

# TRANSPORT PRZEZNASKÓRKOWY AKTYWNYCH SKŁADNIKÓW KOSMETYCZNYCH

## PERCUTANEOUS PENETRATION OF ACTIVE COSMETICS INGREDIENTS

**Magdalena Malinowska, Elżbieta Sikora\*,  
Jan Ogonowski**

*Instytut Chemii i Technologii Organicznej  
Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska  
ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków  
\*e-mail: esikora@pk.edu.pl*

---

Abstract

Wstęp

1. Naskórek – budowa i funkcje
2. Transport przeznaskórkowy
3. Penetracja substancji aktywnej przez skórę
4. Czynniki wpływające na efektywność przenikania związków
  - 4.1. Lipofilowość
    - 4.1.1. Metody wyznaczania lipofilowości
  - 4.2. Baza kosmetyku
  - 4.3. Promotory przenikania
5. Metody badania przenikalności przez skórę
  - 5.1. Komora Franza
  - 5.2. Dyfuzyjna komora przepływowa
  - 5.3. Model Saarbruckena
  - 5.4. Metoda ATR-FTIR

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**mgr inż. Magdalena Malinowska** – absolwentka Wydziału Inżynierii i Technologii chemicznej Politechniki Krakowskiej. Jest doktorantką w Instytucie Chemii i Technologii Organicznej.

**dr inż. Elżbieta Sikora** – ukończyła studia i doktoryzowała się na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej. Jest adiunktem w Katedrze Technologii Organicznej i Procesów Rafineryjnych. Zainteresowania naukowe dr inż. E. Sikory dotyczą technologii organicznej małowadności, obejmują zagadnienia związane z pozyskiwaniem, badaniem właściwości oraz zastosowaniem surowców pochodzenia naturalnego w produktach kosmetycznych i produktach chemii gospodarczej.

**prof. dr hab. inż. Jan Ogonowski** – jest kierownikiem Katedry Technologii Organicznej i Procesów Rafineryjnych na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej. Zainteresowania naukowe Profesora dotyczą katalizy, technologii chemicznej technologii produktów małowadności oraz chemii i technologii kosmetyków.

## ABSTRACT

This article presents the science output regarding percutaneous transport mechanisms, penetration promoters and the methods of active substances skin absorption enhancement. The interaction between cosmetic ingredient and skin cells determines efficiency of the product. The study presents the most important functions of the skin outlayer (stratum corneum), its structure (Fig. 1) and permeability [1–7]. Due to the compact structure, stratum corneum prevents skin water loss. Moreover, it protects human body from outer substances influence [8–12]. Relationship between compound properties and its ability to skin absorption was also described. Physicochemical properties like lipophilicity, compound structure and particle size have a significant influence on intensity of the compounds skin penetration [4, 16–25]. Lipophilicity of a molecule is defined using many theoretical and experimental methods which allow to predict cosmetic ingredients assimilation [26–42]. Moreover, cosmetic base composition [43–47] and the presence of the penetration enhancers (promoters) also affect active ingredients absorption through the skin [48–49].

The most popular equipment used for testing the absorption and the penetration of active substances through the human skin are described in the last part of the manuscript. Compounds permeability through the skin could be tested using various experimental methods [50–58] including the diffusion cells equipped with membranes or prepared skin fragments [37, 55, 64–67]. The most common used are Franz diffusion cells (Fig. 4) and flow diffusion cell (Fig. 5). The measurement of permeation through stratum corneum using ATR-FTIR method is quite reliable and simple (Fig 8), although measuring skin penetration is made by Saarbrücken penetration model (Fig. 6) and by application of Tape Stripping technique (Fig. 7). The study of skin absorption mechanisms and factors influencing this process is a great opportunity to design efficient cosmetic recipes and a possibility to make more effective, active cosmetic ingredients.

Keywords: percutaneous permeation, percutaneous absorption, diffusion cells,

Słowa kluczowe: przenikanie przezskórne, absorpcja przezskórna, komory dyfuzyjne

---

---

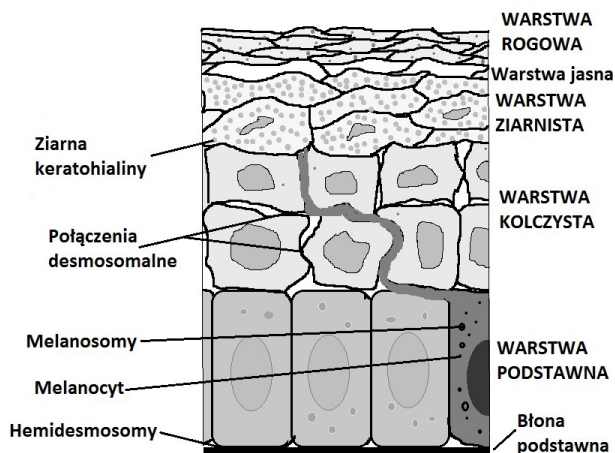
## WSTĘP

Badania nad nowymi substancjami czynnymi o optymalnej aktywności biologicznej oraz wysokiej skuteczności stanowią wyzwanie dla współczesnych naukowców [1]. Zagadnienie transportu substancji aktywnych przez skórę oraz błony to bardzo istotny element w badaniach nad efektywnością działania związków stosowanych w farmacji i kosmetyce.

Jednym z głównych problemów przemysłu kosmetycznego jest uzyskanie odpowiedniego stopnia penetracji składników aktywnych przez skórę, a także potwierdzenie ich klinicznej skuteczności [2]. Oddziaływanie preparatu na lipidy cementu międzykomórkowego warstwy rogowej naskórka oraz na błony komórkowe determinuje skuteczność działania kosmetyku a także ewentualne efekty niepożądane [3]. Dlatego umiejętność przewidywania zdolności substancji do przenikania przez skórę jest pomocna przy tworzeniu nowych receptur [4]. Poznanie mechanizmów absorpcji substancji czynnych oraz czynników na nie wpływających daje większe możliwości w projektowaniu receptur, a co za tym idzie zwiększeniu efektywności działania i skuteczności preparatów kosmetycznych [2].

### 1. NASKÓREK – BUDOWA I FUNKCJE

Najbardziej zewnętrzną warstwą skóry ludzkiej jest naskórek. Naskórek zbudowany jest z pięciu warstw komórek znajdujących się w różnych stadiach różnicowania: warstwa podstawna, kolczysta, ziarnista i rogowa. Na styku warstwy rogowej i ziarnistej znajduje się cienka, widoczna jedynie w zrogowaciałym naskórku dłoni i stóp warstwa jasna (Rys. 1). Tworzenie się i rozrost głębszych warstw wymusza na warstwach zewnętrznych proces różnicowania. W głębszych warstwach, komórki naskórka są duże, walcowate i łączą się z przylegającymi komórkami za pomocą desmosomów. W miarę zbliżania się do powierzchni skóry, komórki stają się bardziej zwarte, a ich kształt ulega wysmukleniu. Najbardziej spłaszczone komórki (tzw. *stratum corneum*) stanowiące zewnętrzną, ostatnią warstwę skóry noszą nazwę korneocytów [2, 5, 6]. Grubość naskórka to tylko 10–20 mm, przy 10–25 warstwach korneocytów, a bariera, którą tworzy okazuje się być nie do pokonania dla wielu związków [7].



Rysunek 1.  
Figure 1.

Przestrzeń międzykomórkową warstwy rogowej wypełnia spoiwo wodno-lipidowe nazywane „cementem międzykomórkowym”. Dzięki zwartej budowie, naskórek zapobiega utracie wody ze skóry. Chroni również organizm przed przedostaniem się obcych substancji z zewnątrz. Funkcja ta jest oczywista ze względu na ochronę organizmu przed wnikaniem związków toksycznych, jednak odnosi się także do składników zawartych we wszelkich preparatach nanoszonych na skórę [8, 9]. Głębsze poznanie mechanizmu funkcji barierowej naskórka stanowi bardzo istotny element w projektowaniu receptur kosmetycznych i farmaceutycznych, gdyż ma ona ścisły związek z dostarczaniem do skóry szerokiej gamy substancji leczniczych, pielęgnacyjnych, a także z polepszeniem funkcjonowania skóry [10, 11]. Najbardziej przekonującym dowodem na to, że główną barierą ograniczającą przenikanie związków czynnych jest warstwa rogowa naskórka jest fakt, że fizyczne usunięcie tej warstwy powoduje nagły wzrost intensywności przenikania wody i innych związków w głąb organizmu [4, 12].

