

# 1 局部起效化学仿制药体外释放（IVRT）与体外透皮 2 （IVPT）研究技术指导原则（征求意见稿）

## 3 4 一、概述

5 本指导原则主要适用于皮肤外用或经皮给药局部起效  
6 半固体化学仿制药（如软膏剂、乳膏剂、凝胶剂等）。

7 体外释放试验（In Vitro Release Test，以下简称 IVRT）  
8 和体外透皮试验（In Vitro Permeation Test，以下简称 IVPT）  
9 是上述类型仿制药体外关键质量属性研究的重要内容，其中，  
10 前者可用于评估制剂的药物释放率，后者可用于评价药物经  
11 皮渗透行为、模拟药品在生理条件下的透皮过程。

12 该类仿制药的体外释放特性及经皮渗透行为受药物的  
13 溶解度、粒径、制剂的微观结构、流变学特性等诸多因素影  
14 响。在该类制剂开发的各个阶段（如早期处方工艺开发阶段、  
15 上市后变更、生命周期管理等），IVRT 与 IVPT 均可作为控  
16 制药品质量和评价制剂性能的有效方法。

17 本指导原则可对此类药品研发过程中处方工艺筛选、质  
18 量控制研究提供参考。也可用于评估上市后变更对药品质量  
19 的影响。在参照相关指导原则及个药指南进行仿制药与参比  
20 制剂的 IVRT/IVPT 对比研究时，可参考本指导原则。

21 本指导原则主要阐述化学仿制药 IVRT 与 IVPT 研究的  
22 方法开发、方法验证和实施的一般考虑和建议<sup>[1~6]</sup>。具体包

23 括以下内容：（1）一般要求；（2）方法开发；（3）方法验证；  
24 （4）样品分析方法验证；（5）正式测定与研究；（6）数据统  
25 计分析与等效判定。

26 本指导原则仅基于药品监管部门目前对于该研究方法的  
27 的认知，提出科学性建议，其适用性应遵循具体问题具体分析  
28 的原则。随着技术的发展、认知的深入和经验的积累，本  
29 指导原则也将逐步进行修订和完善。

## 30 二、体外释放试验（IVRT）

### 31 （一）IVRT 的一般要求

32 软膏剂、乳膏剂、凝胶剂等半固体制剂的 IVRT 可评估  
33 药物从基质中释放的速率和程度，并表征在特定条件（即给  
34 定的方法参数）下制剂中药物的稳态体外释放速率，是质量  
35 研究及稳定性考察中的重要指标。在建立 IVRT 方法时，应  
36 对膜、接收介质、方法参数等进行筛选和优化。

### 37 （二）IVRT 方法开发

38 药物体外释放是考察药物从系统中释放的速率和程度，  
39 是质量研究及稳定性考察的重要指标。在建立体外释放度考  
40 察方法时，应对测定装置和测定条件进行筛选和优化，并最  
41 终选择区分力适宜的测试条件。

#### 42 1. 设备

43 半固体制剂的 IVRT 方法中最常用的设备是扩散池，另  
44 外也可采用浸没池、流通扩散池等。如适用，也可使用与上

45 述设备具有相同设计和操作原理的其他设备。

## 46 2.膜

47 在 IVRT 方法开发过程中，建议对不同的膜材（如混合  
48 纤维素酯、尼龙、聚丙烯/聚砜、聚醚砜等合成/人工材料）及  
49 有效孔径（如  $0.45\mu\text{m}$  等）进行筛选，以选择适宜的膜材<sup>[1]</sup>。

50 IVRT 试验用的膜应与药物相容且不影响药物的释放。建议  
51 提供膜对药物及接收介质的相容性研究。同时，建议提供每  
52 种膜进行 IVRT 研究时所获得的药物释放速率的线性和精密  
53 度信息，结合线性和精密度结果，以支持接收介质选择的合  
54 理性。

## 55 3.接收介质

56 接收介质一般应满足漏槽条件。同时应尽量减少接收介  
57 质的反向扩散。在 IVRT 研究期间，接收介质的 pH 值应保持  
58 恒定。

59 在 IVRT 方法开发过程中，建议采用与待评估的接收介  
60 质相容的同一种膜，对不同的接收介质进行评估。常用的接  
61 收介质包括 pH5 ~ 7 的缓冲液-醇二元混合体系。

62 应提供药物在接收介质的溶解度和稳定性信息，结合在  
63 IVRT 研究中所获的药物释放速率的线性和精密度结果，以  
64 支持接收介质选择的合理性。通常，各时间点的药物释放速  
65 率（斜率）应呈线性关系（ $r^2 \geq 0.97$ ）。药物在接收介质中的溶  
66 解度应超过 IVRT 研究中药物的最大浓度，理想值应该是同

67 一个数量级。

#### 68 4.方法参数

69 试验时间与取样点：IVRT 的试验时间应充分完整反映  
70 释放曲线/药物的稳态释放动力学（Steady-State Release  
71 Kinetics）<sup>[1]</sup>。在试验结束前释放曲线应能达到持续稳定释放。  
72 建议至少选取 5 个采样时间点，以获得良好的释放率。在稳  
73 态释放速率（Steady-State Release Rates）评估中，采样时长  
74 至少为 4 小时，更短的采样时长通常不能完整反映稳态释放  
75 动力学。可根据试验制剂的具体情况确定采样时间点（如每  
76 30 分钟或每小时）。建议控制样品的采样时间，确保采样时  
77 间在耐用性考察范围内。实际采样时间应在预定采样时间的  
78  $\pm 15$  分钟或  $\pm 2\%$ （两者取其较小者）<sup>[2]</sup>。

