

基于药物-皮肤的相互作用探究盐酸特比萘芬体外透皮特性

郭世奇, 赖蓉蓉, 罗炜璇, 曾瑶, 卢易, 肖婷, 徐月红*(中山大学药学院, 广州 510006)

摘要: 目的 考察盐酸特比萘芬的体外透皮特性, 探究盐酸特比萘芬与皮肤的相互作用, 基于药物-皮肤相互作用阐明盐酸特比萘芬透皮特性的机制。方法 比较盐酸特比萘芬经皮渗透及其皮内滞留以及在皮肤各层的分布; 利用衰减全反射红外光谱、差示扫描量热、拉曼光谱研究药物与皮肤的相互作用, 并对药物与角质层角蛋白及脂质的相互作用进行计算机模拟和计算。结果 盐酸特比萘芬经皮渗透后高滞留低渗透, 滞留的药物多分布于角质层。盐酸特比萘芬与角质层中脂质和角蛋白均有相互作用, 该作用使药物自身难于透过皮肤, 并导致较大的透过变异性。结论 盐酸特比萘芬与皮肤脂质和角蛋白的相互作用是其表现出典型的皮肤低渗透、高滞留特性的机制之一。本研究为盐酸特比萘芬体外透皮高滞留、低渗透特性提供理论依据。

关键词: 盐酸特比萘芬; 角质层; 脂质; 角蛋白; 相互作用; 透皮特性

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)08-1019-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.08.003

引用本文: 郭世奇, 赖蓉蓉, 罗炜璇, 等. 基于药物-皮肤的相互作用探究盐酸特比萘芬体外透皮特性[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(8): 1019-1025.

Research on Transdermal Properties of Terbinafine Hydrochloride *in Vitro* Based on Drug-skin Interactions

GUO Shiqi, LAI Rongrong, LUO Weixuan, ZENG Yao, LU Yi, XIAO Ting, XU Yuehong*(School of Pharmacy, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the transdermal properties of terbinafine hydrochloride *in vitro*, explore the interactions between terbinafine hydrochloride and skin, and clarify the mechanism of the transdermal properties of terbinafine hydrochloride based on drug-skin interactions. **METHODS** Drug transdermal penetration, intradermal retention, and distribution in various layers of the skin had been compared. Drug-skin interactions had been studied with ATR-FTIR, DSC and Raman spectra, and the interactions between keratin, lipids of stratum corneum(SC) and drug were simulated and calculated in the computer. **RESULTS** Terbinafine hydrochloride exhibited high skin retention and low penetration. The retained drugs were mostly distributed in the SC. It could interact with both the lipids and keratin in the SC. These interactions made transdermal process difficult and caused great penetration variation. **CONCLUSION** The interaction of terbinafine hydrochloride with skin lipids and proteins is one of the mechanisms by which it exhibits typical high skin retention skin and low permeability. It provides a theoretical basis for the transdermal properties of high retention and low permeability of terbinafine hydrochloride *in vitro*.

KEYWORDS: terbinafine hydrochloride; stratum corneum; lipid; keratin; interaction; transdermal properties

盐酸特比萘芬是一种丙烯胺类皮肤科用广谱抗真菌药物, 结构式见图 1。目前有局部和全身给药 2 种制剂形式, 适用于治疗常见真菌感染, 如由毛癣菌、犬小孢子菌和絮状表皮癣菌等引起的皮肤、头发和指甲的感染, 由念珠菌引起的皮肤酵母菌感染、各种癣病(体癣、股癣、手足癣和头癣等)以及甲真菌感染等。盐酸特比萘芬通过抑制角鲨烯环氧化酶发挥其杀真菌的作用。角鲨烯环氧化酶是合成麦角甾醇的关键酶, 而麦角甾醇是真菌细胞膜的重要组成部分^[1]。盐酸特比萘芬通过干扰真菌麦角甾醇的生物合成导致麦角甾醇的

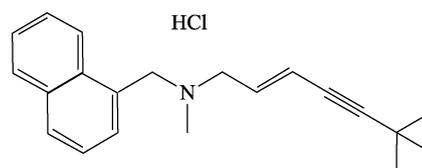


图 1 盐酸特比萘芬结构式
Fig. 1 Structure of terbinafine hydrochloride

缺乏和角鲨烯的细胞内积累, 从而破坏真菌膜功能和细胞壁合成, 导致真菌细胞死亡^[2]。盐酸特比萘芬 20 世纪 80 年代由瑞士诺华制药研制成功, 目前在全球 90 多个国家销售, 其中用于全身给药的上市制剂主要以片剂为主, 用于局部给药的上市

基金项目: 国家自然科学基金项目(81973491); 广东省基础与应用基础研究基金(2019A1515011161)

作者简介: 郭世奇, 男, 硕士 E-mail: gsq1327@163.com *通信作者: 徐月红, 女, 博士, 教授 E-mail: lssxyh@mail.sysu.edu.cn

