

刘沿, 胡小垒, 许可洪, 等. 经皮给药系统皮肤模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(2): 122-128.

Liu Y, Hu XL, Xu KH, et al. Overview of *in vitro* skin models of transdermal drug delivery systems [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(2): 122-128.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.02.015

经皮给药系统皮肤模型的研究进展

刘沿^{1,2,3}, 胡小垒^{1,2,3}, 许可洪^{1,2,3}, 赵海荣^{1,2,3}, 巫秀美^{2,3,4}, 杨自忠^{1,2,3},
张成桂^{1,2,3}, 赵昱^{1,2,3}, 高鹏飞^{1,2,3*}

(1.大理大学药学院, 云南大理 671000; 2.大理大学云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南大理 671000;
3.大理大学药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 云南大理 671000;
4.大理大学公共卫生学院, 云南大理 671000)

【摘要】 经皮给药系统(transdermal drug delivery system, TDDS)的皮肤模型是指构建能够模拟人体皮肤结构和功能, 并用于研究和评估药物在经皮给药过程中的吸收、渗透及药效等方面的实验模型。该模型可代替传统人体皮肤实验, 减少药物开发过程中对人体皮肤的使用, 为经皮制剂的研发提供一种便捷、可控且经济高效的方法。针对经皮给药系统的皮肤模型, 本文从药物经皮吸收途径出发, 对目前常用的动物皮肤模型、人工皮肤模型、重组人体皮肤模型进行介绍, 并对其优缺点及应用进行了分析, 为经皮制剂的研发提供参考。

【关键词】 经皮给药系统; 皮肤模型; 应用特点

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 02-0122-07

Overview of *in vitro* skin models of transdermal drug delivery systems

LIU Yan^{1,2,3}, HU Xiaolei^{1,2,3}, XU Kehong^{1,2,3}, ZHAO Hairong^{1,2,3}, WU Xiumei^{2,3,4}, YANG Zizhong^{1,2,3},
ZHANG Chenggui^{1,2,3}, ZHAO Yu^{1,2,3}, GAO Pengfei^{1,2,3*}

(1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China. 2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Entomological Biopharmaceutical R&D, Dali University, Dali 671000. 3. National Joint Engineering Research Center for the Development of Medicinal Special Insects, Dali University, Dali 671000. 4. College of Public Health, Dali University, Dali 671000)

【Abstract】 Skin modeling of transdermal drug delivery system refers to experimental models that mimic the structure and function of human skin to explore and evaluate absorption, penetration, and efficacy of medicines in transdermal drug delivery. It provides an alternative to traditional human skin experiments and reduces the use of human skin in medical research, which is convenient, controllable, and cost effective. For skin models of transdermal drug delivery systems, this article introduces commonly used animal skin models, artificial skin models, and recombinant human skin models from the perspective of the transdermal absorption pathway of medicines, and analyzes their advantages, disadvantages, and applications so provide references the research and development of transdermal formulations and topical therapies.

【Keywords】 transdermal drug delivery system; skin model; application characteristics

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金(82160798, 81960712, 81260676); 云南省重大科技专项计划—生物资源数字化开发应用(202002AA100007); 中国国家留学基金(201708535007)。

【作者简介】 刘沿(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药学。E-mail: liuyan2022666@163.com

【通信作者】 高鹏飞(1971—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 代谢组学, 肠道菌群。E-mail: gaodaluan@126.com

经皮给药系统 (transdermal drug delivery system, TDDS) 是指药物经皮肤吸收进入体循环, 从而达到全身或局部治疗作用, 实现预防或治疗疾病的新颖给药制剂系统^[1]。与传统给药方式相比, TDDS 具有提高患者依从性、减少副作用、避免肝首过效应、安全性高等诸多优势^[2]。

随着 TDDS 的发展, 皮肤作为一种给药途径被广泛使用。然而, 皮肤的角质层 (stratum corneum, SC) 屏障特性以及多层结构严重限制了药物的运输和生物利用度^[3]。此外, 人体皮肤由于存在伦理性问题使用受限, 影响了 TDDS 的研究^[4]。因此, 旨在开发出模拟人体皮肤的体外皮肤模型。目前, 已报道了多种替代人体皮肤的皮肤模型应用于 TDDS 研究, 其可以通过模拟人体皮肤特性评估 TDDS 的药物经皮吸收及渗透等性能, 为 TDDS 制剂的研发提供关键的技术支持。

