

小檗碱-氧化锌纳米粒的制备及其体外透皮研究

宋芮^{1,2}, 朱煜文², 邓翔^{1,2}, 薛凯琳², 王润², 袁海龙^{1,2*}

1. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032

2. 空军军医大学 空军特色医学中心 药学部, 北京 100142

摘要: 目的 制备小檗碱-氧化锌纳米粒 (berberine-zinc oxide nanoparticles, Ber-ZnO NPs) 考察其理化性质与体外透皮行为, 并探索其透皮机制。方法 采用高压均质法制备 Ber-ZnO NPs, 以平均粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 作为评价指标进行工艺优化。通过透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM)、紫外-可见光谱 (ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis)、傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 及 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 等手段对 Ber-ZnO NPs 的形貌及理化性质进行表征。利用 Franz 扩散池考察 Ber-ZnO NPs 的体外透皮性能并结合扫描电镜探究透皮机制。结果 所制得 Ber-ZnO NPs 的平均粒径为 (219.75 ± 0.89) nm, PDI 为 0.21 ± 0.02 , ζ 电位为 (15.96 ± 1.63) mV。TEM 结果显示, Ber-ZnO NPs 呈类圆形纳米团簇结构; UV-Vis 及 FTIR 结果提示, 小檗碱可能通过氢键成功负载于 ZnO 表面。XRD 结果显示, Ber-ZnO NPs 的结晶度显著降低, 表明小檗碱与 ZnO 之间存在较强的相互作用。在体外透皮实验中, Ber-ZnO NPs 在 24 h 内的累积透过量为 $(1\ 431.98 \pm 298.31)$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 是小檗碱溶液的 6.6 倍, 皮肤滞留量为小檗碱溶液的 2.6 倍。SEM 结果显示, Ber-ZnO NPs 可明显改变皮肤角质层结构, 增强药物的渗透能力。结论 采用高压均质法制备的 Ber-ZnO NPs 粒径小、分散性好, 能够显著提高小檗碱的体外透皮能力, 为小檗碱的经皮给药系统的开发提供了新的思路。

关键词: 小檗碱; 纳米粒; 经皮给药; 促透机制; 氧化锌; 体外透皮

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)19-7032-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.015

Preparation of berberine-zinc oxide nanoparticles and their *in vitro* transdermal permeation study

SONG Rui^{1,2}, ZHU Yuwen², DENG Xiang^{1,2}, XUE Kailin², WANG Run², YUAN Hailong^{1,2}

1. School of Pharmaceuticals Science, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

2. Department of Pharmacy, Air Force Medical Center, PLA, Air Force Medical University, Beijing 100142, China

Abstract: Objective To prepare berberine-zinc oxide nanoparticles (Ber-ZnO NPs) using the high-pressure homogenization method, assess their physicochemical characteristics and transdermal behavior *in vitro*, and elucidate their transdermal mechanism. **Methods** Ber-ZnO NPs were prepared via high-pressure homogenization, with the average particle size and polydispersity index (PDI) serving as optimization parameters. The morphology and physicochemical properties of Ber-ZnO NPs were analyzed using transmission electron microscopy (TEM), ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and X-ray diffraction (XRD). Transdermal properties of Ber-ZnO NPs were evaluated using Franz diffusion cells, while scanning electron microscopy was employed to investigate the transdermal mechanism. **Results** The Ber-ZnO nanoparticles exhibited an average particle size of (219.75 ± 0.89) nm, a polydispersity index (PDI) of 0.21 ± 0.02 , and a ζ potential of (15.96 ± 1.63) mV. TEM analysis revealed the quasi-spherical nanocluster-like structure of Ber-ZnO NPs. Spectroscopic analyses, including UV-Vis and FTIR, suggested successful berberine immobilization on the ZnO surface through hydrogen bonding. XRD results indicated a notable reduction in the crystallinity of Ber-ZnO NPs, indicating a robust interaction between berberine and ZnO. *In vitro* studies demonstrated that the cumulative penetration of Ber-ZnO NPs reached $(1\ 431.98 \pm 298.31)$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ within 24 h, representing a 6.6-fold increase compared to

收稿日期: 2025-06-06

基金项目: 军队医疗与医药服务能力建设与提升专项计划 (2023ZY031)

作者简介: 宋芮, 硕士研究生, 研究方向为中药新制剂。Tel: 18055028198 E-mail: 2789781963@qq.com

*通信作者: 袁海龙, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新剂型给药系统。Tel: (010)66928505 E-mail: yhlpharm@126.com

berberine solution, with skin retention being 2.6 times higher than that of berberine solution. Scanning electron microscopy (SEM) images illustrated the significant alteration of the stratum corneum structure by Ber-ZnO NPs, leading to enhanced drug penetration. **Conclusion** Ber-ZnO NPs, synthesized via high-pressure homogenization, exhibit small particle size and excellent dispersibility, significantly enhancing the transdermal delivery of berberine *in vitro*, thereby offering a novel approach for developing a berberine transdermal delivery system.

