大麻二酚的经皮促渗方法及促渗机制研究

陈博琪[1]，张　定[1]，王曙宾[2]，方燕秋[3]，汪　晴[1]*
（1. 大连理工大学化工学院药学系，精细化工国家重点实验室，辽宁大连 116024；
2. 汉义生物科技（北京）有限公司，北京 100020；3. 广东红珊瑚药业有限公司，广东东莞 523808）

摘要：本研究分别考察了化学促渗剂与表面活性剂泊洛沙姆 101（P101）经预混法和皮肤预处理法给药对大麻二酚（CBD）在离体裸鼠皮肤上经皮渗透的影响，进一步通过衰减全反射傅里叶变换红外光谱、分子动力学模拟及分子对接等方法，对相关促渗机制进行了分析。结果表明，相较于预混法，皮肤预处理方法显示出较佳的促渗效果，其中采用 1% P101 预处理皮肤促进 CBD 渗透的效果最强，相应促渗系数达到 12.97。分子动力学模拟结果显示，P101 与神经酰胺 NS（皮肤角质层中的脂质分子）相互作用较强，对接能为 －8.85 kcal/mol；P101 可使脂质双分子层体系的内聚能密度由 4.15×10^8 kcal/mol 降至 3.87×10^8 kcal/mol，说明 P101 的促渗作用是由于其扰乱了皮肤角质层脂质双分子层的有序结构，增加了流动性。该研究对研发 CBD 经皮给药方案具有重要的指导意义。

关键词：大麻二酚；经皮渗透；促渗机制；泊洛沙姆；分子动力学模拟；分子对接
中图分类号：R971$^+$.1；R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2022）04-0507-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.04.012

Study on Percutaneous Permeation-enhancing Methods and Mechanism of Cannabidiol

CHEN Boqi[1], ZHANG Ding[1], WANG Shubin[2], FANG Yanqiu[3], WANG Qing[1]*
(*1. State Key Lab. of Fine Chemicals, Dept. of Pharmaceutical Sciences, School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024; 2. Hanyi Biotechnology (Beijing) Co., Ltd., Beijing 100020; 3. Guangdong Hongshanhu Pharmaceutical Co., Ltd., Dongguan 523808*)

ABSTRACT: The effects of chemical penetration enhancers and polymeric surfactant poloxamer 101 (P101) on the percutaneous penetration of cannabidiol (CBD) through the excised nude skin were investigated by the methods of premixing and skin pretreatment in this paper. The relevant penetration mechanism was further explored by means of attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, molecular dynamic simulation and molecular docking. The results showed that the skin pretreatment approach outperformed premixing. The best CBD percutaneous penetration effect was found in the skin pretreatment group of P101 with 1%, reaching a penetration enhancement rate of 12.97. According to the results of molecular dynamic simulation, a stronger interaction was observed between P101 and ceramide NS (lipids in the stratum corneum of the skin), where the binding energy was －8.85 kcal/mol and the cohesive energy density of the lipid bilayer system diminished from 4.15×10^8 kcal/mol to 3.87×10^8 kcal/mol, indicating that P101 promoted the skin penetration by disturbing the well-ordered structure of the lipid bilayer system in the stratum corneum and thus increasing its fluidity. This study showed an essential guiding impact for the development of transdermal drug delivery of CBD.

Key Words: cannabidiol; percutaneous penetration; permeation-enhancing mechanism; poloxamer; molecular dynamic simulation; molecular docking

大麻二酚（cannabidiol，**1**）是从大麻（*Cannabis sativa* L.）中提取的天然提取物。与其他大麻素不同的是，**1** 是一种保留镇痛和抗炎作用的非精神活性成分，具有镇痛、抗炎、抗氧化、抗焦虑、抗惊厥等作用。Epidiolex® 和 Sativex® 是目前分别在美国、欧盟及加拿大获批的以 **1** 为活性成分的药物，分别以口服液和气雾剂的方式用于治疗与婴儿严重肌阵挛癫痫（又称德拉韦综合征）和多发性硬化相关的痉挛 [1]。**1** 还被证明可用于精神分裂症或创伤后应激障碍的治疗。此外，**1** 被证明具有抗氧化和抗衰老作用，在抗痤疮方面显示出抗炎和抗菌功效 [2]。

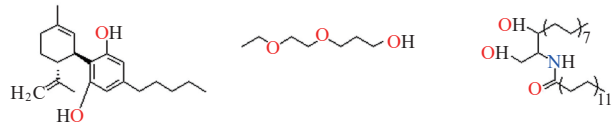
然而，**1** 临床应用的一个主要障碍在于口服生物利用度低：**1** 在人和犬（进食条件下）的口服生物利用度仅为 6% 和 33% [3]。因此开发一种有效的可替代口服的其他给药途径剂型成为当前 **1** 的研究重点之一。

