皮肤局部外用制剂 Q3 等同性研究技术要点解析

武余波，黄乐乐，卢望丁，朱慧勇，马晋隆，罗华菲*，倪 睿*
（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）

摘要：皮肤局部外用制剂中，半固体制剂、混悬制剂较多，相比于传统的口服固体制剂和注射制剂，存在着多相、药物释放动力学和降解热力学不规律、一般无系统吸收等诸多特点，使得研发过程和技术评价更为复杂。本研究参考 FDA、EMA 和我国药品审评中心发布的相关技术指导原则及文献，就皮肤局部外用制剂 Q3 等同性研究中的关键质量属性、体外释放试验和体外透皮试验的评价方法做详细的技术要点解析，以期为仿制药体外一致性评价提供参考。

关键词：皮肤局部外用药；局部用药分类系统；Q3 等同性；体外一致性评价；体外释放试验；体外透皮试验
中图分类号：R944.9 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)05-0601-10
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.05.002

Analysis of Technical Points on Topical Dermatologic Drugs for Q3 Equivalence Study

WU Yubo, HUANG Lele, LU Wangding, ZHU Huiyong, MA Jinlong, LUO Huafei*, NI Rui*
(*National Pharmaceutical Engineering Research Center, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: Compared with oral and injectable formulations, it is much more complicated in semisolid and suspension formulations for topical usage from the technical points of view. Due to the characteristics of multiple phases, irregular drug release kinetics and degradation thermodynamics, and generally without systemic absorption, the formulation development and characterization of topical semisolid drug products are facing challenges. Referring to the relevant technical guidelines issued by FDA, EMA and Center for Drug Evaluation of China as well as literature, this paper analyzes the key technical points on topical dermatologic drugs for Q3 equivalence study, including the critical quality attributes, *in vitro* release test (IVRT) and *in vitro* permeation test (IVPT), hoping to provide some references for *in vitro* consistency of generic drugs.

Key Words: topical dermatologic drug; topical drug classification system; Q3 equivalence; *in vitro* consistency evaluation; *in vitro* release test; *in vitro* permeation test

皮肤局部用药泛指应用于皮肤表面，使活性成分作用于皮肤或透过皮肤，产生局部治疗作用的药物。此类药物有多种形式，如软膏、凝胶、乳膏、乳液、溶液等，其中半固体剂型使用广泛[1]。皮肤局用药发挥作用需要经过 4 个步骤：①药物释放；②药物通过渗透或扩散作用到达目标区域；③激活预期的药理作用，发挥药效；④在目标组织中维持一定药物浓度到一定时间，发挥稳定疗效[2]。半固体制剂是复杂、同质或异质的制剂，药物溶解或分散在载体中。其中，分散颗粒的大小和形状、内相的液滴大小、多态性、各相之间的界面张力、活性成分在各相之间的分配系数以及制剂的流变性质等因素共同决定了药物的释放性能，进而影响药物的安全性和有效性。美国 FDA 要求仿制药与原研制剂（RLD）相比必须同时具有药学等效性（PE）和生物等效性（BE）。PE 的要求是：仿制药与 RLD 具有相同的有效成分、含量、剂型，即定性（Q1）和

收稿日期：2021-12-30
作者简介：武余波(1984—)，女，副研究员，从事药物分析及药代动力学研究。
通信作者：罗华菲(1977—)，女，博士，研究员，博士生导师，从事经皮药物递送与新型黏附技术的研究。
E-mail：luohuafei01@sinopharm.com
倪 睿(1982—)，女，副研究员，软胶囊与局部外用制剂的研发和产业化研究。
E-mail：nirui198210@163.com

定量（Q2）与RLD相同[3]。如果仿制药与RLD相比，Q1和Q2不同，则申请人必须提供充分的证据证明这种差异不会影响该产品的安全性和药效。

基于制剂处方的Q1和Q2等同性，再结合皮肤局部外用制剂微观结构和体外释放速率的一致性（Q3），SHAH等于2015年提出了局部用药分类系统（topical drug classification system，TCS）[4]，该系统将皮肤局部外用制剂分为4类，如图1所示。如果仿制药和RLD之间Q1、Q2和Q3都相同，则仿制药可能实现生物等效性豁免（TCS 1类）。在TCS理念中，某些辅料可能在局部传递、发挥作用和随之产生的疗效中起到积极作用。但总体来看，许多辅料是惰性的。如果仿制药和RLD之间Q1、Q2不同，但在充分评估辅料的安全性和功效后，可进行体外释放试验（*in vitro* release test，IVRT），若仿制药和RLD之间的速率比值符合“非无菌半固体制剂的按比例放大和批准后变更指南（SUPAC-SS）”中的确定标准和置信区间，则可以实现生物等效性豁免（TCS 3类）。若皮肤局部外用制剂与参比制剂的Q3不一致，则不符合生物等效性豁免条件，需要进行体内等效性研究（同时包含TCS 2类和TCS 4类）。

可见，TCS肯定了Q3在局部给药制剂开发和产品质量评估中的绝对价值。同期研究也表明，Q3能充分反映物质的微观结构、物质排列和制剂的聚集状态[5—6]，是制剂性能的综合体现。