本文总结了目前 TDDS 研究中常用的动物皮肤模型、人工皮肤模型和重组皮肤模型的研究进展,

阐述这 3 种模型的应用特点, 比较各自的优势及不足, 为 TDDS 研究提供参考。

1 动物皮肤模型

动物皮肤模型是国内较为常用的皮肤模型, 其优点在于物种选择性较多、与人体皮肤结构相似、具有较高的利用价值等^[5]。目前研究该模型所涉及的动物主要有: 猪、啮齿类动物 (小鼠、豚鼠、大鼠)、家兔、蛇、灵长类动物等^[6-8]。这些动物皮肤模型在体外经皮渗透研究中各具应用特点 (表 1)。

1.1 猪

体外经皮渗透研究中, 猪皮在组成、渗透、体内代谢等方面与人体皮肤高度相似, 特别是具有人体皮肤相似的多余毛被和分化良好的厚表皮及真皮层, 广泛用来代替人体皮肤进行经皮渗透实验^[11-13]。目前, 已利用猪皮肤模型评估了乳膏、软膏、洗剂、乳剂、微粒、胶体等多种经皮药物剂型^[14]。

经皮渗透研究应用中, 猪腹部及猪耳皮应用范

表 1 动物皮肤模型应用特点

Table 1 Characteristics of animal skin model applications

动物模型 ^[9-10] Animal model	优点 Advantages	不足 Disadvantages
猪 Pigs	①生理及解剖结构与人类皮肤相似性 ①Physiological and anatomical structure are similar to human skin ②猪皮体外渗透研究效果更佳 ②Effect of porcine skin penetration in vitro is better ③易获取, 可冷冻贮藏 ③Easy to obtain, can be frozen and stored	①不同解剖部位存在个体差异 ①There are individual differences in different anatomical parts ②年龄影响皮肤厚度 ②Age affects skin thickness
啮齿类动物 Rodents	①皮肤结构与人类皮肤相似 ①Skin anatomy is similar to human skin ②易获取、价格便宜、操作简单 ②Easy to obtain, inexpensive and simple to operate	①比人类皮肤渗透性大 ①Higher permeability than human skin ②有毛啮齿类, 毛囊较多, 影响药物经皮吸收 ②Hairy rodents with more hair follicles, affecting transdermal absorption of drugs
灵长类动物 Primates	①生理及解剖结构与人体皮肤相似 ①Physiological and anatomical structure are similar to human skin ②经皮吸收效果好 ②Effect of transdermal absorption is great	①使用受限、价格昂贵 ①Limited use and expensive ②皮肤覆盖浓密毛皮与人类皮肤结构略有差异 ②Skin covered with dense fur has a slightly different structure from human skin
家兔 Rabbits	①常用于皮肤毒性实验 ①It is often used in skin toxicity tests ②易获取 ②Easy to obtain	①皮肤渗透性高于类皮肤 ①Permeability of skin is higher than that of similar skin ②毛囊密度较高 ②Higher hair follicle density ③脱毛皮肤易损伤 ③Hair removal skin is prone to damage
蛇 Snakes	①单个动物可提供多次蛇蜕 ①A snake can provide multiple molts ②不存在个体间差异 ②There are no individual differences ③结构、组成、脂质含量和透水性等方面于人类 SC 具有相似性 ③Structure, composition, lipid content and water permeability of human SC are similar	①毛囊缺乏影响药物的渗透性 ①Lack of hair follicles affects drug permeability

围较广,尤其猪耳皮,该部位的 SC 厚度为 10 μm ,与人体前臂的 17 μm SC 接近,且表皮层和真皮层的厚度十分相似^[15-16]。研究表明,猪耳皮常用于测定不同配方化合物的透皮功效以及确定化合物外用配方应用对皮肤的影响效果^[17]。此外,有研究成功利用带状剥离的猪耳皮作为体外 TDDS 皮肤模型来验证、评估对早产儿经皮给药的可行性^[18]。并且新鲜的猪皮可用于预测化合物在皮肤中的显著生物转化和进行皮肤药代动力学研究^[19]。

