药学管理与信息

逆向工程法在仿制药开发中的应用及关注点

Application and Concerns of Reverse Engineering in the Development of Generic Drugs

申际丽[1]，龚 青[1]，孙春萌[2]，张新房[1]*

（1. 国家药品监督管理局药品审评中心，北京 100022；

2. 中国药科大学药学院药剂系，国家药品监督管理局药物制剂及辅料研究与评价重点实验室，江苏南京 210009）

SHEN Jili[1], GONG Qing[1], SUN Chunmeng[2], ZHANG Xinfang[1]*

（*1. Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing* 100022; *2. NMPA Key Lab. for Research and Evaluation of Pharmaceutical Preparations and Excipients, Dept. of Pharmaceuticals, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009*）

摘要：在我国仿制药一致性评价政策的推动下，随着 ICH M9 等指导原则的实施，对参比制剂处方的正确解析直接决定了是否可豁免仿制药的生物等效试验，且关系到仿制药与参比制剂生物等效试验的成败。该文全方位阐述了如何将逆向工程法用于参比制剂解析，包括处方、生产工艺及包装等方面，并结合审评经验进行案例分析，旨在引导业界探索更多的逆向工程技术用于开发高质量的仿制药，以期加速仿制药上市。

关键词：逆向工程法；仿制药；生物等效性；参比制剂

中图分类号：TQ460.4　　**文献标志码**：C　　**文章编号**：1001-8255(2023)12-1774-07

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.12.013

目前，仿制药在世界药品市场中仍占主导地位。对于医药企业，降低成本和加速新品，尤其是首仿药，进入市场是保持市场竞争优势的关键。逆向工程可在不能轻易获得必要信息的情况下，直接从成品分析，推导出产品的设计原理，被广泛应用到产品仿制、质量分析检测等方面，可解决大部分潜在问题，显著缩短仿制药研发时间。然而，目前尚未有官方药品监管机构出具相关的技术指南。20 世纪 80 年代，巴西卫生部下设的药品中心（CEME）设立了药物逆向工程公共激励措施，里约热内卢联邦法院也将药物的逆向工程纳入巴西卫生政策[1]，这是世界范围内官方机构首次提出将逆向工程法用于仿制药开发。

收稿日期：2023-08-24

作者简介：申际丽（1987—），女，硕士，审评员，从事化药药学的技术审评工作。

通信作者：张新房（1979—），男，副主任药师，主审审评员，从事化药药学的技术审评工作。

E-mail：zhangxf@cde.org.cn

在我国，2015 年《国务院关于改革药品医疗器械审评审批制度的意见》的颁布，拉开了仿制药一致性评价的序幕。随后，陆续出台了口服固体制剂（如 ICH M9《基于生物药剂学分类系统的生物豁免指导原则》[2]）、注射剂[3—4]、眼用制剂[5]、吸入制剂[6]、外用制剂[7]等相关的一系列技术指导原则，均对仿制药与参比制剂的处方一致性有一定要求。正确解析参比制剂处方是仿制药依据处方一致性申请豁免生物等效性（bioequivalence，BE）试验的首要任务，某种程度上直接决定了仿制药开发的成败。而对于无法申请豁免 BE 的仿制药，采用逆向工程法获得与参比制剂较为接近的处方，亦能大幅提高体内 BE 试验的成功率。

本文主要以 ICH M9 指导原则为基础，介绍逆向工程法在仿制药开发中的应用，重点阐述逆向工程的试验方法，从外观、处方工艺、包装、关键质量属性等方面对参比制剂进行全方位剖析，以期抛转引玉，启发业界探索更多逆向工程法用于开发高

质量仿制药。

1 目前我国药品注册申请中需要解析参比制剂处方的几种情形

通常为了能满足豁免 BE/ 临床试验的前提要求，会规定仿制药的处方须与参比制剂具有相似性，即辅料种类（Q1）、辅料用量（Q2）一致，而对于外用制剂，则进一步要求包括微观结构等关键质量属性（Q3）一致。

1.1 口服固体制剂

ICH M9[2] 要求申请 BE 试验豁免的 BCS Ⅰ、Ⅲ类药物的处方与参比制剂具有相似性。BCS Ⅲ类药物所有辅料，以及 BCS Ⅰ类药物中可能影响吸收的辅料（如糖醇类、表面活性剂类）均应种类相同，且用量相似（参比制剂辅料用量 ±10%，且累计差异应在 ±10% 范围内）。理想情况下，受试制剂的辅料组成应模仿参比制剂，若辅料存在差异，应评价其可能对体内吸收的影响。