1　Q3与体外一致性评价

早在1997年，美国FDA就建议使用IVRT方法进行半固体制剂批准后某些变更的体外一致性评价，这些变更包括生产地点或过程变化、药品成分和组成变化，或批量的变化[7]。2012年，FDA发布了《阿昔洛韦乳膏研究指导原则草案》[8]，首次明确指出证明生物等效有体外研究和体内研究2种方案可供选择。近年来，FDA正逐渐接受体外研究作为局部仿制药生物等效性评估的体内替代方法，并陆续发布了阿昔洛韦软膏、甲硝唑乳膏、二十二醇乳膏、克林霉素磷酸酯凝胶等外用制剂仿制药开发指导原则（草案）[9—12]，允许仿制药与参比制剂在Q1和Q2一致的前提下，通过Q3相关研究，即特性表征、IVRT和体外透皮试验（*in vitro* permeation test，IVPT）证明两制剂的生物等效性。

在欧盟，如果关于仿制药质量、疗效和安全性方面的研究均经过充分验证，某些情况下，可使用动物或体外研究证明仿制药与参比制剂的生物等效性[13]。

2018年7月，我国药品审评中心（CDE）发布

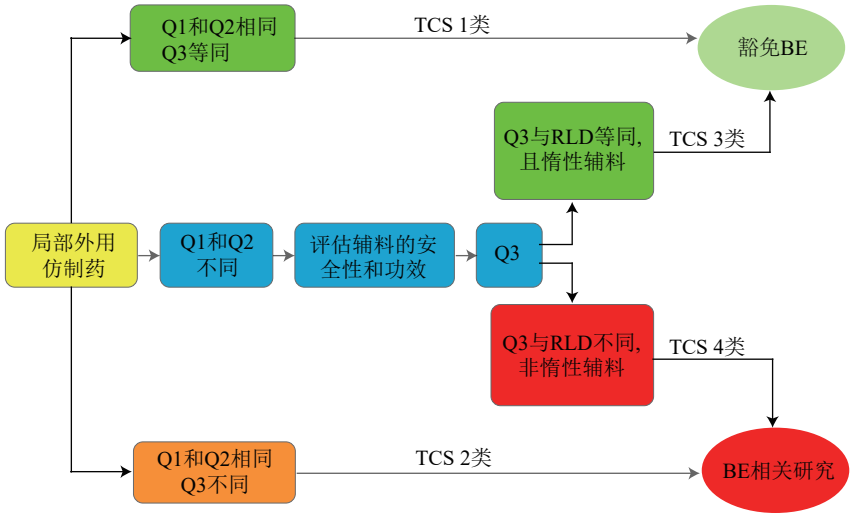


图1　外用制剂在TCS中生物等效性豁免的决策树[4]

Fig.1　Decision Tree in Granting Biowaivers for Topical Dosage Forms in TCS[4]

了《新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求（征求意见稿）》[14]，体外等效性评价方法中明确规定：半固体制剂（如乳膏剂、软膏剂、凝胶剂等）在主要质量特性一致的基础上，可通过体外释放对比和透皮吸收对比试验来评价仿制药和参比制剂的质量和疗效的一致性。如二者体外释放及体外透皮吸收均一致，可不要求进行非临床研究和临床试验。

不难看出，国内外药品监管机构对体外一致性的评价考虑不尽相同，但伴随对皮肤局部外用仿制药审评要求的深入认知，各监管机构均倾向于与FDA保持一致，即对于局部外用仿制药，仅保证PE是不够的，应保持最大程度的Q1、Q2和Q3等同。《皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则（试行）》中明确指出，在有充分的依据证明仿制药与RLD的Q1和Q2一致，且Q3也一致的情况下，可基于国外先进监管机构对该具体品种的生物等效性指南相关要求，提出临床豁免申请[15]。

2 Q3等同性研究的考察内容

基于文献综述[16]，Q3等同性比较包括：物理化学特性（physicochemical characterization）的可比性、物理和结构的相似性（physical and structural similarity）、物化或微观结构特性（physicochemical/microstructural characterization）的可比性。

结合国内外监管机构相关指导原则要求，常规皮肤外用制剂Q3考察的质量属性一般包括但不限于以下项目：外观、药物晶型、粒度分布、液滴粒径、流变特性、pH值、黏度、含量均匀度、IVRT和IVPT等。其中，流变学、黏度、粒径、晶型或晶癖表征等均属于Q3的关键质量属性（critical quality attribute，CQA）；IVRT、IVPT评价则能显示出仿制药与RLD的制剂功能特征差异。以下将简单阐述Q3中的CQA研究项目、IVRT和IVPT的方法开发及验证要求。

3 技术要点解析

3.1 流变学试验方法的建立与方法学研究

半固体制剂的流变学性质是产品关键物料属性（critical material attribute，CMA）和关键工艺参数（critical process parameter，CPP）的综合结果，反映了制剂的微观结构，对药物从制剂中的释放、皮肤渗透以及皮肤滞留有重要影响，还影响制剂稳定性和患者顺应性[3,17—18]。因此在半固体制剂的仿制药开发中，流变学在保证产品质量和保持与原研制剂的一致性方面起着关键作用。FDA自2016年发布《阿昔洛韦乳膏研究指导原则草案》后，陆续发布了多个特定的局部外用半固体制剂的仿制药开发指南，其中理化性质及微观结构对比部分均包含了流变学行为的表征。EMA于2018年发布的《局部外用产品质量和等效性指南》中建议的流变学评价方式与FDA相似，此外在扩展药学等效接受标准中做了限度规定。CDE于2021年3月发布的《皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则（试行）》中亦指出，应参考上述指导原则，对仿制药与参比制剂的流变特性（包括剪切应力与剪切速率的完整流动曲线、屈服应力和蠕变试验、线性黏弹性响应）进行对比研究。主流监管机构对流变学的研究内容要求如表1所示。

