

长效注射剂体外释药检查方法研究进展*

王静文, 文强, 彭玉帅, 赵文**, 尹利辉**

(中国食品药品检定研究院 国家食品药品监督管理局化学药品质量研究与评价重点实验室, 北京 102629)

摘要 目的: 长效注射剂在治疗慢性疾病方面具有优势, 由于长效注射剂的多样性, 现有药典方法和监管指南尚未提供针对长效注射剂的体外释药检查方法, 这增加了这些制剂的研发和审批时间。本文回顾了用于研究长效注射剂体外释放度的检查方法, 包括药典方法和非药典方法, 如流通池法、取样分离法、透析法等, 并讨论了这些方法的优缺点, 以期开发长效注射剂体外释药检查方法提供参考, 缩短长效注射剂的研发周期。

关键词: 长效注射剂; 释放度检查方法; 流通池法; 取样分离法; 透析法; 体外释放模型

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2024)11 - 1842 - 10

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0364

Current approaches for *in vitro* drug release study of long - acting injectable formulations*

WANG Jing - wen, WEN Qiang, PENG Yu - shuai, ZHAO Wen**, YIN Li - hui**

(National Institutes for Food and Drug Control, National Medical Products Administration Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Chemical Drugs, Beijing 102629, China)

Abstract: Long - acting injectable formulations are preferred over conventional formulations for the treatment of chronic diseases. The regulatory guidelines and pharmacopoeia have remained silent on dissolution methods for long - acting injectable formulations due to their diverse nature. The lack of compendial method for dissolution testing increases the duration of approval process for long - acting injectable formulations. This article reviews various dissolution methods used to study *in vitro* drug release profile of long - acting injectable formulations. Compendial as well as noncompendial methods, such as - flow - through cell method, sample and separate method, the dialysis method are used by researchers for drug release profile of long - acting injectable formulations. This review article also highlights the advantages and disadvantages of reported dissolution methods. The compiled work will help the researchers in designing the bio - relevant dissolution method and expedite the development of long - acting injectable formulations.

Keywords: long - acting injectable formulations; dissolution apparatus; flow - through cell method; sample and separate method; dialysis method; *in vitro* models

* 中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金项目(2023A3)

** 通信作者 赵文 Tel:(010)53851622;E-mail:zhaowen@nifdc.org.cn

尹利辉 Tel:(010)53851547;E-mail:yinlihui@nifdc.org.cn

第一作者 Tel:(010)53851628;E-mail:wangjingwen@nifdc.org.cn

长效注射剂(long-acting injectable formulations)主要通过皮下、肌肉注射或其他非血管途径给药,在给药部位形成药物储库发挥长效释放作用,主要包括植入剂、微球、油状混悬剂、油状溶液、纳米乳剂、脂质体、原位凝胶等^[1]。长效注射剂能够在几天至几个月内持续释放药物,可提供稳定的血药浓度,其优点是降低给药频率、简化药物治疗方案、药代动力学波动较小、不良反应少。很多慢性疾病,如精神性疾病、癌症、慢性或术后疼痛、感染、戒毒、蛋白质和激素治疗,都需要长期甚至终生坚持用药,以防止症状随着时间的推移恶化。患者对定期服药依从性差是治疗此类疾病的主要障碍,开发长效注射剂和控释制剂可改善这一状况。对于易引起胃肠道副作用、首过效应高、生物半衰期短、口服吸收差的药物,也可做成长效注射剂^[2-3]。

由于长效注射剂设计的释药时间通常为数周、数月甚至数年,对产品的实时释放进行检测不切实际,为缩短处方筛选周期和较快进行质量评价,通常需要开发超过药物体内释放率的体外加速释放方法。目前,对于加速释放方法的主要评价方法是通过比较体内-体外相关性或者和长期释放曲线的一致性,由于加速实验(通常通过升高温度、改变释放介质 pH 值或选取不同仪器装置等相对“剧烈”的条件来加快药物释放)不仅可以改变药物释放的速度,还可能改变释药机制,因此需要谨慎选择加速释放方法。长效注射剂通常采用多点法制定溶出限度,一般包括早期表征突释、表征产品性能稳定以及表征释放完全的时间点,研发过程中应当在临床期间,特别是关键临床批次的溶出曲线数据,采用更多取样点充分表征长效注射剂的体外释放行为,最终根据多批临床样品的溶出曲线,确定限度标准,通常建议加速释放方法应包括至少 80% 的累积释放量,以便与“实时”研究进行比较^[4]。开发释放度方法时应结合释放机制,方法应对可能影响体内释放行为的关键理化特性和工艺参数具备一定的区分力。

体外释放方法是制剂质量控制的重要指标,其结果受关键材料属性和关键工艺参数的影响。因此,监管机构引入了质量源于设计(QbD)的概念。药典溶出方法已成功用于常规制剂(如:片剂和胶囊)以及口服和透皮途径的新型给药系统的体内-体外相关性(*in vivo-in vitro* correlation, IVIVC)的评价研究。IVIVC 是一种描述药物体外释放与体内吸

收关系的预测数学模型,通过将体内药代动力学参数如血药峰浓度(C_{max})、达到 C_{max} 所需时间(T_{max})、曲线下面积(AUC)、平均体内停留时间(MRT)、吸收分数(FA)等与体外参数如平均溶出时间(MDT)、释放分数(FR)等进行比较。根据这些参数的相关性程度,有 5 个级别的 IVIVC 相关性,定义为 A 级、B 级、C 级、多重 C 级和 D 级相关性,其中, A 级 IVIVC 表示体外释放过程与体内反应时间过程具有点对点的相关性,可以提供最多的信息,在药物制剂体外溶出试验和 IVIVC 研究中, A 级 IVIVC 模型的应用最为广泛。在 QbD 的理念下, IVIVC 的建立是药品研发和质量控制的关键环节。QbD 是一种系统化的方法,它从药品的早期研发阶段就开始关注最终产品的质量,并确保在整个生产过程中实现一致的质量标准, IVIVC 模型的建立有助于实现这一目标,它能够将体外的药品特性与体内的药效学行为相关联,从而为药品的质量控制提供科学依据。长效注射剂的释放行为相对复杂,通常被认为是高风险产品,一旦给病人使用,就无法短期内从体内清除。由于长效注射剂缺乏成熟的体内体外相关性模型,体外释放方法的开发受限,目前尚没有关于长效注射剂的体外释放法定方法指南。随着市场对长效注射剂的需求增加,对长效注射剂体外释放方法进行梳理,可为开发长效注射剂体外释药检查方法建立 IVIVC 提供参考,缩短长效注射剂的研发周期。

