

Skin Metabolism: Relevance of Skin Enzymes for Rational Drug Design

Sung Min Pyo^a Howard I. Maibach^b

^aDepartment of Biology, Chemistry, and Pharmacy, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany;

^bDepartment of Dermatology, University of California School of Medicine, San Francisco, CA, USA

皮肤代谢：皮肤酶与合理药物设计的相关性（翻译）

Sung Min Pyo^a Howard I. Maibach^b

柏林自由大学^a 美国加利福尼亚大学旧金山分校^b

（翻译者：大连理工大学 张袁媛）

摘要：

透皮给药系统（TTS）具有许多益处。例如，药物释放与患者处于进食状态还是禁食状态无关，并且由于可以避免胃肠道和肝脏的首过代谢，因此可以给予较低的剂量。另外，由于药物的释放主要由系统控制，因此患者间和患者内的差异性被最小化。这使 TTS 成为最常见的口服片剂剂型的替代系统，从而引起了人们的兴趣。皮肤给药途径的困难在于药物需要通过皮肤的运输，因为皮肤是抵抗异物的有效屏障。文献中已经报道了几种如何改善药物渗透的策略。然而，其中大多数人专注于克服角质层，这是第一个（机械的）皮肤屏障。但是，渗透十分复杂，皮肤的屏障功能不仅取决于角质层，被人们低估的是由酶形成的第二（生物）皮肤屏障。与角质层相比，人们对这些酶了解甚少。例如，皮肤中存在哪些酶以及它们确切的定位位置。因此，对于如何绕过甚至利用皮肤酶屏障发展 TTS，几乎找不到策略。这篇综述文章提供了透皮药物的生物转化有关的皮肤酶的概述。此外，我们讨论了使用皮肤前药和软性药物，并仔细考虑了皮肤代谢的立体选择性。最后，我们提供了有关如何利用当前有关皮肤酶的知识进行合理的 TTS 设计的建议。

关键词：皮肤代谢、皮肤酶、透皮治疗系统、皮肤递送系统、皮肤前药、皮肤软性药物、立体选择性代谢

1 介绍

1.1 透皮给药系统

药物可以通过各种给药途径来进行给药。在全球范围内，最常见的剂型是单剂量口服片剂。近来，已经出现了替代的剂型和给药途径的趋势。特别是透皮给药系统（TTS）的市场份额有了较大的发展。2005 年，全球 TTS 市场价值 30 亿美元，预计复合年增长率（CAGR）为 12%^[1]。十年后（2016 年），预测的复合年增长率得到确认：TTS 市场价值增长了 10 倍，达到 300 亿美元^[2]。总销量的 50% 以上来自北美和拉丁美洲，其次是欧洲（占 30%）和亚太地区（占 25%）。TTS 市场价值持续上升，预计到 2024 年，复合年增长率将达到 7.5%^[3]。

产生这种趋势的一种原因可能是 TTS 利用了一种方便的药物管理途径。TTS 体积小，重量轻，耐用性高，并且可以在室温下存放。同样，不需要水或其他用品。因此，患者表现出对 TTS 治疗的高度依从性^[4]。从药理学角度看，TTS 克服了口服剂型的潜在缺点，因此可以作为单剂量片剂的良好补充。例如，药物释放与患者处于进食状态还是禁食状态无关。同样，在大多数情况下，与口服剂型相比，可以给予较低的药物剂量，因为可以避免胃肠道和肝脏的首过代谢。每次服用片剂后，血浆药物浓度保持恒定，没有典型的血浆浓度峰值。另外，由于药物的释放主要由系统控制，因此患者间和患者内的差异性被最小化。出于这些原因，TTS 是片剂标准剂型的良好且有前途的补充剂型。

1.2 皮肤用药的渗透和渗透

为了更好地了解应用于皮肤的药物的渗透机制，重要的是首先了解皮肤的生理功能。它的主要功能是（a）防止来自外部环境的病原体和其他异物入侵，以及（b）保留水和必需营养素。两种功能都取决于皮肤的强大屏障功能。整体上说，皮肤具有两种不同的屏障功能：物理屏障和生化屏障。而皮肤无法区分好坏物质，所以药物必须克服这两个障碍。

1.3 皮肤是高效屏障

1.3.1 角质层是第一个（物理）屏障

角质层（SC）是人类皮肤的最外层部分，与环境直接接触。因此，SC 可以算作是人体的第一道屏障。它通常由 10 - 15 层高度有序的角质细胞组成。在干燥状态下，SC 的厚度约为 10 - 15 μm ，而在水合状态下，角质细胞吸收水分，SC 的厚度显着增加，最大可达 40 μm 。角质形成细胞产生的脂质覆盖角质形成细胞。这使得 SC 的环境在亲水性

和亲脂性之间交替^[5]。因此，除了其他特性外，药物还特别需要平衡的亲脂性和亲水性，以克服这一障碍。

1.3.2 皮肤酶是第二（生化）屏障

未被第一屏障捕获的异物可以被活的表皮和真皮的酶进行生物转化。代谢过程可能会增加异物的水溶解度，从而增加排泄和清除率。因此，生物转化可以解释为什么有些药物在渗透后显示出降低的作用或几乎没有作用^[6]。关于细胞的数目，皮肤具有的生物转化活性是肝脏的三分之一。因此，皮肤是具有高酶活性的器官，在设计经皮给药的药物时要考虑这一点很重要。然而目前，关于皮肤代谢的了解很少。

1.4 目的

这篇综述文章概述了据报道存在于人类皮肤中的酶，并详细描述了被认为与透皮药物的生物转化高度相关的酶。此外，还讨论了使用皮肤前药和软药，并考虑了立体化学方面的问题，对如何利用当前有关皮肤代谢的知识进行合理的皮肤药物设计提出了建议。