1.2 啮齿类动物

啮齿类动物在 TDDS 体外皮肤模型中也有所应用,其中具有代表性的有大鼠、小鼠和豚鼠。其具有体积小、操作方便、来源丰富、成本低、易获取等优点^[20]。啮齿类动物中,大鼠的皮肤结构与人体皮肤最为相似,可用于体外经皮吸收实验,及透皮吸收的体内评价,但其皮肤渗透性通常高于人体皮肤,是人体皮肤的 3~5 倍^[17,21]。研究应用中,为了不影响药物经皮吸收和渗透效果,多选用无毛大鼠皮肤模型,且其腹部和背部皮肤常作为经皮渗透试验选取部位^[22]。

与大鼠及人体皮肤相比,小鼠皮肤厚度及角质层较薄,且皮肤渗透性远大于人体皮肤,因此小鼠皮肤具有更高的渗透性和较低的 SC 屏障作用^[23]。小鼠腹部毛发较少与人体皮肤结构相似,且毛孔密度接近,常用于药物经皮渗透研究,尤其是早期处方筛选中的应用^[9,24]。豚鼠皮肤厚度在经皮吸收可接受范围内,但因真皮中无汗腺与人皮有差异,渗透性大于人体皮肤,在体外经皮渗透研究中受限,但对毒物有较强的刺激反应,可用于局部皮肤毒性作用试验。

1.3 其他动物皮肤模型

灵长类动物在系统发育上最接近人类,且与人类的皮肤相似,手臂内侧、腿部、躯干等区域都相对无毛,且经皮吸收的区域差异较小,是经皮吸收理

想的动物模型^[20]。但由于涉及实验伦理及价格昂贵不易获取等原因导致其使用受到限制。

家兔、蛇等在药物经皮吸收的研究中有所报道。在体外皮肤渗透研究中,家兔的药物吸收速率较快,常用于考察药物的皮肤毒性^[25]。药物经兔皮进入血液循环效果虽较好,但其渗透性过大,作为经皮吸收的理想预测模型的应用受到限制^[6]。

此外,蛇蜕也常被作为替代皮肤模型,其特点在于蛇蜕不存在个体差异^[14];获取便捷无需伤害动物;在结构、组成、脂质含量和透水性方面证实了与人类角质层相似。但由于缺乏毛囊等原因,蛇蜕会影响药物的渗透性,因此,该模型不适合研究通过毛囊途径进行经皮药物的真皮吸收^[14]。

2 人工皮肤模型

人工皮肤模型,是一种简化人工模型膜,主要由各种类型的扩散细胞及磷脂混合物制备而成,亦称人工膜^[26]。该模型可用于测试和评估各种药物及制剂范围,提高优化局部制剂的效率。目前,国内外研发出多种人工皮肤模型,广泛应用于 TDDS 的研究。常见的人工皮肤模型有皮肤平行人工膜渗透模型(parallel artificial membrane permeation assay, PAMPA)、磷脂囊泡基质渗透模型(phospholipid vesicle-based permeation assay, PVPA)及 Strat-M™ 人工膜,3 种人工皮肤模型应用见表 2。

2.1 PAMPA 模型

早期,PAMPA 模型是由 Kansy 等^[26]以人工磷脂作为生物膜基于 96 微孔微量滴定板分析技术为基础方法制成的人工膜。具有高通量的分析效率^[1,27],模拟皮肤角质层屏障、血脑屏障等特性^[25,28]。研究表明,PAMPA 模型已广泛用于活性成分的经皮扩散及屏障渗透性研究^[29-30],其效果与人体皮肤具有较高相关性。目前,PAMPA 模型已在镇痛药、局部麻醉药、抗氧化剂、解热镇痛药抗炎

表 2 人工皮肤模型的优缺点

Table 2 Advantages and disadvantages of artificial skin models

人工皮肤模型 ^[21] Artificial skin model	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
PAMPA	高通量,渗透相关性良好 High throughput, good permeability correlation	稳定性较差,渗透途径简单 Stability is poor, the penetration path is simple
PVPA	中通量,易处理 Medium flux, easy to handle	渗透途径简单 Simple penetration path
Strat-M™	商业化,相关性良好 Commercial, good relevance	成本较高 High cost

药、胆碱酯酶抑制剂、维生素类、天然产物活性成分等类型的众多 TDDS 药物的渗透性筛选研究中广泛应用^[31]。

PAMPA 模型不仅可用于高通量筛选单体化合物、天然产物,还可用于测试 TDDS 药物透皮制剂的整体渗透性能^[32]。Vizserálek 等^[10]通过不同的透皮和局部治疗贴片中含有的 4 种不同的活性成分(尼古丁、芬太尼、利瓦斯替明和酮洛芬)对 PAMPA 模型进行体外渗透研究,结果证实了 PAMPA 模型是评估和分类透皮贴剂性能的有效工具^[10]。