1 药典释放度检查方法在长效注射剂体外药物释放研究中的应用

各国药典[中国药典(ChP)、美国药典(USP)、欧洲药典(EP)]收录的多种释放装置通常适用于常规制剂(如口服和透皮制剂),目前 ChP 2020 收录释放度检查的品种有 50 个,其中缓释制剂 25 个,肠溶制剂 24 个,贴剂 1 个,25 个缓释制剂的给药间隔基本为 1 d。25 个释放度检查方法中,有 11 个为篮法,12 个为桨法,2 个为小杯法。桨法、篮法已用于开发长效注射剂的药物释放方法,往复桶法(USP VII 法)也可用于检查药物洗脱的释放研究。如美国 FDA 释放度数据库中用桨法检查阿立哌唑长效肌肉注射剂体外释放,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 0.25% 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液 900 mL 为溶出介质,取样时间为 10、15、30、60、120、180、240、300、360、420 和 480 h^[6]; Nanaki 等^[7]用篮法研究了利培酮控释微球的体外释

放,用适当的透析管纤维素膜将微球放入溶出篮中,溶出温度为 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,磷酸盐缓冲液 900 mL 为溶出介质。美国 FDA 释放度数据库中用往复筒法检查地塞米松眼用植入剂体外释放,50 目篮, $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ SDS 的磷酸盐缓冲液 30 mL 为溶出介质,取样时间为 12、24、48、72、96、120、144、168、192、216 和 240 h^[6]。表 1 总结了部分药典释放装置用于长效注射剂释放度检查的方法。其中,流通池法(ChP 第六法)在评估长效肠外缓释剂型体外释放中应用最广泛。流通池法分为开环式和闭环式 2 种,开环式流通池可以保证大量新鲜的溶出介质不断接触被测样品,适用于一些大剂量、难溶性药物溶出度的测定;闭环式流通池对于载药量少并且难检测的样品可以用少量的介质进行试验,另外,介质瓶盖相对密封,介质蒸发较少,对于实验影响不大,这对于长效释放的样品有优势。流通池法的优点有:可提供连续的新鲜溶出介质,即使对于难溶性药物也能提供漏槽条件,更接近体内环境,克服了传统溶出度测定方法缺乏漏槽条件所引起的偏差;能够通过释放介质的不同流动方式模拟真实体内的环境^[7];在测试过程中实验条件可以灵活变化,如实验介质的组成、pH 值、流速等;样品可固定于流通杯中,适用的剂型广泛,如微球、脂质体、药物凝胶支架和植入剂等^[8]。如:美国 FDA 释放度数据库中用流通池法检查注射用双羟萘酸奥氮平体外释放的方法,流速为 $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,含 1% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液为溶出介质,取样时间 10、20、30、45、60、75、90、105、120、150、180、240、360、480、600 和 720 h^[6]。Tang 等^[9]和 Liu 等^[10]建立了流通池法测定两性霉素 B 脂质体体外溶出,可以区分已上市两性霉素 B 脂质体原研产品(AmBisome)及其仿制药,对产品质量控制以及仿制药开发具有重要指导意义。

然而,上述药典方法也存在一些局限性,限制了其作为研究长效注射剂体内外相关性溶出方法的可接受性。这些限制主要包括:(1)篮法和桨法需要大体积的溶解介质,较低的介质体积会导致流体动力不稳定;(2)篮法和桨法不能自动改变介质 pH 值,溶出介质体积固定,对难溶性药物难达到漏槽条件,调整转速对区分不同品种的固体制剂影响不大;(3)常规药典方法在较长溶出实验中,释放介质会蒸发;(4)流通池法虽然具有较好的重现性和区分力,但设备昂贵且长期释放研究(如 1~6 个

月)对设备具有挑战,且会存在由于聚合物迁移堵塞管路,导致流速不一致的现象。因此,研究人员针对长效注射剂的剂型特点也研发了多种非药典释放度检查方法。

2 体外药物释放研究的非药典方法

除药典方法外,监管机构也批准了多种非药典长效注射剂释放度检查方法,如取样分离法(包括摇床法、恒温水浴法等)、透析法、扩散池法,这些方法属于非标准化的检测方法,设备参数的调整可能会引入较大偏差。例如,摇床法使用不同性状和材质(吸附性能不同)的孵育容器、释放介质以及摇晃强度均会对药物释放产生影响,这些由试验方法引入的偏差甚至能够掩盖处方或工艺变化带来的体外释放行为的差异^[21]。非药典释放度方法开发时应关注试验条件考察,包括装置振摇方式、释放容器差异、样品加入和取样方法等。应考察方法的适用性和耐用性,如实验室不同、试验装置略有差异、方法参数适当变化等多种情况对释放度检测的影响。在长效注射剂释药检查中,改良的非药典药物释放方法主要包括以下几种:

2.1 取样分离法

取样分离法是长效注射剂体外释药检查中应用最广泛的溶出方法,使用的介质体积不受限。通常,将待测物分散于一定体积恒温释放介质中,定时取样,取样后及时补充等量新鲜释放介质以维持相应漏槽条件,通过测定药物累积释放量评估药物释放行为。取出的样品可以使用过滤器分离介质和待测物,对于微球等制剂取样时需将释放介质离心,取上清液测试。在某些情况下,可能需要更换释放介质以维持“漏槽”条件或避免释放介质中的药物降解,不同的实验装置(如容器大小、搅拌和取样方法)也会影响体外药物释放。应用取样分离原理最常见的方法有摇瓶法/摇床法、恒温振荡水浴法等。

取样分离法具体操作时通常是将装有制剂和溶出介质的容器置于恒温水浴(通常为 37°C)或恒温培养箱内的摇床上(通常转速为 $50 \sim 75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),所用容器的大小取决于溶解所需介质的量,很多研究者在研究中使用试管、锥形瓶甚至大烧瓶作为容器。美国 FDA 释放度数据库中用取样分离法检查醋酸戈舍瑞林缓释植入剂的体外释放度,样品和 50 mL pH 7.4 磷酸盐缓冲液介质一同置于 120 mL 规格的 Wheaton 瓶中, 39°C 孵育(置于恒温箱或恒温水浴