2 结论

2.1 为什么人类皮肤会发生生物转化？

皮肤中的生物转化的目的是使渗透的异物活性降低，更易溶于水，以便更好地排泄和消除。为此，皮肤会在两个连续的阶段代谢异物：Ⅰ相反应和Ⅱ相反应。在Ⅰ相反应阶段，通过氧化，还原或水解反应生成极性基团。在Ⅱ相反应，即所谓的结合阶段，小的亲水性内源性分子（例如葡萄糖醛酸，硫酸盐或甘油）被共价连接。反应产物分子量会增加。但是，由于亲水性显著提高，排泄得以改善。众所周知，异物的酶促生物转化在人肝中最有效。然而，初步研究表明，肝的酶的类型和酶活性与皮肤情况不同。因此，我们必须另外研究皮肤代谢知识。到目前为止，人们在这方面的研究很少。在下面，我们列出了一些酶的类型。据报道它们都存在于人类皮肤中，并且被证明与透皮药物的降解有关。

2.1.1 乙醇脱氢酶

在人体中，乙醇脱氢酶（ADH）家族的 5 种酶类别是已知的：具有亚基 α ， β 和 γ 的 ADH1，ADH2，ADH3，ADH4 和 ADH5^[7]。ADH 家族最突出的代表是 ADH1，它催化脂肪伯醇和脂肪仲醇氧化为醛（图 2.1）。

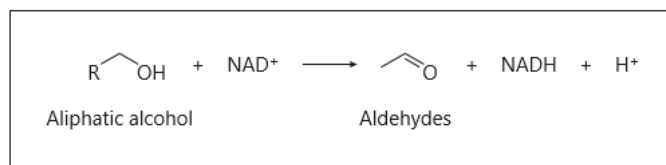


图 2.1 醇脱氢酶催化脂肪醇氧化为醛

这种生物转化的主要目的是对透皮的异物进行解毒。例如，乙醇被肝脏 ADH1 解毒为乙醛。但是，相反的情况也会发生。甲醇通过相同的酶代谢为有毒的甲醛。因此，这两种现象也可能在给药后出现。生物转化可使药物失去活性，也有可能更有效，甚至有毒。这一事实使研究药物的皮肤酶活性变得重要。

在人角质形成细胞和毛发根细胞中均发现了 ADH^[8]。通过酶测定，在离体的人类皮肤上比较了人类皮肤中各种 ADH 活性，通过急性斑贴试验在体内对 12 名临床正常受试者的体内 ADH 活性进行了比较^[9]。体外酶活性通过产生的 NADH 量（图 2.1）来表达，体内通过红斑来表达。对于不同的醇，ADH 的活性会发生变化。随着碳链长度的增加，生物转化率明显增加。例如，戊醇（C5）被 ADH1 催化的量是乙醇（C2）的 3 倍。另外，随着支链的增加，生物转化率降低。因此，醇的生物转化率取决于支链的长度和数量，碳链长度的增加和支链程度的降低导致更高的代谢生物转化率。

2.1.2 黄素单加氧酶

黄素单加氧酶（FMO）是产生氧化作用的主要酶类^[10]。在人类皮肤中，它具有很高的转录水平，甚至高于 CYP 家族^[11]。两者之间的主要区别在于进行氧化的方式。CYP 使用氧化的血红素辅基，而 FMO 使用黄素腺嘌呤二核苷酸进行底物氧化。FMO 主要对胺，硫化物，磷和其他亲核杂原子的化合物进行生物转化（图 2.2、图 2.3）。

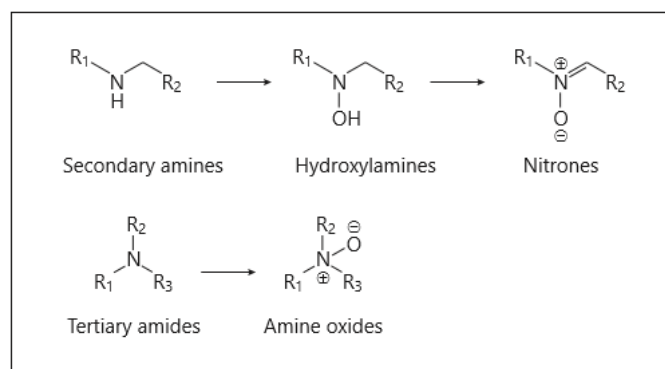


图 2.2 黄素单加氧酶催化叔胺和仲胺的 N-氧化

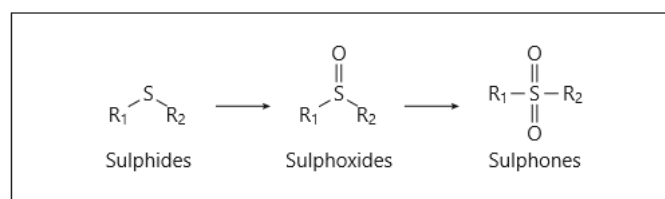


图 2.3 黄素单加氧酶将硫化物 S 氧化为砒

在人体中，存在 5 种亚型。5 种亚型中的哪一种在皮肤中进行表达存在争议。Hu 等^[12]在人类皮肤中发现了所有 5 种亚型转录物，而 Jäckh 等人^[13]仅观察到 FMO1 和 FMO3 的转录。Wilkin 和 Stewart^[9]也通过免疫斑点分析证实了 FMO3 的存在，但是未检测到 FMO1。Vyas 等也报道了类似的发现^[14]。因此，迄今为止，似乎只有 FMO3 的转录在人类皮肤中得到了明确的证明。使用苯乙胺作为模型底物，在腹部皮肤活检的微粒体中评估了 FMO 酶的活性。FMO 将苯乙胺生物转化为苯乙胺 N-氧化物的氧化效率为 5 nmol / min / mg 蛋白^[15]。该值强化了这样的假设，即 FMO 是皮肤对药物进行氧化中的产生作用的主要酶类。