Key words: berberine; nanoparticles; transdermal delivery; penetration enhancing mechanism; zinc oxide; transdermal delivery *in vitro*

黄连作为一味传统的中药材,具有清热燥湿、泻火解毒等功效^[1-3]。其主要活性成分小檗碱(berberine)在治疗心血管疾病、抗菌、抗病毒和抗炎等方面展现出良好的药理作用^[4-5]。然而,小檗碱水溶性差、口服生物利用度低等问题,限制了其在临床中的应用。透皮给药系统是一种通过皮肤将药物分子递送至体内的给药途径,具有避免肝脏首过效应、提高药物生物利用度的优点^[6]。然而,皮肤的角质层作为药物吸收的天然屏障限制了药物的渗透。金属纳米粒子因其小尺寸效应、较大的比表面积和良好的表面化学特性,已广泛应用于药物递送领域,尤其在透皮给药系统中展现出良好的前景^[7-9]。氧化锌不仅具有良好的生物相容性、低毒性,还具备抗菌、抗炎等特性,因此在药物递送中被广泛应用。因此,本研究拟采用高压均质制备小檗碱-氧化锌纳米粒(berberine-zinc oxide nanoparticles, Ber-ZnO NPs),以平均粒径和多分散指数(polydispersity index, PDI)作为评价指标优化其制备工艺,进一步通过体外实验验证其透皮吸收效果,以评估其在透皮给药中的应用潜力^[10-11]。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Nanotracs Wave II 型纳米粒度及 Zeta 电位分析仪,美国麦奇克仪器有限公司;JM-A6002 型电子天平,诸暨市超泽衡器设备有限公司;LC-20AD 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;D8ADVANCE 型 X 射线衍射仪,德国 Bruker 公司;pHS-2F 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;TP-6 型智能透皮试验仪,天津市鑫洲科技有限公司;BY-G20 型高速离心机,北京白洋医疗器械有限公司;KH5200DB 型数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;JXNANO-15 型高压纳米均质机,上海净信实业发展有限公司;Tecna G2 F30 型场发射透射电子显微镜,美国 FEI 公司;DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱,北京陆希科技有限公司;Nicolet™ iS50 研究型傅里叶变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技(中

国)有限公司;UV-2401PC 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司。

1.2 试剂

盐酸小檗碱对照品,批号 110713-201212,质量分数 $\geq 98.0\%$,中国食品药品检定研究院;盐酸小檗碱原料药,批号 PS020552,质量分数 $\geq 92\%$,成都普思生物技术公司;甲醇,乙腈质量分数 99.9%,美国 Fisher 公司;纳米氧化锌(ZnO),质量分数 95.0%,批号 RH340784,上海易恩化学技术有限公司;其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量为(200 \pm 10)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,合格证号:SCXK(京)2019-0010。动物实验按照动物护理和使用委员会的指导原则进行。所有动物实验均获得中国人民解放军空军医疗中心伦理委员会的批准,编号 2025-45-PJ01。

2 方法和结果

2.1 Ber-ZnO NPs 的制备

采用高压均质法制备 Ber-ZnO NPs。称取 480 mg 小檗碱原料药和一定质量 ZnO,置于烧杯中,加入 60 mL 蒸馏水,适当搅拌,将溶液置于高压均质机中,在一定压力下循环均质数次,即得 Ber-ZnO NPs。

2.2 Ber-ZnO NPs 的粒径和 PDI 测定

取 Ber-ZnO NPs 适量,用蒸馏水稀释,采用 Nanotracs Wave II 型纳米粒度及 ζ 电位分析仪测定平均粒径及 PDI。

2.3 Ber-ZnO NPs 的工艺优化

以平均粒径和 PDI 为指标,分别对小檗碱和 ZnO 的用量比例、均质压力和循环次数 3 个工艺因素进行考察,探究不同因素对纳米粒的影响,确定制备 Ber-ZnO NPs 的最优处方。

2.3.1 小檗碱和 ZnO 不同质量比考察 在小檗碱 480 mg、60 mL 蒸馏水、均质压力 100.0 MPa(1 000 bar)、循环次数为 10 次的条件下考察不同小檗碱和 ZnO 质量比对 Ber-ZnO NPs 平均粒径和 PDI 的影

响。由表1可知,当小檗碱和ZnO质量比为4:1、1:2时,纳米粒的平均粒径较大;当小檗碱和ZnO质量比为1:1时,纳米粒平均粒径最小。因此采取小檗碱和ZnO质量比为1:1。

表1 小檗碱和ZnO不同质量比考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Investigation on different mass ratios of berberine and ZnO ($\bar{x} \pm s, n=3$)

小檗碱-ZnO	平均粒径/nm	PDI
4:1	279.88±23.28	0.19±0.14
2:1	231.05±8.10	0.22±0.03
1:1	217.49±4.81	0.20±0.07
1:2	261.83±20.35	0.21±0.04

2.3.2 不同均质压力考察 在小檗碱480 mg、ZnO 480 mg、60 mL蒸馏水、均质次数为10次的条件下考察不同均质压力对Ber-ZnO NPs平均粒径和PDI的影响。由表2可知,在均质压力为60.0、80.0 MPa (600、800 bar)时,Ber-ZnO NPs的平均粒径较大;在均质压力为100.0 MPa (1 000 bar)时平均粒径较小,粒径更均一,PDI最小。结果可得,采取均质压力为100.0 MPa。

