

模糊综合评价法评价促透剂对茶碱促透效果的研究

程阔菊¹, 余燕棠¹, 王 晖^{1*}, 梁 庆¹, 陈 垦²

(1 广东药学院 中药药理学教研室, 广东 广州 510006; 2 广东药学院 护理学院, 广东 广州 510006)

摘要:目的 探讨模糊综合评价法在促透剂促透效果综合评价中的运用。方法 以茶碱为模型药物, 氮酮为阳性促透剂, 研究中药促透剂薄荷醇、樟脑、丁香油、荆芥油、广藿香油对模型药物在离体 SD 大鼠背部皮肤上的透皮行为的影响, 计算渗透系数、稳态流量、滞后时间、增渗倍数, 运用模糊综合评价法对促透效果进行综合评价。结果 对茶碱的促透作用, 1% 丁香油表现为优, 1% 氮酮表现为良, 1% 薄荷醇、1% 樟脑、1% 广藿香、1% 荆芥油表现为中。结论 模糊综合评价法可客观地评价促透剂的促透效果。

关键词: 茶碱; 促透剂; 模糊综合评价法

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)07-1100-04

Promoting effect for transdermal enhancers on theophylline with fuzzy comprehensive evaluation method

CHENG Kuoju¹, YU Yantang¹, WANG Hui¹, LIANG Qing¹, CHEN Ken²

(1 Department of Chinese Herbal Medicine Pharmacology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2 College of Clinical Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Objective To investigate the utilization of fuzzy comprehensive evaluation method for evaluating the promoting effect of transdermal enhancer. **Methods** Taking theophylline as drug model, Azone as positive transdermal enhancer, the penetrating rates, steady fluxes, lag time, and enhancement ratio were calculated. Menthol camphor, dove oil, *Schizonepeta tenuifolia* oil, and *Pogostemon cablin* oil using on the back skin of SD rat were observed on the equipment of percutaneous absorption *in vitro*. The promotion of transdermal enhancers was evaluated by fuzzy comprehensive evaluation method. **Results** As for promoting effect on theophylline, 1% dove oil was the best and 1% Azone ranked behind, 1% menthol, 1% camphor, 1% *P. cablin* oil, and 1% *S. tenuifolia* oil were medium. **Conclusion** Fuzzy assessment method could be used to evaluate the promoting effect of transdermal enhancers objectively.

Key words: theophylline; transdermal enhancers; fuzzy comprehensive evaluation method

茶碱是临床治疗支气管哮喘和慢性阻塞肺病的主要药物, 临床剂型为片剂和胶囊剂, 均经口服给药。由于治疗窗狭窄(血药浓度: 5~15 μg/mL), 给药后常见恶心、呕吐、失眠甚至心悸等不良反应, 临床应用需进行血药浓度检测, 使用受到极大限制。若将茶碱制成经皮给药制剂, 则能克服血药浓度的峰谷波动, 减少口服用药的不良反应。目前, 已有研究者开始对茶碱经皮给药制剂进行研究^[1]。由于角质层的屏障作用, 经皮给药制剂中药物是否能透过皮肤达到有效的治疗浓度, 经皮给药促透剂则发挥着至关重要的作用。目前, 应用的多数化学促透剂均对皮肤具有一定程度的刺激性及不良反应^[2], 因

此, 从中药中筛选有效安全的促透剂成为了目前研究的热点。已有研究证明, 中药挥发油类物质具有良好的促透作用, 并且刺激性较小^[3]。氮酮为《中国药典》2005年版唯一收载的促透剂。因此, 本实验将以茶碱为模型药物, 氮酮为阳性促透剂, 研究中药挥发油类促透剂薄荷醇、樟脑、丁香油、荆芥油、广藿香油对模型药物在离体 SD 大鼠背部皮肤上的透皮行为的影响。目前考察促透剂促透效果的评价指标主要有渗透系数、稳态流量、增渗倍数和滞后时间等。但单指标评价方法往往带有主观片面性, 不够精确和全面。如何将指标信息综合起来进行评价, 目前报道较少。鉴于促透剂促透效果评价过程

* 收稿日期: 2009-10-16

基金项目: 广东省科技计划项目(2007A060305006)

作者简介: 程阔菊(1984—), 女, 四川达州人, 硕士研究生, 主要从事皮肤药理学研究。E-mail: chengkuoju@163.com

* 通讯作者 王 晖 Tel: (020) 39352057 E-mail: gdwanghui2006@126.com

的非线性特点, 及其模糊性, 本实验提出在合理确定评价体系与权重的基础上, 应用模糊数学的理论和方法处理实验数据, 用模糊综合评价对促透剂的促透效果进行综合评价, 期望为促透剂的合理应用提供参考, 同时也为模糊综合评价法在促透剂促透效果评价中的应用提供新的思路。

