliškumu, o lidokainas geriau skverbiasi iš mišinio su tetrakainu. Taip pat, šiems tyrimo rezultatams galėjo turėti įtakos individualios fiziko-cheminės junginių savybės (t.y. tirpumas tirpiklyje).

### 3.1.4. Vaistinių medžiagų skvarba į odą naudojant padengtas mikroadatas

Tyrimas atliekamas siekiant įvertinti medžiagų skvarbą į odos sluoksnius iš vaistine medžiaga dengtų mikroadatų. Skvarbos tyrimas atliekamas su didžiausio pločio prie pagrindo ir didžiausio aukščio mikroadatomis, rezultatai vertinami bei lyginami su mokslinėse publikacijose gautais rezultatais. Tyrimai atlikti vertinant skvarbą per odos pažaidas:

- Oda pažeista  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio adatomis; mikroadatos padengtos 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanoliniu tirpalu ( $P_{400} \times A_{800}$  M);
- Oda pažeista  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio adatomis; mikroadatos padengtos 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino tirpalu su PVA vandeninėje terpėje ( $P_{400} \times A_{800}$  PVA);
- Mechanškai nepažeista oda – kontrolė.

Skvarbos tyrimas buvo vykdomas su vaistine medžiaga dengtomis mikroadatomis ir stebimi vaistinių medžiagų kiekiai odos sluoksniuose, tyrimo rezultatai pateikti 4 ir 4.1 lentelėse.

**4 lentelė.** Lidokaino skvarbos į odą tyrimų rezultatai, naudojant vaistine medžiaga dengtas mikroadatas

<b>I tyrimas</b>		
	<b><math>P_{400} \times A_{800}</math> M</b>	<b><math>P_{400} \times A_{800}</math> PVA</b>
<b>Epidermis</b>	4,933 ± 0,078 µg/ml	0,879 ± 0,051 µg/ml
<b>Derma</b>	11,175 ± 0,062 µg/ml	2,049 ± 0,033 µg/ml
<b>II tyrimas</b>		
	<b><math>P_{400} \times A_{800}</math> M</b>	<b><math>P_{400} \times A_{800}</math> PVA</b>
<b>Epidermis</b>	2,405 ± 0,074 µg/ml	2,203 ± 0,055 µg/ml
<b>Derma</b>	6,286 ± 0,010 µg/ml	5,347 ± 0,041 µg/ml

**4.1 lentelė.** Lidokaino skvarbos per nepažeistą odą tyrimų rezultatai

	<b>Kontrolė</b>
<b>Epidermis</b>	6,726 ± 0,095 µg/ml
<b>Derma</b>	12,195 ± 0,007 µg/ml

Įvertinus skvarbos tyrimą su mikroadatomis, padengtomis lidokaino ir tetrakaino vaistinių medžiagų mišinio plėvelėmis, nustatytas statistiškai nereikšmingas skirtumas ( $p > 0,05$ ) tarp pažeistos  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatomis odos skvarbos ir nepažeistos odos epidermyje, bei statistiškai reikšmingas skirtumas ( $p < 0,05$ ) tarp  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatomis pažeistos odos skvarbos ir kontrolės dermoje. Nustatyta, kad per 4 valandas, pažeidžiant odą  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatomis epidermyje lidokaino susikaupė 1,83 karto, o dermoje susikaupė 1,39 karto mažiau, lyginant su mechaniškai nepažeista oda. Lidokaino srautas per nepažeistą odą siekė  $8,166 \pm 0,149 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o į dermą –  $19,055 \pm 0,011 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , kai lidokaino srautas į epidermį ir dermą iš lidokaino ir tetrakaino mišinio suformuoto sluoksnio ant mikroadatų, atitinkamai,  $5,733 \pm 0,119 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $13,641 \pm 0,056 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Įvertinus skvarbos tyrimą su mikroadatomis, padengtomis lidokaino ir tetrakaino vaistinių medžiagų mišinio plėvele su PVA, gauti skvarbos tyrimų rezultatai rodo statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp pažeistos  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatomis odos skvarbos ir nepažeistos odos epidermyje ir dermoje. Nustatyta, kad pažeidžiant odą  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatomis epidermyje lidokaino susikaupė 4,36 karto, o dermoje susikaupė 3,29 karto mažiau, lyginant su nepažeista oda. Lidokaino srautas į epidermį ir dermą iš lidokaino ir tetrakaino mišinio su PVA, naudojant  $P_{400} \times A_{800}$  mikroadatos pažaidą,  $2,408 \pm 0,083 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $5,778 \pm 0,058 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Tetrakaino skvarbos į odą tyrimo rezultatai pavaizduoti **5** ir **5.1 lentelėse**. Gauti skvarbos tyrimų rezultatai su mikroadatomis, padengtomis lidokaino ir tetrakaino vaistinių medžiagų mišinio plėvelėmis, kurie nustatė statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp pažeistos  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatų odos skvarbos ir nepažeistos odos skvarbos tiek epidermyje, tiek dermoje. Nustatyta, kad per 4 valandas, pažeidžiant odą  $P_{400} \times A_{800}$  dydžio mikroadatomis epidermyje tetrakaino susikaupė 2,95 karto, o dermoje susikaupė 2,45 karto mažiau, lyginant su mechaniškai nepažeista oda. Kontrolėje tetrakaino srautas į epidermį siekė  $15,841 \pm 0,045 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , o į dermą –  $10,093 \pm 0,009 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , kai tetrakaino srautas į epidermį ir dermą iš lidokaino ir tetrakaino mišinio, su  $P_{400} \times A_{800}$  mikroadatų pažaida odoje siekė, atitinkamai,  $5,353 \pm 0,032 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $4,119 \pm 0,010 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

