

**局部起效化学仿制药体外释放（IVRT）与
体外透皮（IVPT）研究技术指导原则
（试行）**

国家药品监督管理局药品审评中心

2025 年 6 月

目录

一、概述.....	1
二、体外释放试验（IVRT）	2
（一）IVRT 方法开发.....	2
1.设备.....	2
2.膜.....	2
3.接收介质	2
4.方法参数.....	3
（二）IVRT 方法学验证	4
1.设备确证	4
2.膜确证	4
3.接收介质取样确证	5
4.环境控制	5
5.线性和范围	5
6.精密度和重现性	5
7.剂量消耗（Dose Depletion）	6
8.区分力—选择性、灵敏度和专属性	6
9.耐用性	8
（三）样品分析方法验证	8
（四）IVRT 正式测定与研究	8
（五）数据统计分析与等效判定.....	9

三、体外透皮试验（IVPT）	10
（一）方法开发	10
1.设备	10
2.皮肤模型	10
3.皮肤屏障完整性测试	11
4.接收介质	12
5.方法参数	12
（二）IVPT 方法学验证	14
1.设备确证	14
2.皮肤模型确证	14
3.接收介质取样确证	14
4.环境控制	14
5.渗透曲线和范围	15
6.精密度和重现性	15
7.剂量消耗	15
8.区分力—灵敏度和选择性	16
9.耐用性	17
（三）样品分析方法验证	17
（四）药物质量平衡（总回收率）与皮肤分布	17
（五）IVPT 正式测定与研究	18
1.盲法程序	18
2.随机化	18

3.上样.....	18
4.IVPT 终点	19
(六) 数据统计分析与等效判定.....	21
四、参考文献.....	21
附录: IVPT 统计分析方法	23

局部起效化学仿制药体外释放（IVRT）与 体外透皮（IVPT）研究技术指导原则 （试行）

一、概述

体外释放试验（In Vitro Release Test，以下简称 IVRT）可用于评估制剂的药物释放率，体外透皮试验（In Vitro Permeation Test，以下简称 IVPT）可用于评价药物经皮渗透行为、模拟药品在生理条件下的透皮过程。

本指导原则主要适用于皮肤外用或经皮给药局部起效的半固体化学仿制药（软膏剂、乳膏剂、凝胶剂），在参照个药指南需要进行仿制药与参比制剂的 IVRT 和/或 IVPT 对比研究时，可参考本指导原则。

本指导原则主要阐述化学仿制药 IVRT 与 IVPT 研究的方法开发、方法验证和实施的一般考虑和建议^[1~6]。主要包括以下内容：（1）方法开发；（2）方法验证；（3）样品分析方法验证；（4）正式测定与研究；（5）数据统计分析与等效判定。

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

二、体外释放试验（IVRT）

（一）IVRT 方法开发

在建立体外释放度考察方法时，应对测定装置和测定条件进行筛选和优化，并最终选择区分力适宜的测试条件。

1.设备

半固体制剂的 IVRT 方法中最常用的设备是扩散池，另外也可采用浸没池、流通扩散池等。如适用，也可使用与上述设备具有相同设计和操作原理的其他设备。

2.膜

在 IVRT 方法开发过程中，建议对不同的膜材（如混合纤维素酯、尼龙、聚丙烯/聚砒、聚醚砒等合成/人工材料）及有效孔径（如 $0.45\mu\text{m}$ 等）进行筛选，以选择适宜的膜材^[1]。IVRT 试验用的膜应与药物相容且不影响药物的释放。建议提供膜对药物及接收介质的相容性研究。同时，建议提供每种膜进行 IVRT 研究时所获得的药物释放速率的线性和精密度信息，结合线性和精密度结果，以支持膜材选择的合理性。

3.接收介质

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

在 IVRT 方法开发过程中，建议采用与待评估的接收介质相容的同一种膜，对不同的接收介质进行评估。常用的接

收介质包括 pH5 ~ 7 的缓冲液-醇多元混合体系。

应提供药物在接收介质中的溶解度和稳定性信息，结合在 IVRT 研究中所获得的药物释放速率的线性和精密度结果，以支持接收介质选择的合理性。通常，各时间点的药物释放速率（斜率）应呈线性关系（ $r^2 \geq 0.97$ ）。药物在接收介质中的溶解度应超过 IVRT 研究中药物的最大浓度，理想情况下，应大于一个数量级。