1 材料与仪器

SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 180~220 g, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(粤)2008-0020。

茶碱(质量分数>99.0%, 天津中安药业有限公司), 薄荷醇(上海品纯试剂有限公司), 氮酮(新乡高金药业有限公司), 樟脑(国药集团化学试剂有限公司), 荆芥挥发油、广藿香挥发油、丁香挥发油为自提。

UV-1800 紫外分光光度计(北京瑞利仪器有限公司), 水浴恒温振荡器(金坛市宏华仪器厂制造)。

2 方法与结果

2.1 皮肤接收液中茶碱的紫外分光光度(UV)法建立

2.1.1 供试品溶液的配制: 精密称取茶碱 0.05 g 于 50 mL 量瓶中, 用生理盐水定容, 摇匀作为母液备用。

2.1.2 检测波长的确定: 取母液 150 μ L 用生理盐水稀释至 10 mL, 在紫外分光光度计上, 于 240~330 nm 波长扫描, 选取最大吸收波长 271.5 nm 作为检测波长。

2.1.3 标准曲线的制备: 精密量取茶碱母液 20、50、100、120、150、170、200 μ L, 于 7 个 10 mL 量瓶中生理盐水定容, 配制成 2、5、10、12、15、17、20 μ g/mL 标准曲线工作液, 在检测波长 271.5 nm 下测定各溶液的吸光值, 得回归方程 $A = 0.05411C + 0.02985$ ($R^2 =$

0.9995), 线性范围为 2.0~20.0 μ g/mL。

2.2 离体皮肤的制备: 大鼠剃除背部毛 24 h 后剥下皮肤, 除皮下脂肪, 用生理盐水反复冲洗, 直至无混浊为止。放-4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存, 于第 2 天使用。

2.3 释放液和接收液的制备: 释放液用乙醇水(3:2)作为溶媒配制。A 组不含促透剂, B 组含 1% (质量分数, 单位 g/g, 下同) 丁香油, C 组含 1% 荆芥油, D 组含 1% 氮酮, E 组含 1% 薄荷醇, F 组含 1% 樟脑, G 组含 1% 广藿香挥发油, 各组均含茶碱 1%。接收液为生理盐水。

2.4 透皮吸收试验: 在双室透皮扩散装置上, 以离体大鼠背部皮肤为渗透屏障进行体外透皮吸收试验^[5]。释放液用量为 0.1 mL, 接收液 5 mL, 试验温度(32.0 $\pm$ 1.0) $^{\circ}$ C, 振速为 120 次/min, 扩散面积为 0.502 cm²。在 2、4、8、12、24 h 分别取接收液 4.0 mL, 同时补加等量生理盐水, 样品经适当稀释后, 测定吸光度, 代入回归方程, 计算质量浓度, 然后计算出各个时间点的累积渗透量。

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

式中 Q 为 n 时间点的累积渗透量; A 为扩散渗透面积 (cm²), V 为接收液体积, V' 为取样量, C_n 为 n 时间点的实测浓度, C_i 为 i 时间点的实测浓度。

将累积渗透量对时间进行线性回归, 稳态流量 (J_{ss}) 和滞后时间 (T_{lag}) 按 $Q = J_{ss}t - J_{ss}T_{lag}$ 进行^[4]; 药物的渗透系数 (K_p) 按 $K_p = J_{ss}/C$ 计算^[5], C 为释放池的药物浓度。增渗倍数 (ER) 可按 $ER = K_p/K_{p0}$ 计算^[6], K_p 为加促透剂后药物的渗透系数, K_{p0} 为药物固有的渗透系数。