1.2 液体制剂

普通注射剂、溶液型滴眼剂和吸入液体仿制药处方中的辅料通常应与参比制剂种类相同，且用量一致（参比制剂相应辅料用量的 95%～ 105%）；如含专用溶剂，应与参比制剂的专用溶剂处方一致[3—6]。其中，普通注射剂的处方可与参比制剂的抑菌剂、缓冲剂、pH 调节剂、抗氧剂、金属离子络合剂不同，但需标注不同之处，阐述选择理由，并研究、证明上述不同不影响所申请产品的安全性和有效性[3]。在滴眼剂处方中，除渗透压调节剂、缓冲剂和 pH 调节剂外的其他辅料的种类和用量如有与参比制剂不一致的情况，必要时需进行相应的非临床试验、临床对比试验作为支持性依据[5]。特殊注射剂的处方原则上应与参比制剂一致，并建议对辅料的型号及可能影响注射剂体内行为的辅料的关键质量属性进行研究[4]。

1.3 局部用外用仿制药

一般认为，局部用外用仿制药的辅料应与参比制剂种类相同，且用量基本一致（参比制剂相应辅料用量的 95%～ 105%）。

软膏剂、凝胶剂类制剂采用了均相基质，需注意分析与参比制剂基质类型的差异性，原则上不应改变基质的类型；还需注意可能影响活性物质溶解度、热力学活性或生物利用度的辅料（如溶媒、表面活性剂），其种类和用量应与参比制剂一致。

乳膏剂、乳剂类制剂的基质一般由油、水相组成，需关注与参比制剂的处方差异，原则上应选用与参比制剂类型一致的辅料和处方配比（如关键处方因素：表面活性剂和油水比等）。

若外用溶液剂（真溶液型）仿制药与参比制剂的辅料种类和用量均一致，且至少 3 批仿制药与多批参比制剂的关键质量属性达到一致，则可提出豁免临床试验申请。混悬型溶液剂、半固体制剂（如乳膏剂、软膏剂、凝胶剂等），如有充分的依据证明仿制药与参比制剂的辅料种类和用量一致，且质量也一致的情况下，可基于国外监管机构对该具体品种的 BE 指南（如美国 FDA 发布的 Guidance on Acyclovir Cream）的相关要求，开展必要的临床研究，如研究者提出豁免申请，应说明理由并提供支持性研究证据[7]。

2 逆向工程法的具体应用

2.1 外观 / 物理属性

当能获得参比制剂实物时，通过称定质量、游标卡尺 /3D 造影、硬度测量等途径，可获得其包衣膜 / 片芯颜色、有无刻痕、尺寸（长、宽、高）、形状（异形片 / 圆形）、硬度、片芯及包衣膜质量、比表面积等信息；当无法获得参比制剂时，可通过日本独立行政法人医药品医疗器械综合机构（PMDA）官网上的说明书（有详细的尺寸信息）等途径获得。当参比制剂表面有刻痕且根据说明书中的用法用量项目确定为功能性刻痕时，须根据相关指导原则进行相应研究。

为了更好地实现仿制药的临床替代性，对于仿制药的尺寸及形状选择，FDA 发布了《关于仿制药片剂和胶囊的尺寸、形状和其他物理特性的指南》[8]，建议仿制药片剂、胶囊剂的尺寸和形状与参比制剂相似，同时应考虑其他物理属性（如包衣、质量、表面积、崩解时限和膨胀倾向）对患者吞咽的影响。

2.2 原料药

原料药的固态特性包括分子、粒径或堆体积等

信息。分子水平信息涵盖晶型、水合物、溶剂化物和无定型等；分子间排列和自由能的差异会导致药物在溶解度、可制造性、生物利用度和稳定性方面的不同。在仿制药开发中，这些因素在确定参比制剂的原料药固体形式时至关重要。参比制剂通常使用稳定晶型，以避免制备和贮存期间药物发生晶型转化。法定条款没有要求仿制药申请人证明仿制药和参比制剂中的原料药“表现出相同的物理特性，并且药物的固体形式没有被改变”。但为安全起见，仿制药应使用与参比制剂相同的晶型，以确保相似的稳定性和溶解特性，除非受到专利的限制[9]。当仿制药因回避专利而不得不选择不同于参比制剂的晶型时，应关注不同晶型可能导致的溶解度、稳定性、体外溶出曲线、体内吸收等方面的差异。