Skład lipidów warstwy rogowej jest nieco inny niż głębszych warstw naskórka, m.in. charakteryzuje się mniejszą zawartością fosfolipidów, zawiera za to więcej ceramidów, kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu i jego estrów [6]. Obecność amfifilowych fosfolipidów (o charakterze hydrofilowo-hydrofobowym) umożliwia związkom hydrofilowym wnikanie przez membrany oraz zachodzenie wodno-lipidowych procesów biochemicznych. Dlatego właśnie fosfolipidy stanowią 50% lipidów warstwy podstawnej i kolczystej naskórka oraz około 25% warstwy ziarnistej [2]. Glikolipidy, glikoproteiny i cholesterol, które również wchodzi w skład *stratum corneum* to podstawowe komponenty niezbędne do prawidłowego zachodzenia procesów transportu substancji przez błony [2]. Szacuje się, że proteiny stanowią 75–80% *stratum corneum*, lipidy 5–15%, natomiast reszta składników to 5–10% [13]. Wiadomo, że błony komórkowe są przepuszczalne dla substancji hydrofilowych

dzięki obecności protein i glikoprotein, podczas gdy związki lipofilowe przenikają przez podwójną warstwę fosfolipidową i utworzone w niej „pory” [2]. Płynność błony komórkowej oraz jej przepuszczalność są ściśle powiązane z rodzajem lipidów wchodzących w jej skład. Błona jest bardziej elastyczna (bardziej przepuszczalna i płynna) jeśli zawiera więcej nienasyconych kwasów tłuszczowych, natomiast bardziej sztywna (mniej przepuszczalna i o strukturze bardziej usieciowanej) gdy przeważają nasycone kwasy tłuszczowe oraz cholesterol. Dlatego warstwa ziarnista oraz warstwa rogowa naskórka, które zawierają sporo glukozyloceramidów, ceramidów i cholesterolu mają równocześnie, zauważalnie większą sztywność niż głębsze warstwy naskórka. Każda, nawet najmniejsza zmiana proporcji kwasów tłuszczowych w naskórku powoduje wyraźne zmiany w wyglądzie i funkcjonowaniu skóry, wpływa m.in. na spójność warstwy rogowej naskórka (gładkość lub szorstkość skóry) [2].

## 2. TRANSPORT PRZEZNASKÓRKOWY

Substancje aktywne zawarte w recepturach kosmetyków i leków mogą wnikać przez naskórek na dwa sposoby – poprzez warstwę rogową naskórka oraz przez przydatki skórne, tj. gruczoły potowe, łojowe oraz mieszki włosowe. Transport substancji aktywnych przez warstwę rogową do jej głębszych warstw może odbywać się drogą intercelularną (pomiędzy komórkami naskórka, przez lipidy cementu międzykomórkowego) oraz drogą transcelularną (poprzez komórki naskórka – korneocyty). Całkowity przepływ substancji przez skórę jest sumą poszczególnych przepływów, a zrozumienie mechanizmów sterujących przenikaniem związków przez *stratum corneum* jest dość istotne dla projektowania efektywnie działających substancji czynnych w recepturach kosmetycznych [13–15]. Wyniki badań wskazują, że lipidowe obszary warstwy rogowej stanowią ekwiwalent bariery naskórkowej dla większości cząsteczek. Wynika z tego, że droga intercelularna (międzykomórkowa) jest dla związków efektywniejsza niż droga transcelularna (przez komórkowa) [4].

Podstawowa droga dyfuzji substancji prowadzi przez cement międzykomórkowy, który składa się głównie z obszarów lipofilowych. Niżej położone warstwy są zdecydowanie bardziej hydrofilowe. Dlatego charakter związku ma duży wpływ na to, czy związek ulegnie absorpcji. Składniki cementu międzykomórkowego odgrywają znaczącą rolę w kohezji korneocytów, wpływając na przepuszczalność bariery skórnej [1]. Mechanizmy transportu substancji aktywnych mogą przebiegać w różny sposób. Wyróżniono kilka rodzajów przenikania związków przez błony biologiczne. Najbardziej powszechny i najczęściej występujący mechanizm przenikania cząsteczek przez skórę to dyfuzja bierna [4, 16–21.] Jest to proces nie wymagający dostarczenia energii, zachodzący na zasadzie wyrównywania stężeń. Cząsteczki przechodzą zgodnie z gradientem stężeń, co jest uzależnione jedynie od sił fizycznych – dyfuzji, osmozy i ich energii kinetycznej. Cząsteczki z roztworu po jednej stronie błony wnika do jej wnętrza, a następnie przechodzą do fazy wewnętrznej po dru-

giej stronie błony. Substancje tym szybciej przechodzą przez błony im są lepiej rozpuszczalne w tłuszczach [16, 22].

Transport cząsteczek przez błonę niezgodnie z prawami dyfuzji to transport czynny i wymaga on dostarczenia energii. Stosowane są tu nośniki, które mają powinowactwo do przenoszonej substancji. Energia potrzebna do aktywacji nośnika wytwarzana może być w procesach utleniania lub rozpadu ATP. Jeśli jednak transport z udziałem nośnika odbywa się zgodnie z gradientem stężeń, to nie wymaga wówczas nakładu energii i nazywany jest transportem ułatwionym.

W przypadku małych cząsteczek rozpuszczonych w medium przenikającym przez pory znajdujące się w błonie, mamy do czynienia z transportem konwekcyjnym. Im większa różnica stężeń po obu stronach błony oraz im większa średnica porów, tym szybkość transportu konwekcyjnego jest większa. Ten rodzaj transportu dotyczy jedynie cząsteczek o rozmiarach nieprzekraczających 400 Da.

Transport przez pary jonowe to szczególny przypadek dyfuzji biernej, w którym cząstki dyfundujące są silnie zdysocjowane i łączą się z jonami organicznymi rozpuszczalnymi w lipidach błony.

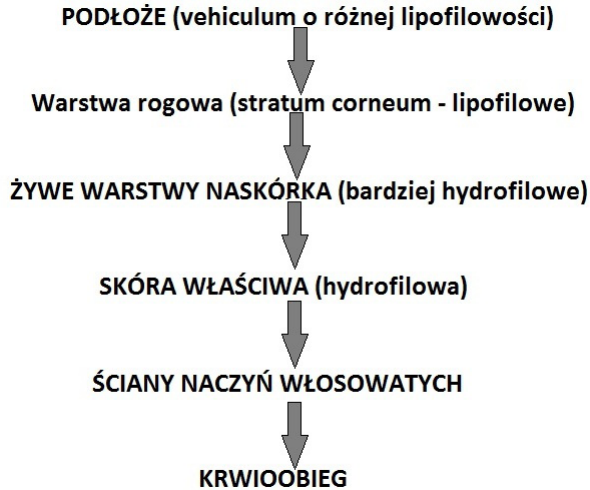
Kolejny mechanizm transportu cząstek przez błony to pinocytoza. Polega ona na wchłanianiu przez błonę kropelek tłuszczu lub cząstek stałych. Błona ulega w tym miejscu wklęsnięciu i tworzą się drobne pęcherzyki z zamkniętą wewnątrz substancją. Zawartość pęcherzyków przenika przez błonę, natomiast pęcherzyki stopniowo zanikają [4, 16–24].

### 3. PENETRACJA SUBSTACJI AKTYWNEJ PRZEZ SKÓRĘ

Surowce stosowane w kosmetykach jako substancje czynne wykazują odpowiednio wysoką efektywność nie tylko wtedy gdy mają odpowiednie powinowactwo do receptora, czyli aktywność wewnętrzną, ale także gdy cechuje je zdolność do wnikięcia w warstwę rogową naskórka, a następnie w głąb żywych warstw skóry. Zdolność substancji do przenikania skóry jest decydującym czynnikiem umożliwiającym dotarcie związku do odpowiedniego miejsca w obrębie skóry. Proces efektywnej penetracji cząsteczki przez warstwy *stratum corneum* do skóry właściwej można podzielić na kilka etapów [1, 23]:

- partycja związku pomiędzy *vehiculum* o różnej lipofilowości oraz warstwę rogową naskórka,
- dyfuzja związku przez warstwę rogową naskórka,
- partycja związku pomiędzy lipofilową warstwę rogową naskórka a hydrofilowe głębsze warstwy naskórka,
- dyfuzja związku przez kolejne warstwy naskórka oraz skóry właściwej,
- przenikanie związku do krwi przez ściany naczyń włosowatych.

Na Rysunku 2 przedstawiono schematycznie drogę dyfuzji substancji przez skórę.



Rysunek 2.  
Figure 2.