表 1 药典释度方法在长效注射剂体外释放方法研发中的应用

 Tab. 1 *In vitro* release conditions for various long acting formulations using compendial methods

药物 (drug)	剂型 (formulation)	USP 方法 (type of USP apparatus)	溶出介质 (dissolution media)	体积/流速 (media volume/ flow rate)	取样时间 (study duration)/d	参考 IVIVC 文献 (Ref.)
阿立哌唑 (aripiprazole)	混悬剂(suspension)	II(桨法,paddle)	0.25% SDS 溶液(0.25% SDS solution)	900 mL	20	NR [6]
棕榈酸帕利哌酮 (paliperidone palmitate)	混悬剂(suspension)	II(桨法,paddle)	含 0.489% 吐温 20 的 0.001 mol · L ⁻¹ 盐酸水溶液 [0.489% (w/v) polysor- bate Tween 20 in 0.001 mol · L ⁻¹ hydrochloric acid aqueous solution)	900 mL	15	NR [6]
双羟萘酸奥氮平 (olanzapine pamoate)	混悬剂(suspension)	IV(流池法, flow through cell)	1% SDS 的 pH 6.8 PBS (1% SDS in pH 6.8 PBS)	3 mL · min ⁻¹	30	NR [6]
醋酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate)	混悬剂(suspension)	II(桨法,paddle)	水-甲醇(95:5) (50 mL of methanol to 950 mL of water)	950 mL	7	NA [6]
盐酸丁丙诺啡 (hydrochloric buprenorphine)	植入剂(implant)	II(桨法,paddle)	水(water)	900 mL	7	NA [6]
地塞米松 (dexamethasone)	植入剂(implant)	VII(往复桶法, reciprocating bucket)	含 0.05 g · L ⁻¹ SDS, PBS (PBS contai- ning 0.05 g · L ⁻¹ SDS)	30 mL	10	NA [6]
盐酸氨碘噻吨 (hydrochloric thiothixene)	原位凝胶 (in situ gel)	II(桨法,paddle)	pH 7.4, PBS, 0.02% 叠氮化钠(sodium azide)	900 mL	30	NR [11]
两性霉素 (amphotericin)	脂质体(liposome)	IV(流池法,flow through cell)	pH 7.4, 5% 蔗糖 (saccharose)、10 mmol · L ⁻¹ HEPES、0.01% 叠氮化钠 (sodium azide) 和 5% γ -环糊精 (γ -cyclodextrin)	78.4 mL	1	NR [12]
醋酸亮丙瑞林 (leuprolide acetate)	注射用液晶体系统 (injectable liquid crys- tal-forming system)	I(篮法,basket)	pH 7.4, PBS, 0.02% 叠氮化钠(sodium azide); 0.02% ~ 2.0% 吐温 80 (Tween 80)	500 mL	7	NR [13]
盐酸阿扑吗啡 (hydrochloric apomorphine)	微球(microspheres)	IV(流池法,flow through cell)	pH 7.4, PBS, 0.2% 抗坏血酸(ascorbic acid)	2 mL · min ⁻¹	15	NR [14]
地塞米松 (dexamethasone)	微球(microspheres)	IV(流池法,flow through cell)	pH 7.4, 0.1 mol · L ⁻¹ PBS, 0.1% 叠 氮化钠(sodium azide)	8 mL · min ⁻¹	34	NR [15]
牛血清蛋白(bovine serum albumin)	晶体混悬剂(crystal suspension)	IV(流池法,flow through cell)	0.1% 吐温 80 (Tween 80), 0.02% 叠氮 化钠(sodium azide), PBS	5 mL · min ⁻¹	15	NR [16]
萘普生(naproxen)	油溶液(oily solution)	II(桨法,paddle)	pH 7.4, PBS	1000 mL	7	NR [17]
利多卡因(lidocaine)	植入剂(implant)	II(桨法,paddle)	pH 7.4, 50 mmol · L ⁻¹ PBS	900 mL	3	No [18]
纳曲酮(naltrexone)	微球(microspheres)	IV(流池法,flow through cell)	pH 7.4, 10 mmol · L ⁻¹ PBS 0.02% 叠 氮化钠(sodium azide) 0.02% 吐温 20 (Tween 20)	8 mL · min ⁻¹	7	Yes [19]
麝香缓释微片(musk sustained-release mini-tablet)	缓释微片(sustained- release mini-tablet)	VII(往复桶法, reciprocating bucket)	0.05% 吐温 80 水溶液(0.05% Tween 80 aqueous solution)	200 mL	0.5	NR [20]

注(note): NR. 未报道(not reported); NA. 不适用/未使用(not applicable/unused); Yes. 相关(related); No. 不相关(not related); SDS. 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate); PBS. 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer); SBF. 模拟体液(simulated body fluid); PG. 丙二醇(propylene glycol); HEPES. 4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸(*N*-2-hydroxyethylpiperazine-*N*-ethane-sulphonic acid)

装置中), 取样前将 Wheaton 瓶放在振荡器上振摇, 摇动幅度为 50 mm, 205 r · min⁻¹ 转速振摇 6 s, 取样时间为 3、14、35、56、84 d (10.8 mg 规格) 和 7、14、17、21、28 d (3.6 mg 规格)^[6]。Wang 等^[22] 用取样分

离法对盐酸米诺环素微球进行体外释放检测, 将约 4 mg 微球分散在 10 mL PBS (10 mmol · L⁻¹, pH 7.4, 含 0.02% Tween 20) 中, 样品和介质置于螺旋盖管中, 将螺旋盖管置于旋转器上, 转速为 100 r ·

min^{-1} , 37 °C 孵育(置于对流培养箱中), 第 1 天取样 4 次, 后面 10 d 每天取样 2 次, 剩下 9 d 每天取样 1 次。Nahata 等^[23]采用摇瓶法研究了 PLGA 微球中奥氮平的释放, 并进行了 14 d 的研究。Wang 等^[24]改进了该方法, 将样品放入茶包中, 而不是直接放置在

溶出介质中, 将微球放入茶包后, 用订书钉密封, 放入装有 50 mL 释放介质的罐子中, 然后将罐子置于轨道激振器上, 温度为 37 °C, 转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。表 2 总结了部分取样分离法在长效注射剂体外释药研究中的应用。

