

· 药剂与炮制 ·

运用熵权模糊综合评判模型评价几种促透剂的作用效果

段为彬, 王晖*

(广东药科大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:考察熵权模糊综合评判模型对促透剂促透效果评价的可行性,为促透剂评价提供可靠的方法。方法:以双氯芬酸钠为模型药物,氮酮、陈皮挥发油、桉叶油、薄荷醇和冰片为促透剂,以离体 SD 大鼠皮肤为透皮屏障,在改良的 Franz 扩散池上进行透皮试验。采用 HPLC 测定接收液中双氯芬酸钠含量,流动相甲醇-水-冰乙酸(80:20:0.5),检测波长 276 nm,计算渗透系数、稳态流量、滞后时间、增渗倍数,运用熵权模糊综合评判模型对各促透剂的作用进行评价。结果:各组促透剂对双氯芬酸钠均有不同效果的促透作用,其中氮酮、薄荷醇和冰片表现为优,最大隶属度分别为 0.761 1、0.582 1 和 0.495 4;陈皮挥发油和桉叶油表现为良,最大隶属度分别为 0.454 2 和 0.480 9。结论:熵权模糊综合评判模型可对中药促透剂的促透效果进行客观、清晰的评价。

[关键词] 熵权模糊评判模型;促透剂;离体试验;经皮给药;双氯芬酸钠;陈皮

[中图分类号] R283.6;R945;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)10-0001-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016100001

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160331.1449.016.html>

[网络出版时间] 2016-03-31 14:49

Investigation of Promoting Effects of Some Penetration Enhancers by Entropy Weight Fuzzy Comprehensive Evaluation Model

DUAN Wei-bin, WANG Hui*

(School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate whether entropy weight fuzzy comprehensive evaluation method is feasible for study on promoting effects of some kinds of penetration enhancers and to provide a reliable evaluation method for penetration enhancers. **Method:** Diclofenac sodium was used as model drug, azone, volatile oil from Citri Reticulatae Pericarpium, eucalyptus oil, menthol and borneol were tested as transdermal enhancers, taking isolated skin of SD rats as transdermal barrier, transdermal experiments were carried by a modified Franz diffusion cell. The content of diclofenac sodium was measured by HPLC with mobile phase of methanol-water-acetic acid (80:20:0.5) and detection wavelength at 276 nm. Permeability coefficient, lag time, steady flow and enhancement ratio were calculated. Effects of penetration enhancers were evaluated by entropy weight fuzzy comprehensive evaluation method. **Result:** Penetration enhancers had penetration enhancing effect on diclofenac sodium with different degrees. Azone, menthol and borneol had the best significant promoting effects whose maximum memberships were 0.761 1, 0.582 1 and 0.495 4; volatile oil from Citri Reticulatae Pericarpium and eucalyptus oil had certain promoting effects whose maximum memberships were 0.454 2 and 0.480 9. **Conclusion:** Entropy weight fuzzy comprehensive evaluation method is feasible for evaluating promoting effects of penetration

[收稿日期] 20150720(002)

[基金项目] 广东省科技计划项目(2012B060300030)

[第一作者] 段为彬,在读硕士,从事中药药理学研究,E-mail:duanweibin928@163.com

[通讯作者] *王晖,硕士,教授,从事皮肤药理学研究和数学药理学研究,Tel:020-39352880,E-mail:gdwanghui2006@126.com

enhancers.

[Key words] entropy weight fuzzy comprehensive evaluation method; penetration enhancer; *in vitro* experiments; transdermal administration; diclofenac sodium; Citri Reticulatae Pericarpium

随着药物透皮动力学理论的发展,许多学者开展了经皮给药的研究。但因皮肤角质层具有屏障作用,有些药物不能顺利进入皮肤,从而达不到有效的治疗浓度^[1]。加入透皮吸收促进剂是最常用的改善药物透皮吸收效果的方法之一,许多皮肤用药制剂中加入了化学促透剂,对皮肤具有一定的毒副作用,因此从传统中药中筛选有效的促透剂具有重要意义。已有研究表明中药挥发油及单萜类化合物大多具有良好的透皮吸收促进效果^[2-3],本实验以氮酮为对照,探索陈皮挥发油、桉叶油、薄荷醇、冰片对模型药物双氯芬酸钠透皮行为的影响。

