

【 评价方法学 】

非模型依赖多变量置信区间法用于药品体外溶出评价的探讨

刘 畅¹, 周学海², 缪子敬², 李 静^{3*}

1. 天津医科大学, 天津 300070

2. 天津市医药集团技术发展有限公司, 天津 300303

3. 天津金耀集团有限公司, 天津 300450

摘要: **目的** 在口服固体制剂仿制药体外溶出相似性评价研究中, 针对批内溶出量相对标准偏差(RSD)较大、无法满足相似因子(f_2)法适用条件的情况, 验证非模型依赖多变量置信区间法在溶出曲线相似性评价中的使用区别。**方法** 参考FDA和CFDA发布的《口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》, 使用两种不同的非模型依赖多变量置信区间法, 即Bootstrap统计验证方法(BS)和Mahalanobis distance多变量分析法(MD)对模拟的参比制剂与仿制制剂溶出数据相似性进行评价。**结果** 利用BS法得出仿制批与参比批的 f_2 预期值(f_2^*)=59.965, 大于50。MD法得到参比批次间多变量统计矩最大值是1.559 4, 并将其确定为相似性限度, 仿制批与参比批多变量置信区间90%上限为2.656 7, 大于相似限度。**结论** 采用BS法评价体外溶出具备相似性, 而采用MD评价方法则不具备相似性。因此, 对于同一组数据, 选用不同的评价方式可能会得出不同的结论。

关键词: 口服固体制剂一致性评价; 体外溶出; 相似性评价; 非模型依赖多变量置信区间法; 相似因子 f_2

中图分类号: R73-051

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2018)05-0816-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.05.017

Exploration on evaluation of model independent multivariate confidence region procedure used for drug dissolution *in vitro*

LIU Chang¹, ZHOU Xuehai², MIAO Zijing², LI Jing³

1. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Pharmaceutical Tech-Development CO., Ltd, Tianjin 300303, China

3. Tianjin KingYork Group CO.,Ltd, Tianjin 300450, China

Abstract: Objective In the study of evaluation of consistency for *in vitro* dissolution of oral solid dosage forms of generics, we verified the differences of non-model dependent multivariable confidence interval method for evaluating the similarity of dissolution profiles in the case of with significantly different in within-batch dissolution profile RSD which was unable to apply f_2 approach.

Method According to Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms (released by FDA and CFDA), we used two different model independent multivariate confidence region procedure, i.e. Bootstrap statistical verification method (BS) and Mahalanobis distance multivariable analysis method (MD), to evaluate the similarity of dissolution data of reference product and generic product. **Results** For BS, the f_2^* is 59.965, $f_2^* > 50$. For MD, the maximum of inter-batch multivariable statistic moment of reference product is 1.559 4, indicated that the reference product and generic product had similar quality. However, the inter-batch 90% upper limits between reference drug and generic drug was 2.656 7, which was larger than similar limit. **Conclusion** It was showed that reference product and generic product were similar when BS method was used. In contrast, MD method indicated that they were different. Therefore, different evaluation methods may result in contrary conclusions for the same data.

Key words: oral solid dosage forms consistency evaluation; dissolution *in vitro*; similarity assessment; model independent multivariate confidence region procedure; difference factor f_2

收稿日期: 2018-01-28

第一作者: 刘 畅 (1992—), 女, 天津人, 硕士研究生, 研究方向为药物制剂。E-mail: 13622193023@163.com

*通信作者: 李 静, 女, 正高级工程师, 享受国务院特殊津贴专家。E-mail: lijingsmail@163.com

近年来,仿制药一致性评价工作日益受到国内外的关注。对于口服固体剂仿制药研究工作来说,体外溶出试验十分关键。判定仿制制剂与参比制剂溶出曲线是否具有相似性,通常采用非模型依赖相似因子(f_2)法。但实际工作中,经常遇到原研制剂各取样时间点溶出量相对标准偏差(RSD)较大,不适用于 f_2 法的使用条件的问题。针对这种情况,FDA的《Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms》^[1]及CFDA的《普通口服固体剂溶出批内溶出度实验技术指导原则》^[2]均明确指出RSD大的药品,推荐采用非模型依赖多变量置信区间法进行溶出曲线比较。基于上述情况,本文使用已有报道的两种非模型依赖多变量置信区间法,即Mahalanobis distance多变量分析法(MD)^[3]和Bootstrap统计验证方法(BS)^[4],对溶出数据相似性进行评价,探讨使用不同评价方式得出不同结论