表 2 取样分离法在长效注射剂体外释药研究中的应用

Tab. 2 *In vitro* release conditions for various long-acting formulations using sample and separate methods

药品 (drug)	剂型 (formulation)	溶出介质 (dissolution media)	介质体积 (media volume)/mL	研究持续时间 (study duration)/d	IVIVC	参考 文献 (Ref.)
左炔诺孕酮(levonorgestrel)	微球(microspheres)	25% (v/v)乙醇水溶液(ethanol in water)	50	52	Yes	[24]
孟鲁司特钠(montelukast sodium)	植入剂(implant)	pH 7.4, PBS	100	60	NR	[25]
艾塞那肽(exenatide)	微球(microspheres)	pH 7.4, PBS	1	4	Yes	[26]
紫杉醇(paclitaxel)	水凝胶(hydrogels)	pH 6.8, PBS, 1% 吐温 80(Tween 80)	40	15	NR	[27]
牛血清白蛋白(bovine serumalbumin)	植入剂(implants)	PBS, 0.02% 吐温 20(Tween 20), 0.02% 叠氮化钠(sodium azide)	1	30	NR	[28]
尼莫地平(nimodipine)	微球(microspheres)	pH 7.4, PBS-乙醇(ethanol) (1:1)	30	5	NR	[29]
帕潘立酮(paliperidone)	原位凝胶(in situ gel)	pH 7.4 10 mmol · L ⁻¹ PBS, 0.2% 吐温 80(Tween 80), 0.05% 叠氮化钠(sodium azide)	200	14	No	[30]
阿朴吗啡(apomorphine)	微球(microspheres)	pH 7.4, PBS, 0.2% 抗坏血酸(ascorbic acid)	50	5	NR	[31]
亚硝基硫醇(S-nitrosothiols)	植入剂(implants)	PBS	5	37	Yes	[32]
牛血清白蛋白(bovine serumalbumin)	植入剂(implants)	pH 7.4, PBS, 0.01% 叠氮化钠(sodium azide)	1	180	NR	[33]
克林霉素磷酸酯(clindamycinphosphate)	纳米颗粒(nanoparticles)	pH 7.4, 20 mmol · L ⁻¹ 三氨基甲烷盐酸盐缓冲液(triaminomethane hydrochloride buffer)	0.3	21	NR	[34]
利培酮(risperidone)	植入剂(implant)	pH 7.4, PBS	2 400	112	Yes	[35]
胰岛素(insulin)	纳米粒子(nanoparticles)	PBS	10	10	NR	[36]
司他夫定(stavudine)	微球(microspheres)	pH 7.4, PBS	1.5	60	NR	[37]
纳曲酮(naltrexone)	微球(microspheres)	pH 7.4, 10 mmol · L ⁻¹ PBS, 0.02% 吐温 20(Tween 20), 0.02% 叠氮化钠(sodium azide)	50	35	Yes	[19]

注(note): NR, NA, Yes, No, SDS, PBS, SBF, PG, HEPES. 同表 1(same as Tab. 1)

使用取样分离法可以直接检测药物释放度, 方法较简单, 适用于任何体积的溶出介质。该方法可用于药物与介质直接接触而出现突释的制剂的检测, 更换介质有助于保持漏槽状态。该方法的缺点包括: 取样过程冗长且烦琐, 在分析前需要对样品进行过滤或离心, 这可能导致释放介质中样品颗粒的损失; 由于搅拌不充分会形成颗粒物聚集, 可能导致药物释放变慢; 在药物释放研究中, 容器的形状和大小变化可能导致实验室内部和实验室之间数据不一致。

2.2 透析法

透析法是使用具有一定截留相对分子质量的透析膜将释放出的药物进行物理分离后选择合适的时间间隔测定释放介质中药物浓度的一种方法。与取样分离法相比, 透析法可以利用透析膜分离游离药物与长效注射剂, 在释放过程中可避免反复取样导致的药物损失, 以及取样后烦琐的游离药物分离操作。根据装置、容器大小和分子截留量的不同, 透析法主要可分为正向动态透析法、反向动态透析法和结合透析法。透析法中影响药物释放速

度的重要因素是透析膜材质和截留相对分子质量。透析膜材质主要有再生纤维素、纤维素酯和聚偏二氟乙烯^[38]。需充分评估透析膜对药物的吸附作用,避免释放出的游离药物大量吸附于透析膜表面,进而影响游离药物向释放介质中扩散。此外,还需系统优化透析膜截留相对分子质量,需在满足游离药物扩散通过的同时,避免纳米药物中小粒径颗粒通过或堵塞透析膜。透析法虽然操作简单,但在实际应用中仍然存在一定问题。如待测药物在透析袋或透析装置中聚集或沉降,透析袋或透析装置形状不固定导致释药表面积存在差异,在溶出装置中位置无法固定,难溶性药物易吸附于透析膜中,透析袋内可容纳的介质体积有限、难以达到漏槽条件等。

2.2.1 正向动态透析法 正向动态透析法是借助截留一定相对分子质量的透析袋或透析管透析池,将待测物分散于少量的释放介质并密封在透析袋中,然后将透析袋置于装有一定量释放介质的容器中,使游离药物扩散至释放介质,按照一定的时间间隔取样,同时补充等量的空白释放介质,通过测定药物累积释放量来评估药物体外释放度。一般透析袋内释放介质的体积远远小于容器中释放介质的体积,如透析袋内释放介质的体积为1~10 mL,而容器中的体积为40~90 mL,因此,容器的大小取决于所需释放介质的总体积。

赵笛等^[39]用正向动态透析法考察吸入用瑞德西韦脂质体体外释药行为,将待测溶液置于透析袋,透析袋截留相对分子质量为3 500,以200 mL模拟肺液作为溶出介质,37 °C恒温,取样体积1 mL,取样后立即补液,结果显示瑞德西韦脂质体在该释放介质中约4 h即能够释放大于90%。林雯等^[40]采用逆向蒸发法制备替莫唑胺脂质体,用正向动态透析法考察了替莫唑胺的体外释药行为。将待测物放至透析袋,透析袋两端用夹子固定,置于100 mL pH 5.0的磷酸盐缓冲溶液中,37 °C恒温水浴振荡,速度100 r·min⁻¹,定时取样并补液,研究结果显示该脂质体前2 h属于突释阶段,释放量约60%,后进入缓释阶段,释药速度变缓,6 h时基本释放完毕。