制剂包括喷雾剂、乳膏剂、凝胶剂和溶液剂等。

文献报道萘普生、布替萘芬和特比萘芬等药物在透皮评价时会表现出相对的低渗透、高滞留特性^[3]。其中,特比萘芬由于分子结构中电负性氮原子存在于叔胺结构中,无法作为氢键形成的供受体,导致其由角质层向活性表皮-真皮层分布的能力较差,使得特比萘芬易于滞留在皮肤角质层中并影响其皮肤渗透。同时,特比萘芬在上述几种药物中表现出更典型的低皮肤渗透、高皮肤滞留情况。本研究对盐酸特比萘芬独特的透皮特性的成因进行进一步探索,通过盐酸特比萘芬的体外透皮特性研究,比较其经皮给药后在皮肤各层的分布,并通过多手段研究盐酸特比萘芬和皮肤的脂质及角蛋白的相互作用,结合计算机模拟,探究其高滞留低渗透的微观机制,为盐酸特比萘芬的经皮给药制剂设计和评价提供理论依据。

1 仪器、试剂与动物

TK-24BL 透皮扩散实验仪(上海锴凯科技贸易有限公司); LC-2030 高效液相色谱(日本岛津公司); DENVER 万分之一电子天平、Sartorius BT 25S 十万分之一天平均来自北京赛多利斯科学仪器有限公司; Spectrum Two FT-IR 红外光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); DSC-204 差示扫描量热仪(德国 Netzsch 公司); inVia Qontor 显微激光拉曼光谱仪(英国 Renishaw 公司)。

盐酸特比萘芬对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100563-201402;含量:99.8%);盐酸特比萘芬原料药(济南明鑫制药股份有限公司,批号:A65200807001;含量>98.5%);市售盐酸特比萘芬喷雾剂(LAMISIL@AT Spary,英国 GlaxoSmithKline,批号:H1030;主药:1%盐酸特比萘芬;辅料:乙醇、聚氧基 20 鲸蜡硬脂基醚、丙二醇、纯净水);辛癸酸甘油酯(山东西亚化学工业有限公司,含量:98%);胰蛋白酶(美国 MP Biomedicals LLC);氯化钠(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);冰乙酸(分析纯,天津市百世化工有限公司);三乙胺(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);甲醇(色谱纯, Sigma-Aldrich 公司);乙腈(色谱纯, Sigma-Aldrich 公司)。

SPF 级 SD 大鼠,♀,180~220 g,来自中山大学东校园实验动物中心,生产许可证号:SCXK(粤)2021-0029;实验得到中山大学实验动物伦理委员会的批准。

2 方法

2.1 HPLC 条件^[4]

色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Cosmosil[®], 250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.2% 三乙胺水溶液(用冰醋酸调节 pH 至 7.4)-甲醇-乙腈(10 : 55 : 35);检测波长:280 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;进样量:20 μL;理论板数按盐酸特比萘芬峰计算应≥2 500。

2.2 离体透皮特性研究

离体皮肤取自 SD 大鼠,将大鼠用 20%的乌拉坦麻醉,电动剃须刀去除腹部毛发,处死动物,眼科手术弯剪取下已去毛大鼠的腹部皮肤,去除黏连的脂肪组织和血管,用生理盐水冲洗皮肤,并用滤纸吸干水分后包于锡纸中,存放于-20 °C 冰箱中待用。

将离体皮肤固定于接收池和供给池之间(扩散面积约 3.14 cm²),角质层朝向供给池,在接收池中加入 8 mL 水(含 0.01%硫酸庆大霉素作为防腐剂)作为接收液,精密量取约 0.3 g 的 1%盐酸特比萘芬水悬液和市售盐酸特比萘芬喷雾剂加入供给池,使其均匀覆盖于离体皮肤上。将扩散池放置于透皮扩散仪中,水浴恒温 32 °C,转速为 250 r·min⁻¹,于 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时分别取出 1 mL 接收液,同时补以相同体积的空白接收液,所取接收液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,按“2.1”项下色谱条件测其含量。

24 h 后,取下离体皮肤。依次用水、甲醇、水各擦拭 3 次以去除残余药物,滤纸吸干残余水分后,剪碎,加入 2 mL 甲醇,超声 30 min 提取,静置后取上清液过滤,稀释后按“2.1”项下色谱条件测定药物的皮内滞留量。

2.3 离体皮肤分布研究

通过胶带剥离法评价盐酸特比萘芬在角质层和表皮/真皮之间的分布。首先按“2.2”中的离体透皮过程,取经过 1%盐酸特比萘芬混悬液 24 h 离体透皮后的皮肤样品,使用医用胶带将施药部分的皮肤胶带剥离 20 次以剥离角质层。将所有胶带和剩余的表皮-真皮分别置于甲醇中超声 30 min 提取药物,取上清液过滤后按“2.1”项下色谱条件检测。分别用 M_{sc} 和 M_D 表示在角质层和表皮/真皮层中保留的盐酸特比萘芬药量,并利用分布系数 $k_{D-sc}(M_D$ 与 M_{sc} 的比值)表示药物从角质层到表皮/皮肤层的分布能力。

