

双零级模型法测定地塞米松植入剂的释放度

乐 健^{1,2,3}, 张 雪³, 陆伟跃^{1*}, 王 浩^{2*}

(1. 复旦大学药学院, 教育部智能化递药重点实验室, 上海 201203; 2. 中国医药工业研究总院药物制剂国家工程研究中心, 上海 201203; 3. 上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: 在地塞米松植入剂 (dexamethasone implants, DI) 的释放度实验中, 地塞米松 (dexamethasone, DXM) 的降解不可避免, 导致流池法测定的释放度结果仅达到 70%~80% 时即发生释放度曲线下降的现象。研究表明, DI 在释放度实验每个取样区间制剂中的药物呈近似零级释放, 并且 DXM 在释放介质水 (含 0.05 mg·mL⁻¹ 苯扎氯铵) 中按零级速率降解。依据上述结果, 本文建立的双零级模型推导出每个取样区间的释放度 R_i 的计算公式为 $[R_{im} - R_{(i-1)m} \times (C_{in}/C_{i0})] \times 2 / (1 + C_{in}/C_{i0})$ 。在每个取样区间, 只需要测定初期和末期的释放介质, 以及同法实验的原料液溶液中的主药量, 即可计算包括降解药物在内的药物释放总量。本文还分析了双零级模型法测定的释放度曲线产生波动的原因和误差来源, 并提出解决方案。结果表明, 双零级模型较好地解决了 DI 在经典释放度测定法中遇到的问题, 可以为长效注射剂释放度实验中药物降解的定量表征提供一种方案。

关键词: 地塞米松; 植入剂; 释放度; 流池法; 双零级模型法

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)06-1306-06

Using double zero-order model to test the release of dexamethasone implants

LE Jian^{1,2,3}, ZHANG Xue³, LU Wei-yue^{1*}, WANG Hao^{2*}

(1. Key Laboratory of Smart Drug Delivery, Ministry of Education, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China; 2. National Pharmaceutical Engineering Research Center, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China; 3. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: Degradation of dexamethasone (DXM) is inevitable in the release test of dexamethasone implants (DI). In the release test conducted with flow-through cell method, the measured release curves of DI started to fall when cumulative release reached 70%–80%. Studies have shown that DI demonstrates a zero-order release rate of drug within every sampling interval, and a zero-order rate degradation in water (containing 0.05 mg·mL⁻¹ benzalkonium chloride). Hence, this study establishes a double zero-order model (DZOM) to calculate the release during sampling intervals with the formula $R_i = [R_{im} - R_{(i-1)m} \times (C_{in}/C_{i0})] \times 2 / (1 + C_{in}/C_{i0})$. At each sampling interval, we measure the initial and final drug contents in the release medium, and the concentrations of the active pharmaceutical ingredient (API) in the release medium obtained at the same condition of release test, to calculate the total released DXM from the implants including the degraded drug. This paper has also analyzed the reasons for the fluctuations in the drug release curve and the errors in the DZOM and provided solutions. Experimental results show that the DZOM has effectively solved the problems encountered in the normal release method (NRM). The DZOM can be a potential solution to drug degradation problems in the release tests of long-acting injections.

Key words: dexamethasone; implant; drug release; flow-through cell method; double zero-order model

收稿日期: 2019-12-23; 修回日期: 2020-01-27.

*通讯作者 Tel: 86-21-50798193, E-mail: wylu@shmu.edu.cn; wanghao10@sinopharm.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-1051

地塞米松 (DXM) 为一种糖皮质激素, 具有消炎、抑制免疫、抗休克及增强应激反应等药理作用, 多用于自身免疫性疾病、过敏、炎症以及皮肤科、眼科疾病, 近年来在癌症治疗中的应用也日益增多^[1,2]。美国食品和药品管理局 (FDA) 和欧洲药品监督管理局 (EDQM) 分别于 2009 年和 2017 年批准 Allergan 公司爱尔兰工厂生产的 DXM 玻璃体内植入剂上市, 用于治疗视网膜静脉阻塞继发黄斑水肿等眼科疾病。在植入玻璃体腔后的 2 个月中 DXM 浓度维持较高水平, 并在 6 个月内持续释放 DXM^[3-5]。Ren 等^[6,7]开发的地塞米松植入剂 (DI) 可经皮穿刺植入肾囊, 用于治疗肾病综合征, 释药周期可达 2 个月。本研究团队研制的 DI 采用热熔挤出法制备, 考察了甘露醇作为亲水性基质在聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 骨架中发挥的作用^[5,8]。