正向动态透析法操作简便,对设备要求较低,取样后无需再进行过滤操作分离脂质体和游离药物,但需考察药物与透析袋的相容性及透析袋对药物的

吸附性,且透析袋内介质几乎不流动,会影响待测物释放速率。此外,搅拌速度不宜过快,否则透析袋转动过快或幅度过大,容易破损,导致药物泄露。

2.2.2 反向动态透析法 反向动态透析法是将长效注射剂与释放介质直接接触的一种释放方法,待测物与释放介质之间没有任何透析膜隔开,将待测药物使用大体积释放介质稀释置于容器,将含有空白释放介质的透析袋或透析装置置于上述容器,测定透析袋内释放介质中药物浓度。待测制剂的表面与释放介质直接接触,可以更好地模拟体内环境。反向动态透析法的优势在于可以使长效注射剂得到最大限度的稀释,并使得系统达到平衡。

王懿睿等^[41]用全体液平衡反向透析法评价伊曲康唑自微乳化释药系统体外释放,能较好地模拟人体内释放的情况。按照ChP 2020浆法测定样品释放度,搅拌浆转速100 r·min⁻¹,水浴温度(37±0.5) °C,释放介质900 mL,将7个装有2 mL释放介质的大小、形状相同的透析袋,完全浸入释放介质中平衡2 h。然后将相当于50 mg伊曲康唑的伊曲康唑自微乳化释药系统直接放入释放介质中,分别于5、10、20、30、45、60、80 min定时各取出1个透析袋,同时从释放介质中取出5 mL并补充同温释放介质5 mL。取出透析袋内溶液20 μL进行HPLC分析,得到袋内药物浓度;取出抽取的释放介质用0.22 μm的微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液20 μL进行HPLC分析,得到袋外药物浓度。将透析袋内药物含量除以袋外药物含量得到累积释放度。Liu等^[42]采用正向动态透析法和反向动态透析法研究了紫杉醇固体脂质纳米粒的体外释放行为,以pH 6.0的0.8 mol·L⁻¹水杨酸钠溶液为释放介质,结果显示,在0.5 h内的释放量分别为27.6%和17.4%,可能与纳米粒表面吸附的药物快速解吸附有关,2条释放曲线均符合一级动力学方程,但反向动态透析法的速率更快,应与制剂直接加入到释放介质中能更好地模拟体内药物释放环境有关。

2.2.3 综合透析法 也有文献报道采用综合透析法进行药物体外释放度的测定^[43],透析法可以结合ChP标准溶出装置,包括浆法、篮法、小杯法、流通池法等,也可以结合简易方法如摇瓶法或烧杯搅拌法等一起使用。在这种方法中,将篮法中的“篮”替换为密封的透析膜,或者将一定孔隙的透析袋系在浆或篮上,并将待测物置于透析袋中,然后每隔一定时

间于溶出杯中取出相应的药物释放溶液,测定体外释放度,也可通过对取样分离法、流通池法等装置进行改进,与透析法结合用于长效注射剂体外释放度评价。

Manna 等^[44]用透析膜结合浆法研究了布比卡因多囊脂质体(BPV - MVL)的体外释放,首先研究了布比卡因在各种 MWCO 膜(10、20、50、100 kDa,再生纤维素, Float - A - Lyzer G2; Spectrum Labs, CA, USA)上的扩散动力学。将每个透析膜(管)在 0.5% SDS 溶液中预润湿,并用去离子水洗涤以消除膜表面的甘油并获得最大的膜渗透性,将 2 mL 1.5 mg · mL⁻¹的布比卡因对照品溶液放到透析管中,然后将透析管固定在 USP II 法仪器中。溶出介质为 200 mL PBS(pH 7, 50 mmol · L⁻¹),温度为 37 °C,使用原位光纤 UV - Vis 系统测定布比卡因浓度。研究 BPV - MVL 体外释放方法时的考察条件包括不同的温度、搅拌速度和 pH,结果显示在所有释放条件下都观察到了明显的三相释放特性,释放曲线包括突释阶段、滞后阶段和二次释放阶段。张辛宁等^[45]采用薄膜分散法制备紫杉醇衍生物脂质体,按照篮法与正向透析结合法进行体外释放测定,将脂质体溶液置于透析袋,两端封闭扎紧后置于溶出转篮,然后放入溶出杯,释放介质为 0.5% 聚山梨酯 - 80 溶液 1 000 mL,尽量保证有效释放透析袋长度一致,转速 100 r · min⁻¹,取样体积 10 mL,取出溶液经孔径 0.45 μm 有机微孔滤膜过滤后检测。研究表明,该脂质体有一定缓释效果,释放速率显著低于对照组。Mottaleb 等^[46]将转篮改造成底部为透析膜的玻璃篮,用其比较了布洛芬脂质体、脂质纳米囊和纳米粒 3 种制剂的体外释放曲线,与具有较大膜表面积的透析袋相比,玻璃篮透析法可以辨别不同纳米制剂体外释放行为的差异。Yuan 等^[47]、Rudd 等^[48]使用流通池法结合透析装置,建立了多柔比星脂质体体外释放测定方法,通过优化介质中羟丙基 - 环糊精浓度、温度和待测样品浓度等参数,可以区分不同组成、不同理化性质和不同制备工艺所制备的多柔比星脂质体。

2.3 扩散池法

扩散池法是指采用扩散池装置,使用透析膜来测定长效注射剂中药物体外释放度的一种方法。Franz 扩散池、Valia - Chien 水平扩散池和流通扩散池常被用来测定纳米给药系统的药物体外释放度。

测定时,样品池中放置待测物混悬液,接收池为释放介质储存处,在不同时间点于接收池内取样测定释放度,并同时补充新鲜释放介质。与其他设备相比,该设备的操作过程不那么复杂,但接收池的体积有限,通常为 12 mL,需要更多的溶剂来满足沉降条件,此外,在搅拌过程中,有可能在受体室中形成气泡。Gupta 等^[49]用垂直 Franz 扩散池检查奈帕芬胺眼用混悬液体外释放,同时使用流池法、摇瓶法、透析法进行了体外释放实验,结果表明,用流池法时释放曲线的结果最好且可重复。Herrera 等^[50]同时用垂直 Franz 扩散池法和旋转瓶法检查醋酸亮丙瑞林缓释微球的体外释放,结果显示 Franz 扩散池法的药物释放曲线与体内结果更为相关。石玲玲等^[51]采用 Franz 扩散池法,比较奥泽沙星皮肤外用制剂试验制剂和参比制剂体外释放的一致性,以 0.45 μm 聚醚砜膜为人工膜,7 mL 脱气后的二乙醇单乙醚 - 水(50:50)为接收液,转速 500 r · min⁻¹,温度 32 °C,取样体积 2 mL,于 0.5、1、2、4、6 h 取样,以 HPLC 法分别测定药物在人工膜中的释放量随时间变化的释放规律,评价试验和参比制剂体外释放的一致性。

