

SALICYLATE DE DIETHYLAMINE  $^{14}\text{C}$  ET MYRTECAINE  $^{14}\text{C}$  : RESORPTION  
PERCUTANEE CHEZ L'ANIMAL DANS TROIS VEHICULES DIFFERENTS.

DUPRONT A.\*, GUICHARD J.P.\*\* , ACHTERT G.\*\*\*,  
HAUSLEITER H.J.\*\*\*, JACQUOT C.\*.

\* Laboratoire de Pharmacocinétique expérimentale - Faculté  
de Pharmacie PARIS XI - F - 92290 CHATENAY MALABRY.

\*\* Laboratoires LTM - Département Pharmacocinétique - 42 rue  
Rouget de l'Isle - F - 92151 SURESNES

\*\*\* KALI-CHEMIE PHARMA GmbH - R.F.A. - HANOVER.

La Myrtécaïne, anesthésique de surface et de conduction est utilisée depuis de nombreuses années comme principe actif de préparations topiques à usage analgésique et anti-inflammatoire, en association avec un salicylé, le salicylate de diéthylamine.

Le but de cette étude est de déterminer l'absorption percutanée du salicylate de diéthylamine dans trois préparations émulsionnées et l'absorption et l'élimination de la Myrtécaïne après administration percutanée dans deux de ces préparations. Dans une préparation la Myrtécaïne est sous forme de chlorhydrate et dans l'autre, sous forme de lauryl-sulfate. Il est donc intéressant de voir l'influence du dérivé utilisé sur la pénétration transcutanée de la Myrtécaïne.

#### METHODES

##### Substances radioactives

La MYRTECAINE  $^{14}\text{C}$  (30 mCi/mM) a été synthétisée par AMERSHAM. La pureté radiochimique a été contrôlée avant chaque utilisation par CCM sur plaques de silice en utilisant deux systèmes solvants : butanol, eau, acide acétique (120 - 50 - 30) et chloroforme, acétone, diéthylamine (65 - 35 - 1,5). La révélation a été faite par passage au scanner bidimensionnel (Packard 7230). Dans les conditions expérimentales, la pureté est de 98 %.

Le salicylate de diéthylamine  $^{14}\text{C}$  est obtenu in situ par mélange dans chacune des préparations, de diéthylamine inactive et d'acide salicylique  $^{14}\text{C}$  fourni par New England Nuclear.

Préparations galéniques

Les trois préparations étudiées sont des émulsions huile dans l'eau dont les compositions sont les suivantes :

- Crème A : salicylate de diéthylamine ..... 10 %
- phase aqueuse ..... 39,5 %
- phase huileuse autoémulsionnable .... 50,5 %

Cette crème ne contient pas de Myrtécaïne.

- Crème B : salicylate de diéthylamine ..... 10 %
- Myrtécaïne base (sous forme  
chlorhydrate) ..... 1 %
- phase aqueuse ..... 49 %
- phase huileuse autoémulsionnable .... 40 %

La Myrtécaïne  $^{14}\text{C}$  est incorporée sous forme de chlorhydrate.

- Lait : salicylate de diéthylamine ..... 10 %
- Myrtécaïne (sous forme de  
laurylsulfate) ..... 0,5 %
- phase aqueuse ..... 59,5 %
- phase huileuse autoémulsionnable .... 30 %

L'incorporation de la Myrtécaïne  $^{14}\text{C}$  se fait en deux temps, réalisation d'un citrate de Myrtécaïne  $^{14}\text{C}$  qui est émulsionné dans le lait et addition d'une solution de laurylsulfate de Na en quantité stœchiométrique, pour former in situ le laurylsulfate de Myrtécaïne  $^{14}\text{C}$ .

Absorption percutanée du salicylate de diéthylamine  
Etude in vivo chez le lapin.

L'étude est réalisée sur des lapins mâles New Zealand d'un poids moyen de 2,5 kg.

La veille de l'étude, une surface de 12 cm x 12 cm est soigneusement épilée sur le dos de chacun des animaux.

La préparation à étudier est appliquée sur une surface de peau épilée de 10 cm x 10 cm et un léger massage est effectué pendant 3 minutes. La quantité de préparation appliquée est de 0,5 g/kg soit 50 mg/kg de salicylate de diéthylamine. La zone d'application est recouverte par un pansement semi-occlusif pour les crèmes A et B (feuille d'aluminium perforée maintenue en place par du film adhésif et un bandage) et par un pansement occlusif pour le lait (feuille d'aluminium).