日本 PMDA 官网公布的药品说明书中一般会提供原料药的溶解性、引湿性、pK_a、熔点、稳定性（光、热、湿）、分配系数、包装等相关信息；参比制剂专利中通常也包含晶型的相关信息。药品监管机构（如 FDA、EMA）官网公开的审评报告或个药指南、WHO 公布的目录及相关数据库［来源包括：美国国家儿童健康和人类发展研究所（NICHD）、TSRL Inc. 网站等］中通常可查询到原料药的 BCS 分类。例如，FDA 药品评价与研究中心（CDER）公开的《Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Review(s)》及梯瓦制药（TEVA）在荷兰上市的伏立康唑片公众评估报告（Public Assessment Report of the Medicines Evaluation Board in the Netherlands）中明确伏立康唑为 BCS Ⅱ类（低溶解性、高渗透性）药物。

ICH M9 明确提出，依据 BCS Ⅰ、Ⅲ类申请口服固体制剂 BE 豁免时[2]，若受试制剂的原料药与参比制剂相比，存在酯、醚、异构体、异构体混合物、复合物或衍生物的不同，则不适用于 BE 豁免；若受试制剂与参比制剂包含不同盐型，但均属于 BCS Ⅰ类（高溶解性且高渗透），也适用 BE 豁免。

对于难溶性药物，通常为了改善溶解性要进行粉碎化处理。因此，获取参比制剂中原料药的粒度分布信息对确保溶出速率和 BE 至关重要。当无法获取参比制剂粒径信息时，可采用显微镜检查确定原料药粒径。显微镜检查可根据颗粒形状和双折射模式等特征区分原料药和辅料。在偏振光下，晶体药物表现出双折射模式，而许多辅料是以无定型态存在的，因此不表现出双折射模式。高温热台显微镜可作为光学显微镜的补充，以证明原料药粒径是由其熔点确定的。另外，采用拉曼光谱分析法可获取原辅料的粒径信息，同时确定辅料的型号[10]。通过逆向工程，在分子和粒子水平识别、确定参比制剂中的原料药性质，可加速研发决策[9]。

2.3 处方

2.3.1 文献来源

在研发初期，可查阅文献资料（包括参比制剂专利或 FDA、EMA、PMDA 等药品监管机构公开的审评报告和说明书），将不同途径获得的信息进行对比分析，互为印证，以准确地获得参比制剂的初步处方信息（如辅料种类）。通常可在 EMA 公开的产品特征概要（Summary of Product Characteristics）及英国药品说明书查询官网（EMC）上获得乳糖的用量，用于提示乳糖不耐受患者；而俄罗斯卫生部、阿根廷国家药品监督管理局等官网通常会公开处方中所有或部分组分的用量，如他达拉非片、磷酸奥司他韦干混悬剂处方。

2.3.2 试验方法

当辅料用量无法通过文献获得时，则可采用适当的物理化学手段进行解析。一些稳定剂和改善溶出的辅料对药物的稳定性、溶出和生物利用度影响较大。因此，必须首先采用逆向工程去解析这些关键辅料［通常是 pH 调节剂、缓冲剂、稳定剂（如抗氧剂、螯合剂）、溶出改良剂（如表面活性剂）］[9]。

对于固体制剂，首先面临的挑战是将不同的辅料分离，可采用高速离心、过滤、高效薄层色谱（HP-TLC）和分子排阻色谱等技术分离辅料，然后使用质量法、紫外 - 可见吸收光谱、HPLC- 蒸发光散射检测（HPLC-ELSD）或光谱技术（如红外衰减全反射或近红外光谱法）进行定量。质量法适于定量用量较大的辅料，对于用量少的成分，如稳定剂、表面活性剂和 pH 调节剂等，需要采用复杂的分离和定量技术（如 HPLC 和 HP-TLC）。相对分子质量高的辅料，如广泛使用的聚合物，可使用分子排阻

色谱法有效定量[9]。对于含金属元素的辅料（如硬脂酸镁、磷酸氢钙、纤维素钠、硬脂富马酸钠、羧甲淀粉钠等）可采用离子色谱法、原子吸收光度法定量。高分子辅料（如乳糖、蔗糖、羟丙纤维素等）可采用 HPLC 法测定。例如，采用 ChP 2020 年版乳糖标准中的 HPLC 含量测定方法可获得乳糖的准确用量；葡萄糖则可用高效液相示差折光法[10]测定。以甲硝唑片参比制剂为例：处方中主药甲硝唑在水中略溶，辅料聚维酮 K30 溶于水和乙醇，磷酸氢钙微溶于水，硬脂酸镁不溶于水，玉米淀粉不溶于冷水和乙醇。根据以上信息，将片芯用冷水溶解，可将以上物料按照溶解性分为可溶性成分（甲硝唑和聚维酮 K30）和不溶性成分（磷酸氢钙、玉米淀粉和硬脂酸镁）。采用原子吸收光谱法测定钙、镁离子的含量，进而计算出硬脂酸镁和磷酸氢钙的用量；因甲硝唑剂量为已知，借此可推算出其他辅料（聚维酮 K30 和玉米淀粉）的大概用量。解析所得的处方可作为仿制药处方开发的起点，再进一步优化。