实时体外释放度实验是表征长效注射剂中药物在体内释放的有效手段。释放度方法的设计应参考体内释放的机制, 并且考虑释放部位的温度、分布、药物的体积和渗透压等因素^[9,10]。具有缓释作用的 DI 释放度实验往往耗时数月, 且实验条件很复杂, 此时, 流池法可发挥其巨大的优势: 长时间不间断运行和自动取样。此外, 流池法的特点还表现为: ① 满足漏槽原则; ② 实验条件如样品池类型、释放介质的种类、组成和体积、流速、温度等容易调整; ③ 本法已被美国药典、日本药局方和英国药典记载, 便于推广和标准化。

释放度的测定一般以取样时释放介质中溶解的药物总量表示, 即:

$$R = R_m \quad (1)$$

式中, R 是释放度; R_m 是释放介质中的主药量, 通过理化分析方法测定得到。速释制剂或大多数缓控释制剂可用上式计算释放度, 但对于长效注射剂来说, 整个释放度测定周期以周或月计, 期间药物在释放介质中的稳定性需引起关注。已有研究人员发现 DXM 和纳曲酮在释放介质磷酸盐缓冲液中均会发生降解^[11,12]。对于像多柔比星稳定性差的化合物, 即使释放度实验只有几个小时到十几个小时, 降解仍然不能忽略^[13]。

因此, 长效注射剂或主药不稳定的常规制剂的释放度需要用下式修正:

$$R = R_m + R_d \quad (2)$$

式中, R_d 是在释放介质中降解的主药量, 用理化分析方法通常无法直接测定。

目前, 对于式 (2) 中 R_d 的处理方式主要有以下几种: ① 经典法, 忽略了 R_d , 仍按照式 (1) 计算长效制剂的释放度^[14]; ② 取样分离法, 及时更换释放介质, 使降解量 R_d 在释放药物总量 R 中占比始终处于极少的比例, 从而忽略不计^[12,15,16]; ③ 假定释放介质中制剂已释

放的药物与相同介质中的原料药降解速率相同, 取原料药溶液同法进行释放度实验, 以取样时制剂与原料药在各自释放介质中药物浓度的比值作为释放度^[13]。

本文首次提出的双零级模型 (double zero-order model, DZOM) 尝试解决 (2) 式中 R_d 测定的问题。在任一释放度取样区间内, 如果制剂的释放速率及药物在释放介质中的降解速率均符合或近似符合零级速率, 根据速率理论可推导出该取样区间中长效注射剂的释放度 R_i , 将各取样区间的释放度 R_i 累加后即为释放度 R 。释放度实验中只需测定释放介质及同法实验的原料药溶液中的药物量, 通过 Excel 软件计算即可。

材料与方法

仪器与试剂 CE 7 流池法溶出仪 (瑞士 Sotax 公司); 玻璃微纤维滤膜 GF/D 25 mm (Whatman 公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪 (配有高精度四元梯度泵、在线脱气机、自动进样器、柱温箱和 DAD 检测器, Agilent 公司); DIKMA Diamonsil Plus C18 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm, 迪马公司)。

DXM 对照品 (含量 99.7%, 批号 10019-201105, 中国食品药品检定研究院); 供试品 [处方 1: 10% 甘露醇 DI (含 50% DXM、10% 甘露醇和 40% PLGA), 批号 170220-4; 处方 2: L-PLGA (含 50% DXM 和 50% L-PLGA), 批号 170220-2; 处方 3: 无甘露醇 DI (含 50% DXM 和 50% PLGA), 批号 170220-1] 均由药物制剂国家工程研究中心提供, 每支含 DXM 700 μg。乙腈、甲醇 (色谱纯, 德国 Merck 公司); 85% 磷酸 (分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 苯扎氯铵 (benzalkonium chloride, BC, L610P34, 99.60%, J&K 公司); 水为超纯水。

