

Historie a současný stav ve vývoji akcelerantů transdermální permeace na FaF UK v Hradci Králové – od esterů 6-aminohexanové kyseliny k transkarbamům (II. část)

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

Na základě transdermálně-akcelerační aktivity syntetizovaných sloučenin byla vyslovena hypotéza o možném mechanismu účinku akcelerantů transdermální permeace na bázi transkarbamů spočívající ve schopnosti sloučenin uvolnit kovalentně vázaný oxid uhličitý. S cílem tuto hypotézu potvrdit a dokázat, že míra pevnosti vazby CO_2 v molekule akcelerantů je nepřímo úměrná jejich akcelerační aktivitě, byly připraveny další série sloučenin schopných do stratum corneum (SC) oxid uhličitý dopravit.

Klíčová slova: transdermální permeace, karbamáty, karbonáty, transkarbam.

V první části tohoto seriálu článků o vývoji akcelerantů transdermální permeace na Farmaceutické fakultě UK v Hradci Králové jsme se zabývali prostorovým uspořádáním molekul akcelerantů, vztahem struktury a účinku v této skupině potenciálních pomocných látek a na základě dosavadních znalostí formulovali základní požadavky na jejich strukturu. Bylo jednoznačně prokázáno, že transkarbamů interagují s lipidickými složkami stratum corneum, neboť jejich strukturální podobnost s ceramidy, které jsou významnou složkou těchto lipidů, jim to umožňuje.

Vzhledem k tomu, že na aktivitu těchto sloučenin má s největší pravděpodobností účast více vlivů, než pouze sterické parametry, bylo přistoupeno k syntéze takových derivátů, které by se od předlohových sloučenin typu lineárních karbamátů odvozených od jednoduchých aminoesterů odlišovaly obsahem jiných funkčních skupin při zachování původního prostorového uspořádání molekuly.

Nejprve bylo přistoupeno k syntéze isosterních analogů podle obrázku 1a, tedy takových, u kterých je nahrazena esterová funkce funkcí ketonickou (2).

K velkému překvapení tyto sloučeniny, které se prakticky neodlišovaly od předlohového transkarbamu 12 (T12), téměř úplně postrádaly akcelerační aktivitu. Bylo tedy zřejmé, že mechanismus účinku bude spočívat ještě v dalších faktorech, které byly zatím neznámé. Rovněž další isosterní analogy T12 – amidy

(obrázek 1b) a karbamáty odvozené od alifatických aminů (obrázek 1c) – byly na rozdíl od předlohové sloučeniny prakticky neaktivní (4).

Další strukturální obměny spočívaly v záměně α -methylenové skupiny T12 za isosterní $-\text{O}-$, resp. $-\text{NH}-$ skupinu. Tak vznikly deriváty uhličitě (obrázek 1d) a karbamové kyseliny (obrázek 1e), u nichž bylo možné očekávat odlišné chování vůči lipofilnímu prostředí stratum corneum, ale ani tyto strukturální obměny nevedly k látkám s lepší transdermálně-akcelerační aktivitou, i když estery kyseliny uhličitě dosahovaly asi 2/3 účinnosti T12.

Popsanými strukturálními obměnami byly sice popsány sloučeniny s diametrálně odlišnou biologickou aktivitou, ale v podstatě pro tyto rozdíly neexistovalo racionální vysvětle-

ní. Popsané obměny struktury nemohly mít, vzhledem k předpokládaným nespecifickým interakcím těchto sloučenin s lipidy stratum corneum tak zásadní vliv na aktivitu.

Proto byla pozornost obrácena k další významné části molekuly – k polární hlavě těchto akcelerantů, která je tvořena vysoce polárními solí karbamové kyseliny, neboť v práci našeho kolektivu (7) byl jasně dokázán vliv velikosti polární hlavy a schopnosti tvořit H-vazby v prostředí SC právě na akcelerační aktivitu. Navíc, z prací Holase a Zbytovské (3, 8) bylo známo, že T12 je poměrně labilní molekula, která se snadno rozpadá na původní aminoester a volný oxid uhličitý, a to jak při zahřátí, tak působením slabě kyselého prostředí (5).

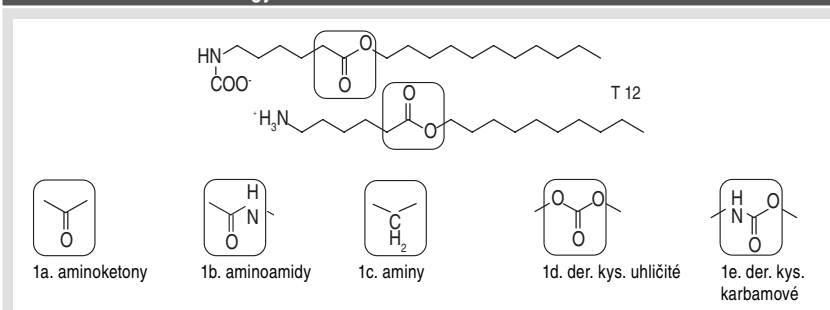
S cílem prověřit hypotézu spočívající v tom, že za akcelerační účinek by mohla být zodpovědná právě tato vlastnost T12 byly připraveny sloučeniny s pevně vázaným CO_2 (6). Jednalo se o estery karbamové kyseliny a estery kyseliny uhličitě následujících strukt (obrázek 2).