的情况。

1 材料

DDSolver 软件^[5]。

2 方法与结果

2.1 溶出相似性的评价方法

使用 excel 数据分析中的随机数发生器,设平均数为15%、40%、60%、80%、100%分别代表5、10、15、20、30 min 溶出数据的平均值,设各时间点溶出数据的RSD依次为20%、15%、10%、10%、0.01%,随机模拟生成4组累积溶出度数据,具体数据见表1~4。

采用两种不同的非模型依赖多变量置信区间法,即MD多变量分析法和BS统计验证方法评价参比制剂与仿制制剂溶出曲线的相似性,具体的操作方法使用中国药科大学张勇博士开发的DDSolver 计算软件^[5]进行数据分析。

表1 参比批次1累积溶出度

Table 1 Accumulative dissolution rate reference batch 1

时间/ min	累积溶出度/%												RSD/%	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		平均数
5	13.64	15.43	17.68	12.69	16.44	15.63	9.16	12.99	11.74	18.08	18.64	13.75	14.65	19.37
10	42.52	47.34	45.38	34.27	29.71	41.29	36.37	47.46	48.06	37.82	48.76	38.44	41.45	14.94
15	49.45	58.39	62.06	60.44	48.69	53.77	57.84	48.37	52.09	58.79	53.16	64.77	55.65	9.86
20	63.55	82.09	73.04	72.58	78.83	79.55	84.41	84.28	78.19	69.18	68.88	69.80	75.36	9.02
30	99.98	100.00	99.99	99.99	100.01	100.00	99.99	100.00	100.00	100.01	100.01	99.99	100.00	0.01

表2 参比批次2累积溶出度

Table 2 Accumulative dissolution rate reference batch 2

时间/ min	累积溶出度/%												RSD/%	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		平均数
5	11.96	18.71	20.41	17.55	14.28	13.28	17.22	15.67	25.25	15.56	17.73	19.96	17.30	20.74
10	45.32	38.50	31.65	37.31	42.93	36.36	43.08	45.00	47.37	45.94	43.85	39.79	41.43	11.37
15	48.49	60.73	80.00	66.23	52.22	47.48	59.66	62.99	69.28	48.55	49.63	65.38	59.22	17.22
20	75.40	77.19	82.31	70.31	62.57	73.89	76.25	80.87	68.67	79.14	76.75	79.52	75.24	7.52
30	100.01	100.00	100.00	99.99	99.98	100.01	100.00	99.99	100.01	100.00	99.99	99.99	100.00	0.01

表3 参比批次3累积溶出度

Table 3 Accumulative dissolution rate reference batch 3

时间/ min	累积溶出度/%												RSD/%	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		平均数
5	21.61	8.86	9.12	13.83	18.40	13.32	26.04	6.74	16.81	12.42	15.51	13.61	14.69	37.44
10	36.06	40.24	35.45	38.07	42.17	44.48	33.43	37.94	39.65	38.32	35.77	38.54	38.34	7.95
15	54.13	68.85	64.71	51.04	51.04	56.69	65.03	65.76	46.37	59.20	41.19	61.30	57.11	14.99
20	100.05	85.44	84.29	71.54	74.90	86.38	74.07	69.21	95.10	98.86	77.81	85.84	83.62	12.52
30	99.99	99.98	100.00	99.99	99.98	100.00	100.01	99.99	100.01	99.99	100.01	99.99	100.00	0.01

表4 仿制批次累积溶出度

Table 4 Accumulative dissolution rate reference generic batch

时间/ min	累积溶出度/%												RSD/%	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		平均数
5	14.94	13.81	19.28	13.86	20.97	16.34	12.99	19.00	11.28	14.16	10.89	19.71	15.60	21.85
10	39.92	40.38	42.96	46.51	29.03	45.87	37.93	46.27	34.93	48.26	39.79	43.20	41.26	13.38
15	61.24	59.11	58.88	72.22	68.30	53.99	56.20	58.93	72.78	86.72	58.34	56.75	63.62	15.04
20	83.15	86.19	98.21	85.31	88.44	85.19	69.94	90.57	75.59	78.17	84.89	87.46	84.42	8.65
30	100.00	99.99	100.01	99.99	100.02	99.99	99.99	100.00	99.99	100.00	99.99	100.01	100.00	0.01

