

外用半固体制剂的体外释放试验和等效性评价

邵鹏^{1,2}, 郑金琪^{1,2}, 潘芳芳^{1,2}, 梁文权^{3*}, 高建青³, 洪利娅^{1,2*} (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 2.国家药品监督管理局仿制药评价关键技术重点实验室, 杭州 310052; 3.浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 外用半固体制剂包括乳膏剂、软膏剂和凝胶剂等。药物活性成分(active pharmaceutical ingredient, API)的释放对于外用半固体制剂的质量影响至关重要, 药物释放在很大程度上取决于其配方组成和制备过程。体外释放试验(*in vitro* release test, IVRT)可用于评估 API 的释放速率, 检测由于制剂变化或 API 理化性质的差异而可能引起的释放速率之间的不同。已有大量研究表明, IVRT 方法参数的差异会影响 IVRT 结果, 因此保持 IVRT 方法参数的一致性才能保证结果的可靠。本文讨论了 IVRT 方法开发和验证, 及关于半固体制剂仿制药等效性评价的实验和数据统计分析方法。

关键词: 半固体制剂; 体外释放试验; 等效性; 扩散池; 统计分析

中图分类号: R944 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)20-2481-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.20.001

引用本文: 邵鹏, 郑金琪, 潘芳芳, 等. 外用半固体制剂的体外释放试验和等效性评价[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(20): 2481-2487.

In Vitro Release Tests and Equivalence Evaluation for Topical Semisolid Dosage Forms

SHAO Peng^{1,2}, ZHENG Jinqi^{1,2}, PAN Fangfang^{1,2}, LIANG Wenquan^{3*}, Gao Jianqing³, HONG Liya^{1,2*} (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 2.NMPA Key Laboratory for Core Technology of Generic Drug Evaluation, Hangzhou 310052, China; 3.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: Topical semisolid dosage forms include cream, ointment and gel. The release of active pharmaceutical ingredient (API) is of critical importance for the quality of topical semisolid drug products. Their drug release depends largely on the formulation and manufacturing process. *In vitro* release test (IVRT) can be used to evaluate the release rate of API, and to detect the difference between the release rate that may be caused by the changes in the formulation and the differences in the physical and chemical properties of API. A large number of studies have shown that differences in IVRT method parameters will affect the IVRT results, so the consistency of the IVRT method parameters can ensure the reliability of the results. This article discusses development and verification of IVRT method, the experimental procedures and data statistical analysis methods for the equivalence evaluation of generic semisolid dosage forms.

KEYWORDS: semisolid formulation; *in vitro* release test; equivalence; diffusion cell; statistical analysis

外用半固体制剂有软膏剂、乳膏剂和凝胶剂等, 一般为具有复杂结构的复杂剂型。制剂的物理性质一般取决于辅料的性质和数量、分散的药物颗粒大小和形状、药物晶型、乳膏中二相之间的界面张力和内相的液滴大小、药物在相之间的分配系数和制造工艺等。这些因素共同影响制剂的释放特性以及流变学等其他特性。体外释放试验(*in vitro* release test, IVRT)是表征和评价半固体制剂性能的有效手段, 体外释放速率可以反映药物的溶解度、粒径、剂型流变性等多种理化参数的综合作用, 可辨别处方和工艺变化对制剂的影

响, 是产品开发、质量控制、稳定性考察及产品批准后变更的重要质量控制项目。通常 IVRT 不用作预测体内生物利用度。美国食品药品监督管理局(FDA)已发布了多个外用半固体制剂仿制药的指导原则, 若干仿制药如处方中的原料药和辅料的质量(Q1)、数量(Q2)及物理性能与微观结构(Q3)和参比制剂相同或相似, 完成 IVRT 后可不必再进行生物等效性研究, 如阿昔洛韦软膏^[1]、磷酸克林霉素凝胶^[2]、甲硝唑阴道用凝胶^[3]、维甲酸凝胶^[4]、贝沙罗汀凝胶^[5]和二十二烷醇乳膏^[6]等, 以及更多的外用半固体制剂仿制药申请豁免临床研究前均