另一方面,利用上述角质层剥离方法处理 SD 大鼠皮肤,进行 1%盐酸特比萘芬混悬液经去角质层和完整皮肤离体透皮试验,比较盐酸特比萘芬经去角质层皮肤和完整皮肤的透过和滞留情况。

2.4 衰减全反射红外光谱(attenuated total reflection fourier transform infrared, ATR-FTIR)

在固定了大鼠皮肤的经皮扩散池的接收池侧加入 0.5%胰蛋白酶水溶液(含 0.01%硫酸庆大霉素),并在供给池侧分别加入 1%盐酸特比萘芬-辛癸酸甘油酯悬液和空白辛癸酸甘油酯。将扩散池放置于透皮扩散仪中,水浴恒温 32 °C,转速为 250 r·min⁻¹,运行 24 h。而后依次用水、甲醇、水对皮肤进行冲洗以除去残留药物,取下离体皮肤并小心剥离角质层,利用 ATR-FTIR 在 4 000~300 cm⁻¹的波数范围进行分析。

2.5 差示扫描量热(differential scanning calorimetry, DSC)

按“2.4”项下方法获取与盐酸特比萘芬作用的大鼠角质层与未经盐酸特比萘芬作用的对照角质层。利用 DSC 进行热分析,热程序为以 5 °C·min⁻¹的速率自室温升至 130 °C。

2.6 拉曼光谱

按“2.4”项下方法获取与盐酸特比萘芬作用的大鼠角质层与未经盐酸特比萘芬作用的对照角质层。样品被分别平铺于载玻片上,以波长为 785 nm 的激光为激发光,在 3 200~300 cm⁻¹的光谱范围内收集拉曼光谱。

2.7 计算机模拟分子对接

使用 Autodock vina 软件对盐酸特比萘芬分子与皮肤角蛋白进行分子对接模拟。盐酸特比萘芬的化合物模型来源于 PubChem 数据库,角蛋白(4ZRY)结构来源于 PDB 数据库。将蛋白晶体结构中已有的配体和其他杂分子去除,并经过过去水加氢的预处理。盐酸特比萘芬分子进行加氢与定义扭转键的预处理。随后将蛋白与小分子执行对接,并将输出的最优对接结果导入 Discovery studio 2019 软件进行可视化绘图。同法对盐酸特比萘芬与皮肤角质层的代表性脂质成分神经酰胺 NP^[5]、C24-脂肪酸和 C-26 脂肪酸^[6]及胆固醇进行分子对接。4 种脂质分子的结构来源于 PubChem 数据库。

3 结果

3.1 离体透皮特性研究

以离体 SD 大鼠皮肤为模型,对 1%盐酸特比萘芬混悬液和市售盐酸特比萘芬喷雾剂进行 24 h

透皮特性研究。结果显示,市售的盐酸特比萘芬喷雾剂可在 6 h 后检测到透过情况,但在各时间点的累积透过量在 $n=6$ 的情况下有较大的变异性,在 24 h 时的累积透过量为 $(53.69\pm 41.45)\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ [累积透过率为 $(5.62\pm 4.34)\%$],而浓度为 1%的盐酸特比萘芬水悬液在 24 h 内不能透过大鼠皮肤。结果见图 2。

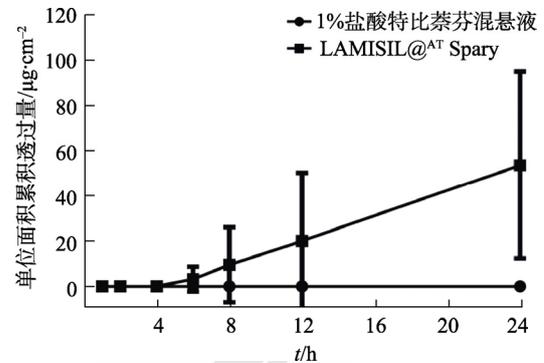


图 2 盐酸特比萘芬 24 h 皮肤透过结果($n=6$)

Fig. 2 Skin permeation of terbinafine hydrochloride in 24 h ($n=6$)

另一方面,对于含量为 1%的盐酸特比萘芬市售喷雾剂,经过 24 h 的离体透皮后, $(18.42\pm 3.96)\%$ [单位质量皮肤累积滞留量 $(10.38\pm 0.11)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]的药物滞留在皮肤组织中,而同浓度的盐酸特比萘芬混悬液有 $(5.23\pm 0.56)\%$ [单位质量皮肤累积滞留量 $(3.10\pm 0.04)\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$]的药物滞留在皮肤中。盐酸特比萘芬在透皮特性研究中表现出低渗透、高皮肤滞留和较大透过变异性的特点。结果见图 3。