2.3.3 不同循环次数考察 小檗碱480 mg, ZnO 480 mg, 60 mL蒸馏水、均质压力100.0 MPa (1 000 bar)条件下考察不同循环次数对Ber-ZnO NPs平均粒径和PDI的影响。由表3可知,Ber-ZnO NPs平均粒径随着循环次数的增加而减小。在均质循环次数为10次时PDI最小,纳米粒分散更均匀。结果可得,采取均质循环次数为10次。

2.4 Ber-ZnO NPs的最优处方验证

基于上述工艺因素影响的考察结果,确定制备

表2 不同均质压力考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Investigation of different homogeneous pressures ($\bar{x} \pm s, n=3$)

均质压力/MPa	平均粒径/nm	PDI
60.0	286.40±4.08	0.16±0.05
80.0	262.46±2.81	0.17±0.10
100.0	226.04±6.98	0.15±0.14
120.0	231.54±8.46	0.24±0.08

表3 不同循环次数考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Investigation of different cycle times ($\bar{x} \pm s, n=3$)

循环次数/次	平均粒径/nm	PDI
6	252.42±8.25	0.24±0.02
8	243.05±3.81	0.23±0.02
10	234.95±5.11	0.17±0.02
12	224.67±6.41	0.18±0.01

Ber-ZnO NPs的最佳工艺条件为小檗碱和ZnO质量比为1:1,均质压力为100.0 MPa (1 000 bar),均质循环次数为10次。按优化后的工艺制备3批样品,进行处方工艺验证。由表4可知,测得平均粒径为(219.75±0.89) nm, PDI为0.21±0.02,表明具有良好的重现性。

表4 处方工艺验证 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Prescription process validation ($\bar{x} \pm s, n=3$)

批次	粒径/nm	PDI	批次	粒径/nm	PDI
1	219.81	0.23	3	218.83	0.18
2	220.61	0.22	平均值	219.75±0.89	0.21±0.02

2.5 Ber-ZnO NPs的质量评价

2.5.1 外观评价 Ber-ZnO NPs的外观如图1所示。Ber-ZnO NPs呈均匀的深黄色,且在4℃下静置7 d没有出现分层现象,能较长时间稳定存在。



图1 Ber-ZnO NPs的外观

Fig. 1 Appearance of Ber-ZnO NPs

2.5.2 粒径分布与ζ电位测定 取Ber-ZnO NPs溶液适量,用超纯水稀释至合适浓度,用Nanotracer Wave II型纳米粒度及ζ电位分析仪测定平均粒径,用JS94微电泳仪测定ζ电位。Ber-ZnO NPs的粒径分布结果见图2,平均粒径为(219.75±0.89) nm, PDI值为0.21±0.02。测得Ber-ZnO NPs的ζ电位为(15.96±1.63) mV。

2.5.3 透射电子显微镜(TEM)观察 吸取少量Ber-ZnO NPs滴于覆有碳膜的铜网上^[12],自然干燥

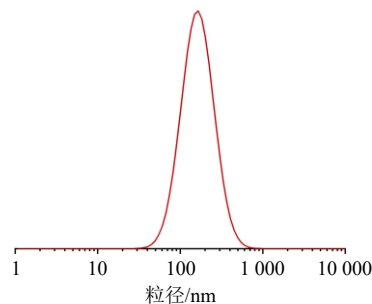


图2 Ber-ZnO NPs的粒径分布图

Fig. 2 Particle size distribution diagram of Ber-ZnO NPs

后,于TEM下观察形貌特征,结果见图3。Ber-ZnO NPs呈类圆形纳米团簇状,粒径在100~200 nm。该形态特征与已有文献报道相符,进一步说明Ber-ZnO NPs具有典型的金属纳米结构特征^[13]。

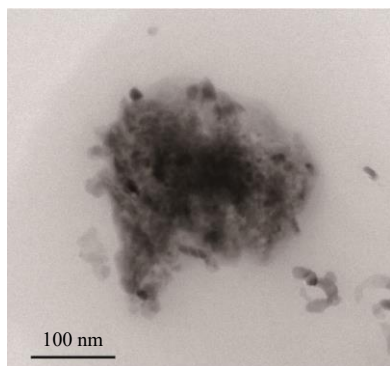


图3 Ber-ZnO NPs的TEM图
Fig. 3 TEM image of Ber-ZnO NPs

2.5.4 紫外-可见光谱分析 (UV-Vis) 取小檗碱、ZnO、Ber-ZnO 物理混合物和 Ber-ZnO NPs 溶液适量,分别装入两面透光的比色皿中,用紫外-可见分光光度计测其在190~600 nm的吸收曲线^[14]。结果如图4所示,ZnO在190~600 nm未见明显特征吸收峰,与小檗碱相比,Ber-ZnO NPs保留了相应的特征吸收,但在422 nm处出现了轻微展宽现象,提示其可能与ZnO之间存在一定的相互作用^[15]。

2.5.5 傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 分析 将适量的小檗碱、ZnO、Ber-ZnO 物理混合物和 Ber-ZnO NPs 冻干粉与光谱级溴化钾粉末按特定质量比混合,并充分研磨。研磨完成后,将混合物压制成片。随后使用傅里叶变换红外光谱仪对各样品进行测试,设置扫描范围为4 000~400 cm⁻¹,光谱分辨率为4 cm⁻¹,并以空气作为背景^[14]。FTIR数据通过OMNIC 8.2软件进行