79 上样量与上样控制：应根据不同剂型及药物特点选择上  
80 样方式及上样量。应确保上样量的一致性（ $\pm 5\%$ ），同时尽量  
81 避免试验过程中样品水分散失。上样量应确保 IVRT 研究期  
82 间不会出现剂量耗竭的情况，建议采用伪无限上样量  
83 （Pseudo-Infinite Dosing）<sup>[3]</sup>。上样方式及上样量不应影响药  
84 物的稳态释放动力学。

85 搅拌速率：搅拌的速率及效果应确保在研究期间接收介  
86 质能够充分混合（扩散池通常为 600 rpm）<sup>[1]</sup>。

#### 87 （三）IVRT 方法学验证<sup>[2]</sup>

88 应对 IVRT 关键研究中使用的设备、方法和研究条件等

89 进行适当的验证或确证。建议制定详细的方案、良好受控的  
90 试验程序，确保精确控制给药、取样等 IVRT 研究参数，并  
91 降低试验偏差。

92 以扩散池为例，IVRT 方法的验证应包括以下条件和控  
93 制，也可使用经过验证的样品分析程序进行。

#### 94 1.设备确证

95 扩散池的设备确证内容，包括但不限于：①测定供给室  
96 和接收室之间膜安装位置的孔口扩散面积。②测量每个接收  
97 室的容积。③在相关研究期间，关注膜表面或膜下温度（如，  
98  $32^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ）的稳定性。④如适用，测定搅拌速率，速率偏  
99 差应为搅拌速率的 $\pm 10\%$ 。

#### 100 2.膜确证

101 IVRT 研究期间，应将膜放置到相关温度的接收介质中  
102 进行孵化（如在  $32^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  条件下放置 6 小时），重复测定  
103 至少三份。并在相同条件下，同步考察至少三份在不加膜时  
104 与膜吸附无关的药物损失。

105 在孵化前后分别收集相同量的接收介质，以评估溶液中  
106 药物含量的下降。试验结束时，溶液中药物的回收率应在  $100\%$   
107  $\pm 5\%$ 。

#### 108 3.接收介质取样确证

109 应对每个时间点对接收介质取样的准确性和精密度进  
110 行确认。应证明取样技术可以从混合良好的接收室中，持续

111 稳定地收集到相同体积的接收介质，且不会因取样技术的原因  
112 引起取样误差（如，自动取样系统中样品间的相互干扰、  
113 样品残留、从混合不均一的立式扩散池采样臂中取样等）。

#### 114 4.环境控制

115 应选择适宜的环境温湿度进行试验。在研究期间，试验  
116 环境的温度和湿度应尽量保持一致。建议将温度控制在  $21^{\circ}\text{C}$   
117  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度控制在  $50\%\text{RH}\pm 20\%\text{RH}$  之间。

#### 118 5.线性和范围

119 应将所有采样时间点的药物累计释放量与时间的平方  
120 根作图，绘制标准曲线（所得斜率即为药物的释放速率），标  
121 准曲线应呈线性关系（ $r^2$  值 $\geq 0.97$ ）。应计算和报告每个扩散池  
122 的药物释放线性方程。IVRT 方法的线性和范围应建立在精  
123 密度和重复性试验结果的基础上。

#### 124 6.精密度和重现性

125 可根据每个扩散池的释放速率（斜率）计算批内精密度  
126 和批间重现性。应计算并报告所有批内和批间斜率的均值、  
127 标准差和变异系数（%CV）。批内和批间的变异系数（%CV）  
128 均应小于等于 15%。批运行应便于仪器内/间和/或操作者内/  
129 间的精密度和重现性的同时评估。建议至少进行三次独立的  
130 精密度和重现性试验。

#### 131 7.剂量消耗（Dose Depletion）

132 应计算每个扩散池接收介质中释放药物的回收率，用于

133 考察 IVRT 研究期间接收介质中药物的总累积释放量。

134 剂量消耗可采用上样量中药物剂量百分比表达（根据药  
135 物的规格，以及膜上的大致上样量进行估算）。

136 例如，如果扩散池中膜上的上样量为 1g、制剂的规格为  
137 5%，则上样量中药物的量约为 50mg。如果在试验时间为 6  
138 小时的 IVRT 研究中，接收介质中药物扩散的总量为 10mg，  
139 可以估算 50mg 药物的消耗量为 10mg，则剂量消耗为 20%。  
140 应计算和报告平均剂量消耗百分比（Average Percentage Dose  
141 Depletion）。

142 通常，稳态释放动力学应假定剂量消耗低于 30%。当剂  
143 量消耗大于 30%，但能持续观察到稳态释放动力学，以释放  
144 量对时间的平方根作图，每个扩散池的释放速率也能保持线  
145 性关系时，可认为该试验方法可行。

146 8. 区分力—选择性、灵敏度和专属性（Discrimination-  
147 Selectivity, Sensitivity and Specificity）

148 一般采用选择性、灵敏度和专属性表示 IVRT 方法的区  
149 分力，可参考国内外相关指南<sup>[2]</sup>的要求进行研究。

150 IVRT 选择性：选择性是指 IVRT 方法能区分因制剂中药  
151 物浓度的不同而产生的释放速率的差异。此外，能区分制剂  
152 中因关键辅料改变、关键工艺参数变更等导致微观结构特性  
153 变化而引起释放速率的差异。上述情况下的释放速率应具  
154 统计学差异。

155 IVRT 灵敏度：灵敏度是指 IVRT 方法中，释放速率随处  
156 方中药物浓度变化而发生相应变化的能力。其中，释放速率  
157 为受试制剂中药物浓度的函数。如果对参比制剂、较高规格  
158 和较低规格的受试制剂进行平行研究，相较参比制剂，较高  
159 规格或较低规格的受试制剂能分别呈现出较高或较低的释  
160 放速率，则认为 IVRT 方法是灵敏的。

