

· 药学研究 ·

积雪草等 3 种挥发油对盐酸氟西汀体外经皮渗透性的影响

李圣惠¹, 黄家富², 丁青龙^{2*}, 祖强¹, 李杰¹

(1.南京中医药大学药学院,江苏 南京 210023;2.中国人民解放军第 102 医院药械科,江苏 常州 213003)

摘要:**目的** 考察不同浓度积雪草、丁香、辛夷挥发油对盐酸氟西汀的体外经皮渗透作用。**方法** 采用改良 Franz 扩散池,以大鼠离体皮肤为渗透屏障,以氮酮为阳性对照,含 30% 乙醇的盐酸氟西汀溶液为阴性对照,考察不同体积分数的积雪草、丁香、辛夷挥发油对盐酸氟西汀的经皮渗透影响。通过高效液相色谱法测定药物浓度,计算盐酸氟西汀透皮吸收的累积透过量、透过速率和增渗倍数。**结果** 不同体积分数的挥发油中,以 10% 积雪草挥发油、3% 丁香挥发油、5% 辛夷挥发油经皮渗透速率最大,渗透速率分别为 74.94、207.55、152.81 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2}$ 。**结论** 10% 积雪草挥发油、3% 丁香挥发油、5% 辛夷挥发油对盐酸氟西汀经皮吸收具有显著的促进作用。

关键词: 积雪草挥发油;丁香挥发油;辛夷挥发油;盐酸氟西汀;经皮吸收

中图分类号:R94 文献标志码:A 文章编号:1672-0482(2015)03-0265-04

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2015.0265

Effects of Three Kinds of Volatile Oils on Percutaneous Transport of Fluoxetine Hydrochloride *in vitro*

LI Sheng-hui¹, HUNG Jia-fu², DING Qing-long², ZU Qiang¹, LI Jie¹

(1.School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2.Department of Drug and Equipment, Chinese PLA 102 Hospital, Changzhou, 213003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of volatile oils, which were extracted from *Centella asiatica*, *Flos caryophylli*, *Flos Magnolia*, on the transdermal absorption of fluoxetine hydrochloride *in vitro*. **METHODS** Using modified Franz diffusion cell and excised male rat skin as transdermal barrier, the effect of volatile oils on permeation degree of fluoxetine hydrochloride from different concentration was compared with 3% azone and negative control group without penetration. The concentration of fluoxetine hydrochloride was determined by HPLC. Accumulative velocity constant and enhancing rate of fluoxetine hydrochloride were calculated. **RESULTS** The penetration rates (J) of 10% volatile oil in *Centella asiatica*, 3% volatile oil in *Flos caryophylli*, and 5% volatile oil in *Flos Magnolia* were 74.94, 207.55, 152.81 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2}$, respectively, which were the largest among the different concentration of volatile oils. **CONCLUSION** The 10% volatile oil of *Centella asiatica*, 3% volatile oil in *Flos caryophylli*, 5% volatile oil in *Flos Magnolia* could enhance penetration of fluoxetine hydrochloride obviously.

KEY WORDS: volatile oil of *Centella asiatica*; volatile oil of *Flos caryophylli*; volatile oil in *Flos Magnolia*; fluoxetine hydrochloride; transdermic absorption

盐酸氟西汀(Fluoxetine hydrochloride)是一种 5-羟色胺(5-HT)重摄取抑制剂,通过选择性的抑制中枢神经突触前膜 5-羟色胺的重摄取而改善抑郁和自主神经症状。该药适合于各种类型的抑郁症治疗^[1]。口服盐酸氟西汀最常见的胃肠道不良反应:口干、恶心、食欲下降、消化不良,由于抑郁症属于情感性精神障碍疾病,具有高自杀率的特点,患者相对较特殊,口服给药具有一定的困难,透皮给药系统是治疗长期性与慢性疾病的简单、方便和行之有效的

第 3 代新型制剂,具有副作用小、减小血药浓度波动、避免胃肠刺激等优点。

皮肤角质层的屏障作用是药物透过皮肤的最大障碍,因此寻找促进药物透过皮肤的透皮促渗剂成为目前经皮给药制剂研究的热点。有研究将氮酮作为盐酸氟西汀经皮给药的促渗剂^[2],但 Kastu 等人研究表明氮酮及其甲基衍生物与红细胞作用时可引起溶血^[3]。近年来天然来源的中草药挥发油类以促渗作用强,起效快,副作用小等优点备受关注^[4]。积