**5 lentelė.** Tetrakaino skvarbos į odą tyrimų rezultatai, naudojant vaistine medžiaga dengtas mikroadatas

<b>I tyrimas</b>		
	<b><math>P_{400} \times A_{800} M</math></b>	<b><math>P_{400} \times A_{800} PVA</math></b>

<b>Epidermis</b>	4,529 ± 0,038 µg/ml	0,653 ± 0,0007 µg/ml
<b>Derma</b>	3,441 ± 0,009 µg/ml	0,321 ± 0,0007 µg/ml
<b>II tyrimas</b>		
	<b>P<sub>400</sub>×A<sub>800</sub>M</b>	<b>P<sub>400</sub>×A<sub>800</sub>PVA</b>
<b>Epidermis</b>	2,323 ± 0, 003 µg/ml	3,104 ± 0,002 µg/ml
<b>Derma</b>	1,832 ± 0,004 µg/ml	1,876 ± 0,015 µg/ml

**5.1 lentelė.** Tetrakaino skvarbos į nepažeistą odą tyrimų rezultatai

	<b>Kontrolė</b>
<b>Epidermis</b>	10,139 ± 0,029 µg/ml
<b>Derma</b>	6,459 ± 0,006 µg/ml

Įvertinus skvarbos tyrimą su mikroadatomis, padengtomis lidokaino ir tetrakaino vaistinių medžiagų mišinio plėvele su PVA, gauti skvarbos tyrimų rezultatai rodo statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp pažeistos P<sub>400</sub>×A<sub>800</sub> dydžio mikroadatomis odos skvarbos ir nepažeistos odos ir epidermyje, ir dermoje. Nustatyta, kad pažeidžiant odą P<sub>400</sub>×A<sub>800</sub> dydžio mikroadatomis epidermyje lidokaino susikaupė 5,39 karto, o dermoje susikaupė 5,87 karto mažiau, lyginant su nepažeista oda. Lidokaino srautas į epidermį ir dermą iš lidokaino ir tetrakaino mišinio su PVA, naudojant P<sub>400</sub>×A<sub>800</sub> mikroadatos pažaidą,  $2,935 \pm 0,002 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ir  $1,716 \pm 0,012 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Remiantis gautais lidokaino ir tetrakaino tyrimų rezultatais, galime teigti, kad formuojant lidokaino ir tetrakaino vaistinių medžiagų plėveles ant mikroadatų skvarba į odą nepagerėjo. Tokius tyrimų rezultatus galėjo lemti keletas priežasčių. Viena iš jų galėjo būti ta, kad nors ir mikroadatos su vaistine medžiagų plėvele pažeidžia odos barjerą, tačiau odoje buvo nepakankamas vandens kiekis, kas galėjo sutrukdyti efektyviam medžiagų tirpimui ir jų migracijai į odos sluoksnius. Kita priežastis dėl kurios skvarba į odos sluoksnius nepagerėjo – susiformavęs nepakankamas medžiagos kiekis ant mikroadatų, dėl kurio lidokaino ir tetrakaino kiekiai odos sluoksniuose buvo mažesni už kontrolę.