161 IVRT 专属性：专属性是指 IVRT 方法能准确监控释放速  
162 率变化比例的能力，其中，释放速率为受试制剂中药物浓度  
163 的函数。这种比例可以用处方浓度与 IVRT 平均释放速率（斜  
164 率）之间的关系图来说明。通过绘制线性趋势线，量化并报  
165 告  $r^2$  值，来评估 IVRT 的专属性。IVRT 方法对释放速率的响  
166 应按线性应呈比例关系，如果处方浓度与 IVRT 平均释放速  
167 率（斜率）的线性相关性  $r^2$  值  $\geq 0.95$ ，则认为该方法具有专属  
168 性。

## 169 9.耐用性

170 耐用性测试涉及与 IVRT 方法相关的设备和测试方法的  
171 改变，如：①温度变化（如： $-1^{\circ}\text{C}$  和  $+1^{\circ}\text{C}$  相对于  $32^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ）；  
172 ②上样量体积变化（如，上样量体积的  $+10\%$  和  $-10\%$ ）；③接  
173 收介质的变化（如，成分和/或 pH 值的轻微变化）；④混合速  
174 率的变化（如，搅拌速度的轻微变化）。

175 在改变 IVRT 方法参数后，如果 IVRT 的平均斜率在“精  
176 密度和重现性”验证中获得平均斜率的  $\pm 15\%$  范围内，则认为

177 IVRT 方法对于该参数的改变具有耐用性。

#### 178 (四) 样品分析方法验证

179 经过验证的分析方法应有足够的灵敏度，可以准确测定  
180 各采样点接收介质中药物的含量<sup>[3]</sup>。

181 当试验数据涉及到结果等效性的判定时，应满足数据完  
182 整性的要求，采用具有适当质量控制样品的多点（6~8 个）  
183 校准曲线<sup>[2]</sup>，并符合 ICHM10 生物分析方法验证及样品检测  
184 等相关法规要求。

#### 185 (五) IVRT 正式测定与研究<sup>[1]</sup>

186 当试验数据涉及到结果等效性的判定时，应在 IVRT 研  
187 究中提供盲法程序的详细描述。

188 在 IVRT 正式研究中，应对受试制剂和参比制剂的药物  
189 释放速率进行比较。应报告每个扩散池在各时间点的累计释  
190 放量。同时报告 IVRT 研究的相关汇总统计数据。

191 样品数为每批至少 6 个。参比制剂与受试制剂的 IVRT  
192 对比研究，应在连续的扩散池上交替给药，可从交替模式的  
193 两种序列（ABABAB 或 BABABA）中随机选择。

#### 194 (六) 数据统计分析与等效判定<sup>[1]</sup>

195 数据报告：对于每个扩散池，计算每个采样时间点（t1、  
196 t2 等）的药物释放量（通常以  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  为单位），并将药物累  
197 积释放量与时间的平方根作图，绘制药物累积释放量与 $\sqrt{t}$  的  
198 关系图，所得线性的斜率即药物的释放速率。

199 建议使用非参数统计方法分析测试结果。可以通过  
200 Mann-Whitney U 检验等相关方法计算受试制剂与参比制剂  
201 之间药物释放速率（斜率）比值的 90%置信区间。

202 通过以下示例说明，其中参比制剂批次被称为参比批次  
203 (R)，受试制剂批次被称为受试批次 (T)。绘制从 R 中每  
204 个扩散池释放的药物量与时间的平方根的关系图，由此产生  
205 的斜率是参考斜率。对受试批次 (T) 重复该过程。将每个受  
206 试 (T) -参比 (R) 配对组合，计算所有 T/R 斜率比值。用  
207 一个表来简述这个过程，其中 TS 表示受试制剂斜率，RS 为  
208 参比制剂斜率，表内为 T/R 斜率比值。

209 表 1. 受试批次斜率 (TS) 和参比批次斜率 (RS) 比

	RS1	RS2	RS3	RS4	RS5	RS6
TS1	TS1/RS1	TS1/RS2	TS1/RS3	TS1/RS4	TS1/RS5	TS1/RS6
TS2	TS2/RS1	TS2/RS2	TS2/RS3	TS2/RS4	TS2/RS5	TS2/RS6
TS3	TS3/RS1	TS3/RS2	TS3/RS3	TS3/RS4	TS3/RS5	TS3/RS6
TS4	TS4/RS1	TS4/RS2	TS4/RS3	TS4/RS4	TS4/RS5	TS4/RS6
TS5	TS5/RS1	TS5/RS2	TS5/RS3	TS5/RS4	TS5/RS5	TS5/RS6
TS6	TS6/RS1	TS6/RS2	TS6/RS3	TS6/RS4	TS6/RS5	TS6/RS6

210 在计算出 T/R 斜率比值后，对 36 个 T/R 斜率比值从低  
211 至高排序。然后，将第 8 个和第 29 个斜率比值转换为百分  
212 单位（即乘以 100），分别代表 90%置信区间的下限和上限，  
213 如果二者均在 90%~111%范围内，则通过第一阶段测试。

214 如果第一阶段的测试不合格，则应该增加 4 次（2 次参  
215 照和 2 次受试，每次 6 个扩散池）测试，每个测试批次各增

216 加 12 个斜率。对每个测试批次的所有 18 个 T/R 斜率，按照  
217 上述方式，计算得到共计 324 个 T/R 斜率比值，然后从低至  
218 高排序，如果第 110 个和第 215 个斜率比值（转换为百分单  
219 位后，分别代表 90%置信区间的下限和上限）均在 90%~111%  
220 范围内，则通过第二阶段测试。

### 221 三、体外透皮试验（IVPT）

#### 222 （一）IVPT 的一般要求

223 IVPT 研究可用于评估药物到达皮肤作用部位或附近的  
224 速率和程度，或评价药物经皮渗透并进入体内的行为，模拟  
225 药品在生理条件下的透皮过程。IVPT 也可表征和评估仿制  
226 药与参比制剂中药物的生物利用度和安全暴露程度。在建立  
227 IVPT 方法时，应建立皮肤模型的接受标准，并对接收介质、  
228 方法参数等进行筛选和优化。

