

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00477

## 驻极体透皮贴剂体外实验的优化设计探讨

滕海英<sup>1</sup>, 宋茂海<sup>1</sup>, 程亮<sup>1</sup>, 孔玉秀<sup>2</sup>, 江健<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学基础部数学教研室, 上海 200433

2. 第二军医大学药学院无机化学教研室, 上海 200433

**[摘要]** **目的:**目前驻极体透皮贴剂的体外实验多采用比较低效的单因素实验设计方法。为了更系统和有效地分析各因素之间的影响,本文根据驻极体透皮贴剂的研究目标,提出驻极体透皮贴剂的体外实验的优化方案。**方法:**由于影响驻极体电荷储存稳定性的因素和水平数较多,首先采用均匀设计与正交试验设计相结合的方法设计筛选电荷储存稳定的驻极体透皮贴剂的实验;在随后的体外实验设计中,先利用双因素析因设计筛选理想表面电位极性和促渗剂的实验,再进一步用正交设计方法研究主药、表面电位和促渗剂的不同水平对透皮吸收的影响。**结论:**所提方案全面考虑各种因素的影响,采用了多因素的试验设计方法,能够更有效地分析实验数据、减少工作量,是具有一定可行性的优化方案。

**[关键词]** 驻极体;皮肤给药;研究设计;析因设计;正交设计;均匀设计

**[中图分类号]** R 943.43 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)05-0477-04

### Optimized design for *in vitro* experiment of electret transdermal patches

TENG Hai-ying<sup>1</sup>, SONG Mao-hai<sup>1</sup>, CHENG Liang<sup>1</sup>, KONG Yu-xiu<sup>2</sup>, JIANG Jian<sup>1\*</sup>

1. Department of Physics and Mathematics, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Inorganic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433

**[ABSTRACT]** **Objective:** Currently most researches concerning electret transdermal patches are performed by one-factor experimental design with relatively poor efficiency. To analyze the influencing factors in a more systematical and effective manner, we put forward an optimized design for *in vitro* experiment with electret transdermal patches. **Methods:** Due to the great number and various levels of factors impacting the charge storage stability of electrets, we combined uniform design and orthogonal design to optimize the screening for the stable transdermal patch. In the following *in vitro* study, we optimized the design of percutaneous experiments to screen for charge polarity and penetration enhancers using a two-factor experimental design. And using an orthogonal experimental design, we further studied the influence of different levels of main drug, surface potential and penetration enhancer on transdermal absorption. **Conclusion:** The present design, taking into consideration of various factors and using multi-factor experimental design, can more effectively analyze data, reduce workload, and is feasible.

**[KEY WORDS]** electret; cutaneous administration; research design; factorial experimental design; orthogonal experimental design; uniform design

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(5):477-480]

透皮给药系统(transdermal drug delivery system, TDDS)因其较传统的口服和注射给药方法具有很多突出的优点而受到广泛的关注。但是皮肤天然屏障效应可导致大部分药物难以透过皮肤而达到治疗效果。因此,如何提高药物的透皮速率成为开发透皮给药系统的关键。目前应用最广泛的促渗方

法是使用化学促渗剂。而利用驻极体促进药物的经皮吸收是一种新的物理促渗方法。驻极体是一类能够长期储存空间电荷和偶极电荷的功能电介质材料<sup>[1]</sup>,它产生的外电场和微电流能使皮肤角质层结构发生变化,形成大量可供药物渗透的新孔道,促进药物的透皮吸收<sup>[2]</sup>。驻极体药物透皮制剂具有制备

**[收稿日期]** 2008-09-26 **[接受日期]** 2009-03-04

**[基金项目]** 国家自然科学基金(50577066);军队“十一五”国际合作项目(06H022)。Supported by National Natural Science Foundation of China(50577066) and International Cooperation Project of “11th Five-Year Plan” of PLA(06H022).

**[作者简介]** 滕海英,硕士生,讲师, E-mail:jthy-1973@sohu.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-81870921, E-mail:jjjiang@smmu.edu.cn

工艺简单、使用方便和安全无毒等特点,故可望成为理想的透皮给药制剂。

驻极体透皮贴剂的研究比一般透皮贴剂复杂。影响贴剂透皮吸收的因素有很多,每个因素又包含不同的水平,因此不可避免地要遇到实验方案的设计问题。对于一个影响因素较多的复杂研究课题,其实验设计的要求更高,难度更大。实验设计通常包括两部分内容:一是对实验提出科学有效的设计;二是对实验数据作出正确的统计分析。两者相比较前者更为重要。本文根据驻极体透皮贴剂的研究目标,提出了其体外实验的优化设计方案和相应的统计分析方法,目的是在保证实验结果具有一定可靠性的前提下,能有效地节约人力和经费。