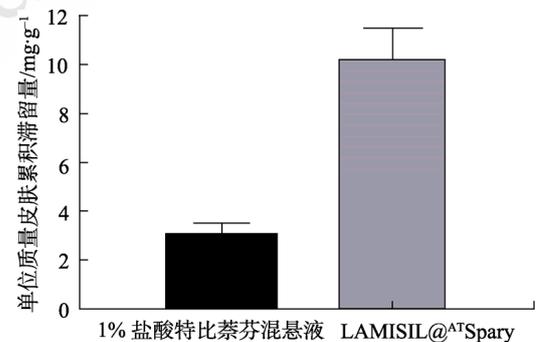


图 3 盐酸特比萘芬 24 h 皮肤滞留结果($n=6$)

Fig. 3 Skin retention of terbinafine hydrochloride in 24 h ($n=6$)

3.2 离体皮肤分布研究

不同深度皮肤组织的性质存在差异,皮肤角质层和表皮/真皮层不同的特性可能会影响药物在皮肤中的分布,进而影响药物的透皮特性。如图 4A~B 所示,滞留于皮肤中的盐酸特比萘芬 $(87.32\pm 4.99)\%$ 分布于角质层($k_{D-SC}=0.15\pm 0.07$),盐酸特比

萘芬表现出高角质层分布特点,高角质层滞留是其皮肤高滞留的主要原因。同时在大鼠离体透皮试验中,如图 4C~D 所示,如果对皮肤进行预处理去除角质层,则 1% 的盐酸特比萘芬混悬液表现出相对稳定的离体透皮情况,各时间点的累积透过量变异性较小,且 24 h 经皮渗透后皮肤滞留量的变异性也较小。而在经完整皮肤渗透后,透过难以检出,且皮肤滞留量的变异性较大。初步表明药物与皮肤角质层的相互作用是引起特比萘芬透皮变异性大的主要原因。

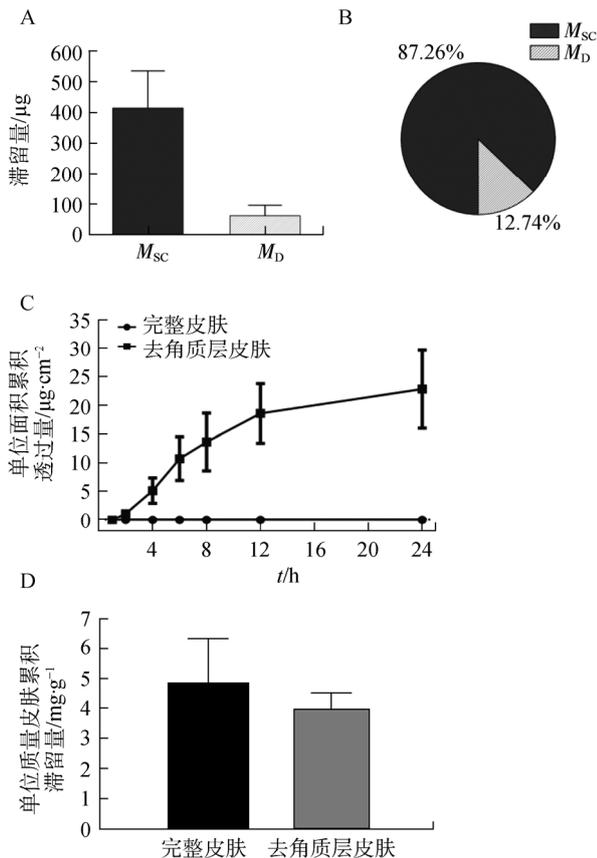


图 4 盐酸特比萘芬在皮肤各层的分布($n=6, \alpha=0.05$)
A-离体透皮时各层药物含量; B-离体透皮滞留药物各层比例; C-角质层对药物离体皮肤渗透的影响; D-角质层对药物皮肤滞留的影响。
Fig. 4 Distribution of terbinafine hydrochloride in different layers of skin ($n=6, \alpha=0.05$)
A-drug content in different layers of skin *in vitro*; B-drug content ratio in different layers of skin *in vitro*; C-influence of stratum corneum on drug penetration *in vitro*; D-influence of stratum corneum on drug retention.