229 IVPT 通量曲线（Flux Profiles）类似于药代动力学曲线  
230 （Pharmacokinetic Profiles），可使用 IVPT 终点进行分析，该  
231 终点与药代动力学终点、即最大浓度（C<sub>max</sub>）和浓度-时间曲  
232 线下面积（AUC）相似。IVPT 反映的是药物吸收的速率和程  
233 度，而不是体内的分布、代谢和排泄。本指导原则中的“皮肤  
234 药代动力学（Cutaneous Pharmacokinetics）”表征的仅仅是“局  
235 部起效制剂中药物达到作用部位的速率和程度”<sup>[4]</sup>。

236 鉴于适应症不同的局部起效制剂在不同的皮肤部位发  
237 挥作用。仅在角质层、表皮层起效的制剂，不强制提供完整

238 的 IVPT 通量曲线。

## 239 (二) IVPT 方法开发

### 240 1.IVPT 设备

241 半固体制剂的 IVPT 方法中最常用的设备是扩散池和流  
242 通扩散池等。如适用，也可使用与上述设备具有相同设计和  
243 操作原理的其他设备。

### 244 2.IVPT 皮肤模型<sup>[1,3,4]</sup>

245 应明确皮肤模型的接受/排除标准。在皮肤模型开发过程  
246 中应考虑以下因素：皮肤来源、部位、层次、皮肤储存条件  
247 及时长，皮肤类型选择（如，年龄范围、性别、种属和一致  
248 的解剖区域等）和皮肤制备技术（如，厚度、剥皮、表皮分  
249 离等）。

250 可以使用不同的皮肤制备技术，制备技术和储存不应改  
251 变皮肤屏障功能。应说明皮肤厚度和制备方法。应选择来自  
252 不同供体的皮肤。受试制剂与参比制剂应在同次试验中使用  
253 相同的供体皮肤，最好来自相邻部位。研究期间，仪器应保  
254 持一致的温度控制，皮肤表面温度应稳定在  $32^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。

255 除另有规定外，猪的皮肤与人类皮肤具有相对相似的形  
256 态，可作为首要选择。在 IVPT 正式研究时，不鼓励使用全  
257 层（Non-Dermatomed）皮肤、啮齿类动物皮肤、合成/人工材  
258 料膜等。

### 259 3.IVPT 皮肤屏障完整性测试

260 每次试验前后应检测皮肤完整性。应说明皮肤完整性试  
261 验方法的选择依据及其验收标准。试验前后可能会提出不同  
262 的验收标准，在平行试验中应该是一致并合理的。

263 在 IVPT 方法开发过程中，应建立皮肤屏障完整性测试  
264 的技术程序，如经皮水分散失法、氡化水渗透法和电阻/电导  
265 值法等。相关研究方法、评价指标等可参考国内外相关指南  
266 的要求<sup>[4]</sup>。

267 皮肤屏障完整性的任一测试方法的开发或选择，都应注  
268 意：测定方法不应不可逆的改变皮肤完整性。接受标准建议  
269 为皮肤未通过屏障完整性测试的阈值，同时应能够区分屏障  
270 完整性受损的皮肤切片。

#### 271 4.IVPT 接收介质<sup>[4]</sup>

272 接收介质的组成和 pH 值应根据其与皮肤模型的相容性、  
273 药物在接收介质中的稳定性和溶解度进行确认。

274 药物在接收介质中的稳定性应作为分析方法验证的一  
275 部分。药物在接收介质中的溶解度应经过三次重复检测确定，  
276 确保其超过 IVPT 正式研究中最高样品浓度，理想情况下两  
277 者应为一个数量级。药物在接收介质中的溶解度应足以用于  
278 表征更高药物递送时（如灵敏度验证时）药物渗透的最高量。

279 对于疏水性药物，必要时（如，为满足药物的漏槽条件），  
280 可在基于生理缓冲盐的接收介质中添加一定浓度[通常为 0.1%  
281 （w/v）到 0.2%（w/v）]的聚氧乙烯 20 油醚（别名 Oleth-20，

282 Volpo-20, 或 Brij-20; CAS: 9004-98-2) 以提高药物溶解度。  
283 其他改善药物在接收介质中溶解度的策略(如, 在接收介质  
284 中加入有机溶剂和乙醇等), 可能会改变皮肤的渗透性, 不建  
285 议使用。

286 建议在接收介质中加入一种抗微生物剂(如, 约 0.1%的  
287 叠氮化钠或约 0.01%的硫酸庆大霉素), 以减轻在整个研究期  
288 间扩散池中细菌对真皮和/或表皮的潜在分解。如果采用其它  
289 抗微生物剂, 应阐述选择理由及其使用浓度。

#### 290 5.IVPT 方法参数<sup>[4]</sup>

291 试验时间与取样点: IVPT 的试验时长和所选择的取样时  
292 间点应足以表征药物的皮肤药代动力学, 理想情况下应包括  
293 一个足够完整的通量曲线, 以识别最大(峰值)通量和此后  
294 多个时间点的通量下降情况。所选的取样频率应足以为通量  
295 曲线提供合适的分辨率, 在整个研究期间, 推荐至少采用 8  
296 个非零取样点。

297 在试验期间, 如果药品持续保留在皮肤上面, 因其持续  
298 递送药物, 可能会出现最大(峰值)通量之后通量不下降  
299 的现象。此时, 可在上样一段时间后将样品擦去, 然后持续  
300 监控接收介质一定时间, 使之呈现出通量下降的情况。