DXM 降解速率的测定 色谱条件: 色谱柱为 DIKMA Diamonsil Plus C18 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温 30 °C, 流动相为乙腈-水-85% 磷酸 (35: 65: 0.59), 流速 1 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 检测波长为 250 nm。

取 DXM 对照品适量, 精密称定, 加甲醇使溶解并用水 (含 0.05 mg·mL⁻¹ BC) 定量稀释制成 DXM 质量浓度约为 2 μg·mL⁻¹ 溶液, 分别置于 2 只离心管中, 密闭, 分置于 44 °C 和 37 °C 水浴中。44 °C 条件下分别于 0、1、2、3、7、14、21、28、35 和 42 天; 37 °C 条件下分别于 0、7、14、21、28、35、42、49 和 56 天, 各取样 0.5 mL。精密量取上述溶液各 20 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按面积归一化法以峰面积计算各时间点的主药量和杂质总量, 考察 DXM 在不同温度下在水中的降解速率。

经典法测定释放度 取植入剂小池, 装入植入剂, 以水 (含 0.05 mg·mL⁻¹ BC) 为介质, 体积 250 mL, 泵流

速 $8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度为 $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 分别于 1、2、3、7、14、21、28、35、42、49 和 56 天, 各取样 2 mL, 作为供试品溶液。精密称取 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥 2 h 后的 DXM 对照品适量, 加甲醇使溶解, 用水 (含 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ BC) 定量稀释制成 DXM 质量浓度分别为 0.101 、 1.01 和 $2.02 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液, 作为对照品溶液。精密量取对照品溶液和供试品溶液各 $20 \text{ }\mu\text{L}$, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算各取样时间点的释放量。1~14、21 和 28~56 天的供试品溶液的质量浓度分别以 0.101 、 1.01 和 $2.02 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品溶液校正因子计算。

DZOM 测定释放度 如果将 DI 药物释放的整个过程细分为若干个取样区间, 分别计作 t_1 、 t_2 、 t_3 ... t_k , 各自区间对应的药物释放量分别计作 R_1 、 R_2 、 R_3 ... R_k 。因为释放量 R 具有加和性, 于是:

$$R = R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_k \quad (3)$$

在任一区间 t_i ($1 \leq i \leq k$) 内, 只要 t_i 足够小, 可以认为药物在此期间按近似恒定的速率释放, 即零级释放。释放曲线通常将相邻两个取样点的释放度通过直线连接, 也就是将制剂按零级释放处理。同时, 因为 DXM 在介质中是按零级速率降解的, 称之为 DZOM。

在 t_i 区间末期, 释放介质中溶解的药物量 R_{im} 来源可分为两部分: ① t_{i-1} 区间末期已存在于释放介质中的药物 $R_{(i-1)m}$, 又经过 t_i 时间的降解; ② t_i 区间制剂新释放的药物 R_i , 药物到达溶液中随即发生降解。

来源①的贡献量 R_{im1} 。 $R_{(i-1)m}$ 以游离的形式溶解于释放介质中, 与同法实验的原料药溶液以相同的速率降解, 在 t_i 区间末期, $R_{(i-1)m}$ 剩余的药物量 R_{im1} 为:

$$R_{im1} = R_{(i-1)m} \times (C_{in}/C_{i0}) \quad (4)$$

式中, C_{i0} 和 C_{in} 分别指同法实验的原料药溶液在 t_i 区间初期和末期的药物浓度。

来源②的贡献量 R_{im2} 。 植入剂中未释放部分的药物不发生降解, 药物一旦释放到介质中, 降解随即发生。在 t_i 区间内, 把 t_i 等分为 t_{i1} 、 t_{i2} 、 t_{i3} ... t_{ij} ... t_{in} 共 n 个时间段 (n 接近于无穷大), 因为药物释放和降解速率均为匀速, 在任意一个时间段 t_{ij} 内, 药物释放量 R_{ij} 为 t_i 区间药物释放量 R_i 的 $1/n$, 而这部分药物在释放至介质中, 随即发生降解, t_{i1} ~ t_{in} 这 n 个时间段中每个时段释放药物的降解量分别为:

$$R_{id1} = R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-1)/n$$

$$R_{id2} = R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-2)/n$$

$$R_{id3} = R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-3)/n$$

.....