3.1.1 方法开发要点

尽管已有较多关于半固体制剂流变学测定的文献报道，但测定方法仍缺乏标准化开发和验证程序，且流变学参数有多种定义和表征方式。以下将对指导原则中主要流变学参数和要求进行相应的要点阐述。

流动曲线（flow curve）一般使用速率控制型仪器进行测定，在一定温度下，控制剪切速率在一定范围内变化，记录黏度或剪切应力的响应，通常绘制剪切应力或黏度相对于剪切速率的双对数曲线，可更清楚地展现屈服应力及流动特性的变化[3,19]。

通常采用流动扫描（flow sweep）测量模式获得完整的稳态流动曲线。剪切速率的设定范围应充分考虑产品贮存和使用时可能经历的受力程度，如将制剂从内包装容器中挤出或涂布于皮肤上时，所施加的力因人而异，因此在仪器扭矩允许情况下尽量选取较宽的剪切速率范围，如10^{-4}或10^{-3} s^{-1}至100 s^{-1}。在低和高剪切速率下，制剂分别处于几乎不流动和类似牛顿流体流动状态时，以黏度为响应的流动曲线会呈现平台段（应力对应变的曲线为

表 1　FDA、EMA 以及 CDE 对局部外用半固体制剂仿制药流变学研究内容的阐述

Tab.1　Guidelines on Rheological Behavior Characterization of Generic Topical Semisolid Drug Products by FDA, EMA and CDE

监管机构	研究内容阐述
FDA	①对于剪切应力相对于剪切速率和黏度相对于剪切速率的表征，至少应该包括3种剪切速率(低、中、高)下的黏度数据，并包括可及剪切速率范围内的完整流动曲线，直到识别出低或高剪切平台(如有可能) ②如果被测材料表现出塑性流动行为，应报告屈服应力值 ③应测量和报告线性黏弹性响应(储能模量和损耗模量相对于频率的表征)
EMA	①剪切应力(或黏度)相对于剪切速率的完整流动曲线，包括剪切速率增加和减少范围内的多个数据点，以便清楚地识别曲线上升或下降段的任何线性部分；所得到的曲线应通过(修正的)幂律方程来表征，以便产生数值数据 ②屈服应力和蠕变 ③线性黏弹性响应(储能模量和损耗模量相对于频率的表征) ④应提供流变图谱，按剪切和时间效应对产品流变行为进行归类(如假塑性、膨胀性或触变性流体)，并用合适的指标进行表征，例如：黏度曲线上特定剪切速率下的黏度(如100 s^{-1}对应的黏度)；塑性流动的屈服应力值；触变相对面积；储能模量和损耗模量；表观黏度；损耗因子(tanδ) ⑤应测定至少3批受试和原研制剂的上述参数，每批至少重复12次；一致性标准为：受试和参比制剂均值之差的90%置信限应不超过参比制剂均值可接受限度的±10%，假定数据呈正态分布
CDE	①剪切应力相对于剪切速率的完整流动曲线 ②屈服应力和蠕变试验 ③线性黏弹性响应

线性）。对于无法测得平台段的制剂，如内部结构较松散的半固体制剂在很小的剪切速率下即开始流动[20]，稳态流动曲线可能无法确定流动起始点，此时可采用流动斜坡（flow ramp）测量模式并结合其他流变参数进行表征。

受试和参比制剂的流变特性可通过比较流动曲线的形状及特定剪切速率下的黏度来评价。结合制剂本身的性质和贮存、使用情况，应在设定的剪切速率范围内选择低、中和高剪切速率对应黏度值：低到中剪切速率下的黏度与制剂从包装材料中被挤出的难易程度相关，中到高剪切速率下的黏度则与制剂使用时的涂展性有关[21]。例如设定范围为 10^{-4} ～ 100 s^{-1} 时，宜选择 0.001、1 和 56 s^{-1} 作为低、中和高剪切速率，将对应的黏度值与参比制剂进行比较[22]。根据 EMA 指导原则的要求，应力对剪切速率的流动曲线应包含剪切速率增加和减少的部分，即剪切速率从低到高、再从高到低阶段产生的上升和下降段的流动曲线。“上”“下”曲线形成的回环通常被称为“触变环”[23]。触变环面积是制剂触变性的度量，因此通过比较触变环的轮廓和面积可评估受试和参比制剂内部结构的相似性。

屈服应力（yield stress）是指制剂开始流动的临界应力。在该值以下，制剂主要呈现弹性性质，高于该值时制剂呈塑性流动。屈服应力可反映制剂的贮存稳定性并决定了患者使用时的感官特性。半固体制剂的屈服应力应足够大，从而防止自身质量引起的流动，但同时也不应过大而难以在皮肤上涂抹均匀。屈服应力可通过不同的测量方式获得，主要有以下几种表征形式，见表 2。其中，线性黏弹响应和剪切应力 - 剪切速率曲线较为常用。还可采用剪切应力的平方根对剪切速率的平方根绘制曲线（Casson 曲线）或剪切应力对剪切速率的平方根绘制曲线（Fitch 曲线），可更直观地获得屈服应力值。