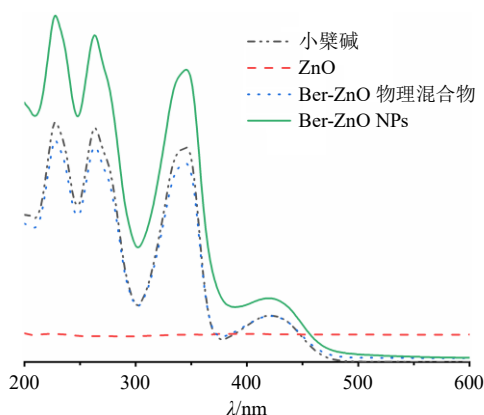


图4 UV-Vis的结果图
Fig. 4 Results image of UV-Vis

记录和存储,结果见图5。FTIR分析结果表明,小檗碱在3 000~3 600 cm⁻¹处出现了宽广的吸收峰,归属于羟基的拉伸振动^[15];1 597、1 567、1 504 cm⁻¹处为苯环C=C骨架的伸缩振动特征吸收峰;1 386、1 269 cm⁻¹处则归属于甲氧基的伸缩振动峰。ZnO在600~400 cm⁻¹波段范围内表现出明显的透射率下降,属于二价金属氧键(Zn-O)的特征吸收^[16]。相较于小檗碱,Ber-ZnO NPs中甲氧基特征峰出现不同程度的红移,表明小檗碱与ZnO在制备过程中可能发生了分子间相互作用。Ber-ZnO NPs在3 547 cm⁻¹处吸收峰的消失,进一步提示小檗碱与ZnO之间可能通过氢键形成了相互作用^[17-18]。

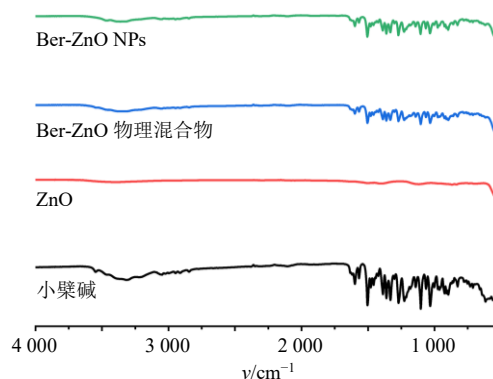


图5 FTIR的结果图
Fig. 5 Results image of FTIR

2.5.6 X射线衍射分析 (X-ray diffraction spectra, XRD) 采用XRD对小檗碱、ZnO、Ber-ZnO 物理混合物和 Ber-ZnO NPs 进行表征^[19-20]。将小檗碱、ZnO和Ber-ZnO NPs冻干粉置于研钵中进行充分研磨,使其成为均匀粉末。取适量粉末装入样品槽中,使用载玻片对样品表面进行压片处理。之后,将样品放置于X射线衍射仪中进行测试。实验参数设定为Cu靶,管压40 kV,管电流25 mA,扫描范围为(2θ) 5°~60°,扫描速率为2°/min^[21],结果见图6。由图可知,ZnO和Ber-ZnO NPs在2θ=31.8°、34.5°、36.3°等位置均呈现出特征衍射峰,表明ZnO在原料药和Ber-ZnO NPs中以结晶状态存在。小檗碱在2θ为5°~40°存在多个特征衍射峰,然而Ber-ZnO NPs中小檗碱的特征衍射峰强度显著减弱,部分次级衍射峰甚至消失。这一现象可能与纳米化过程中,小檗碱与ZnO在介质研磨的机械力作用发生分子间相互作用,导致小檗碱晶体的粒径减小及晶格缺陷增加,进而影响了其结晶性^[22]。

2.6 计算机模拟分子对接

使用Autodock vina软件对小檗碱与ZnO进行

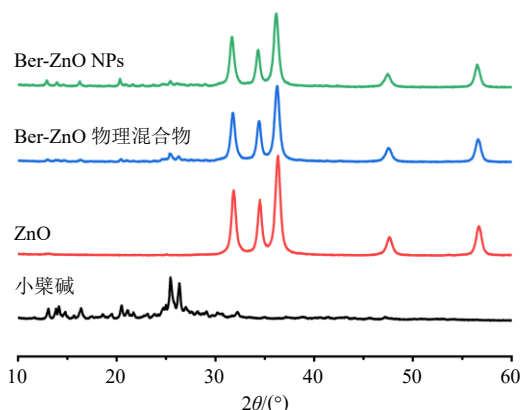


图6 XRD 结果图

Fig. 6 Results image of XRD

分子对接, 将 ZnO 设置为分子对接受体, 小檗碱设置为分子对接配体。结果如图 7 所示, 小檗碱和 ZnO 的分子间结合能为 -0.5 kcal/mol, 其中静电作用力为 -1.28 kcal/mol, 范德华力和去溶剂化能为 0.77 kcal/mol, 小檗碱的苯环与 ZnO 表面带电的 Zn 原子形成 π -阳离子相互作用, 而 ZnO 的 Zn 原子与小檗碱的氧原子则通过金属螯合作用进行相互作用。