$$R_{idj} = R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-j)/n$$

.....

$$R_{idn} = R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-n)/n$$

式中, R_i 为 t_i 区间的药物释放量, R_{idj} 为 t_i 区间内第 j 个时间段内释放的药物的降解量。

将上述等式左右两边分别累加, 可得 t_i 区间植入剂释放药物 R_i 的降解量为:

$$\begin{aligned} R_{id} &= R_{id1} + R_{id2} + R_{id3} + \dots + R_{idj} + \dots + R_{idn} \\ &= R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-1)/n + R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-2)/n + R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-3)/n + \dots + R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-j)/n \\ &+ \dots + R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-n)/n \\ &= R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times (n-1+n-2+n-3 + \dots + n-j + \dots + 0) / n \\ &= R_i/n \times (1 - C_{in}/C_{i0}) \times n \times (n-1) / 2 / n \\ &\approx R_i \times (1 - C_{in}/C_{i0}) / 2 \end{aligned} \quad (5)$$

R_{im2} 实际上是 t_i 区间内制剂的药物释放量 R_i 与随即降解的药物量 R_{id} 的差值:

$$R_{im2} = R_i - R_{id} = R_i - R_i \times (1 - C_{in}/C_{i0}) / 2 \quad (6)$$

于是, $R_{im} = R_{im1} + R_{im2} = R_{(i-1)m} \times (C_{in}/C_{i0}) + [R_i - R_i \times (1 - C_{in}/C_{i0}) / 2]$ (7)

公式 (7) 经变换后, 得到:

$$R_i = [R_{im} - R_{(i-1)m} \times (C_{in}/C_{i0})] \times 2 / (1 + C_{in}/C_{i0}) \quad (8)$$

公式 (8) 是 DZOM 法计算 DI 释放度 R 的数学基础。式中, R_i 是 t_i 区间的释放度, 一般指相邻两个取样时间点之间的释放度; $R_{(i-1)m}$ 和 R_{im} 分别为 t_i 区间初期和末期释放介质中的主药量; C_{i0} 和 C_{in} 分别为同法实验的原料药溶液在 t_i 区间初期和末期的主药浓度。 $R_{(i-1)m}$ 、 R_{im} 、 C_{i0} 和 C_{in} 均可通过理化分析方法直接测定得到。

DZOM 法测定 DI 释放度按照经典法测定释放度项下实验, 按外标法以峰面积计算各取样点释放介质中的药物, 即为公式 (8) 中的 R_{im} , 前一次取样点的 R_{im} 即为本次取样点的 $R_{(i-1)m}$ 。另取 DXM 质量浓度约为 $2 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的原料药释放介质溶液 250 mL , 置于流池法储液瓶中, 与制剂同法实验, 按面积归一化法以峰面积计算各取样点释放介质中的原料药浓度, 即为公式 (8) 中的 C_{in} , 前一次取样点的 C_{in} 即为本次取样点的 C_{i0} 。通过 Excel 软件, 将各区间的测定结果 R_{im} 、 $R_{(i-1)m}$ 、 C_{in} 和 C_{i0} 代入公式 (8) 计算该区间释放度 R_i , 将各 R_i 代入公式 (3) 计算释放度 R 。本次实验中, R_1 为 0~1 天的释放量, R_2 为 1~2 天的释放量, R_3 为 2~3 天的释放量, R_4 为 3~7 天的释放量, 其他依次类推。如果要计算 7 天的药物释放量, 即 $R = R_1 + R_2 + R_3 + R_4$; 计算 28 天的药物释放量, 即 $R = R_1 + R_2 + R_3 + \dots + R_7$ 。