2.1.3 醛脱氢酶

醛脱氢酶（ALDH）将醛转化为羧酸（图 2.4）。在整个人体中发现了十二种 ALDH^[16]。通过蛋白质印迹分析和免疫组织化学，在切除的人皮肤中，仅检测到 ALDH1 和 ALDH3。ALDH1 在过氧化物醛的解毒中起重要作用。相反，ALDH3 优先氧化芳香醛和中

链脂肪醛。据报道，与肝脏中 **ALDH** 的活性相比，其在皮肤中的活性低 22 倍^[8]。另外，据报道 **ALDH** 活性根据性别和解剖部位而变化。除了这些事实之外，人们对于皮肤中的 **ALDH** 了解甚少。

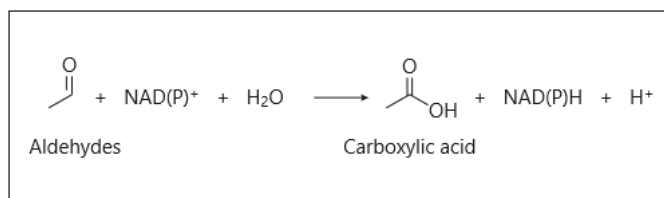


图 2.4 醛脱氢酶催化将醛氧化成羧酸

2.1.4 羧酸酯酶

羧酸酯酶（**CE**）通过分子内加水到醇和酸性残基中来水解碳酸酯：羧酸酯+ H_2O $\rightleftharpoons$ 醇+羧酸盐。然后将醇进一步氧化为醛、酸。**CE** 系列分为 5 类^[17]。在人体的肝中，发现了同工酶 **CE1** 和 **CE2** ^[18-19]。迄今为止，在人类皮肤中，仅在角质形成细胞中已证实存在 **CE2** 同工酶^[20]。除细胞色素 **P450**（**CYP**）酶外，**CE** 酶家族也是经过最严格的研究的皮肤酶之一。这反映了该家族对于透皮药物的生物转化和对异物排毒的重要性。

有研究已经使用二乙酸荧光素作为模型底物评估了人类角质形成细胞匀浆中的 **CE** 活性^[21]。测定的水解活性为 $3.7 \text{ nmol} / \text{min} / \text{mg}$ 蛋白质。取而代之使用乙酸对硝基苯酯作为模型底物^[22]，可测得更高的水解活性： $45 \text{ nmol} / \text{min} / \text{mg}$ 蛋白质，相当于前者 12 倍的水解活性。

个体间水解活性的波动在皮肤正常人的原代乳房角质形成细胞中确定。模型药物 4-甲基伞形酮庚酸酯的生物转化速度可能从 10 到 $32 \text{ nmol} / \text{min} / \text{mg}$ 蛋白^[23]。因此，存在高度多态的 **CE** 表达。使用 4-甲基伞形酮一乙酸盐代替庚酸酯，可以测得 $0.5 \text{ nmol} / \text{min} / \text{mg}$ 蛋白质的水解速度^[24]，比前者要弱得多。两个分子之间的唯一区别在于它们的链长（**C2** 和 **C7**）。与 **ADH** 相似，具有较长碳链长度的分子以较高的速率进行生物转化（图 2.5）。

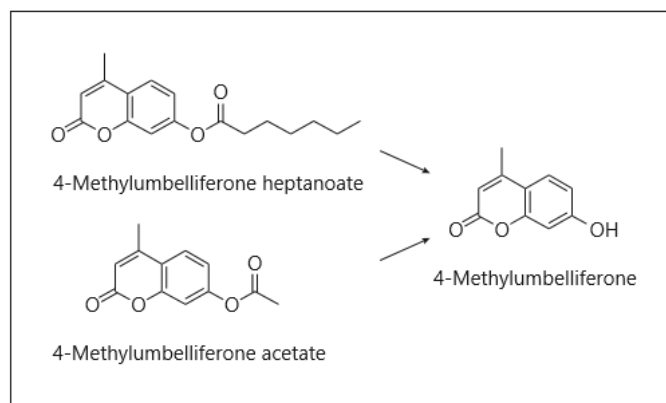


图 2.5 羧酸酯酶催化 4-甲基伞形酮庚酸酯和乙酸酯水解为 4-甲基伞形酮

2.1.5 细胞色素 P450

CYP 是皮肤中最大的代谢酶类。它们催化分子氧的一个氧原子转移到渗透的底物上，生成醇和水（图 2.6）。CYP 的表达似乎是多态的^[10]。它的活性表现出显著的个体差异，取决于年龄，性别和解剖部位。尚不清楚人类皮肤中存在哪些 CYP 酶，文献中的数据存在争议。Hu 等^[12]和 Hayden 等^[25]都发现人天然皮肤中的 CYP2D6，CYP2E1 和 CYP3A4 的转录。而 CYP1A1/2 和 CYP2C9 仅由 Hu 等人证明^[12]。而 CYP1B1 和 CYP2A6 仅由 Hayden 等人提供^[25]。