301 上样量和上样方式控制: 应根据不同剂型及药物特点选  
302 择上样方式及上样量。对于半固体制剂, 可在同一供体的重  
303 复样品上平行比较不同的剂量, 以优化 IVPT 方法。考虑因

304 素可能包括：①采用相同的上样方式；②通量曲线的重现性；  
305 ③上样量和剂量维持时间对通量曲线的影响；④接收介质中  
306 不同取样时间点的药品浓度大致范围。应确保上样量的一致  
307 性（±5%），除另有规定外，上样量通常在 2~15mg/cm<sup>2</sup> 范围  
308 内<sup>[1]</sup>。

309 搅拌速率：搅拌的速率及效果应确保在研究期间接收介  
310 质能够充分混合（扩散池通常为 600 rpm）。

311 供体数量和重复数：建议采用多个皮肤供体（如 4~6 个）  
312 进行 IVPT 研究，每个供体的每个给药组重复数至少为 4 个。

### 313 （三）IVPT 方法学验证<sup>[4]</sup>

314 IVPT 关键研究中使用的设备、方法和研究条件应进行适  
315 当的验证或确证，以确保精确控制 IVPT 研究参数，以及潜  
316 在的试验偏差来源。

#### 317 1. 设备确证

318 扩散池的设备确证内容，包括但不限于：①测定供给室  
319 和接收室之间皮肤安装位置的孔口扩散面积；②测量扩散池  
320 接收室的容积；③在相关研究期间，关注皮肤表面温度（如，  
321 32°C±0.5°C）的稳定性；④如适用，测定扩散池的搅拌速率，  
322 速率偏差应为搅拌速率的±10%。

#### 323 2. 皮肤模型确证

324 应评估角质层屏障的完整性。所有供体皮肤应以一致的  
325 方式制备，并保持相对一致的厚度。应测量并报告研究中每

326 个供体皮肤的厚度。

### 327 3.接收介质取样确证

328 应对每个时间点对接收介质取样的准确性和精密度进行确  
329 认。应证明所用取样技术可以从混合良好的接收室中始终一  
330 致的收集到相同体积的接收介质，且不会因取样技术的原因  
331 引起取样误差（如，自动取样系统中样品间的相互干扰、样  
332 品残留、从混合不均一的立式扩散池采样臂中取样等）。

### 333 4.环境控制

334 应选择适宜的环境温湿度进行试验。在研究期间，试验  
335 环境的温度和湿度应尽量保持一致。建议将温度控制在  $21^{\circ}\text{C}$   
336  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度控制在  $50\%\text{RH}\pm 20\%\text{RH}$  之间。

### 337 5.渗透曲线和范围（Permeation Profile and Range）

338 应在整个取样时间范围内分别绘制通量曲线和累积渗  
339 透曲线（Cumulative Permeation Profile）。应确认在试验期间  
340 （即取样时间点范围内）所选择的研究参数是否足以表征渗  
341 透曲线。

### 342 6.精密度和重现性

343 应计算和报告各扩散池在每个时间点的通量和累计渗  
344 透结果，并以表格的形式汇总统计以下信息：重复测定的批  
345 内均值、标准差和变异系数（%CV）；以及批间均值、标准差  
346 和变异系数。

347 应提供计算中所用数据的完整结果，以便通量和累计渗

348 透结果的重现。研究设计应详细和清晰，将数据结果与相关  
349 供体、重复数、试验组和时间点等相关联。

## 350 7. 剂量消耗

351 应计算每个扩散池接收介质中渗透药物的回收率，用于  
352 考察 IVPT 研究期间接收介质中药物的总累积渗透量。

353 剂量消耗可采用上样量中药物剂量百分比表达（根据药  
354 物的规格，以及皮肤上的大致上样量进行估算）。

355 例如，如果扩散池中皮肤上的上样量为 10mg，制剂的规  
356 格为 5%，则上样量中药物的量约为 500 $\mu$ g。如果在试验时间  
357 为 48 小时的 IVPT 研究中，药物渗透进入接收介质的总量为  
358 10 $\mu$ g，可以估算 500 $\mu$ g 药物的消耗量为 10 $\mu$ g，则剂量消耗为  
359 2%。应计算和报告平均剂量消耗百分比（不考虑皮肤中药物  
360 含量）。

## 361 8. 区分力—灵敏度和选择性

362 一般采用选择性和灵敏度反映 IVPT 方法的区分力，可  
363 参考国内外相关指南<sup>[4]</sup>的要求进行研究。

364 选择性：IVPT 选择性是 IVPT 方法区分参比制剂和“与  
365 参比制剂在药物递送方面存在差异的制剂”在药物皮肤药代  
366 动力学差异的能力。在 IVPT 初期研究中，通过将参比制剂、  
367 受试制剂和“设计不同于参比制剂”的第三种制剂进行平行评  
368 估，提供支持性证据，说明 IVPT 方法对药物递送的差异具  
369 有选择性。如适用，应递交 IVPT 方法开发、验证和初步研

370 究中用到的所有局部起效制剂的相关批信息，包括但不限于：  
371 批处方、生产日期、批量、变更的生产工艺（如适用），以及  
372 浓度规格（Potency）和含量均匀度（如有）等。可基于渗透  
373 曲线和/或 IVPT 终点的定性/定量比较进行不等效评估。

374 灵敏度：IVPT 灵敏度是 IVPT 方法检测药物皮肤药代动  
375 力学变化的能力，可反映药物递送的差异。随着药物递送的  
376 增加或降低（或预期会增加和降低药物递送的其他条件），  
377 IVPT 方法能分别给出较高或较低通量分布曲线（即，较高和  
378 较低的 IVPT 终点）时，可认为 IVPT 方法具有良好的灵敏  
379 度。可采用调整上样量、调整剂量维持时间、调整产品规格  
380 等方法<sup>[4]</sup>，建立具有合适区分力的 IVPT 方法考察药物的递  
381 送行为。在 IVPT 灵敏度研究中，建议采用多个皮肤供体（如，  
382 4~6 个皮肤供体），且每个试验组的每个供体至少 4 个重复  
383 的皮肤切片。