综上,PAMPA 模型在一定程度能够模拟人体角质层的屏障特性,可作为预测人体皮肤渗透系数的一种快速、经济的研究工具,然而由于缺乏皮肤生物复杂性,如蛋白质、附属物、脂质和表皮的分层结构,适用范围受限,主要作为局部和经皮给药制剂的潜在预筛工具^[32]。

2.2 PVPA 模型

PVPA 模型是由 Flaten 等^[27]开发的一种以磷脂囊泡为屏障层的渗透模型,该模型可用于预测药物渗透性的中通量筛选,且在特定条件下可用于高通量筛选。其结构组成与 PAMPA 模型不同之处在于 PVPA 模型屏障由支撑膜和膜上堆积的脂质体层组成,固定在磷脂囊泡基质中,其通透性稳定不因外界干扰而增加^[1,27]。另外,PVPA 模型模拟体内吸收条件优于单层的 PAMPA 模型^[28]。

实验研究中,PVPA 模型在测试新活性物质以及各种配方的药物的渗透实验中有所应用。Engesland 等^[22]开发出不同的 PVPA 模型进行测试,验证了该模型能够穿透和区分不同亲脂性的药物,且该模型可重复生产,用于候选药物、外用配方药物及药妆品的渗透皮肤模型。

2.3 Strat-M™ 人工膜

Strat-M™ 人工膜由两层含有人造合成脂类的聚酯砜和一层聚烯烃支撑层组成,为一种模拟皮肤组织的人造膜,厚度约为 300 μm,呈现与人类皮肤相似的形态^[33]。该合成膜含有脂质(神经酰胺、胆固醇、游离脂肪酸和其他成分)的组合,其特定比例类似于人类 SC 中发现的比例^[34]。有利于 Start-M™ 充分模拟皮肤屏障性能,可作为多种药物的透皮扩散模型^[28]。

在体外渗透实验中,Haq 等^[34]利用 Strat-M™ 膜与人体皮肤进行对比,研究了不同促进剂对尼古丁透皮影响,验证了 Strat-M™ 膜与人体皮肤具有较好

的相关性,可有效代替人体皮肤。Milanowski 等^[35]也通过预测评估 5 种非甾体抗炎药(双氯芬酸、乙酯、布洛芬、酮洛芬和萘普生)透过 Strat-M™ 人工膜的体外渗透率,来优化体外渗透测试条件,表明 Strat-M™ 人工膜作为皮肤渗透模型具有一定可行性。然而 Start-M™ 人工膜也存在成本较高、不易大量使用等缺点,有待进一步改善。

3 重组人体皮肤模型

重组人体皮肤模型又称重组人体皮肤等效物,为 3D 皮肤模型,该模型由组织培养物生长的人类细胞和存在于皮肤中的基质等效物组成^[36],通常分为重组人体表皮模型(reconstructed human epidermis models, RHE)和全层皮肤模型(full-thickness humanskin models, LSE)。目前,已开发出多种重组人体皮肤模型用于测量经皮吸收^[37](表 3)。

3.1 RHE 模型

RHE 模型由角质层和活表皮组成,模拟人类表皮的重建表皮模型^[40]。目前,已上市的 RHE 模型有 EpiSin™、SkinEthic™、EpiDerm™ 等产品。这些模型的形态、脂质组成和生化标志物方面与天然人体组织具有较高相似性^[38]。且经过欧洲替代方法验证中心(ECVAM)认证,具有较高的标准化程度^[41-42]。这些模型主要用于皮肤刺激、皮肤腐蚀、光毒性、表皮遗传毒性、透皮给药、代谢等研究^[42]。

目前,有研究利用 EpiSkin™ 模型评估 87 种化学品的预测能力,研究结果证实了 EpiSkin™ 模型在评估皮肤刺激性、腐蚀性方面的可行性^[43]。Alépée 等^[44]利用 SkinEthic™ 模型进行了体外皮肤腐蚀和刺激性评估,结果较为理想。RHE 模型也具有一定局限性,如皮肤屏障功能较弱、复杂度低、测试周期短等缺点^[38]。并且与天然人体皮肤相比,这些模型具有较高的皮肤渗透性,极大地限制了在药物运输研究中的价值,并可能导致毒性研究中的一些假阳性现象。

