

## 中药生物碱类成分贴剂的研究进展

王 绚<sup>1,2,3,4,5</sup>, 陈 军<sup>1,2</sup>, 蔡宝昌<sup>2,3,4,5\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046
2. 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210029
3. 南京中医药大学 国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210029
4. 国家中医药管理局中药炮制标准重点研究实验室, 江苏 南京 210029
5. 南京海昌中药集团, 江苏 南京 210061

**摘 要:** 经皮给药系统因其优点显著是目前研究的热点。从中药生物碱类成分贴剂这一角度出发, 从基质、促渗剂、透皮实验研究(体外释放度、体外透皮实验、体内透皮吸收实验)3个方面综述了生物碱类成分贴剂的研究进展, 并从基本原理、特性、选择规律、适应性等方面进行分析比较; 还对透皮制剂的前景如新方法、新技术等进行了展望和探讨, 以期生物碱类药物经皮给药系统的开发提供一定的思路和参考。

**关键词:** 生物碱; 贴剂; 基质; 促渗剂; 透皮吸收

中图分类号: R283.3 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)09-1857-05

## Advances in studies on patch with alkaloids of Chinese materia medica

WANG Xuan<sup>1,2,3,4,5</sup>, CHEN Jun<sup>1,2</sup>, CAI Bao-chang<sup>2,3,4,5</sup>

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China
2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Materia Medica Processing, Nanjing 210029, China
3. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China
4. Key Laboratory of State Administration of TCM for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210029, China
5. Nanjing Haichang Chinese Medicine Group Corporation, Nanjing 210061, China

**Key words:** alkaloids; patch; matrix; penetration enhancer; percutaneous absorption

生物碱在各类中药化学成分中极具代表性, 如青藤碱、乌头碱、马钱子碱等均为具有显著抗炎、抗风湿、镇痛作用的生物碱类活性成分。经皮给药是药物通过皮肤经毛细血管吸收进入体循环产生药效的一种方法, 它可避免肝脏的首过效应, 改善半衰期较短药物的治疗效果, 能较长时间维持恒定的吸收速率, 因此受到了广泛的关注。近几年对生物碱经皮给药制剂研究较多, 如凝胶、乳膏、巴布剂、贴剂等, 其中以贴剂研究为热点。

本文从生物碱类贴剂的角度出发, 综述和比较了贴剂制备中的基质、促渗剂、透皮吸收实验研究, 并对透皮制剂研究的前景进行了探讨, 以期生物碱类药物经皮给药系统的发展提供思路。

### 1 透皮贴剂的基质

贴剂一般都有背衬膜、含药基质、胶黏剂和保护膜等数层结构。按其结构可分为贮库型(reservoir)和骨架型(matrix)两大类, 常用压敏胶基质。

压敏胶(pressure sensitive adhesive, PSAs)系指在轻压力下即能产生黏附而移去时无残留物的一类黏性聚合物<sup>[1]</sup>。它能保证经皮贴剂与皮肤保持紧密接触, 使药物的皮肤渗透按设计的速率进行。另外, 它还可作为载药贮库或黏性控释材料<sup>[2]</sup>。常用的 PSAs 为聚丙烯酸酯类和聚异丁烯类。一般根据药物在压敏胶基质中的溶解度、分散系数和渗透系数来选择各种压敏胶<sup>[3]</sup>。常明明<sup>[4]</sup>选择了不同类型

收稿日期: 2010-12-25

基金项目: 国家科技部“十一五”重大新药创制专项项目(2009ZX09103-342)