作者简介: 邵鹏, 男, 博士, 副主任药师 Tel: (0571)86459413 E-mail: shaopeng@zjyj.org.cn *通信作者: 洪利娅, 女, 硕士, 主任药师 Tel: (0571)86454617 E-mail: hongliya@zjyj.org.cn 梁文权, 男, 教授 Tel: (0571)88208436 E-mail: wqliang@zju.edu.cn

需要进行 IVRT 和体外透皮试验。

各国药品监管部门发布的有关外用半固体制剂研究技术的指导原则中均有关于 IVRT 的指导意见的描述^[7-11],但其中一些试验条件与操作方法仍缺乏统一的标准化信息,导致研究人员在装置设计和实验方案上仍有较大的随意性。研发工作的合理与否,将直接影响结果的可靠性,因此有必要对外用半固体制剂 IVRT 操作技术进行较为深入的讨论。

1 IVRT

IVRT 首先进行设备验证,继而进行方法开发和方法验证,再进行样品的测试与数据的处理。

1.1 设备验证

用于半固体制剂的 IVRT 的装置主要有立式扩散池、浸没池和流通池。同一样品采用上述 3 种装置测得的数据可能会有差异。立式扩散池测定简便、重现性好,故以其为代表讨论 IVRT 的研究方法与操作要点。

立式扩散池由供应室、聚合物膜、接受室及维持温度的水浴夹层或干热系统组成。美国药典通则<1724>收载有 3 种型号的立式扩散池,它们的形状、大小、有效扩散面积均不同,适合于不同的试验样品。型号 A 有定量环,上有玻璃盘用于封闭样品,使用螺旋状搅拌装置,有效扩散面积为 1.77 cm^2 ,接受室容积为 7 mL ,见图 1。型号 B 与 C 是较经典的扩散池,均无定量环,使用棒状搅拌棒,型号 B 有 O 形密封环,有效扩散面积为 1 cm^2 ,接受室容积为 5.7 mL ;型号 C 的有效扩散面积为 1.77 cm^2 ,接受室容积为 10 mL ,见图 2~3^[12]。扩散池的几何形状和尺寸大小应一致。美国药典对标准的立式扩散池要求是直径误差 $\pm 0.5\text{ mm}$,高度误差 $\pm 2\text{ mm}$ 。立式扩散池的大小可以根据实际应用需要设计,供应室和接受室的口径应相同,扩散池之间直径和接受室容积的误差应在 $\pm 5\%$ 内。定量环的厚度常为 1.5 mm ,误差应在 $\pm 10\%$ 内^[12]。取样管的直径及与接受室夹角的大小应相同。接受室中的磁性特氟隆涂层搅拌棒的大小与形状应相同。接受室的容量应扣除搅拌棒体积,可用充水后称重计算。

设备的工作环境要保持恒定,如控制环境温度范围为 $(21\pm 2)^\circ\text{C}$,避免置于空调的通风口之下及暴露在直射阳光中。工作台要保持水平,有文献要求倾斜度 $\leq 1^\circ$ ^[13]。

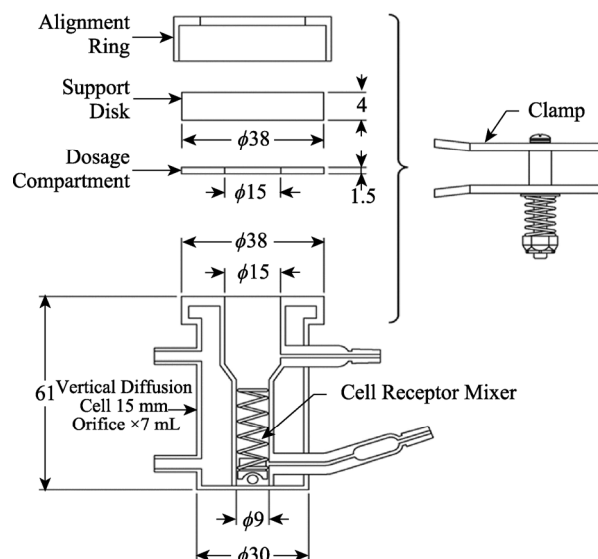


图 1 A 型立式扩散池^[12]