表 2　屈服应力的不同测量方式

Tab.2　Measurement Methods of Yield Stress

测量方法	取值方式
稳态流动曲线（黏度-应力）	通过曲线上发生塑性流动时过渡区的交点确定
线性黏弹响应	储能模量-应力曲线的起始点(onset point)对应的应力 储能模量-应力曲线和损耗模量-应力曲线的交点对应的应力
剪切速率-剪切应力曲线	曲线的垂直段对应的应力
剪切应力-剪切速率曲线	对曲线进行线性回归，所得方程的截距 双对数曲线的切线

蠕变测试（creep test）是考察半固态物质黏弹性最简单的方法之一。一定温度下，突然对制剂施加一个应力（σ），并在随后一段时间内保持不变，柔量（J= 应变 / 应力，单位为 Pa^{-1}）随时间变化的曲线称为蠕变曲线，应力消除后一段时间内的柔量（J_R）- 时间曲线称为蠕变恢复曲线。图 2 为黏弹性物质典型的蠕变曲线，零时刻（t=0）瞬时增大

的柔量（J_0，可表示为瞬时模量 G_0 的倒数）代表弹性结构的破坏（rapid elastic response），随后柔量 J 随时间延长而缓慢增加，代表进一步的结构破坏和重整（retarded response），达到一定时间后，J 与时间成线性，代表结构在该应力下达到稳态（steady state）。达到稳态后撤去应力，结构的弹性部分恢复，蠕变恢复曲线呈现下降趋势，结构越接近完全恢复，则 J_R 值越小。蠕变测试中设定的应力如小于屈服应力，则柔量只是时间的函数，与所施加的应力大小无关[24]；如设定的应力大于屈服应力则结构会发生不可逆破坏，表现为蠕变曲线急剧上升。蠕变测试设定的时间长度应持续至达到稳态；可直接比较受试和参比制剂的蠕变曲线，或者特定时间点的柔量值。

线性黏弹性响应（linear viscoelastic response）是指通过振荡测试（oscillation test）可考察的半固体制剂的黏弹性质。振荡测试可以各种形式进行，如应变或扭矩（应力）扫描、频率扫描、温度扫描和时间扫描。以应变扫描为例，在特定温度下，固定频率（通常为 0.1 或 1 Hz）后测量黏弹性参数作为应变的函数。在临界应变以下，动态黏度、储能模量（G'）、损耗模量（G''）与时间（或频率）成线性关系，该区域通常被称为线性黏弹性区域（linear viscoelastic region，LVR）。在该区域内，对微观结构的扰动可瞬间恢复（可逆过程）。当应变超过临界应变，结构开始被破坏，不再成线性关系。

3.1.2 方法学验证

目前流变学测定方法尚无标准化验证程序。SIMÕES 等用 1%氢化可的松乳膏作为模型产品[26]，尝试系统地验证试验装置和测量方法，包括精密度、区分力和耐用性：①流变仪的验证，在 25 和 32 ℃下测定参考标准物（牛顿流体）的黏度分布，RSD 小于 15%；②日间精密度试验，在不同的 3 日内进行 12 次流变测量，RSD 小于 15%；③区分力试验，交叉比较含不同比例关键辅料以及不同制备工艺制得制剂的流变学性质，如有显著差异，则表明方法具有区分力；④耐用性试验，比较不同温度（±2 ℃）、不同上样方式（注射器或刮刀）以及不同模具（锥板或平行板）下所得的数据，与标称方法所得平均值的偏差小于 15%时可认为方法具有耐用性。

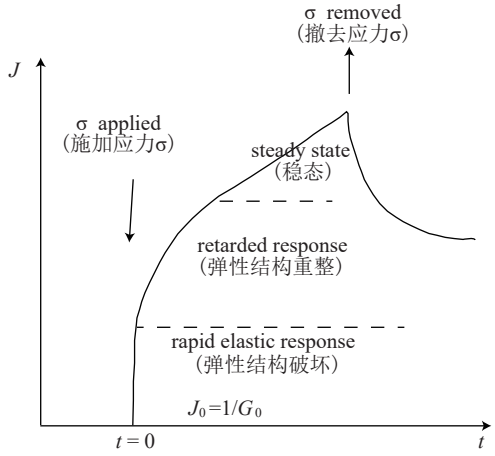


图 2 黏弹性体系的典型蠕变 / 恢复曲线[25]

Fig.2 Typical Creep/Recovery Curve for a Viscoelastic System[25]

3.2 药物晶型及有关参数

皮肤外用制剂的疗效与药物在制剂中的存在形式密切相关，因此活性药物成分（API）的粒径及分布、晶型、晶癖、在各辅料中的溶解度和分布均为皮肤外用制剂的研究重点。药物的晶型决定了稳定性、溶解度、生物利用度等理化性质，是直接影响制剂临床疗效和安全性的重要因素[27]。