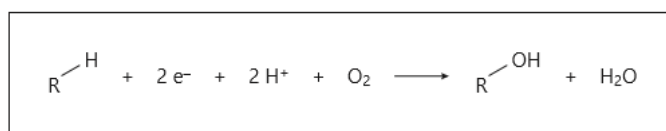


图 2.6 细胞色素 P450 催化的一个氧原子的转移产生乙醇和水

2.2 生物转化发生在皮肤上的什么地方？

为了验证生物转化的位置，测定了泼尼松龙（PS）21-乙酸酯水解为 PS 的过程^[26]。通过将皮肤浸入 60° C 的水中，将被切除的人的皮肤分为表皮和真皮，或者在冷冻后切成 10 微米厚的切片。

发现以下水解活性：

- 整个皮肤：0.69 nmol / min / mg 蛋白质/ mm
- 真皮：0.41 nmol / min / mg 蛋白质/ mm
- 表皮：5.2 nmol / min / mg 蛋白质/ mm

因此，水解被证明主要发生在表皮中。对皮肤切片的分析可以实现更精确的定位：在整个皮肤中，基底层显示出最高的水解活性^[26]。但是，在该研究中，研究期间皮肤经过被加热或冷冻的过程。酶是热可降解的。特别是当加热到 40° C 以上时，酶

的活性会大大降低。研究各个皮肤层的水解活性的一种温和的方法是共聚焦激光扫描检查。使用这种方法，可以进行活动定位，而不必通过加热或冷冻将皮肤分成几层。将 5-异硫氰酸荧光素二乙酸酯涂在人的皮肤切片上并使其渗透。如果存在酯酶，则会发生水解，并释放绿色荧光的 5-异硫氰酸荧光素。然后通过共聚焦激光扫描将该反应产物可视化。只有活的表皮发出绿色的光，表明活的表皮是皮肤中最具有酶促活性的部分^[27]。

上述两种方法的缺点是需要模型物质。如前一节所述，酶的活性是特定于物质的。同样，在两种情况下，仅能研究具有水解活性的酶。避免使用模型物质并代表所有酶的活性的一种方法是测量耗氧量。已经假定耗氧量与细胞的酶活性成正比。活的表皮耗氧量在 $(4.53 \pm 1.39) \mu\text{L O}_2/\text{mg/h}$ 。真皮的消耗量为 $(0.49 \pm 0.12) \mu\text{L O}_2/\text{mg/h}$ ，比起表皮，真皮耗氧量在低得多的水平上，仅是在相同条件下活表皮耗氧量的十分之一^[28]。

不管这三种方法有多么不同，它们都会得出相同的结论：活表皮是生物转化的主要位置。真皮也显示酶活性，但是比表皮弱得多。另外，由于通过毛细血管吸收进入全身循环，药物在真皮中的停留时间通常很短。总而言之，相关的药物生物转化几乎仅在活的表皮中发生。

2.3 影响皮肤酶活性的因素

2.3.1 年龄

酯酶主要位于皮肤的角质形成细胞中，在皮肤代谢中起重要作用。因此，角质形成细胞的发育和生长过程与其酯酶活性直接相关。Ngawhirunpat 等^[29]发现当生长角质形成细胞时，酯酶含量也增加。皮肤的生物转化能力与年龄有关。在皮肤上使用高代谢药物时应考虑这一点，因为针对儿童，通常没有收集临床数据以推荐剂量；通常根据儿童的体重简单地在成人剂量上进行减少。对于在皮肤中高度代谢的药物，不建议使用这种剂量调整方法。

2.3.2 解剖部位和性别

即使将皮肤视为一个器官，但对皮肤各部分的要求也有所不同。某些酶仅在身体的特定区域中发现。最突出的例子是氢化可的松 5α -还原酶；这种酶的活性仅在包皮和阴囊皮肤中发现^[30]。因此，该实例还揭示了皮肤酶的性别特异性表达。没有发现有关皮肤酶的性别特异性活性的进一步文献。但是，肝代谢中发现的性别差异表明皮肤代谢中也可能存在差异。

2.3.3 环境因素

众所周知，肝酶的活性取决于外部因素。皮肤酶也显示此特性。大部分文献认为影响酶活性的环境因素是紫外线辐射和空气污染。紫外线辐射本身不会激活或灭活酶，但会产生活性氧。例如，增加活性氧的含量会导致抑制基质金属蛋白酶抑制剂，从而增加皮肤中的 MMP 活性^[31]。皮肤中紫外线辐射诱导酶的其他例子是两种 CYP 酶 CYP1A1 和 CYP1B1（请参见第 2.1.5 节）^[32]，血红素加氧酶^[33, 34]，环加氧酶^[33, 35]和一氧化氮合成酶^[36]。

此外，在文献中已经讨论了通过空气污染来改变皮肤酶水平。在颗粒物表面上，存在多环烃。当颗粒物粘附在皮肤上时，这些多环烃的渗透程度可能更高。皮肤通过苯并[a]芘羟化酶代谢这些有害分子。皮肤中多环烃暴露量和暴露时间的增加导致苯并[a]芘羟化酶水平的改变^[37]。

显然，不仅环境分子（例如多环烃）会改变酶的水平，而且患者体内的多用途药物也会使酶的水平发生改变。因此建议在开处方前也要在酶促水平上检查药物相互作用。

2.4 动物皮肤在预测人类皮肤代谢中的应用

离体的人类皮肤很少见，皮肤捐献者的数量通常不足以进行代表性研究。因此，通常使用动物皮肤代替。以这种方式获得的结果被外推以预测药物在人皮肤中的渗透和代谢。Rit-tirod 等^[38]比较了人，大鼠，无毛大鼠，小鼠和无毛小鼠皮肤中烟酸乙酯（EN）与烟酸（NA）的渗透和代谢（图 2.7）