作者简介: 王 绚(1988—), 女, 研究方向为中药新剂型与药物动力学。E-mail: xuan\_jeanne@163.com

\*通讯作者 蔡宝昌 Tel: (025)85811112 E-mail: bccai@126.com

的压敏胶(丙烯酸酯型压敏胶及热熔型压敏胶)制备了不同中药(延胡索乙素、乌头碱等)压敏胶贴剂,通过对体外释放行为的规律研究,探讨压敏胶基质中不同组成对标示成分体外释放的影响。发现在丙烯酸酯型压敏胶中,延胡索乙素和乌头碱的释放不如芍药苷和人参皂苷  $R_{g1}$ , 在热熔型压敏胶中,小分子的延胡索乙素释放较快,而皂苷类物质释放减少。说明药物的相对分子质量越小,与基质间相互作用越弱,接收介质越容易渗入基质,有效成分释放速率越高。热熔型压敏胶对不同成分释放的适应性比较好,而丙烯酸酯压敏胶对不同类型成分释放的影响具有更明显的选择性。因此,热熔型压敏胶在中药贴剂新剂型的研发中受到了越来越多的重视<sup>[5]</sup>。同时,生物碱与丙烯酸酯压敏胶骨架中的羧基基团之间的相互作用可能会阻碍药物的释放,且接受介质进入极性的丙烯酸酯压敏胶中,并不十分有利于脂溶性生物碱的释放。相比之下,水溶性生物碱与压敏胶基团间相互作用较弱,便于从丙烯酸酯压敏胶中分子链之间较大的空隙中释放出来<sup>[6]</sup>。

但是,综合考虑到载药量、黏附性能、渗透性能等因素,目前制备的生物碱类贴剂基质仍多为聚丙烯酸酯类。邱琳等<sup>[7]</sup>以聚丙烯酸酯压敏胶为基质制备的川芎嗪贴剂在临床上广泛用于治疗心脑血管疾病,提高了川芎嗪临床的疗效。另外,市场上的痹痛宁贴剂(主要成分为乌头碱和东莨菪碱)也是典型的以聚丙烯酸酯压敏胶为基质组成的复方制剂。

## 2 促渗剂

经皮给药的最大屏障是皮肤,所以药物要穿透皮肤起到预防或治疗作用,要求药物具有一定的透皮速率。因此,提高药物的透皮速率是开发经皮给药系统的关键。目前透皮制剂的研究多使用促渗剂,相比其他促渗方法(如离子导入法),它可以满足工业化生产的需要。常用的促渗剂主要分为有机醇类、酯类、氮酮、萜烯类等。目前生物碱类贴剂使用最多的促渗剂是氮酮,已证明其只在适宜浓度时才发挥最佳的促渗作用。

目前对生物碱类贴剂促渗剂的研究多以游离药物为主,如胡椒碱<sup>[8]</sup>、盐酸小檗碱<sup>[9]</sup>、青藤碱<sup>[10]</sup>、川乌总生物碱和新乌头碱<sup>[11]</sup>等。翁伟宇<sup>[12]</sup>重点考察了草乌甲素硅酮压敏胶中氮酮和油酸的促透效果。结果表明,氮酮和油酸对草乌甲素均有促透作用,鉴于油酸起效所需的时间较长,选用氮酮较为合理,用量以不高于7%为宜。生物碱类贴剂多采用氮酮为促渗剂,可能是因为氮酮能增加细胞双分子层的流动性,降低相变温度,促进生物碱类药物在细胞间的扩散。但是氮酮对小鼠皮肤有一定的刺激作用,遇强碱可开环,与某些有机药物可能形成络合物,影响药物的生理活性,因此在制备季胺碱等碱性较强的贴剂时,尽量避免使用氮酮作为促渗剂。王岩等<sup>[13]</sup>制备的新型青藤碱脂质体贴剂不宜加入促渗剂,促渗剂可导致脂质体双分子层结构破坏,引起药物渗漏,不利于药物在皮肤及局部组织的蓄积。因此,在选择生物碱贴剂的促渗剂时,应结合药物性质和具体的处方组成进行筛选。部分生物碱类贴剂基质和促渗剂见表1。