## 384 9.耐用性

385 当所有设备系统变量（如，温度、搅拌速率）为标准设  
386 置时，测试系统的性能一致，则认为该方法耐用性较好。耐  
387 用性测试的意义在于，通过稍微改变特定变量来确认设备系  
388 统是否可以提供一致的输出结果，从而确定这些变量的操作  
389 范围。在 IVPT 研究中应尽可能精准的控制 IVPT 研究程序。

### 390 （四）样品分析方法验证

391 分析方法应有足够的灵敏度，并经过验证，确保其可以

392 准确的测定各采样点接收介质中药物的含量。

393 当试验数据涉及到结果等效性的判定时，应使用具有审  
394 计追踪的色谱软件，并应包括具有适当质量控制样品的多点  
395 （6~8个）校准曲线，同时，应符合 ICH M10 生物分析方  
396 法验证及样品检测等相关法规要求。

#### 397 （五）药物质量平衡（总回收率）与皮肤分布<sup>[1]</sup>

398 通常，应研究皮肤中药物含量和接收介质中药物总累积  
399 渗透量。

400 根据研究目的，可能需要额外提供关于药物组织分布  
401 （如角质层、活性表皮层和真皮层中药物的量）和总的药物  
402 质量平衡的评估。

#### 403 （六）IVPT 正式测定与研究<sup>[4]</sup>

404 当试验数据涉及到结果等效性的判定时，应在 IVPT 研  
405 究方案和最终报告中提供盲法程序和随机化的详细描述。

##### 406 1. 盲法程序

407 应提交详细的盲法程序信息。需充分确保研究者和任何  
408 试验操作人员保持盲态。

##### 409 2. 随机化

410 应在 IVPT 研究方案中描述随机化方法，应提供随机化  
411 方案、分配表及程序。建议可由独立的第三方生成并保存随  
412 机化代码，以减少偏倚。

##### 413 3. 上样

414 在 IVPT 正式研究中，对于每个供体组，可以在扩散池  
415 （皮肤切片）上以交替给药方式依次放置受试制剂和参比制  
416 剂。对于每个供体组，可采用下述两个方式中的一个进行随  
417 机放样：

418 a. ABABAB...

419 b. BABABA...

420 研究设计

421 在 IVPT 正式研究中，应采用皮肤屏障完整性良好的皮  
422 肤模型和经确证的扩散池系统，对受试制剂和参比制剂的皮  
423 肤药代动力学进行对比研究。在受试制剂和参比制剂的对比  
424 研究中，每个试验组应采用相同的皮肤供体、相同的皮肤切  
425 片重复数，并采用相同的 IVPT 方法参数。应尽可能精准  
426 控制 IVPT 正式研究的设计、方法和扩散池设备的取样精密  
427 度。例如，对于连续的扩散池，可以错开上样时间，根据上  
428 样时间的差异同步取样时间，以确保所有扩散池的上样和取  
429 样时间的间隔一致。

430 4.IVPT 终点

431 IVPT 关键研究中皮肤药代动力学终点的依据就是药物  
432 渗透并通过皮肤进入接收介质的速率和程度的参数，即采用  
433 通量（J）反映药物的渗透速率，采用接收介质中药物的累积  
434 总量反映药物的渗透程度。

435 以通量（药物渗透速率）为纵坐标 Y-轴，时间为横坐标

436 X-轴作图；其中 Y-轴用“J”标识，以质量/面积/时间（如，ng/  
437 cm<sup>2</sup>/h）为单位。通量分布模型通常类似于血浆药代动力学分  
438 布模型，尽管通量是一个速率单位，并不代表浓度。也应对  
439 药物的渗透程度作图，以药物累积渗透量（单位为质量/面积，  
440 如 ng/cm<sup>2</sup>）为纵坐标 Y-轴，时间为横坐标 X-轴。

441 通量的计算应基于：每个时间点的接收介质中样品的浓  
442 度（如，2.0 ng/mL）；精确的、经测量的扩散池的体积（如，  
443 6.0 mL），每个扩散池的体积可能不同；上样区域的面积（如，  
444 1 cm<sup>2</sup>）；整个研究的持续时间。例如，如果此处所示样本代  
445 表给药后 2 小时内的情况，则 J 值按下式进行计算：

$$446 \quad J = [ ( 2.0 \text{ ng/mL} ) \times ( 6.0 \text{ mL} ) ] / ( 1 \text{ cm}^2 ) / ( 2 \text{ h} ) =$$
$$447 \quad 6 \text{ ng/cm}^2/\text{h}$$

448 应计算并报告各扩散池的所有相邻采样点之间的通量，  
449 并为整个研究期间的所有扩散池绘制通量曲线。上述计算的  
450 速率可以对应于 2 小时的实际时间点进行绘制，也可以采用  
451 0 和 2 小时之间的中间点（即，1 小时）。

452 此外，应计算并报告每个扩散池的总累积渗透量（AMT）。  
453 AMT 终点为药物渗透的累计量（整个研究期间的渗透总量），  
454 而不是采用梯形法则计算的通量曲线下的面积。

455 应将受试制剂和参比制剂的最大通量（J<sub>max</sub>，药物通量  
456 曲线的最高峰）和 AMT 进行对比。这类似于全身起效的受  
457 试制剂和参比制剂的 C<sub>max</sub> 和 AUC 的比较，因为这些终点

458 可分别用于表征各剂型（局部起效或全身起效）药物到达作  
459 用部位的速率和程度。

460 应计算每个 IVPT 终点的置信区间（CI）：

461 a. 自然对数换算后的最大通量（Jmax）

462 b. 自然对数换算后的总累积渗透量（AMT）

463 应确定足以支持 IVPT 关键研究所需的供体数量，建议  
464 每个试验组（受试制剂或参比制剂）在每个皮肤供体上应至  
465 少有 4 个重复皮肤切片。

