

# Lze překonat kožní bariéru?

doc. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.,  
PharmDr. Kateřina Vávrová, Ph.D.

**V článku je vysvětlena podstata bariérových vlastností kůže a možnosti jejího překonání. Jako nejvýhodnější možnost se v posledních letech jeví použití akceleračních transdermálních penetračních (permeace). Mechanismus působení těchto nových látek spočívá v jejich interakci s lipidy intercelulárního prostoru *stratum corneum*. Klíčová slova: transdermální, transkarbam, *stratum corneum*, ceramid, sfingosin.**

Snaha podávat léčivo přes kůži je velmi stará. Různé zevní přípravky, kterými se lékaři a léčitelé snažili ovlivnit lidské zdraví, nalézáme i ve zbytcích nejstarších civilizací. Jak byly tyto snahy úspěšné je v naší době velmi těžké hodnotit, jisté však je, že podání léčiv přes kůži si od té doby získává stále větší pozornost.

Transdermální podání, tedy aplikace léčiva přes kůži za účelem dosažení systémových hladin, je třeba odlišit od aplikace dermální, kde je cílem průnik léčiva do hlubších vrstev kůže. Výhod transdermálního podání oproti podání perorálnímu je několik. Léčivo obchází gastrointestinální trakt i játra, což vede ke zvýšení jeho biologické dostupnosti a následnému snížení potřebné dávky, zamezuje interakcím s potravou a jinými léčivy a omezuje některé jeho nežádoucí účinky. Plazmatické hladiny jsou stabilnější, což je významné zejména u léčiv s nízkým terapeutickým indexem. Dále je snížena frekvence dávkování, náplast je jednoduchá k aplikaci i k ukončení podávání léčiva a oproti injekčnímu podání je zřejmou výhodou neinvazivnost. Většina léčiv však bohužel není schopna projít přes kůži v dostatečné míře k zajištění terapeutických koncentrací při aplikovatelné velikosti náplasti, proto se v dnešní době intenzivně hledá způsob, jak propustnost kožní bariéry dočasně snížit.

Ovlivnit kůži jako bariéru ve smyslu zvýšit její propustnost směrem „dovnitř“ je v principu možné jak fyzikálně, tak působením chemických sloučenin. Z fyzikálních metod byly již ve 20. letech minulého století provedeny pokusy za využití elektroforézy a později ultrazvuku. V současné době je velmi studovanou metodou tzv. elektroporace spočívající v tvorbě mikropórů působením elektrických výbojů a dokonce se objevují metody využívající toho, že se ve

zvláštním aplikátoru udělí mikronizovaným částicím léčiva rychlost přesahující rychlost zvuku a léčivo se takto „supersonicky“ vstřelí do kůže, resp. do podkoží. Nevýhoda těchto způsobů transdermální aplikace je zřejmá – vždy je nutné použít relativně složitě (a tedy finančně náročně) zařízení pro aplikaci.

Z tohoto důvodu se zdá, že schůdnější metodou je ovlivnit kůži chemicky, aplikovat na ni léčivo společně s látkou, která **dočasně** sníží její bariérovou funkci. Takové látky existují již asi 25 let a vžil se pro ně název *akcelerační transdermální penetrační (permeace)*. Těmto sloučeninám je věnována také tato práce.

## Kožní bariéra

Kůže je složena ze dvou hlavních vrstev – dermis a epidermis. Dermis – spodní část – je tvořena fibroblasty a extracelulární matrix a je bohatě zásobena kapilárami a nervovými zakončeními. Epidermis sestává ze čtyř vrstev – *stratum basale*, *spinosum*, *granulosum* a *corneum*, vrstva, která je pro bariérové vlastnosti kůže rozhodující. *Stratum corneum*, konečný produkt diferenciace epidermálních buněk, je nejsvrchnější vrstvou kůže a je zodpovědná za její bariérovou funkci. Je tvořena obvykle 18–21 vrstvami buněk a intercelulární hmotou složenou ze specifických lipidů. Tato struktura je často nazývána jako „cihly a malty“, kde korneocyty reprezentují „cihly“ a lipidová matrix v mezibuněčných prostorech „malty“ a skutečně připomíná dobře postavenou zeď.

Pro pochopení bariérové funkce *stratum corneum* je nezbytné znát detailně jeho chemické složení, neboť to určuje především jeho fyzikálně-chemické vlastnosti, které jsou příčinou a podstatou jeho chování. Zároveň nám toto poznání umožní pokusit se cíleně zasáhnout tyto struktury kůže s cílem ovlivnit je a bariérovou funkci dočasně pozměnit.