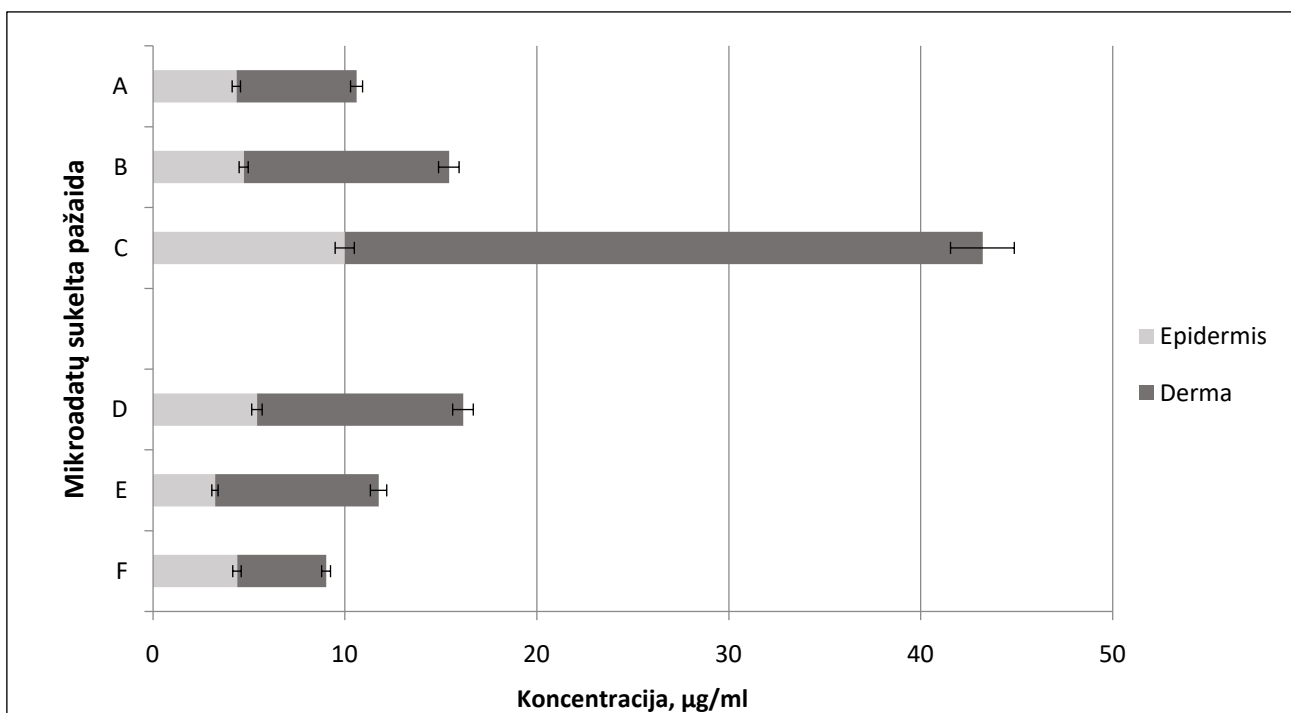
Efektyviau būtų atlikti tyrimus sukeltant pažaidą ir tik tada formuoti vaistinės medžiagos plėveles ant mikroadatų. Arba veiksmingam medžiagos tiekimui naudoti įvairias vaistinių medžiagų formas: gelius, kremus ir kt. 2013 metais *Davies'as et al.*, įvertino skirtumą tarp dengtomis vaistine medžiaga, mikroadatomis pažeistos ir nepažeistos odos. Tyrimui naudojamas *Ametop* gelis su 4 proc. tetrakainu. Įvertinus rezultatus nustatyta, kad nepažeistoje odoje tetrakaino kiekis buvo  $5,43 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  po 30 min., o  $15,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  po 60 min., kai tuo tarpu mikroadatomis pažeistoje odoje  $5,43$

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$  tetrakaino užfiksuota po 12,13 min., o  $15,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  – po beveik 32 min. [25]. Taigi, šie tyrimo rezultatai pagrindžia mikroadatų naudojimo efektyvumą ir įrodo, kad mikroadatos suteikia naujas alternatyvas vaistinių medžiagų tiekimo sistemoms, šiuo atveju, galinčias pagreitinti anestezijos poveikį, sukelti mažesnę skausmą.

### 3.1.5. Lidokaino ir tetrakaino skvarbos pro odą tyrimų iš eksperimentinių tirpalų apibendrinimas

Tyrimo metu įvertinta tirtų vaistinių medžiagų skvarba į žmogaus odą iš eksperimentinių 7 proc. tetrakaino ir 7 proc. lidokaino mišinio etanolinio tirpalo, 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinių tirpalų. Skvarbos pro odą tyrimo trukmė, dėl sukeltų mikroadatomis pažeidimų, sumažinta iki 4 valandų.

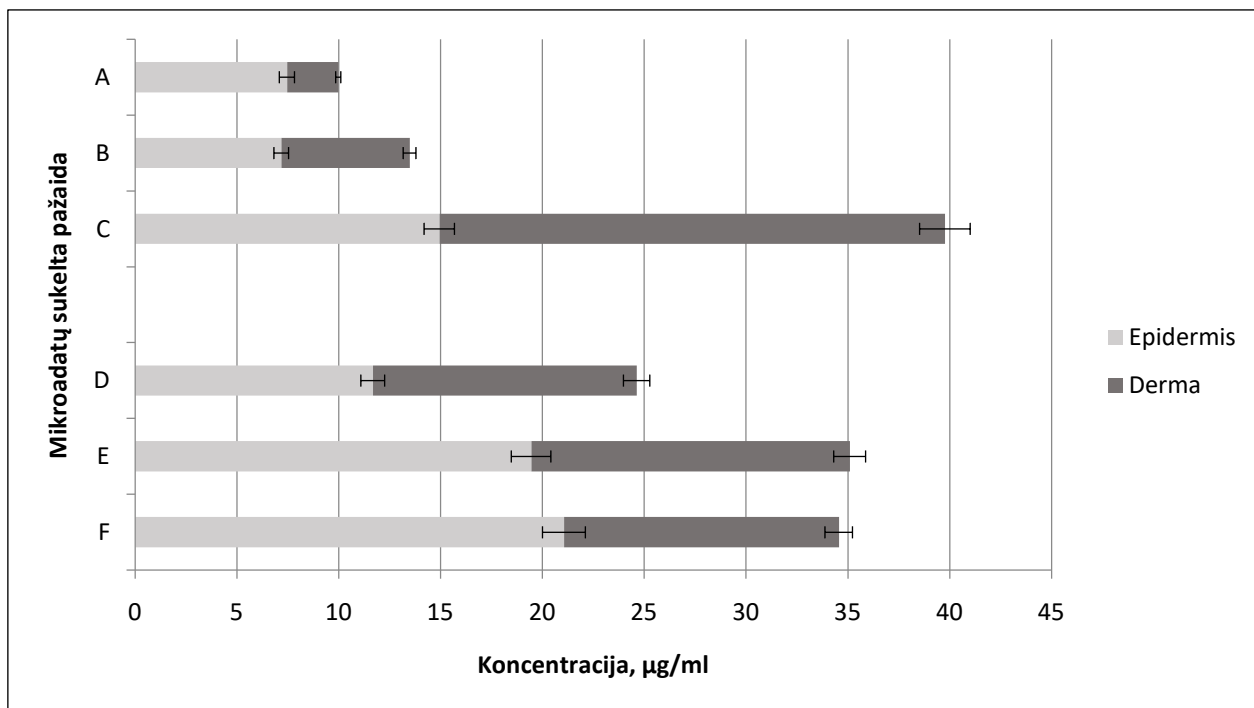
Lidokaino skvarbos palyginimas pro žmogaus odą per 4 valandas iš 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio bei 7 proc. lidokaino tirpalo pateikiama **9 pav.**