466 在 IVPT 研究结束时，如果受试制剂和参比制剂试验组  
467 中所有供体的皮肤切片重复数均一致，建议采用平衡设计的  
468 方法进行统计分析。如果因试验所致缺失/问题，需将皮肤切  
469 片或扩散池从最终的统计分析中排除，则结果的数据集在组  
470 间不平衡/对称，建议采用非平衡设计的方法进行统计分析。

#### 471 （七）数据统计分析与等效判定<sup>[4]</sup>

##### 472 1. 采用 SABE（Scaled Average BE）法进行等效判定

473 对于每个 IVPT 检验终点，如果满意以下两个条件，可  
474 证明受试制剂与参比制剂等效：

475 a.  $(\mu_T - \mu_R)^2 - \theta\sigma_{WR}^2$  的 95%置信区间上限小于或  
476 等于 0（用于比较的数字应保持至少四位有效数字）。

477 b. T 与 R 几何均值的点估计值落在预先设定的界值  
478  $[1/m, m]$ 内，其中  $m=1.2500$ 。

##### 479 2. 采用 ABE（Regular Average BE）法进行等效判定

480 对于每个 IVPT 检验终点, 如果  $\mu_T - \mu_R$  的 90%置信区  
481 间在[0.8000, 1.2500]之间, 可证明受试制剂与参比制剂等效。

482 上述统计分析方法请见附录。

#### 483 四、参考文献

484 1. 美国药典( USP ): 通则<1724> Semisolid Drug Products  
485 — Performance Tests.

486 2. FDA: In Vitro Release Test Studies for Topical Drug  
487 Products Submitted in ANDAs. October 2022

488 3. EMA: Draft guideline on quality and equivalence of  
489 topical products. October 2018

490 4. FDA: In Vitro Permeation Test Studies for Topical Drug  
491 Products Submitted in ANDAs. October 2022

492 5. 局所皮膚適用製劑(半固形製劑及び貼付劑)の処方変  
493 更のための生物学的同等性試験ガイドライン (2010 年 11  
494 月)

495 6. 国家药品监督管理局药品审评中心《皮肤外用化学仿  
496 制药研究技术指导原则 (试行)》(2021 年 3 月)

497 附录：IVPT 统计分析方法<sup>[4]</sup>

498 两个试验组分别对应于受试制剂 (T) 和参比制剂 (R)。  
499 为了进行统计分析, 每个样品需要采用  $n$  个供体; 对于 T 组,  
500 第  $j^{\text{th}}$  ( $j = 1, \dots, n$ ) 个供体有  $r_j^T$  个重复皮肤切片; 同样,  
501 对于 R 组, 第  $j^{\text{th}}$  ( $j = 1, \dots, n$ ) 个供体有  $r_j^R$  个重复皮肤切  
502 片。每个供体 ( $j$ ) 的每个重复 ( $i$ ) 应随机分配给每个样品。

503 定义如下:

504  $T_{ij}$  = 受试制剂第  $j^{\text{th}}$  个供体中第  $i^{\text{th}}$  个皮肤切片的  
505 IVPT 终点 (Jmax 或 AMT) 的自然对数 ( $i = 1, 2, \dots, r_j^T, j =$   
506  $1, 2, \dots, n$ )

507  $R_{ij}$  = 参比制剂 (参比制剂) 第  $j^{\text{th}}$  个供体中第  $i^{\text{th}}$  个  
508 皮肤切片的 IVPT 终点 (Jmax 或 AMT) 的自然对数 ( $i = 1,$   
509  $2, \dots, r_j^R, j = 1, 2, \dots, n$ )

510  $r_j^T$  = 受试制剂第  $j^{\text{th}}$  个供体中皮肤切片的重复数 ( $j =$   
511  $1, 2, \dots, n$ )

512  $r_j^R$  = 参比制剂 (参比制剂) 第  $j^{\text{th}}$  个供体中皮肤切片  
513 的重复数 ( $j = 1, 2, \dots, n$ )

514  $r^* = r_1^R + r_2^R + \dots + r_n^R = R$  组皮肤切片的总数

515  $n$  = 供体数量

516 在最终的统计分析时, 如果 T 组和 R 组的  $n$  个供体中,  
517 可用的皮肤切片重复数均一致, 则该结果数据集是平衡的。  
518 对于平衡数据集, 为了方便标记, 对于每个试验组的每个供

519 体的皮肤切片的重复数，可以标记为  $r = r_1^T = r_2^T = \dots$   
520  $= r_n^T = r_1^R = r_2^R = \dots = r_n^R$ 。

521 当有失败的观察记录（如，在研究期间出现的皮肤切片  
522 的可见撕裂和泄漏）或与方案的偏离（如，发现扩散池的接  
523 收室在第一个取样点是空的）时，可将该扩散池从数据集的  
524 重复数中排除。在这种情况下，如果相同的供体有充足的皮  
525 肤切片，且未对扩散池的样品进行分析，则可以采用另一替  
526 代扩散池进行研究。然而，如果没有可替代扩散池，则该结  
527 果数据集是不平衡的。

528 对用于评估 BE 的平衡数据集和非平衡数据集的统计分  
529 析方法描述如下。用于统计分析的每个试验组（T 和 R）的  
530 每个供体，至少应有 3 个重复的皮肤切片。

### 531 步骤 1

532 根据 IVPT 终点（Jmax 和 AMT）的自然对数转换值，  
533 计算  $S_{WR}$ ，评估参比制剂供体内的标准差：

$$534 \quad S_{WR} = \left( \frac{\sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^{r_j^R} (R_{ij} - \bar{R}_j)^2}{r^* - n} \right)^{1/2}$$