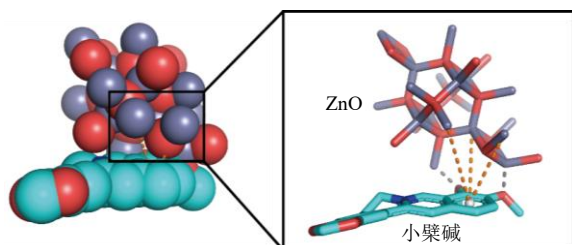


图7 小檗碱与 ZnO 的分子对接结果

Fig. 7 Molecular docking results of berberine and ZnO

2.7 小檗碱检测方法的建立及方法学考察

2.7.1 对照品溶液的配制 精密称取 5 mg 盐酸小檗碱对照品, 将其置于 10 mL 棕色量瓶中, 用甲醇溶解后定容至刻度线, 由此得质量浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的盐酸小檗碱对照品溶液。

2.7.2 供试品溶液的配制 精密吸取 0.5 mL Ber-ZnO NPs, 置于 25 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解, 超声 5 min 后用甲醇定容至刻度线, 作为供试品溶液。

2.7.3 色谱条件 色谱柱为 Inertsil® ODS-3 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈- 0.05 mol/L 磷酸二氢钾 (0.5% 三乙胺, 磷酸调至 pH 值 3) ($34:66$), 等度洗脱, 检测波长 345 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 20 μL ; 体积流量 1.0 mL/min。

2.7.4 线性关系考察 精密移取“2.7.1”项下对照品储备液适量, 转移到 25 mL 量瓶中, 加入甲醇定容到刻度线, 再将其配制成系列不同质量浓度的对

照品溶液, 分别为 16.00 、 8.00 、 4.00 、 2.00 、 1.00 、 0.50 、 0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。按照“2.7.2”项下色谱条件进行测定, 分别记录各峰相应的峰面积, 以得到的峰面积积分值为纵坐标 (Y), 以质量浓度为横坐标 (X), 计算线性回归方程 $Y=26536X-3073.8$, 相关系数 $R^2=0.9993$, 结果表明在 $0.10\sim 16.00$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的质量浓度区间内, 小檗碱的质量浓度与色谱峰面积之间存在显著的线性相关性。

2.7.5 专属性试验 将空白接收液、对照品溶液、供试品溶液及含药鼠皮提取液取样, 按照“2.7.2”项下色谱条件进行 HPLC 检测, 记录其色谱峰见图 8。结果显示, 该色谱条件下, 色谱峰分离度好, 同时峰形稳定, 无干扰。

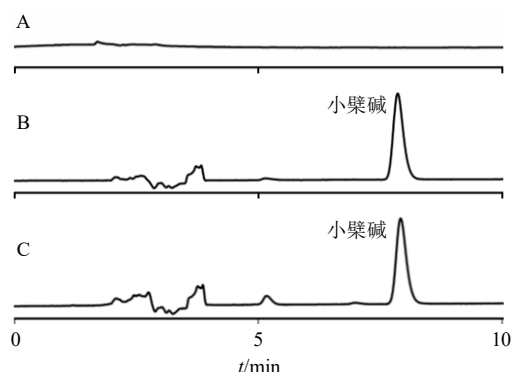


图8 空白对照溶液 (A)、小檗碱对照品溶液 (B)、Ber-ZnO NPs 样品溶液 (C) 的 HPLC 图

Fig. 8 HPLC chromatograms of blank control solution (A), berberine reference substance solution (B), Ber-ZnO NPs sample solution (C)

2.7.6 精密度试验 精密吸取“2.7.1”项下对照品溶液 1 mL, 转移至 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度线, 再分别配制高、中、低 3 个不同质量浓度的溶液, 质量浓度分别为 12.00 、 2.00 、 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 按照“2.7.3”项下色谱条件, 连续 6 次进样分析, 记录不同质量浓度下小檗碱的峰面积, 并据此计算出其峰面积及 RSD 值分别为 0.17% 、 0.68% 、 1.46% , 表明该仪器精密度良好。

2.7.7 稳定性试验 将同一批次供试品溶液室温下放置, 在 0 、 2 、 4 、 8 、 12 、 24 h 进行取样并测定, 同时记录所得的峰面积, 计算其峰面积及 RSD 为 0.86% , 说明在室温下, 供试品溶液能在 24 h 内保持稳定。

2.7.8 重复性试验 按照“2.7.2”项中所述, 分别配制 6 份供试品溶液, 分别测定小檗碱的峰面积, 计算其质量浓度的 RSD 为 0.96% , 结果表明供试品

溶液具有良好的重复性。

2.7.9 加样回收率试验 从已测知质量浓度的供试品溶液中精密移取 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 移取 9 份, 接着分别加入相当于样品量的 80%、100%、120% 的对照品溶液, 每个量重复加 3 份, 再加入适量甲醇超声 10 min, 继续用甲醇定容至刻度线, 并充分摇匀。按照“2.7.3”项下色谱条件进行检测, 记录小檗碱的峰面积, 并据此计算其质量浓度及 RSD 值。小檗碱低、中、高 3 个质量浓度的加样回收率分别为 99.94%、100.73%、101.18%, RSD 分别为 0.54%、0.26%、0.11%, 均小于 5%, 符合测定要求。