**9 pav.** Visas prasiskverbęs lidokaino kiekis į epidermį ir dermą per 4 valandas iš: (A) 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio (nepažeistos odos), (B) 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio sukeltą pažeidimą su  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis, (C) 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio sukeltą pažeidimą su  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis, (D) 7 proc. lidokaino etanolinio tirpalo (nepažeistos odos), (E) 7 proc. lidokaino etanolinio tirpalo sukeltą pažeidimą su  $P_{200} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis, (F) 7 proc. lidokaino etanolinio tirpalo sukeltą pažeidimą su  $P_{300} \times A_{600}$  dydžio mikroadatomis

Lidokaino skvarbos į odą *ex vivo* tyrimo rezultatai parodė, kad didesnis lidokaino kiekis prasiskverbė naudojant lidokaino ir tetrakaino mišinio tirpalą. Pažeidžiant odą  $P_{200} \times A_{600}$  ir  $P_{300} \times A_{600}$  dydžių mikroadatomis nustatyta, kad lidokainui, esant kartu su tetrakainu mišinyje, lidokaino skvarba pro odą padidėjo, atitinkamai, 1,46 ir 2,27 karto į epidermį ir 1,25 ir 7,15 karto į dermą, lyginant su lidokaino etanoliniu tirpalu.

Tetrakaino skvarbos palyginimas pro žmogaus odą per 4 valandas iš 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino mišinio pateiktas **10 pav.** Tetrakaino skvarbos pro odą *ex vivo* tyrimas parodė, kad pažeidžiant odą P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub> dydžių mikroadatomis, naudojant 7proc. tetrakaino tirpalą, tetrakaino skvarba pro odą padidėjo, atitinkamai, 2,7 karto į epidermį ir 2,48 karto į dermą, kai, naudojamos P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžių mikroadatos, tetrakaino skvarba į epidermį padidėjo 1,40 karto, tačiau sumažėjo 1,83 karto, lyginant su tetrakaino ir lidokaino mišinio tirpalu.



**10 pav.** Visas prasiskverbęs tetrakaino kiekis į epidermį ir dermą per 4 valandas iš: (A) 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio (nepažeistos odos), (B) 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio sukeliant pažeidimą su P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomis, (C) 7 proc. lidokaino ir 7 proc. tetrakaino etanolinio mišinio sukeliant pažeidimą su P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomis, (D) 7 proc. tetrakaino etanolinio tirpalo (nepažeistos), (E) 7 proc. tetrakaino etanolinio tirpalo sukeliant pažeidimą su P<sub>200</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomis, (F) 7 proc. tetrakaino etanolinio tirpalo sukeliant pažeidimą su P<sub>300</sub>×A<sub>600</sub> dydžio mikroadatomis

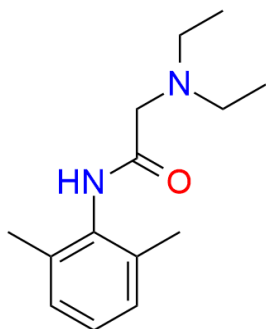
Lidokainui sąveikaujant su tetrakainu kietoje fazėje yra sudaromas eutektinis mišinys, kuris, padidina lidokaino ir tetrakaino lydymosi temperatūras. Remiantis tyrimų rezultatais, suformuojant eutektinį mišinį su tetrakainu, lidokaino skvarba pro odos sluoksnius didėja, kai, šiuo atveju, tetrakainas geriau veikia vienas ir didesnis jo kiekis prasiskverbęs pro odą nustatytas iš 7 proc. tetrakaino etanolinio tirpalo.