表1 生物碱类贴剂基质和促渗剂的比较

Table 1 Comparison on matrix and penetration enhancers of patch with alkaloids

| 药 物                                | 基质组成                                      | 促渗剂                                                    |
|------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 痹痛宁贴剂 <sup>[14]</sup>              | PVA、PVP、聚丙烯酸酯压敏胶                          | 甘油、丙二醇、氮酮                                              |
| 青藤碱贴剂 <sup>[15]</sup>              | 压敏胶 DURO-TAK87-2677、<br>DURO-TAK87-4098   | 单用15%肉豆蔻酸异丙酯促渗作用最强,10%<br>肉豆蔻酸异丙酯+5%薄荷醇协同使用促渗<br>效果最明显 |
| 尼古丁 $\beta$ -环糊精贴剂 <sup>[16]</sup> | 聚丙烯酸树脂(EUDRAGITE E100)、PVA、<br>卡波姆、CMC-Na | 1,2-丙二醇                                                |
| 马钱子贴剂 <sup>[17]</sup>              | 聚丙烯酸酯压敏胶(EUDRAGITE E100)、<br>癸二酸二丁酯       | 薄荷脑                                                    |

## 3 透皮吸收实验研究

药物经皮渗透分两步,第一步是药物从载药系统中释放出来,第二步是释放出来的药物透过皮肤

进入血液循环。中药透皮制剂成分复杂,通常是通过测定某单一有效成分的渗透速率来评价其透皮效果。透皮吸收实验主要分为以下3个部分。

### 3.1 体外释放度研究

贴剂的溶出度或释放度测定在一定程度上可反映药物在经皮给药装置中的传递性能,为评价给药过程的限速步骤提供了参考数据。经皮给药系统的体外释放度测定,是外用贴膏基质释放性能的主要参数。常用的测定方法有扩散池法和溶出仪法。《中国药典》规定的有桨碟法(溶出度测定法第3法)。《美国药典》收载的方法有桨法、转筒法和圆片升降法,这些方法不仅要求严格,操作复杂,重现性不好,而且释放仪需要新的配件,不利于推广使用<sup>[18]</sup>。刘继勇等<sup>[14]</sup>采用扩散池法与溶出仪法对痹痛宁贴剂的体外释放度进行了测定,结果基本相同,贴剂在 24 h 内,药物累积释放率超过 90%。贴剂的体外释药量随时间为一递增过程,释药曲线符合骨架型结构的 Higuchi 方程的扩散模式。两种方法所测得的东莨菪碱和乌头碱的释药方程基本一致,但在实际操作中,扩散池法取样较为麻烦,贴剂易滑落,误差较大;溶出仪法操作方便,误差较小。

### 3.2 体外透皮实验

体外透皮实验可以明确中药的有效成分有无渗透性,以及透过皮肤的渗透动力学与皮肤内代谢动力学特点,介质、促渗剂等条件对其吸收的影响。

研究表明,皮肤的表皮、真皮和皮下组织各层,其厚薄程度随机体不同部位而异,药物以被动扩散

方式透过皮肤时,渗透速率取决于皮肤的厚度和屏障结构的完整性,大多数动物皮肤较人皮肤易于穿透。目前大多数研究认为裸鼠皮肤结构与人相似,其毛囊数目和直径与人皮肤最为接近,故近年来被广泛地应用于透皮吸收研究。刘强等<sup>[19]</sup>比较了青藤碱渗透小鼠皮肤、裸鼠皮肤、家兔皮肤、大鼠皮肤、猪耳皮肤及人体皮肤的透皮吸收行为,以裸鼠及猪耳皮肤的透皮速率常数与人体皮肤较为接近。

刘文静等<sup>[16]</sup>将尼古丁经  $\beta$ -环糊精包合后,采用聚丙烯酸树脂 EUDRAGIT E100 为控释骨架和压敏胶材料,利用 Franz 扩散池研究尼古丁贴剂透过小鼠背部皮肤的透皮释药行为。结果表明,体外释药行为符合 Higuchi 方程,且释药速率可通过改变促渗剂的用量来进行调控。王亚静<sup>[17]</sup>采用改良 Franz 扩散池研究马钱子贴剂和巴布剂透过小鼠腹部皮肤的渗透性,结果表明贴剂释放稳定、持久,释放速率较快,而巴布剂的透皮速率小于贴剂,稳定释放期进入较慢,24 h 累计释放量小于贴剂。李文兰等<sup>[20]</sup>采用改良的 Franz 扩散池,以生理盐水为接收介质,以大鼠离体背部皮肤为透皮屏障对比研究 4 种不同骨架型乌头总碱贴片的透皮吸收行为,综合稳态流量和滞后时间,认为黏胶剂骨架型是乌头总碱经皮给药制剂的理想设计模型。一些生物碱类贴剂体外透皮模型见表 2。