经皮给药系统（TDDS）能避免与口服途径相关的肝首过效应，从而提高药物的生物利用度。此方式给药无痛且操作简单，提高了患者的依从性 [4]。TDDS 给药后血药浓度上升缓慢，能使较高药物峰浓度带来的不利影响降至小化。此外，对于皮肤病、局部炎症和局部疼痛，TDDS 给药更有效，治疗浓度高、全身不良反应小 [5]。

1 的相对分子质量为 314.47，结构式见图 1a，log*P* 为 5.37，熔点为 67.6 ℃，几乎不溶于水。目前对 **1** 的制剂学研究较少，尤其尚未系统研究 **1** 的经皮渗透性及促渗机制。众所周知，影响药物经皮吸收的主要阻碍通常是角质层（SC），制剂学上最常用的促渗方法是在处方中加入化学促渗剂。PAUDEL 等报道在凝胶基质中加入二乙二醇单乙基醚（Transcutol® HP，以下简称 TP，结构式见图 1b），可将 **1** 稳态血药浓度提高 3.7 倍 [6]。此外，采用胶束、脂质体、醇质体等制剂技术提高药物的经皮吸收也是近年来常用的促渗方法。LODZKI 等研究表明，醇质体能经皮递送 **1** 并发挥局部抗炎效果 [7]。

泊洛沙姆是一种两亲性聚氧乙烯 - 聚氧丙烯（PEO-PPO）共聚物，排列为 PEO_x-PPO_y-PEO_x 三嵌段结构；作为一种常用辅料，在改善药物的溶解性、稳定性、释放性和生物利用度方面应用广泛；具有出色的安全性，优良的润湿性和增溶能力。犬和家兔的毒性试验表明，浓度为 5% 和 10% 的泊洛沙姆对眼、牙龈和皮肤无刺激性、无致敏作用 [8]。泊洛沙姆作为载药基质辅料已被应用于萘普生、吡罗昔康、芬太尼等小分子药物和精氨酸加压素等大分子药物的经皮给药研究中 [9]，然而将泊洛沙姆作为经皮促渗剂对 **1** 进行促渗的研究尚未见报道。

本研究以经皮渗透动力学为基础，系统考察了 **1** 的经皮渗透特征，分析了影响 **1** 经皮渗透的主要因素，分别采用基质中混合加入与预处理皮肤 2 种方式考察了几种不同类型化学促渗剂和泊洛沙姆 101（P101）对 **1** 经皮渗透的影响。并通过衰减全反射傅里叶变换红外光谱（ATR-FTIR）分析、分子动力学模拟等手段对其促渗机制进行研究。



a　　b　　c

图 1　1（a）、**TP**（b）**和神经酰胺 NS**（c）**的化学结构式**

Fig.1　Chemical Structures of **1** (a), TP (b) and Ceramide NS (c)

1　仪器与试药

LC-20AT 型高效液相色谱仪（日本 Shimadazu 公司）；KX-V/HDP 型精控型体外扩散仪（大连科翔科技开发有限公司）；IS-50 型傅里叶变换红外光谱仪（美国 Thermo Fisher 公司）；CHY-5 型台式测厚仪（济南三泉中石实验仪器有限公司）。

1 原料药（含量 99.9%，批号 20180801）和 **1** 对照品（含量 96.66%，批号 20180801）（云南汉素生物科技有限公司）；

收稿日期：2021-03-25

基金项目：国家自然科学基金（《贴膏剂用热塑弹性体的设计、合成与适应性研究》，81773676）

作者简介：陈博琪（1997—），女，硕士研究生，专业方向：经皮给药制剂。

通信作者：汪　晴（1965—），男，教授，博士生导师，从事经皮及经黏膜给药系统的研究与相关制剂的开发。

E-mail：qwang@dlut.edu.cn

聚乙二醇（PEG）400 和 *N*- 甲基吡咯烷酮（NMP）（国药集团化学试剂有限公司）；乙腈（HPLC 级，北京迈瑞达科技有限公司）；泊洛沙姆 101［P101，巴斯夫（中国）有限公司］；TP（嘉法狮中国有限公司）；肉豆蔻酸异丙酯（IPM，上海维高实业有限公司）；月桂氮䓬酮［阿拉丁试剂（上海）有限公司］；水为娃哈哈纯净水，其他试剂均为分析纯。

雄性 BALB/c-nu 裸鼠［SPF 级，6 ～ 7 周龄，16 ～ 18 g，辽宁长生生物技术股份有限公司，动物许可证编号：SCXK（辽）2020-0001］。