3.2 LSE 模型

LSE 模型由角质层、活表皮、真皮或皮肤等效物组成,其形态和组织功能相较于 RHE 模型更加丰富,更接近人体皮肤特征^[16]。目前,市面上广泛应用的 LSE 模型包括 EpidermFT®、StarataTest®、Graftskin®、Phenion® FT 等,这些模型具有较高标准化,广泛用于经皮吸收测试、伤口愈合及细菌粘附等研究^[42]。但成本较高,且无法长期维持细胞培养。

表 3 重建皮肤模型应用

Table 3 Reconstructed skin model applications

模型名称 ^[38-39] Model name	公司 Corporation	应用 Applications
重建人体表皮模型 RHE Reconstructed human epidermis		
SkinEthic®	SkinEthic	皮肤腐蚀性、皮肤刺激、紫外线照射、渗透性 Skin corrosion, skin irritation, UV exposure, permeability
EpiSkin®	SkinEthic	皮肤腐蚀性、皮肤刺激性、紫外线照射、渗透性 Skin corrosion, skin irritation, UV exposure, permeability
Epiderm®	MatTek	皮肤腐蚀性、皮肤刺激性、水合作用、基因毒性、皮肤给药、光毒性 Skin corrosion, skin irritation, hydration, genotoxicity, skin administration, phototoxicity
全层皮肤模型 LSE Full-thickness skin models LSE		
EpidermFT®	MatTek	抗衰老、伤口愈合、皮肤补水、防紫外线 Anti-aging, wound healing, skin hydration, UV protection
StrataTest®	Strate Tech	毒理学、化学、物理组织损伤 Toxicological, chemical, physical tissue damage
Graftskin®	OrganogenesisInc	伤口修复、慢性溃疡、静脉曲张 Wound repair, chronic ulcers, varicose veins

在经皮吸收研究中, Ackermann 等^[45] 将 Phenion® FT 模型用于猪皮平行研究, 使用 franz 型扩散细胞量化苯甲酸、尼古丁、睾酮和咖啡因的渗透。结果表明 Phenion® FT 模型可有效代替人体皮肤, 进一步验证后可用于经皮吸收研究。此外, Groeber 等^[41] 报道, 真皮成纤维细胞可以增强角质形成细胞对有毒化学物质的抵抗力, 因此, 使用 FT 模型可从体外毒理学研究中获得更有说服力的数据。

4 展望

随着 TDDS 的广泛应用和研究, 促进了体外皮肤模型的发展。然而, 目前研究使用的体外皮肤模型存在一定局限性, 例如, 动物皮肤模型是药物经皮吸收研究的传统方法, 但存在物种差异、伦理性、无法重复利用及标准化等问题^[46-47]。

人工皮肤模型大多是以脂质成分为基质, 通过模仿皮肤的脂质组成或结构从而模拟皮肤屏障功能的模型, 作为处方快速筛选的工具, 具有高重现性、高通量、制备简单、可修饰性强等优点^[1], 但目前仅模拟人体皮肤部分生理功能, 尚无法完全还原皮肤的复杂结构。

重组人体皮肤模型相较以上两种皮肤模型能够更好的还原人体真实皮肤微环境, 提供更准确的药物经皮吸收数据, 但该模型仍无法完全模拟真实人体皮肤结构及功能, 其生物相容性和安全性还需进一步考察, 且该模型的构建和维护较为复杂和昂

贵。总之, 动物皮肤模型、人工皮肤模型和重组人体皮肤模型三者之间各有其优势及不足, 需根据实验成本、可行性及研究目的等综合考虑选择合适的皮肤模型。未来, 经皮给药的皮肤模型有望在以下方面得到进一步发展: (1) 进一步更精准模拟人体皮肤的结构与功能, 通过更精确的细胞组织模型和生物力学特性的考虑, 更准确地预测药物的透皮性能和皮肤吸收的效果^[48]; (2) 随着个体化医疗的兴起, 皮肤模型有望发展成可以根据个体特征进行定制的工具。通过结合个体的基因信息、生理参数和皮肤特性, 可以创建个体化的皮肤模型, 更精确地评估不同药物在不同个体上的透皮表现, 为经皮给药系统的研发提供新的途径。(3) 随着纳米技术、生物打印和微流控技术等领域的不断进展, 这些新技术可以被应用于皮肤模型的制备和改进。例如, 利用纳米粒子进行药物传递, 利用 3D 打印技术制备复杂的皮肤结构以及利用微流控技术实现更精确的模拟等^[49-50]。

总而言之, 皮肤模型未来的进展将伴随经皮给药系统的研究, 建立起更精准、个体化、功能更加完善的皮肤模型, 为经皮给药系统的研究和应用提供更大的帮助, 推动药物传递技术的进步以及为皮肤病治疗领域带来更多突破。

参考文献:

- [1] 张会, 陈军, 蒋秋冬, 等. 脂质人工皮肤膜的研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(10): 780-785.