W przybliżeniu proces wchłaniania substancji przez warstwy naskórka można opisać pierwszym prawem dyfuzji Ficka (równanie 1).

$$dq = -DS \frac{dC}{dx} dt \quad (1)$$

gdzie:

$dq$  – masa substancji dyfundującej w czasie  $dt$  przez powierzchnię  $S$ . Masa ta jest proporcjonalna do zmiany stężenia  $dC$  na odcinku  $dx$ ,

$D$  – współczynnik dyfuzji, czyli masa substancji dyfundującej w jednostce czasu przez jednostkę powierzchni ( $1\text{cm}^2$ ), przy gradiencie stężenia  $dC/dx = 1$ , odwrotnie proporcjonalny do masy cząsteczkowej substancji,

$S$  – powierzchnia, na której zachodzi dyfuzja,

$dC/dx$  – tzw. gradient stężenia, czyli zmiana stężenia odniesiona do jednostki długości.

#### 4. CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA EFEKTYWNOŚĆ PRZENIKANIA

Efektywność przenikania substancji przez skórę determinuje wiele czynników, które można podzielić na 4 grupy [4, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 25]:

a) właściwości substancji dyfundującej:

- rozpuszczalność w lipidach i w wodzie,
- współczynnik podziału olej/woda,
- wielkość i kształt cząsteczki – szybciej dyfundują cząsteczki mniejsze (o masie cząsteczkowej mniejszej niż 3 kDa),



- polarność, ładunek i stopień dysocjacji – cząsteczki obojętne, niezdysoncjowane i niepolarne przenikają szybciej,
- lotność związku – gazy przenikają łatwo przez skórę,
- b) właściwości bazy:
  - właściwości penetracyjne,
  - obecność substancji pomocniczych (promotorów przenikania),
  - obecność związków powierzchniowo-czynnych,
  - tworzenie okluzji,
  - pH,
- c) czynniki biologiczne:
  - stan zdrowia skóry i jej grubość – przez skórę uszkodzoną substancja szybciej dyfunduje,
  - wiek, metabolizm,
  - przepływ krwi,
  - czynniki fizyczne:
    - temperatura (w tym ogrzanie skóry, masaż – wpływają korzystnie na przenikanie),
    - pora dnia,
    - klimat.

Dzisiejsza wiedza na temat związku pomiędzy budową cząsteczki oraz jej zdolnościami przenikania przez skórę pozwala na sformułowanie kilku ogólnych reguł [4]:

- dla niejonowych związków o małej bądź średniej masie cząsteczkowej ich zdolność przenikania zależy przede wszystkim od ich lipofilowości – możliwość penetracji rośnie wraz ze wzrostem lipofilowości,
- małowcząsteczkowe substancje o właściwościach higroskopijnych mogą przenikać do obszarów wodnych warstwy rogowej naskórka i tam zwiększać masę związanej wody, w tym przypadku nie można też wykluczyć przezkomórkowej (transcelularnej) drogi penetracji,
- dla substancji o budowie jonowej *stratum corneum* stanowi bardzo trudno przepuszczalną barierę i dyfuzja związku następuje głównie za pośrednictwem przydatków skórnych.

#### 4.1. LIPOFILOWOŚĆ

Współczynnik podziału oraz rozpuszczalność związku w tłuszczach i w wodzie to czynniki, które mają największe znaczenie dla zdolności penetracji związku. Określa się je mianem lipofilowości, która determinuje zachowanie się substancji chemicznej w warunkach *in vivo*. Od lipofilowości związku zależy jego zachowanie w obrębie struktur biologicznych (np. wiązanie z proteinami plazmy krwi) czy przenikanie przez błony komórkowe, barierę krew–mózg, a także struktury skóry [1]. Znajomość lipofilowości związku jest szeroko stosowana do przewidywania farma-

kokinytyki i farmakodynamiki działania leków oraz toksyczności związków egzogennych. Określenie lipofilowości substancji polega na wyznaczeniu jej **współczynnika podziału** pomiędzy dwie niemieszające się cieczce – *n*-oktanol i wodę (które dobrze modelują własności struktur komórkowych) [4, 19, 20, 25–27]. Współczynnik podziału wyrażony jest stosunkiem stężeń substancji w obu fazach (równanie 2).

$$P_{ow} = \frac{C_{oktanol}}{C_{woda}} \quad (2)$$

gdzie:

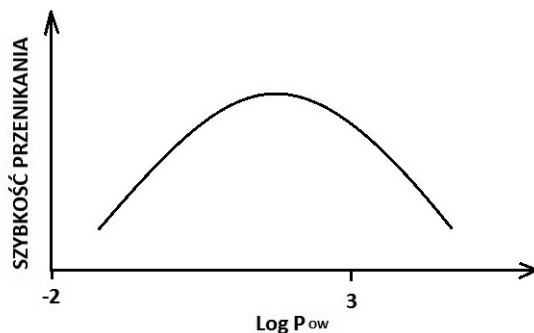
$P_{ow}$  – współczynnik podziału,

$C_{oktanol}$  – stężenie związku w fazie oktanolowej,

$C_{woda}$  – stężenia związku w fazie wodnej.

Lipofilowość związku przedstawia się w postaci logarytmu dziesiętnego ze współczynnika podziału  $\log P_{ow}$  [19, 20, 25–29].

Substancje o wysokiej wartości  $\log P_{ow}$  (czyli substancje o dużej lipofilowości) wnikają bardzo łatwo do warstwy rogowej naskórka, ale ich przenikanie do żywych warstw naskórka jest już zahamowane ze względu na hydrofilowy charakter tych warstw. Odwrotnie jest z substancjami hydrofilowymi (o niskim  $\log P_{ow}$ ). Mogą one łatwo dyfundować przez żywe warstwy naskórka i skórę właściwą, jednak nie są w stanie pokonać lipofilowej bariery *stratum corneum*. Reasumując, optymalną zdolnością do penetracji będą charakteryzować się substancje o średniej lipofilowości, wykazujące znaczącą rozpuszczalność zarówno w wodzie jak i w lipidach, z maksimum dla wartości  $\log P_{ow}$  1,0–3,0 (Rys. 3) [4, 19, 20, 25, 69].



Rysunek 3.

Figure 3.

Ponieważ lipofilowość w znacznym stopniu determinuje przenikanie substancji przez skórę, w celu poprawy przenikalności można modyfikować strukturę danego związku. Przez wprowadzenie łańcuchów alkilowych i arylowych do wyjściowego związku możemy zwiększyć lipofilowość substancji natomiast podstawniki zdolne do dysocjacji, czy zawierające elektroujemne atomy (jak azot czy tlen) będą obniżać lipofilowość. Takie zmiany lipofilowości, zwłaszcza w przypadku związków hydrofi-

lowych sprawiają, że dana substancja może w prosty sposób przeniknąć barierę *stratum corneum* i następnie przekształcić się do swojej pierwotnej postaci (np. przez zhydrolizowanie lipofilowego prekursora) [17, 19, 20, 23, 25].

Powyższe sposoby zwiększania lipofilowości związku są określone mianem lipofilizacji. Najprostszymi jej metodami mogą być estryfikacja, alkoksylacja, amidowanie, tworzenie par jonowych. Czasami związek wyjściowy zamyka się w lipofilowych nośnikach, takich jak liposomy czy niosomy, co ułatwia jego penetrację przez warstwę rogową naskórka [17, 19, 20, 23, 25]. Dobrym przykładem takiej modyfikacji jest zwiększenie lipofilowości, stosowanych jako antyutleniacze, witaminy C – przekształcając ją w palmitynian askorbylu czy kwasu galusowego – w jego estry, np. gallusan oktylu.

#### 4.1.1. Metody wyznaczania lipofilowości

Wśród metod określania lipofilowości substancji wyróżniamy: metody teoretyczne (rachunkowe i programy komputerowe) [28, 30–34], metody eksperymentalne – metoda „shake-flask” (wytrząsanie w kolbie) [19, 26, 27], metoda Slow-Stirring [29], metoda SPME (ang. *Solid-Phase Microextraction*) [30], oraz metody pośrednie – chromatograficzne, tj. MLC (ang. *Micellar Liquid Chromatography*) – cieczowa chromatografia micelarna, czy HPLC (ang. *High Performance Liquid Chromatography*) – wysokosprawna chromatografia cieczowa, także w układzie odwróconych faz – RPHPLC (ang. *Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography*), RPTLC (ang. *Reversed Phase Thin Layer Chromatography*) [28, 35].

#### Metody teoretyczne

Metody teoretyczne wyznaczania współczynnika podziału oktanol/woda pozwalają na wstępne oszacowanie wartości  $\log P_{ow}$ .