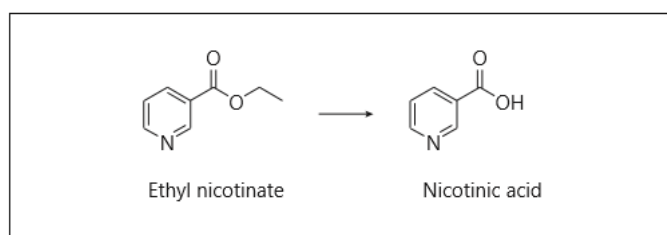


图 2.7 将前药烟酸乙酯切割成母体药物烟酸

由于酯酶活性的变化，在被测种属之间发现了明显的差异。在人体皮肤中，测得的 EN 流量为 $6.9 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 / \text{h}$ ，而 NA 流量为 $1.6 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 / \text{h}$ 。这与小鼠皮肤的值最接近，小鼠皮肤的 EN 流量为 $5.3 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 / \text{h}$ ，而 NA 流量为 $1.6 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 / \text{h}$ 。相比之下，大鼠皮肤的新陈代谢差异最大，EN 流量为 $0.4 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 / \text{h}$ ，NA 流量为 $6.0 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 / \text{h}$ 。EN 与 NA 的比例显著降低，从人体皮肤的 4.3 到大鼠皮肤的 0.07。因此，Rittirod 等^[38]建议从动物模型预测人类皮肤的皮肤渗透性时应考虑物种依赖性皮肤酶活性。

3 讨论

3.1 皮肤代谢如何用于皮肤药物设计？

3.1.1 前药的概念

前药是母体药物的无药理活性的衍生物。进入表皮后，酶将前药生物转化为相应的具有药理学活性的母体药物。当母体药物具有不利于皮肤渗透的理化特性时，就会制成前药的形式。使用前药的最终目的始终是改善母体药物的生物利用度。迄今为止，仅形成了通过 I 期酯酶水解切割后释放母体药物的药品。在下文中，给出了一些前药的例子。

3.1.1.1 烟酸乙酯→烟酸

为了更好地了解物种依赖性药物的渗透和代谢，EN 到 NA 的代谢已在第 2.4 节中介绍。NA 太亲水而无法有效渗透 SC，通过使 NA 的羟基乙基化，亲脂性明显增加。对于 NA 和 EN，logP 值分别从 0.36 提高到 1.17，水溶性从 18 g/L 降低到 0.05 g/L^[39, 40]。该实例很好地说明了亲水性醇基团的掩蔽对药物的物理化学性质有多强烈的影响。

3.1.1.2 N-酰基衍生物→5-氟尿嘧啶

5-氟尿嘧啶（5-FU）是用于治疗癌症的药物。在皮肤上，5-FU 可用于治疗光化性角化病和基底细胞癌。由于 5-FU 的高度亲水性，因此采用了配制亲脂性前药的原理。然而该实例不同的是氮基团被掩盖而不是醇基团。Beall 和 Sloan^[41]研究了两种类别的前药：酯类和烷基酮类。其中在每种类别中，前药添加到母体药物上的碳链长度不同。测量了通过无毛鼠皮肤递送 5-FU 的速率。两种前药都能有效地递送药物，但是前药的类型强烈影响 5-FU 的递送量：烷基酮类会递送更多数量的 5-FU。此外，碳链长度也起重要作用：较短的碳链能检测到更多的 5-FU。使用甲基时测得的 5-FU 浓度比单独的 5-FU 透皮后的浓度高了 40 倍，乙基是 20 倍，而 6 个碳则是 4 倍。

3.1.1.3 N, N'-双酰基衍生物→5-氟尿嘧啶

第二步，Beall 和 Sloan^[42]掩盖了 5-FU 的两个氮。根据初步研究的结果，仅研究了 1,3-双烷基羰基前药，并使用了 C1 至 C4 的碳链长度。同样，对于 1,3-双烷基羰基前药，在 C1 中检测到最高的 5-FU 递送：5-FU 浓度增加了 5 倍。因此，与用 C1 N-烷基羰基前药将 5-FU 递送增加 40 倍相比，两个氮的掩盖没有明显作用。但不变的是，随着碳链长度的增加，输送的 5-FU 量减少。总之，Beall 和 Sloan^[42]不建议在设计 5-FU 前药时掩盖两个亲水基团。

3.1.1.4 泼尼卡酯→17,21-乙酸酯→泼尼松龙

泼尼卡酯（PC）可以用作 5-FU 的 1,3-双-烷基羰基前药的一个例子。这种双重掩盖的前药可以被皮肤酶充分地生物转化。通过两种可能的中间体，母体药物 PS 重新释放到皮肤中（图 3.1）。在切除的人皮肤中，酯类 OC 裂解被证明在有活力的皮肤的角质形成细胞中占主导地位^[21]。暴露 6 小时后，有 12% 的 PS 渗入皮肤。暴露 24 小时后，几乎 83% 施用的 PC 被生物转化。在组织中，母体药物 PS 的存在最强，其次是 17-乙酸酯。同时检测到微量 PC 和 21-乙酸酯。在培养基中，只有母体药物 PS 占主导地位。17-和 21-乙基碳酸酯的量是差不多的。总之，前药的含量最低。这些值证明皮肤酶可以充分生物转化前药 PC 的两个掩盖的醇基团。PS 为何被完全水解的原因可以由 PS 的特殊空间结构来解释。雄甾烷骨架被认为是一个平面，并且侧链几乎垂直地从该平面上升，且侧链沿相反的方向排列。C17 处的侧链朝下，C21 处的侧链朝上；因此，两者在空间上都自由地可用于两侧的酶。