Fig. 1 Vertical diffusion cell Model A^[12]

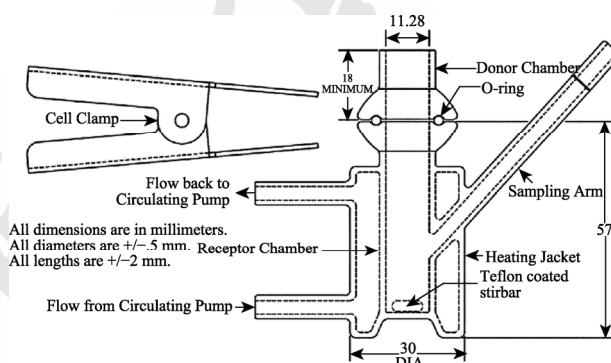


图 2 B 型立式扩散池^[12]

Fig. 2 Vertical diffusion cell Model B^[12]

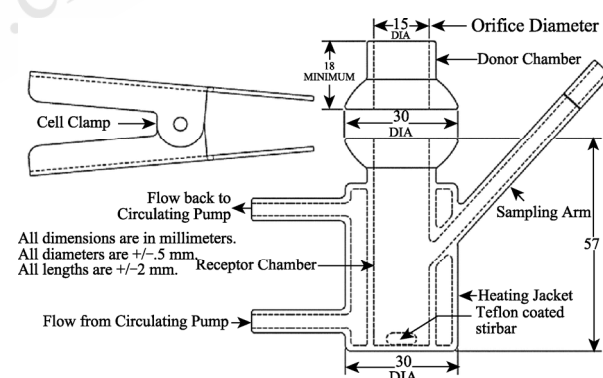


图 3 C 型立式扩散池^[12]

Fig. 3 Vertical diffusion cell Model C^[12]

1.2 方法的开发

1.2.1 聚合物膜 体外释放研究采用聚合物膜为制剂提供物理支持,膜被夹在供应室和接受室中间,起分隔制剂和接受介质的作用,药物扩散通过膜进入接受介质。选择的聚合物膜应该是商业

化的、惰性的，与制剂不应有任何物理或化学相互作用。聚合物膜具有高渗透性，应为活性化合物的扩散提供可能的最小阻力。此外，还要确保膜批与批之间的均匀性。

常用的聚合物膜有聚砜膜、醋酸纤维素膜、硝酸纤维素膜、醋酸纤维素/硝酸纤维素混合酯膜、聚醚砜膜、尼龙膜、聚四氟乙烯膜和聚碳酸酯膜等^[14]。聚合物膜有不同孔径、孔隙率、厚度和物理性质。常用膜孔隙率>60%，膜厚度为 70 μm ，膜孔径为 0.45 μm 。对于脂溶性药物与油脂性基质，膜孔的大小对释放速率有较大影响，油脂性软膏可选用膜孔大的膜，如 1.2 μm 。每个厂家的产品均有差异，即使同一批次也有微小差别。

膜的惰性可以根据接受介质中原料药与膜结合情况来评估，可用释放试验中药物在接受介质中可能的最小浓度和最大浓度对膜进行吸附试验。选择>3 种候选膜进行筛选。根据接受室容积大小，膜在 5 mL 或 10 mL 药物的接受介质溶液中孵育，温度为 $(32\pm 1)^{\circ}\text{C}$ ，持续时间为实验持续时间，测定初始与结束时药物浓度的变化，并与无膜溶液作对照，测定 3 次，浓度变化的允许范围为 $(100\pm 5)\%$ ^[13]。

纤维素膜在制造时通常添加增塑剂(如甘油)，以保持膜的柔软性，便于包装和处理，使用前去除增塑剂是必要的。各种膜均需在接受介质中浸泡>30 min 或过夜，可用超声波处理，有助于除去膜孔中的空气。