对促透剂促透效果的评价主要指标有渗透系数、稳态流量、滞后时间、增渗倍数等,由于单指标评价具有界限明显的量化标准,难以对促透剂作出准确可靠的评价。因此,将多种指标综合起来评价是目前研究的热点之一,如主成分分析法^[4]、模糊综合评价法^[5]、模糊物元模型评价法^[6]、灰关联聚类法^[7]等,但这些评价方法中指标的权重大多是估算的,受人为主观因素影响较大。本实验利用熵权法结合模糊数学来确定各评价指标的权重系数,以期为促透剂的筛选提供参考,也为促透剂的评价提供新思路。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津)。双氯芬酸钠(广州菲博生物科技有限公司,质量分数 >99%),氮酮(北京贝丽莱斯生物化学有限公司),薄荷醇、冰片(上海晶纯生化科技股份有限公司),桉叶油(上海森斐化学品有限公司),陈皮挥发油(自制),陈皮(广东汇群中药饮片股份有限公司,产地广东,经广东药学院中药学院李书渊教授鉴定,符合 2015 年版《中国药典》一部相关项下规定^[8]),双氯芬酸钠对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100334-200302),水为超纯水,甲醇、冰乙酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

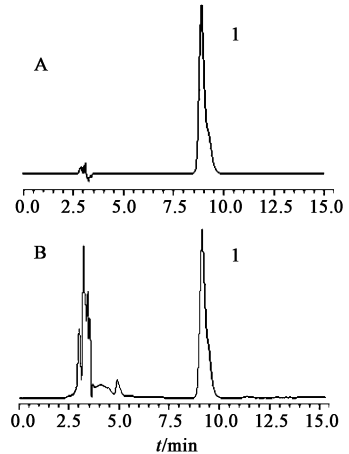
SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体重 180 ~ 220 g,由广州中医药大学动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2013-0020。

2 方法与结果

2.1 皮肤接收液中双氯芬酸钠的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取双氯芬酸钠对照品 50 mg 于 50 mL 量瓶中,加水定容,作为母液。

2.1.2 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-冰乙酸(80:20:0.5),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 276 nm,柱温为室温,进样量 20 μL。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 双氯芬酸钠

图 1 双氯芬酸钠透皮接收液 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of transdermal receiving fluid of diclofenac sodium

2.1.3 标准曲线的制备 精密量取双氯芬酸钠母液 5, 10, 20, 50, 100, 500 μL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加水定容,得系列对照品溶液,按 2.1.2 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 26\ 076.88X - 16\ 993.74$ ($R^2 = 0.9996$),线性范围 0.5 ~ 50 mg·L⁻¹。

2.1.4 精密度试验 精密量取双氯芬酸钠母液适量,加水稀释成质量浓度为 0.015, 0.01, 0.005 g·L⁻¹ 的溶液。1 d 内分别进样 6 次,按 2.1.2 项下色谱条件测定,计算峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 0.8%, 0.5%, 表明日内精密度良好;4 d 内分别每天进样 1 次,计算峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 0.8%, 0.8%, 表明日间精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 将同一供试品溶液分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 按 2.1.2 项下色谱条件测定,计算峰面积的 RSD 0.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.6 加样回收率试验 分别精密吸取 1.0 g·L⁻¹ 双氯芬酸钠对照品溶液 0.05, 0.10, 0.15 mL, 各 3 份,分别置于 10 mL 量瓶中,精密吸取 9 份供试液(双氯芬酸钠质量浓度 0.1012 g·L⁻¹)加入量瓶中,

每份 1.0 mL, 分别加水稀释至刻度, 按 2.1.2 项下色谱条件测定, 计算平均加样回收率 101.53%, RSD 3.9%。

2.2 离体皮肤的制备 小心剃除大鼠背部毛发, 24 h 后剥下皮肤, 除去皮下脂肪, 用生理盐水冲洗皮肤, 直至无浑浊产生。

2.3 透皮试验 释放液以 60% 乙醇为溶剂配制。A 组为空白组(不加促透剂), B 组含 1% 氮酮, C 组含 1% 陈皮挥发油, D 组含 1% 桉叶油, E 组含 1% 薄荷醇, F 组含 1% 冰片, 每组均含双氯芬酸钠质量分数 1%。接收池中的接收液均为生理盐水。将大鼠皮肤固定于双室透皮扩散装置上, 扩散池中加入释放液 0.1 mL, 接收池中加入生理盐水 5 mL, 恒温振荡器温度调至 32 °C, 振速设定 120 r·min⁻¹, 扩散面积 0.502 cm²。分别在 2, 4, 8, 12, 24 h 吸取接收液