对于难溶性药物、混悬型半固体制剂而言，只有分子态 API 才能进入病灶部位发挥疗效，因此 API 晶型和晶癖是制剂质量控制的 CQA 指标。常规而言，监测混悬剂中固体 API 的晶型变化及粒度分布时，需采用特定的处理技术来获得固态的 API，首选粉末 X 射线衍射法（powder X-ray diffraction，PXRD）来研究 API 晶型。但皮肤外用半固体制剂中药物的含量较低，可能无法检出相应的 PXRD 响应；同时，此类制剂与传统的结晶固体不同，药物均匀分布在油脂性或水溶性基质中，大多呈现无定形态。利用共聚焦拉曼光谱技术（confocal Raman spectroscopy），可以定位到半固体制剂中的 API，直接采集对应位置处的信号，同时可减少其他附加剂的干扰。拉曼光谱技术无需样品制备，属于对样

品无损的原位检测技术。鉴于这些独特的优势，拉曼光谱可为半固体制剂晶型问题的研究提供更为广阔的思路和角度[28]。

3.3 微观结构与粒子尺度

通过查阅 RLD 的上市资料及逆向工程，可以确定参比制剂中的组分种类及相关物化特性。若能清楚了解 RLD 中 API 及辅料的分布方式、产品的分层情况，则可倒推出制剂的大致生产工艺。乳膏剂、乳剂产品为包含油、水两相的热力学不稳定体系，制剂的液滴粒径等指标反映了处方工艺的合理性，并可能会影响到药物的释放性能和经皮递送效果。特别是对于微米、纳米尺度的乳膏剂和乳剂产品，液滴粒径和分布对其质量和药效发挥具有重要影响。

在半固体制剂微观结构的表征和粒子尺度的测定中，遇到的最大挑战是需要开发一种合适的样品制备技术，以满足以下要求：①能严格区分粒子或液滴与制剂中的其他组分，以便得到准确的微粒计数；②样品制备过程中的稀释、蒸发或其他操作不改变粒子或液滴原本的分布[29]。

运用较多的检测技术包括光学显微方法、形态定向拉曼光谱（morphologically-directed Raman spectroscopy，MDRS）、动态光散射（DLS）和激光衍射（LD）。其中，光学显微方法和 MDRS 法的测量范围为 1 ～ 1 000 μm；DLS、LD 方法分别适用于测定 10 nm 至 10 μm、10 nm 至 1 mm 微粒的尺寸和分布。表 3 总结了上述检测技术的优势、局限和应用场景。在制剂工艺开发过程中，如果单一技术不能准确地测定整体粒度分布，那么就需要 2 种或多种技术联用，以完全确定描述局部用药的微观结构和粒子尺度特性。

3.4 IVRT

IVRT 可以反映半固体药品物理化学性质的变化，释药速度和程度是制剂性能的综合体现。IVRT 包括流通池（flow through cell）法、Franz 扩散池（diffusion cells）法、动态浸泡细胞（immersion cells）法、改良的半固体容纳法、桨碟法等。其中，Franz 扩散池法最为简便和实用，因此通常用于外用制剂的药学质量控制，也可用于药品开发过程中处方工艺的筛选研究。可参考 USP 42 一般章节 <1724> 半固体药物产品——性能测试中的通用操作和方法，比较仿制药和 RLD 产品之间药物释放率。以下对 IVRT 的方法开发和数据统计进行相应的要点阐述。

3.4.1 IVRT 的方法要点

IVRT 方法要点如表 4 所述，总体要求是能够区分类似制剂中药物释放速率的差异。IVRT 方法的区分能力可以用下述 3 个概念来描述[9]。①灵敏度：IVRT 的灵敏度是指监测释放率变化的能力，与制剂中药物的浓度相关；②特异性：IVRT 特异性是指能够准确监测释放速率与制剂中药物浓度呈比例变化的能力；③选择性：IVRT 选择性是指具有足够的识别能力，能区分因处方中药物浓度的不同、影响质量的辅料成分的改变及关键工艺参数的变更而导致的释放速率差异。

3.4.2 IVRT 的数据统计

体外释放数据比较应该分 2 步进行。第一阶段，体外释放设备（6 个扩散池）应该运行 2 次，参比制剂（R）和受试制剂（T）各产生 6 个斜率[7,14]，依据 Higuchi 方程，该斜率即为制剂的释放速率。计算 T/R 中药物的释放速率比值。当总体样本为 36 时，根据中位数置信区间的百分位专用公式计算得到 90% 置信区间的上限所在位次为第 29 位，置信区间下限所在位次为第 8 位。把 T/R 的比值数值按从小到大的顺序排列，如果 90% 置信区间的计算结果在 75% ～ 133.33% 的限度范围内，则视为 T 与 R 等效。

如果第一阶段测试不合格，则应该增加 4 次体外设备（6 个扩散池）的运行，T 和 R 各增加 12 个斜率，或共 18 个斜率（即包括第一阶段的结果）。计算 T 和 R 的中位体外释放率比值的 90% 置信区间，如计算结果在 75% ～ 133.33% 范围内，则认为通过了第二阶段测试。

3.5 IVPT

IVPT 被广泛被用于皮肤外用半固体制剂处方和工艺研究中，用以考察仿制药或处方工艺变更后

表 3 不同检测技术的优势、局限和应用的总结

Tab.3 Summary of Advantages, Limitations and Applications of Different Detection Techniques