### 1 实验设计方法简介<sup>[3-4]</sup>

析因试验设计是一种将两个或多个因素的各水平交叉分组,进行实验的设计。它不仅可检验各因素内部不同水平间有无差异,还可检验两个或多个因素间是否存在交互作用。其总的实验组数等于各因素水平数的乘积,是一种全面试验,所以应用时分析的因素数目和各因素水平数不宜过多。

正交试验设计是使用正交表来安排实验的方法,它根据正交性从全面实验的样本点中挑选出部分代表点做实验,这些代表点具有均匀分散和整齐可比的特点。其优点是只用较少的实验次数就可以找出因素水平间的最优搭配,适用于因素数目较多而因素的水平数不多的实验。

均匀设计是使用均匀设计表来安排实验。同正交试验相比,它从全面试验点中挑选代表点时,只考虑试验点在试验范围内充分均衡分散,而不考虑整齐可比性,实验次数更少,适用于因素数和水平数都较多的实验。其结果需借助计算机采用回归分析,可分析主效应、因素间的交互作用,并求解最优值。

### 2 驻极体透皮贴剂体外实验的优化设计

2.1 背衬层(驻极体膜)的制备及其电荷稳定性的研究设计 储电稳定是驻极体透皮贴剂制备的前提条件,因此筛选电荷储存稳定的贴剂条件成为研究的首要问题,也是关键问题。以往研究结果表明,驻极体电荷的储存随时间呈指数衰减,在初始阶段衰减较快,而在较长时间内维持一定水平<sup>[5-7]</sup>。比较驻极体贴剂的电荷储存稳定性,必需检测每一驻极体贴剂多个时点的表面电位以描绘其衰减规律,并以透皮实

验所需足够长的稳定时段内的有效电位均值作为观测指标来评价驻极体贴剂的电荷储存稳定性。而影响电荷储存稳定性的因素主要有驻极体材料种类、注极方式、注极温度、注极电压的大小和极性、药物的种类和剂量、压敏胶种类、储存环境湿度、促渗剂种类等因素。考虑驻极体的制备方式和驻极体贴剂的主要成分,选取其中5个主要因素为考察对象:(1)注极电压分为12个水平(-1 200 V~+1 200 V,均分);(2)主药药量分为6个水平;(3)驻极体材料种类分为4个水平;(4)注极方式分为3个水平;(5)压敏胶种类分为3个水平(这里促渗剂因添加较少而未加入讨论)。除主药药量外,其他因素的水平数根据参考文献<sup>[8-10]</sup>确定。由于因素数和水平数都较多,故选用均匀设计法设计实验。根据以上所考虑的因素数目和各因素的水平数,从混合水平的均匀设计表 $U_{12}(12 \times 6 \times 4 \times 3^2 \times 2^2)$ 的前5列安排12个实验处理(水平搭配),见表1。若实际所需水平数少于本文所讨论水平数,可以根据本均匀设计表采用拟水平法安排实验<sup>[4]</sup>,例如电压并不需要12个水平而只需6个水平,则每个水平再重复使用1次,形式上仍为12个水平。若因素数或水平数需要改动,一般需另选均匀设计表来安排实验,具体可参考文献<sup>[11]</sup>。为提高实验的精度,同一个处理有必要做至少2~3次的独立重复实验,所得结果偏差不得大于3%,并以平均值作为该处理下的最终结果。

表1 用均匀设计表 $U_{12}(12 \times 6 \times 4 \times 3^2 \times 2^2)$ 安排的实验

Tab 1 Experiment arranged by uniform design table  $U_{12}(12 \times 6 \times 4 \times 3^2 \times 2^2)$

Test No.	1	2	3	4	5
1	1	1	1	2	3
2	2	2	2	3	2
3	3	3	3	2	1
4	4	4	4	3	1
5	5	5	1	1	2
6	6	6	2	3	2
7	7	1	3	1	1
8	8	2	4	3	3
9	9	3	1	1	3
10	10	4	2	2	2
11	11	5	3	1	1
12	12	6	4	2	3

均匀设计的回归分析比较复杂,而且经回归分析得到的最优值只能反映驻极体贴剂的等效表面电位的最优值,而对应此条件下的贴剂其释药速率却未必最大。因此不作回归分析,通过直观分析的方

法剔除不良水平,并从12个实验结果中直接选出较为理想的条件,所筛选出的条件可能不止1种。在选出的各种条件中,考虑到注极方式和驻极体材料种类对透皮吸收没有直接影响,因此固定注极方式和驻极体材料种类这两个因素,其余因素在其对应的水平值及其附近取少数不同的水平(注意参考经均匀实验剔除后的水平,若药物可能受电荷极性的影响,则需注意分配不同极性注极电压),利用正交设计安排进一步的实验。该正交实验结果可采用直观分析法和方差分析法,分析注极电压、主药药量和压敏胶种类这3个因素之间的关系,并寻找更好的条件。在本实验研究中,以筛选能储存较高电位且表面电位受药量影响不大的贴剂条件为目标,确定注极方式、驻极体材料和压敏胶的种类。