2.1.1 Mahalanobis distance 多变量分析法 CFDA《口服固体制剂溶出度指导原则》中提到的非模型依赖多变量置信区间法,通过计算2批溶出数据的多变量统计矩来比较溶出数据的相似性,而对于多变量统计矩的计算,通常采用Mahalanobis distance多变量分析的方法。中国药科大学张勇的DDSolver^[5]软件溶出曲线比较项下的多变量置信区间法,运用了Mahalanobis distance多变量分析的计算方法得出两批溶出数据间MSD的值,并对其90%的置信区间进行运算。该方法使用DDSolver软件,输入表1~4的模拟累计溶出数据,生成每两批间的多变量统计矩(multivariate statistical distance, MSD)(表5~8),并根据CFDA《口服固体制剂溶出度试验指导原则》建议的操作步骤对DDSolver计算出的MSD数值进行比较,从而判断溶出的相似性。具体比较方法如下^[1,2]:(1)确定参比制剂溶出量的批间差异,然后以此为依据确定多变量统计矩的相似性限度;(2)确定仿制制剂和参比制剂平均溶出量的MSD;(3)确定上述步骤②中仿制制剂和参比制剂实测溶出量MSD的90%置信区间;(4)结果上述步骤(3)中置信区间上限小于或等于参比制剂的相似性限度,可认为两个批次的制剂具有似性。

关于相似性限度的确定,采用3批参比制剂累积溶出度数据,分别两两比较计算出3个MSD,选取其中MSD最大数值作为相似性限度^[6]。

2.1.2 Bootstrap 统计验证方法 Bootstrap统计验证方法又称自举法或自助法,即一种从给定训练集中有放回的均匀抽样,也就是说,每次抽取一个样本,再放回原来的训练集中,该样本被再次抽到的概率与第一次相同。通过抽取的样本计算给定的统计量,重复抽取 n 次($n \geq 5\ 000$)得到 n 个统计量,并计算 n 个统计量的方差。该方法借助自助取样的方法,通过计算 f_2 值的统计分布模拟预期值的分布,计算95%置信区间进行相似性评价。将该 f_2 预期值

(f_2^*)区间的下限与 f_2 标准值(50)进行比较,从而评价溶出数据的相似性。

采用使用中国药科大学的DDSolver^[5]软件,选择该软件溶出曲线比较项下的Bootstrap方法。输入参比批次3与仿制批次模拟累积溶出数据,并运算,结果见表9。Bootstrap 5%下限(f_2^*)与50进行比较,若 $f_2^* \geq 50$ 则判断为两溶出曲线具有相似性。

2.2 结果

按照上述方法采用excel随机数发生器生成的模拟累积溶出度,数据见表1~4。使用DDSolver软件对数据进行两种多变量置信区间法的运算,得出结论。

2.2.1 Mahalanobis distance 多变量分析法 应用DDSolver计算软件分别计算出各参比制剂批次间的MSD值,见表5~7。数据显示参比1批与2批、参比1批与3批、参比2批与3批的MSD值分别为0.833 8、1.228 5、1.559 4,故MSD的最大限度确定为1.559 4。仿制批次与参比批次3(表8)的MSD为1.161 2,90%MSD置信区间上限为2.656 7。90%MSD置信区间大于MSD最大限度值1.559 4,故应用该方法比较的结果为:仿制批次与参比批次的90%MSD上限大于参比制剂间相似性限度,参比制剂和仿制制剂数据显示体外溶出不具有相似性。

表5 参比批次1与参比批次2的MSD

Table 5 MSD between the reference batch 1 and reference batch 2

参数	数值
取样点(p)	5
缩放因子(K)	0.981 8
$F_{(p,n_1+n_2-p-1,0.9)}$ 分布	2.195 8
Hotelling's T^2 分布	4.171 6
MSD	0.833 8
MSD 90%下限	-0.661 7
MSD 90%上限	2.329 3

表6 参比批次1与参比批次3的MSD

Table 6 The MSD between the reference batch 1 and reference batch 3

参数	数值
取样点 (p)	5
缩放因子 (K)	0.981 8
$F_{(p,n_1+n_2-p-1,0.9)}$ 分布	2.195 8
Hotelling's T^2 分布	9.055 9
MSD	1.228 5
MSD 90%下限	-0.266 9
MSD 90%上限	2.724 0