Skvarbos į odą *ex vivo* tyrimai yra informatyvūs metodai, kuriais galima įvertinti vaistinės medžiagos skvarbą ir vaistinių medžiagų pasiskirstymą tarp odos sluoksnių. Atsižvelgiant į odos barjerą, t.y. raginį sluoksnį, efektyvu naudoti skvarbą skatinančias priemones ir tai yra reikšminga formuluojant tiekimo į odą sistemas. Nors jau paskelbta mokslinių tyrimų rezultatų apie mikroadatų panaudojimą skvarbos tyrimuose, tačiau gauti tyrimų rezultatai suteikė papildomų įžvalgų apie lidokaino ir tetrakaino skvarbą naudojant mikroadatas, kaip skvarbos skatinimo sistemas.

### 3.2. Tiriamųjų junginių struktūros analizė naudojant FT-IR spektroskopiją

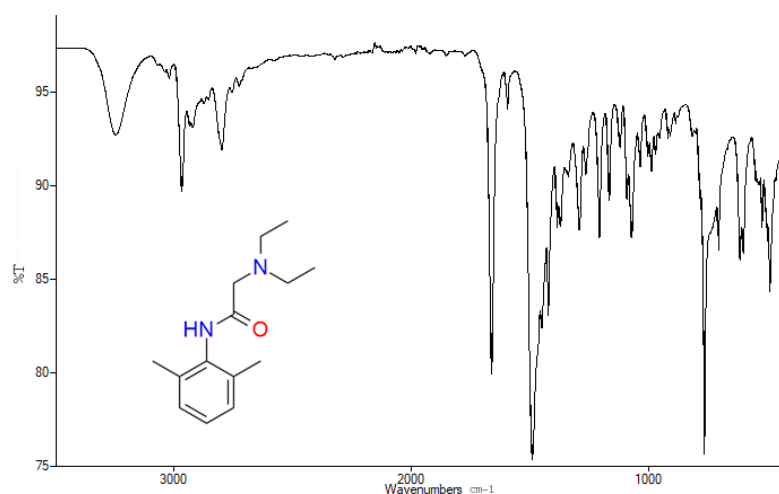
Tyrime naudotų junginių struktūrinis panašumas įrodomas FT-IR spektroskopijos metodu. Analizuojant spektrus, smailės identifikuojamos pagal funkcines grupes.

Lidokainas yra amidas naudojamas vietinei anestezijai, dar žinomas kaip lignokainas. Šio junginio struktūrinė formulė pateikiama **11 pav.**:

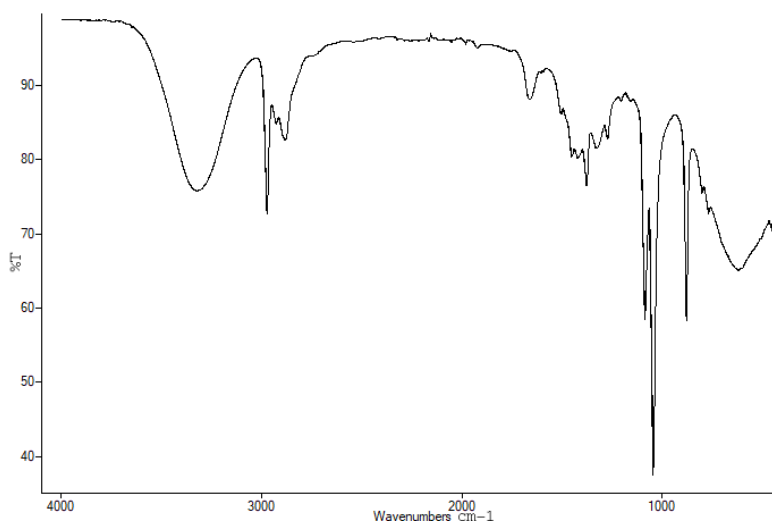


**11 pav.** Lidokaino cheminė struktūra

Lidokaino (**12 pav.**, **13 pav.**) benzeno žiedo signalas spektre matomas nuo 1600–2000  $\text{cm}^{-1}$ . C=O grupės signalas – 1500-1800  $\text{cm}^{-1}$  diapzone. Karbonilo grupės signalas – 1630-1690, o N, prijungtas prie 3 angliavandenių yra tretinis aminas, tačiau jis nėra tiesiogiai prijungtas prie H ir todėl signalo negalime nustatyti 3100-3500 diapazone kaip kitų aminių.