4.0 mL, 同时补加等量等温接收液。吸取的接收液经过滤处理, 按 2.1.2 项下色谱条件测定, 计算双氯芬酸钠的累积渗透量(Q)^[9]。

$$Q = \frac{VC_n + V' \sum_{i=1}^{n-1} C_i}{A}$$

式中 C_n 为 n 时间点的药物质量浓度, C_i 为 i 时间点的药物质量浓度, V 为接收液体积, V' 为取样量, A 为扩散渗透面积。将 Q 对时间 t 进行线性回归拟合^[10], 得方程 $Q = J_{ss}t - J_{ss} \times T_{lag}$, 此直线斜率即为稳态流量(J_{ss}), T_{lag} 为滞后时间。药物渗透系数(K_p) = J_{ss}/C , C 为释放池中药物质量浓度。增渗倍数(ER) = K_p/K_{p0} , K_{p0} 为药物的固有渗透系数, 即空白组的 K_p ^[11]。各促透剂对双氯芬酸钠渗透效果的影响见表 1, 2。

表 1 促透剂对双氯芬酸钠累积渗透量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 促透剂 | 2 h | 4 h | 8 h | 12 h | 24 h |
|----|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| A | 空白 | 82.2 ± 12.1 | 88.1 ± 14.7 | 145.0 ± 21.6 | 190.1 ± 18.7 | 296.7 ± 21.5 |
| B | 1% 氮酮 | 117.7 ± 12.2 | 124.1 ± 14.6 | 171.6 ± 20.8 | 509.2 ± 16.9 | 718.6 ± 18.6 |
| C | 1% 陈皮挥发油 | 139.2 ± 14.6 | 274.0 ± 13.8 | 318.4 ± 17.1 | 501.2 ± 23.6 | 756.0 ± 27.8 |
| D | 1% 桉叶油 | 60.7 ± 13.1 | 131.0 ± 15.3 | 222.5 ± 21.6 | 315.1 ± 26.4 | 557.7 ± 32.6 |
| E | 1% 薄荷醇 | 145.8 ± 11.6 | 268.6 ± 17.3 | 383.3 ± 19.4 | 590.2 ± 21.8 | 819.4 ± 27.4 |
| F | 1% 冰片 | 84.5 ± 15.1 | 177.5 ± 15.7 | 340.6 ± 19.3 | 496.6 ± 23.5 | 738.3 ± 28.3 |

表 2 促透剂对双氯芬酸钠透皮吸收参数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 促透剂 | $J_{ss}/\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ | $K_p \times 10^{-3}/\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$ | ER | T_{lag}/h |
|----------|---|--|---------|--------------------|
| 空白 | 10.08 ± 1.02 | 1.01 ± 0.10 | 1.000 0 | 5.952 ± 0.400 |
| 1% 氮酮 | 28.80 ± 2.91 | 2.88 ± 0.44 | 2.851 5 | 0.963 ± 0.212 |
| 1% 陈皮挥发油 | 26.53 ± 2.91 | 2.65 ± 0.29 | 2.623 8 | 5.466 ± 0.372 |
| 1% 桉叶油 | 22.11 ± 1.78 | 2.21 ± 0.18 | 2.188 1 | 1.462 ± 0.519 |
| 1% 薄荷醇 | 29.95 ± 3.45 | 3.00 ± 0.35 | 2.970 3 | 4.735 ± 0.214 |
| 1% 冰片 | 29.30 ± 1.94 | 2.93 ± 0.19 | 2.901 0 | 2.543 ± 0.481 |

2.4 熵权模糊评判模型对促透剂作用的评价

2.4.1 模糊评判矩阵的确定^[12] 设评价指标集为 $U = \{U_1, U_2, U_3\}$, $U_1 = K_p$, $U_2 = ER$, $U_3 = T_{lag}$; 设评语集为 $V = \{V_1, V_2, V_3, V_4, V_5\}$, V_1 为优, V_2 为良, V_3 为中, V_4 为一般, V_5 为差^[13]。根据表 2 结果, 设空白组的 K_p, ER, T_{lag} 数值等级为一般, 同指标中的最大值减去最小值后除以 3, 再加最小值的标准差即得到数值, 等级一般值加上(或减去)此数值, 即得到优、良、中、一般、差的数值, 见表 3。

选择梯型模型分布隶属函数 $r_{(x)}$, 从而确保各组模糊评判矩阵 R 有合适的隶属函数。

表 3 透皮吸收参数的等级标准

| 指标 | 优 | 良 | 中 | 一般 | 差 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|
| K_p | 3.29 | 2.53 | 1.77 | 1.01 | 0.25 |
| ER | 2.970 4 | 2.313 6 | 1.656 8 | 1.000 0 | 0.343 2 |
| T_{lag} | 0.327 | 2.202 | 4.077 | 5.952 | 7.827 |

$$r_x = \begin{cases} 0, & (x \leq m) \\ (x - n) / (m - n), & (n \leq x \leq m) \\ (m - x) / (m - n), & (n \leq x \leq m) \\ 0, & (x \geq n) \end{cases}$$