结果

1 DXM 降解速率

以降解时间为横坐标, 各温度下 DXM 百分含量

为纵坐标进行线性回归, DXM 在水 (含 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ BC) 中按零级动力学降解:

$$44 \text{ } ^\circ\text{C}: Y = -0.022X + 0.987, r^2 = 0.985$$

$$37 \text{ } ^\circ\text{C}: Y = -0.010X + 0.965, r^2 = 0.982$$

2 经典法

所有处方的释放度均在 28 天达到峰值 $70\% \sim 80\%$, 然后出现释放曲线下降的现象 (图 1), 释放度结果明显低于制剂中主药含量。该释放曲线实际上是制剂中药物释放与溶液中药物降解的综合反映, 类似于药物在体内的药时曲线, 吸收及代谢同时发生。因此, 经典法测定的释放度曲线无法客观评价 DI 真实的释放量。

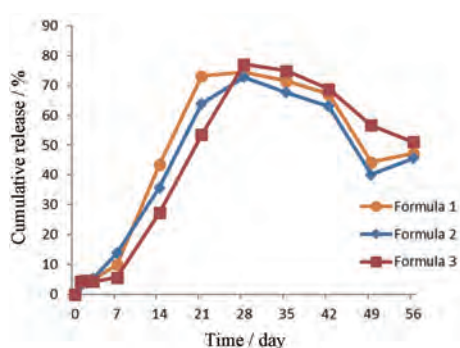


Figure 1 Release of dexamethasone implants (DI) using normal method. Formula 1: Containing 50% DXM, 10% mannitol and 40% PLGA; Formula 2: Containing 50% DXM and 50% L-PLGA; Formula 3: Containing 50% DXM and 50% PLGA. PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid)

以处方 3 为例, 如果将释放曲线与 DXM 原料溶液的降解曲线比较, 纵坐标为制剂的释放度或经归一化处理的原料溶液浓度, 见图 2。在释放初期, DI 释放速率快于降解速率, 释放度曲线表现为逐渐上升; 在第 28 天达到顶峰, 此时释放速率等于降解速率, 释放度曲线出现拐点; 28 天后释放速率慢于降解速率, 释放度曲线逐渐下降, 待植入剂不再释放药物时, 介质中只有降解发生, 释放度曲线的斜率与药物降解曲线的斜率趋于一致。

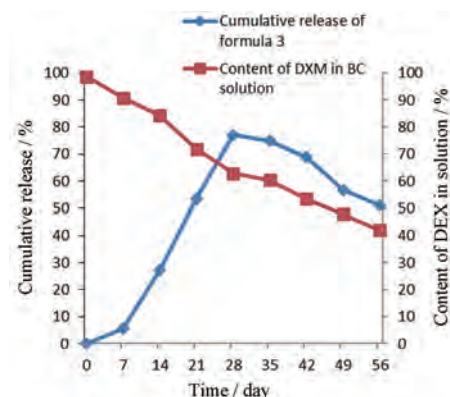


Figure 2 Comparison of release of DI and degradation of dexamethasone (DXM) in $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ benzalkonium chloride (BC) solution

3 DZOM 法

DZOM 法测定的 3 种处方释放度均在 42 天达到 90% 以上, 释放量和达峰时间均明显大于经典法的测定结果, 克服了因降解造成的释放曲线下降的问题 (图 3A~C)。

讨论

DZOM 法第 49 天的释放度较第 42 天有所下降, 其原因在于公式 (8) 的 $R_{im} - R_{(i-1)m} \times (C_{in} / C_{i0})$ 部分。由于 R_{im} 、 $R_{(i-1)m}$ 、 C_{in} 和 C_{i0} 都是通过 HPLC 法测得, 受到分析方法本身波动性的限制, 当 R_{im} 和 $R_{(i-1)m}$ 、 C_{in} 和 C_{i0} 数值非常接近时 (主要发生在释放的初期和末期), 有可能出现 $R_i = R_{im} - R_{(i-1)m} \times (C_{in} / C_{i0}) < 0$, 即 t_i 区间的释放度 R_i 小于零这一与常理相悖的结果。为了避免这种结果出现, 对于 C_{in} 和 C_{i0} 的测定, 应尽可能采用面积归一化法定量, 其主药或杂质含量变化趋势性明显强于外标法, 获得 $C_{in} \leq C_{i0}$ 的结果并不困难。 R_{im} 和 $R_{(i-1)m}$ 的测定只能通过外标法定量, 因此, 当 R_{im} 和 $R_{(i-1)m}$ 在数值上比较接近时, 常用的 HPLC 等分析方法本身精密度的局限性不能从根本上解决 $R_i < 0$ 的问题, 此时可以尝试采取以下几种处理方式: ① 尽可能一次性而不是分次测定所有的供试品溶液; ② 承认分析方法中外标法存