4.方法参数

试验时间与取样点：IVRT 的试验时间应充分完整地反映释放曲线/药物的稳态释放动力学（Steady-State Release Kinetics）^[1]。在试验结束前释放曲线应能达到持续稳定释放。建议至少选取 5 个采样时间点，以获得良好的释放率。在稳态释放速率（Steady-State Release Rates）^[1]评估中，采样时长至少为 4 小时，更短的采样时长通常不能完整反映稳态释放动力学，但是，如果有实验数据支持该方法的科学合理性，低于 4 小时的研究时长也可以接受。可根据试验制剂的具体情况确定采样时间点（如每 30 分钟或每小时）。建议控制样品的采样时间，确保采样时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 ± 15 分钟或 $\pm 2\%$ （两者取其较小者）^[2]。

上样量与上样控制：应根据不同剂型及药物特点选择上样方式及上样量。应确保上样量的一致性（ $\pm 5\%$ ），同时尽量

避免试验过程中样品水分散失。上样量应确保 IVRT 研究期间不会出现剂量耗竭的情况，建议采用伪无限上样量（Pseudo-Infinite Dosing）^[3]。上样方式及上样量不应影响药物的稳态释放动力学。

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

（二）IVRT 方法学验证^[2]

应对 IVRT 关键研究中使用的设备、方法 and 研究条件等进行适当的验证或确证。建议制定详细的方案、良好受控的试验程序，确保精确控制给药、取样等 IVRT 研究参数，并降低试验偏差。

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

1. 设备确证

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

2. 膜确证

IVRT 研究期间，应将膜放置于相关温度的接收介质中进行孵化（如在 $32^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下放置 6 小时），重复测定至

少三份。并在相同条件下，同步考察至少三份在不加膜时与膜吸附无关的药物损失。

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

3.接收介质取样确证

应在每个时间点对接收介质取样的准确性和精密度进行确认。应证明取样技术可以从混合良好的接收室中，持续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引起取样误差（如，自动取样系统中样品间的相互干扰、样品残留、从混合不均一的立式扩散池采样臂中取样等）。

4.环境控制

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

5.线性和范围

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

6.精密度和重现性

可根据每个扩散池的释放速率（斜率）计算批内精密度和批间重现性。应计算并报告所有批内和批间斜率的均值、标准差和变异系数（%CV）。批内和批间的变异系数（%CV）均应小于等于 15%。批运行应便于仪器内/间和/或操作者内/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精密度和重现性试验。

7. 剂量消耗（Dose Depletion）

应计算每个扩散池接收介质中释放药物的回收率，用于考察 IVRT 研究期间接收介质中药物的总累积释放量。

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

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

通常，稳态释放动力学应假定剂量消耗低于 30%。当剂量消耗大于 30%，但能持续观察到稳态释放动力学，以释放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性关系时，可认为该试验方法可行。

8. 区分力—选择性、灵敏度和专属性（Discrimination-

Selectivity, Sensitivity and Specificity)

IVRT 方法应能区分相似处方制剂的药物释放速率。一般采用灵敏度、专属性和选择性表示 IVRT 方法的区分力，可参考国内外相关指南的要求进行研究^[2,3]。

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

IVRT 灵敏度：灵敏度是指 IVRT 方法中，释放速率随处方中药物浓度变化而发生相应变化的能力。其中，释放速率为受试制剂中药物浓度的函数。如果对参比制剂、较高规格和较低规格的受试制剂进行平行研究，相较参比制剂，较高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放速率，则认为 IVRT 方法是灵敏的。

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

性。

9.耐用性

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

在改变 IVRT 方法参数后,如果 IVRT 的平均斜率在“精密度和重现性”验证中获得平均斜率的 $\pm 15\%$ 范围内,则认为 IVRT 方法对于该参数的改变具有耐用性。

(三) 样品分析方法验证

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

当试验数据涉及到结果等效性的判定时,应满足数据完整性的要求,采用具有适当质量控制样品的多点(6~8个)校准曲线^[2],并符合 ICH M10 生物分析方法验证及样品检测等相关法规要求。

(四) IVRT 正式测定与研究^[1]

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

在 IVRT 正式研究中,应对受试制剂和参比制剂的药物释放速率进行比较。应报告每个扩散池在各时间点的累积释

放量。同时报告 IVRT 研究的相关汇总统计数据。

样品数为每批至少 6 个。参比制剂与受试制剂的 IVRT 对比研究，应在连续的扩散池上交替给药，可从交替模式的两种序列（ABABAB 或 BABABA）中随机选择。