*Stratum corneum* je složeno ze 75–80% proteinů, 5–15% lipidů a zbytek tvoří další organické sloučeniny a voda, včetně přirozených zvlhčujících faktorů (aminokyseliny, močovina, laktamy aj.), které udržují kůži měkkou, poddajnou a vláčnou. Proteiny jsou obsaženy především v korneocytech (asi 70%  $\alpha$ -keratinu a přibližně 10%  $\beta$ -keratinu), a asi 15% proteinů představuje jiné peptidické struktury, včetně kožních enzymů. Korneocyty jsou vysoce nerozpustné a velmi rezistentní k působení chemikálií.

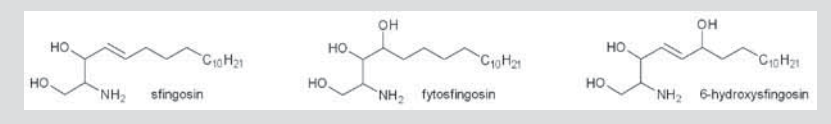
Intercelulární prostor *stratum corneum* je vyplněn směsí specifických lipidů s malým množstvím vody. Lipidy tvoří lamely, složené z několika dvojvrstev, které jsou uspořádány tak, že směřují svou hydrofobní částí dovnitř a hydrofilní, tvořenou hydroxylovými a karboxylovými skupinami vně, do vodného prostředí. Lamely jsou tvořeny přibližně z 50% ceramidy, 25% cholesterolem, 10% volnými mastnými kyselinami. Zbytek tvoří organické estery cholesterolu, cholesterol sulfát a glukosylceramidy. Zajímavé je, že v těchto lamelách nejsou přítomny fosfolipidy.

Ceramidy tvoří nejdůležitější a nejspecifičtější část lipidů *stratum corneum*. Jsou tvořeny bazickými nenasycenými alkoholy sfingosinem, fytosfingosinem nebo 6-hydroxysfingosinem, které jsou, jak z názvu vyplývá, amidickou vazbou připojeny k mastné kyselině s délkou řetězce nejčastěji 24 uhlíky, která může být nesubstituovaná, popřípadě se může jednat o  $\alpha$ -, či  $\omega$ -hydroxykyselinu (obrázek 1).

Ceramidům a jejich funkci v kůži a vztahu k některým onemocněním se budeme věnovat v některém z příštích článků.

Z hlediska stavby lamel a jejich organizace hrají významnou roli ceramidy, ve kterých je sfingosin (nebo jeho derivát) navázán na  $\omega$ -hydroxykyselinu s 30–34

Obrázek 1. Sfingosin a jeho strukturální obměny



uhlíky, jejíž hydroxyl je esterifikován kyselinou linolovou (obrázek 2). Tento typ ceramidu tvoří jakousi matici, okolo které se organizují ostatní ceramidy, ve kterých je kyselino-vá část tvořena kyselinami s 20-24 uhlíky.

Z mastných kyselin jsou ve *stratum corneum* přítomny především kyselina behenová ( $C_{22}$ ) a lignocerová ( $C_{24}$ ), v menší míře pak palmitová, stearová aj.

Významnou složkou lipidové matrix je cholesterol, který je rovněž často obsažen v biologických membránách; ve *stratum corneum* funguje jako stabilizátor lipidických struktur. Díky tomuto složení a uspořádání se ze *stratum corneum* stává vrstva mimořádně odolná vůči chemickým a fyzikálním vlivům, vrstva, která se svou velmi nízkou propustností vymyká jakékoliv jiné biologické membráně.

I když kůže je, jak již bylo řečeno, mimořádně odolnou bariérou, je zřejmé, že v ní můžeme najít místa, která by přicházela v úvahu jako možné cesty průniku xenobiotik do organismu. Jsou to především: průnik potní žlázou, mazovou žlázou, transfolikulární, intercelulární a transcelulární. Všechny tyto cesty v sobě skrývají určitá úskalí. Průnik potní žlázou přichází principiálně v úvahu pouze pro značně hydrofilní látky, kterých je mezi léčivy, jak je všeobecně známo, minimální množství. I tak je však k zabezpečení absorpce léčiva nutné zajistit jeho obrovský koncentrační spád. Průnik mazovou žlázou je problematický rovněž, ovšem z opačného důvodu. Vzhledem k tomu, že základním požadavkem na léčiva je určitá, nepřilíš vysoká lipofilita ( $\log P \approx 3-4$ ), je zřejmé, že takové látky se budou v prostředí tukové žlázy snadno kumulovat. Jejich přestup z lipofilního prostředí do organismu tak bude značně problematický, stejně jako průnik transfolikulární. K těmto omezením je nutné ještě přičíst relativně velmi malou plochu pórů i vývodů mazových žlázek.