收稿日期:2014-12-23;修稿日期:2015-01-09

基金项目:江苏省“青蓝工程”创新团队支持计划资助

作者简介:李圣惠(1988—),女,山东潍坊人,南京中医药大学 2012 级硕士研究生。* 通信作者:102dql@163.com

雪草挥发油具有抗抑郁作用^[5],但是其经皮渗透性尚未见报道,因此研究积雪草挥发油的经皮渗透性,并与盐酸氟西汀合用,可以起到“药辅合一”的作用。有文献报道丁香、辛夷挥发油对多种成分有显著的促渗作用^[4,6],本研究选择了具有较好促渗作用的丁香、辛夷挥发油考察对盐酸氟西汀的促渗效果,并以氮酮为阳性对照,以期开发更为有效的盐酸氟西汀透皮吸收促进剂。

1 材料

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪(Waters 公司,美国);TGL-18C-C 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);CPA225D 电子分析天平(德国 Sartorius 公司);DF-101 型;TP-24D 型透皮仪(上海锴凯科技有限公司)。

1.2 材料

盐酸氟西汀(上海华理生物医药有限公司,批号:20130912),甲醇(色谱纯),无水乙醇(分析纯),氮酮(国药集团化学试剂有限公司)。积雪草为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 的干燥全草,丁香为桃金娘科植物丁香 (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) 的干燥花蕾,辛夷为木兰科植物玉兰 *Magnolia denudata* Desr. 的干燥花蕾。

1.3 动物

SD 大鼠 180~220 g,雄性,苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司,许可证号:SCXK(苏)2014-0007。

2 方法与结果

2.1 分析方法的建立

2.1.1 HPLC 测定盐酸氟西汀含量方法的建立

色谱柱:Benetnach- C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-0.25 mol/L 磷酸二氢钾(70:30)调节 pH 为 3.0;流速:0.8 mL/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;检测波长:226 nm;进样量 10 μ L。

2.1.2 标准曲线的制备 精密称取盐酸氟西汀对照品 25 mg,配成 1 mg/mL 的母液,精密吸取 5、25、125、250、500 μ L,1、1.5、2.5 mL 母液于 5 mL 容量瓶中,蒸馏水定容至刻度,配成浓度为 1、5、25、50、100、200、300、500 μ g/mL 的溶液,按 2.1 项下的色谱条件进行分析。以药物浓度 C (μ g/mL) 对峰面积 A 的线性方程为 $A = 25\,333C + 21\,815$, $r^2 = 0.999\,9$,线性范围 1~500 μ g/mL。高、中、低 3 浓度的平均回收率分别为 99.19%, 96.03%, 97.99%。日内

精密度 $RSD \leq 0.58\%$ ($n = 6$), 日间精密度 $RSD \leq 0.38\%$ ($n = 6$), 稳定性 $RSD = 0.96\%$ ($n = 6$), 重复性 $RSD = 0.88\%$ ($n = 6$)。

2.2 挥发油的提取

积雪草挥发油采用水蒸气蒸馏法得到具有特殊浓郁芳香的黄色透明油状液体,收率为 0.1%。丁香挥发油采用水蒸气蒸馏得到芳香的透明油状液体,收率为 4.6%。辛夷挥发油经水蒸气蒸馏得到淡黄色的油状液体,收率为 2.1%。

2.3 盐酸氟西汀的体外经皮渗透实验

2.3.1 离体皮肤的制备^[7] 将雄性大鼠 180~220 g 腹部毛用动物剃毛器剃干净,断颈处死,立即剪取腹部皮肤,将取下的皮肤平铺于干净的玻璃板上,角质层朝下,仔细剥离皮下脂肪层和结缔组织,用生理盐水反复冲洗干净,置于生理盐水浸润鼠皮,于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用,于 1 周内进行实验,实验前自然解冻,每次实验前检查鼠皮的完整性,不能有任何破损。

2.3.2 供试液的制备 称取一定量的盐酸氟西汀溶于含 30% 乙醇的 pH 7.4 的 PBS 中,取此溶液分别加入不同浓度的积雪草挥发油、丁香挥发油、辛夷挥发油及氮酮,制备成供试液(见表 1)。以含 30% 乙醇的氟西汀 PBS 溶液为阴性对照组,调整药物最终浓度为 5 mg/mL,实验时取 0.5 mL 放入供给池进行透皮扩散实验。