Stosując szeroko dostępne programy komputerowe [31–34], można na podstawie znajomości budowy strukturalnej danego związku obliczyć wartości  $\log P_{ow}$ . Do odpowiedniego programu wprowadza się strukturę substancji, najlepiej w postaci kodu SMILES (ang. *Simplified Molecular Input Line Entry System*), który wyróżnia poszczególne grupy funkcyjne w cząsteczce i ich wzajemne powiązania. Można też narysować wzór strukturalny cząsteczki lub podać jej numer CAS. Program automatycznie dzieli cząsteczkę na grupy atomów (np.  $-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{C}=\text{O}$ ,  $-\text{OH}$ ), którym przypisana jest odpowiednia wartość współczynnika hydrofilowego bądź lipofilowego (zależna od charakteru danej grupy). Dodatkowo wprowadzana jest wartość współczynników korygujących (uwzględniających np. fakt cykliczności czy aromatyczności cząsteczki). Po zsumowaniu wszystkich wartości współczynników obliczana jest wartość  $\log P_{ow}$  dla całej cząsteczki substancji.

Ponadto, do oszacowania wartości  $\log P_{ow}$  stosowane są metody rachunkowe, między innymi: metoda  $\pi$  – Fujita-Hansch (stosowana głównie dla substancji zawierających fragmenty aromatyczne) [28, 36, 37], metoda Rekker [28, 38–40] czy metoda Hansch-Leo [28, 36, 41, 42].

### Metody eksperymentalne

Metody eksperymentalne polegają na oznaczeniu dystrybucji związku pomiędzy wodę a rozpuszczalnik niepolarny, jakim jest *n*-oktanol.

Metodę „shake-flask” stosuje się dla czystych substancji o  $\log P_{ow}$  zawartym w przedziale od  $-2$  do  $4$  (czasem do  $5$ , co jest uwarunkowane granicami wykrywalności zastosowanej metody analitycznej). Metoda nie ma zastosowania dla badania związków powierzchniowo czynnych. W przypadku substancji dysocjujących stosowane są zamiast wody roztwory buforowe [26, 27].

Metoda Slow-Stirring (powolnego mieszania) pozwala na wyznaczenie współczynnika podziału oktanol/woda dla substancji silnie lipofilowych (od wartości  $\log P_{ow}$   $5$  do  $8,2$ ). W metodzie tej, przez powolne mieszanie w termostatowanym reaktorze mieszaniny wody, oktanolu i badanej substancji, zapobiega się tworzeniu mikrokropel, które pojawiają się często w przypadku stosowania metody shake flask. Wymiana pomiędzy fazami jest przyspieszana przez mieszanie [29].

### Metody pośrednie

Metoda SPME pozwala oznaczać  $\log P_{ow}$  substancji, których wartość lipofilowości nie można już badać metodą shake flask. W metodzie tej wyznacza się współczynnik podziału olej/woda stosując mikroekstrakcję do fazy stałej. Do oznaczenia stężenia substancji stosuje się metody chromatograficzne, np. GC-MS [35].

Innym przykładem jest zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) do wyznaczenia liofilowości substancji o współczynnikach podziału w granicach od  $0$  do  $6$ . Metoda ta nie jest odpowiednia dla mocnych kwasów i zasad, związków kompleksowych, substancji powierzchniowo czynnych, a także substancji reagujących z eluentem. Aby skorelować zmierzone wartości metodą HPLC, dla danej substancji należy wykonać wykres kalibracyjny  $\log P_{ow}$  na podstawie wyników otrzymanych metodą chromatograficzną dla co najmniej  $6$  punktów kontrolnych. Najlepiej wykonać pomiar dla substancji o wyższym i niższym  $\log P_{ow}$  w porównaniu z badanym związkiem oraz o podobnej strukturze (wykres zależności logarytmu współczynników pojemnościowych  $\log k$  od  $\log P_{ow}$ ). W badaniach stosuje się kolumnę, w której fazę stacjonarną stanowią związki o długich łańcuchach węglowodorowych (np.  $C_8$ ,  $C_{18}$ ) z minimalną zawartością grup polarnych naniesione na krzemionkę. Jako eluent stosuje się mieszaninę metanolu z minimum  $25\%$  wody. Pomiar zwykle prowadzony jest w czasie  $1$  godziny, przy prędkości przepływu  $1$  ml/

min. Dla substancji hydrofilowych zmniejsza się prędkość przepływu przez kolumnę oraz podwyższa udział wody w mieszaninie z metanolem. Dla substancji bardziej lipofilowych konieczne jest czasem skrócenie czasu retencji. Wszystkie badane substancje powinny być w odpowiednim stężeniu rozpuszczalne w fazie ruchomej, aby można je było wykryć. W niektórych przypadkach stosuje się zamiennie rozpuszczalnik organiczny lub oddzielną kolumnę [27, 28, 35].

Na podstawie wyników wyznaczana jest zależność pomiędzy czasem retencji na danej kolumnie (w fazie odwracalnej) a współczynnikiem podziału o/w. O wartości współczynnika podziału mówi współczynnik pojemnościowy  $k$  (równanie 3):

$$k = \frac{tR - t_0}{t_0} \quad (3)$$

gdzie:

$t_R$  – czas retencji substancji,

$t_0$  – czas martwy (średni czas, jaki potrzebuje cząsteczka rozpuszczalnika na przejście przez kolumnę).

#### 4.2. BAZA KOSMETYKU

Oprócz właściwości fizykochemicznych związku, istotny wpływ na zdolność przenikania przez *stratum corneum* wywiera rodzaj bazy kosmetycznej [43]. Składniki, które towarzyszą substancji czynnej, nadają kosmetykom odpowiednie właściwości fizykochemiczne, mają również istotny wpływ na zdolność penetracyjną danej substancji. Baza kosmetyku powinna zawierać takie surowce, które będą wspomagać przenikanie substancji aktywnych, będą odpowiednio rozluźniać strukturę cementu międzykomórkowego oraz w odpowiednim stopniu uwadniać warstwę rogową. Istotne jest powinowactwo bazy zarówno do substancji czynnej jak i *stratum corneum*. Również powinowactwo składnika aktywnego do bazy kosmetyku oraz do struktur lipidowych warstwy rogowej naskórka spełnia kluczową rolę w zdolności substancji do przenikania przez skórę. Jeśli powinowactwo bazy kosmetyku i substancji czynnej jest większe niż substancji czynnej i lipidów cementu, wówczas związek aktywny nie będzie dyfundował do warstwy rogowej [4, 44]. Podział substancji aktywnej pomiędzy cząsteczki bazy a cząsteczki cementu międzykomórkowego może być wyrażona równaniem (4) [45]:

$$K_m = \frac{C_{sc}}{C_v} \quad (4)$$

gdzie:

$K_m$  – współczynnik podziału cząsteczki penetrującej,

$C_{sc}$  – stężenie substancji aktywnej w *stratum corneum*,

$C_v$  – stężenie substancji aktywnej w bazie kosmetyku.

Zdecydowana większość kosmetyków aplikowanych na skórę ma postać emulsji. Przeprowadzone badania wskazują, że istotne znaczenie ma zarówno typ emulsji jak i stopień rozdrobnienia fazy wewnętrznej. Mikroemulsje i nanoemulsje (układy, w których krople fazy zdyspergowanej mają średnice  $d < 500$  nm) poprawiają przenikanie cząsteczek przez skórę w porównaniu do żelu lub makroemulsji [43, 46, 47].

#### 4.3. PROMOTORY PRZENIKANIA

Do zwiększenia szybkości transportu związków aktywnych przez skórę bardzo skuteczne jest wprowadzenie do receptury związków wspomagających przenikanie i penetrację substancji czynnych przez skórę, tzw. promotorów transportu (penetration enhancers), które w sposób odwracalny zaburzają strukturę lipidową *stratum corneum*, czyniąc warstwę rogową bardziej przepuszczalną. Promotory transportu transdermalnego powinny być nietoksyczne, nieaktywne farmakologicznie, a także działać w sposób odwracalny. Oznacza to, że po wnikięciu związku przez warstwę rogową struktura skóry powinna wrócić do pierwotnego stanu [48].