- ZHANG H, CHEN J, JIANG Q D, et al. Advances in research on lipid artificial skin membrane [J]. Chin Pharm J, 2016, 51(10): 780-785.
- [2] 余晨曦, 高会乐. 经皮给药技术用于脑靶向药物递送 [J]. 药学学报, 2023, 58(8): 2334-2340.
- YU C X, GAO H L. Transdermal drug delivery technology for brain-targeted drug delivery [J]. Acta Pharm Sin, 2023, 58(8): 2334-2340.
- [3] VILELA DE SOUSA I, FERREIRA M J S, BEBIANO L B, et al. Skin models of cutaneous toxicity, transdermal transport and wound repair [J]. Burns Trauma, 2023, 11: tkad014.
- [4] SHAKEL Z, NUNES C, COSTA LIMA S A, et al. Development of a novel human stratum corneum model, as a tool in the optimization of drug formulations [J]. Int J Pharm, 2019, 569: 118571.
- [5] 吴玥, 王珏, 冯婷婷, 等. 基于动物模型的药物筛选数据库的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(6): 778-786.
- WU Y, WANG J, FENG T T, et al. Construction of a drug screening database based on animal models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(6): 778-786.
- [6] 朱慧勇, 武余波, 卢望丁, 等. 用于经皮给药系统研究的皮肤模型与关键质量控制 [J]. 中国医药工业杂志, 2022, 53(5): 591-600.
- ZHU H Y, WU Y B, LU W D, et al. Skin models and critical quality control for the studies of transdermal drug delivery systems [J]. Chin J Pharm, 2022, 53(5): 591-600.
- [7] 李子祥, 邱华明, 吴延军, 等. 小型猪在中医动物模型中的应用研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(9): 1186-1193.
- LI Z X, QIU H M, WU Y J, et al. Progress in the application of minipigs as animal models of Chinese medicine [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(9): 1186-1193.
- [8] 吴玥, 薛婧, 魏强, 等. 国家动物模型资源共享信息平台的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(8): 1080-1086.
- WU Y, XUE J, WEI Q, et al. Establishment of national infrastructure for an animal model resource platform [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(8): 1080-1086.
- [9] SUPE S, TAKUDAGE P. Methods for evaluating penetration of drug into the skin: a review [J]. Skin Res Technol, 2021, 27(3): 299-308.
- [10] VIZSERÁLEK G, BERKÓ S, TÓTH G, et al. Permeability test for transdermal and local therapeutic patches using Skin PAMPA method [J]. Eur J Pharm Sci, 2015, 76: 165-172.
- [11] 罗世英, 陈华萍. 透皮吸收常用的几种实验动物 [J]. 中国药业, 2004, 13(4): 74-75.
- LUO S Y, CHEN H P. Several experimental animals commonly used for transdermal absorption [J]. China Pharm, 2004, 13(4): 74-75.
- [12] RANAMUKHAARACHCHI S A, LEHNERT S, RANAMUKHAARACHCHI S L, et al. A micromechanical comparison of human and porcine skin before and after preservation by freezing for medical device development [J]. Sci Rep, 2016, 6: 32074.
- [13] 石兴勇, 王吉, 陈斌. 我国实验小型猪的发展现状及展望 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 104-109.