式中 x 为不同促透剂的不同指标值, m, n 分别为不同指标等级的上、下限。对不同促透剂的各指标按上式计算, 得各组的评价矩阵 R 。

$$R_B = \begin{bmatrix} 0.460 & 0.539 & 0 & 0 & 0 \\ 0.819 & 0.181 & 0 & 0 & 0 \\ 0.339 & 0.660 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

$$R_C = \begin{bmatrix} 0.179 & 0.820 & 0 & 0 & 0 \\ 0.472 & 0.527 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.740 & 0.259 & 0 \end{bmatrix}$$

$$R_D = \begin{bmatrix} 0 & 0.578 & 0.421 & 0 & 0 \\ 0 & 0.808 & 0.191 & 0 & 0 \\ 0.605 & 0.394 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

$$R_E = \begin{bmatrix} 0.618 & 0.381 & 0 & 0 & 0 \\ 0.999 & 0.000 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.350 & 0.649 & 0 \end{bmatrix}$$

$$R_F = \begin{bmatrix} 0.526 & 0.473 & 0 & 0 & 0 \\ 0.894 & 0.105 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.181 & 0.818 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

2.4.2 熵权法确定评价指标的权重系数^[9] 在具有 p 个评价指标, q 个评价标准的系统中, 根据定性和定量的原则得到矩阵 R 。第 i 个指标的熵定义为 H_i , 定义了第 i 个指标的熵后, 可得到其熵权 W_i 。

$$R = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1q} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2q} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ x_{p1} & x_{p2} & \cdots & x_{pq} \end{bmatrix}$$

$$H_i = \frac{-\sum_{j=1}^q f_{ij} \ln f_{ij}}{\ln 3} \quad (i = 1, 2, \dots, p)$$

$$f_{ij} = \frac{1 + x_{ij}}{\sum_{j=1}^q (1 + x_{ij})} \quad (i = 1, 2, \dots, p; j = 1, 2, \dots, q)$$

$$W_i = \frac{1 - H_i}{q - \sum_{i=1}^p H_i}$$

式中 $0 \leq W_i \leq 1, \sum_{i=1}^p W_i = 1$, 根据熵权法计算不同促透剂各评价标准的权重系数, 见表 4。

2.4.3 熵权-模糊综合评判分析^[14] 按熵权法确定权重系数, 得各评判因素的权重分配 $W = [W_1, W_2, \dots, W_n]$, 通过模糊变换, 可得到论域上的一个模糊子集, 即综合评判结果为 $B = W \circ R = [b_1, b_2, \dots,$

表 4 不同促透剂各评价标准的权重系数

Table 4 Weight coefficients of each penetration index for different penetration enhancer

| 促透剂 | 参数 | 优 | 良 | 中 | 一般 | 差 |
|----------|----|---------|---------|---------|---------|---|
| 1% 氮酮 | 熵值 | 0.992 1 | 0.991 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 权重 | 0.470 2 | 0.529 8 | 0 | 0 | 0 |
| 1% 陈皮挥发油 | 熵值 | 0.988 4 | 0.974 0 | 0.966 0 | 0.994 4 | 1 |
| | 权重 | 0.150 3 | 0.336 8 | 0.440 4 | 0.072 5 | 0 |
| 1% 桉叶油 | 熵值 | 0.975 5 | 0.994 9 | 0.990 7 | 1 | 1 |
| | 权重 | 0.238 1 | 0.269 8 | 0.492 1 | 0 | 0 |
| 1% 薄荷醇 | 熵值 | 0.965 9 | 0.976 5 | 0.990 3 | 0.972 5 | 1 |
| | 权重 | 0.357 9 | 0.247 9 | 0.102 3 | 0.290 1 | 0 |
| 1% 冰片 | 熵值 | 0.970 8 | 0.992 9 | 0.960 4 | 1 | 1 |
| | 权重 | 0.384 7 | 0.093 5 | 0.521 4 | 0 | 0 |

$b_m]$, 式中 \circ 为模糊加权平均合成算子, 即 $M(\cdot, \oplus)$ 算子, 各组促透剂对双氯芬酸钠促透作用归属见表 5。根据最大隶属度原则, 取评语集所对应的评语, 结果 1% 氮酮, 1% 陈皮挥发油, 1% 桉叶油, 1% 薄荷醇, 1% 冰片对双氯芬酸钠促透作用的评语分别为优、良、良、优、优; 最大隶属度依次为 0.761 1, 0.454 2, 0.480 9, 0.582 1, 0.495 4。表明各促透剂对双氯芬酸钠都有不同效果的促透作用。