除片芯外，包衣膜组成也是影响仿制药关键质量属性的重要因素，可根据主要膜材的功能初步判断属于胃溶、肠溶或缓控释包衣。包衣主要影响制剂的溶出曲线、水分、有关物质、稳定性等。对于光和湿度敏感的药物，包衣层的增重 / 比表面积、致密性（老化程度）及是否含遮光剂（如二氧化钛）等因素可能对性状、有关物质、水分的影响较大。当包衣膜可能影响到产品的质量稳定性时，逆向工程解析显得尤为重要。例如，药品处方变更申请豁免 BE 试验时，FDA 变更指南[11—12]规定薄膜衣与变更前相比差异不超过 2%，PDMA 相关指南[13—14]规定薄膜衣和糖衣层与变更前相比差异不超过 10%（包衣层用量）、20%（质量 / 表面积）。另外须关注，若参比制剂进行了薄膜包衣，而仿制药未包衣且片芯硬度较低，患者服用时部分药物可能会在口中溶解，引起苦味、有颗粒感等不良用药体验，更甚者会导致安全性、有效性问题。综上所述，为减少包衣膜对药品质量、患者依从性等的影响，建议仿制药的包衣组成、用量及质量 / 表面积尽量与参比制剂接近。

对于半固体制剂，可采用加热、离心等方式破坏乳滴，使水、油相分离，然后经称量、残留溶剂蒸发法、干燥失重法、HPLC 法等分别测定辅料用量。赵娇娇[15]建立了某软膏剂中苯甲醇、丙二醇、蔗糖硬脂酸酯、轻质液体石蜡、二十二烷酸等成分的检测方法。

对于液体制剂，一般不需要将处方各组分分离，可直接建立方法进行测定，若为混悬液，可采用高速离心或过滤法分离。通常，注射剂中的一些微量辅料较难测定，如有些参比制剂说明书中未明确 pH 调节剂种类（可能采用了盐酸或氢氧化钠）。一般可采用原子吸收光谱法（AAS）、原子发射光谱（ICP）来测定钠等离子含量，硝酸银滴定法来测定氯离子含量，HPLC 法来测定冰乙酸，离子色谱法来测定阴离子（如卤离子、硝酸根、硫酸根、磷酸根、甲酸、乙酸、草酸）含量，但须注意排除其他辅料或生产工艺中引入的相应物质对测定的干扰。

FDA 仿制药接受与拒绝指南[17]中明确胃肠外、眼用或耳用制剂中的 pH 调节剂为非例外辅料，即仿制药应与参比制剂的 Q1、Q2 一致。然而，其官网于 2022 年 4 月发布了一则仅针对 pH 调节剂的行业指南草案《用于胃肠外、眼用或耳用的仿制药中 pH 调节剂豁免申请的一些考虑因素》（目前尚未发布正式版），目的是给出申请人在申报上述剂型的仿制药（其在 pH 调节剂方面与参比制剂 Q1、Q2 无法达到一致）时如何获得批准的一些建议。例如，某些情况［如 pH 调节剂完全被用于建立缓冲盐体系（FDA 在接受与拒绝指南中明确其可与参比制剂不同）］下，可不要求仿制药的 pH 调节剂与参比制剂一致（或可接受超过 ±5% 的更宽用量范围）。但 FDA 也给出了一些不予豁免的情形，如形成了新的活性物质或非活性物质、使用了与参比制剂不同种类的 pH 调节剂产生了新的或不同浓度的反离子种类，这些差异可能会引起潜在的安全性问题（若未开展临床试验则无法证明）。最后，FDA 表示若申请人确定采用与参比制剂不同的 pH 调节剂（增加、删除或采用不同的 pH 调节剂种类、用量）时，须开展质量对比研究（如 pH 值、缓冲能力、渗透压、黏度、电泳迁移率、浓度）并提供不影响安全性、BE 的论据，但亦鼓励申请人寻求用体外方法来证