2.4 其他方法

除了上述方法,也有文献^[52]报道单滴法、倒杯法、孵育法在长效注射剂的体外释放度检查中的应用。Soderberg 等^[52]开发了单滴法来研究脂基制剂的体外药物释放,与水或释放介质相比,脂基制剂具有较低的密度,因此它们在介质中保持漂浮状态。在该方法中,制剂一直暴露在具有恒定面积的介质中,药物可以很容易地与介质平衡,但必须不要干扰组装,否则脂滴可能分解并黏在玻璃壁上。单滴法的主要缺点是不适合评价具有两亲性(亲脂性和亲水性)、高极性和低粘度特性的配方。有文献报道采用单滴法对利多卡因与普利卡因比例为 1:1 的脂类长效注射剂进行体外释药研究,并实现体外 IVIVC^[53]。脂质或油基制剂的药物释放主要取决于制剂与介质之间的界面面积,这类制剂在溶解介质中需要保持恒定的表面积,以防止由于方法本身而引起的批次之间的变化。为了克服单滴法的局限性,Soderberg 等^[54]又开发了倒杯法,倒杯法可以防止脂基制剂分散在介质中,且不受待测制剂黏度和极性的影响。表 3 总结了本文中体外药物释放非药典方法的优缺点。

表 3 非药典方法的优缺点

Tab. 3 Advantages and disadvantages of non compendial methods

非药典方法类型 (type of non compendial methods)	优点 (advantage)	缺点 (disadvantage)
取样分离法(sample and separate method)	简单,没有滞后时间,可以防止介质损失,适用于检查制剂的突释,有助于保持“漏槽”状态(simple, absence of lag time, loss of media can be prevented, suitable to check burst release from formulation, sink conditions can be maintained)	颗粒状制剂在较低的转速或振荡条件下容易聚集,形成滞留层,取样过程烦琐,可能损失样品(formation of aggregation of particulate formulations at lower shaking conditions, cumbersome sampling process)
透析法(dialysis method)	容易取样,取样后无需再过滤分离,可避免药物损失,成本较低(ease in sample withdraw, loss of sample can be prevented, less expensive)	不适用于可与透析膜结合的药物,药物在透析袋或透析装置中可能会聚集或沉降(not suitable for drugs that can bind to dialysis membranes, formation of stagnant layer or aggregation)
扩散池法(Franz diffusion cell method)	成本较低;操作简便;取样后无需再过滤分离,可避免药物损失(less expensive, simple in sampling, loss of sample can be prevented)	不能自动调节释放介质的 pH 值;接收池内的温度较难控制;难以控制搅拌效果,导致药物在接收池内的浓度分布不均匀(the pH of the releasing medium cannot be automatically adjusted; the temperature in the receiving cell is difficult to control, difficult to control the stirring effect, resulting in uneven drug distribution in the receiving tank)
单液滴法(single drop method)	恒定的药物释放表面积,适用于检查制剂的突释(constant surface area for drug release, suitable to check burst release from formulations)	需要特定的物理和化学性质来配制滴剂,不适合长时间使用(require specific physical and chemical properties to maintain prepared drop, not suitable for longer duration)
倒杯法(inverted cup method)	恒定的药物释放表面积,适用于检查制剂的突释(constant surface area for drug release, suitable to check burst release from formulations)	形成滞流层,不宜持续时间过长(formation of stagnant layer, not suitable for longer duration)

3 小结

长效注射剂作为一类可延长药物作用时间,减少给药次数,改善患者顺应性的制剂,正在成为国内外新药研发的热点。开发者应结合原料药基本理化性质、药物靶点和作用机理、临床使用特点、目标应用人群等,全面分析选择长效注射剂作为目标制剂进行研发的合理性和可行性。将质量源于设计的理念融入整体开发策略,特别关注长效注射剂释放机制的设计与研究,基于释放机制建立质控前移的思路,研究体外释放方法。通过对已上市长效注射剂品种释放度方法的梳理,释放度取样时间一般达到 3 d 以上,最长可达 1 个月以上^[55]。与给药周期相比,一般释放度取样时间较给药周期短。长效注射剂研发者在释放度检测方法的开发过程中,一般希望能够建立 IVIVC 量化制剂在体内的释放和吸收,并作为有效的质控方法支持在临床开发的后期或上市后处方变更的生物等效性豁免。取样时间是体外释放度良好控制方法的重要参数,但由于药物在体内行为的复杂性及体外释放度方法的局限性,使得长效注射剂 IVIVC 的建立具有较大挑战,因此,研究筛选出取样时间短、稳定可靠的释放度方法,不仅可以减少试验时间和降低成本,也能够提高企业后续生产、放行的效率。

参考文献

- [1] FDA FY 2016 Regulatory Science Report: Long-Acting Injectable Formulations[EB/OL]. (2017-03-28) [2024-05-14]. <https://www.fda.gov/industry/generic-drug-user-fee-amendments/fy2016-regulatory-science-report-long-acting-injectable-formulations>
- [2] MARTINEZ M, RATHBONE M, BURGESS D, et al. *In vitro* and *in vivo* considerations associated with parenteral sustained release products: a review based upon information presented and points expressed at the 2007 Controlled Release Society Annual Meeting [J]. *J Control Release*, 2008, 129(2):79
- [3] CHAUDHARY K, PATEL M, MEHTA P. Long-acting injectables: current perspectives and future promise[J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2019, 36(2): 137
- [4] BAUER A, BERBEN P, SUDHRI S, et al. Current state and opportunities with long acting injectables: industry perspectives from the innovation and quality consortium “Long Acting Injectables” working group[J]. *Pharm Res*, 2023, 40(7):1601
- [5] LU Y, KIM S, PARK K. *In vitro* - *in vivo* correlation: perspectives model development[J]. *Int J Pharm*, 2011, 418(1):142
- [6] FDA. Dissolution Methods [EB/OL]. (2022-07-28) [2024-05-14]. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults.cfm
- [7] NANAKI S, BARMPALEXIS P, LATROU A, et al. Risperidone controlled release microspheres based on poly (lactic acid) - poly (propylene adipate) novel polymer blends appropriate for long act-