Do najpopularniejszych promotorów penetracji przez naskórkowej zaliczamy: sulfotlenki (np. DMSO), piroolidony, alkohole i kwasy tłuszczowe oraz ich estry, alkohole małowcząsteczkowe, tenzydy, niektóre amidy i terpeny oraz ich pochodne, N-dodecylokaprolaktam (Azon) i jego pochodne [48-49]. Mechanizm ich działania polega na zmniejszeniu funkcji barierowej skóry. Związki te mogą oddziaływać na wiele sposobów [4]:

- małowcząsteczkowe alkohole powodują wymywanie lipidów cementu międzykomórkowego, zwiększanie rozpuszczalności bazy kosmetyku oraz zmianę stopnia uwodnienia keratyny,
- działanie różnego rodzaju rozpuszczalników organicznych, np. DMSO powoduje zmianę struktury ciekłokrystalicznej cementu międzykomórkowego, wymywanie lipidów, usunięcie z danego obszaru wody, a także rozluźnienie struktury zrogowaciałych komórek,
- alkohole wielowodorotlenowe, jak np. gliceryna, zwiększają płynność struktur ciekłokrystalicznych, dyfundują do wodnych obszarów cementu międzykomórkowego i dzięki swoim właściwościom higroskopijnym zwiększają wodne przestrzenie między lipidowymi warstwami cementu, co wpływa na zwiększenie przenikania małowcząsteczkowych substancji hydrofilowych przez warstwę rogową,
- związki powierzchniowo-czynne oddziałują z proteinami, w wyniku czego *stratum corneum* „pęcznieje”, zwiększając płynność obszarów lipidowych.

## 5. METODY BADANIA PRZENIKALNOŚCI PRZEZ SKÓRĘ

Modelowanie procesu przenikalności związków aktywnych przez skórę wymaga wzięcia pod uwagę wielu czynników, łącznie z dobraniem odpowiedniej formulacji, a także wykonaniem oceny ryzyka mającego miejsce podczas przeprowadzania testów. Dane pozwalające przewidzieć zdolność substancji do penetracji przez warstwy *stratum corneum* są również kluczowe, należy bowiem pamiętać, że nawet najlepiej przygotowany eksperyment nie zastąpi informacji, na podstawie której został on zaprojektowany.

Zostało opracowanych wiele modeli matematycznych mających na celu oznaczenie przenikalności substancji przez skórę, niestety niewiele z nich odzwierciedla wyniki uzyskane podczas badań *in vivo* [50]. Metody przewidywania penetracji substancji czynnych przez naskórek, w większości są metodami empirycznymi, opartymi na wcześniejszych doświadczeniach, wiele z nich to metody bardzo dokładne [72]. Najbardziej popularne modele to model QSPR Potts & Guy oraz model Mitra-gotri [51, 76, 77].

Metoda opisana przez Potts'a i Guy'a pozwala na przewidywanie współczynnika przenikalności związków, które mają kontakt ze skórą w postaci wodnych roztworów, ponadto stosowana w niej dawka badanej substancji jest nieograniczona. Wspomniana metoda określa zdolność substancji do przenikania przez *stratum corneum*, nie określa jednak ilościowo tego procesu [51].

Alternatywny model do badania przenikalności związków uwzględnia względny współczynnik polarności (ang. *Relative Polarity Index*, RPI). Metoda umożliwia dobór odpowiedniego emolienta, tak aby substancja uległa łatwiejszemu transportowi przez barierę *stratum corneum*. Podobnie jak wyżej opisana metoda, zdolność substancji do przenikania określana jest jakościowo, natomiast nie można oszacować ilości zaabsorbowanej substancji. Ponadto fakt, że względny współczynnik polarności trudno określić w sposób jednoznaczny sprawia, że metoda jest trudna do stosowania w ogólnych badaniach [52].

Kolejna metoda opiera się na informacjach o właściwościach fizykochemicznych substancji (wyznaczane są współczynnik załamania światła, polarność,  $\log P$ ) oraz oddziaływaniach pomiędzy komponentami formulacji a skórą. Metoda ta może być z powodzeniem stosowana w przypadku układów o małej liczbie składników (max. 5) [53, 54]. Najczęściej jednak preparaty kosmetyczne to układy bardziej złożone, zawierające wiele składników aktywnych, substancje o charakterze kompleksów lub związki polimerowe, dlatego uzyskane wyniki pomiarów należy interpretować biorąc pod uwagę wszystkie możliwe kombinacje i wzajemne interakcje związków [50, 74].

Dla związków aktywnych zawartych w kosmetykach można wskazać trzy główne miejsca działania: powierzchnię skóry, warstwę rogową naskórka oraz głębsze, żywe tkanki naskórka i skóry właściwej. W większości preparatów kosmetycznych, składniki aktywne mają działać na powierzchni skóry bądź w obrębie warstwy rogowej naskórka. Dlatego związki te nie powinny penetrować głębiej niż do

poziomu *stratum corneum*. W przeciwnym wypadku substancja przeniknie do głębszych warstw skóry tracąc aktywność dla warstwy rogowej naskórka. Skóra powinna spełniać rolę pewnego rodzaju rezerwuaru umożliwiając składnikom aktywnym pozostanie w jej obrębie przez jakiś czas i zapewniając dłuższe działanie [4, 71].

W celu dokładniejszego zbadania możliwości penetracyjnych związków aktywnych do skóry stworzono modele imitujące skórę ludzką, służące do badań eksperymentalnych *in vivo* oraz *in vitro* [4].

Aby zmierzyć absorpcję substancji przez skórę metodami *in vitro*, wykonuje się pomiary w różnych warunkach oraz stosuje różnego rodzaju modele (membrany, skóry, błony), a także modyfikuje sposoby ich przygotowania. Główną metodą, w badaniach *in vitro*, jest wyznaczanie współczynnika przenikania przez modelowe membrany, hodowle tkankowe imitujące skórę ludzką, a także wypreparowaną skórę ludzką [58].

Skóra ludzka stanowi najlepszy model doskonale odwzorowujący warunki, w jakich kosmetyk ma potencjalnie działać, zastosowanie znajduje też skóra zwierzęca lub substytuty skóry rekonstruowane biotechnologicznie [55–57]. Stosowane są membrany o różnej grubości: grubsze  $1620 \pm 580 \mu\text{m}$  i cieńsze  $390 \pm 80 \mu\text{m}$ . Membrany cieńsze sprawdzają się lepiej w przypadku pomiarów absorpcji związków lipofilowych, gdyż grubsze membrany mogą w tym przypadku stanowić dla tych związków zbyt dużą barierę. Grubość membrany nie ma jednak znaczącego wpływu na wyniki pomiaru [75].

Badania przepuszczalności *stratum corneum* metodą *in vitro* stały się przedmiotem zainteresowań już w latach 60-tych. Przez te lata doświadczeń stworzona została ogromna baza danych pozwalająca na sprawdzenie przenikalności setek związków w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym oraz do oceny ryzyka i toksyczności substancji [59, 60, 71, 74]. Prowadzenie eksperymentów w warunkach *in vitro* ma wiele zalet, eksperymenty takie między innymi wymagają mniejszego nakładu finansowego, znacznie łatwiej jest utrzymać określone warunki badań, przeprowadzane testy są łatwiejsze w przygotowaniu, a ponadto, dużo prościej jest zidentyfikować substancje toksyczne lub radioaktywne bez szkody dla żywych organizmów. Istnieje możliwość prowadzenia większej liczby eksperymentów jednocześnie, łatwiej jest określić jeden konkretny parametr (uwalnianie substancji z określonego nośnika, wpływ wilgotności, temperatury, wcześniejszej obróbki). Ponadto, masa wnikażącej substancji może być określana bezpośrednio wewnątrz skóry, bądź tuż poniżej w medium akceptorowym. Z drugiej strony, istnieje też pewne ryzyko związane z metodą *in vitro*. Medium akceptorowe może mieć wpływ na transport substancji przez skórę, a także na samą kondycję skóry, natomiast brak krwi może zmieniać właściwości poszczególnych warstw skóry. Dodatkowo, stosowanie spreparowanej skóry nie może trwać zbyt długo ze względu na jej szybkie zużywanie w warunkach badań. Wiadomo, że w warunkach *in vitro* nie jesteśmy w stanie osiągnąć dokładnie tych samych parametrów co w warunkach *in vivo* (praca mięśni, łuszczenie naskórka), trudne do określenia są też efekty metabolizmu [55, 61, 73].