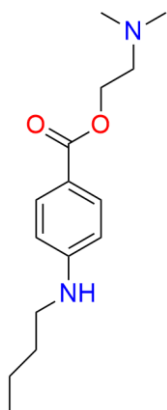


**12 pav.** Kietos agregatinės būsenos lidokaino IR spektras



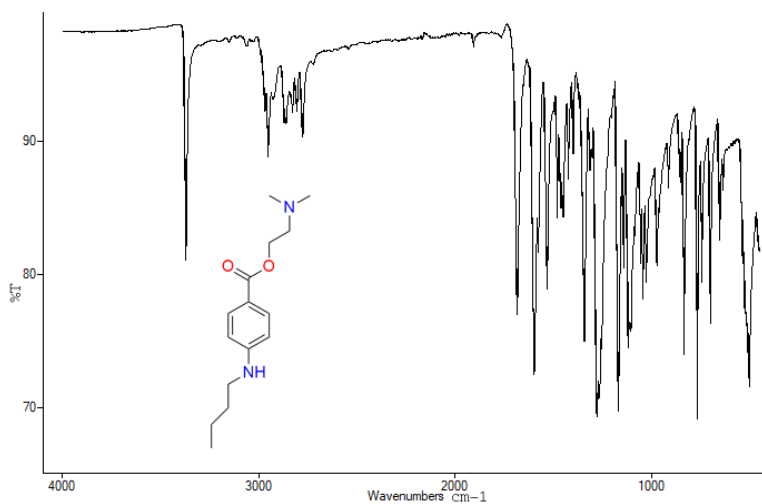
**13 pav.** Lidokaino etanolinio tirpalo IR spektras

Tetrakainas dar yra žinomas kaip ametakainas, tai esteris naudojamas vietinei anestezijai. Šio junginio struktūrinė formulė yra pateikta **14 pav.**:



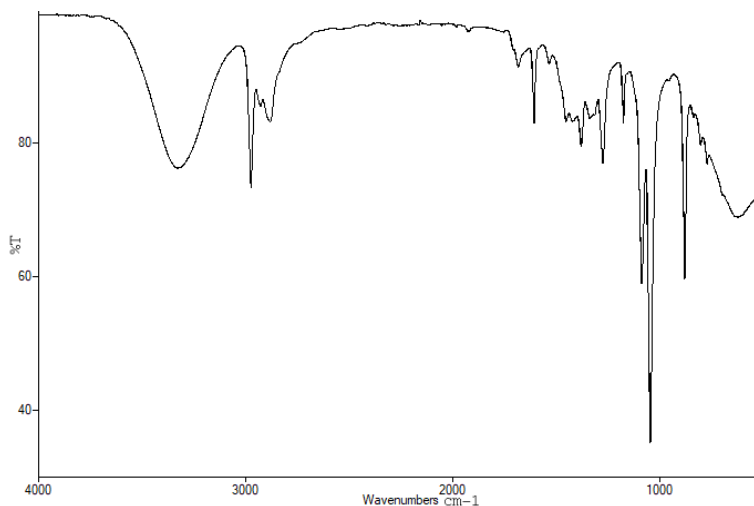
**14 pav.** Tetrakaino cheminė struktūra

Tetrakaino (**15 pav.**, **16 pav.**) aromatinė struktūra spektre matoma 1600-2000  $\text{cm}^{-1}$  diapazone, esterio grupės pikas 1690  $\text{cm}^{-1}$ . Tretinis aminos nerodo jokio signalo IR spektre. NH grupės pikas spektre 3100-3500  $\text{cm}^{-1}$  diapazone.



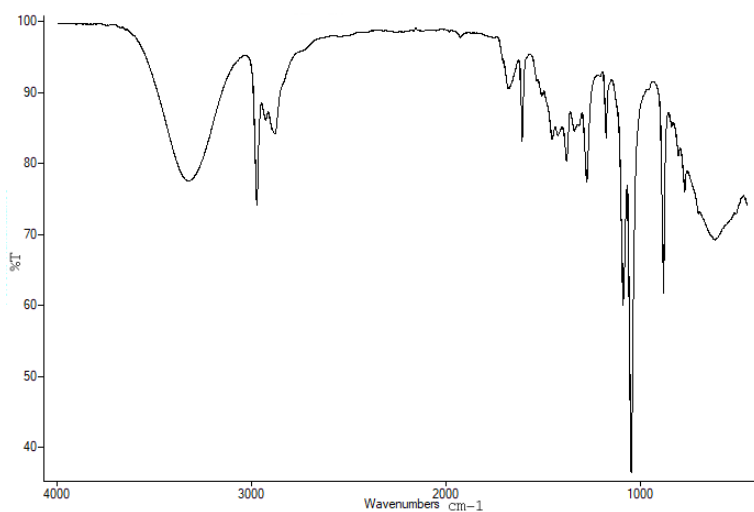
**15 pav.** Kietos agregatinės būsenos tetrakaino IR spektras





**16 pav.** Tetrakaino etanolinio tirpalo IR spektras

Lidokaino ir tetrakaino eutektinio mišinio FT-IR spektras pateikiamas **17 pav.** Lidokainą ir tetrakainą sumaišius mišinys išsilydo, padidėja jų lydymosi temperatūra, pakinta farmakokinetinės savybės, bei struktūra. Šiuo atveju, tai ne tas metodas, kuriuo galima tiksliai įvertinti ar tarp tiriamųjų junginių susidarė sąveika, nes metodas parodo ribotas galimybes.



**17 pav.** Lidokaino ir tetrakaino eutektinio mišinio IR spektras

Lidokaino ir tetrakaino atveju FT-IR metodas nėra pakankamai efektyvus vertinti susidariusias sąveikas, todėl metodas galėtų būti pakeistas kitu, jautresniu, pvz.: mikrokalorimetrijos metodu.