- ing injectable formulations[J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(3): 130
- [8] GRILC B, ZDOVC J, PLANINSEK O. Advanced flow cell design for release testing of mucoadhesive buccal films[J]. *Acta Pharm*, 2020, 70(3): 359
- [9] TANG J, SRINIVASAN S, YUAN WM, *et al.* Development of a flow-through USP 4 apparatus drug release assay for the evaluation of amphotericin B liposome [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, 134: 107
- [10] LIU YY, MEI ZH, MEI L, *et al.* Analytical method development and comparability study for AmBisome (R) and generic amphotericin B liposomal products [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, 157: 241
- [11] CHE X, WANG LH, LI QY, *et al.* Injectable long-term control-released in situ gels of hydrochloric thiothixene for the treatment of schizophrenia: preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. *Int J Pharm*, 2014, 469(1):23
- [12] TANG J, SRINIVASAN S, YUAN W, *et al.* Development of a flow-through USP 4 apparatus drug release assay for the evaluation of amphotericin B liposome[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019 (134): 107
- [13] KI MH, LIM JL, KO JY, *et al.* A new injectable liquid crystal system for one month delivery of leuprolide [J]. *J Control Release*, 2014, 185: 62
- [14] DELPLACE CR, BOULLAY OT, SIEPMANN F, *et al.* PLGA microparticles with zero-order release of the labile anti-Parkinson drug apomorphine[J]. *Int J Pharm*, 2013, 443(1-2): 68
- [15] SHEN J, BURGESS DJ. Accelerated *in vitro* release testing of implantable PLGA microsphere/PVA hydrogel composite coatings [J]. *Int J Pharm*, 2012, 422(1-2): 341
- [16] STERNER B, HARMS M, WEIGANDT M, *et al.* Crystal suspensions of poorly soluble peptides for intra-articular application; a novel approach for biorelevant assessment of their *in vitro* release [J]. *Int J Pharm*, 2014, 461(1-2): 46
- [17] THINGG M, LARSEN C, ØSTER J, *et al.* *In vitro* release from oil injectables for intra-articular administration; importance of interfacial area, diffusivity and partitioning[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 45(3):351
- [18] GERNER P, WANG CF, LEE BS, *et al.* The relationship between functional sciatic nerve block duration and the rate of release of lidocaine from a controlled release matrix [J]. *Anesth Analg*, 2010, 111(1): 221
- [19] ANDHARIYAA JV, SHEN J, CHOI S, *et al.* Development of *in vitro* - *in vivo* correlation of parenteral naltrexone loaded polymeric microspheres[J]. *J Control Release*, 2017 (255):27
- [20] 黄潘雯, 陈菡, 张永太, 等. 往复桶法测定麝香缓释微片的体外释放度[J]. *药物分析杂志*, 2024, 44(6):1074
- HUANG PW, CHEN X, ZHANG YT, *et al.* Determination of *in vitro* release of musk sustained-release mini-tablets by reciprocating cylinder method[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2024, 44(6): 1074
- [21] GARNER J, SKIDMORE S, PARK H, *et al.* Beyond Q1/Q2: the impact of manufacturing conditions and test methods on drug release from PLGA-based microparticle depot formulations [J]. *J Pharm Sci*, 2018, 107(1):353
- [22] WANG RF, BAO QY, CLARK AG, *et al.* Characterization and *in vitro* release of minocycline hydrochloride microspheres prepared via coacervation[J]. *Int J Pharm*, 2022, 628:1
- [23] NAHATA T, SAINI TR. Optimization of formulation variables for the development of long acting microsphere based depot injection of olanzapine[J]. *J Microencapsul*, 2008, 25: 426
- [24] WANG SH, ZHANG LC, LIN F, *et al.* Controlled release of levonorgestrel from biodegradable poly(D, L-lactide-co-glycolide) microspheres: *in vitro* and *in vivo* studies[J]. *Int J Pharm*, 2005, 301: 217
- [25] AHMED TA, IBRAHIM HM, SAMY AM, *et al.* Biodegradable injectable in situ implants and microparticles for sustained release of montelukast: *in vitro* release, pharmacokinetics, and stability [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2014, 15:772
- [26] QI F, WU J, YANG TY, *et al.* Mechanism studies for monodisperse exenatide-loaded PLGA microspheres prepared by different methods based on SPG membrane emulsification [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(10):4247
- [27] JU C, SUN J, ZI P, *et al.* Thermosensitive micelles-hydrogel hybrid system based on poloxamer 407 for localized delivery of paclitaxel. [J]. *J Pharm Sci*, 2013, 102(8):2707
- [28] RAJAGOPAL K, WOOD J, TRAN B, *et al.* Trehalose limits BSA aggregation in spray-dried formulations at high temperatures: implications in preparing polymer implants for long-term protein delivery[J]. *J Pharm Sci*, 2013, 102(8):2655
- [29] BEGE N, RENETTE T, ENDRES T, *et al.* In situ forming nimodipine depot system based on microparticles for the treatment of posthemorrhagic cerebral vasospasm[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 84(1):99
- [30] WANG D, ZHAO JL, LIU XM, *et al.* Parenteral thermo-sensitive organogel for schizophrenia therapy, *in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 60: 40
- [31] DELPLACE CR, BOULLAY OT, SAIEPMANN FS, *et al.* PLGA microparticles with zero-order release of the labile anti-Parkinson drug apomorphine[J]. *Int J Pharm*, 2013, 443(1-2):68
- [32] PARENT M, BOUDIER A, DUPUIS F, *et al.* Are in situ formulations the keys for the therapeutic future of S-nitrosothiols[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85:640
- [33] GHALANBOR Z, KORBER M, BODMEIER R. Interdependency of protein-release completeness and polymer degradation in PLGA-based implants[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85(3):624
- [34] USKOKOVIC V, DESAI TA. *In vitro* analysis of nanoparticulate hydroxyapatite/chitosan composites as potential drug delivery platforms for the sustained release of antibiotics in the treatment of osteomyelitis[J]. *J Pharm Sci*, 2014, 103(2): 567
- [35] AMANN L, GANDAL MJ, LIN R, *et al.* *In vitro* - *in vivo* correla-