各种膜具有不同的物理性能，膜的选择与药物与制剂基质性质有关。合适的膜不但能表征药物的释放，而且能有效区分制剂之间释放能力的差异，因此膜的选择至关重要。例如对于极性较大的阿昔洛韦从乳膏剂中的释放，使用亲水性聚砜膜和尼龙膜优于疏水性的聚四氟乙烯膜^[15]。在甲硝唑乳膏体外释放研究中，疏水性聚碳酸酯膜比亲水性聚砜膜可产生更大的释放速率^[16]。另一个研究亦有相似的结果，硝酸益康唑乳膏通过亲水性纤维素酯膜的释放量显著小于通过疏水性纤维素酯膜的释放量^[17]。用参比制剂对候选膜进行释放试验，每次 3 个扩散池，用以考察膜的适用性。

部分膜如在润湿时可能会起皱折，影响实验结果，此时可将膜夹在 2 个显微镜载玻片之间并浸入接受介质中。部分膜有正反面之分，可根据制造商说明书操作^[18]。

1.2.2 接受介质 接受介质选择的依据是药物在接受介质中的溶解度和稳定性。实验过程中接受介质应保持漏槽条件，即实验过程中接受介质中药物浓度不超过溶解度的 30%^[13]。为了满足漏槽条件，难溶性药物可采用水与有机溶剂的混合介质，如加入一定比例的乙醇、丙二醇、PEG400 等，也可加入表面活性剂或环糊精衍生物等增溶剂。对于溶解度受溶剂 pH 值影响的药物，可选择具有一定 pH 值的缓冲溶液作接受介质^[12]。除此之外，可采用容积大的扩散池，或增加采样频率和增大采样量，可有助于在实验过程中保持漏槽条件。在实验过程中接受介质中药物应具有一定的化学稳定性，如有需要可采用缓冲液以保持介质的 pH 值稳定。

实验过程中需保持供应室中样品性状不变，避免接受介质的反向渗透而改变样品的组成。当使用醇/水介质作为接受介质时，乙醇可通过聚合物膜反向渗透导致乳膏制剂的完整性发生改变^[19]。接受介质的反向渗透与制剂及接受介质的性质有关，因此实验结束时宜检查样品的性状有无变化。

接受介质在使用前需脱气，以防在实验过程中在膜表面积聚气穴，影响膜的有效扩散表面积。含有挥发性有机溶剂的接受介质脱气时，需防止挥发性溶剂在脱气过程中挥发。采用真空过滤脱气时，尽量缩短此类接受介质在真空状态中的时间。

建议选择>3 种溶剂、复合溶剂或增溶剂以不同比例的配比作候选接受介质。取一定量溶剂，加入过量药物，32 $^{\circ}\text{C}$ 条件下恒温振荡 24 h，微孔滤膜过滤，测定药物的溶解度。选择符合漏槽条件且溶解度大的接受介质，用参比制剂进行释放试验，每次 3 个扩散池，用以考察接受介质的适用性。

如接受介质为某一 pH 值的溶液，还需验证 pH 值的变化对药物释放速率的影响。

1.2.3 样品 除处方与工艺筛选外，作为仿制药的测试样品建议至少为中试样品，其批量及所用生产设备应与拟定大生产批量匹配，其制造方法和质量应与生产批次相同。测试制剂和参比制剂的批次应包含在物理和微观结构研究的批次中。测试制剂和参比制剂之间的药物含量之差应<5%，它们都应该符合标示量^[8]。

在 A 型立式扩散池中，供应室样品量应>200 mg；而在 B 型和 C 型立式扩散池中，供应室

样品量应 $>1.0\text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}$ 或 $1.0\text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ^[12], 以确保试验期间的伪无限剂量条件(pseudo-infinite dose condition), 样品间误差为 $\pm 5\%$ 。样品需均匀地涂抹于膜上, 避免夹留气泡。供应室随后用封闭膜密封, 以防止测试制剂中水分蒸发及任何挥发性成分的损失。

1.2.4 温度与搅拌速率 实验过程中需要保持膜的温度在 $(32\pm 1)^{\circ}\text{C}$ [阴道制剂为 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$], 可将水浴温度设置稍高, 如 32.5°C (与扩散池结构和室温有关), 实验前用非接触式红外温度计测量。