2 方法与结果

2.1 1 的 HPLC 检测法及方法学研究

色谱条件：色谱柱 Thermo Hypersil OSD-2 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 乙腈∶水（75 ∶ 25），等度洗脱；检测波长 220 nm；流速 0.8 ml/min；柱温 30 ℃；进样量 10 μl。

线性试验：将适量 **1** 对照品溶于乙腈配制成 386.64 μg/ml 的对照品贮备液，再逐级稀释得到 **1** 质量浓度分别为 0.48、0.97、1.93、4.83、9.67、19.33、48.33、96.66、193.32 μg/ml 的 **1** 标准溶液。按上述色谱条件进行 HPLC 检测，以 **1** 质量浓度 *c* 为横坐标、峰面积 *A* 为纵坐标，绘制标准曲线，线性回归分析所得的标准曲线方程为 A=50 388c+3 154（R^2=0.999 9），线性范围 0.48 ～ 193.32 μg/ml。

专属性试验：将裸鼠皮肤剪碎，加至甲醇中，超声 1 h 制得皮肤提取液。将裸鼠皮肤固定于横式扩散池上，供给池与接收池均加入 40% PEG 400 溶液，取 48 h 后供给池内样品经 0.22 μm 滤膜过滤制得皮肤浸出液。专属性试验结果如图 2 所示，空白溶剂、辅料及皮肤样品均对 **1** 的检测无干扰。取 19.33 μg/ml 的 **1** 标准溶液考察日内、日间精密度，结果分别为 0.18% 和 0.44%（n=3）。此方法的检测限为 0.1 ng，定量限为 0.3 ng，具有良好的灵敏度。

2.2 离体皮肤的制备与预处理

离体皮肤（全皮）：采用颈椎脱臼法处死裸鼠，迅速剥离腹部皮肤，用脱脂棉擦除皮下脂肪及其他皮下组织，密封后于 －80 ℃冷冻保存。

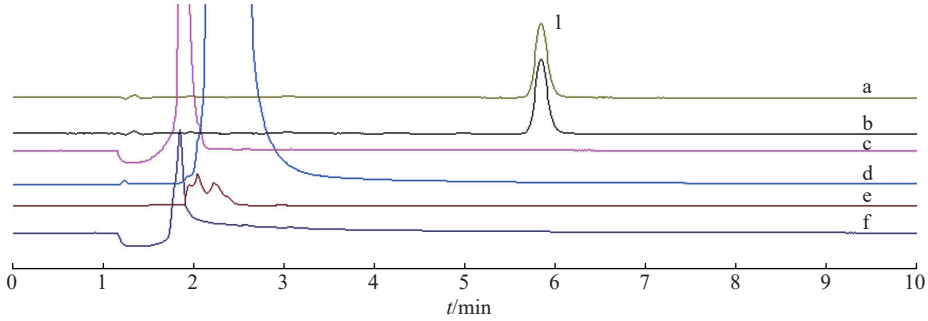
去 SC 皮肤：采用胶带剥离法制备去 SC 皮肤。试验前将裸鼠皮肤解冻，将透明胶带粘贴在 SC 表面，按压 5 s 后撕下，重复操作 30 次将 SC 剥离干净。

预处理皮肤：将一定浓度的 TP 或 P101 溶液均匀涂抹于 SC 表面处理 4 h。体外经皮渗透试验过程中保持室温和相对湿度（RH）45% ～ 80%。

2.3 体外经皮渗透试验

2.3.1 1 饱和溶液的体外经皮渗透试验

体外经皮渗透试验采用水平式扩散仪（扩散池体积为 5 ml，有效透过面积为 0.785 cm^2），将“**2.2**”项下的离体皮肤（全皮）解冻后固定在扩散池之间，SC 侧面向供给池。供给液为 **1** 饱和的 40% PEG 400 溶液，接收液为 40% PEG 400 溶液，控制两池温度为（32±0.2）℃，搅拌转速为 600 r/min。试验过程中分别于 12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34 和 36 h 时取样 200 μl（及时补充同



a－**1** 标准溶液（48.33 μg/ml）；b－**1** 供试品溶液（48.33 μg/ml）；c－40% PEG 400 溶液；d－1% P101 溶液；e－ 皮肤提取液（甲醇）；f－ 皮肤浸出液

1－**1**

图 2 高效液相色谱图

Fig.2 HPLC Chromatograms

温等量接收液以确保试验始终满足漏槽条件），样品离心后取上清液，照“**2.1**”项下色谱条件直接进样分析，绘制单位面积累积透过量（Q）- 时间（t）曲线（见图 3）并计算稳态渗透速率 J_{ss}。另以去 SC 皮肤为屏障同法测定。后续试验均以离体皮肤（全皮）组作为对照组。