W badaniach przenikalności związków stosowane są specjalistyczne komory dyfuzyjne – najpopularniejsze i najczęściej stosowane to dyfuzyjna komora statyczna (komora Franza) oraz dyfuzyjna komora przepływowa (komora Bronaugh'a). Oba rodzaje dyfuzji, zarówno statyczna jak i dynamiczna (przepływowa) są oficjalnie uznane za metody, którymi można z powodzeniem zastąpić metodę *in vivo*. Istota działania komór dyfuzyjnych polega na badaniu dyfuzji związku poprzez błonę półprzepuszczalną (skórę czy innego rodzaju membranę). Membrana znajduje się pomiędzy częścią donorową i akceptorową. Próbkę pobierane są w sposób ciągły lub w określonych odstępach czasu z części akceptorowej, wypełnionej płynem akceptorowym, który stanowi najczęściej bufor o fizjologicznym pH = 7,4. Dozowanie związku może odbywać się w sposób ograniczony ( $< 10 \text{ ml/cm}^3$  lub  $10 \text{ mg/cm}^3$ ) lub w sposób nieograniczony ( $>10 \text{ }\mu\text{l/cm}^3$  lub  $10 \text{ mg/cm}^3$ ). Przy dozowaniu nieograniczonym, na skórę aplikowana jest maksymalna dawka substancji. Takie warunki zapewniają powtarzalność otrzymanych wyników.

Przenikalność może być obliczona w oparciu o równanie 5 [55, 62]:

$$J_{ss} = \frac{K_{mv} D}{l} \Delta C \quad (5)$$

gdzie [48]:

$J_{ss}$  – współczynnik przepływu stałego (Steady State Flux),

$l$  – grubość membrany,

$\Delta C$  – różnica stężeń substancji w roztworach donorowym i akceptorowym,

$D$  – współczynnik dyfuzji, który zależy od mobilności chemicznej związku w obrębie membrany,

$K_{mv}$  – współczynnik podziału membrana/nośnik.

Przy obliczeniach przenikalności związków w metodach *in vitro* stosujemy współczynnik przenikalności  $k_p$  (równanie 6) [62]:

$$k_p = \frac{K_{mv} D}{l} \quad (6)$$

gdzie:

$l$  – grubość membrany,

$D$  – współczynnik dyfuzji, który zależy od mobilności chemicznej związku w obrębie membrany,

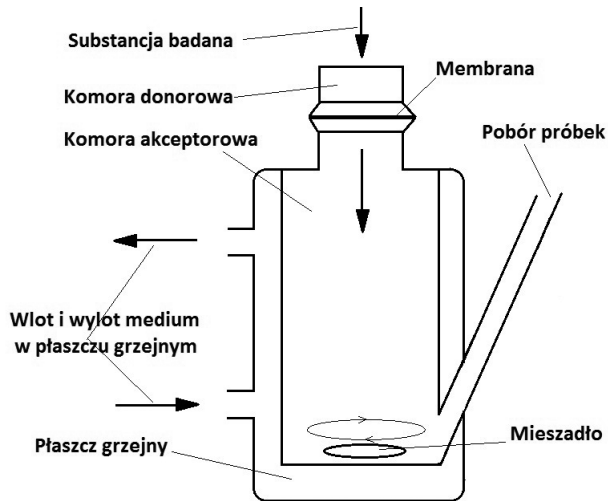
$K_{mv}$  – współczynnik podziału membrana/nośnik.

Przenikalność jest łatwo obliczana przez dzielenie współczynnika stałego przepływu (*Steady State Flux*) przez  $\Delta C$  [62].

W przypadku gdy na membranę aplikowana jest ograniczona dawka związku, możemy obserwować wpływ parowania czynnika akceptorowego [55]. Eksperymenty powinny być prowadzone w temperaturze  $32^\circ\text{C}$ , odpowiadającej temperaturze w warunkach *in vivo* [55, 63, 70]. Kontrola temperatury zapewniona jest poprzez użycie płaszcza wodnego wokół każdej z komór, często stosowana jest też komora z ciepłym powietrzem.

## 5.1. KOMORA FRANZA

Komora Franza jest dziś najpowszechniej stosowaną aparaturą do określania przenikania substancji aktywnych przez skórę. Składa się ona z dwóch części: donorowej i akceptorowej przedzielonych membraną (Rys. 4). Jako membrana stosowane są: skóra ludzka (np. pobrana śródoperacyjnie), skóra zwierzęca (np. skórą z ucha świńskiego) lub skóra sztuczna [18, 55, 64].

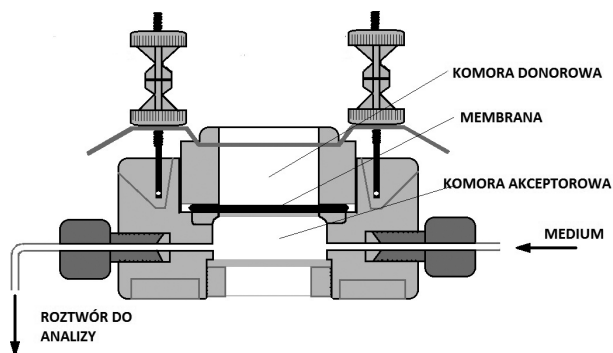


Rysunek 4.  
Figure 4.

Część donorowa zawiera rozpuszczoną substancję badaną natomiast komora akceptorowa poniżej membrany wypełniona jest płynem mieszanym w sposób ciągły przez mieszadło magnetyczne. Pomiar prowadzi się najwyżej do momentu gdy nie więcej niż 10% związku przeniknie przez membranę lub gdy więcej niż 90% związku jest wciąż obecne w roztworze donorowym. Komora Franza ma bardzo wiele zalet, jest dokładna, łatwa w użyciu, próbki pobiera się w sposób szybki i precyzyjny. Nie jest problemem utrzymywanie pożądanej temperatury układu czy odmierzanie dokładnie wyznaczonych objętości medium. Pobieranie próbek odbywa się poprzez boczne ramię komory, a ubytek pobranego buforu od razu uzupełnia się jego świeżą porcją. Często pojawiającym się problemem jest słaba rozpuszczalność niektórych związków w wodnym środowisku. Stosuje się wówczas dodatek organicznych związków poprawiających rozpuszczalność tych substancji, np. niejonowe związki powierzchniowo czynne, białka, cyklodekstryny. Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, że dodatek tych związków może wpływać na właściwości membrany i jej przepuszczalność.

## 5.2. DYFUZYJNA KOMORA PRZEPEŁYWOWA

W dyfuzyjnej komorze przepływowej, bufor jest w sposób ciągły pompowany przez komorę akceptorową (Rys. 5) [6, 18, 55, 64–67].



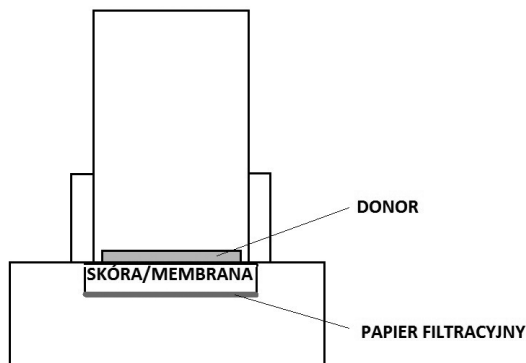
Rysunek 5.  
Figure 5.

Komora przepływowa znajduje zastosowanie gdy absorpcja substancji jest wysoka, a jej rozpuszczalność w fazie akceptorowej niska. Ważne jest, aby ustalić określoną minimalną szybkość przepływu fazy i zapewnić w ten sposób dobre mieszanie oraz ciągle usuwanie z komory zaabsorbowanego związku, a także aby zminimalizować obecność niedostatecznie zmieszanych warstw. Dla większości substancji zwiększenie szybkości przepływu nie ma większego wpływu na absorpcję, wyjątek stanowią związki o bardzo słabej rozpuszczalności. Co ważne, przydatność skóry do użycia jest w tym przypadku znacznie dłuższa ze względu na ciągłą wymianę fizjologicznego roztworu akceptorowego. Z drugiej strony, nieustanny przepływ płynu zawierającego donor prowadzi do wymywania ze skóry substancji hydrofobowych przez fazę akceptorową. W rezultacie skóra staje się znacznie bardziej przepuszczalna ze względu na zmianę swoich właściwości. Dyfuzja przepływowa pozwala na użycie znacznie większej ilości związków, jednak wymaga przeprowadzenia wstępnych eksperymentów przed rozpoczęciem badań w celu ustalenia optymalnej szybkości przepływu [18, 55, 64–67].