## Išvados

1. Nustatyta, kad naudojant lidokaino ir tetrakaino eutektinį mišinį yra pasiekama geresnė anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbą į odą nuo 1,47 iki 7,15 karto, sukeliant pažaidą skirtingų dydžių mikroadatomis. Skvarbos *ex vivo* tyrimų rezultatai patvirtino aktyvų mikroadatų vaidmenį anestezuojančių vaistinių medžiagų skvarbai į žmogaus odą.
2. Naudojant 7 proc. lidokaino etanolinį tirpalą ir pažeidžiant odą skirtingų dydžių mikroadatomis, nebuvo pasiekta geresnė lidokaino skvarba odos sluoksniuose. Nustatyta, kad lidokainas geriau skverbiasi į odą iš mišinio su tetrakainu.
3. Naudojant 7 proc. tetrakaino etanolinį tirpalą ir pažeidžiant odą skirtingų dydžių mikroadatomis, skvarba į odą pagerėjo, joje susikaupė nuo 1,04 iki 9,84 kartų daugiau tetrakaino, lyginant su mechaniškai nepažeista oda. Skvarbą galėjo pagerinti tetrakaino molekulinė struktūra, tirpumas tirpiklyje.
4. Formuojant vaistinės medžiagos plėveles ant mikroadatų iš lidokaino ir tetrakaino etanolinių ir vandeninių tirpalų nustatyti jų kiekiai odos sluoksniuose ir konstatuota, kad prasiskverbimas į odą nepagerėjo. Lidokaino ir tetrakaino kiekiai odos sluoksniuose buvo mažesni už kiekius nepažeistoje odoje nuo 1,09 iki 20 kartų. Skvarbos į žmogaus odą tyrimai *ex vivo* yra informatyvūs metodai, kuriais galima įvertinti vaistinės medžiagos skvarbą ir medžiagų pasiskirstymą tarp odos sluoksnių, o rezultatai suteikia papildomų įžvalgų apie skvarbą, šiuo atveju, naudojant mikroadatas, kaip skvarbos skatinimo sistemas.
5. Naudojant *Essential FTIR* programinę įrangą negalima patikimai patvirtinti, kad tarp lidokaino ir tetrakaino įvyksta sąveika, dėl to pakinta jų savybės ir, kad tai turi įtakos skvarbai į odą.

## Literatūros sąrašas

1. ALKILANI, A.Z. and M.T.C. MCCRUDDEN and R.F. DONNELLY. Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*, 2015;7, 438-470.
2. BAEK S. and J. SHIN and Y. KIM Drug-coated microneedles for rapid and painless local anesthesia. *Biomed. Microdevices*, 2017;19(2), 1-11.
3. BENSON, A.E. and A.C. WATKINSON. Transdermal and Topical Drug Delivery Principles and Practice. *A John Wiley & Sons, Inc., Publication*, 2012.
4. BOLZINGER, M.A. and M.S. PELLETIER and J.Y. CHEVALIER. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2012;17, 156–165.
5. BROWN, M.B., et al. Transdermal drug delivery systems: skin perturbation devices. *Methods Mol Biol* 2008; 437:119-139.
6. BURTON, S., et al. Rapid intradermal delivery of liquid formulations using a hollow microstructured array. *Pharm. Res.*, 2011;28, 31–40.
7. CHO, B.A. and Y. SEONG-KEUN and Y. SEO. Signatures of photo-aging and intrinsic aging in skin were revealed by transcriptome network analysis. *Aging*, 2018;10(7), 1609-1626.
8. CHU, L.Y. and M.R. PRAUSNITZ. Separable arrowhead microneedles, *J. Control. Release*, 2011;149, 242–249.
9. COONDOO, A. Drug Interactions in Dermatology: What the Dermatologist Should Know. *Dermatol.*, 2013; 58(4), 249–254.
10. DRAGICEVIC, N. and H.I. MAIBACH. Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 2015, ISBN 978-3-662-47038-1.
11. DAVIESA, L.B., et al.. Accelerating Topical Anaesthesia Using Microneedles. *Skin Pharmacol Physiol.*, 2017;30, 277-283.
12. DEACON B. AND J. ABRAMOWITZ. Fear of needles and vasovagal reactions among phlebotomy patients. *J Anxiety Disord*, 2006;20(7): 946-960.
13. ECONOMIDOUA, S.N. AND D.A. LAMPROUA AND D. DOUROUMISB. 3D printing applications for transdermal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018;544, 415-424.
14. ELIAS, P. M. and K.R. FEINGOLD. Permeability barrier homeostasis. *Skin Barrier. P. M. Elias and K. R. Feingold. New York, Taylor & Francis*, 2006, 337-361.
15. FABBROCINI, G., et al. Chemotherapy and skin reactions. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2012;31(50), 1-6.
16. GIORDANO D., et al. Topical local anesthesia: focus on lidocaine–tetracaine combination. *Local and Regional Anesthesia*, 2015;8, 95-100.
17. GUPTA J., et al. Rapid local anesthesia in humans using minimally invasive microneedles. *Clin. J. Pain*, 2012;28, 129–135.
18. GUPTA J., et al. Kinetics of skin resealing after insertion of microneedles in human subjects. *J. Control. Release*, 2011;154, 148–155.
19. GUPTA, J. Microneedles for transdermal drug delivery in human subjects. *The Dissertation*, 2009.
20. GODIN, B. and E. TOUITOU. Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models. *Adv Drug Deliv Rev* 2007;59(11):1152-1161.