2.8 Ber-ZnO NPs 体外经皮渗透研究

2.8.1 离体鼠皮的制备 将大鼠处死后剃去腹部的毛发, 确保角质层完好, 用动物手术剪刀迅速将动物腹部皮肤剥离, 用脱脂棉蘸取生理盐水擦去脂肪组织和结缔组织, 塑封包装后于 -80 °C 冷冻保存, 1 周内使用^[23]。

2.8.2 体外透皮试验装置及条件 采用改良型 Franz 立式扩散池试验装置, 深入探讨物质渗透特性, 该装置具备 1.53 cm² 的有效扩散面积^[24-25]。将按照“2.8.1”项下准备的鼠皮固定在扩散池之间, 确保其表皮面朝向供给池, 真皮面朝向接收池, 用弹簧夹予以稳固, 随后加入 20% 乙醇-PBS 接收液至平衡状态, 持续 30 min。待平衡后, 精确移取 1 mL 供给液, 注入供给池, 再向接收池中加入 20 mL 接收液。环境温度控制在 32 °C, 搅拌速度 350 r/min。正式开始后, 分别于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 共 8 个时间点进行取样, 每次取样体积为 1 mL, 取样后立即补充同温等量空白接收液, 以维持漏槽条件的稳定^[26]。利用 0.22 μm 微孔滤膜滤过后, 通过 HPLC 法测定小檗碱含量。

2.9 累积透过量 (Q_n) 的测定

药物各个时间点的 Q_n 可由以下公式计算。

$$Q_n = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

V 为接收液总体积, C_n 表示取样至第 n 次取样时接收液中药物的质量浓度, C_i 为第 i 次取样时接收液中药物的质量浓度, V_i 为取样体积, A 为有效扩散面积

结果如图 9 所示, 小檗碱在 24 h 累积透过量达到 (215.58 ± 75.29) μg/cm², 而 Ber-ZnO NPs 在 24 h 累积透过量达到 (1 431.98 ± 298.31) μg/cm², 约是小檗碱在 24 h 累积透过量的 6.6 倍, 表明 Ber-ZnO NPs 能够显著提高小檗碱的透皮吸收效率。

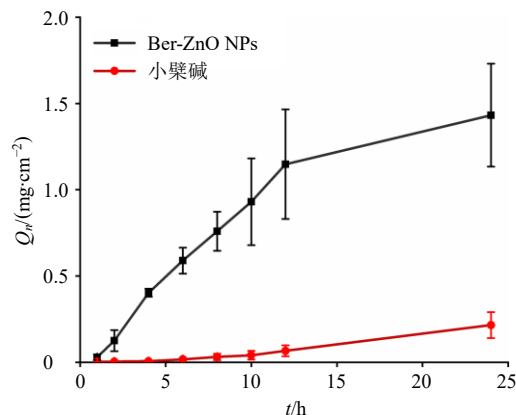


图 9 小檗碱和 Ber-ZnO NPs 的 Q_n ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Q_n of berberine and Ber-ZnO NPs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.10 皮肤滞留量 (Q_s)

实验结束后, 取下皮肤, 用生理盐水洗净皮肤表面的药物, 剪下给药部分, 剪碎, 加 1 mL 甲醇, 超声 60 min, 13 000 r/min 离心 (离心半径 16.0 cm) 15 min, 取上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, HPLC 法测定小檗碱的含量。结果表明, 小檗碱和 Ber-ZnO NPs 的 Q_s 分别为 (43.74 ± 2.65)、(111.75 ± 50.21) μg/cm²。

2.11 SEM 观察不同处理的大鼠皮肤

按照“2.8.1”项下方法制备新鲜完整鼠皮, 剪取 1 cm² 大小皮肤, 分别浸入生理盐水溶液、小檗碱溶液、Ber-ZnO NPs 溶液, 采用改良型 Franz 立式扩散池试验装置, 先后于 2、8、24 h 共 3 个时间点进行取样, 将取下的小鼠皮肤置于 2.5% 戊二醛溶液中避光固定, 2 h 后 pH 7.0 的 PBS 液清洗, 用 1% 锍酸避光固定 2 h, 用 pH 7.0 的 PBS 液清洗, 滤纸吸干, 冷冻干燥后喷金^[21,27], SEM 观察结果如图 10 所示。在空白对照组中, 皮肤表面较为光滑平整, 未出现明显裂隙和褶皱。相比之下, 小檗碱处理组的大鼠皮肤表面出现明显变化。经小檗碱溶液处理后, 皮肤表面褶皱明显增多, 光滑程度下降, 并出现微小的间隙。随着处理时间的延长, 皮肤表面褶皱逐渐加深, 间隙明显增宽。Ber-ZnO NPs 处理组皮肤表面发生了更为明显的形态变化。该组皮肤表面出现大量褶皱, 表面光滑度显著下降, 皮肤间隙增宽, 部分区域的角质层出现翻起, 甚至发生了大面积的角质层脱落。