明 BE 等效。我国相关指导原则[3—4]（所引用的参考文献包括了 FDA 发布的上述指南草案）表明注射剂、滴眼剂可提交与参比制剂不同的 pH 调节剂，即允许与参比制剂存在 Q1、Q2 的不同，但需标注不同之处，阐述选择的理由，并研究证明上述不同不影响所申请产品的质量属性（如渗透压摩尔浓度、缓冲容量、pH 值等物理化学特性）、安全性和有效性。通过以上对我国及 FDA 指南的对比分析，为了降低注册申报风险、减少额外的研究，若无特殊情况，建议 pH 调节剂至少与参比制剂种类一致（用量因参比制剂未明确、不同国家注射用水 pH 可能存在差异等因素允许制定更宽的范围）。

对于仿制药中辅料种类及用量的选择，统一的原则就是，越接近参比制剂，越容易豁免 BE 试验[18]。关于分析方法的验证，建议根据需求来决定。对于不需要申请豁免 BE/ 临床试验的仿制药或相关法规指导原则未要求 Q2 与参比制剂一致时，则所用的分析方法可不经系统的方法学验证。对于基于与参比制剂处方一致性申请豁免 BE/ 临床试验的仿制药而言，为了保证能准确测定参比制剂辅料的用量，建议对测定方法进行规范的方法学验证，以减少误差。

2.4 工艺

通过参比制剂专利、各国药品监管机构公开的审评报告等途径可获得部分工艺信息（如过度杀灭法、除菌过滤工艺）及是否存在过量灌装等。

对于口服固体制剂，通常为粉末直接填充胶囊或压片（对于占比较低的原料药可能存在混合均匀度问题），以及干法、湿法制粒后进行填充或压片，主要取决于原料药的稳定性及粉体学性质（如流动性、可压性）。可通过 SEM 观察参比制剂横截面，初步判断制备工艺为湿法制粒或粉末直压：若颗粒较圆整，则采用湿法制粒的可能性较大。或将片剂放入有水的培养皿中，在低倍光学显微镜下观察其崩解情况，采用直接压片法制备的片剂会崩解成单个颗粒，而采用湿法或干法制粒法制备的片剂会崩解成粒子团块[9—10]。同时，可结合原料药稳定性特点进行分析，若原料药对湿、热不稳定，通常采用非湿法制粒工艺。例如，某参比制剂为胶囊剂，取胶囊内容物适量，采用不同目数的筛网对粉末混合物进行筛分，再以 SEM 观察、分析各样品的组织形貌，同时观察各单一辅料。结果显示，混合物中出现了较为圆整的粒子，与各单一辅料结构特征均不同，进而推测采用了湿法制粒工艺。BANSAL 等[9]展示了如何使用逆向工程解析片剂的决策树，并证明赋形剂的功能和原料药的理化性质大幅影响了逆向工程成功应用所需的工作量。

对于注射剂是否进行充氮保护，可通过测定参比制剂的残氧量、顶空气体组成（如氮气、二氧化碳或混合气体）及真空度予以确认。

对于冻干制剂，可根据参比制剂的水线、冷冻线（即西林瓶上的痕迹）来推测其冻干前的药液浓度，以合理确定仿制药灌装前的药液终浓度、加水量，达到良好的冻干效果。有些参比制剂的说明书中明确指出，须依靠真空度将复溶溶剂倒吸至西林瓶中，来保证倒吸水量；若真空度不足会导致倒吸水量较低，很难将复溶溶剂打入西林瓶中，不便于用药。此种情况下，建议仿制药的真空度与参比制剂一致。

关于注射剂的过量灌装，目前一致性评价技术指导原则中明确“如参比制剂存在过量灌装，仿制药的过量灌装宜与参比制剂保持一致，如不一致须提供合理性论证”，但提醒申请人在注册申报时应关注相关指导原则[19]的更新及细化要求。首先须确定参比制剂的过量灌装量及合理性（应符合说明书中用法用量的要求）：这类信息可从公开的文献信息获得，或对多批参比制剂进行实际检测而间接推算。若仿制药采用的包装形式、尺寸与参比制剂一致，则理论上二者临床转移时残留在包装中的药液死体积是相同的，故建议过量灌装量保持一致；若包装形式、尺寸与参比制剂不同，则仿制药的过量灌装量应保证临床可转移剂量、体积与参比制剂一致。FDA 相关指导原则[20]表明，对于所有的注册申请，可在药品工艺开发早期与 FDA 进行沟通，以确定小瓶的灌装量及独特的过量灌装体积。