表 1 含不同促渗剂的供试液

分组	浓度/%
氮酮	1、3、5
积雪草挥发油	3、5、10
丁香挥发油	1、3、5、10
辛夷挥发油	1、3、5、10

2.3.3 体外透皮实验 将鼠皮固定在 Franz 扩散池上,角质层朝上,供体池中加入 0.5 mL 供试液溶液,接收池加入空白接收液(蒸馏水),维持整个系统 32 $^{\circ}$ C,搅拌速度设为 500 r/min,在设定时间(1、2、4、6、8、10、12 h)从接收池内取样 0.3 mL,同时补入接受液 0.3 mL,将样品高速 12 000 r/min 离心 5 min,取上清液注入高效液相色谱仪,测定药物浓度。并按下列公式计算累积渗透量 Q 。

$$Q = (C_n \times V + V_0 \times \sum_{i=1}^{n-1} C_i) / A$$

式中, C_n : 第 n 个取样点测得的药物浓度; C_i : 第 i 个取样点测得的药物浓度; A : 渗透面积(cm^2);

V :接受池体积(mL); V_0 :取样体积(mL),以累积渗透量 Q 对时间 t 进行线性回归,根据直线方程可以求出渗透速率 J ,增渗比 ER 以阴性对照组的渗透速率为参比而得。

2.3.4 阳性促渗剂氮酮最佳浓度的筛选 由图 1、表 2 可知,不同浓度的氮酮 12 h 累积渗透量 Q_{12} 大

表 2 氮酮对盐酸氟西汀透皮吸收的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	$Q_{12}/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	$Q_n-t^{1/2}$ 方程	R^2	$J/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2})$	ER
阴性对照组	26.44 ± 1.88	$Q=8.07t^{1/2}-0.027$	0.966 7	8.07	—
1%氮酮	$147.40 \pm 43.00^{**}$	$Q=52.40t^{1/2}-20.46$	0.912 2	52.40^{**}	6.49
3%氮酮	$186.82 \pm 16.21^{**}$	$Q=66.13t^{1/2}-29.09$	0.956 6	66.13^{**}	8.19
5%氮酮	$163.77 \pm 21.85^{**}$	$Q=65.11t^{1/2}-49.44$	0.965 0	65.11^{**}	8.07

注:与阴性对照组比较, ** $P<0.01$ 。

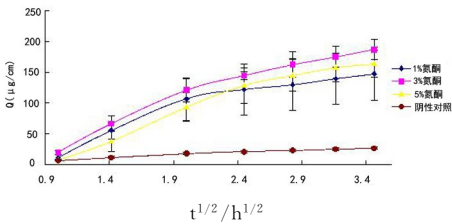


图 1 氮酮对盐酸氟西汀的经皮渗透曲线

2.3.5 积雪草挥发油对盐酸氟西汀的促渗作用 由图 2、表 3 可见,渗透速率大小为 10%积雪草挥发油>3%氮酮>5%积雪草挥发油>3%积雪草挥发油>阴性对照组。在 3%~10%范围内,积雪草挥发油对盐酸氟西汀的促渗作用随着挥发油浓度的增大而增大,3%的积雪草挥发油稳态渗透速率是阴性对照组的 3.36 倍,但小于 3%氮酮,当挥发油浓度达到

表 3 积雪草挥发油对盐酸氟西汀的促渗参数($\bar{x} \pm s$)

促渗剂	$Q_{12}/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	$Q_n-t^{1/2}$ 方程	R^2	$J/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2})$	ER
阴性对照组	26.44 ± 1.88	$Q=8.07t^{1/2}-0.027$	0.966 7	8.07	—
3%氮酮	$186.82 \pm 16.21^{**}$	$Q=66.13t^{1/2}-29.09$	0.956 6	66.13^{**}	8.19
3%积雪草挥发油	$69.06 \pm 19.12^{**}$	$Q=29.28t^{1/2}-26.59$	0.955 8	29.28^{**}	3.63
5%积雪草挥发油	$160.87 \pm 30.86^{**}$	$Q=65.77t^{1/2}-80.98$	0.935 2	65.77^{**}	8.15
10%积雪草挥发油	$200.46 \pm 18.23^{**}$	$Q=74.94t^{1/2}-57.21$	0.955 7	74.94^{**}	9.29