V úvahu tak tedy připadají jako nejpravděpodobnější zbyvající dvě cesty průniku léčiva do organismu. Cesta transcelulární (přes korneocyty) a cesta intercelulární (přes lipidové lamely).

Transcelulární průnik léčiv do kůže a kůží je obtížný. Může být např. usnadněn tehdy, jestliže dokážeme zvýšit množství vody obsažené ve *stratum corneum*. To je možné díky tomu, že korneocyty obsahují značné množství hydrofilních aminokyselin obsahujících funkční skupiny schopné vodu vázat (např.  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$ ). Tak dojde k botnání korneocytů, k "nasávání" vody do intercelulárního prostoru, tím k rozvolnění a snížení viskozity lipidů a také k částečnému porušení integrity lipidových lamel.

Poněkud realizovatelnějším se stal v posledních asi 20 letech průnik intercelulární, neboť díky poznání molekulární podstaty lipidů *stratum corneum*, bylo možné vyvinout látky, které cíleně působí na tyto struktury, látky které umožní, či dokonce urychlí, průnik léčiva přes a nebo do kůže – akceleranty transdermální permeace. Vývoj těchto sloučenin šel ruku v ruce s odhalováním podstaty bariérových vlastností kůže.

### **Mechanismus působení akcelera-tů transdermální penetrace**

Urychlení přestupu léčiv přes kůži je možné dosáhnout celou řadou postupů. Historicky nejstarším je využití derivancí (např. kapsaicin, deriváty kys. nikotinové) nebo ker-

atoplastik či keratolytik (močovina, kys. salicylová apod.) a rozpouštědel (ethanol, ethylacetát, apod.). Vzhledem k tomu, že tyto sloučeniny nepůsobí cíleně na zmíněné supramolekulární struktury kůže, ale svým nespecifickým působením vyvolávají buď překvení v místě aplikace či rozrušují (rozpouštějí) *stratum corneum*, nebudeme se jimi v této práci dále zabývat.

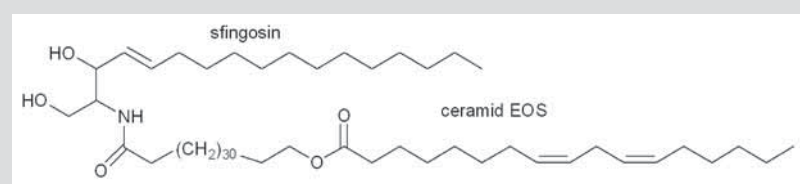
Za akceleranty transdermální penetrace v pravém slova smyslu budeme tedy považovat sloučeniny, u kterých se předpokládá především jejich interakce s lipidovými součástmi *stratum corneum* resp. s korneocyty, tedy látky, které jsou schopny dočasně a pravděpodobně specificky ovlivnit tmel vyplňující intercelulární prostor mezi korneocyty, popřípadě pozměnit korneocyty jejich hydrataci, denaturací přítomného keratinu, a nebo zde vytvořit depo látky.

Na obrázku 3 je znázorněn pravděpodobný mechanismus účinku akceleračních působících na lipidy intercelulárního prostoru *stratum corneum*. Aby mohlo dojít k rozvinutí urychlovacího účinku, musí mít molekula urychlovače schopnost proniknout až k lipidickým lamelám a pravděpodobně, díky (do určité míry) podobným fyzikálně chemickým charakteristikám, jako jsou lipofilita, polarita, velikost apod., interagovat s organizovanými lipidy a svou přítomností způsobit rozvolnění lamely a intercelulární prostor ve svém bezprostředním okolí učinit hydrofilnějším a náchylnějším pro hydrataci. Takto se poruší integrita lipidů a "řidší" lipidová matrix se stává propustnější pro xenobiotika.