对于半固体制剂，可通过显微镜观察来确定膏体中主药呈混悬状态还是溶液状态，以及药物颗粒或液滴的粒径大小与分布，从而指导采用何种制备工艺及参数进行研发。

2.5 包装

包装分为常规包装和功能性包装，对于在高湿、光照下不稳定的药物，包装亦起到了重要的功能性作用。因此，正确解析参比制剂的包装材质及性能（防潮、遮光），对仿制药包装的选择有重要意义。

对于注射剂，CDE 发布的《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》[3] 中明确："注射剂使用的包装材料和容器的质量和性能不得低于参比制剂，以保证药品质量和参比制剂一致"。

可通过文献资料（如日本 IF 文件、不同国家药品监管机构的审评报告、说明书等）等获取参比制剂的包装信息（如包装形式及材质、西林瓶尺寸、胶塞是否镀膜），亦可通过物理化学方法获得参比制剂包装的厚度、材质、尺寸，采用国家包材标准中的一些方法对包装进行关键性能（如隔水、隔氧、遮光性）的比对及参比制剂的材质鉴别。如依据 YBB00222005—2015 聚氯乙烯 / 聚偏二氯乙烯固体药用复合硬片中的吗啡啉试剂显色反应，可鉴别出参比制剂的内包装材料是否为聚氯乙烯（不变色）或聚偏二氯乙烯（变色）。又如，参比制剂注射用米卡芬净钠对光不稳定，经查阅 EMA 公开审评报告 [21]、FDA 产品说明书和 PMDA 产品 IF 文件，可获得其防紫外线的收缩膜材质。另外，可采用 IR 等方法对参比制剂所用的胶塞表面和基质（截面）进行解析，若胶塞内表面和截面的红外谱图特征峰均一致，说明胶塞内表面为不覆膜胶塞。

2.6 案例分析

2.6.1 A 片剂中可能影响吸收的辅料用量的解析

A 片剂（规格 10 mg）为一致性评价申请的仿制药，基于 BCS Ⅰ类药物申请豁免人体 BE 试验。日本公布的参比制剂 IF 文件显示，辅料为甘露醇、明胶、硬脂酸、硬脂酸镁。仿制药拟选用与其相同的辅料种类，片重与参比制剂一致（约 110 mg）。甘露醇为可能吸收的辅料，需准确获悉其用量。

选择酰胺柱为色谱柱，开发了 HPLC-ELSD 法检测处方中的甘露醇含量。测定了 2 批参比制剂中甘露醇的含量，约为 87.6%，即参比制剂中每片约含甘露醇 96.4 mg。根据 ICH M9 对 BCS Ⅰ类药物中可能影响吸收的辅料用量要求，仿制药中甘露醇的用量范围为 86.8 ～ 106.0 mg。

经处方优化，最终将仿制药中甘露醇用量确定为 98.0 mg，在上述范围内，符合 BE 豁免要求。

2.6.2 B 软膏 Q1、Q2 及 Q3 的逆向工程解析

对于半固体制剂，FDA 将其定义为复杂制剂并规定"若一个药品的处方中含有参比制剂中没有的辅料且为非例外辅料［即除例外辅料（如抑菌剂、缓冲剂、抗氧剂，FDA 允许与参比制剂不同）外的其他辅料］，则不能作为仿制药递交申请。"我国局部用外用制剂指导原则明确，需关注辅料对皮肤透过作用的影响，如基质特性、亲脂性溶媒及表面活性剂对皮肤角质层细胞通透性的影响等。对于处方中添加了透皮吸收促进剂的产品，应首先考察其添加的合理性和必要性；其次着重考察透皮吸收促进剂的种类和用量选择的依据，并提供相应的研究资料，关注其对安全性和有效性的影响。