（五）数据统计分析与等效判定^[1]

数据报告：对于每个扩散池，计算每个采样时间点（ t_1 、 t_2 等）的药物释放量（通常以 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 为单位），并将药物累积释放量与时间的平方根作图，绘制药物累积释放量与 $\sqrt{t}$ 的关系图，所得线性的斜率即药物的释放速率。

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

通过以下示例说明，其中参比制剂批次被称为参比批次（R），受试制剂批次被称为受试批次（T）。绘制从 R 中每个扩散池释放的药物量与时间的平方根的关系图，由此产生的斜率是参考斜率。对受试批次（T）重复该过程。将每个受试（T）-参比（R）配对组合，计算所有 T/R 斜率比值。用一个表来简述这个过程，其中 TS 表示受试制剂斜率，RS 为参比制剂斜率，表内为 T/R 斜率比值。

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

在计算出 T/R 斜率比值后，对 36 个 T/R 斜率比值从低至高排序。然后，将第 8 个和第 29 个斜率比值转换为百分单位（即乘以 100），分别代表 90%置信区间的下限和上限，如果二者均在 75%~133.33%范围内，则通过第一阶段测试。

如果第一阶段的测试不合格，则应该增加 4 次（2 次参比和 2 次受试，每次 6 个扩散池）测试，每个测试批次各增加 12 个斜率。对每个测试批次的所有 18 个 T/R 斜率，按照上述方式，计算得到共计 324 个 T/R 斜率比值，然后从低至高排序，如果第 110 个和第 215 个斜率比值（转换为百分单位后，分别代表 90%置信区间的下限和上限）均在 75%~133.33%范围内，则通过第二阶段测试。

三、体外透皮试验（IVPT）

（一）方法开发

在建立 IVPT 方法时，应建立皮肤模型的接受标准，并对接收介质、方法参数等进行筛选和优化。

1.设备

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

2.皮肤模型^[1,3,4]

建议采用离体人类皮肤作为 IVPT 皮肤模型。

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

可以使用不同的皮肤制备技术，制备技术和储存不应改变皮肤屏障功能。应说明皮肤厚度和制备方法。应选择来自不同供体的皮肤。受试制剂与参比制剂应在同次试验中使用相同的供体皮肤，最好来自相邻部位。研究期间，仪器应保持一致的温度控制，皮肤表面温度应稳定在 $32^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

3.皮肤屏障完整性测试

每次试验前后应检测皮肤完整性。应说明皮肤完整性试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的验收标准，在平行试验中应该是一致的并合理的。

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

皮肤屏障完整性的任一测试方法的开发或选择，都应注意：测定方法不应不可逆地改变皮肤完整性。接受标准建议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

完整性受损的皮肤切片。

4.接收介质^[4]

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

药物在接收介质中的稳定性应作为分析方法验证的一部分。药物在接收介质中的溶解度应经过三次重复检测确定，确保其超过 IVPT 正式研究中最高样品浓度，理想情况下，应大于一个数量级。药物在接收介质中的溶解度应足以用于表征更高药物递送时（如灵敏度验证时）药物渗透的最高量。

对于疏水性药物，必要时（如，为满足药物的漏槽条件），可在基于生理缓冲盐的接收介质中添加 0.1%（w/v）到 0.2%（w/v）的聚氧乙烯 20 油醚（别名 Oleth-20, Volpo-20, 或 Brij-20; CAS: 9004-98-2）以提高药物溶解度，但不应超过 6%。其他改善药物在接收介质中溶解度的策略（如，在接收介质中加入有机溶剂和乙醇等），可能会改变皮肤的渗透性，不建议使用。

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

5.方法参数^[4]

试验时间与取样点：IVPT 的试验时长和所选择的取样时

间点应足以表征药物的皮肤药代动力学 (Cutaneous Pharmacokinetics)^[4], 理想情况下应包括一个足够完整的通量曲线 (Flux Profiles)^[4], 以识别最大 (峰值) 通量和此后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曲线提供合适的分辨率, 在整个研究期间, 推荐至少采用 8 个非零取样点。