3 讨论

本研究通过高压均质法制备 Ber-ZnO NPs, 并对其理化性质、透皮性能及透皮机制进行了系统探讨。实验结果显示, 优化后的 Ber-ZnO NPs 具有良

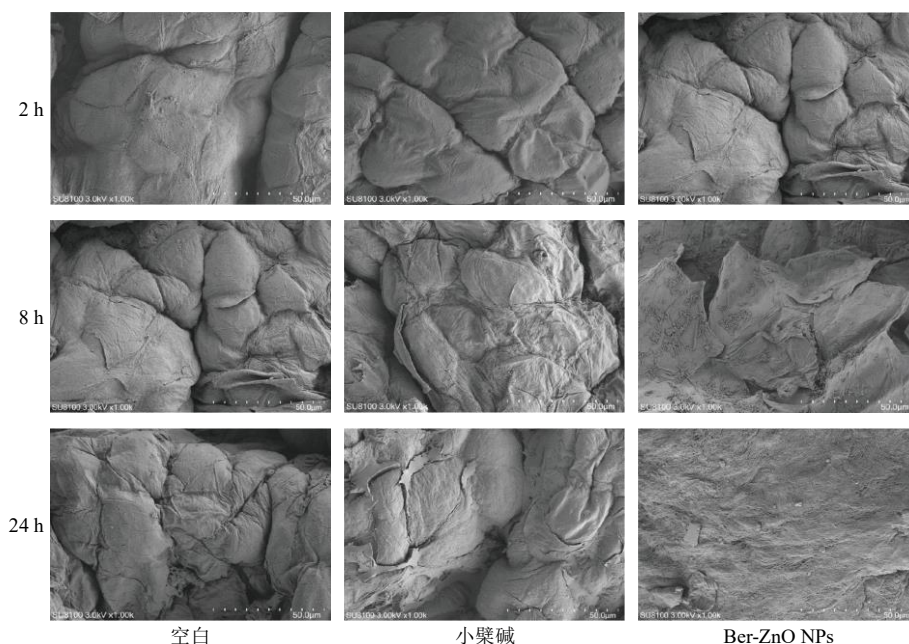


图 10 经不同处理的大鼠皮肤的 SEM 结果图

Fig. 10 SEM result images of rat skin with different treatments

好的粒径分布和分散性，其平均粒径为 (219.75 ± 0.89) nm，PDI 为 0.21 ± 0.02 ， ζ 电位为 (15.96 ± 1.63) mV。在 TEM 下 Ber-ZnO NPs 为类圆形纳米团簇状，具有典型的金属纳米结构特征。UV-Vis 分析中 Ber-ZnO NPs 保留了小檗碱的特征吸收峰，但在 422 nm 处出现轻微展宽，结合 FTIR 结果中 3547 cm^{-1} 羟基伸缩振动峰的消失，提示小檗碱通过氢键等分子间相互作用成功负载于 ZnO 纳米粒表面。此外，XRD 结果表明，Ber-ZnO NPs 在制备过程中小檗碱的结晶度显著降低，特征衍射峰强度减弱，进一步证实了小檗碱与 ZnO 之间发生了分子间相互作用。在透皮实验中，Ber-ZnO NPs 的 24 h 累积透过量为 $(1431.98 \pm 298.31) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，约为小檗碱 $(215.58 \pm 75.29) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 的 6.6 倍，显著提高了小檗碱的透皮效率。这一结果表明，Ber-ZnO NPs 有效克服了小檗碱作为亲水性小分子药物穿透角质层能力差的局限性^[27]。此外，Ber-ZnO NPs 在皮肤中的滞留量是小檗碱的 2.6 倍，提示其更易在皮肤中积聚，有助于延长药效持续时间。SEM 结果进一步验证了 Ber-ZnO NPs 对皮肤结构的影响。与空白对照相比，Ber-ZnO NPs 处理后皮肤表面出现明显褶皱、皮肤间隙增宽，表明 Ber-ZnO NPs 能够有效干扰角质层的结构，增强药物的透皮能力。这一作用可能与 Ber-ZnO NPs 较小的粒径、大比表面积以及易于黏附在皮肤表面相关，进而有效形成渗透通

道，促进药物穿透^[28]。

综上所述，Ber-ZnO NPs 作为一种纳米药物载体，在提升小檗碱透皮性能、滞留能力等方面表现出显著优势。通过 Franz 扩散池模拟和 SEM 观察，初步揭示了 Ber-ZnO NPs 促透机制，证明了 Ber-ZnO NPs 通过干扰角质层结构、形成渗透通道，从而增强药物的透皮吸收。未来，计划进一步通过差示扫描量热法 (differential scanning calorimetry, DSC) 和 FTIR 对皮肤进行表征，以更深入地探讨 Ber-ZnO NPs 对皮肤结构的影响，进一步验证透皮机制。此外，还将结合分子动力学模拟技术，尝试模拟 Ber-ZnO NPs 的经皮渗透过程，进行透皮机制的可视化研究，为优化和设计更加精准的透皮给药系统提供更多理论支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 熊致立, 王瑞, 朱晓云, 等. 黄连解毒汤对脂多糖诱导的小鼠急性肾损伤治疗作用及机制 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 853-860.
- [2] 田谷正男, 周鑫超, 顾若童, 等. 黄连须多糖降血糖活性及结构表征 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1825-1832.
- [3] 曾勇珠, 郭魏, 张裕彦, 等. 星点设计-效应面法优化 pH 值依赖型岩黄连碱口服结肠靶向纳米粒 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1935-1945.
- [4] 李多静, 邢永发, 王保和. 黄连解毒汤的药理机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(7): 275-283.