Akcelerační aktivita těchto sloučenin byla velmi nízká a jejich stabilita byla prověřena sledováním rychlosti uvolňování CO_2 pomocí modelové reakce s kyselinou palmitovou, jejíž pK_a odpovídá mírně kyselému prostředí SC, a porovnána se stabilitou T12 v tomtéž prostředí. Bylo zjištěno, že stabilita karbonátů i karbamátů je podstatně vyšší.

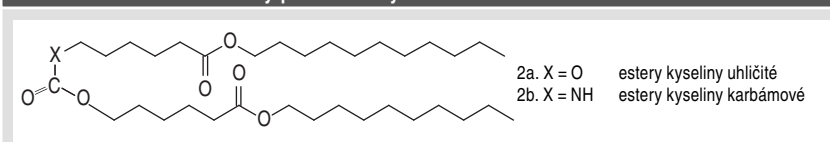
Bylo tedy prokázáno, že na sledovanou biologickou aktivitu má pevnost vazby CO_2 zásadní vliv, zbývalo tedy vysvětlit, v čem spočívá rozdíl mezi solí karbamové kyseliny tvořené z aminoesteru a z ketonu a jak to, že zásadní vliv má také vzdálenost aminoskupiny tvořící zmíněný karbamát od polární skupiny lokalizované uprostřed řetězce.

Při studiu infračervených spekter T12 bylo zjištěno, že typická esterová vibrace cca 1725

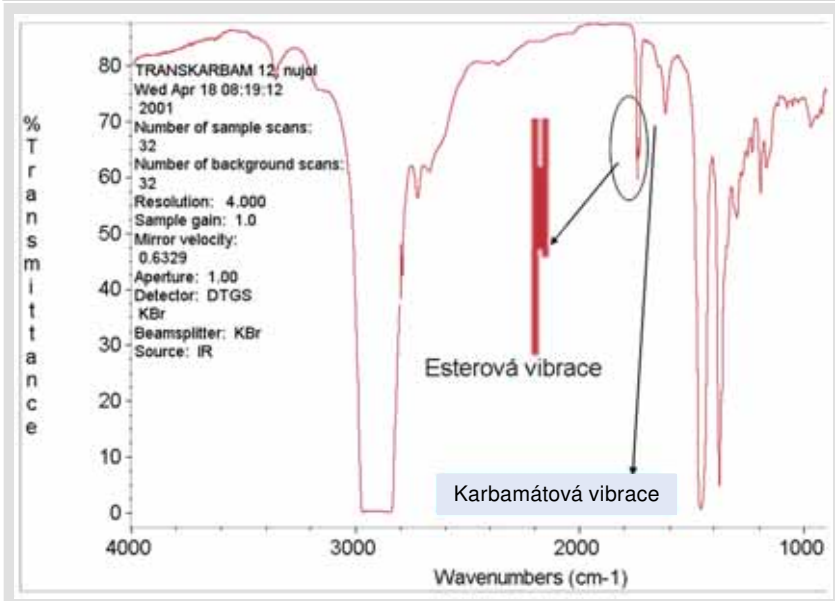
Obrázek 1. Isosterní analogy T12



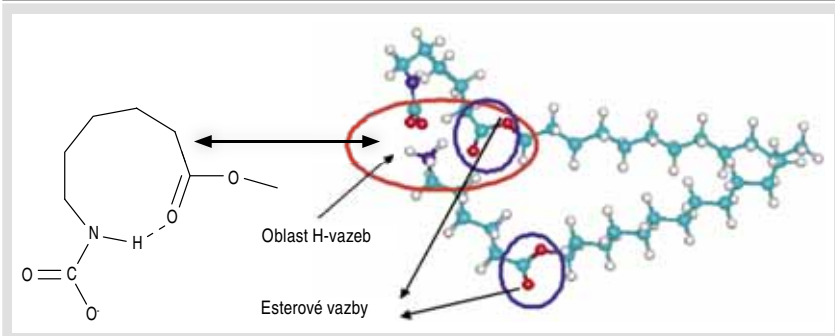
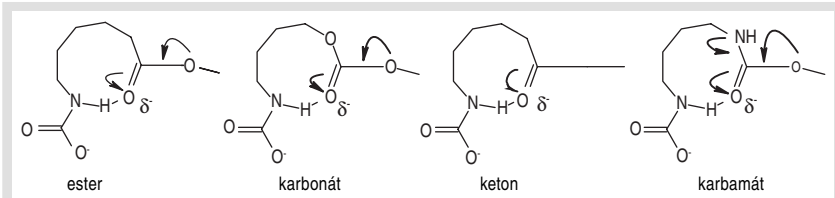
Obrázek 2. Isosterní obměny polární hlavy T12



Obrázek 3. IČ spektrum T12 s vyznačenou „dvojitou“ vibrací karbonylu



Obrázek 4. Vznik vodíkových vazeb v molekule T12

Obrázek 5. Vznik parciálního náboje δ^- na karbonylu T12 (ester) a jeho isosterních analogů

cm^{-1} je rozštěpena (obrázek 3), což svědčí o tom, že v molekule jsou dva typy esterových vazeb. Vibrace odpovídající karbonylu soli karbámové kyseliny je přitom standardní (1619 cm^{-1} a nemění se).