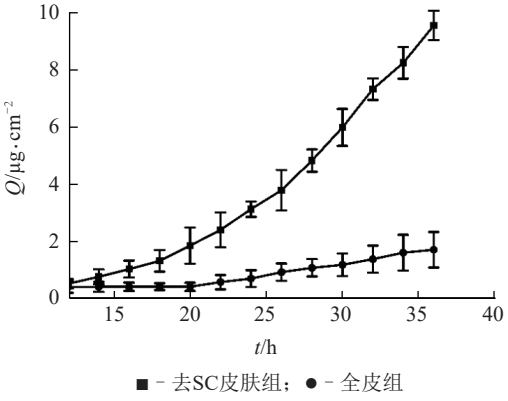


图 3　1 饱和溶液的经皮渗透曲线（n=3）

Fig.3　*In vitro* Permeation Profiles of **1** (n=3)

试验表明，去 SC 皮肤到达稳态所需的时间（t_{lag}）为 10.52 h，而全皮的时滞是其 1.9 倍；去 SC 皮肤试验中 J_{ss} 为 0.19 μg·cm^{-2}·h^{-1}，是全皮的 1.6 倍。虽然去 SC 后，**1** 的经皮渗透性有所提高，但改善并不明显（$Q_{36\,h}$<10 μg/cm^2），由此可见活性表皮层对 **1** 的经皮透过也有一定程度的阻碍作用。推测是 **1** 属于高亲脂性药物，因而亲水性的活性表皮会使其难以透过。

此外，**1** 在全皮、去 SC 皮肤和 SC 中的溶解度分别为 1.01、0.94 和 1.97 mg/ml，表明 **1** 经皮吸收速度慢与其在 SC 中扩散速率低及在皮肤中的溶解度低有关[10]。照 TOJO 等报道的数学模型（式①～⑦）计算各经皮渗透参数[11]，结果见表 1。

$$\eta=(dQ/dt)_w/(dQ/dt)_v \quad 式①$$

$$\tau=t_{lag,v}/t_{lag,w} \quad 式②$$

$$c_s=6t_{lag,w}(1-3\tau+2\eta\tau)(dQ/dt)_w/[(1+2\eta)(1-\eta)l_s] \quad 式③$$

$$c_v=6t_{lag,v}(dQ/dt)_v/l_v \quad 式④$$

$$D_s=l_s(dQ/dt)_w/c_s/(1-\eta) \quad 式⑤$$

$$D_v=6t_v(dQ/dt)_v/c_v \quad 式⑥$$

$$K_{s/v}=c_s/c_v \quad 式⑦$$

式中，D 和 K 分别为扩散系数和分配系数，c 为溶解度，l 为皮肤厚度 /cm，η 为药物在全皮和去 SC 皮肤中稳态渗透速率之比，τ 为药物在去 SC 皮肤和全皮中时滞之比；下标 s、w、v 分别指 SC、全皮和去 SC 皮肤。

表 1　1 的经皮渗透动力学参数（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.1　Permeation Parameters of **1** ($\bar{x}\pm s$, n=3)

皮肤	J_{ss}/μg·cm^{-2}·h^{-1}	t_{lag}/h	c/mg·ml^{-1}	D/cm^2·s^{-1}	K
全皮	0.12±0.03	20.32±1.39	1.01	3.85×10^{-10}	4.97
去SC皮肤	0.19±0.05	10.52±0.87	0.94	7.44×10^{-10}	4.09
SC	–	–	1.97	4.13×10^{-11}	2.09[1)]

注：[1)] 该结果是 SC 与去 SC 皮肤间的分配系数

2.3.2　促渗方法对 **1** 经皮渗透的影响

从药物在皮肤中渗透的路径考虑，SC 是 **1** 经皮渗透的第一道屏障，因此增加药物在 SC 中的溶解度和渗透速率是促进其经皮吸收的主要方法。通常是将促渗剂加在处方中来促进药物渗透；而预处理皮肤法是在施加药物之前，预先将促渗剂施加至皮肤表面，既能避免促渗剂在药物经皮渗透过程中与皮肤发生作用导致皮肤状态不断变化，也能避免促渗剂的加入对药物热力学活度的影响，因此适合比较不同促渗剂的促渗效果，如 LIU 等采用预处理皮肤方法比较了系列促渗剂对氟比洛芬经皮渗透性的影响[12]。