现通过对某软膏制剂处方中功能性辅料透皮吸收促进剂的解析案例，来具体阐述逆向工程是如何被应用的，包括对 Q1、Q2 和 Q3 的解析。

Q1 的解析：从参比制剂的专利和说明书中获得了辅料的种类为碳酸丙烯酯、白蜂蜡、石蜡、液体石蜡、白凡士林，其中碳酸丙烯酯为药物溶剂。对不同药物溶剂［丙二醇、碳酸丙烯酯、二乙二醇单乙醚（Transcutol P）、*N*- 甲基吡咯烷酮（NMP）］的影响进行研究。结果表明，当药物溶剂为 Transcutol P 时，镜检液滴分布均匀，药物的皮肤滞留量与参比制剂无显著差异，但 24 h 累积透过量约是参比制剂的 3 倍，提示药物吸收入血进而可能引起全身不良反应的风险高于参比制剂；采用 NMP 制备的软膏，镜检时未发现液滴，表明该溶剂与基质互溶，与参比制剂的微观结构（膏体中存在分布均匀、大小一致的圆形液滴）不一致；采用 5% 丙二醇制备的软膏，24 h 后药物在皮肤内的滞留量显著低于参比制剂，疗效不如参比制剂；采用碳酸丙烯酯制得软膏的各质量指标均与参比制剂一致。因此，确认了碳酸丙烯酯兼具透皮吸收促进剂的功能性作用。为申请豁免临床试验或降低 BE 不等效风险，建议功能性辅料（如渗透促进剂）与参比制剂一致。

Q2 的解析：以功能性辅料碳酸丙烯酯为例，主要以 Q3 为指标，对其用量进行筛选。结果表明，当碳酸丙烯酯用量为 3%和 4%时，24 h 皮肤滞留量和累积透过量与参比制剂均有显著性差异，而用量为 5%时均一致，说明碳酸丙烯酯用量会影响疗效，故须采用一定的物理、化学方法准确地逆向解析参比制剂中的用量。首先，经显微镜可观察到参比制剂中存在分布均匀、大小一致的规则圆形液滴，无结晶性物质。根据处方辅料的性质，可确定参比制剂属于 W/O 型软膏制剂，其中油相由白蜂蜡、石蜡、液体石蜡和白凡士林组成，水相为碳酸丙烯酯（药物溶解在其中）。根据辅料的溶解性及密度比差异，将已准确称定的参比制剂膏体置水浴中加热熔化，破坏、分离水相和油相，直至膏体呈溶液状态，水相碳酸丙烯酯沉于试管底部，其他油相成分浮于表面。用注射器吸取管底的水相，再用建立的 GC 法测定药物浓度，根据处方中的药物剂量推算出碳酸丙烯酯的处方量为 5%。须注意，为了准确获得碳酸丙烯酯用量，试验中应对测定方法进行规范的方法学验证，减少测量误差，最终达到 Q2 与参比制剂一致。

Q3 的解析：膏体的黏度（黏度过小在贮存过程中会因温度升高导致液滴聚集，影响药物迁移至皮肤）、药物颗粒（药物为混悬状态）或药物液滴（药物为溶解状态）的粒径大小与分布等均会影响药物的吸收与渗透，应最大程度地与参比制剂保持相同。此外，体外药物累积透过量、皮肤内 24 h 药物滞留量也应与参比制剂一致，实现仿制药与参比制剂的体外等效。

3　结语

不论是新报批的，还是一致性评价品种，或是按老注册分类获批的且仍在市场上流通的仿制药，均应树立药品全生命周期管理的理念并将逆向工程思维贯穿其中，使仿制药的各种属性（包括口感、临床依从性）与参比制剂趋于相同，真正实现临床上的可替代性。

随着科技的进步，相信会有更多适宜方法运用到对参比制剂的解析上。但须提示的注册风险是，本研究阐述的逆向工程法仅为解析参比制剂处方的探索性、非通用的方法，主要目的是提高 BE 豁免申请或体内 BE 试验等效的成功率，而非药品批准的单一依据。

参考文献：

[1] HAL. Scaling up and reverse engineering acquisition of industrial knowledge by copying drugs in Brazil [EB/OL]. [2023-05-08]. https://shs. hal. science/halshs-02024011/document.

[2] ICH. M9: Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers and Q&As on Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers [EB/OL]. (2019-11-20) [2023-05-08]. https://www. ich. org/page/multidisciplinary-guidelines.

[3] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求[EB/OL]. (2020-05-14) [2023-05-08]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/d9c6f118b773f54e8feba3519bf78a11.

[4] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品注射剂(特殊注射剂)仿制药质量和疗效一致性评价技术要求[EB/OL]. (2020-5-14) [2023-05-08]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/d9c6f118b773f54e8feba3519bf78a11.

[5] 国家药品监督管理局药品审评中心.《化学药品仿制药溶液型滴眼剂药学研究技术指导原则》[EB/OL]. (2023-02-16) [2023-05-08]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/4a37370c92e2711fa80a3689700d7991.

[6] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品吸入液体制剂药学研究技术要求(2021年1月) [EB/OL]. (2021-11-25) [2023-05-08]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/415f88b7e754c778d3e85e55042eff4e.