2.5 几种促透剂对茶碱经皮渗透的影响: 实验结果见表 1、2。

表 1 促透剂对茶碱不同时间的累积渗透量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 1 Effect of transdermal enhancers on cumulative permeation amount of theophylline at different times ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	促透剂	质量分数/%	累积渗透量/ (μ g $\cdot$ cm ⁻²)				
			2 h	4 h	8 h	12 h	24 h
a	空白		535.3 $\pm$ 37.9	769.4 $\pm$ 49.2	1238.3 $\pm$ 68.8	1572.5 $\pm$ 129.4	2083.9 $\pm$ 84.3
b	薄荷醇	1	1004.5 $\pm$ 82.1	1502.2 $\pm$ 76.6	1988.2 $\pm$ 87.9	2125.2 $\pm$ 115.1	2212.6 $\pm$ 163.2
c	樟脑	1	800.8 $\pm$ 8.5	1245.6 $\pm$ 55.1	1722.6 $\pm$ 51.2	1912.7 $\pm$ 44.4	2022.6 $\pm$ 48.4
d	广藿香	1	1169.3 $\pm$ 58.5	1595.7 $\pm$ 49.8	1945.8 $\pm$ 145.1	2095.0 $\pm$ 113.1	2164.2 $\pm$ 130.1
e	荆芥组	1	1130.9 $\pm$ 77.6	1587.4 $\pm$ 137.2	2077.3 $\pm$ 120.1	2244.6 $\pm$ 109.7	2329.4 $\pm$ 109.4
f	丁香组	1	750.1 $\pm$ 111.1	1337.3 $\pm$ 96.0	2202.0 $\pm$ 83.1	2484.1 $\pm$ 95.0	2680.0 $\pm$ 135.3
g	氮酮	1	718.8 $\pm$ 59.61	1117.2 $\pm$ 100.0	1925.5 $\pm$ 72.2	2203.6 $\pm$ 44.2	2399.4 $\pm$ 27.4

2.6 不同促透剂的模糊综合评判^[7,8]

2.6.1 确定模糊评判矩阵: 确定评判指标集 $U = \{u_1, u_2, u_3\}$, 其中 $u_1 =$ 渗透系数 (K_p), $u_2 =$ 增渗倍

数 (ER), $u_3 =$ 滞后时间 (T_{lag}); 评语集 $V = \{v_1, v_2, v_3, v_4, v_5\}$ 其中, $v_1 =$ 优, $v_2 =$ 良, $v_3 =$ 中, $v_4 =$ 一般, $v_5 =$ 差。根据表 2, 设空白组的药物的渗透系数

($K_p = 6.9$), 增渗倍数 ($ER = 1.0000$), 滞后时间 ($T_{lag} = 8.0$) 等级为一般。同指标的最大值减最小值的结果除以 3 再加最小值的标准差 (s), 以等级一般值为基础加 (减) 上述数据即得到优良中差值, 结果见表 3。

表 2 促透剂对茶碱透皮指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Table 2 Effect of transdermal enhancers on penetration index of theophylline ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

促透剂	$J_{ss}/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) ($\times 10^{-3} \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$)	$K_p/$	ER	T_{lag}/h
空白	68.9 ± 5.1	6.9 ± 0.4	1.000 0	8.0 ± 0.8
薄荷醇	108.4 ± 5.3	10.8 ± 0.5	1.573 2	8.8 ± 0.4
樟脑	108.2 ± 3.2	10.8 ± 0.3	1.571 2	6.6 ± 0.5
广藿香油	87.97 ± 17.5	8.8 ± 1.7	1.276 8	12.8 ± 3.0
荆芥油	108.5 ± 3.3	10.9 ± 0.3	1.575 3	9.7 ± 0.8
丁香油	173.7 ± 8.8	17.4 ± 0.9	2.520 9	3.1 ± 0.5
氮酮	152.2 ± 10.1	15.2 ± 1.0	2.209 3	3.3 ± 0.8

表 3 指标等级标准

Table 3 Standard of penetration index grade

指 标	等 级				
	优	良	中	一般	差
药物的渗透系数 (K_p)	18.6	14.7	10.8	6.9	3.000 0
增渗倍数 (ER)	2.521 0	2.014 0	1.507 0	1.000 0	0.493 0
滞后时间 (T_{lag})	0.2	2.8	5.4	8.0	10.600 0

为使模糊评判矩阵 R 具有合适的隶属函数, 本实验选择为梯形分布模型的隶属函数 $r(x)$:

$$r(x) = \begin{cases} 0 & (x \leq a) \\ (b-x)/(b-a) & (a \leq x \leq b) \\ (x-a)/(b-a) & (a \leq x \leq b) \\ 0 & (x \geq b) \end{cases}$$