检测技术	测量范围	主要优势	局限性	应用	依据
手动光学显微镜(明场显微镜)	1～1 000 μm	1．样品用量少；2．可表征非球形颗粒；3．校准精度可验证	1．分辨率约为1 μm；2．如果存在部分微米尺寸的颗粒或液滴，则总体粒度分布将出现误差	1．是半固体制剂微观结构和形态分析中使用最广泛的工具；2．适用于观察液滴大小的变化和多分散性等微观结构变化；3．形态观察可反映潜在的物理稳定性	美国药典(USP 42)一般要求<776>光学显微镜检查和文献[30]
手动光学显微镜(偏光显微镜)	1～1 000 μm	适用于晶体药物	对于非晶体非光折射的颗粒检测能力有限	1．识别未溶解或沉淀的API；2．可观察具有双折射图案的液晶乳液	文献[31]
自动光学显微镜	1～1 000 μm	1．高效形态扫描；2．消除人为误差；3．统计稳健性较高	不能测量小于 1 μm的颗粒或液滴	药典方法的补充	USP 42<788>注射液中的颗粒物
MDRS	1～1 000 μm	1．高速扫描识别；2．对样品制备要求低；3．对水不敏感，具有高化学特异性	适用于半定量分析	1．是自动显微镜和拉曼光谱的结合；2．具有强大的数据库，可进行数据检索；3．可为微米尺度粒子的定性提供足够的信噪比	文献[32]
DLS	10 nm至10 μm	快速、可重复、稳健	1．不适合具有黏性或微结构化配方的剂型；2．含有微结构的样品需要充分稀释以通过仪器流通池，会导致粒度和粒度分布数据失真	适用于微米或纳米尺度的粒子测定，要求样品具有良好的流动性	–
LD	10 nm至1 mm	1．快速、可重复、稳健；2．需要的样品量很少	1．样品需稀释以保证具有足够的流动性；2．LD 模型假设粒子是球形的，因此当颗粒形状呈现非球形时，准确度降低	适用于微米或纳米尺度的粒子测定，要求样品具有良好的流动性	文献[33]

表 4 IVRT 方法要点

Tab.4 Main Points of IVRT Methods

考察项目	考虑要点
设备和参数	选择依据；产品剂量；取样次数；搅拌速度
膜的选择	膜的种类；API 与膜和接收介质的化学兼容性；API 与膜的吸附作用
接收介质的筛选	提供药物在接收介质中的溶解性和稳定性数据；考察接收介质的反相渗透
精密度和重现性	日内与日间精密度各测定3次，要求变异系数≤15%
耐用性	对方法参数（如温度和搅拌速度）的变化、接收介质（组成或 pH 值）的变化进行验证，若所得平均释放速率的变异系数在 ± 15%范围内，则可认为方法具有耐用性
样品分析方法的验证	验证方案应符合现行 FDA 生物分析方法验证行业指南或满足 ICH 三方协调指导原则：分析方法论证 Q2(R1) 的相关要求
数据统计	理论依据：Higuchi方程，建议相关系数$r^2 \geq 0.90$

产品与 RLD 在透皮吸收程度的差异。然而，FDA、EMA 或 CDE 均尚未建立标准化的 IVPT 方法开发和验证程序，以下将重点参考 FDA《阿昔洛韦乳膏研究指导原则草案》、EMA《局部外用产品质量和等效性指南》、CDE《皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则（试行）》，结合文献研究内容，对 IVPT 的研究内容进行总结归纳，详见表 5。

3.5.1 IVPT的方法开发要点

本课题组致力于经皮给药新技术的开发和制剂研究，在皮肤模型的建立、筛选及皮肤的质控方面积累了丰富的经验。猪皮模型中药物的渗透性较接近人体皮肤，因而具有一定的临床预测价值。但由于皮肤的差异较大，皮肤的取样部位、新鲜度、厚度和水分均会影响其渗透性。对影响皮肤渗透性的关键属性进行研究，可以实现皮肤源头的质量控制，从而提高 IVPT 方法的准确性以及重现性。IVPT 方法要点总结见表 6。

IVPT 方法的区分能力可以用下述的 2 个概念来描述：灵敏度和选择性[9]。①灵敏度是指 IVPT 方法具有监测药物皮肤药代动力学变化的能力，与药物递送系统相关。如果在 IVPT 方法中，透皮速率曲线的变化趋势与药物剂量的变化趋势一致，则

可认为该方法敏感。②在 IVPT 方法研究中，除应评估受试产品和 RLD 外，还应使用已上市或单独设计的第三种产品或配方进行平行评估，研究结果可作为该方法具有选择性的数据支持。

3.5.2 IVPT 的数据统计

以 Flux 或 J 相对于时间绘图，可得到经皮渗透速率曲线，J_{max} 记为最大经皮渗透速率。同时，用 A 相对于时间绘图，可得到药物的累积透过量曲线，A_{total} 定义为试验结束时的总渗透量。

应排除具有高变异性的制剂。FDA 和 EMA 相关指导原则中通常认为等效性的区间范围应为 80%～125%。其中，EMA 还要求提供 A_{total}、皮肤样品中滞留的药物总量（S_{total}）和清洁或试验设备上保留的药物量（R_{total}），药物的总回收率应为 90%～110%，以确定达到质量平衡。

参考 CDE《新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求（征求意见稿）》，IVPT 的试验结果以平均渗透率作为判定仿制药和 RLD 相似性的依据，在规定的试验时间或渗透率达到平稳后的 1 个时间点和同一时间点渗透一半速率的时间点，若试验制剂渗透率的变动等于或小于参比制剂渗透率的变动，且仿制药与 RLD 的平均渗透率之比为 0.7～1.3，则视为二者等效。同时要求计算单位质量皮肤内的药物含量（皮内滞留量）并进行比对。