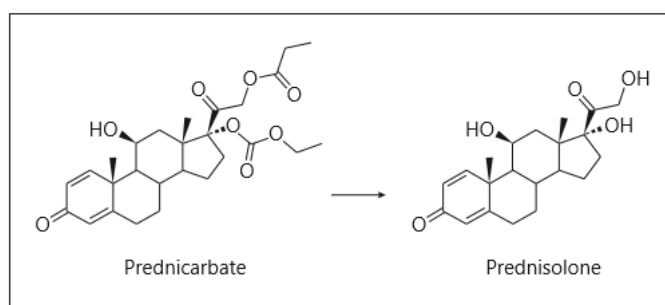


图 3.1 通过两种可能的中间体（17-和 21-碳酸乙酯）将前药泼尼松龙裂解为母体药物泼尼松龙

3.1.2 软药的概念

设计软药用于局部皮肤治疗是设计更安全药物的一种新颖方法。与前药相反，软药本身是活性的。在表皮和真皮中，皮肤酶将它们通过生物转化为非活性代谢物。因此，活性药物不会阻碍全身循环，并且药理作用仅限于应用领域。在设计软药时，要综合考虑其生物转化。相反地，这种快速且可预期灭活的软药的合理设计可用于创建通过皮肤酶抵抗生物转化的药物。

3.1.2.1 过氧化苯甲酰→苯甲酸（图 3.2）

过氧化苯甲酰（BPO）应用于下肢溃疡治疗中共 5 例报告^[43]。在患者的血清中仅检测到苯甲酸而不是 BPO。这些发现表明 BPO 在皮肤中完全代谢。因此，Morsches 和 Holzmann^[43]排除了 BPO 在局部治疗中的系统毒性效应。事实证明，BPO 对酶促切割具有很强的亲和力。对此的一种解释可能是过氧化物具有富电子的分子部分。这可能使它们更容易受到酶攻击。因此，在设计抗代谢药物时，应避免富电子或贫电子域。

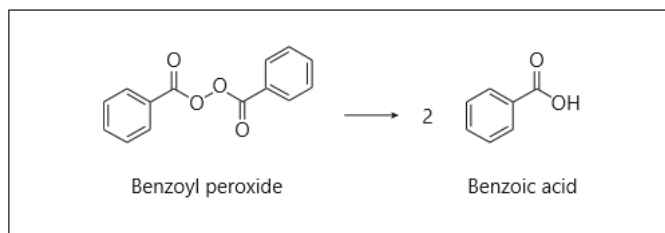


图 3.2 将活性药物过氧化苯甲酰裂解为非活性苯甲酸

3.1.2.2 21 丁酸氟考卡汀→氟考卡汀（图 3.3）

21 丁酸氟考卡汀是一种合成的糖皮质激素皮质类固醇，主要在欧洲国家/地区销售，用于治疗皮肤病，如皮炎，湿疹，红斑，初度烧伤和昆虫叮咬。与 PC 类似，它的雄甾烷骨架排列在一个平面中。丁酯几乎垂直于平面，因此皮肤中的酶可自由接近。21 丁酸氟考卡汀的例子很好地证明了立体化学在酶促降解中起着重要的作用。对于 TTS 药物的设计，应将可能水解的分子部分安排在酶不太易接近的位置。

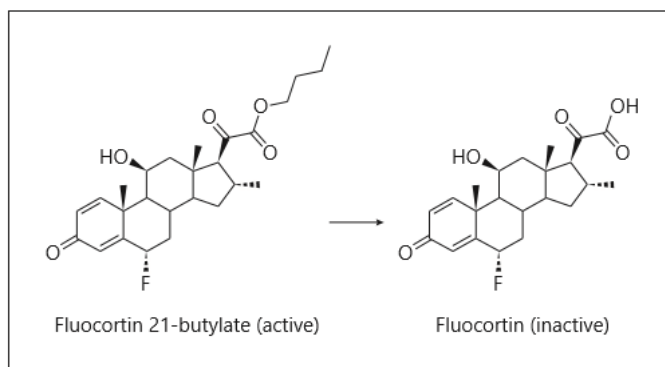


图 3.3 将活性药物 21 丁酸氟考卡汀裂解为非活性氟考卡汀

3.1.3 有立体选择性生物转化吗？

3.1.3.1 外消旋的酮洛芬乙酯→（R）-和（S）-酮洛芬

在 HaCaT 细胞上进行的研究所提供的结果，可与切除的人皮肤重新赋予其生物转化活性的结果相媲美^[21]。酮洛芬是一种抗疼痛和炎症的非甾体抗炎药。（R）-酮洛芬主要具有镇痛作用，而（S）-酮洛芬具有更强的 100 至 1000 倍的抗炎特性。口服给药时，经常有胃肠道副作用的报道，这就是为什么酮洛芬经皮应用变得重要。但是，酮洛芬的物理化学性质并不适合于经皮途径。酮洛芬被配制为更具亲脂性的前药酮洛芬乙酯（KEE）。在 HaCaT 细胞中研究了渗透和代谢。结果表明，CE2 主要负责将 KEE 转化为酮洛芬^[44]（图 3.4）。将外消旋 KEE 用于 HaCaT 细胞，但几乎仅 R-KEE 被转化为（R）-酮洛芬。对于以 R / S-KEE 为前药的皮肤产品，可以预期判断有止痛作用但没有消炎作用。