表7 参比批次2与参比批次3的MSD

Table 7 The MSD between the reference batch 2 and reference batch 3

参数	数值
取样点 (p)	5
缩放因子 (K)	0.981 8
$F_{(p,n_1+n_2-p-1,0.9)}$ 分布	2.195 8
Hotelling's T^2 分布	14.589 9
MSD	1.559 4
MSD 90%下限	0.063 9
MSD 90%上限	3.054 9

表8 仿制批次与参比批次3的MSD

Table 8 The MSD between the generic batch and reference batch 3

参数	数值
取样点 (p)	5
缩放因子 (K)	0.981 8
$F_{(p,n_1+n_2-p-1,0.9)}$ 分布	2.195 8
Hotelling's T^2 分布	8.090 5
MSD	1.161 2
MSD 90%下限	-0.334 3
MSD 90%上限	2.656 7

2.2.2 Bootstrap 统计验证方法 利用表3~4数据,应用 DDSolver 计算软件计算仿制批次与参比批 f_2 与 f_2^* 分别为 73.511 和 59.965, 均大于 f_2 的标准值 50, 数据见表 9。故采用该评价方法, 仿制制剂与参比制剂体外溶出具有相似性。

4 讨论

本文分别采用 BS 统计验证方法和 MD 多变量分析法对原研制剂及仿制制剂体外溶出相似性进行了模拟评价, 所得结论因不同方法的统计计算原理以及应用标准的不同, 会有所不同。

表9 仿制批次与参比批次 BS

Table 9 BS between the generic batch and reference batch 3

参数	数值
f_2	73.511
Bootstrap 数量	5 000
Bootstrap 平均值	70.652
Bootstrap 中间值	70.324
5%下限	59.965
95%上限	82.546
5%下限是否 ≥ 50	是

BS 统计分析方法, 与 f_2 相似因子评价溶出曲线相似性的方法原理相近, 相比于 MD 法计算方法更为简单, 虽然存在对取样时间点个数有依赖性、受最终溶出量和最后一个取样点影响显著, 不适用单组溶出数据比较的缺点, 但由于 BS 方法借助了自助取样的统计方法, 对溶出数据 RSD 值没有限定的优点弥补了上述 f_2 相似因子法使用的局限性。

采用的 MD 方法考虑到各种特性之间的相关性, 和 BS 方法得到不同的结论。对于溶出数据来说, 仿制制剂与参比批之间 MSD 和 3 批参比之间 MSD 相近, 但因该方法评价标准为仿制批与参比批 MSD90%上限需小于相似性限度, 得到的结论为仿制批与参比批体外溶出不具有相似性, 故对仿制批体外溶出与原研批相似性有更高、更苛刻的要求。针对本次模拟数据, MD 方法溶出数据相似性的判断标准要比 BS 法更不易得到溶出曲线具有相似性的结论, 在 MD 法用于溶出曲线相似性比较中, 对于相似性限度的确定也至关重要, 应尽可能获得多批次参比制剂, 以便得到更多参比制剂间的 MSD 值, 使所得相似性限度更加可靠。

在进行口服固体制剂一致性评价工作中, 体外溶出作为最常用的研究手段, 评价其一致性的方法有很多, 如探索性数据分析法、单变量方差法、相似因子法、非模型依赖法、模型依赖法等, 本文通过两种不同的评价方法模拟口服仿制药体外溶出数据一致性的比较, 旨在探讨说明采用不同的评价方式可能会得出不同的结论, 因而选择适宜的溶出曲线相似性评价方法, 在仿制药一致性评价工作中也是十分重要的。

参考文献

- [1] FDA. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms [EB/OL]. (1997-08-01)[2016-10-01].

- <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm064964.htm>.
- [2] CFDA. 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则 [EB/OL]. (2015-02-05) [2016-10-01]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0087/114286.html>
- [3] Tsong Y, Hammerstrom T, Sathe P, et al. Statistical assessment of mean differences between two dissolution data sets [J]. *Drug Inform J*, 1996(30): 1105-1112.
- [4] Mendyk A, Paclawski A, Szlek J, et al. PhEq_bootstrap: Open-source software for the simulation of f_2 distribution in cases of large variability in dissolution profiles [J]. *Dissol Technol*, 2013, 20(1): 13-17.
- [5] Zhang Y, Huo M, Zhou J, et al. DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles [J]. *AAPS J*, 2010, 12 (3): 263-271.
- [6] 张海龙, 严全鸿, 朱海健, 等. 多变量置信区间法和模型依赖法在溶出曲线相似性比较中的应用 [J]. *药学进展*, 2016(12): 916-923.