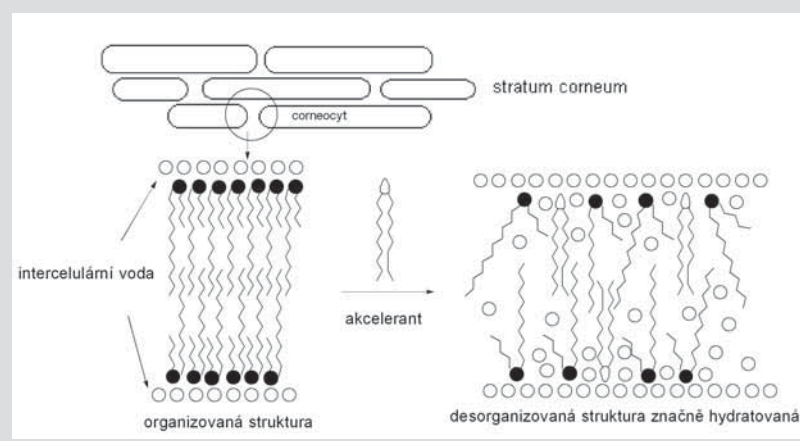
### Vybrané skupiny akceleračních transdermální penetrace

Na vlastnosti akceleračních jako součástí lékových forem jsou kladeny velmi přísné požadavky. Především nesmí být toxické a dráždivé, jejich účinek musí být dočasný a po jejich odstranění se musí brzy obnovit bariérové vlastnosti kůže, musí být kompatibilní s léčivem a s ostatními složkami lékové formy, měly by být kosmeticky akceptabilní (včetně vhodných organoleptických vlastností) a v neposlední řadě musí být snadno vyrobitelné a neměly by být příliš nákladné. V poslední době, kdy je k dispozici již poměrně dost údajů o jejich mechanismu účinku, se do popředí dostává další požadavek, a tím je jejich biodegradabilita.

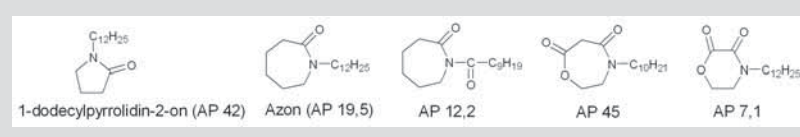
Obrázek 2. Typ ceramidu tvořící základ lipidových lamel *stratum corneum*



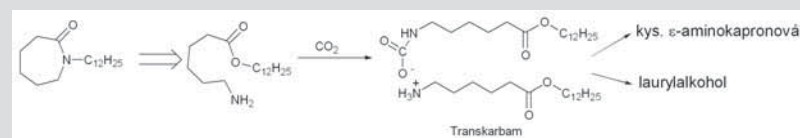
Obrázek 3. Mechanismus účinných akceleračních – interakce s lipidy lipidové matrix



Obrázek 4. Laktamy a jejich homology a isosterní analogy. AP = akcelerační poměr (urychlení modelového penetrantu ze vzorku s akceleračním / ze vzorku bez akceleračního)



Obrázek 5. Odvození struktury Transkarbamu; jeho syntéza a metabolisme



Za dobu, po kterou je tato nová skupina léčiv známa, bylo otestováno velmi mnoho látek z nejrůznějších skupin organických sloučenin. Již byla zmíněna lipofilní rozpouštědla typu alkoholů, halogenuhlovodíků, použity byly také estery a amidy karboxylových kyselin nejrůznějších struktur, močovina a její deriváty, terpeny a sulfoxidy, které byly jedněmi z prvních látek, u nichž byly tyto specifické vlastnosti popsány. V následujícím přehledu se budeme zabývat pouze několika nejzajímavějšími a možná nejperspektivnějšími skupinami akceleračních, protože jejich kompletní výčet by značně přesahoval rámec této práce.

### Laktamy

Prvním skutečným akceleračním byl v roce 1986 publikovaný N-dodecylkaprolaktam (Azon, obrázek 3). V ná-

sledujících letech byla připravena celá řada analogů Azonu (často nazývaných jako „Azon-like enhancers“) a z jejich akcelerační aktivity vyplynulo, že podmínkou pro účinek je 5–7členný, nejlépe laktamový, cyklus substituovaný alkylem o délce 10–12 uhlíků (obrázek 4).

### Substituované amidy karboxylových kyselin

Velkou skupinou sloučenin, které vykazují akcelerační efekt, jsou amidy karboxylových kyselin. Neaktivnější ze sledovaných látek byl dodecylamid kyseliny isomáselné (AP 57,4). Mezi látky dříve testované jako akcelerační patří také vynikající rozpouštědla N,N-dimethylformamid a N,N-dimethylacetamid. Podstata jejich účinku však spočívala nejspíše v této jejich vlastnosti a ne ve specifickém účinku na lipidy či korneocyty *stratum corneum*.

## Biodegradabilní akceleranty

Akceleranty tohoto typu byly vyvíjeny s myšlenkou, nalézt akceleračně účinný derivát sloučeniny blízké lidskému organismu a nebo derivát sloučeniny se známou, velmi nízkou toxicitou.