- SHI X Y, WANG J, CHEN B. Current status and prospect of research of experimental miniature swine in China [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(1): 104-109.
- [14] FLATEN G E, PALAC Z, ENGESLAND A, et al. *In vitro* skin models as a tool in optimization of drug formulation [J]. Eur J Pharm Sci, 2015, 75: 10-24.
- [15] GODIN B, TOUITOU E. Transdermal skin delivery: predictions for humans from *in vivo*, *ex vivo* and animal models [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59(11): 1152-1161.
- [16] NEVES L M G, WILGUS T A, BAYAT A. *In vitro*, *ex vivo*, and *in vivo* approaches for investigation of skin scarring: human and animal models [J]. Adv Wound Care, 2023, 12(2): 97-116.
- [17] SUMMERFIELD A, MEURENS F, RICKLIN M E. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin [J]. Mol Immunol, 2015, 66(1): 14-21.
- [18] SEKKAT N, KALIA Y N, GUY R H. Porcine ear skin as a model for the assessment of transdermal drug delivery to premature neonates [J]. Pharm Res, 2004, 21(8): 1390-1397.
- [19] SINTOV A C. Cumulative evidence of the low reliability of frozen/thawed pig skin as a model for *in vitro* percutaneous permeation testing [J]. Eur J Pharm Sci, 2017, 102: 261-263.
- [20] JUNG E C, MAIBACH H I. Animal models for percutaneous absorption [J]. J Appl Toxicol, 2015, 35(1): 1-10.
- [21] BARBERO A M, FRASCH H F. Pig and guinea pig skin as surrogates for human *in vitro* penetration studies: a quantitative review [J]. Toxicol In Vitro, 2009, 23(1): 1-13.
- [22] ENGESLAND A, SKAR M, HANSEN T, et al. New applications of phospholipid vesicle-based permeation assay: permeation model mimicking skin barrier [J]. J Pharm Sci, 2013, 102(5): 1588-1600.
- [23] DELLAMBRA E, ODORISIO T, D'ARCANGELO D, et al. Non-animal models in dermatological research [J]. ALTEX, 2019, 36(2): 177-202.
- [24] GROEBER F, HOLEITER M, HAMPEL M, et al. Skin tissue engineering—*in vivo* and *in vitro* applications [J]. Clin Plast Surg, 2012, 39(1): 33-58.
- [25] NICOLI S, PADULA C, AVERSA V, et al. Characterization of rabbit ear skin as a skin model for *in vitro* transdermal permeation experiments: histology, lipid composition and permeability [J]. Skin Pharmacol Physiol, 2008, 21(4): 218-226.
- [26] KANSY M, SENNER F, GUBERNATOR K. Physicochemical high throughput screening: parallel artificial membrane permeation assay in the description of passive absorption processes. J Med Chem. 1998, 41(7): 1007-1010.
- [27] FLATEN G E, BUNJES H, LUTHMAN K, et al. Drug permeability across a phospholipid vesicle-based barrier 2. Characterization of barrier structure, storage stability and stability