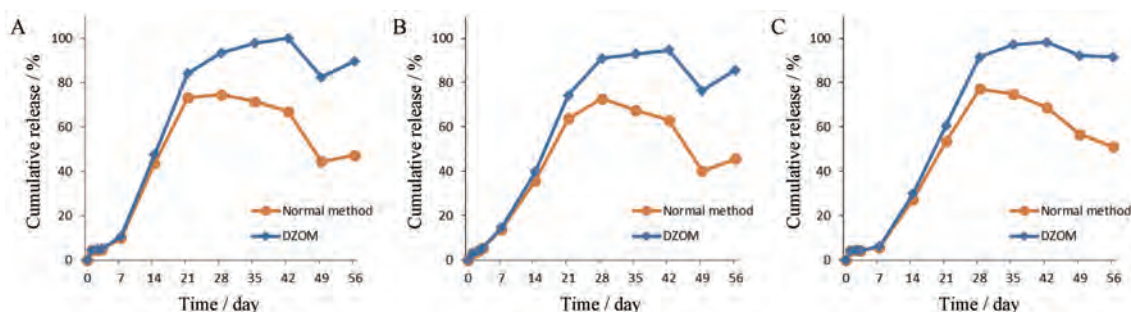


Figure 3 Release of formula 1 (A), formula 2 (B) and formula 3 (C) by normal method and double zero-order model (DZOM)

在波动性,允许释放曲线有轻微的下陷,如图3;③在发生 $R_i < 0$ 的取样区间对 R_i 值进行修正,令 $R_i = 0$,也就是说,植入剂在该区间即使药物没有释放,释放度也不可能为负数,因此强制其为零。以处方3为例,方式③的处理结果见图4。有时,由于原料药溶液比较稳定或受到检测灵敏度的限制,有可能在一个取样区间内,即使用面积归一化法也无法反映出降解的趋势。比如在释放开始的1~2个取样区间内,杂质可能始终为零,但实际上降解已然发生。此时,可以把原料药溶液降解测定的周期延长,计算若干个取样区间内总的降解率,再按零级降解的规律换算出单个取样区间的降解率。

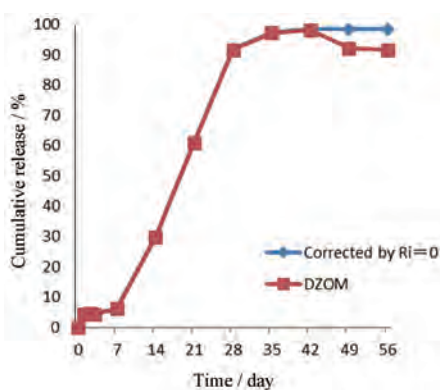


Figure 4 DZOM corrected by $R_i=0$ when $R_i < 0$ happens

DZOM法假定任一取样区间制剂的释放呈零级速率,可能与实际情况不符,成为方法误差的来源。为了减小这一误差,理论上是将取样区间分割得越细越好,但取样区间缩短会导致取样频次的增加,从而增加了检测的随机误差。在DI释放度测定中,释放曲线在第7天和28天发生较明显转折,在第7~28天释放速度最快,提示可以在此区间增加取样频次,避免降解反应级数发生变化产生的误差。总之,释放曲线形态正常,释放度的数据与制剂本身的含量吻合,体外释放结果与动物体内释放相关性较好(将另文发表),7天左右的取样频率对于DI比较适合。