- [5] Habtemariam S. Berberine pharmacology and the gut microbiota: A hidden therapeutic link [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 155: 104722.
- [6] 邹佳, 尧章洪, 郑其祥, 等. 盐酸小檗碱对芍药苷的经皮促透规律及促透机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(22): 7412-7420.
- [7] Huang K, Lu J F, Li D L, *et al.* Au- or Ag-decorated ZnO-rod/rGO nanocomposite with enhanced room-temperature NO₂-sensing performance [J]. *Nanomaterials*, 2023, 13(16): 2370.
- [8] 赵馨雨, 王景雁, 邓莉莉, 等. 麝香酮对不同logP中药成分的经皮促透作用及其促透机制的初步研究 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(20): 5284-5290.
- [9] Feng X J, Sureda A, Jafari S, *et al.* Berberine in cardiovascular and metabolic diseases: From mechanisms to therapeutics [J]. *Theranostics*, 2019, 9(7): 1923-1951.
- [10] 管咏梅, 雷方方, 王舒慧, 等. 雷公藤甲素经皮给药制剂的研究与筛选 [J]. *中草药*, 2023, 54(10): 3093-3100.
- [11] 曹玉伟, 王文心, 杨书娟, 等. 药物经皮渗透性研究方法进展 [J]. *药学研究*, 2024, 43(7): 689-693.
- [12] Le L T, Nguyen H T, Bui H T T, *et al.* Drug release system based on a composite polycaprolactone nanofiber membrane with dual functionality of shape memory effect and antibacterial ability [J]. *RSC Adv*, 2024, 14(37): 26884-26895.
- [13] Kim S, Lee S Y, Cho H J. Berberine and zinc oxide-based nanoparticles for the chemo-photothermal therapy of lung adenocarcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(3): 765-770.
- [14] 朱煜文, 邓翔, 陈莉, 等. 波棱瓜子新型自组装纳米粒的构建及评价 [J]. *药学学报*, 2024, 59(2): 448-454.
- [15] 朱煜文, 邓翔, 陈莉, 等. 波棱瓜子自组装纳米粒的制备及其肠吸收机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(12): 3212-3219.
- [16] Chen C N, Wang Y L, Lu J X, *et al.* Hierarchical structure of pyramid Si-ZnO NRs as reliable SALDI-MS platform for trace detection of pesticide [J]. *Food Chem*, 2025, 476: 143422.
- [17] Liang W L, Cheng J L, Zhang J D, *et al.* pH-responsive on-demand alkaloids release from core-shell ZnO@ZIF-8 nanosphere for synergistic control of bacterial wilt disease [J]. *ACS Nano*, 2022, 16(2): 2762-2773.
- [18] Kim S H, Lee R, Yoon J W, *et al.* Anti-inflammatory effects of zinc oxide and berberine in rats with dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis [J]. *Animals*, 2024, 14(13): 1919.
- [19] Esnaashari F, Zamani H, Zahmatkesh H, *et al.* Berberine decorated zinc oxide loaded chitosan nanoparticles a potent anti cancer agent against breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 3185.
- [20] Baidoo I, Sarbadhikary P, Abrahamse H, *et al.* Metal-based nanoplatforams for enhancing the biomedical applications of berberine: Current progress and future directions [J]. *Nanomedicine*, 2025, 20(8): 851-868.
- [21] Ghareeb D A, Saleh S R, Seadawy M G, *et al.* Nanoparticles of ZnO/berberine complex contract COVID-19 and respiratory co-bacterial infection in addition to elimination of hydroxychloroquine toxicity [J]. *J Pharm Investig*, 2021, 51(6): 735-757.
- [22] Abomughaid M M, Nofal M S, Ghaleb K I, *et al.* ZnO-chlorogenic acid nanostructured complex inhibits COVID-19 pathogenesis and increases hydroxychloroquine efficacy [J]. *J King Saud Univ Sci*, 2022, 34(8): 102296.
- [23] Hussain A, Altamimi M A, Alshehri S, *et al.* Vesicular elastic liposomes for transdermal delivery of rifampicin: *In-vitro*, *in-vivo* and *in silico* GastroPlus™ prediction studies [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 151: 105411.
- [24] Wang H P, Li Y, Wang C Y, *et al.* The enhancing effect and promoting mechanisms of the stereoisomeric monoterpene alcohol esters as enhancers for drugs with different physicochemical properties [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2022, 17(1): 139-152.
- [25] Altamimi M A, Hussain A, Imam S S, *et al.* Transdermal delivery of isoniazid loaded elastic liposomes to control cutaneous and systemic tuberculosis [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2020, 59: 101848.
- [26] Zheng L Y, Zhao Z Y, Yang Y, *et al.* Novel skin permeation enhancers based on amino acid ester ionic liquid: Design and permeation mechanism [J]. *Int J Pharm*, 2020, 576: 119031.
- [27] Li Z W, Wang Z X, Zhou Q, *et al.* The molecular mechanisms underlying optical isomer arbutin permeating the skin: The molecular interaction between arbutin and skin components [J]. *Int J Pharm*, 2024, 664: 124584.
- [28] Gu Y W, Yang M, Tang X M, *et al.* Lipid nanoparticles loading triptolide for transdermal delivery: Mechanisms of penetration enhancement and transport properties [J]. *J Nanobiotechnol*, 2018, 16(1): 68.

[责任编辑 郑礼胜]