3.3 ATR-FTIR

在对角质层组织扫描获取的 ATR-FTIR 光谱中,位于约 2920 cm^{-1} 和 2850 cm^{-1} 处的吸收峰分别是 ν_{asCH_2} 和 ν_{sCH_2} 的光谱特征峰,它们来自于内源性脂质并反映其烃链排列^[7]。而 $\nu_{C=O}$ 约 1750 cm^{-1} 处的吸收峰归因于脂质的极性官能团结构^[3]。如图

5 所示,与盐酸特比萘芬相互作用后的角质层样品 ν_{asCH_2} 和 ν_{sCH_2} 分别位移至 2924 cm^{-1} 和 2854 cm^{-1} , 相比于未经作用的角质层波数变化分别为 4 cm^{-1} 和 3 cm^{-1} 。表明盐酸特比萘芬在进入皮肤时会扰乱脂质。但 1743 cm^{-1} 处特征峰的峰位未发生变化。另一方面,角蛋白结构中的酰胺 I 和酰胺 II 特征峰分别位于约 1645 cm^{-1} 和 1533 cm^{-1} 处^[1]。图 5 中显示,与盐酸特比萘芬相互作用后的角质层组织的这 2 处特征峰出现在 1643 cm^{-1} 和 1531 cm^{-1} , 分别产生了 2 cm^{-1} 波数的位移,表明皮肤角蛋白结构发生了相对变化^[8-9]。

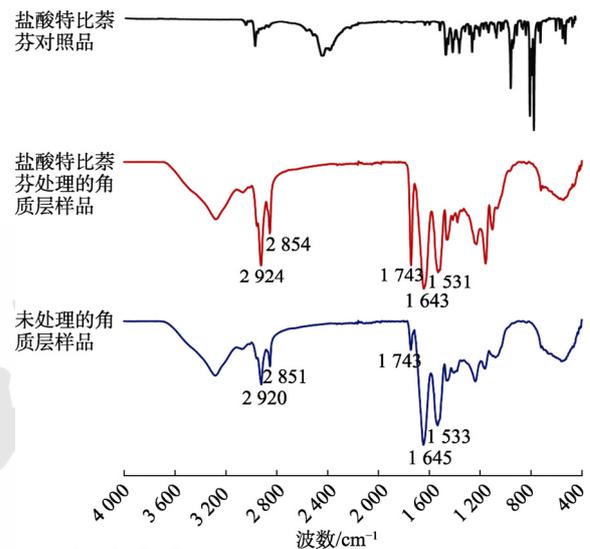


图 5 ATR-FTIR 图谱
Fig. 5 ATR-FTIR spectra

3.4 DSC

利用 DSC 对盐酸特比萘芬处理的皮肤和仅经空白溶剂处理的皮肤进行热分析,获取吸热峰。吸热峰出现在较低的温度通常归因于脂质结构的变化^[8]。用盐酸特比萘芬处理的皮肤角质层组织的吸热峰温度为 $61.1\text{ }^\circ\text{C}$, 低于未经处理的角质层样品($68.8\text{ }^\circ\text{C}$), 表明盐酸特比萘芬对角质层中的脂质结构存在明显的作用,而与脂质的相互作用会阻碍药物向更深层的皮肤组织的渗透。结果见图 6。

3.5 拉曼光谱

拉曼光谱图可反映脂质分子链的构象和构象之间的相对强度变化,可用于半量化角质层中的脂质流动程度。在高波数区,脂质的伸缩振动分别为 ν_{asCH_2} 2880 cm^{-1} 和 ν_{sCH_2} 2850 cm^{-1} , 同时角蛋白结构中 CH_2 的对称伸缩振动 ν_{asCH_2} 2937 cm^{-1} 。脂质与角蛋白的伸缩振动峰强度比值越高,表明结构中的脂质更多以致密堆积方式存在,具有较低的

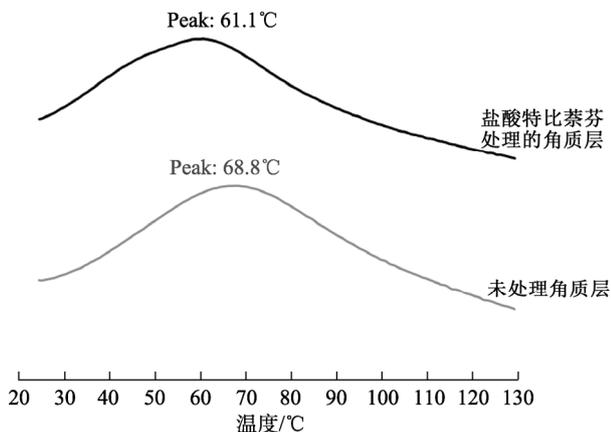


图6 盐酸特比萘芬处理与未处理角质层的 DSC 曲线
Fig. 6 DSC curve of stratum corneum treated with terbinafine hydrochloride and untreated

渗透性^[9]。如图7所示,经过盐酸特比萘芬处理后的角质层样品 $AUC_{2883}/AUC_{2937}=0.3962$, 高于仅经空白溶剂处理的角质层样品 ($AUC_{2883}/AUC_{2937}=0.3158$)。另一方面, $\nu_{CH_2} 1450\text{ cm}^{-1}$ 源自于 CH_2 的剪式振动,其较低的波数代表脂质的致密堆积方式^[10], 经过盐酸特比萘芬处理后的角质层样品 $\nu_{s\text{-cissoring } CH_2} 1445.9\text{ cm}^{-1}$, 低于仅空白溶剂处理的样品 (1447.7 cm^{-1})。综上,盐酸特比萘芬的作用可改变