**2.2 主药药量、表面电位及化学促渗剂对透皮吸收影响的研究设计** 在筛选出储电稳定的驻极体贴剂条件的基础上,再设计体外透皮实验,主要是研究主药药量、表面电位、化学促渗剂对药物透皮吸收的影响。若2.1中筛选出的贴剂条件不止1种,可通过体外透皮实验先做初步筛选,并结合实际情况加以选择。

由于可能存在驻极体电位极性与模型药物或化学促渗剂的极性间的相互作用,对筛选出的贴剂应首先固定主药药量,考察稳定表面电位和促渗剂种类这两个因素对药物透皮吸收的影响。为此,以一定时间药物体外透皮的累积渗透量为观测值,采用完全随机分组两因素析因设计安排实验。其中因素A(促渗剂)取5个水平:油酸乙酯、丙二醇、薄荷醇、氮酮及对照(即无促渗剂);因素B(表面电位)分为3个水平:正电压、负电压和对照(即不加驻极体),电压值的大小根据2.1项下的实验结果选择。这两个因素的各水平交叉分组,实验共有 $5 \times 3 = 15$ 个处理组。由于需要考察两因素间的交互作用,每个水平组合下应安排等数量的重复实验,若重复次数为4,则所需样本总数为 $15 \times 4 = 60$ 个。要求将所有样本(离体鼠皮)随机平均分配到各处理组以减少误差。实验结果利用双因素方差分析法,可分析驻极体与促渗剂对观测值是否有显著影响及因素间的交互作用。若方差分析的结果为某因素对观测值有显著影响,则需进一步比较该因素各水平之间的差异,注意不能用 $t$ 检验而应该用两两间多重比较的检验方法。其中,如果任何两个均数之间都要比较,用

SNK检验;如果各组分别与同一个对照组均数比较,则用Dunnett- $t$ 检验。方差分析的前提条件是各总体为相互独立的正态分布,且具有相同的方差,分析前应检验实验数据是否满足上述条件。

贴剂的渗透规律未知,以上实验中的观测指标取多长时间的累积渗透量实际较难决定。因此,实验中需每隔2h取样1次,宜持续较长时间(24h或48h),最后根据累积渗透量 $Q$ 对时间 $t$ 的曲线来选择合适的时点。显然 $Q$ 随 $t$ 的增加而增加并且最终达一稳定值,即曲线的末端呈现特征的渐近线。根据这一特征,实验数据拟合可考虑从零级动力学模型、一级动力学模型、Higuchi模型或Logistic模型中选择。实验过程中,须注意表面电位的监测以避免误差。

通过以上对表面电位和促渗剂种类筛选之后,可进一步分析表面电位、药量、促渗剂用量对药物透皮吸收的影响。此时,各因素的水平数可选择不大于3个,利用正交设计安排实验,实验结果的分析用直观分析法或方差分析法。

### 3 讨论

影响驻极体贴剂储电稳定的因素很多,贴剂配方略有改动就有可能影响其储电稳定性,因此讨论该问题时应尽量涉及较多的因素和水平,以免影响以后的透皮实验。根据所定因素数和水平数,若采用全面实验为 $12 \times 6 \times 4 \times 3 \times 3 = 2592$ 次,是不可取的;若采用正交实验,则实验次数至少为 $12 \times 12 = 144$ 次,也不少;而用均匀设计只需12次(均未计重复实验次数)。这里虽然不作回归分析,无法弄清因素的主次和交互作用,但借助先均匀设计“撒大网”筛选出重要因素和水平,然后再用正交设计“撒中网”进一步缩小实验范围,考察少数几个重要因素间关系的方法,可以大大减少工作量。均匀设计是一种较好的实验优化方法,在制药等领域已有相当多的应用,利用均匀设计和正交设计相结合的方法筛选实验条件也已有人尝试,且得到较好的结果<sup>[12-13]</sup>。

在体外透皮实验中,考察的是表面电位、药量和促渗剂3个因素,由于促渗剂种类较多及因素间的交互作用,若采用正交设计,实验次数相当多,更不可能同时考虑促渗剂种类和用量。故先将药量固定,利用双因素析因试验分析表面电位和促渗剂的关系,筛选出表面电位和促渗剂种类。待促渗剂种