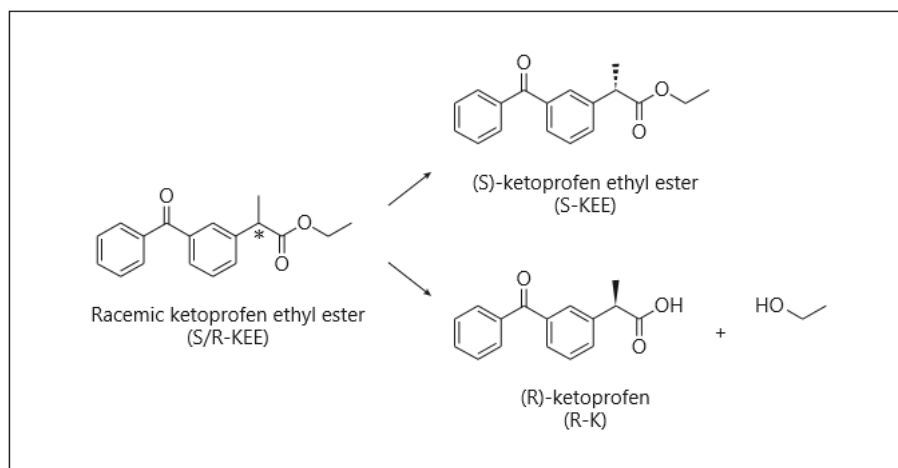


图 3.4 外消旋酮洛芬乙酯的立体选择性裂解主要是 (R)-酮-托洛芬

3.1.3.2 非对映体普萘洛尔酯→普萘洛尔 (图 3.5)。

普萘洛尔是有效的 β 受体阻滞剂。(S)-普萘洛尔的效力是 (R)-普萘洛尔的 100 倍。但是，由于普萘洛尔具有独特的肝首过代谢，因此其口服生物利用度较差。而透皮给药时发现，普萘洛尔亲水性太强。因此，Udata 等^[45]合成了更亲脂的酯前药。由于前药分子中有 2 个手性中心，因此存在 4 个对映异构体 (1S2S, 1S2R, 1R2R 和 1R2S)。依靠它们的立体化学，评估了它们的新陈代谢和进入皮肤的通量。外消旋普萘洛尔未观察到人类皮肤中的立体定向渗透；(S)-和 (R)-普萘洛尔均能均匀渗透皮肤。在人皮肤组织匀浆中，四种对映异构体的水解速率不同：1S2R > 1R2R > 1R2S > 1S2S。这些结果与其他研究非常吻合，2R 对映异构体的水解非常明显。一个重要的新发现是，四种对映异构体之间的通量率不同。这表明皮肤渗透对药物立体化学的依赖性。在这项研究中，使用 1S2S 对映异构体获得的通量最高，比母体药物高 30 倍。另一方面，该对映异构体代谢为母体药物的能力却是最弱的。问题是，在同时考虑通量和代谢之后，四种对映异构体中哪一种能在血液中提供最高的 (S)-普萘洛尔浓度。

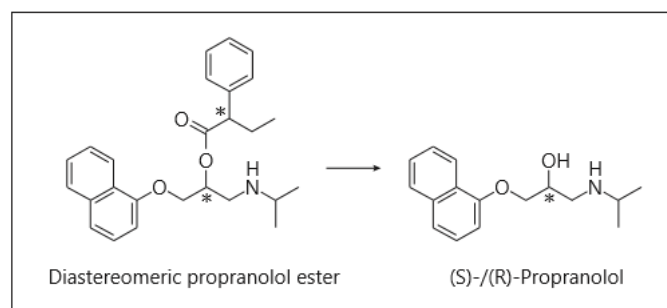


图 3.5 非对映的普萘洛尔酯裂解为“单-对映体”普萘洛尔

4 结论

最近很少有文献研究皮肤酶的代谢活性对药物的渗透和吸收的影响。由于这些酶的类型和活性无法与其他器官（例如肝脏）中的酶相比，因此需要在该领域进行更多针对皮肤的研究，以便得出清晰的结论。另外，某些代谢过程存在争议，使得得出结论更加困难。但是，我们在这些文献中发现了足够的相似性，可以让我们提出以下一般性建议。这些建议主要针对皮肤代谢问题，将对设计透皮药物有一定的作用。

1、皮肤酶的类型随解剖部位和性别而变化。因此，个体内部和个体之间的波动都可能发生，特别是当该药物代谢位置非常广泛的时候。

2、皮肤酶活性取决于年龄，并且随着年龄的增长变得更高。因此，当在儿童中使用高度代谢的药物时，不仅应根据儿童的体重减少其剂量。

3、迄今为止，已证明活表皮具有最高的酶活性。因此，可以有效地使用皮肤前药和皮肤软性药物，因为两者都在进入真皮之前就被激活或失活了，因此在它们被全身吸收之前就被激活了。

4、手性药物被生物转化后，其几何特性得以保持。在配制前药时，可以使用更具活性的对映异构体。如果两种对映异构体（R 和 S）都具有相同的活性，如果需要高生物转化率（例如，前药和软性药物），则可以使用 R 对映异构体；如果所用药物需通过皮肤的酶降解程度较小，则可以使用 S 对映体。

5、在使用这些前药和软性药物时，应考虑酶活性的饱和。对一个以上羟基进行酯化处理（以获得更具亲脂性的前药）通常会导致母体药物的释放降低，因为在空间上更容易接近的酯或醚会先被裂解。

6、代替掩蔽几个羟基，可以改变碳链长度以增加亲脂性。在大多数情况下，酶的生物转化随着碳链长度的增加而增强。此外，如果需要高生物转化率，则脂族基团不应分支。其次，空间位阻似乎在皮肤代谢中起重要作用。