Sloučeniny vyhovující těmto požadavkům byly nalezeny, zcela logicky, mezi deriváty  $\alpha$ -aminokyselin. Princip jejich derivatizace spočívá v omezení polaritu karboxylové skupiny tvorbou methylesteru a acylace aminoskupiny zbytkem mastné kyseliny ( $C_{12}$ ). Nejlepšího účinku bylo dosaženo u takto derivatizovaného alaninu (AP = 11,6)

Velmi nadějnými akceleranty jsou dodecyl-dimethylaminoacetát a dodecylester N,N-dimethylalaninu, které mají aktivitu 2–3krát vyšší než Azon. Zajímavými látkami se v tomto kontextu jeví estery kyseliny tranexamové

## Estery $\omega$ -aminokyselin a jejich deriváty

S cílem získat flexibilní obměnu molekuly Azonu a zároveň připravit biodegradabilní akcelerační derivát byly na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové připraveny estery 6-aminohexanové kyseliny, jejichž stabilizací oxidem uhličitým vznikly symetrické soli karbamových kyselin, nazvaných Transkarbam (obrázek 5). AP nejúčinnější sloučeniny se pohybuje okolo 45. Modelovou hydrolyzou za použití prasečí esterázy bylo zjištěno, že Transkarbam se snadno metabolizuje na kys.  $\varepsilon$ -aminokapronovou a laurylalkohol, což jsou látky se známou toxicitou a běžně používané v medicíně, resp. v kosmetice.

Akceleranty byly na stejném pracovišti též hledány ve skupině jednoduchých syntetických analogů ceramidů, za které je možné považovat již Transkarbam. Byly navrženy a syntetizovány sloučeniny, které se ceramidům podobají

jak tvarem molekuly, tak i fyzikálními vlastnostmi. Jedná se např. o deriváty glycinu a serinu ( $C_8$  až  $C_{12}$  estery a  $C_8$  až  $C_{12}$  acylderiváty příslušného dipeptidu), kde nejúčinnější derivát (dodecylester dodekanoylglycylglycinu) vykázal asi 5krát vyšší aktivitu než Azon

## Vztah struktury a akceleračního účinku

Definovat optimální strukturu akceleračního derivátu lze velmi obtížně. Na základě literárních údajů a vlastních poznatků je možno říci, že molekula akceleračního derivátu, má-li interagovat se strukturami *stratum corneum*, především s jeho lipidickými součástmi, musí vykazovat některé podobné strukturální a fyzikálně-chemické charakteristiky s ceramidy. Zdá se, že nezbytností je přítomnost polárních a současně vysoce lipofilních fragmentů v molekule, reprezentovaných nejčastěji nasyceným, nerozvětveným alifatickým řetězcem obsahujícím okolo 12 atomů uhlíku. Rozvětvení řetězce akcelerační aktivitu podstatně snižuje. Je zajímavé, že ačkoliv kožní ceramidy jsou chirálními látkami, nemá prostorové uspořádání akceleračního derivátu na jeho aktivitu statisticky významný vliv. Akceleranty jsou relativně novou skupinou látek a prozatím nejsou příliš běžnými součástmi komerčních lékových forem. Je však, podle našeho názoru, pouze otázkou času, kdy se stanou zcela obvyklými, neboť jejich použití v sobě skrývá nové možnosti farmakoterapie.

Práce byla uskutečněna za finanční podpory Výzkumného záměru MSM0021620822.

Doc. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.  
Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové  
e-mail: Alexandr.Hrabalek@faf.cuni.cz

## Literatura

1. Hrabálek A, Doležal P, Šklubalová Z, Farsa O, Krebs A. Akceleranty transdermální penetrace. Chem. Listy 1999; 93 (2): 107–119.
2. Ghosh TK, Pfister WR. Transdermal and Topical Drug Delivery Systems; Interpharm Press: Buffalo Grove, Illinois, 1997.
3. Marjukkanen T, Bouwstra JA, Urtti A. Chemical enhancement of percutaneous absorption in relation to stratum corneum structural alterations. J Control Release. 1999; 59 (2): 149–161.
4. Purdon CH, Azzi CG, Zhang J, Smith EW, Maibach HI. Penetration enhancement of transdermal delivery-current permutations and limitations. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 2004; 21 (2): 97–132.
5. Williams AC, Barry BW. Penetration enhancers. Adv Drug Deliv Rev. 2004; 56 (5): 603–618.
6. Smith EW, Maibach HI. Percutaneous Penetration Enhancers, CRC Press: Boca Raton, FL, 1995.