本试验分别采用促渗剂预混溶液（以下简称预混组）和预处理皮肤（以下简称预处理组）2 种方式考察化学促渗剂和 P101 对 **1** 经皮渗透的影响。以式⑧计算促渗系数（ER），评价 2 种促渗方法的有效性。

$$ER=\frac{l_{促渗组}}{l_{对照组}}\times\frac{J_{促渗组}}{J_{对照组}} \quad 式⑧$$

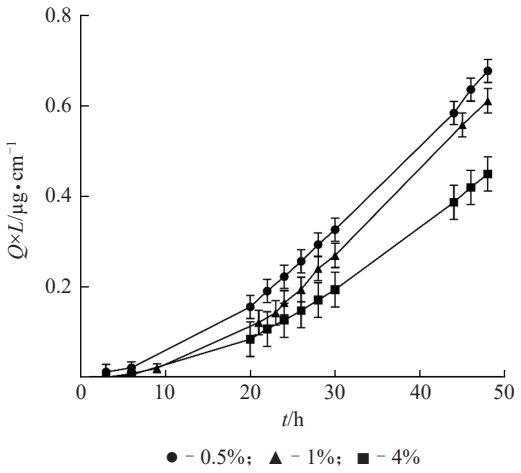
式中，l 为试验皮肤厚度，采用台式测厚仪测得；J 为稳态渗透速率。

预混组分别采用含有 3% 月桂氮䓬酮、10% IPM、10% NMP、10% TP 和 1% P101 的 **1** 饱和的 40% PEG 400 溶液作为供给液；预处理组皮肤在渗透试验前按“**2.2**”项下方法用 10% TP 或 1% P101 预处理，供给液为 **1** 饱和的 40% PEG 400 溶液，其余试验条件同“**2.3.1**”。结果见表 2。

结果表明，月桂氮䓬酮、IPM 和 NMP 的预混组非但没有提高 **1** 的经皮渗透，反而使 **1** 经皮渗透性下降；TP 和 P101 的预混组对 **1** 的促渗作用也较弱，而采用皮肤预处理方法，TP 和 P101 对 **1** 的促渗作用均有所提升，其中 P101 预处理的促渗作用最为显著，ER 值高达 12.97。

2.3.3 P101 浓度对 **1** 经皮渗透的影响

随着 P101 在溶液中的浓度逐步升高，其存在形式会发生变化。P101 在溶液中的浓度处于临界胶束浓度（CMC）以下时，以游离形式溶解在溶液中；达到 CMC 后，则开始聚集形成胶束。由于 P101 的 CMC 约为 1%，因此选择 0.5%（游离形式）、1%（开始形成胶束）、4%（形成大量胶束）这 3 个浓度的 P101 进行皮肤预处理以探究其促渗作用，结果见图 4。



● - 0.5%；▲ - 1%；■ - 4%

图 4 经不同浓度 P101 预处理的离体皮肤中 1 的经皮渗透曲线（n=3）

Fig.4 *In vitro* Permeation Profiles of **1** through the Excised Skin Pretreated with Different Concentrations of P101 (n=3)

由图 4 可见，皮肤经 0.5%、1% 或 4% P101 预处理后，各组的 ER 值分别为 13.84、12.97 和 9.70，均显示出较好的促渗作用。其中 0.5% 组与 1% 组 **1** 的透过行为无显著差异（P>0.05），但使用具有更多胶束分子的 4% P101 预处理皮肤时，促渗效果明显减弱（P <0.05）。由此推断，与皮肤发生作用、产生促渗效果的主要是供给液中游离的 P101 分子；而大体积的胶束分子的存在则影响了 P101 与皮肤间的相互作用，反而降低了 P101 的促渗效果。

2.4 1 经皮促渗机制研究

2.4.1 ATR-FTIR 分析

ATR-FITR 常用于检测皮肤脂质双层的排列及药物与皮肤脂质或蛋白的相互作用位点。将皮肤样品的 SC 侧朝向金刚石放置，入射角为 45°，在 4 000 ～ 700 cm^{-1} 波数范围内进行光谱采集，分辨率为 4 cm^{-1}。

结果如表 3 所示，P101 引起角蛋白 -NH- 的蓝移（由 3 284.23 cm^{-1} 移动到 3 288.57 cm^{-1}），表明 P101 可能干扰了蛋白质组分。此外，亚甲基的不对称振动峰位置略有红移（由 2 918.98 cm^{-1} 移动到 2 917.82 cm^{-1}），表明角质层流动性增加。推测 P101 的促渗作用可能是通过扰乱角质层的脂质和蛋白质的结构而实现的。考虑到 P101 分子体积较大、不易进入到细胞内部，因此 P101 可能是先扰乱脂质的结构，进而对蛋白质的结构造成影响。

表 2 不同促渗方法下的 1 经皮渗透参数 [1] ($\bar{x}\pm s$，n=3)