经典法中,由于DXM降解的问题,所有处方完全释放的时间和释放度的结果均明显较DZOM法低,会误导对植入剂释放行为的评价。DZOM法较好地解决了上述问题。在研究思路, DZOM法吸取了取样分离法和原料降解比值法的优点。在计算药物的释放度时, DZOM法的思路与取样分离法十分相似, DZOM法每个取样区间的释放度等同于取样分离法一次更换介质中的释放度。DZOM法测定的释放度是把每一区间的释放度累加起来,而取样分离法是将每份介质中的释放度累加起来。在实验中, DZOM法不用定期地更换释放介质,与取样分离法相比大大节省了工作

量,并且使得流池法溶出仪可以充分发挥其自动化取样的优势。在对降解药物的测定中, DZOM法没有像取样分离法那样回避药物降解的问题,而是参考了原料降解比值法,引入了原料药溶液同法降解这一做法,将降解的药物量化,同时, DZOM法纠正了原料降解比值法公式的错误,使释放度结果更加合理。

References

- [1] Wang LJ, Lu W, Zhou TY. Current applications of dexamethasone for cancer treatment [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2015, 50: 1217-1224.
- [2] Mei F, Zeng WD, Wan T, et al. Dexamethasone acetate micro-emulsions: formulation and effect on skin permeability [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2016, 51: 979-984.
- [3] Zhao HK, Wu M, Li YQ. Process in the application of dexamethasone vitreous implant [J]. Int Eye Sci (国际眼科杂志), 2019, 19: 960-963.
- [4] Guo C, Zhou QY, Li Q. Research profile on therapy of retinal vein occlusion macular edema by dexamethasone intravitreal implant [J]. Chin Pharm (中国药房), 2019, 30: 2155-2160.
- [5] Chen YN, Luan HS, Wang H. Investigation on effect of mannitol on *in vitro* release behavior of dexamethasone PLGA implants [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 2017, 48: 1148-1155.
- [6] Ren CL, Yin QS, Yu M, et al. Assay of dexamethasone implants by HPLC [J]. Anhui Med Pharm J (安徽医药), 2013, 17: 1294-1295.
- [7] Ren CL, Xia LY, Yin QS, et al. An HPLC method for determination of related substances of dexamethasone implants [J]. Anhui Med Pharm J (安徽医药), 2015, 19: 665-668.
- [8] Chen YN. Preparation and Drug Release Behavior Regulation of Dexamethasone Implants (地塞米松植入剂的制备与释药行为调控) [D]. Shanghai: China State Institute of Pharmaceutical Industry, 2017.
- [9] Burgess D, Crommelin D, Benoit J, et al. Assuring quality and performance of sustained and controlled release parenterals [J]. Eur J Pharm Sci, 2004, 21: 679-690.
- [10] 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: 79-87.
- [11] Hickey T, Kreutzer D, Burgess D, et al. Dexamethasone/PLGA microspheres for continuous delivery of an anti-inflammatory drug for implantable medical devices [J]. Biomaterials, 2002, 23: 1649-1656.
- [12] Andhariya JV, Choi S, Wang Y, et al. Accelerated *in vitro* release testing method for naltrexone loaded PLGA microspheres [J]. Int J Pharm, 2017, 520: 79-85.

- [13] Yuan W, Kuai R, Dai Z. Development of a flow-through USP-4 apparatus drug release assay to evaluate doxorubicin liposomes [J]. AAPS J, 2017, 19: 150-160.
- [14] Zhao H, Wei W, Zhang MR, et al. Preparation of paeonol sustained-release microspheres and correlation between *in vitro* release and *in vivo* absorption characteristics [J]. J Anhui Univ Sci Tech (Nat Sci) [安徽理工大学学报 (自然科学版)], 2010, 30: 42-46.
- [15] D'Souza SS, DeLuca PP. Methods to assess *in vitro* drug release from injectable polymeric particulate systems [J]. Pharm Res, 2006, 23: 460-474.
- [16] Zolnik BS, Burgess DJ. Evaluation of *in vivo-in vitro* release of dexamethasone from PLGA microspheres [J]. J Control Release, 2008, 129: 137-145.