535 其中， $\bar{R}_j = \frac{1}{r_j^R} \sum_{i=1}^{r_j^R} R_{ij}$  是参比制剂第 j 个供体所有  $r_j^R$   
536 个重复所得结果的自然对数转换均值。

537 如果  $S_{WR} \geq 0.294$ ，按照步骤 2, 3.1 和 4.1，采用比例标化  
538 平均生物等效性法（SABE），根据单个 IVPT 终点评估 BE

539 如果  $S_{WR} < 0.294$ ，按照步骤 2, 3.2 和 4.2，通过双侧 T

540 检验 (TOST) 的常规平均生物等效法 (ABE), 根据单个 IVPT  
541 终点评估 BE

542 步骤 2

543 测定 T 和 R 产品平均值差异的点估计值 ( $\hat{I}$ )、标准误 (se  
544 ( $\hat{I}$ )) 和相应自由度 ( $df^*$ )。

545 对于平衡数据集, 按照下述方式计算  $\hat{I}$ 、se ( $\hat{I}$ )  $df^*$ :

546 
$$\hat{I} = \bar{I} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n I_j \quad \text{其中} \quad I_j = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r (T_{ij} - R_{ij})$$

547 
$$S_I^2 = \frac{1}{(n-1)} \sum_{j=1}^n (I_j - \bar{I})^2 \quad (\text{估算供体间变异})$$

548 
$$se(\hat{I}) = \sqrt{S_I^2/n}$$

549 
$$df^* = n - 1$$

550 对于非平衡数据集, 采用 SAS 中 PROC MIXED (或  
551 PROC GLM) 近似估算  $\hat{I}$ 、se ( $\hat{I}$ )  $df^*$ 。

552 步骤 3.1 SABE 法

553 在 SABE 评估方法中, 假定:

554 
$$H_0: \frac{(\mu_T - \mu_R)^2}{\sigma_{WR}^2} \geq \theta$$

555 
$$H_\alpha: \frac{(\mu_T - \mu_R)^2}{\sigma_{WR}^2} < \theta$$

556 其中:

557  $\mu_T - \mu_R$  = T 和 R 产品的平均值差异

558  $\sigma_{WR}^2$  = R 产品的供体内方差

559 
$$\theta = \frac{(\ln(m))^2}{(\sigma_{W0})^2}, m = 1.2500 \text{ (BE 限度)}, \text{ and } \sigma_{W0} = 0.25$$

560 (监管常数)

561 拒绝原假设，支持两个产品的等效性结论。

562 根据 Howe's Approximation (Howe, 1974) ( $\alpha = 0.05$ ),

563 测定  $(\mu_T - \mu_R)^2 - \theta\sigma_{WR}^2$  的  $(1-\alpha) * 100\%$  置信区间上限:

564 
$$X + Y + \text{sign}(V) * |V|^{1/2}$$

565 其中:

566 
$$X = \hat{I}^2 - \text{se}(\hat{I})^2$$

567 
$$Y = -\theta\sigma_{WR}^2$$

568 
$$X' = (|\bar{I}| + t_{(1-\alpha), df^*} * \text{se}(\hat{I}))^2$$

569 
$$Y' = -\theta \frac{(r^* - n) S_{WR}^2}{\chi_{(1-\alpha), (r^* - n)}^2}$$

570  $\text{sign}(V) = 1 \text{ if } V > 0; 0 \text{ if } V = 0; -1 \text{ if } V < 0$

571 注意:  $t_{(1-\alpha), df^*}$  是自由度为  $df^*$  的 Student's t 分布的  $(1-$

572  $\alpha) * 100$  分位数;  $\chi_{(1-\alpha), (r^* - n)}^2$  是自由度为  $(r^* - n)$  的卡

573 方分布的  $(1-\alpha) * 100$  分位数。

574 步骤 3.2 ABE 法

575 在 ABE 评价法中，需要检验的假设为:

576 
$$H_0: \mu_T - \mu_R \leq -\ln(m) \text{ 或 } \mu_T - \mu_R \geq \ln(m)$$

577 
$$H_a: -\ln(m) < \mu_T - \mu_R < \ln(m)$$

578 式中

579  $\mu_T - \mu_R = T$  和  $R$  的 IVPT 终点结果自然对数值的平均  
580 差

581  $m = 1.2500$  (BE 限度)

582  $\ln(m)$  是 BE 限度的自然对数值

583 拒绝零假设则支持“两个药品等效”这一结论。

584 按下式求  $\mu_T - \mu_R$  的  $(1-2\alpha) \times 100\%$  置信区间:

585 
$$\hat{I} \pm t_{(1-\alpha), df^*} * se(\hat{I})$$

586 式中  $t_{(1-\alpha), df^*}$  是自由度为  $df^*$  的  $t$  分布的第  $(1-\alpha) * 100$   
587 分位数。

588 步骤 4.1 采用 SABE (Scaled Average BE) 法进行等效  
589 判定

590 对于每个 IVPT 检验终点, 如果满意以下两个条件, 可  
591 证明受试制剂与参比制剂等效:

592 a.  $(\mu_T - \mu_R)^2 - \theta\sigma_{WR}^2$  的 95% 置信区间上限必须小  
593 于或等于 0 (用于比较的数字应保持至少四位有效数字)。

594 b.  $T$  与  $R$  几何均值的点估计值落在预先设定的界值  
595  $[1/m, m]$  内, 其中  $m=1.2500$ 。

596 步骤 4.2 采用 ABE (Regular Average BE) 法进行等效  
597 判定

598 在 IVPT 检验终点中, 如果  $\mu_T - \mu_R$  的 90% 置信区间在  
599  $[0.8000, 1.2500]$  之间, 可证明受试制剂与参比制剂等效。