## 5.3. MODEL SAARBRUCKENA

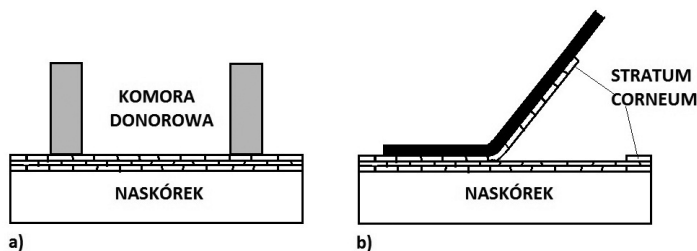
Dyfuzyjne komory statyczne i przepływowe znalazły zastosowanie do określania przenikalności związków przez skórę. Istnieje jeszcze jeden model, który określa zdolność związku do penetracji (w odróżnieniu od przenikania, penetracja odbywa się przez kolejne warstwy skóry, związek niekoniecznie przebywa cały jej przekrój, może pozostać na pewnym określonym poziomie). Badanie penetracji substancji przez skórę zasadniczo różni się więc od określania jej przenikania. Na potrzeby

badania penetracji związków przez skórę zaprojektowany został model penetracji Saarbruckena, którego schemat przedstawiono na Rysunku 6 [37].



Rysunek 6.  
Figure 6.

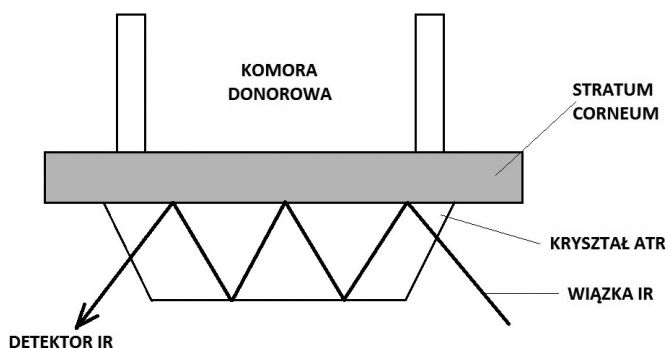
Stosując to urządzenie można określić skalę i intensywność penetracji związku do poszczególnych warstw skóry. W odróżnieniu od opisanych wcześniej komór dyfuzyjnych, w tym przypadku skóra pełni rolę akceptora dla penetrującego związku. Zaletą omawianej metody jest wyeliminowanie możliwości nadmiernego nawodnienia skóry. Znika także obawa przed zmianą jakości skóry przez przepływające medium akceptorowe. W zależności od substancji, badanie jest zakańczane w momencie, gdy substancja dociera do najgłębszej warstwy skóry. W metodzie tej fragment skóry umieszcza się na papierze filtracyjnym nasączonym roztworem Ringera (izotoniczny w stosunku do krwi człowieka wodny roztwór: chlorku sodu, chlorku potasu i chlorku wapnia). Stężenie zabsorbowanej substancji oznaczane jest tzw. techniką „tape stripping” (zdrarcie powłoki). Schemat działania techniki „tape stripping” jest przedstawiony na Rysunku 7 [55, 64]. Kolejne warstwy skóry są oddzielane, a po odpowiedniej obróbce, ilość badanej substancji zaabsorbowana w każdej z warstw określana jest wybrana metodą analityczną (np. HPLC).



Rysunek 8.  
Figure 8.

#### 5.4. METODA ATR-FTIR

Oprócz modelowych układów pozwalających badać przenikanie substancji przez struktury skóry, istnieją również inne rozwiązania. Jednym z nich jest zastosowanie metody ATR-FTIR (ang. *Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infra Red*), pozwalającej bezpośrednio obserwować przenikanie substancji przez *stratum corneum*. Warstwa rogowa jest tu umieszczona pomiędzy kryształem a roztworem donorowym zawierającym badaną substancję (Rys. 8). Kryształy ATR mogą być wykonane z selenku cynku, germanu, siarczku cynku, krzemu lub diamentu. Rodzaj zastosowanego kryształu zależy od właściwości badanej substancji. Dyfuzja substancji do głębszych warstw naskórka jest monitorowana przez pomiar absorbancji w funkcji czasu. Absorbancja przeliczana jest na stężenie. Substancja z podłoża umieszczonego w komorze donorowej przechodzi do głębszych warstw naskórka i jest mierzona przez wiązkę promieni IR [64, 68].



Rysunek 8.

Figure 8.

#### PODSUMOWANIE

Główną i podstawową barierą dla związków aktywnych przenikających przez skórę jest warstwa rogowa naskórka, która dzięki swojemu lipofilowemu charakterowi oraz zwartej strukturze ogranicza penetrację cząsteczek w głąb skóry. Właściwości fizykochemiczne *stratum corneum* można modyfikować poprzez zastosowanie promotorów transportu przez naskórkowego, które odwracalnie zmieniają strukturę cementu międzykomórkowego, poprawiając jego przenikalność. Istotny wpływ na zdolność substancji do przenikania mają również jej właściwości fizykochemiczne, takie jak lipofilowość czy budowa i wielkość cząsteczki. Badania prowadzone w ostatnich latach pozwoliły na zwiększenie efektywności działania kosmetyków i lepszą przyswajalność związków aktywnych przez skórę. Przenikalność związków przez skórę można badać stosując z powodzeniem dyfuzyjne komory wyposażone w syntetyczne membrany lub fragment skóry ludzkiej lub zwierzęcej.

Na skórę nanosi się substancję w postaci roztworu, natomiast rolę akceptora pełni medium o fizjologicznym pH. Stopień penetracji związków określa się natomiast za pomocą modelu penetracji Saarbruckena, który pozwala na określenie ilości substancji zaabsorbowanej w poszczególnych warstwach skóry. Powstało wiele modeli pozwalających przewidywać zdolność związków do przenikania przez skórę opartych na obliczeniach oraz bazach wyników doświadczalnych. Modele matematyczne opierają się na właściwościach fizykochemicznych substancji aktywnych i ich związku z lipofilowością i powinowactwem do komórek *stratum corneum*. Metody te zyskały w ostatnich latach dużą popularność ze względu na łatwość wykonania, oszczędność czasu, aparatury i odczynników chemicznych, niskie koszty oraz dużą dokładność.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] E. Starzyk, J. Arct, Wiad. PTK, 2003, **6**, 12.
- [2] P. Morganti, E. Ruocco, R. Wolf, V. Ruocco, Clin. Dermatol., 2001, **19**, 489.
- [3] D. Parasrampur, J. Parasrampur, J. Clin. Pharm. Ther., 1991, **16**, 7.
- [4] J. Arct, M. Chełkowska, Wiad. PTK, 2001, **4**, 37.
- [5] R.H. Muller, G.E. Hildebrand, *Technologia nowoczesnych postaci leków*, PZWL, Warszawa 1998.
- [6] M. Sznitowska, *Polarna droga dyfuzji leku przez skórę – dowody na istnienie i próba charakterystyki*, Gdańsk 1996.
- [7] P. Tarleja, N. Kleene, W. Pickens, T. Wang, G. Kasting, AAPS PharmSci., 2001, **3**, 1.
- [8] J. Arct, K. Pytkowska, Wiad. PTK, 2002, **5**, 3.
- [9] P. Grasso, A.B.G. Lansdown, J. Soc. Chem., 1972, **23**, 481.
- [10] R. Prausnitz, S. Mitragotri, R. Langer, Nat. Rev. Drug Discov., 2004, **3**, 115.
- [11] J. Thiele, S. Hsieh, S. Ekanayake-Mudiyanselage, Dermatol. Surg., 2005, **31**, 805.
- [12] E. Estrada, E. Uriarte, Y. Gutierrez, H. Gonzalez, SAR QSAR Environ. Res., 2003, **14**, 145.
- [13] M. Johnson, D. Blankschtein, R. Langer, J. Pharm. Sci., 1997, **86**, 1162.
- [14] A. Wilschut, W. Berge, P. Robinson, T. McCone, Chemosphere, 1995, **30**, 1275.
- [15] C. Cullander, R. Guy, Solid State Ionics, 1992, **53**, 197.
- [16] E. Szyszko, Biblioteka farmaceuty, tom 5, Zarys Biofarmacji, PZWL, Warszawa 1984.
- [17] W.S. Brud, R. Glinka, *Technologia kosmetyków*, MA O.W., Łódź 2001.
- [18] J. Arct, Wiad. PTK, 2003, **6**, 2.
- [19] K. Moser, K. Kriwet, A. Naik, Y.N. Kalia, R.H. Guy, Eur. J. Pharm. Biopharm., 2001, **52**, 103.
- [20] E. Starzyk, J. Arct, A. Jończyk, P. Jaworski, Wiad. PTK, 2005, **8**, brak strony.
- [21] F. Yamashita, M. Hashida, Adv. Drug Deliver. Rev., 2003, **55**, brak strony.
- [22] K. Orzechowska-Juzwenko, *Podstawy Farmakologii klinicznej*, Volumed s.c., Wrocław 1997.
- [23] L. Krówczyński, A. Danek, *Zarys farmacji klinicznej*, PZWL, Warszawa 1988.
- [24] E.P. Solomon, L.R. Berg, D.W. Martin, C.A. Villee, *Biologia*, MULTICO O.W., Warszawa 1998.
- [25] A. Langner (red.), *Współczesne leczenie wybranych chorób skóry*, PZWL, Warszawa 2002.
- [26] W. Klein, W. Kordel, M. Weiss, H.J. Poremski, Chemosphere, 1988, **17**, 361.
- [27] *Wytyczne OECD dotyczące metod wyznaczania współczynnika podziału*, [dostęp: 2013-01-08], Dostępny w Internecie: <http://www.ppr.pl/semadmin/zasoby/pliki/pdf/metody%20A%206-14.pdf>
- [28] OECD Guideline for the testing of chemicals, test no. 117 – Partition Coefficient (noctanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method, [dostęp: 2013-01-08], Dostępny