接受室内的搅拌棒应确保试验期间接受介质的充分混合。搅拌效率与搅拌速率、搅拌棒大小、搅拌棒形状、接受室形状和接受介质稠度等有关。搅拌速度过大, 可能导致涡流产生, 引起膜变形, 改变膜的有效表面积; 搅拌速度过小, 接受介质中的药物浓度可能不均匀, 导致膜表面局部偏离漏槽条件。适宜的搅拌速率是产生最快的混合而没有漩涡, 需通过不同速度筛选设定。在标准的立式扩散池中, 水介质中的搅拌速度常为 $600\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 误差为 10% 。

1.2.5 采样时间 IVRT 开始后, 每隔一定时间从取样管中抽取一定量的接受介质作药物浓度测定, 取样位置通常在接受室的中心, 取样后立即补充相同体积的恒温接受介质, 并排除气泡。采样间隔根据制剂的释放性能与药物溶解度确定, 可为 $0.5, 1, 2, 4, 6\text{ h}$, 或 $0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12\text{ h}$, 或更长时间。用于计算释放速率的时间点需在释放曲线的稳态范围内, 应 ≥ 5 个采样时间点。到达稳态前亦应有一定量的数据, 因为它们能反映制剂性能的差别。用于计算释放速率的时间点累积释放量应 $<30\%$ ^[20-21], 实验持续时间应大于时滞的 10 倍^[22]。

取样体积要满足药物含量测定需要, 另外要保证更换新鲜的接受介质后接受室内药物浓度在取样间隔内能满足漏槽条件。每次取样量的误差 $\leq 3\%$, 如每次取样 $500\text{ }\mu\text{L}$, 其误差应 $\leq 15\text{ }\mu\text{L}$ 。取样时间间隔的误差 $\leq 2\text{ min}$ ^[12]。手动取样不同的取样速度亦会影响释放曲线, 宜采取相同的取样速度。每次取样并补充新鲜接受介质后, 需检查膜下有无截留气泡。

欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)要求应有足够持续时间描述释放曲线, 至少 70% 药物被释放, 然而很多外用半固体制剂 24 h

的累积释放量无法达到 70% 。

1.2.6 药物浓度测定 常用的是 HPLC, 需按常规进行方法学验证, 包括专属性、准确度、精密度、稳定性以及定量限等。

1.2.7 数据处理 实验过程中每次取样测得的接受介质中的药物浓度, 按以下公式计算单位面积累积释放量:

$$Q_n = C_n \frac{V_c}{A_c} + \frac{V_s}{A_c} \sum_{i=1}^n C_{i-1}$$

Q_n =每单位面积在时间(n)释放的量($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$); C_n =不同采样时间(n)下接受介质中的药物浓度($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$); V_s =样品体积(cm^3); V_c =接受室容积(cm^3); A_c =有效扩散面积(cm^2)。

半固体制剂中的药物释放一般遵循 Higuchi 方程, 释放达稳态后单位面积累积释放量与时间的平方根呈线性关系, 其相关系数 $R^2 \geq 0.9$, 直线部分的斜率为药物释放速率。每批样品释放速率的变异系数 $\leq 15\%$ 。

将最后一个取样点的累积释放量, 除以加入扩散池中的药物的实际量, 计算累积释放百分率, 它亦是等效性评价中的重要参数。

有些基质中药物释放速率可能符合其他释药模型, 如 Korsmeyer-Peppas 模型, 药物的释放速率也可能与时间的对数呈线性关系^[23]。

1.3 方法学验证^[24]

1.3.1 精密度和重现性 取样品于扩散仪中, 日内测定 3 次, 日间测定 3 次, 计算每个扩散池的释放速率, 分析精密度和重现性, 变异系数 $\leq 15\%$ (EMA 要求变异系数 $<10\%$)。

1.3.2 灵敏度 灵敏度是检测释放速率变化的能力, 制备浓度为标示量 $50\%, 150\%$ 或 200% 的测试制剂, 与参比制剂同时平行测定释放速率, 与参比制剂相比, IVRT 方法能分别确定高浓度或低浓度的测试制剂具有更高或更低的释放速率, 则该方法可被认为是灵敏的。