Les animaux sont placés en cages à métabolisme individuelles. Les salicylés s'éliminant uniquement par voie rénale, seules les urines sont collectées au cours du temps, selon la fréquence suivante : 24, 48, 72, 96, 120 heures.

La radioactivité contenue dans les échantillons d'urine est mesurée immédiatement par scintillation liquide dans de l'Insta-Gel, à l'aide d'un compteur  $\beta$  à scintillation liquide Packard type 3380.

Les résultats sont exprimés en % de la dose de radioactivité administrée.

Les résultats moyens donnés, correspondent à au moins cinq déterminations expérimentales et sont associés à l'écart type  $S_x$ .

### Absorption percutanée de la Myrtécaïne

#### a) Etude in vitro

L'absorption percutanée in vitro a été étudiée quantitativement sur des biopsies de peau placées dans une cellule de diffusion décrite par MARTY et WEPIERRE (4) (8), d'après JOSSE-AUZELLE et CHAUMEIL (3), qui permet de mettre au contact du derme, un liquide de survie dans lequel sera dosée la substance absorbée à travers la peau.

La peau animale mise en oeuvre a été prélevée chez des rats mâles, sans poils (souche Atrichis) au niveau abdominal. Après prélèvement, le tissu adipeux cutané est éliminé.

La face épidermique de la biopsie de peau est fixée à l'aide de colle acrylique sur un anneau de téflon de surface interne égale à  $2,27 \text{ cm}^2$ . Deux compartiments sont délimités de part et d'autre de la biopsie (fig. 1) :

- l'un épidermique, est constitué par un cylindre de verre placé sur la face supérieure de la peau,
- l'autre dermique comprend un réservoir de  $8 \text{ cm}^3$  à orifice cylindrique et à ajutage latéral disposé sur la face intérieure du tégument.

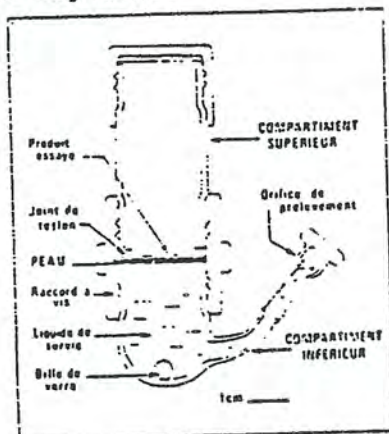


Fig. 1 : Cellule à diffusion

Les deux éléments sont assemblés contre la peau fixée à l'anneau de téflon à l'aide d'une bague de serrage.

Le compartiment inférieur, contenant des billes de verre pour l'agitation, est rempli de liquide de survie constitué par une solution de chlorure de sodium à 9 ‰ contenant 200 U/ml de Pénicilline G et 0,2 mg/ml de Streptomycine afin d'éviter toute fermentation- durant l'essai.

La préparation étudiée est appliquée à l'aide d'une spatule de verre sur toute la surface de la biopsie, à raison d'environ 40 mg.cm<sup>-2</sup> exactement pesés. La partie supérieure de la cellule est maintenue dans une enceinte thermostatée à 25° ± 2°C et soumise à une agitation transversale.

Après 2 heures de contact, le liquide de survie est prélevé et remplacé par du liquide neuf.

L'essai est poursuivi de manière identique aux temps 4, 6, 8, 10 et 24 heures.

Les quantités de Myrtécaïne présente dans le liquide de survie sont mesurées pour chaque temps de contact, par scintillation liquide (compteur Packard Tricarb 3375). Le mouvement propre du compteur est déduit des taux de comptage des échantillons en coups par minute (cpm).

Les résultats sont exprimés en poids de substance (Myrtécaïne base) retrouvée dans les échantillons.

Ces résultats moyens correspondent à au moins 17 déterminations expérimentales et sont associés à l'écart à la moyenne.

Les constantes de perméabilité apparentes de la Myrtécaïne, durant la période où le flux est constant, ont été calculées à partir de l'expression :

$$K_p \text{ (cm. h}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Flux d'absorption } (\mu\text{g.cm}^{-2} \text{ h}^{-1})}{\text{gradient de concentration } (\mu\text{g.cm}^{-3})}$$

b) Biodisponibilité percutanée chez le rat. Etude in vivo

La biodisponibilité de la Myrtécaïne <sup>14</sup>C a été mesurée selon le protocole de Feldman et Maibach (1) (2) en comparant l'intensité des éliminations urinaires et fécales en fonction du temps, après administration intraveineuse ou percutanée des deux sels de Myrtécaïne <sup>14</sup>C.