表 5 各组促透剂对双氯芬酸钠促透作用的归属

Table 5 Attribution of each penetration enhancer on penetration index of diclofenac sodium

| 等级 | 1% 氮酮 | 1% 陈皮挥发油 | 1% 桉叶油 | 1% 薄荷醇 | 1% 冰片 |
|----|---------|----------|---------|---------|---------|
| 优 | 0.761 1 | 0.097 9 | 0.144 1 | 0.582 1 | 0.495 4 |
| 良 | 0.684 9 | 0.454 2 | 0.480 9 | 0.094 5 | 0.071 2 |
| 中 | 0 | 0.326 2 | 0.301 3 | 0.035 9 | 0.422 6 |
| 一般 | 0 | 0.018 8 | 0 | 0.188 3 | 0 |
| 差 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

3 讨论

中药促透剂与现有的化学促透剂相比, 促透效果更好、刺激性更小, 在经皮给药研究中具有广阔的应用前景。由于中药促透剂种类繁多, 运用科学的方法为模型药物选择合适的促透剂就显得非常重要。本文把信息论中熵值论用于促透剂作用的评价, 克服了以往评价指标权重确定的主观随意性, 增加了权重的可信性, 增强了评价结果的准确性和客观性。将熵权论和模糊数学概念结合起来, 通过精确的数字方法处理模糊的评价对象, 可最大程度地

利用权重和指标数值信息,使得评价结果更加合理有效。

熵权模糊评判模型已在商业、教育、环境等领域有了广泛的应用^[15],其客观性、准确性、可行性已得到了认证,为其在医药领域的应用提供了经验基础。本文运用熵权模糊综合评价模型将渗透系数、稳态流量、滞后时间、增渗倍数 4 个指标结合起来,充分体现了各指标对总体效果的贡献,实验结果客观、明确、清晰,为中药促透剂的筛选提供了一个新思路。

[参考文献]

[1] Bala P, Pal K, Jathar S, et al. Transdermal drug delivery system (TDDS)-amultifaceted approach for drug delivery[J]. J Pharm Res, 2014, 8(12) :1805-1835.

[2] 李扬,王阳,刘科攀. 中药挥发油作为透皮吸收促进剂的研究进展[J]. 药物评价研究, 2011, 34(6) : 474-477.

[3] Herman A, Herman A P. Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery; a review[J]. J Pharm Pharmacol, 2015, 67(4) :473-485.

[4] 陈艳芬,王同任,王晖,等. 主成分分析法对促透剂促透效果的评价[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(7) :788-793.

[5] 程阔菊,余燕棠,王晖,等. 模糊综合评价法评价促透剂对茶碱促透效果的研究[J]. 中草药, 2010, 41(7) : 1100-1103.

[6] 郑小妍,王晖,程阔菊,等. 模糊物元模型评价几种促透剂的促透效果[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(20) :

2599-2603.

[7] 刘瑜彬,王晖,唐晓峰,等. 灰关联聚类法评价补中益气汤对大鼠气虚发热的效果[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18) :124-128.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:191.

[9] Mittal A, Sara U S, Ali A, et al. Design, development, physicochemical, *in vitro* and *in vivo* evaluation of monolithic matrix type transdermal patches containing nitrendipine [J]. Pharm Dev Technol, 2009, 14(4) : 422-434.

[10] 邢建国,王新春,赵媛,等. 复方卡力孜然凝胶剂主要活性成分体外经皮渗透[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3) :19-22.

[11] Chen Y, Wang J, Dong M, et al. Effect of unsaturated menthol analogues on the *in vitro* penetration of 5-fluorouracil through rat skin[J]. Int J Pharm, 2013, 443(1/2) :120-127.

[12] 阮连法,项闯,汤玉武. 熵权模糊综合评判在商业地产后评价中的应用[J]. 技术经济与管理研究, 2009(1) :13-15.

[13] 马晓英. 图书采购招标的拟熵权模糊综合评判法及 Matlab 实现[J]. 情报科学, 2009, 27(11) :1671-1674.

[14] 朱桂英,丁艳清,李维屿,等. 基于熵权的区域水资源配置模糊综合评判决策[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2014, 26(3) :53-57.

[15] Yan Y, Zhao Y G, Zhou G C, et al. Application of fuzzy comprehensive evaluation theory in air quality assessment[J]. J Chem Pharm Res, 2014, 6(3) :13-21.

[责任编辑 刘德文]