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

上样量和上样方式控制: 应根据不同剂型及药物特点选择上样方式及上样量。对于半固体制剂, 可在同一供体的重复样品上平行比较不同的剂量, 以优化 IVPT 方法。考虑因素可能包括: ①采用相同的上样方式; ②通量曲线的重现性; 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性 ($\pm 5\%$), 除另有规定外, 上样量通常在 $2\sim 15\text{mg}/\text{cm}^2$ 范围内^[1,3]。

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

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

（二）IVPT 方法学验证^[4]

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

1. 设备确证

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

2. 皮肤模型确证

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

3. 接收介质取样确证

应在每个时间点对接收介质取样的准确性和精密度进行确认。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引起取样误差（如，自动取样系统中样品间的相互干扰、样品残留、从混合不均一的立式扩散池采样臂中取样等）。

4. 环境控制

应选择适宜的样品暴露环境温湿度进行试验。在研究期

间，样品暴露环境的温湿度应尽量保持一致。建议将温度控制在 $21^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度控制在 $50\%\text{RH}\pm 20\%\text{RH}$ 之间。

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

应在整个取样时间范围内分别绘制通量曲线和累积渗透曲线 (Cumulative Permeation Profile)^[4]。应确认在试验期间 (即取样时间点范围内) 所选择的研究参数是否足以表征渗透曲线。

6. 精密度和重现性

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

应提供计算中所用数据的完整结果，以便通量和累积渗透结果的重现。研究设计应详细和清晰，将数据结果与相关供体、重复数、试验组和时间点等相关联。

7. 剂量消耗

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

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

例如，如果扩散池中皮肤上的上样量为 10mg，制剂的规格为 5%，则上样量中药物的量约为 500 μg 。如果在试验时间

为 48 小时的 IVPT 研究中，药物渗透进入接收介质的总量为 10 μ g，可以估算 500 μ g 药物的消耗量为 10 μ g，则剂量消耗为 2%。应计算和报告平均剂量消耗百分比（不考虑皮肤中药物含量）。

8. 区分力—灵敏度和选择性

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

选择性：IVPT 选择性是 IVPT 方法区分参比制剂和“与参比制剂在药物递送方面存在差异的制剂”在药物皮肤药代动力学差异的能力。在 IVPT 初期研究中，通过将参比制剂、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估，提供支持性证据，说明 IVPT 方法对药物递送的差异具有选择性。如适用，应递交 IVPT 方法开发、验证和初步研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：批处方、生产日期、批量、变更的生产工艺（如适用），以及浓度规格（Potency）和含量均匀度（如有）等。可基于渗透曲线和/或 IVPT 终点的定性/定量比较进行不等效评估。

灵敏度：IVPT 灵敏度是 IVPT 方法检测药物皮肤药代动力学变化的能力，可反映药物递送的差异。随着药物递送的增加或降低（或预期会增加和降低药物递送的其他条件），IVPT 方法能分别给出较高或较低通量分布曲线（即，较高和较低的 IVPT 终点）时，可认为 IVPT 方法具有良好的灵敏

度。可采用调整上样量、调整剂量维持时间、调整产品规格等方法^[4]，建立具有合适区分力的 IVPT 方法考察药物的递送行为。在 IVPT 灵敏度研究中，建议采用多个皮肤供体(如，4~6 个皮肤供体)，且每个试验组的每个供体至少 4 个重复的皮肤切片。

9.耐用性

当所有设备系统变量(如，温度、搅拌速率)为标准设置时，测试系统的性能一致，则认为该方法耐用性较好。耐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范围。在 IVPT 研究中应尽可能精准的控制 IVPT 研究程序。

(三) 样品分析方法验证

分析方法应有足够的灵敏度，并经过验证，确保其可以准确的测定各采样点接收介质中药物的含量^[3]。

当试验数据涉及到结果等效性的判定时，应使用具有审计追踪的色谱软件，并应包括具有适当质量控制样品的多点(6~8 个)校准曲线，同时，应符合 ICH M10 生物分析方法验证及样品检测等相关法规要求。^[4]

(四) 药物质量平衡(总回收率)与皮肤分布^[1]

通常，应研究皮肤中药物含量和接收介质中药物总累积渗透量。

根据研究目的，可能需要额外提供关于药物组织分布

（如角质层、活性表皮层和真皮层中药物的量）和总的药物质量平衡的评估。

（五）IVPT 正式测定与研究^[4]

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

1.盲法程序

应提交详细的盲法程序信息。需充分确保研究者和任何试验操作人员保持盲态。

2.随机化

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

3.上样

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

a. ABABAB...

b. BABABA...