注:与阴性对照组比较, ** $P<0.01$ 。

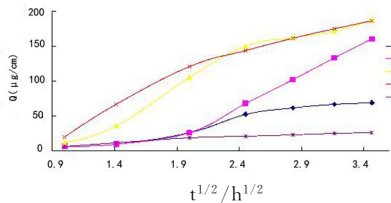


图 2 积雪草挥发油对盐酸氟西汀的经皮渗透曲线

2.3.7 辛夷挥发油对盐酸氟西汀的促渗作用 由图 4、表 5 可见,渗透速率大小为 5%辛夷挥发油>3%辛夷挥发油>1%辛夷挥发油>10%辛夷挥发油>3%氮酮>阴性对照组。4 种浓度的辛夷挥发油 12 h

小为 3%氮酮>5%氮酮>1%氮酮>阴性对照。与阴性对照组比较,3 种浓度的氮酮对盐酸氟西汀有显著的促渗作用($P<0.01$),渗透速率 J 分别为 52.40 、 66.13 、 $65.11 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2}$ 。3%氮酮具有最大的累积渗透量及渗透速率,因为选择 3%氮酮作为阳性对照。

5%时,其渗透速率(J)和累积渗透量(Q)与 3%氮酮无差异($P>0.05$),10%积雪草挥发油 12 h 累积透过量 Q_{12} 与渗透速率均大于 3%氮酮,说明 10%积雪草挥发油对盐酸氟西汀具有较强的促渗作用。

2.3.6 丁香挥发油对盐酸氟西汀的促渗作用 由图 3、表 4 可见,渗透速率大小为 3%丁香挥发油>1%丁香挥发油>5%丁香挥发油>10%丁香挥发油>3%氮酮>阴性对照组。4 种浓度的丁香挥发油 12 h 累积透过量及渗透速率显著高于 3%氮酮($P<0.01$),说明丁香挥发油对盐酸氟西汀具有较强的促渗作用。其中,3%丁香挥发油的渗透速率分别是 3%氮酮、阴性对照组的 3.13 倍、25.71 倍,具有最大的渗透速率及累积渗透量。

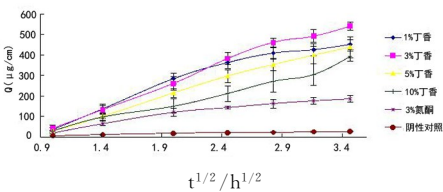


图 3 丁香挥发油对盐酸氟西汀的经皮渗透曲线

累积透过量及渗透速率显著高于 3%氮酮($P<0.01$),1%~5%辛夷挥发油随着挥发油浓度的增大,促渗作用增大,其中,5%辛夷挥发油具有最大的渗透速率及累积渗透量。

表 4 丁香挥发油对盐酸氟西汀的透皮吸收影响($\bar{x} \pm s$)

促渗剂	$Q_{12}/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	$Q_n-t^{1/2}$ 方程	R^2	$J/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2})$	ER
阴性对照	26.44 ± 1.88	$Q = 8.07t^{1/2} - 0.027$	0.966 7	8.07	—
3%氮酮	$186.82 \pm 16.21^{**}$	$Q = 66.13t^{1/2} - 29.09$	0.956 6	66.13^{**}	8.19
1%丁香挥发油	$450.89 \pm 24.74^{**}$	$Q = 169.96t^{1/2} - 94.10$	0.949 7	169.96^{**}	21.06
3%丁香挥发油	$540.72 \pm 19.36^{**}$	$Q = 207.55t^{1/2} - 153.61$	0.989 0	207.55^{**}	25.71
5%丁香挥发油	$436.69 \pm 52.05^{**}$	$Q = 167.55t^{1/2} - 129.31$	0.995 2	167.55^{**}	20.76
10%丁香挥发油	$393.02 \pm 24.96^{**}$	$Q = 135.28t^{1/2} - 105.87$	0.978 2	135.28^{**}	16.76

注:与阴性对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

表 5 辛夷挥发油对盐酸氟西汀的透皮吸收的影响($\bar{x} \pm s$)

促渗剂	$Q_{12}/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$	$Q_n-t^{1/2}$ 方程	R^2	$J/(\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1/2})$	ER
阴性对照组	26.44 ± 1.88	$Q = 8.07t^{1/2} - 0.027$	0.966 7	8.07	—
3%氮酮	186.82 ± 16.21	$Q = 66.13t^{1/2} - 29.09$	0.956 6	66.13^{**}	8.19
1%辛夷挥发油	402.72 ± 64.31	$Q = 149.54t^{1/2} - 83.53$	0.917 7	149.54^{**}	18.53
3%辛夷挥发油	414.95 ± 48.13	$Q = 150.85t^{1/2} - 60.59$	0.920 0	150.85^{**}	18.69
5%辛夷挥发油	464.02 ± 48.02	$Q = 152.81t^{1/2} - 16.24$	0.929 9	152.81^{**}	18.94
10%辛夷挥发油	335.23 ± 60.39	$Q = 101.68t^{1/2} - 9.84$	0.936 1	101.68^{**}	12.60