重要参考文献及摘要：

《催化泼尼松龙 21-乙酸酯在人体皮肤中的生物转化的水解活性酶的分布》

摘要：我们研究了将泼尼松龙 21-乙酸酯代谢为泼尼松龙的水解酶在人体皮肤中的分布。人皮肤中水解酶的 K_m (Michaelis-Menten 常数) 和 V_{max} (最大速率) 分别为 25.1 μM 和 0.46 nmol / min / mg 蛋白。真皮和表皮中的水解活性相似，考虑到它们的厚度，表皮中的水解活性比真皮高 12.1 倍。此外，通过皮肤切片，在距离皮肤表面 80 - 120 微米处是代谢物(PN)含量最高的位置。因此，代谢三七总皂苷的水解活性分布于表皮，尤其是基膜区；表皮在这个区域与真皮接壤。这些结果表明，人体皮肤中分布的水解活性酶可以阻止某些物质以其未水解的形式进入体循环。

《大鼠和人角质形成细胞酯酶活性的年龄依赖性》

摘要：在新生儿、成年人以及 1、3、10 和 50 日龄大鼠的培养角质细胞中，检测皮肤酯酶活性的年龄和物种依赖性特征。在共聚焦激光扫描显微镜下，使用荧光素-5-异硫氰酸酯二乙酸酯来表征酯酶的存在。在体外培养的角质形成细胞匀浆中研究烟酸乙酯(烟酸的酯化前体药物)的水解，并评价烟酸乙酯的米氏参数。随着大鼠和人的发育和生长， V_{max} 和 $V_{max}/K(m)$ 急剧增加，表明角质形成细胞中的酯酶在生长过程中显著发展。每一物种的亲和参数 $K(m)$ 在年龄上几乎相同。在培养的角质形成细胞中的这些发现与我们之前使用解剖皮肤标本的报道一致。还观察到 V_{max} , $V_{max}/K(m)$ and $K(m)$ 之间的种属差异，这些参数在大鼠肠内营养水解中具有显著性。

《角质形成细胞表皮羧酸酯酶代谢的立体选择性特征及机制》

摘要：越来越多的证据表明，表皮羧酸酯酶可能参与经皮吸收中前药的立体选择性水解。本研究旨在评价酮洛芬乙酯水解的立体选择性特征和机理。酮洛芬乙酯主要被人角质形成细胞的羧酸酯酶水解为 R-酮洛芬。人羧酸酯酶-1 (hCE-1)和人羧酸酯酶-2 (hCE-2)在 L02 肝细胞中被强烈检测到，hCE-2 也在角质形成细胞中被强烈检测到，但 hCE-1 在角质形成细胞中未被检测到。因此，hCE-2 是 HaCaT 角质细胞中丰富的羧酸酯酶，其可能负责酮洛芬乙酯的立体选择性水解。

《非对映体普萘洛尔酯前药的立体选择性酶水解和皮肤渗透》

摘要：通过用纯对映体 R - 和 S - 苯基丁酰氯处理纯的 R - 和 S - 普萘洛尔盐酸盐，合成了四种非对映体普萘洛尔酯前药(12S, 1S2R, 1R2S, 1R2R)。建立了一种采用 α - 1 酸性糖蛋白(手性 AGP)柱的高效液相色谱技术，用于研究普萘洛尔对映体在合成和水解过程中的外消旋作用。建立了反相高效液相色谱法同时分析普萘洛尔和酯前药。在不同

的大鼠组织匀浆中研究了这些酯的水解，即肝、肠、血浆、皮肤、脑和纯血浆胆碱酯酶，即丁酰胆碱酯酶(酶代码 3.1.1.8)和乙酰胆碱酯酶(酶代码 3.1.1.7)。在 37℃ 下，使用标准的并排扩散池进行了全层鼠皮的体外经皮渗透研究。大鼠组织匀浆中非对映体酯前药的减少遵循明显的一级动力学，并且是立体选择性的。1S2S、1R2R、1R2S 和 1S2R 酯前药的脑与血浆水解速率常数之比分别为 27.8、5.58、6.07 和 2.97。乙酰胆碱酯酶比丁酰胆碱酯酶对所有四种非对映体酯前药的水解更快，并且是立体选择性的。(R)普萘洛尔、(S)普萘洛尔、1S2S、1R2S、1S2R 和 1R2R 酯前药的渗透系数 $[K_p \pm 10^3 (\text{cm h}^{-1})]$ 分别为 1.40 ± 0.30 、 1.41 ± 0.27 、 42.20 ± 1.24 、 29.26 ± 3.41 、 16.27 ± 3.12 、 12.99 ± 2.84 。结果表明，普萘洛尔的 1R2S 非对映体酯前体药物在肝和肠组织中表现出最大的稳定性，而在血浆中表现出相当快的转化。结果还表明，第二手性碳原子的构型是所有生物介质中所有非对映体前药水解速率的决定因素。与母体药物相比，所有四种前药的 K_p 显著增加，1S2S 皮肤渗透性增加 30 倍，在所有四种前药中最高。

《人类皮肤乙醇脱氢酶的底物特异性和低级脂肪醇引起的皮肤红斑》

摘要：确定了人类皮肤醇脱氢酶对 7 种低级脂肪伯醇底物的利用率：乙醇，丙醇，丁醇，戊醇，2-甲基丙醇，3-甲基丁醇和 2,2-二甲基丙醇。戊醇的相对活性最高，而 2,2-二甲基丙醇的相对活性最低。测定了体内这 7 种低级脂肪伯醇的红斑生成率，红斑生成率与酒精脱氢酶对底物的利用率密切相关。即局部应用于人体皮肤的伯醇所产生的反应在很大程度上是由被生物转化后产生的相应的醛引起的。