Des rats Hairless (souche Atrichis) d'un poids moyen de 250 g sont placés dans des cages à métabolisme individuelles (IFFA - CREDO) et les urines et fèces sont collectées au cours du temps selon les séquences :

- urines : 6, 12, 24, 48, 72 et 96 heures pour la voie I.V.

Pour la voie percutanée, le premier recueil est effectué à 24 heures.

- fèces : 24, 48, 72 et 96 heures pour les administrations I.V. et percutanées.

Les animaux sont mis à la diète hydrique la veille de l'administration.

Pour la voie intraveineuse, les animaux reçoivent dans la veine du pénis 0,3 ml/kg soit d'une solution aqueuse isotonique de citrate de Myrtécaïne (15 mg.ml<sup>-1</sup> en base, 92,3 µCi.ml<sup>-1</sup>) soit d'une solution de laurylsulfate de Myrtécaïne (15 mg.ml<sup>-1</sup> en base, 87,8 µCi.ml<sup>-1</sup>) dans un mélange propanediol-eau (80/20).

Pour la voie percutanée, 100 mg de crème B ou de lait exactement pesés sont appliqués sur une surface de 3cm<sup>2</sup> située sur la face dorsale (zone interscapulaire). La zone d'application est recouverte par un pansement semi-occlusif pour la crème B et occlusif pour le lait. Un dispositif de protection est fixé sur le dos de l'animal pour éviter le léchage ou l'arrachement du pansement.

La radioactivité contenue dans les urines et les fèces est mesurée par scintillation liquide, soit directement pour les urines, soit après digestion dans le Soluène (Packard) pour les fèces.

Le mouvement propre du compteur est déduit du taux de comptage de chaque échantillon en coups par minute (cpm). Le taux de comptage est ensuite corrigé de l'auto-extinction par la méthode de l'étalon interne, pour obtenir les désintégrations par minute (dpm), rendant compte de l'activité réelle de chaque échantillon. Les résultats sont ensuite exprimés en % de la dose de radioactivité administrée.

Les résultats moyens donnés, correspondent à au moins 5 déterminations et sont associés à l'écart-type (Sd).

La biodisponibilité absolue par la voie percutanée est calculée par la formule :

$$F = \frac{\% \text{ cumulé excrété de } t = 0 \text{ à } t \infty, \text{ voie percutanée}}{\% \text{ cumulé excrété de } t = 0 \text{ à } t \infty, \text{ voie I.V.}}$$

## RESULTATS

### Absorption percutanée du salicylate de diéthylamine chez le lapin.

Chez le lapin, à partir de la crème A, le salicylate de diéthylamine se résorbe rapidement : 25 % est retrouvé dans les urines en 24 heures. L'absorption globale est de  $40 \pm 4$  % après 96 heures.

A partir de la crème B, cette absorption est encore plus rapide avec 41 % en 24 heures. L'absorption globale s'élève à  $57 \pm 5$  % après 96 heures.

A partir du lait on retrouve dans les urines de 24 heures 37 % de la dose et  $50 \pm 4,6$  % dans les urines en 96 heures.

### Absorption percutanée in vitro de la Myrtécaïne chez le rat.

In vitro l'absorption de la Myrtécaïne est faible (tableau I). Au bout de 2 heures, la quantité retrouvée dans le liquide de survie est de 0,002 % de la quantité appliquée dans le cas du chlorhydrate de Myrtécaïne contenu dans la crème B. Cette quantité est encore plus faible pour le laurylsulfate de Myrtécaïne contenu dans le lait avec 0,0008 % de la quantité appliquée.

Dans les deux cas, l'absorption augmente au cours du temps, tout en restant très faible et un temps de latence de 6 heures 30 minutes est observé.

Après 24 heures de contact, la quantité totale retrouvée dans le liquide de survie atteint 1,5 % de la quantité déposée pour la crème B et 0,6 % pour le lait soit 2,5 fois moins.

Les constantes de perméabilité obtenues (tableau I) sont peu élevées :  $30,3 \times 10^{-6}$  cm.h<sup>-1</sup> pour le chlorhydrate de Myrtécaïne dans la crème B et  $16 \times 10^{-6}$  cm.h<sup>-1</sup> pour le laurylsulfate de Myrtécaïne dans le lait.

TABLEAU I : Absorption percutanée in vitro (peau de rat) de la Myrtécaïne.