21. HARPER, J.C., et al. Fabrication and testing of a microneedles sensor array for p-cresol detection with potential biofuel applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2009;1, 1591–1598.
22. HASHMI, S., et al. Genetic transformation of nematodes using arrays of micromechanical piercing structures. *Biotechniques* 1995;19, 766–770.
23. YANG, H., et al. Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nature protocols*, 2015;10(3), 382-396.
24. YEUN-CHUN, K. and P. JUNG-HWAN and R.P. MARK. Microneedles for drug and vaccine delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012;64, 1547-1568.
25. YING, Z., et al. Development of Lidocaine-Coated Microneedle Product for Rapid, Safe, and Prolonged Local Analgesic Action. *Pharm. Res.*, 2012;29, 170-177.
26. KAMMEYER, A. and R.M. LUITEN. Oxidation event and skin aging. *Ageing Research Reviews*, 2015;21, 16-29.
27. KIM, Y.C., et al.. Formulation and coating of microneedles with inactivated influenza virus to improve vaccine stability and immunogenicity. *J. Control. Release*, 2010;142, 187–195.
28. KOLARSICK, P.A.J. and M.A. KOLARSICK and C. GOODWIN. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 2011;3(4), 1-11.
29. LEE, J.W. and M.R. and HAN J.H. PARK. Polymer microneedles for transdermal drug delivery. *J. Drug Target.*, 2013;21, 211–223.
30. LEVIN, J. and H.I. MAIBACH. The correlation between transepidermal water loss and percutaneous absorption: an overview. *J Control Release*, 2015;103(2), 291-299.
31. MA M. And C. WU. Microneedle, bio-microneedle and bio-inspired microneedle: A review. *Journal of Controlled Release*, 2017;251, 11-23.
32. MACHADO, A.C.H.R., et al. Skin penetration. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications*, 2018.
33. MCGRATH, J.A. and J. UITTO. Structure and Function of the Skin. *Rook's Textbook of Dermatology*, 2016, 1–52.
34. MCLAFFERTY, E., et al. The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin. *Art&Science*, 2012;27(3), 35.
35. MITRAGOTRI, S. Devices for overcoming biological barriers: the use of physical forces to disrupt the barriers. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65(1):100-103.
36. NOH, Y.N., et al.. In vitro characterization of the invasiveness of polymer microneedle against skin. *Int. J. Pharm.*, 2010;397, 201–205.
37. PAULMANN, M. and M. MOCKENHAUPT. Severe drug-induced skin reactions: clinical features, diagnosis, etiology, and therapy. *Journal of the German Society of Dermatology*, 2015;1307, 625-643.
38. PRAUSNITZ, M. R. and R. LANGER. Transdermal drug delivery. *Nat Biotech*, 2008; 26(11), 1261-1268.
39. PRAUSNITZ M. R. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2004;56(5), 581-587.
40. RUELA, A.L., et al.. Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016; 52(3), 527-544.
41. SALAA, M., et al. Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: Properties, mechanisms of skin interactions and medical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018;535, 1-17.

42. SAURER E.M., et al. Layer-by-layer assembly of DNA- and protein-containing films on microneedles for drug delivery to the skin. *Biomacromolecules*, 2010;11, 3136–3143.
43. SWARBRICK, J. and J.C. BOYLAN. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. *New York, Marcel Dekker*, 2002.
44. TZU-EN L. General Conclusions and Future Perspectives. *T.-E. Lin, Soft Probes for Bioelectrochemical Imaging, Springer Theses*, 2019, 117-120.
45. VASILIAUSKIENĖ, S. Kosmetologijos užrašai. Klaipėda, 2004, 1-13.
46. WAGHULEA, T., et al. Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system. *Biomedicine&Pharmacotherapy*, 2019;109, 1249-1258.
47. WEN, H. and H. JUNG and H. LI. Drug Delivery Approaches in Addressing Clinical Pharmacology-Related Issues: Opportunities and Challenges. *The AAPS Journal*, 2015;17(6), 1327-1340.
48. WONGLERTNIRANT, H.W., et al. Macromolecular delivery into skin using a hollow microneedle. *Biol. Pharm. Bull.*, 2010;33, 1988–1993.
49. QASSEM, M. and KYRIACOU P. Review of Modern Techniques for the Assessment of Skin Hydration. *Cosmetics*, 2019;6(19), 1-28.
50. ŽILIUS M. Dermatologinių puskiečių formų su propolio produktais modeliavimas, optimizavimas ir biofarmacinis vertinimas. 2014.