1.3.3 专属性 专属性是指能够准确监测制剂中释放速率随药物浓度变化的比例关系的能力。“1.3.2”项下高低浓度的测试制剂与参比制剂的释放速率, 应与浓度呈线性相关性, 其 $R^2 \geq 0.90$ 。如为混悬型制剂, 释放速率不与浓度呈线性相关性, 可分析浓度与释放速率的关系。

1.3.4 选择性 选择性是指 IVRT 方法具有足够选择能力, 以识别处方(“1.3.2”项下高低浓度的

测试制剂)中药物浓度的不同、影响质量的非活性成分的改变及关键工艺参数变更产生释放速率的差异,与参比制剂进行等效性评价,应在 90%置信区间的上下界值之外,而参比制剂重复测定应是等效的。

1.3.5 耐用性 耐用性测试可包括与仪器和测试方法相关的 IVRT 方法的变化,例如:温度变化(32±1)°C,给药量变化(剂量±10%),搅拌速度变化(例如搅拌速度±10%)。如果 IVRT 测得它们的平均释放速率的变异系数在±15%内,则可以认为 IVRT 方法具有耐用性。

1.4 测试制剂与参比制剂的对比试验

按上述经验证的方法进行测试制剂与参比制剂的对比试验。在扩散仪中,装有测试样品与参比制剂的扩散池以交替顺序排列(图 4),在同一次实验中,要同时包括测试制剂与参比制剂,所用扩散池均有同样的次数接受 2 种样品试验。

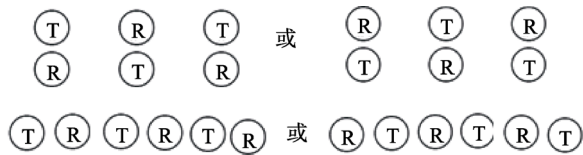


图 4 扩散池交替排列顺序

T-测试制剂; R-参比制剂。

Fig. 4 Alternating sequence on diffusion cells
T-test preparations; R-reference preparation.

用筛选得到的聚合物膜和接受介质,设定温度、搅拌速度和取样间隔,取样后测定药物浓度,计算每平方厘米累积释放量,得到释放速率、累积释放百分比和时滞。FDA 要求最少测定一批测试制剂与参比制剂进行比较,每次需 6 个样品。EMA 要求>3 批的测试制剂和参比制剂进行比较,每次需 12 个样品,而作产品的性能测试只需 6 个样品^[8]。

表 1 置信区间的计算

Tab. 1 Calculation of confidence interval

R 速率	T/R					
	T 速率为 10.81	T 速率为 10.32	T 速率为 10.46	T 速率为 11.02	T 速率为 11.84	T 速率为 12.61
11.28	1.043 478	1.093 023	1.078 394	1.023 593	0.952 703	0.894 528
12.56	1.161 887	1.217 054	1.200 765	1.139 746	1.060 811	0.996 035
11.32	1.047 179	1.096 899	1.082 218	1.027 223	0.956 081	0.897 700
12.48	1.154 487	1.209 302	1.193 117	1.132 486	1.054 054	0.989 691
11.68	1.080 481	1.131 783	1.116 635	1.059 891	0.986 486	0.926 249
11.76	1.087 882	1.139 535	1.124 283	1.067 151	0.993 243	0.932 593

2 等效性评价

FDA 与 EMA 对仿制药与参比制剂体外释放速率的一致性评价均有不同的方法。

2.1 非参数法(FDA 法)

FDA 认可的方法基于 SUPAC-SS 指南中描述的 Wilcoxon 秩和 Mann-Whitney U 检验,来判断二组数据的中位数有无差别。Wilcoxon 秩是将二组样本的数值统一由小到大编秩,由 Mann-Whitney 检验按下式求出 90%置信区间的上下界值的范围^[25]:

$$k = w_{\alpha} / 2 - n(n+1) / 2$$

k 值为置信区间的下限位,由查表得 $n=6$, $\alpha=0.10$ 的 $w_{\alpha}/2$ 为 29; $n=12$, $\alpha=0.10$ 的 $w_{\alpha}/2$ 为 121; $n=18$, $\alpha=0.10$ 的 $w_{\alpha}/2$ 为 281;代入上式,计算得 k 值分别为 8, 43, 110。置信区间的上限位是 $n \times n - k + 1$,相应值是 29, 102, 215。