- w Internecie: [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-117-partition-coefficient-n-octanol-water-hplc-method\\_9789264069824-en;jsessionid=487dc7aene0ab.x-oecd-live-0](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-117-partition-coefficient-n-octanol-water-hplc-method_9789264069824-en;jsessionid=487dc7aene0ab.x-oecd-live-0).
- [29] OECD Guideline for the testing of chemicals, test no. 123 – Partition Coefficient (1-Octanol/water): Slow-Stirring Method, [dostęp: 2013-01-08], Dostępny w Internecie: [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-123-partition-coefficient-1-octanol-water-slow-stirring-method\\_9789264015845-en;jsessionid=487dc7aene0ab.x-oecd-live-01](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-123-partition-coefficient-1-octanol-water-slow-stirring-method_9789264015845-en;jsessionid=487dc7aene0ab.x-oecd-live-01).
- [30] CLOGP Reference Manual Daylight Version 4.9 [dostęp: 2013-01-07], Dostępny w Internecie: <http://www.daylight.com/dayhtml/doc/clogp/index.html>.
- [31] HyperChem Version 7.5, [dostęp: 2013-01-07], Dostępny w Internecie: <http://www.computationalchemistry.com/products/Professional/index.htm>.
- [32] ALOGPS Version 2.1, [dostęp: 2013-01-07], Dostępny w Internecie: <http://www.vcclab.org/lab/alogps/start.html>.
- [33] Cosmoquick Version 1.0, [dostęp: 2013-01-07], Dostępny w Internecie: <http://www.cosmologic.de/index.php?cosId=2101&crId=2>.
- [34] Molinspiration Cheminformatics 2012, Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score, [dostęp: 2013-01-08], Dostępny w Internecie: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.
- [35] P. Pollien, D. Roberts, J. Chromatogr. A, 1999, **864**, 183.
- [36] C. Hansch, A.J. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, John Wiley, New York, 1979.
- [37] A.J. Leo, C. Hansch, D. Elkins, Chem. Rev., 1979, **71**, 525.
- [38] R.F. Rekker, H.M. de Kort, Eur. J. Med. Chem., 1979, **14**, 479.
- [39] R.F. Rekker, *The hydrophobic fragmental constant*, Elsevier Scientific Pub. Co., New York 1977.
- [40] C.V. Eadsforth, P. Moser, Chemosphere, 1983, **12**, 1459.
- [41] W.J. Lyman, W.F. Reehl, D.H. Rosenblatt (ed.), *Handbook of Chemical Property Estimation Methods*, McGraw-Hill, New York 1982.
- [42] ClogP User Guide, [dostęp: 2013-01-08], Dostępny w internecie: <http://www.biobyte.com/bb/prod/40manual.pdf>.
- [43] M. Jaworska, E. Sikora, J. Ogonowski, Wiad. Chem., 2001, **3/4**, 301.
- [44] N. Dayan, Cosmet. Toiletries, 2005, **120**, 67.
- [45] E.B. Souto, J.W. Wiechers, Cosmet. Toiletries, 2012, **127**, 344.
- [46] J. Ziegenmeyer, C. Fuehrer, Acta Pharm. Technol., 1980, **26**, 273.
- [47] E. Ramon, C. Alonso, L. Coderch, Drug Deliv., 2005, **12**, 83.
- [48] L. Zaprutko, D. Partyka, B. Bednarczyk-Cwynar, Wiad. PTK, 2003, **6**, 20.
- [49] A. Otto, J. du Plessis, J.W. Wiecherst, Int. J. Cosmetic Sci., 2009, **31**, 1.
- [50] S. Gregoire, C. Ribaud, F. Benech, J.R. Meunier, A. Garrigues-Mazert, R.H. Guy, Brit. J. Dermatol., 2009, **160**, 80.
- [51] R.O. Potts, R.H. Guy, Pharm. Res., 1992, **9**, 497.
- [52] J.W. Wiechers, C.L. Kelly, T.G. Blease, Int. J. Cosmet. Sci., 2004, **26**, 173.
- [53] H. Kouzuki, F. Yamashita, H. Itagaki, M. Hashida, Prediction of human skin permeability of chemicals In various vehicles using artificial neural network, Abstracts of the 5<sup>th</sup> World Congress on Alternative and Animal Use in the Life Sciences, Berlin, Germany, Altex 2005; **22**, 276.
- [54] J.E. Riviere, J. Brooks, Toxicol. Appl. Pharm., 2005, **208**, 99.
- [55] T. Hahn, U.F. Schaefer, C.M. Lehr, SOFW-Journal, 2010, **136**, 28.
- [56] A. Verniory, R. Du Bois, P. Decoodt, J.P. Gasee, P.P. Lambert, J. Gen. Physiol., 1972, **62**, 489.
- [57] T. Koike, N. Nakashima, C. Urata, M. Arashima, H. Okumura, A. Takada, Percutaneous absorption test – A case of effectiveness evaluation of skin – whitening cosmetics, Proc. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo, Japan, 2007, **14**, 407.
- [58] H. Clowes, R. Scott, J. Heylings, Toxicol. in Vitro, 1994, **8**, 827.

- [59] R. Scheuplein, I. Blank, *Physiol. Rev.*, 1971, **51**, 702.
- [60] R. Scheuplein, *J. Invest. Dermatol.*, 1965, **45**, 334.
- [61] D. Howes, R. Guy, J. Hadgraft, J. Heylings, U. Hoeck, F. Kemper, H. Maibach, J.P. Marty, H. Merck, J. Parra, D. Rekkas, I. Rondelli, H. Schaefer, U. Tauber, N. Verbieze, *Methods for Assessing Percutaneous Absorption*, ATLA, 1996, **24**, 81.
- [62] H.F. Frash, *Risk Anal.*, 2002, **22**, 265.
- [63] J. Arct, K. Pytkowska, *Wiad. PTK*, 2002, **5**, 3.
- [64] J. Hadgraft, *Int. J. Pharm.*, 2001, **224**, 1.
- [65] J. Arct, A. Oborska, E. Jaremkó, M. Mojski, *Wiad. PTK*, 2004, **7**, 16.
- [66] M. Chełkowska, J. Arct, K. Kasiura, A. Kozłowska, *Wiad. PTK*, 2005, **8**, 22.
- [67] N. Kanikkannan, M. Singh, *Int. J. Pharm.*, 2002, **248**, 219.
- [68] K.R. Feingold, *J. Lipid. Res.*, 2009, **50**, S417.
- [69] M. Miszczyk, *Prog. Plant. Prot.*, 2001, **51** 3.
- [70] M. Gamal, El. Marghraby, *Int. J. Pharm.*, 2008, **355**, 285.
- [71] M. Forster, M.A. Bolzinger, H. Fessi, S. Briancon, *Eur. J. Dermatol.*, 2009, **4**, 309.
- [72] G. Lian, L. Chen, L. Han, *J. Pharm. Sci.*, 2008, **97**, 584.
- [73] L. Norlen, I. Plasencia, L. Bagatolli, *Int. J. Cosmetic. Sci.*, 2008, **30**, 391.
- [74] R.B. Silverman, *Chemia organiczna w projektowaniu leków*, WNT, Warszawa 2004.
- [75] S. Wilkinson, W. Maas, J. Nielsen, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 2006, **79**, 405.
- [76] L. Chen, G. Lian, L. Han, *AIChE J.*, 2010, **56**, 1136.
- [77] S. Mitragotri, *J. Pharm. Sci.*, 2002, **91**, 744.

Praca wpłynęła do Redakcji 26 listopada 2012