其中, x 为各促透剂的指标值见表 2, a 、 b 分别为 x 所属等级范围的下、上限。逐一对各指标进行计算, 确定指标 u_i 对评语 v_j 的隶属度 r_{ij} , 构成评价矩阵 R :

$$R_b = \begin{Bmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0.1306 & 0.8694 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0.6923 & 0.3077 \end{Bmatrix}$$

$$R_c = \begin{Bmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0.1266 & 0.8734 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.5385 & 0.4615 & 0 \end{Bmatrix}$$

$$R_d = \begin{Bmatrix} 0 & 0 & 0.4872 & 0.5128 & 0 \\ 0 & 0 & 0.5640 & 0.4360 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{Bmatrix}$$

$$R_e = \begin{Bmatrix} 0 & 0.0256 & 0.9744 & 0 & 0 \\ 0 & 0.1347 & 0.8653 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0.3462 & 0.6538 \end{Bmatrix}$$

$$R_f = \begin{Bmatrix} 0.6923 & 0.3077 & 0 & 0 & 0 \\ 0.9998 & 0.0002 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.8846 & 0.1154 & 0 & 0 \end{Bmatrix}$$

$$R_g = \begin{Bmatrix} 0.1282 & 0.8718 & 0 & 0 & 0 \\ 0.3852 & 0.6148 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0.8077 & 0.1923 & 0 & 0 \end{Bmatrix}$$

2.6.2 确定指标权重向量 (A): $A = (a_1, a_2, a_3)$, $\sum_{i=1}^m a_i = 1$, $a_1 =$ 渗透系数 (K_p), $a_2 =$ 增渗倍数 (ER), $a_3 =$ 滞后时间 (T_{lag})。根据专家评估法取 $A = (a_1, a_2, a_3) = (0.4, 0.4, 0.2)$ 。

2.7 评判结果: 模糊综合评判向量: $B = A \cdot R$, 得:

$$B_b = A \cdot R_b = (0, 0.0522, 0.7478, 0.1385, 0.0615)$$

$$B_c = A \cdot R_c = (0, 0.0506, 0.8571, 0.0923, 0)$$

$$B_d = A \cdot R_d = (0, 0, 0.4133, 0.3867, 0.2)$$

$$B_e = A \cdot R_e = (0, 0.0641, 0.7359, 0.0692, 0.1308)$$

$$B_f = A \cdot R_f = (0.6768, 0.3001, 0.0231, 0, 0)$$

$$B_g = A \cdot R_g = (0.2054, 0.7562, 0.0385, 0, 0)$$

根据最大隶属度原则, 取各综合评判向量 B ($b_1, b_2, \dots, b_n$) 的最大值 b_{jmax} , 按 b_{jmax} 所对应的评语 v_j 作为综合评价的结果, 各促透剂的综合评价结果见表 4。实验结果表明, 该实验中所选促透剂对茶碱均有不同程度的促透效果, 其中以 1% 丁香油效果最好, 且优于阳性促透剂氮酮。因此, 在茶碱的促透剂研发方面, 丁香油值得进一步研究。

表 4 促透剂的促透效果综合评价结果

Table 4 Fuzzy comprehensive evaluation results of promoting effect of transdermal enhancers

促透剂	最大隶属度/ b_{jmax}	评语/ v_j
薄荷醇	0.7478	中
樟脑	0.8571	中
广藿香油	0.4133	中
荆芥油	0.7539	中
丁香油	0.6768	优
氮酮	0.7562	良

3 讨论

中药促透剂以其刺激性小、时滞短、副作用小等优点, 在经皮给药促透剂的研发方面显示出广阔的应用前景。目前, 正在开发的中药促透剂有萜类、精油、内酯及芳香族类化合物等。薄荷醇和樟脑属于单萜类化合物, 它们均可促进多种亲脂性和亲水性药物的透皮吸收^[9]。丁香油、广藿香油、荆芥油的主要成分均为萜类及芳香族类化合物, 此类化合物作为透皮吸收促进剂的研究已有十余年^[10]。本实验进一步证明, 薄荷醇、樟脑、丁香油、荆芥油、广藿香油均对茶碱具有不同程度的促透作用。其中以 1% 丁香油效果最好, 且优于阳性促透剂氮酮。因此, 在茶碱的促透剂研发方面, 丁香油值得进一步研究。

模糊综合评价法是一种基于模糊数学的综合评价方法。该综合评价法根据模糊数学的隶属度理论

把定性评价转化为定量评价,即用模糊数学对受到多种因素制约的事物或对象做出一个总体的评价^[8]。具体表现为通过精确的数字手段处理模糊的评价对象,对蕴藏信息作出比较科学、合理、贴近实际的量化评价。