由实验测得测试组(T)与参比组(R)各个释放速率,计算相互比值 T/R,结果见表 1,所得数据按升序排列见表 2,寻找相应的上下限位的值,即是置信区间的值(如表 2 中的第 8 位为下限值 0.989 7,第 29 位为上限值 1.139 5)。如这 2 个值落在 75%~133.33%内,则表示试验制剂与参比制剂的释放速率的中位数差异在允许范围内,试验制剂与参比制剂的释放速率是等效的;如置信区间的值落在 75%~133.33%外,试验组与参比组再各测 12 个样品,与第 1 次实验结果组合,2 组各有 18 个释放速率,如上进行置信区间计算,求 n 为 18 上下限值,如置信区间的值仍落在 75%~133.33%外,则判断为二制剂的释放速率不等值^[7]。

2.2 参数法

EMA 要求表征制剂特性的定量参数数据如属正态分布,测试和参比制剂平均值差异的 90%置信区间应包含在参比制剂平均值±10%的接受标准

表 2 T/R 比值的升序排列

Tab. 2 T/R ratio from low to high

T/R								
0.894 5	0.897 7	0.926 2	0.934 6	0.952 7	0.956 1	0.986 5	0.989 7	0.993 2
0.996 0	1.023 6	1.027 2	1.043 5	1.047 2	1.054 1	1.059 9	1.060 8	1.067 2
1.078 4	1.080 5	1.082 2	1.087 9	1.093 0	1.096 9	1.116 6	1.124 3	1.131 8
1.132 5	1.139 5	1.139 7	1.154 5	1.161 9	1.193 1	1.200 8	1.209 3	1.217 1

内^[8]。释放速率数据常呈非正态分布，所以数据要进行对数转换。与 FDA 的方法相似，IVRT 测得试验组(T)与参比组(R)各 12 个释放速率。计算试验组与参比组各个释放速率的相互比值 T/R，得到 144(12×12)个 T/R 值。然后对这些 T/R 值进行对数变换。使用下式计算置信区间：

$$X \pm t \times \frac{s}{\sqrt{n}}$$

其中，X 是计算的 T/R 值对数值的平均值，n 表示样本量，t 是 n-1 个自由度(t)的 90%CI 的 t 值，由分布界值表查得(n=6，t=2.015；n=10，t=1.833；n=12，t=1.796；n=18，t=1.740；n=24，t=1.714)，s 表示所有对数转换比率的标准偏差。所得结果取反对数，即为置信区间。EMA 要求测试制剂与参比制剂释放速率几何均值比的 90%置信区间应包含在 90%~111%的可接受区间内。如置信区间不落在该范围内，则试验制剂与参比制剂的释放速率不等值。

综上所述，EMA 对体外释放研究的一致性评价的要求比 FDA 严，FDA 要求试验与参比制剂样品各试验>6 次，各组释放速率变异系数≤15%；而 EMA 要求 12 次以及变异系数≤10%。FDA 要求释放速率中位数的置信区间应在 75%~133%，而 EMA 要求释放速率几何均值的置信区间应在 90%~111%，时滞变异系数≤10%。EMA 另一个具体要求是药物累积释放百分比应≥70%。

从 1962 年 Higuchi 创立了 Higuchi 公式为半固体制剂释放研究奠定了理论基础^[21]，到 1997 年 FDA 发布“非无菌半固体制剂扩大规模和上市后变更：IVRT 和体内生物等效性要求”^[7]，IVRT 越来越受到研发人员与生产企业的关注。IVRT 的应用不断扩大和发展，已成为支持半固体制剂开发的重要工具。许多研究人员已经做出了各种努力，促使 IVRT 方法标准化。FDA 公布的“阿昔洛韦乳膏研究指南”是目前最详细的指南文件，随后发布的其他半固体制剂研究的指导文件都参考了“阿昔洛韦乳膏指南”并遵循相同的方法。然