IVPT 的设计初衷是模拟局部外用制剂中 API 在生理条件下的经皮渗透过程，实际研究中应综合参考国内外相关的指导原则要求，还需结合产品剂型特点、作用部位和药效机制，进行科学全面的评估，以保证测定结果准确可靠。

4　总结

本研究参考国内外相关技术指导原则及文献，对皮肤局部外用制剂 Q3 中的 CQA、IVRT 和 IVPT 的评价方法进行了要点阐述。因皮肤外用制剂又可以细分为软膏、凝胶、乳膏、乳液、溶液等，制剂的主体基质、处方组成与剂型相关联。Q3 的相关特性表征、CQA 研究、IVRT 和 IVPT 也会具有剂型特性。在后续报道中将以案例的形式更加个性化地进行分析和介绍。

表 5　FDA、EMA 及 CDE 对局部外用半固体制剂仿制药 IVPT 研究内容的阐述

Tab.5　Guidelines on IVPT of Generic Topical Semisolid Drug Products by FDA, EMA and CDE

内容	FDA/EMA	CDE
装置	Franz 扩散池、流通池	Franz 扩散池
目的	模拟仿制药与 RLD 中 API 在生理条件下的经皮渗透行为，可为二者生物等效提供依据	模拟仿制药与 RLD 中 API 在生理条件下的经皮渗透行为
皮肤类型	离体的人体皮肤	参考国外指导原则
介质种类	生理性介质	水或缓冲液，不使用有机溶剂，但可添加表面活性剂
例数	FDA：仅规定预试阶段每个皮肤供体 $n \geqslant 4$，正式研究依据预试结果确定 EMA：皮肤供体数量 $n \geqslant 12$，每个供体至少重复 2 次	≥ 6
采样频率	FDA：非零采样时间点≥ 8 个 EMA：推荐 24 h 为 1 个试验周期，采样时间点的数量应该足以获得完整的经皮渗透曲线	≥5个
研究意义	①证明仿制药与 RLD 生物等效；②研究结果可预测体内外相关性 [7,10]	比较仿制药与 RLD 经皮渗透行为
研究评价	研究阶段包含预试和正式研究，正式阶段应按 BE 研究相关规定执行	体外试验

表 6　IVPT 方法要点

Tab.6　Main Points of IVPT Methods

考察项目	考虑要点
设备	包括垂直扩散池和流通池的装置；应使用厂家提供的安装方法；操作和性能校验的相关程序
参数	选择依据；产品剂量；取样次数；搅拌速度
皮肤模型选择	建议将猪皮作为 IVPT 研究中的模型，但应对皮肤进行适当质控
接收介质的筛选	提供药物在接收介质中的溶解性和稳定性数据；IVPT 超过 24 h，需证明试验过程中皮肤屏障的完整性
样品分析方法的验证	建议满足生物分析方法验证的相关要求
渗透参数	单位面积渗透速率（Flux 或 J）；单位面积累积渗透量（A）；单位面积透过皮肤的药物量

参考文献：

[1] SHAH V P, FLYNN G L, YACOBI A, *et al*. Bioequivalence of topical dermatological dosage forms--methods of evaluation of bioequivalence [J]. *Res Pharm*, 1998, **15**(2): 167-171.

[2] NAMJOSHI S, DABBAGHI M, ROBERTS M S, *et al*. Quality by design: development of the quality target product profile (QTPP) for semisolid topical products [J]. *Pharmaceutics*, 2020, **12**(3): 287.

[3] ILIĆ T, PANTELIĆ I, SAVIĆ S. The implications of regulatory framework for topical semisolid drug products: from critical quality and performance attributes towards establishing bioequivalence [J]. *Pharmaceutics*, 2021, **13**(5): 710.

[4] SHAH V P, YACOBI A, RĂDULESCU F Ș, *et al*. A science based approach to topical drug classification system (TCS) [J]. *Int J Pharm*, 2015, **491**(1/2): 21-25.

[5] DONG L, LIU C, CUN D, *et al*. The effect of rheological behavior and microstructure of the emulgels on the release and permeation profiles of terpinen-4-ol [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2015, **78**: 140-150.

[6] LUPI F R, SHAKEEL A, GRECO V, *et al*. A rheological and microstructural characterisation of bigels for cosmetic and pharmaceutical uses [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, **69**: 358-365.

[7] FDA. SUPAC-SS: nonsterile semisolid dosage forms; scale-up and post-approval changes: chemistry, manufacturing and controls; *in vitro* release testing and *in vivo* bioequivalence documentation [EB/OL]. (1997-05)[2021-12-30]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/supac-ss-nonsterile-semisolid-dosage-forms-scale-and-post-approval-changes-chemistry-manufacturing.

[8] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. Draft guidance on acyclovir [EB/OL]. (2012-03) [2021-12-30]. https://www. fda. gov/drugs/guidance-compliance-regulatory-information/ guidances-drugs//ucm 296732. pdf.

[9] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. Draft guidance on acyclovir [EB/OL]. (2016-12) [2021-12-30]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/psg/Acyclovir_topical%20cream_RLD%2021478_RV12-16. pdf.