		Temps en heures					
		2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	24 h
CRÈME	Quantités absorbées cumulées	0,0119	0,1237	0,3575	0,8483	1,1135	7,1219
		0,0113	0,2118	0,2597	0,4561	0,591	2,312
	Kp	0,0023	0,0253	0,0761	0,1712	0,225	1,173
		0,0022	0,0243	0,0731	0,0793	0,1255	0,474
	Kp (10 <sup>-3</sup> cm <sup>2</sup> h <sup>-1</sup> )	0,1871	3,1639	6,3594	13,5257	14,2139	20,223
		0,58	2,5197	1,751	2,7529	6,7256	3,2232
LAIT	Quantités absorbées cumulées	0,0025	0,0273	0,0711	0,1704	0,336	1,332
		0,0216	0,2147	0,0389	0,2532	0,1253	0,121
	Kp	0,0703	0,2734	0,0277	0,0521	0,1229	0,3773
		0,0075	0,0744	0,0115	0,212	0,031	0,124
	Kp (10 <sup>-3</sup> cm <sup>2</sup> h <sup>-1</sup> )	0,2493	1,3233	0,9449	1,6229	7,627	18,249
		0,1824	2,7122	1,2233	1,3123	2,123	2,253

Biodisponibilité percutanée in vivo de la Myrtécaïne chez le rat.

Chez le rat après administration intraveineuse de citrate et de laurylsulfate de Myrtécaïne, le produit est rapidement éliminé dans l'urine : en 12 heures, 67 % de la radioactivité administrée sont retrouvés pour le citrate et 55 % pour le laurylsulfate. Ensuite la vitesse d'élimination urinaire décroît et après 24 heures l'élimination est de 1 % de la dose par 24 heures. Après 72 heures, le bilan urinaire est de 74,3 % pour le citrate et de 62 % pour le laurylsulfate

TABLEAU II  
Bilan des excréments urinaires et fécales après administration I.V.  
Résultats exprimés en % de la dose  
(m ± Sd - n = 6)

	Citrate de Myrtécaïne	Laurylsulfate de Myrtécaïne
URINES	74,34	61,99
0.72	± 6,20	± 14,69
FECES	12,54	13,47
	± 8,14	± 1,86
TOTAL	86,88	75,46
	± 12,56	± 11,50

L'élimination fécale est faible : 3 % pour le citrate et 6 % pour le laurylsulfate après 24 heures. Sur 72 heures le bilan d'excrétion fécale est de 12,5 % pour le citrate et 13,5 % pour le laurylsulfate. La somme des excrétats conduit à une élimination globale en 72 heures de 86,8 % de la dose pour le citrate et 75,5 % pour le laurylsulfate.

Les résultats ne sont pas significativement différents pour les deux sels de Myrtécaïne ( $p > 0,05$ ).

TABLEAU III  
Bilan des excrétions urinaires et fécales après administrations percutanées.  
Résultats en % de la dose  
( $m \pm Sd - n = 6$ )

	Chlorhydrate de Myrtécaïne = Crème B		Laurylsulfate de Myrtécaïne = Lait	
	0 - 72 h	0 - 96 h	0 - 72 h	0 - 96 h
URINES	16,19 $\pm 2,31$	18,95 $\pm 2,64$	21,75 $\pm 4,19$	23,53 $\pm 4,37$
FECES	3,48 $\pm 0,65$	4,46 $\pm 0,53$	4,4 $\pm 1,9$	5,14 $\pm 2,06$
TOTAL	19,67 $\pm 1,75$	23,41 $\pm 2,41$	26,15 $\pm 3,82$	28,67 $\pm 5,41$

Après application cutanée, l'élimination urinaire en 24 heures représente 6,3 % de la radioactivité déposée pour la crème B et 13,5 % pour le lait. Dans les 24 heures suivantes, 6 % de la dose sont encore éliminés pour les deux formulations ensuite l'élimination est d'environ 1 % de la dose par période de 24 heures. En 96 heures le bilan d'élimination urinaire est de 19 % pour la crème B et de 23,5 % pour le lait. L'élimination fécale est faible et ne dépasse pas 1 % par période de 24 heures. Le bilan d'élimination fécale sur 96 heures est de 5 % en moyenne pour la crème et le lait. 96 heures après l'application, le bilan global d'excrétion de la radioactivité est de  $23,4 \pm 2,4$  % pour la crème B (chlorhydrate de Myrtécaïne) et de  $28,7 \pm 5,4$  % pour le lait (laurylsulfate de Myrtécaïne).

Ces moyennes ne diffèrent pas significativement ( $p > 0,05$ ).

La biodisponibilité du chlorhydrate de Myrtécaïne appliquée sur la peau dans la crème B par rapport au citrate de Myrtécaïne administré en I.V., est de 22,6 % (en 72 heures).



La biodisponibilité absolue du laurylsulfate de Myrtécaïne appliqué sur la peau, dans le lait, est de 37,6 % (en 96 heures).