类确定后,又可进一步分析表面电位、药量和促渗剂用量之间的关系。实际上若不考虑促渗剂的用量,本实验可利用均匀设计同时研究表面电位、药量和促渗剂种类对药物吸收的影响,而此时最好作回归分析以分析因素的主次和交互作用。回归分析时需注意:由于交互作用的存在,宜选择二次多项式回归;对回归系数的估计需要安排足够的实验次数;本设计为混合因素的均匀设计(表面电压和主药药量为定量因素,促渗剂种类为定性因素),用回归模型拟合实验数据时,其定性因素必须用伪变量处理方法<sup>[14]</sup>。对均匀设计熟悉和使用的人较少,且其回归分析较复杂,故本文未加以具体讨论,具体实施可参考相关资料。

对于驻极体透皮贴剂,目前还没有较为系统的研究,且多为单因素轮换的研究方法,该方法不能反映因素间交互作用的效果,属低效的实验设计方法。本文给出的方案较为系统地考虑了各因素之间可能存在的影响,为了有效地分析实验数据,都采用多因素实验的设计,并且利用均匀设计和正交设计相结合的方法来减少工作量。鉴于篇幅所限和课题的复杂性,本文仅讨论了驻极体透皮贴剂在体外实验中的设计。

## [参考文献]

- [1] 夏钟福. 驻极体[M]. 北京:科学出版社,2001:1.
- [2] 江 键,崔黎丽,程 亮,孔玉秀,董法杰,邢 萱,等. 驻极体与氮酮促进利多卡因透皮吸收的比较研究[J]. 功能材料,2007,38(A05):1699-1701.
- [3] 孙振球. 医用统计学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:236,245.
- [4] 刘文卿. 实验设计[M]. 北京:清华大学出版社,2007:103-109.
- [5] 沈莉莉,夏钟福,冀忠宝. 乙烯/四氟乙烯共聚物薄膜驻极体的电荷储存稳定性[J]. 功能材料,2005,9:1432-1434.
- [6] 邢 萱,江 键,董法杰,杨勇骥. 多孔聚四氟乙烯/明胶复合驻极体膜储电性能研究[J]. 中国医学物理学杂志,2007,24:249-251.
- [7] Song M H, Jiang J, Cui L L, Wang X P, Xia Z F. Preparation of porous PTFE/PE/PP composite electret and study of its charge storage stability[C]. Brazil: Proc 12<sup>th</sup> Intern Symp on Electrets, 05CH37679, 2005:63-66.
- [8] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:77-90.
- [9] 侯雪梅,崔黎丽,江 键,李国栋,梁媛媛,宋茂海,等. 驻极体与化学促渗剂对美洛昔康促渗作用的比较研究[J]. 第二军医大学学报,2007,28:709-713.  
Hou X M, Cui L L, Jiang J, Li G D, Liang Y Y, Song M H, et al. Comparison of electret and chemical exchangers in enhancing transdermal delivery of meloxicam[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28: 709-713.
- [10] Han D, Cui L L, Jiang J, Li G D, Song M H, Wang X P. Evaluation of penetration enhancement of lidocaine by porous PTFE/PE/PP electret through mouse skin *in vitro* [C]. Brazil: Proc 12<sup>th</sup> Intern Symp on Electrets, 05CH37679, 2005:67-70.
- [11] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京:科学出版社,1994:35-98.
- [12] 唐春红,蔡绍哲. 一种在生物医学工程科研中有实用价值的实验设计方法——均匀设计与正交实验设计联用的实验设计方法[J]. 生物医学工程学杂志,2006,23:1228-1231.
- [13] 黎 兵,唐 邓,纪学顺,鲍俊杰,许戈文. 用均匀设计和正交设计研究水性PU压敏胶配方[J]. 粘接,2008,29:19-22.
- [14] 王 柱,方开泰. 含有定性因素的均匀设计[J]. 数理统计与管理,1999,18:11-19.

[本文编辑] 尹 茶

## · 书 讯 ·

### 《肝癌门静脉癌栓治疗》已出版

本书由程树群、吴孟超主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-81060-894-7,16开,定价:96.00元。

门静脉癌栓是原发性肝癌(以下简称肝癌)发生、发展、转移的一种特有现象。门静脉癌栓不仅发生率高,而且是影响肝癌预后的一个主要因素。本书系统回顾和总结了近年来国内外对门静脉癌栓临床和基础研究的成果,重点介绍了第二军医大学东方肝胆外科医院在门静脉癌栓诊断和治疗方面的最新观点和研究体会。全书共分17章,包括临床的肝脏门静脉解剖,门静脉癌栓病理、临床表现、医学影像特征、诊断、分期分型、外科与非外科治疗、放射介入、局部治疗、综合治疗及肝移植等,基础研究如癌栓发生的干细胞研究、癌栓起源、来源于门静脉癌栓的肝癌细胞系建立等。

本书图文并茂,是门静脉癌栓研究最系统、最全面的一本学术专著,既有重要的学术价值,又有临床指导意义,适合从事肝癌以及其他恶性肿瘤的医务人员和研究者参考和查阅。

通讯地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595

http://www.smmup.com