角质层中的脂质结构,使其堆积方式更致密而阻碍药物的透过。

3.6 计算机模拟分子对接

通过 Autodock vina 软件模拟盐酸特比萘芬与角质层的角蛋白及脂质的分子对接,以评估其亲和和作用。在所有输出的对接结果中选择最优的对接构象进行分析,图8分别在空间构象角度和平面小分子作用基团角度展示了盐酸特比萘芬与角蛋白的相互作用方式。盐酸特比萘芬与角蛋白中的多处残基存在范德华力、疏水相互作用以及 $\pi\text{-}\pi$ 堆叠等相互作用,盐酸特比萘芬与角蛋白各种最优结合的 Affinity 值为 $-7.1\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。同时,由于盐酸特比萘芬无可形成氢键的官能团结构基础,模拟结果中药物与角蛋白的作用方式中无任何氢键形成。图9展示了盐酸特比萘芬与皮肤角质层代表性脂质成分神经酰胺 NP、C24 和 C26 酸及胆固醇的相互作用。在这些脂质中胆固醇表现出与盐酸特比萘芬分子最高的亲和力,在对接最优构象中可形成多处疏水相互作用,包括胆固醇脂肪链与盐酸特比萘芬芳环间的 $\pi\text{-Alkyl}$ 、 $\pi\text{-}\sigma$ 作用以及胆固醇脂肪链与盐酸特比萘芬的烷基相互作用。

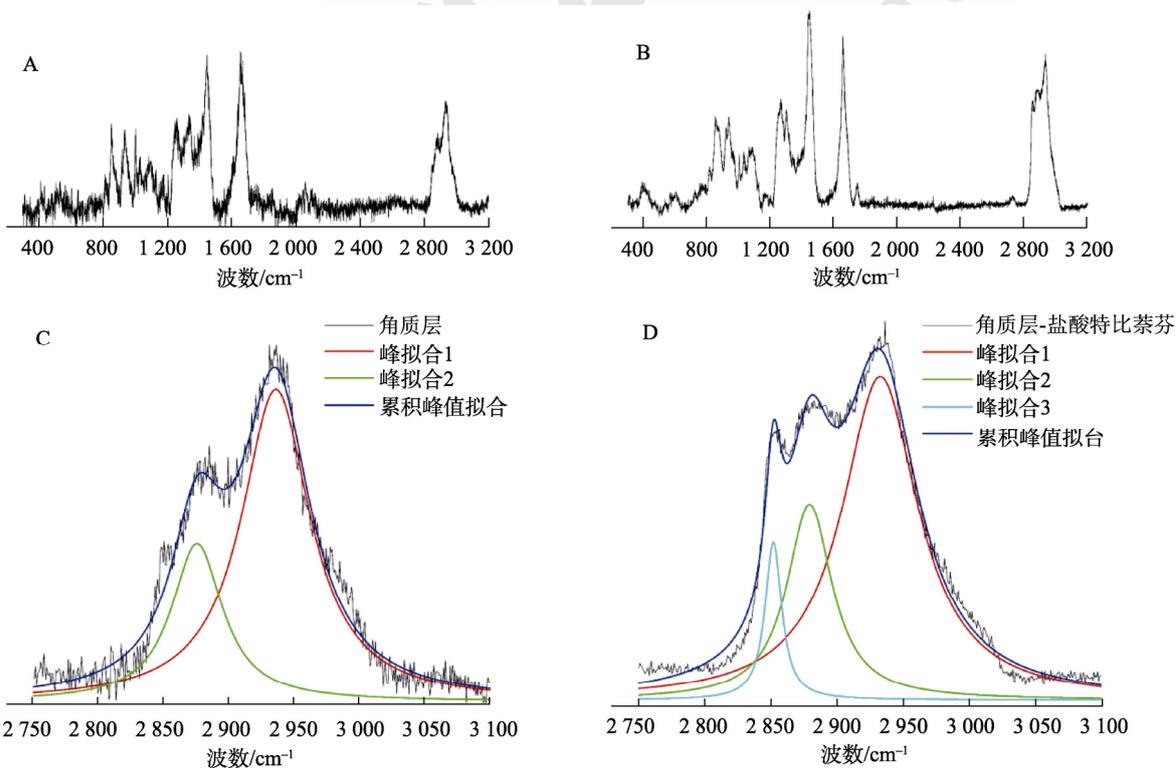


图7 盐酸特比萘芬处理的角质层与未处理角质层的拉曼光谱图
 A-空白溶剂处理的角质层; B-盐酸特比萘芬处理的角质层; C-空白溶剂处理的角质层局部图谱拟合; D-盐酸特比萘芬处理的角质层局部图谱拟合。
Fig. 7 Raman spectra of stratum corneum treated with terbinafine hydrochloride and controlled stratum corneum
 A-stratum corneum treated with blank control solvent; B-stratum corneum treated with terbinafine hydrochloride; C-partial spectra fitting of stratum corneum treated with blank control solvent; D-partial spectra fitting of stratum corneum treated with terbinafine hydrochloride.