[10] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. Draft guidance on metronidazole [EB/OL]. (2019-09) [2021-12-30]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/psg/PSG_020531. pdf.

[11] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. Draft guidance on docosanol [EB/OL]. (2017-10) [2021-12-30]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/psg/Docosanol_topical%20cream_NDA%20020941_RC08-17. pdf.

[12] FDA. Product-specific guidances for generic drug development. Draft guidance on clindamycin phosphate [EB/OL]. (2020-06) [2021-12-30]. https://www. accessdata. fda. gov/drugsatfda_docs/psg/PSG_050782. pdf.

[13] EMA, CHMP: draft guideline on quality and equivalence of topical products [EB/OL]. (2018-12) [2021-12-30]. https://www. ema. europa. eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-quality-equivalence-topical-products_en. pdf.

[14] 国家药品监督管理局药品审评中心. 新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求(征求意见稿)[EB/OL]. (2018-07-11) [2021-12-30]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/bec4520b9d49718ce022c1e96fb6a450.

[15] 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) [EB/OL]. (2021-03-03) [2021-12-30]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/4e790f4ad1cb21091e5a8bf4a107c535.

[16] 郭涤亮, 徐萍蔚, 王亚敏. 皮肤局部外用仿制药质量等同性评价的一般考虑[J]. 中国新药杂志, 2018, **27**(18): 2116-2120.

[17] MIRANDA M, SOUSA J J, VEIGA F, *et al*. Bioequivalence of topical generic products. Part 2. Paving the way to a tailored regulatory system [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, **122**: 264-272.

[18] ALVES T, ARRANCA D, MARTINS A, *et al*. Complying with the guideline for quality and equivalence for topical semisolid products: the case of clotrimazole cream [J]. *Pharmaceutics*, 2021, **13**(4): 555.

[19] MIRANDA M, COVA T, AUGUSTO C, *et al*. Diving into batch-to-batch variability of topical products-a regulatory bottleneck [J]. *Pharm Res*, 2020, **37**(11): 218.

[20] BRUMMER R, GODERSKY S. Rheological studies to

objectify sensations occurring when cosmetic emulsions are applied to the skin［J］. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects*, 1999, **152**(1/2): 89-94.

［21］ RAWAT A, GUPTA S S , KALLURI H, *et al*. Rheological characterization in the development of topical drug products［M］// LANGLEY N, MICHNIAK-KOHN B, OSBORNE D W. The role of microstructure in topical drug product development. AAps advances in the pharmaceutical sciences series, vol 36. Cham: Springer International Publishing, 2019: 3-45.

［22］ KRISHNAIAH Y S, XU X, RAHMAN Z, *et al*. Development of performance matrix for generic product equivalence of acyclovir topical creams［J］. *Int J Pharm*, 2014, **475**(1/2): 110-122.

［23］ INOUE Y, FURUYA K, MATUMOTO M, *et al*. A comparison of the physicochemical properties and a sensory test of acyclovir creams［J］. *Int J Pharm*, 2012, **436**(1/2): 265-271.

［24］ DAVIS S S. Viscoelastic properties of pharmaceutical semisolids. I. Ointment bases［J］. *J Pharm Sci*, 1969, **58**(4): 412-418.

［25］ TADROS T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions［J］. *Adv Colloid Interface Sci*, 2004, **108-109**: 227-258.

［26］ SIMÕES A, MIRANDA M, CARDOSO C, *et al*. Rheology by design: a regulatory tutorial for analytical method validation［J］. *Pharmaceutics*, 2020, **12**(9): 820.

［27］ 杨世颖, 周　健, 张　丽, 等. 我国化学药物晶型研究现状与进展[J]. 医药导报, 2019, **38**(2): 177-182.

［28］ 周　健, 杨世颖, 靳桂民, 等. 拉曼光谱技术在药物晶型研究中应用进展[J]. 医药导报, 2019, **38**(2): 197-202.

［29］ OSBORNE D W, DAHL K, PARIKH H. Determination of particle size and microstructure in topical pharmaceuticals［M］// LANGLEY N, MICHNIAK-KOHN B, OSBORNE D W. The role of microstructure in topical drug product development. AAPS advances in the pharmaceutical sciences series, vol 36. Cham: Springer International Publishing, 2019: 89-106.

［30］ FDA. Technical performance assessment of digital pathology whole slide imaging devices［EB/OL］. (2016-04)［2021-12-30］. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/technical-performance-assessment-digital-pathology-whole-slide-imaging-devices.

［31］ SUTTON M J, OSBORNE D W, DAHL K, *et al*. Characterization of a liquid crystal stabilized pharmaceutical oil-in-water emulsion optimized for skin delivery［J］. *J Cosmet Dermatol Sci Appl*, 2018, **8**(4): 207-217.

［32］ FDA. FDA embraces emerging technology for bioequivalence evaluation of locally acting nasal sprays［EB/OL］. (2016-05-19)［2021-12-30］. https://www. fda. gov/downloads/Drugs/DevelopmentApproval- Process/SmallBusinessAssistance/ UCM502012. pdf.

［33］ PEI Y, HINCHLIFFE B A, MINELLI C. Measurement of the size distribution of multimodal colloidal systems by laser diffraction［J］. *ACS Omega*, 2021, **6**(22): 14049-14058.