[7] 国家药品监督管理局药品审评中心. 皮肤外用化学仿制药技术研究技术指导原则(试行) [EB/OL]. (2021-03-16) [2023-05-08]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/4e790f4ad1cb21091e5a8bf4a107c535.

[8] FDA. Size, Shape, and Other Physical Attributes of Generic Tablets and Capsules [EB/OL]. (2022-10-03) [2023-05-08]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/size-shape-and-other-physical-attributes-generic-tablets-and-capsules.

（下转第1788页）

10(4): 397-427.

[27] HALIDAN M, CHANDRATILLEKE G R, DONG K J, *et al*. Mixing performance of ribbon mixers: effects of operational parameters [J]. *Powder Technol*, 2018, **325**: 92-106.

[28] LUMAY G, TRAINA K, BOSCHINI F, *et al*. Effect of relative air humidity on the flowability of lactose powders [J]. *J Drug Delivery Sci Technol*, 2016, **35**: 207-212.

[29] 徐宁宁, 卢　瑶. 制药粉体转移过程出现粉体偏析的研究进展[J]. 山东化工, 2021, **50**(21): 54-56.

[30] GOH P H, HENG S W P, LIEW V C. Comparative evaluation of powder flow parameters with reference to particle size and shape [J]. *Int J Pharm*, 2018, **547**(1/2): 133-141.

[31] FDA, CFR. Code of Federal Regulations Title 21 [EB/OL]. [2023-08-15]. https://www. accessdata. fda. gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch. cfm.

[32] ICH. Pharmaceutical Development Q8(R2): ICH Q8 [EB/OL]. [2023-08-15]. https://www. cde. org. cn/ichWeb/guideIch/downloadAtt/1/bd54e8ade484969a32ba7a6abeb486d5.

(上接第1780页)

[9] BANSAL A K, KORADIA V. The role of reverse engineering in the development of generic formulations [J]. *Pharm Technol*, 2005, **29**(8): 50-55.

[10] 洪晓轩, 王增明, 高　静, 等. 逆向工程在咖啡因片制剂开发中的应用[J]. 国际药学研究杂志, 2020, **47**(9): 756-764.

[11] FDA. Guidance for industry: immediate release solid oral dosage forms scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls, *in vitro* dissolution testing, and *in vivo* bioequivalence documentation [EB/OL]. [2023-05-08]. https: //www. fda. gov/regulatory-Information/search-fda-guidance-documents /default. htm.

[12] FDA. SUPAC-IR Questions and Answers about SUPAC-IR Guidance [EB/OL]. [2023-05-08]. https://www. fda. gov/regulatory-Information/search-fda-guidance-documents / default. htm.

[13] PMDA. Guideline for Bioequivalence Studies for Different Strengths of Oral Solid Dosage [EB/OL]. (2020-3-19) [2023-05-08]. https://www. nihs. go. jp/drug/index-E. html#Quality.

[14] PMDA. Guideline for Bioequivalence Studies for Formulation Changes of Oral Solid Dosage Forms [EB/OL]. (2020-3-19) [2023-05-08]. https://www. nihs. go. jp/drug/index-E. html#Quality.

[15] 赵娇娇. 软膏剂Abreva成分检测的逆向工程技术研究[D]. 杭州: 中国计量大学, 硕士学位论文, 2016.

[16] FDA. ANDA Submissions-Refuse-to-Receive Standards Rev. 2 [EB/OL]. [2023-05-08]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/anda-submissions-refuse-receive-standards-rev2.

[17] FDA. Considerations for Waiver Requests for pH Adjusters in Generic Drug Products Intended for Parenteral, Ophthalmic, or Otic Use [EB/OL]. [2023-11-15]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-waiver-requests-ph-adjusters-generic-drug-products-intended-parenteral-ophthalmic-or.

[18] WHO. Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-ninth report [EB/OL]. [2023-05-08]. https://iris. who. int/bitstream/handle/10665/44291/WHO_TRS_957_eng. pdf.

[19] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学仿制药注射剂过量灌装研究技术指导原则(征求意见稿)[EB/OL]. (2023-09-28)[2023-11-15]. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/d1903177899d450b9084ecd40194c34f.

[20] FDA. Allowable Excess Volume and Labeled Vial Fill Size in Injectable Drug and Biological Products [EB/OL]. [2023-05-08]. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/allowable-excess-volume-and-labeled-vial-fill-size-injectable-drug-and-biological-products.

[21] EMA. Annex Summary of Product Characteristics [EB/OL]. [2023-05-08]. https://www. ema. europa. eu/en/documents/product-information/mycamine-epar-product-information_en. pdf.