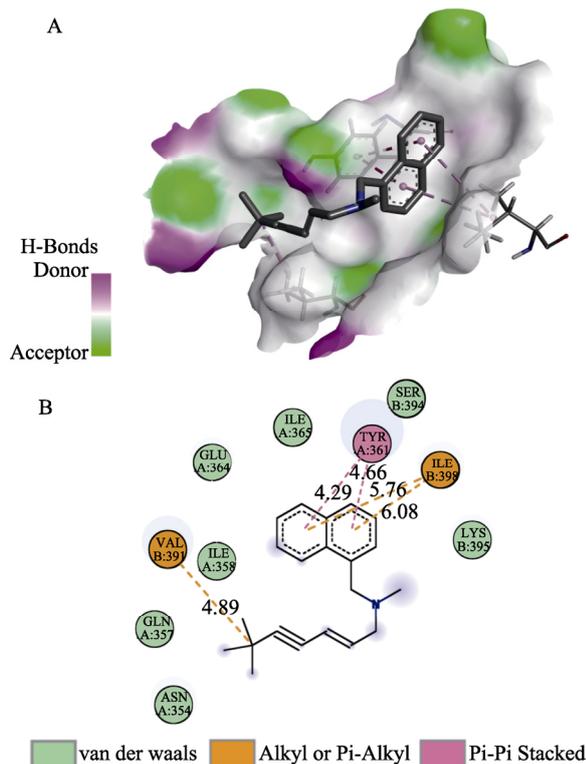


图 8 盐酸特比萘芬与角蛋白分子对接结果
A-盐酸特比萘芬与角蛋白对接的最优构象示意图；B-最优构象中盐酸特比萘芬分子与不同氨基酸残基发生的相互作用。

Fig. 8 Molecular docking results of terbinafine hydrochloride and keratin

A-optimal conformation from docking of terbinafine hydrochloride and keratin; B-interaction between terbinafine hydrochloride molecule and different amino acid residues in optimal docking conception.

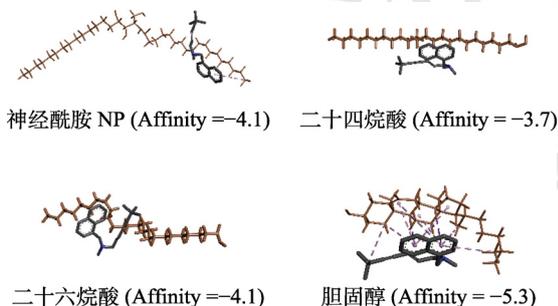


图 9 盐酸特比萘芬与 4 种皮肤脂质成分分子对接结果
Fig. 9 Molecular docking results of terbinafine hydrochloride and 4 lipid compositions in the stratum corneum

4 讨论

皮肤是人体最大的器官，它结合了多种人体不可缺少的功能，皮肤最外层的角质层拥有抵御外部化学、生物或物理影响的屏障功能，包括经皮应用的药物。然而，对于许多药物而言，透皮给药途径可能是理想的给药方式，但会因较差的透皮效果而难于开发为经皮给药制剂。同时，由于治疗目的不同，不同经皮给药系统在设计上的重点也可能不同，如需要较高皮肤透过发挥系统

作用的药物或需要较高皮肤滞留发挥局部作用的药物。因此需要对药物的透皮特性有更加深入的认识，助力于经皮给药在科学研究、临床应用和 新药开发等诸多方面的发展。

本研究对盐酸特比萘芬的经皮给药过程进行了如下探究：药物对皮肤结构的影响；药物与皮肤成分的相互作用；药物的作用对自身透皮特性的影响。旨在诠释盐酸特比萘芬独特透皮特性的机制。由透皮特性的研究可以证明，盐酸特比萘芬是一种典型的皮肤低渗透、高滞留的药物。盐酸特比萘芬混悬液在实验条件下未检测到皮肤透过情况，同时表现出了较强的皮肤滞留能力和滞留的变异性。进一步对其经去角质层皮肤的透皮和滞留及分布进行研究发现，皮肤角质层对于盐酸特比萘芬独特透皮特性的产生发挥关键作用，滞留于皮肤中的药物约 90%分布于角质层中，可以证明盐酸特比萘芬有易于扩散进入角质层而难于由角质层进一步扩散进入表皮/真皮层的特性。