- tions of scalable PLGA – risperidone implants for the treatment of schizophrenia[J]. *Pharm Res*, 2010, 27(8):1730
- [36] TOMAR L, TYAGI C, KUMAR M, *et al.* *In vivo* evaluation of a conjugated poly (lactideethylene glycol) nanoparticle depot formulation for prolonged insulin delivery in the diabetic rabbit model. [J]. *Int Nanomed*, 2012, 8:505
- [37] SRIVASTAVA S, SINHA VR. Stavudine loaded biodegradable polymeric microspheres as a depot system for parenteral delivery[J]. *Int J Pharm Sci Drug Res*, 2013, 5: 1
- [38] 刘元芬, 王亚晶, 周咏梅, 等. 纳米给药系统中药物体外释放度测定方法及体内外相关性评价研究进展[J]. *中国药房*, 2019, 30(4): 548
- LIU YF, WANG YJ, ZHOU YM, *et al.* Research progress of *in vitro* drug release determination methods and *in vivo* and *in vitro* correlation evaluation in nano drug delivery systems[J]. *China Pharm*, 2019, 30(4):548
- [39] 赵笛, 李菁菁, 张凯, 等. 吸入用瑞德西韦脂质体的制备及其体外评价[J]. *中国药科大学学报*, 2021, 52(5):547
- ZHAO D, LI JJ, ZHANG K, *et al.* Preparation and *in vitro* characterization of remdesivir – loaded liposomes for inhalation[J]. *J China Pharm Univ*, 2021, 52(5):547
- [40] 林雯, 廖翔茹, 史琼枝, 等. T7/A7R 肽修饰的替莫唑胺脂质体制备与表征[J]. *中国药师*, 2021, 24(11):1978
- LIN W, LIAO XR, SHI QZ, *et al.* Preparation and characterization of temozolomide liposomes modified with T7/A7R peptides [J]. *China Pharm*, 2021, 24(11): 1978
- [41] 王懿睿, 杜光. 伊曲康唑自微乳化释药系统体外释放的评价方法[J]. *中国医院药学杂志*, 2008, 28(11):877
- WANG YR, DU G. Study on evaluation *in vitro* of release of itraconazole self – microemulsifying drug delivery system[J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2008, 28(11):877
- [42] 刘丹, 李淑斌, 鲍洁, 等. 注射用紫杉醇脂质纳米粒的制备、体外释放及体内药动学研究[J]. *中国药学杂志*, 2009, 44(17):1320
- LIU D, LI SB, BAO J, *et al.* Preparation, *in vitro* release and pharmacokinetics of paclitaxel lipid nanoparticles for intravenous injection[J]. *Chin Pharm J*, 2009, 44(17):1320
- [43] 宋波, 黄莺, 郭盈杉. 脂质体体外释放行为评价方法研究进展[J]. *医药导报*, 2023, 42(3):384
- SONG B, HUANG Y, GUO YS, *et al.* Research progress of evaluation methods of liposomes release behavior *in vitro* [J]. *Her Med*, 2023, 42(3):384
- [44] MANNA S, WU Y, WANG Y, *et al.* Probing the mechanism of bupivacaine drug release from multivesicular liposomes[J]. *J Controlled Release*, 2019, 294: 279
- [45] 张辛宁, 刘杨佳, 吴悦, 等. 紫杉醇衍生物(TAH)脂质体的处方工艺优化及初步质量评价研究[J]. *中国药剂学杂志*, 2021, 19(4): 110
- ZHANG XN, LIU YJ, WU Y, *et al.* Optimization of the formulation technology and preliminary quality evaluation of paclitaxel derivative (TAH) liposomes[J]. *Chin J Pharm*, 2021, 19(4):110
- [46] MONA M, MOTTALEB A, LAMPRECHT A. Standardized *in vitro* drug release test for colloidal drug carriers using modified USP dissolution apparatus[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2011, 37(2): 178
- [47] YUAN WM, KUAI R, DAI ZP, *et al.* Development of a flow – through usp – 4 apparatus drug release assay to evaluate doxorubicin liposomes[J]. *AAPS J*, 2017, 19(1): 150
- [48] RUDD ND, HELMY R, DORMER PG, *et al.* Probing *in vitro* release kinetics of long – acting injectable nano suspensions via flow – NMR spectroscopy[J]. *Mol Pharm*, 2020, 17(2):530
- [49] GUPTA PK, PANCHOLI SS, DAS P. *In vitro* drug release testing method for nepafenac ophthalmic suspension[J]. *J Pharm Sci*, 2024, 113(4):1061
- [50] HERRERA LC, DEFAIN MV, HERMIDA LG. *In vitro* release testing of PLGA microspheres with Franz diffusion cells[J]. *Dissol Technol*, 2012, 19(2):6
- [51] 石玲玲, 陈轶嘉, 朱云龙. 奥泽沙星皮肤外用制剂体外释放的对比研究[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(11):1989
- SHI LL, CHEN YJ, ZHU YL. Study on *in vitro* release test conditions of the topical product of ozenoxacin[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(11):1989
- [52] GRAVES RA, FREEMAN T, MANDAL TK. *In vitro* dissolution method for evaluation of buprenorphine in situ gel formulation: a technical note[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2007, 8(3):1
- [53] SODERBERG L, DYHRE H, ROTH B, *et al.* The “inverted cup” – A novel *in vitro* release technique for drugs in lipid formulations[J]. *J Controlled Release*, 2006, 113(1):80
- [54] SODERBERG L, DYHRE H, ROTH B, *et al.* Ultralong peripheral nerve block by lidocaine:prilocaine 1:1 mixture in a lipid depot formulation; comparison of *in vitro*, *in vivo*, and effect kinetics [J]. *Anesthesiology*, 2006, 104(1):110
- [55] 马骏威, 任连杰. 长效注射剂的质量控制[J]. *中国新药杂志*, 2022, 31(9):845
- MA JW, REN LJ. Quality control of long – acting injections[J]. *Chin J New Drugs*, 2022, 31(9):845

(本文于2024年5月30日收到)