Tab.2 Permeation Parameters of **1** Using Different Penetration Enhancement Methods ($\bar{x}\pm s$, n=3)

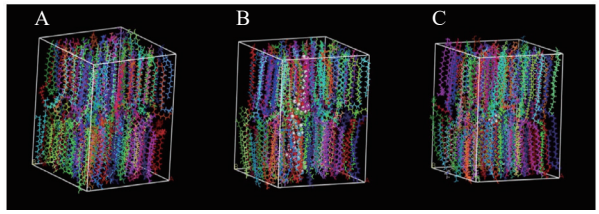
促渗方法	促渗物质	$Q_{48\,h}$/μg·cm^{-2}	J_{ss}/μg·cm^{-2}·h^{-1}	t_{lag}/h	ER
对照组	–	2.76±0.62	0.12±0.03	20.32±1.39	–
预混组	月桂氮䓬酮	N.D.	N.D.	N.D.	–
	IPM	N.D.	N.D.	N.D.	–
	NMP	N.D.	N.D.	N.D.	–
	TP	3.03±0.65	0.13±0.05	16.79±1.97	1.12
	P101	5.10±0.62[2)]	0.15±0.07[2)]	15.98±2.49	1.25
预处理组	TP	5.03±0.43[2)3)]	0.15±0.03[2)3)]	14.27±2.21	1.40
	P101	33.87±8.50[2)4)]	0.97±0.29[2)4)]	16.18±1.81	12.97

注：[1)]N.D. 表示未检出；[2)] 与对照组相比，P<0.05；与相同促渗剂预混组比，[3)]P<0.05，[4)]P <0.01

2.4.2 分子动力学模拟

使用 Material Studio 2019 软件（版本号 19.1.0）进行分子动力学（molecular dynamics，MD）模拟计算，以研究加入促渗物质后皮肤脂质双层体系的相互作用强度和稳定性。由于神经酰胺 NS（ceramide NS，以下简称 NS）被认为是皮肤脂质中最重要的成分，并且 NS 的含量在皮肤脂质中占比较大，因此选择 NS 作为皮肤脂质双层模型[13]。从 PubChem 数据库中获得了 **1**、P101 和 NS 的结构式（见图 1）。首先，使用 Forcite 模块采用 SMART 算法（即串联最速下降法、共轭梯度法和拟牛顿法）对所有化合物进行几何结构优化。然后，利用 Supercell 工具和 Amorphous Cell 模块构建脂质双分子层及其与 TP、P101 的混合体系。选择等温等压系综（isobaric-isothermal ensemble，NPT），在 300 K 和 101 kPa 条件下以 1 fs 的步长对每个体系进行 300 ps 的 MD 模拟，以得到密度和体积更接近实际情况的平衡结构。再对每个平衡体系进行 50 ps 的正则系综（canonical ensemble，NVT）平衡，以用于后续使用 Forcite 模块进行各体系的内聚能密度（cohesive energy density，CED，指将单位体积的分子从相邻分子中完全移除到无限分离所需的能量）计算，评价体系内部 NS 的相互作用力和脂质双层体系的稳定性。以上所有计算均在 COMPASS Ⅱ力场下进行，计算精度为 Fine。

模拟结果如图 5 和表 4 所示。结果表明，当 P101 渗透到皮肤的 NS 双分子层时，NS 双分子层体系的 CED 值由 4.15×10^8 kcal/mol 降低至 3.87×10^8 kcal/mol。由此可见，P101 的加入使得体系内 NS 的相互作用强度降低，整体结构变得无序，而这一现象在 NS-TP 体系中没有出现。



A：皮肤 NS 体系，B：NS-P101 相互作用体系，C：NS-TP 相互作用体系

图 5　MD 模拟得到的分子快照

Fig.5　Structural Snapshots Obtained by MD Stimulation

2.4.3 分子对接

采用分子对接方法研究了促渗物质与 NS 之间的相互作用，结构优化方法同“**2.4.2**”项。在此基础上，基于改进的 Flory-Huggins 理论采用 Blends 模块进行分子对接研究。将 NS 分子模型设置为“Screen”，使用默认参数及 COMPASS Ⅱ力场。计算后选择对接能最低的构型为最佳对接构型，结果见图 6。

共混体系的混合能用 E_{mix} 表示，较低的混合能表明共混体系稳定，共混后的 Gibbs 自由能较低。对接能表示分子间相互作用的强度，小于 0 表示分子间存在相互作用，且负值越大、作用力越大。计算结果表明，**1**、TP 和 P101 与 NS 的对接能均小于