针对盐酸特比萘芬施用于皮肤后主要分布于角质层中的结果，对盐酸特比萘芬与角质层的相互作用进行了进一步探究。角质层组织可类比为角化细胞组成的砖墙，是高度有序的多层脂质结构。脂质结构中包含几乎等摩尔比的不同亚种的神经酰胺、游离脂肪酸以及胆固醇^[11]。同时，角蛋白也是角质层中的重要成分，角蛋白 1 和角蛋白 10 是表皮中表达的主要角蛋白^[12-13]。通过计算机模拟可以发现，盐酸特比萘芬和角蛋白存在一定程度的相互作用，其最优构象的 Affinity 值为 $-7.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，尽管无氢键形成，但其结合作用仍会增强盐酸特比萘芬在角质层中的滞留。同时，角质层中脂质以胆固醇与盐酸特比萘芬的结合力最强。而在 ATR-FTIR 的结果中，源自角蛋白结构中的酰胺特征峰产生了位移，由此可以推测，与盐酸特比萘芬的孵育可使角蛋白结构发生变化。同时盐酸特比萘芬的作用使对应脂质排列和角蛋白二级结构的多个特征峰产生了位移，与药物的作用可能同时改变了角质层中脂质的排列和皮肤角蛋白的空间结构。而后针对角质层中脂质进行了 DSC 分析发现，吸热峰发生明显的向低温方向位移，验证了脂质结构的改变。而拉曼光谱扫描的结果验证了盐酸特比萘芬的作用使角质层中的脂质更多地以致密的方式堆叠，并造成脂质流动性降低，皮肤透过性降低。这解释了盐酸特比萘

芬表现出较高的角质层滞留以及较低的皮肤透过特性。

综上,本研究从药物与皮肤相互作用的角度解释了盐酸特比萘芬高滞留低渗透的透皮特性的重要成因。深刻理解典型经皮药物的透皮过程可以更好地研究和开发相关经皮给药系统,为此在未来还需在更多的药物上探索其与皮肤相互作用对其透皮特性的影响,为药物的经皮给药系统设计和透皮特性研究提供理论支持。

REFERENCES

- [1] ZHANG E B, ZHANG X P, WANG K, et al. Antifungal agent terbinafine restrains tumor growth in preclinical models of hepatocellular carcinoma via AMPK-mTOR axis[J]. *Oncogene*, 2021, 40(34): 5302-5313.
- [2] ANDERSSON N W, THOMSEN S F, ANDERSEN J T. Evaluation of association between oral and topical terbinafine use in pregnancy and risk of major malformations and spontaneous abortion[J]. *JAMA Dermatol*, 2020, 156(4): 375.
- [3] TIAN Q, QUAN P, FANG L, et al. A molecular mechanism investigation of the transdermal/topical absorption classification system on the basis of drug skin permeation and skin retention[J]. *Int J Pharm*, 2021(608): 121082.
- [4] YANG F D, YU X M, SHAO W Y, et al. Co-delivery of terbinafine hydrochloride and urea with an *in situ* film-forming system for nail targeting treatment[J]. *Int J Pharm*, 2020(585): 119497.
- [5] ZHANG Y, LIU C, XU W W, et al. An investigation on percutaneous permeation of flurbiprofen enantiomers: The role of molecular interaction between drug and skin components[J]. *Int J Pharm*, 2021(601): 120503.
- [6] SARROUKH R, GOORMAGHTIGH E, RUYSSCHAERT J M, et al. ATR-FTIR: a “rejuvenated” tool to investigate amyloid proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1828(10): 2328-2338.
- [7] PYATSKI Y, FLACH C R, MENDELSON R. FT-IR investigation of Terbinafine interaction with stratum corneum constituents[J]. *Biochim Biophys Acta BBA Biomembr*, 2020, 1862(9): 183335.
- [8] PEZZOTTI G, BOFFELLI M, MIYAMORI D, et al. Raman spectroscopy of human skin: Looking for a quantitative algorithm to reliably estimate human age[J]. *J Biomed Opt*, 2015, 20(6): 065008.
- [9] MUELLER J, SCHROETER A, STEITZ R, et al. Preparation of a new oligolamellar stratum corneum lipid model[J]. *Langmuir*, 2016, 32(18): 4673-4680.
- [10] BUNICK C G, MILSTONE L M. The X-ray crystal structure of the keratin 1-keratin 10 helix 2B heterodimer reveals molecular surface properties and biochemical insights into human skin disease[J]. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(1): 142-150.
- [11] KIM H J, SON E D, JUNG J Y, et al. Violet light down-regulates the expression of specific differentiation markers through Rhodopsin in normal human epidermal keratinocytes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73678.
- [12] MOORE D J, RAWLINGS A V. The chemistry, function and (patho)physiology of stratum corneum barrier ceramides[J]. *Int J Cosmet Sci*, 2017, 39(4): 366-372.
- [13] STARR N J, KHAN M H, EDNEY M K, et al. Elucidating the molecular landscape of the stratum corneum[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(12): e2114380119.

收稿日期: 2022-02-08
(本文责编: 蔡珊珊)