研究设计

在 IVPT 正式研究中，应采用皮肤屏障完整性良好的皮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

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研究中，每个试验组应采用相同的皮肤供体、相同的皮肤切片重复数，并采用相同的 IVPT 方法参数。应尽可能精准的控制 IVPT 正式研究的设计、方法和扩散池设备的取样精密度。例如，对于连续的扩散池，可以错开上样时间，根据上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样时间的间隔一致。

4.IVPT 终点

IVPT 关键研究的终点是基于描述药物渗透进入并通过皮肤到达接收介质的速率和程度的参数，即采用通量 (J) 反映药物的渗透速率，采用接收介质中药物的累积总量反映药物的渗透程度。

以通量 (药物渗透速率) 为纵坐标 Y-轴，时间为横坐标 X-轴作图；其中 Y-轴用“J”标识，以质量/面积/时间 (如， $\text{ng}/\text{cm}^2/\text{h}$) 为单位。通量曲线通常类似于血浆药代动力学曲线，区别点在于通量是一个速率，而不是浓度。也应对药物的渗透程度作图，以药物累积渗透量 (单位为质量/面积，如 ng/cm^2) 为纵坐标 Y-轴，时间为横坐标 X-轴。

通量的计算应基于：每个时间点的接收介质中样品的浓度 (如， 2.0 ng/mL)；精确的、经测量的扩散池的体积 (如， 6.0 mL)，每个扩散池的体积可能不同；上样区域的面积 (如， 1 cm^2)；整个研究的持续时间。例如，如果此处所示样本代

表给药后 2 小时内的情况，则 J 值按下式进行计算：

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

应计算并报告各扩散池的所有相邻采样点之间的通量，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 0 和 2 小时之间的中间点（即，1 小时）。

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

应将受试制剂和参比制剂的最大通量（ $J_{\max}$ ，药物通量曲线的最高峰）和 AMT 进行对比。这类似于全身起效的受试制剂和参比制剂的 $C_{\max}$ 和 AUC 的比较，因为这些终点可分别用于表征各剂型（局部起效或全身起效）药物到达作用部位的速率和程度。

应计算每个 IVPT 终点的置信区间（CI）：

- a. 自然对数换算后的最大通量（ $J_{\max}$ ）
- b. 自然对数换算后的总累积渗透量（AMT）

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

在 IVPT 研究结束时，如果受试制剂和参比制剂试验组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方法进行统计分析。如果因试验所致缺失/问题，需将皮肤切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间不平衡/对称，建议采用非平衡设计的方法进行统计分析。

(六) 数据统计分析与等效判定^[4]

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

对于每个 IVPT 检验终点，如果满足以下两个条件，可证明受试制剂与参比制剂等效：

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

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

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

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

上述统计分析方法请见附录。

四、参考文献

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

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

3. EMA: Guideline on Quality and Equivalence of Locally Applied, Locally Acting Cutaneous Products. September 2024

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

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

6. 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)》(2021 年 3 月)

附录：IVPT 统计分析方法^[4]

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

定义如下:

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

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

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

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

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

n = 供体数量

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

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

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

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

步骤 1

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

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

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 个重复所得结果的自然对数转换均值。

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

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

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

步骤 2

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

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

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

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

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

$$df^* = n - 1$$

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

步骤 3.1 SABE 法

在 SABE 评估方法中, 假定:

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

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

其中:

$\mu_T - \mu_R$ = T 和 R 产品的平均值差异

σ_{WR}^2 = R 产品的供体内方差

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

(监管常数)

拒绝原假设，支持两个产品的等效性结论。

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

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

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

其中:

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

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

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

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

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

注意: $t_{(1-\alpha), df^*}$ 是自由度为 df^* 的 Student's t 分布的 $(1-\alpha)*100$ 分位数; $\chi_{(1-\alpha), (r^* - n)}^2$ 是自由度为 $(r^* - n)$ 的卡方分布的 $(1-\alpha)*100$ 分位数。

步骤 3.2 ABE 法

在 ABE 评价法中，需要检验的假设为:

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

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

式中

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

$m = 1.2500$ (BE 限度)

$\ln(m)$ 是 BE 限度的自然对数值

拒绝零假设则支持“两个药品等效”这一结论。

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

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

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

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

对于每个 IVPT 检验终点, 如果满足以下两个条件, 可证明受试制剂与参比制剂等效:

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

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

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

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