注:与阴性对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

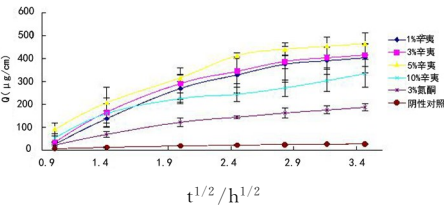


图 4 辛夷挥发油对盐酸氟西汀的经皮渗透曲线

3 讨论

前期研究表明盐酸氟西汀在蒸馏水中的溶解度为 16.6 mg/mL,亲水性强,难以透过皮肤角质层,由于盐酸氟西汀为弱碱性药物,随着 pH 的增加,溶解度减小,亲水性降低,故实验选择 pH 7.4 的 PBS 加 30%乙醇作为盐酸氟西汀的溶剂。

研究表明,积雪草挥发油具有明显的抗抑郁作用,秦路平等研究表明,积雪草挥发油对利血平引起的大鼠眼睑下垂和体温下降具有明显的拮抗作用,而且还可明显缩短电刺激小鼠角膜引起的最长持续不动状态时间,说明积雪草挥发油具有抗抑郁作用^[5]。本实验以积雪草挥发油作为促渗剂,研究其对抗抑郁药物盐酸氟西汀的经皮渗透性,结果表明 10%积雪草挥发油具有显著的促渗作用,因此,在盐酸氟西汀经皮给药系统中以积雪草挥发油作为促渗剂不仅能促进药物吸收,还有可能产生协同增效作用,从而有助于药效的发挥和疗效的提升。

参考文献:

[1] 祁雪丹,屠树滋,王秋娟.治疗抑郁症药物的研究进展[J].中国新

药杂志,2003,12(10):810-816.
Qi XD, Tu SZ, Wang QJ. Research progress of antidepressant [J]. Chin J New Drug, 2003,12(10): 810-816.
[2] 杨鹏,丁雪鹰,高静,等.透皮促进剂对盐酸氟西汀经皮渗透性的影响[J].中国第二军医大学学报,2007,28(11):1252-1254.
Yang P, Ding XY, Gao J, et al. Effects of penetration enhancers on skin permeation behavior of fluoxetine hydrochloride *in vitro* [J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(11):1252-1254.
[3] Kastu T, Kuroko M, Sanchika K, et al. Interaction of 1-dodecyl-lazacycloh eptan-2-one(Azone) with erythroeyte membrane[J]. Inte J Pharm, 1989, 53(1): 61.
[4] 李莉,韩国柱.中药挥发油类透皮吸收促进作用研究进展[J].中国新药杂志,2008,17(11):941-946.
Li L, Han GZ. Advances in the volatile oils from traditional Chinese medicine as transdermal absorption enhancers[J]. Chin J New Drug, 2008, 17(11):941-946.
[5] 秦路平,丁如贤,张卫东,等.积雪草挥发油成分分析及其抗抑郁作用研究[J].第二军医大学学报,1998, 19(2):186-187.
Qin LP, Ding RX, Zhang WD, et al. Component analysis and antidepressant effect of Centella volatile oil[J]. Acad J Second Milit Med Univ, 1998, 19(2): 186-187.
[6] 单玲玲,靳光乾,王平,等.中药透皮吸收促进剂研究[J].辽宁中医药大学学报,2013,5(15):112-114.
Shan LL, Jin GQ, Wang P, et al. Research of Traditional Chinese Medicine Transdermal Enhancers[J]. J Liaoning Univ Chin Med, 2013, 5(15): 112-114.
[7] 李玲,李祖伦,何宇新.不同促渗剂对川白芷中欧前胡素透皮吸收的影响[J].中成药,2009, 31(4):627-629.
Li L, Li ZL, He YX. Effects of different penetration enhancers on percutaneous absorption of Angelica imperatorin. [J]. Chin Tradit Pat Med, 2009, 31(4): 627-629.

(编辑:董宇)