- towards pH changes [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2006, 28(4): 336–343.
- [28] FALAVIGNA M, KLITGAARD M, BRASE C, et al. Mucus-PVPA (mucus Phospholipid Vesicle-based Permeation Assay): an artificial permeability tool for drug screening and formulation development [J]. *Int J Pharm*, 2018, 537(1/2): 213–222.
- [29] 马敏, 瞿叶清, 爻叶婷, 等. 应用复合磷脂脂质体人工皮肤膜表征香附四物汤活性部位生物药剂学性质 [J]. *中草药*, 2018, 49(5): 1048–1055.
- MA M, QU Y Q, SHU Y T, et al. Study on biopharmaceutical properties of active fraction from Xiangfu Siwu Decoction by composite phospholipid liposome-based artificial skin membrane [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2018, 49(5): 1048–1055.
- [30] BOUWSTRA J A, HELDER R W J, EL GHALBZOURI A. Human skin equivalents: impaired barrier function in relation to the lipid and protein properties of the stratum corneum [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 175: 113802.
- [31] 宋三孔, 白银亮, 梁建娣. 平行人工膜渗透模型在经皮给药系统药物渗透性筛选中的应用进展 [J]. *中国药房*, 2023, 34(4): 502–507.
- SONG S K, BAI Y L, LIANG J D. Application progress of parallel artificial membrane permeation assay model in drug permeability screening of transdermal drug delivery system [J]. *China Pharm*, 2023, 34(4): 502–507.
- [32] NEUPANE R, BODDU S H S, RENUKUNTLA J, et al. Alternatives to biological skin in permeation studies: current trends and possibilities [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(2): 152.
- [33] KUNITA R, NISHIJIMA T, TODO H, et al. A mathematical approach using Strat-M[®] to predict the percutaneous absorption of chemicals under finite dose conditions [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(7): 1370.
- [34] HAQ A, GOODYEAR B, AMEEN D, et al. Strat-M[®] synthetic membrane: Permeability comparison to human cadaver skin [J]. *Int J Pharm*, 2018, 547(1–2): 432–437.
- [35] MILANOWSKI B, WOSICKA-FRĄCKOWIAK H, GŁÓWKA E, et al. Optimization and evaluation of the *in vitro* permeation parameters of topical products with non-steroidal anti-inflammatory drugs through Strat-M[®] membrane [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(8): 1305.
- [36] ZHANG Y, LANE M E, HADGRAFT J, et al. A comparison of the *in vitro* permeation of niacinamide in mammalian skin and in the Parallel Artificial Membrane Permeation Assay (PAMPA) model [J]. *Int J Pharm*, 2019, 556: 142–149.
- [37] VAN GELE M, GEUSENS B, BROCHEZ L, et al. Three-dimensional skin models as tools for transdermal drug delivery: challenges and limitations [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8(6): 705–720.
- [38] PLAZA C, MEYRIGNAC C, BOTTO J M, et al. Characterization of a new full-thickness *in vitro* skin model [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2021, 27(7): 411–420.
- [39] VARGA-MEDVECKY Z, KOCSIS D, NASZLADY M B, et al. Skin-on-a-chip technology for testing transdermal drug delivery-starting points and recent developments [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(11): 1852.
- [40] GARCIA M T J, DE VASCONCELLOS F L L, RAFFIER C P, et al. Alternative methods to animal studies for the evaluation of topical/transdermal drug delivery systems [J]. *Curr Top Med Chem*, 2018, 18(4): 287–299.
- [41] GROEBER F, HOLEITER M, HAMPEL M, et al. Skin tissue engineering—*in vivo* and *in vitro* applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(4–5): 352–366.
- [42] SUHAIL S, SARDASHTI N, JAISWAL D, et al. Engineered skin tissue equivalents for product evaluation and therapeutic applications [J]. *Biotechnol J*, 2019, 14(7): e1900022.
- [43] ALÉPÉE N, GRANDIDIER M H, COTOVIO J. Usefulness of the EpiSkin[™] reconstructed human epidermis model within Integrated Approaches on Testing and Assessment (IATA) for skin corrosion and irritation [J]. *Toxicol In Vitro*, 2019, 54: 147–167.
- [44] ALÉPÉE N, GRANDIDIER M H, TORNIER C, et al. An integrated testing strategy for *in vitro* skin corrosion and irritation assessment using SkinEthic[™] Reconstructed Human Epidermis [J]. *Toxicol In Vitro*, 2015, 29(7): 1779–1792.
- [45] ACKERMANN K, BORGIA S L, KORTING H C, et al. The Phenion full-thickness skin model for percutaneous absorption testing [J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2010, 23(2): 105–112.
- [46] 张道涵, 邵红霞. 实验动物非麻醉安乐死技术的伦理学探讨 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(3): 82–89.
- ZHANG D H, SHAO H X. Ethical analysis of non-anesthetic euthanasia for experimental animals [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(3): 82–89.
- [47] 杜冠华. 药物临床前研究与转化医学——实验动物的应用与动物实验 [J]. *中国比较医学杂志*, 2011, 21(10): 24–26.
- DU G H. The application of experimental animal in the drug preclinical research and translational medicine [J]. *Chin J Comp Med*, 2011, 21(10): 24–26.
- [48] 金荣华. 三维生物打印脱细胞真皮基质及甲基丙烯酸酯化明胶构建全层皮肤的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- JIN R H. Three-dimensional bioprinting of a full-thickness functional skin model using acellular dermal matrix and gelatine methacrylamide bioink [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021.
- [49] 李欢. 基于深度学习图像分割算法的生物 3D 打印皮肤组织修复研究 [D]. 杭州: 杭州电子科技大学, 2021.
- LI H. Research on skin tissue repair of biological 3D printing based on deep learning image segmentation algorithm [D]. Hangzhou: Hangzhou Dianzi University, 2021.
- [50] 解雨馨, 彭慧玲, 先德海, 等. 体外银屑病样三维皮肤模型的构建 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2023, 37(3): 284–290.
- XIE Y X, PENG H L, XIAN D H, et al. Study on establishment of psoriasis-like three-dimensional skin model *in vitro* [J]. *Chin J Dermatovenereol*, 2023, 37(3): 284–290.