表 3　SC 的 ATR-FTIR 光谱波数变化

Tab.3　Wavenumber Variations in ATR-FTIR Spectra of SC

样品	角蛋白（NH伸缩振动）/ cm^{-1}	脂质（CH_2不对称伸缩振动）/cm^{-1}	脂质（CH_2对称伸缩振动）/cm^{-1}	脂质（C=O伸缩振动）/cm^{-1}	酰胺Ⅰ/ cm^{-1}	酰胺Ⅱ/ cm^{-1}
无预处理皮肤	3 284.23	2 918.98	2 850.32	1 737.10	1 635.85	1 544.25
P101预处理皮肤	3 288.57	2 917.82	2 850.32	1 737.58	1 635.85	1 544.73

表 4　MD 模拟计算得到的 NS 双分子层体系 CED 结果 /kcal·mol^{-1}

Tab.4　CED Values of NS Bilayer System Calculated by MD Stimulation/kcal·mol^{-1}

体系	CED	分子间势能	分子间范德华力	分子间静电能	范德华内聚能密度	静电内聚能密度
NS	4.15×10^8	-8.16×10^3	-6.45×10^3	-1.54×10^3	3.28×10^8	7.83×10^7
NS-P101	3.87×10^8	-7.86×10^3	-6.21×10^3	-1.50×10^3	3.05×10^8	7.37×10^7
NS-TP	4.21×10^8	-8.19×10^3	-6.46×10^3	-1.57×10^3	3.31×10^8	8.06×10^7

0，表明它们都与 NS 存在相互作用（表 5）。其中，P101 与 NS 的对接能的绝对值更大，表示其更易与 NS 发生相互作用。当将 P101 预先施加到皮肤上后，可首先与 NS 发生相互作用，从而避免 **1** 在经皮递送过程中与皮肤脂质相互作用而被阻碍透过。此外，从分子对接结果可观察到 P101 的作用位点位于 PPO 嵌段上，而形成胶束时 PPO 嵌段因与药物结合而被包裹在内部，无法与皮肤发生相互作用。

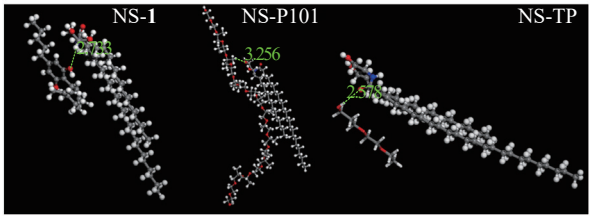


图 6 1、P101 或 TP 与 NS 的分子对接模型
Fig.6 Snapshots of Molecule Docking between NS and **1**, P101 or TP

表 5 1、P101 或 TP 与 NS 的分子对接参数
Tab.5 Blend Parameters of NS Docking with **1**, P101 or TP

体系	对接能/kcal·mol^{-1}	相互作用参数(χ)	混合能/kcal·mol^{-1}
NS-**1**	－5.63	46.49	27.53
NS-P101	－8.85	61.76	36.57
NS-TP	－4.42	70.65	41.84

3 讨论

本试验对 **1** 的经皮渗透及促渗方法进行了系统研究，分别考察采用预混与皮肤预处理 2 种方式、化学促渗剂及表面活性剂 P101 对 **1** 经皮渗透的影响，并对促渗机制进行了研究。结果表明 **1** 在 SC 中的渗透速率较低，推测是结构致密的 SC 导致 **1** 较难扩散引起的；而在去 SC 皮肤中 **1** 的低渗透性则与 **1** 高度疏水（log*P* 5.37）有关。由此可见，SC 和活性表皮对 **1** 的经皮吸收均有阻碍作用。

促渗剂促进药物经皮渗透的效果受到多重作用的共同影响，如提高药物的溶解度、使药物的热力学活度降低、降低药物经皮渗透的化学势，这在亲脂性化合物中较为多见[14—15]。本试验中，月桂氮䓬酮、IPM 和 NMP 的预混组未显示出明显的促渗效果，推测是由于热力学活度的影响使 **1** 经皮渗透性下降。而预处理皮肤组显示出比预混组更佳的促渗效果，尤其是 P101 预处理皮肤组，P101 直接与皮肤发生相互作用，造成 SC 中脂质排列的有序性降低，从而改善了皮肤渗透性，提高了 SC 中 **1** 的扩散速率，同时也提高了 SC 中 **1** 的溶解性。由于药物在活性表皮中的渗透类似于在含多层细胞膜的水组织中的扩散[16]，SC 中 **1** 浓度增加使得分配至活性表皮的 **1** 含量有所提升，从而发挥出较佳的促渗效果。