表 2 生物碱类贴剂体外透皮吸收模型的比较

Table 2 Comparison on percutaneous absorption models *in vitro* of patch with alkaloids

| 药 物                                | 扩散介质温度和种类            | 透皮时间/h | 动物皮肤模型                      |
|------------------------------------|----------------------|--------|-----------------------------|
| 川芎嗪压敏胶贴剂 <sup>[7]</sup>            | 37 ℃ 蒸馏水             | 24     | 大鼠背部皮肤                      |
| 痹痛宁贴剂 <sup>[14]</sup>              | 32 ℃ 含有 30%无水乙醇的生理盐水 | 24     | 大鼠腹部皮肤                      |
| 青藤碱压敏胶分散型贴剂 <sup>[15]</sup>        | 32 ℃ pH 7.4 的磷酸缓冲液   | 12     | 大鼠腹部皮肤                      |
| 尼古丁 $\beta$ -环糊精贴剂 <sup>[16]</sup> | 37 ℃ 生理盐水            | 48     | 小鼠背部皮肤                      |
| 乌头总生物碱贴片 <sup>[20]</sup>           | 37 ℃ 生理盐水            | 24     | 大鼠背部皮肤                      |
| 延胡索乙素贴剂 <sup>[21]</sup>            | 37 ℃ 生理盐水            | 24     | 大白兔背腹部皮肤                    |
| 青藤碱脂质体贴剂 <sup>[22]</sup>           | 32 ℃ pH 6.8 的磷酸缓冲液   | 24     | 正常大鼠背部、腹部皮肤和<br>去角质层背部、腹部皮肤 |

### 3.3 体内透皮吸收实验

体外透皮实验的结果与体内吸收有一定的差异,因此要进行体内研究。体内透皮吸收可以更客观、真实地反映药物的透皮吸收情况,但实验操作复杂、影响因素多、难度大,因此研究体外法与体内法的相关性,对于完善体外法具有重要意义。

刘建平<sup>[23]</sup>研究氨茶碱贴剂对家兔在不同皮

肤部位给药后的经皮吸收及药动学行为,首次提出了氨茶碱在皮肤不同部位的经皮吸收存在差异,穴位给药有助于氨茶碱经皮吸收。张英丰等<sup>[24]</sup>以佐剂性关节炎大鼠为研究对象,以 HPLC-UV 为检测手段研究青藤碱贴剂在病理状态下的药动学规律,药动学参数显示血药浓度达峰时间约 10 h,血药浓度峰值约 455 ng/mL,体内滞留时间约 24 h,说明青

藤碱贴剂作用缓和、血药浓度波动较小、体内滞留和药效维持时间较长, 具有较好的临床指导意义。生物碱类贴剂与参比制剂药动学比较见表 3。

#### 4 结语与展望

鉴于生物碱类成分在抗癌、镇痛、抗风湿性关节炎、抗心律失常等重大疾病治疗方面具有重要应

表 3 生物碱类贴剂与参比制剂药动学比较

Table 3 Comparison on pharmacokinetics of patch with alkaloids and reference preparation