Při porovnání uvedeného spektra s počítačovým modelem T12 vidíme, že v molekule jsou skutečně dva typy esterových vazeb. Rovněž je patrné, že mohou vzniknout teoreticky 2 typy vodíkových vazeb. Na obrázku 4 je znázorněno, jak si toto uspořádání představujeme, uvedena je pravděpodobnější varianta.

Pevnost vodíkové vazby a její pravděpodobnost vzniku je možné předpovědět z velikosti parciálního záporného náboje δ^- na karbonylovém kyslíku. Jeho ovlivnění bezprostředním okolím je možné představit si podle obrázku 5.

Hodnoty náboje jsou uvedeny v tabulce 1 a jsou vztaženy na akcelerační aktivitu našich nových sloučenin. Vyplývá z nich, že stabilita potenciálního cyklu vzniklého tvorbou intramolekulární vodíkové vazby stoupá od esterů (T12) ke karbamátům. Zároveň se stoupající

Tabulka 1. Závislost účinku akceleračních na velikosti náboje δ^- vznikajícího na karbonylu

Typ sloučeniny	Náboj C = O [c]	AP
Ester (T12)	-0,297	20–40
Karbonát	-0,342	7,0–15
Keton	-0,387	3,5
Karbamát	-0,399	2–2,5

pevností H-vazby stoupá stabilita solí karbámových kyselin tvořících polární hlavu akceleračních a s tím klesá akcelerační aktivita.

Závěr

Z uvedených výsledků vyplývá, že aktivita námi připravovaných akceleračních transdermálně permeace je skutečně závislá na pevnosti vazby CO_2 v jejich molekule. Tato vlastnost je přitom dána schopností a ochotou tvořit intramolekulární vodíkovou vazbu v polární hlavě akceleračního. Tuto hypotézu potvrzuje i to, že isosterní dithioanalog T12 ($\text{R-CSS}^- \cdot \text{NH}_3^+ \text{-R}$) připravený reakcí dodecylesteru 6-aminohexanové kyseliny se sirouhlíkem, postrádal jakoukoliv akcelerační aktivitu (1). Tento analog byl připraven z toho důvodu, že síra, jak je všeobecně známo, nemá schopnost tvořit vodíkové vazby, což může mít zásadní vliv jak na konformaci potenciálního akceleračního, tak také na jeho stabilitu.

Výzkum akceleračních transdermálně permeace na našem pracovišti dále pokračuje a jeho dalším výsledkem jsou látky, které modifikují bariérové vlastnosti kůže i opačným způsobem a dokonce, což je zvláště nadějně, podařilo se syntetizovat i sloučeniny, které dokážou poškozené stratum corneum regenerovat.

Práce je uskutečňována za finanční podpory Výzkumného záměru MSM0021620822.

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

Literatura

- Holas T. Dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2006.
- Holas T, Vávrová K, Klimentová J, Hrabálek A. Synthesis and transdermal permeation-enhancing activity of ketone, amide, and alkane analogs of Transkarbam 12. *Bioorg Med Chem.* 2006; 14(9): 2896–2903.
- Holas T, Zbytovská J, Vávrová K, Berka P, Madlová M, Klimentová J, Hrabálek A. Thermotropic phase behavior of long-chain alkylammonium-alkylcarbamates. *Thermochim. Acta* 2006; 441(2): 116–123.
- Holas T, Vávrová K, Šíma M, Klimentová J, Hrabálek A. Synthesis and transdermal permeation-enhancing activity of carbonate and carbamate analogs of transkarbam 12. *Bioorg. Med. Chem.* 2006; 14: 7671–7680.
- Klimentová J. Dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. 2006.
- Klimentová J, Hrabálek A, Vávrová K, Holas T, Kroutil A. Synthesis and transdermal penetration-enhancing activity of carbonic and carbamic acid esters-comparison with transkarbam 12. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006; 16(7): 1981–1984.
- Vávrová K, Hrabálek A, Doležal P, Holas T, Zbytovská J. L-Serine and Glycine based ceramide analogues as transdermal penetration enhancers: Polar head size and hydrogen bonding. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003; 13, 2351–2353.
- Zbytovská J, Raudenkolb S, Wartewig S, Hübner W, Rettig W, Pissis P, Hrabálek A, Doležal P, Neubert RHH. Phase behaviour of transkarbam 12. *Chemistry and Physics of Lipids* 129. 2004; (1), 97–109.