但 P101 预处理的促渗效果并非随其浓度增加而增大，反而在达到其 CMC 后促渗作用明显减弱，因此推测是游离的 P101 分子与皮肤发生相互作用而产生了促渗效果。促渗作用机制研究表明，P101 显示出较强的与 SC 中的脂质发生相互作用的能力，对接能为 －8.85 kcal/mol，CED 值降低至 3.87×10^8 kcal/mol，提示 P101 可扰乱脂质双分子层的有序结构。分子对接模型显示其作用位点位于亲脂性的 PPO 嵌段处，因而当 P101 形成胶束时，处于胶束内部 PPO 嵌段与 SC 作用减弱，少量游离的 P101 分子也由于胶束的位阻效应而减少了与 SC 的相互作用，最终导致促渗作用减弱。综上所述，用较低浓度 P101 预处理皮肤对 **1** 的促渗效果显著，对研究 **1** 经皮给药方案具有重要的指导意义。

致谢：广东东莞市引进创新科研团队计划（2018607202009）给予资助。

参考文献：

[1] BAŇAS B, BEITZKE B, CANNAZZA G, *et al*. Joint EIHA－FAAAT contribution to the 39th ECDD evaluation of cannabidiol [EB/OL]. [2021-02-18]. https://faaat.net/wp-content/uploads/EIHA-FAAAT_WHO_CBD_submission_2017. pdf.

[2] JHAWAR N, SCHOENBERG E, WANG J V, *et al*. The growing trend of cannabidiol in skincare products [J]. *Clin Dermatol*, 2019, **37**(3): 279-281.

[3] DEABOLD K A, SCHWARK W S, WOLF L, *et al*. Single-dose pharmacokinetics and preliminary safety assessment with use of CBD-rich hemp nutraceutical in healthy dogs and cats [J]. *Animals* (Basel), 2019, **9**(10): 832.

[4] PRAUSNITZ M R, LANGER R. Transdermal drug delivery

［J］. *Nat Biotechnol*, 2008, **26**(11): 1261-1268.

［5］ JIANG T, WANG T, LI T, *et al*. Enhanced transdermal drug delivery by transfersome-embedded oligopeptide hydrogel for topical chemotherapy of melanoma［J］. *ACS Nano*, 2018, **12**(10): 9693-9701.

［6］ PAUDEL K S, HAMMELL D C, AGU R U, *et al*. Cannabidiol bioavailability after nasal and transdermal application: effect of permeation enhancers［J］. *Drug Dev Ind Pharm*, 2010, **36**(9): 1088-1097.

［7］ LODZKI M, GODIN B, RAKOU L, *et al*. Cannabidiol-transdermal delivery and anti-inflammatory effect in a murine model［J］. *J Control Release*, 2003, **93**(3): 377-387.

［8］ Anon. Handbook of pharmaceutical excipients – 7th edition［J］. *Pharm Dev Technol*, 2006, **18**(2): 544.

［9］ YAPAR E A, ÝNAL Ö. Poly(ethylene oxide)-poly-(propylene oxide)-based copolymers for transdermal drug delivery: an overview［J］. *Trop J Pharm Res*, 2012, **11**(5): 855-866.

［10］ MITRAGOTRI S, ANISSIMOV Y G, BUNGE A L, *et al*. Mathematical models of skin permeability: an overview［J］. *Int J Pharm*, 2011, **418**(1): 115-129.

［11］ TOJO K, CHIANG C C, CHIEN Y W. Drug permeation across the skin: effect of penetrant hydrophilicity［J］. *J Pharm Sci*, 1987, **76**(2): 123-126.

［12］ LIU X, QUAN P, LI S, *et al*. Time dependence of the enhancement effect of chemical enhancers: molecular mechanisms of enhancing kinetics［J］. *J Control Release*, 2017, **248**: 33-44.

［13］ LIU C, FARAH N, WENG W, *et al*. Investigation of the permeation enhancer strategy on benzoylaconitine transdermal patch: the relationship between transdermal enhancement strength and physicochemical properties of permeation enhancer［J］. *Eur J Pharm Sci*, 2019, **138**: 105009.

［14］ TANG-LIU D D, RICHMAN J B, WEINKAM R J, *et al*. Effects of four penetration enhancers on corneal permeability of drugs *in vitro*［J］. *J Pharm Sci*, 1994, **83**(1): 85-90.

［15］ 刘秀洁, 刘泽莹, 余伟民, 等. 几种促渗剂对巴布剂中双氯芬酸钠体外透皮的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2011, **42**(8): 604-606.

［16］ AMSDEN B G, GOOSEN M F A. Transdermal delivery of peptide and protein drugs: an overview［J］. *AIChE J*, 2010, **41**(8): 1972-1997.