| 药 物                          | 参比制剂        | 贴剂部位                 | 药动结果                                                   |
|------------------------------|-------------|----------------------|--------------------------------------------------------|
| 环维黄杨星 D 贴剂 <sup>[25]</sup>   | 静脉注射液、口服灌胃液 | 新西兰兔腹部               | 透皮贴剂中环维黄杨星 D 的绝对生物利用度与口服灌胃液相比无显著性差异                    |
| 氨茶碱贴片 <sup>[26]</sup>        | 氨茶碱软膏剂      | 日本种大耳白兔腹部            | 血浓符合一室模型, 贴片与同剂量的软膏剂生物等效                               |
| 麻黄碱和麻黄碱提取物贴剂 <sup>[27]</sup> | 互相比对        | 荷兰种幼年豚鼠背部脊柱两侧第三胸椎对称处 | 麻黄碱的峰浓度 $C_{\max}$ 和血药浓度-时间曲线下面积 AUC 较麻黄提取物的相应值大       |
| 磷酸川芎嗪贴剂 <sup>[28]</sup>      | 磷酸川芎嗪片剂     | 健康男性受试者上臂内侧皮肤        | 单次使用贴剂与口服片剂各药动学参数生物不等效, 多次给药后贴剂能明显降低血药浓度的波动, 具有显著的控释特征 |
| 苦参总碱贴片 <sup>[29]</sup>       | 苦参总碱注射剂     | 大鼠左胸处                | 贴片在体内为一级吸收双室模型药物, 药效持久、稳定。贴片的吸收速率与消除速率小于注射剂            |

用, 中药生物碱类成分贴剂的研究已经成为热点, 并且该类制剂的研究一直走在经皮给药研究的前列, 在工艺处方、体外透皮、体内药动学等方面具有一定的共性, 对其他生物碱类贴剂的研究有新的启发和借鉴。

目前贴剂的研究中新方法、新技术层出不穷, 如同位素示踪法能解决有效成分难以定量的缺点并且有助于监测体内代谢产物, 有助于完善透皮吸收方法和药理毒理研究; 微透析技术作为一种测定组织细胞外液中游离药物浓度的一种连续、实时、在体的取样分析技术, 结合高灵敏度的检测仪器, 可准确地测定局部的瞬间药物浓度。凌家俊等<sup>[30]</sup>利用微透析技术对青藤碱脂质体贴剂进行了生物利用度及生物等效性研究。张英丰等<sup>[31]</sup>将微透析技术与同位素示踪法联用, 以 HPLC-UV 和液闪计数器为检测工具, 将线性微透析探针植入大鼠皮下组织, 采用释放量法测定青藤碱皮肤相对损失率, 实时、活体、动态监测青藤碱皮下组织浓度, 进行青藤碱贴剂的皮肤局部药动学研究。结果显示皮肤药物达峰时间约 6.3 h, 平均滞留时间 (MRT) 约 18 h, 半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 约 10 h, 表明青藤碱制备成贴剂后可长时间、平稳地渗入并滞留于局部组织中, 更有效地治疗疾病。同时还可以采用现代新型制剂技术进行缓释控释研究, 如对原料进行环糊精包合, 用脂质体

作为药物的载体及控制药物向皮肤各层释放的贮库<sup>[32]</sup>, 或者使用更好的促渗剂等。

#### 参考文献

- [1] Chol H K. Composition for transdermal delivery system containing nonsteroidal anti-inflammatory drug as an active ingredient [P]. EP: 0827741 A2, 1998-05-20.
- [2] Chien Y W. *Transdermal Controlled Systemic Medications* [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1987.
- [3] Chien Y W. *Novel Drug Delivery Systems* [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1992.
- [4] 常明明. 不同压敏胶基质对中药贴剂的适应性研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2009.
- [5] 王承潇, 汤秀珍, 沈平嫔, 等. 热熔压敏胶应用于中药贴剂的研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 496-499.
- [6] 龚志超, 董岸杰, 邓联东. 用于药物透皮吸收制剂的压敏胶的新进展 [J]. 化学工业与工程, 2002, 19(6): 437-441.
- [7] 邱琳, 汪晴, 张俭, 等. 压敏胶贴剂中川芎嗪的结晶抑制及经皮动力研究 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(21): 1642-1646.
- [8] 王丽, 郑妮, 方亮, 等. 渗透促进剂对葎苈提取物中胡椒碱体外经皮吸收的影响 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(1): 20-23.
- [9] 曾爱国, 程秀云, 王云彩, 等. 促渗剂对盐酸小檗碱体外经皮渗透的影响 [J]. 西安交通大学学报, 2004, 25(4): 360-365.