从本实验来看,基于模糊数学理论的模糊综合评价法理论清晰,结果直观,且在评价过程中考察了各指标对总体效果的综合贡献,因此认为该法基本上能客观、公正、科学地评价促透剂的促透效果,期望能为促透剂的研究和筛选提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] 赵鑫,刘建平,朱家璧.茶碱微乳经皮吸收及药代动力学研究[J].中国药科大学学报,2006,37(1):28-32
- [2] 梁庆,沈飞沉,王晖,等.经皮给药系统的研究及临床应用概况[J].广东药学院学报,2008,24(3):324-327

- [3] 王琰,徐惠南.中药挥发性成分的透皮渗透作用[J].上海医药,2004,25(3):106-107
- [4] Jaymin C, Shah, Idris K. Analysis of percutaneous data: II Evaluation of the lag time method[J]. *Int J Pharm*, 1994, 109: 283-290
- [5] Gao S, Singh J. Mechanism of transdermal transport of 5-fluorouracil by terpenes: carvone, 1, 8-cineole and thymol[J]. *Int J Pharm*, 1997, 154(3): 67-68
- [6] Williams A C, Barry B W. Terpenes and the lipid protein partitioning theory of skin penetration enhancement[J]. *Pharm Res*, 1991, 8(1): 17-18
- [7] 穆征,王方勇,李静,等.基于模糊综合评价模型的河流水质综合评价[J].水力发电,2009,35(4):11-13
- [8] 刘玉梅,李大治.南通市环境空气质量模糊综合评价[J].南通职业大学学报,2009,23(1):87-89
- [9] 王晖,许卫铭,冯小龙.薄荷醇对两种不同性质化合物体外经兔皮吸收的影响[J].中国药房,2002,13(3):141-142
- [10] Gao S, Singh J. *In vitro* percutaneous absorption enhancement of aliphatic drug tamoxifen by terpenes[J]. *J Controlled Release*, 1998, 51: 193-194

超高效液相色谱法测定脑外伤患者口服大黄后尿液中蒽醌类成分

王杨¹,黄熙^{1*},梁清华¹,秦锋¹,刘昭前²,周宏灏²

(1. 中南大学湘雅医院中西医结合研究所 国家中医药管理局脑病重点专科,湖南长沙 410008;

2. 中南大学临床药理研究所,湖南长沙 410008)

摘要:目的 建立超高效液相色谱(UPLC)法同时测定脑外伤患者口服大黄后尿液中蒽醌类成分。方法 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为甲醇-0.5%醋酸(12:82);柱温 25℃;检测波长 254 nm;体积流量 0.5 mL/min;进样量 5 μL。结果 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的尿中质量浓度分别在 0.198~6.333、0.42~13.429、0.285~9.107、0.386~12.321、0.134~4.286 μg/mL 线性良好,方法回收率在 97.68%~108.85%,日内、日间 RSD 均小于 7%。结论 本法精密度好,回收率高,操作简便、无毒、重现性好,可用于大黄蒽醌类成分在脑外伤病人体内的代谢组学研究。

关键词: 大黄;蒽醌;尿液;超高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)07-1103-04

大黄始载于《神农本草经》,已成为使用最频繁的中药之一。现代研究证明大黄具有泻下清热、抗菌、抗肿瘤、护肝、松弛肠道、改善血液循环等药理作用^[1-3]。蒽醌类成分作为大黄药理相关有效活性成分,被认为大黄质量控制的基础^[3-5]。国内外已有学者对健康人血浆、对健康大鼠血浆及尿液蒽醌类成分进行测定^[6-8]。对人服用大黄汤剂后尿液中蒽醌类成分进行测定尚未见报道。顾建文等^[9,10]报道大黄通过多靶点药理作用具有抗颅脑损伤的效应,

但颅脑损伤患者服用大黄后吸收的蒽醌类成分未见报道。本实验室建立了超高效液相色谱法对脑外伤患者服用大黄汤剂尿液蒽醌类成分的测定,为将吸收的抗颅脑损伤蒽醌类成分作为大黄质量控制标准,为在大黄在脑病中代谢学研究,为脑外伤患者的大黄治疗提供了依据。

1 材料

超高效液相色谱仪:液相色谱仪为 Waters Acquity UPLC system,包括二元泵处理器、样品处理器、柱温

* 收稿日期:2009-12-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30572339)

作者简介:王杨(1984—),男,住院医师,硕士,主要从事心脑血管病的中西医结合防治基础与临床工作。

Tel/Fax: (0731) 84327222 E-mail: xiaoyangge02@126.com

* 通讯作者 黄熙 E-mail: tcmhuangx59@163.com