而，IVRT 的方法尚未完善，有些操作缺乏具体细节，仍需不断发展标准化的方法，以为患者提供高质量的外用半固体制剂。

本文中的一些实验条件和评判标准为文献值，仅供参考。

REFERENCES

- [1] FDA. Draft Guidance on Acyclovir[S] 2019.
- [2] FDA. Draft Guidance on Clindamycin Phosphate[S] 2020.
- [3] FDA. Draft Guidance on Metronidazole[S] 2019.
- [4] FDA. Draft Guidance on Tretinoin[S] 2020.
- [5] FDA. Draft Guidance on Bexarotene[S] 2019.
- [6] FDA. Draft Guidance on Docosanol[S] 2017.
- [7] FDA. SUPAC-SS: Nonsterile Semisolid Dosage Forms; Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; *In Vitro* Release Testing and *In Vivo* Bioequivalence Documentation[S]. 1997.
- [8] EMA, CHMP: Draft guideline on quality and equivalence of topical products[S]. 2018.
- [9] PMDA: 局所皮膚適用製剤(半固形製剤及び貼付剤)の処方変更のための生物学的同等性試験ガイドラインについて[S]. 2010 年 11 月.
- [10] PMDA: 局所皮膚適用製剤(半固形製剤及び貼付剤)の処方変更のための生物学的同等性試験ガイドライン Q&A[S]. 2010 年 11 月.
- [11] 国家药品监督管理局药品审评中心.《皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则(试行)》[S]. 2021.
- [12] USP-NF(1724) Semisolid Drug Products — Performance Tests[S] 2021.
- [13] TIFFNER K I, KANFER I, AUGUSTIN T, et al. A comprehensive approach to qualify and validate the essential parameters of an *in vitro* release test (IVRT) method for acyclovir cream, 5[J]. *Int J Pharm*, 2018, 535(1/2): 217-227.
- [14] MEKJARUSKUL C, BERINGHS A O, LUO W C, et al. Impact of membranes on *in vitro* release assessment: A case study using dexamethasone[J]. *AAPS Pharmscitech*, 2021, 22(1): 1-9.
- [15] NALLAGUNDLA S, PATNALA S, KANFER I. Comparison of *in vitro* release rates of acyclovir from cream formulations using vertical diffusion cells[J]. *AAPS Pharmscitech*, 2014, 15(4): 994-999.
- [16] MIRON D S, RĂDULESCU F S, BENFELDT E, et al. *In*

- vitro* and *in vivo* evaluation of three metronidazole topical products[J]. Pharm Dev Technol, 2014, 19(2): 194-199.
- [17] LEAL L B, CORDERY S F, DELGADO-CHARRO M B, et al. Bioequivalence methodologies for topical drug products: *In vitro* and *ex vivo* studies with a corticosteroid and an anti-fungal drug[J]. Pharm Res, 2017, 34(4): 730-737.
- [18] NG S F, ROUSE J, SANDERSON D, et al. A comparative study of transmembrane diffusion and permeation of ibuprofen across synthetic membranes using franz diffusion cells[J]. Pharmaceutics, 2010, 2(2): 209-223.
- [19] KANFER I, RATH S, PURAZI P, et al. *In vitro* release testing of semi-solid dosage forms[J]. Dissolution Technol, 2017, 24(3): 52-60.
- [20] HIGUCHI T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension[J]. J Pharm Sci, 1961(50): 874-875.
- [21] HIGUCHI W I. Analysis of data on the medicament release from ointments[J]. J Pharm Sci, 1962, 51(8): 802-804.
- [22] FLYNN G L, SHAH V P, TENJARLA S N, et al. Assessment of value and applications of *in vitro* testing of topical dermatological drug products[J]. Pharm Res, 1999, 16(9): 1325-1330.
- [23] PATERE S, NEWMAN B, WANG Y, et al. Influence of *in vitro* release methods on assessment of tobramycin ophthalmic ointments[J]. Int J Pharm, 2020(590): 119938.
- [24] FDA. Draft Guidance on Acyclovir[S]. 2016.
- [25] CONOVER W J. Practical Nonparametric Statistics[M]. 3rd Ed. Wiley, 1999: 283.
- 收稿日期: 2021-09-30
(本文责编: 蔡珊珊)