- [10] 李伟泽, 郝保华, 邓周虎, 等. 电致孔条件下不同促渗剂对青藤碱透皮吸收的影响 [J]. 中草药, 2006, 37(12): 1790-1792.
- [11] 李文兰, 王艳萍, 季宇彬, 等. 渗透促进剂对川乌总生物碱和新乌头碱透皮吸收的影响 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(17): 1316-1319.
- [12] 翁伟宇. 草乌甲素经皮渗透特性及其透皮给药系统的研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2003.
- [13] 王 岩, 周莉玲, 凌家俊. 促渗剂对青藤碱脂质体透皮贴剂经皮渗透的影响 [J]. 中药材, 2005, 28(7): 567-569.
- [14] 刘继勇, 田景振, 胡晋红. 痹痛宁透皮贴剂体外释放度测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(12): 711-713.
- [15] 杨永钢, 赵利刚, 杨永铁, 等. 青藤碱压敏胶分散型贴剂的制备及体外经皮渗透性考察 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(1): 11-14.
- [16] 刘文静, 魏玉辉, 宋玉琴. 尼古丁缓释贴剂的制备及体外透皮释药评价 [J]. 中国新药杂志, 2009, 18(8): 755-758.
- [17] 王亚静. 马钱子透皮吸收制剂的研究 [D]. 天津: 天津大学, 2006.
- [18] Narasimha M S, Hiremath S R, Paranjothy K L. Evaluation of carboxymethyl guar films for the formulation of transdermal therapeutic systems [J]. *Int J Pharm*, 2004, 272(1/2): 11-18.
- [19] 刘 强, 万新祥, 黄小平, 等. 青藤碱渗透不同动物皮肤的行为研究 [J]. 广州医高专学报, 1999, 22(1): 13-15.
- [20] 李文兰, 徐 栋, 王艳萍, 等. 不同骨架型乌头总生物碱贴片的经皮渗透性比较研究 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(2): 138-142.
- [21] 徐 剑, 张智豪, 张永萍. 延胡索乙素处方研究 [J]. 中南药学, 2008, 6(2): 148-150.
- [22] 张英丰, 汪小根, 周莉玲. 大鼠皮肤角质层对青藤碱脂质体贴剂透皮吸收的影响 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1322-1324.
- [23] 刘建平, 陆晓红, 杨 彬. 氨茶碱贴剂经皮吸收及药代动力学研究 [J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(6): 521-523.
- [24] 张英丰, 周莉玲. 利用佐剂性关节炎大鼠进行青藤碱贴剂的药动学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(5): 123-126.
- [25] 李秀梅, 周莉玲, 于 洋. 环维黄杨星D透皮贴剂的药动学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(3): 231-233.
- [26] 姜玲黎, 吴明珩, 唐 澜, 等. 氨茶碱贴片相对生物利用度与药动学研究 [J]. 医药导报, 2008, 27(2): 172-173.
- [27] 李西林, 徐莲英. 麻黄透皮贴剂在豚鼠体内的药物动力学 [J]. 中成药, 2006, 28(7): 944-946.
- [28] 沈 腾, 徐惠南, 翁伟宇, 等. 磷酸川芎嗪贴的药代动力学与及相对生物利用度研究 [A]. 2006 第六届中国药学会学术年会论文集 [C]. 广州: 中国药学会, 2006.
- [29] 程立华. 苦参总碱贴片的药动学与药效学研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2002.
- [30] 凌家俊, 王 岩, 谢 波, 等. 利用微透析技术进行青藤碱贴剂的生物等效性研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2482-2485.
- [31] 张英丰, 于 洋, 周莉玲. 微透析技术-同位素示踪法联用进行青藤碱贴剂的皮肤局部药代动力学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 147-151.
- [32] Moghimi S M, Patel H M. Current progress and future prospects of liposomes in dermal drug delivery [J]. *Meroencapsulation*, 1993, 10(2): 155-162.