#### DISCUSSION - CONCLUSION

L'absorption percutanée du salicylate de diéthylamine à partir des trois préparations étudiées est importante et rapide chez le lapin. On observe pendant les premières 24 heures une absorption plus rapide dans le cas de la crème B contenant la Myrtécaïne que dans le cas de la crème A. Ceci peut être dû à la teneur en eau plus élevée de l'excipient de la crème B mais aussi peut montrer une synergie entre les deux principes actifs, les anesthésiques locaux pouvant augmenter la résorption d'autres principes actifs par vasodilatation locale.

En ce qui concerne la Myrtécaïne, l'étude in vitro de son absorption percutanée à partir de la crème B ou du lait, permet de classer celle-ci parmi les substances à faible coefficient de diffusion (8). Cependant le passage transcutané est plus important pour la crème B que pour le lait, ce qui peut s'expliquer par la solubilité relative dans le liquide de survie du chlorhydrate de Myrtécaïne contenu dans la crème, alors que le laurylsulfate y est pratiquement insoluble. Le compartiment dermique n'est en effet renouvelé que toutes les 2 heures et il est possible qu'un phénomène de saturation apparaisse avec le laurylsulfate de Myrtécaïne.

In vivo, selon le protocole de Feldman et Maibach, on peut au contraire observer que le pourcentage d'absorption de la Myrtécaïne est relativement important ce qui peut s'expliquer par le renouvellement permanent du compartiment sanguin au niveau du derme qui assure une dilution suffisante pour que les problèmes de solubilité n'apparaissent pas. On peut constater qu'il n'est pas possible de mettre en évidence de différence d'absorption entre les deux sels de Myrtécaïne, comme on aurait pu le penser, la liposolubilité du laurylsulfate lui permettant en théorie une meilleure diffusion à travers la couche cornée (5) (7). Ceci a été démontré dans le cas de l'Adrénaline (6). Il faut cependant noter que dans cette étude les excipients contenant les deux sels de Myrtécaïne sont différents, le lait contenant le laurylsulfate de Myrtécaïne étant beaucoup plus aqueux que la crème contenant le chlorhydrate de Myrtécaïne.

SUMMARY : The percutaneous absorption of  $^{14}\text{C}$  Salicylate of Diethylamine in three O/W emulsions was checked in vivo in rabbits. The absorption is fast and important. The percutaneous absorption of two  $^{14}\text{C}$  Myrtécaïne derivatives (hydrochloride and laurylsulfate) in two O/W emulsions (cream B and milk), was measured in vitro and in vivo through Hairless rat skin. The permeability rate constants of the two derivatives are very weak. In vitro, hydrochloride in cream B is poorly absorbed but more than laurylsulfate from the milk. In vivo the absorption is better and quite important and there is no difference between the two derivatives.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. ANJO D.M., FELDMANN R.J., MAIBACH H.I.  
Methods for Predicting Percutaneous Penetration in man.  
in "Percutaneous Absorption of Steroids". Ed. by  
P. MAUVAIS-JARVIS, C.F.H. VICKERS and J. WEPIERRE,  
Academic Press, London, New York, 1980, 31-51.
2. FELDMANN R.J., MAIBACH M.I.  
Regional variations in Percutaneous Penetration of  $^{14}\text{C}$  -  
Cortisol in Man.  
J. Invest. Dermatol. 1967, 48, 181-183.
3. JOSSE-AUZELLE A.M., CHAUMEIL J.C.  
Ann. Pharm. Fr. 1974, 32, 581-595.
4. MARTY J.P.  
Thèse Doctorat d'Etat en Pharmacie.  
Paris Sud. 1976.
5. SCHEUPLEIN R.J., BLANK H.  
Physiol. Rev. 1971, 51, 702-747.
6. TRUBLIN F., GUYOT-HERMANN A.M., ROBERT H., WEPIERRE J.,  
CAZIN J.C.  
Etude de la biodisponibilité comparée du chlorhydrate et  
du laurylsulfate d'adrénaline par voie percutanée.  
Ann. Pharm. Fr. 1981, 39, 235-246.
7. WEPIERRE J.  
Facteurs physiques et physiologiques intervenant dans  
l'absorption percutanée de médicaments.  
Actualités Pharmacologiques 31ème série, Masson, Paris,  
1979, 169-202.
8. WEPIERRE J., MARTY J.P.  
Méthodes d'évaluation de l'absorption et de la biodis-  
ponibilité des médicaments appliqués sur la peau.  
Sci. Techn. Pharm. 1979, 8, 171-181.