

基于AQbD理念的吡罗昔康凝胶体外释放研究

张蕊^{1,2}, 于青^{2*}, 陈民辉^{2*}, 严菲²

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029

2. 江苏省食品药品监督检验研究院, 江苏 南京 210019

摘要: 目的 基于分析方法质量源于设计 (AQbD) 理念, 建立并优化吡罗昔康凝胶体外释放实验 (IVRT)。方法 建立分析目标、确定关键分析属性 [体外释放速率 (IVRR)、初始采样时间累积释放量 (Q_0)、释放度]; 基于先前的知识与经验, 从分析目标中推导出有影响的方法变量, 并利用石川图进行系统总结, 对影响的变量进行风险等级评估, 筛选出关键方法变量 (膜的种类、释放介质的种类、上样量); 对2种上样量 (150、300 mg)、3种释放介质 (0.9% NaCl 溶液、pH 5.5 的磷酸盐缓冲液和 pH 7.2 的磷酸盐缓冲液) 和3种膜 [混合纤维素膜 (MCE)、聚醚砜膜 (PES)、聚四氟乙烯膜 (PTFE)] 进行 $2 \times 3 \times 3$ 全析因实验设计, 采用扩散池法进行 IVRT, 将各时间点样品进行 HPLC 定量分析, 进一步计算 Q_0 、释放度和 IVRR。利用 JMP Pro 软件对实验结果进行建模分析, 筛选最优参数。参考美国食品药品监督管理局 (FDA)、欧洲药品管理局 (EMA) 要求对建立的 IVRT 进行膜惰性验证, 释放介质验证, 线性、精密度和重复性考察, 敏感性和特异性考察及耐用性考察。**结果** 吡罗昔康凝胶 IVRT 采用静态垂直扩散池 (扩散面积 1.767 cm^2 , 接收池体积 12 mL), 温度 32°C , 转速 $600 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 释放介质为 pH 7.2 磷酸盐缓冲液、膜为 MCE、上样量为 300 mg, 取样时间为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 h, 取样方式为全部取样。方法学验证均符合要求。**结论** 所建立的吡罗昔康凝胶 IVRT 可靠、耐用、具有区分力。

关键词: 吡罗昔康凝胶; 体外释放实验; 分析方法质量源于设计 (AQbD); 扩散池; 建模分析

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 05-1039-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.05.013

Analytical quality by design (AQbD) approach to development of *in vitro* release test for piroxicam gel

ZHANG Rui^{1,2}, YU Qing², CHEN Minhui², YAN Fei²

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210019, China

Abstract: **Objective** To adapt the analytical quality by design (AQbD) approach to develop an effective *in vitro* release test (IVRT) method for diclofenac sodium hydrogel. **Methods** Establish analysis objectives, determine key analysis attributes [*in vitro* release rate (IVRR), initial sampling time cumulative release (Q_0), release degree]. Based on previous knowledge and experience, influential method variables were derived from the analysis objectives, and a systematic summary was conducted using the Ishikawa diagram. The risk level of the affected variables was evaluated, and key method variables (membrane type, release medium type, sample loading amount) were selected. Two sample loading amounts (150, 300 mg), three release media (0.9% NaCl solution, pH 5.5 phosphate buffer, and pH 7.2 phosphate buffer), and three membranes [mixed cellulose membrane (MCE), polyethersulfone membrane (PES), and polytetrafluoroethylene membrane (PTFE)] were subjected to $2 \times 3 \times 3$ full factorial experiment design: diffusion cell method was used for IVRT, samples at each time point were analyzed quantitatively by HPLC, and Q_0 , release degree and IVRR were further calculated. Use JMP Pro software to model and analyze the experimental results, and select the optimal parameters. Refer to the requirements of FDA and EMA for membrane inertness verification, release medium verification, linearity, precision, and repeatability testing, sensitivity and specificity testing, and durability testing of the established IVRT. **Results**

收稿日期: 2022-12-11

基金项目: 2020年度药品监管科学研究计划(202022)

第一作者: 张蕊, 硕士研究生, 研究方向为药物质量控制。E-mail: 1506402399@qq.com

*共同通信作者: 于青, 主管药师, 研究方向为药物质量控制。E-mail: 279895272@qq.com

陈民辉, 主任药师, 研究方向为药物质量控制。E-mail: 18912966990@189.cn

Piroxicam gel IVRT adopted a static vertical diffusion cell (diffusion area 1.767 cm², receiving cell volume 12 mL), temperature 32 °C, rotational speed 600 r·min⁻¹, release medium pH 7.2 phosphate buffer, mixed cellulose membrane, loading amount 300 mg, sampling time 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 h, and sampling method was full sampling. The methodological validation met the requirements. **Conclusion** The IVRT method of piroxicam gel is reliable, robustness and discriminating.

Key words: piroxicam gel; *in vitro* release test; analytical quality by design (AQbD); franz cell; modeling analysis

体外释放实验(IVRT)目的是测定药物从制剂中释放的速度和程度。口服固体制剂IVRT可以建立生物药剂学分类系统(BCS)1和3类药物生物等效性,从而实现临床试验生物豁免。皮肤外用半固体制剂如软膏剂、凝胶剂、乳膏剂等的IVRT亦是评价半固体制剂性能的有效手段,其测定的体外释放速率(IVRR)受原料药溶解度、粒径、剂型流变性、处方工艺等多方面影响^[1],是制剂微观结构(Q3)的反映,是药品的关键质量属性^[2]。欧洲药品管理局(EMA)、美国食品药品监督管理局(FDA)等监管机构已发布相关文件表示IVRT可以作为生物等效性的评估工具替代临床试验^[3],因此需要科学合理开发出可靠、耐用且具有区分力的IVRT方法。目前半固体制剂体外释放方法主要有流通池法、浸没池法和扩散池法。《美国药典》对这3种方法均有收载,日本药局方收载了扩散池法,《中国药典》仅收载了流通池法且不是用来测定半固体制剂体外释放。其中扩散池因测定简便、重现性好被广泛使用。FDA发布的半固体制剂品种指南中,大部分亦推荐使用扩散池法进行IVRT研究。

分析方法质量源于设计(AQbD)是质量源于设计(QbD)理念的延伸^[4],其理念是通过设计而获得稳健且经济效益高的分析方法,目前已在高效液相色谱(HPLC)、超高性能液相色谱或快速分辨液相色谱等色谱方法开发中取得成功^[5-6],该理念同样可以应用到IVRT方法的开发。

吡罗昔康作为非甾体抗炎药,具有解热、镇痛、抗炎作用。吡罗昔康对胃肠道有较大刺激性,而吡罗昔康凝胶经皮给药,可规避口服制剂引起的一系列胃肠道不良反应,具有局部药物吸收好、释药快等优点,临床主要用来缓解局部疼痛^[7]。目前尚无关于吡罗昔康凝胶体外释放研究的相关报道。因此,本研究以国内外半固体制剂、透皮制剂指导原则为依据^[8-10],应用AQbD理念按以下步骤利用扩散池建立吡罗昔康凝胶体外释放方法:建立分析目标、确定关键分析属性(CAA)、进行风险评估、识别关键方法变量(CMV)、实验设计、建模分析、方法验证。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

吡罗昔康凝胶(黑龙江天辰药业有限公司,批号20220502,规格每支20 g);吡罗昔康对照品(中国食品药品检定研究院,批号100177-201704,质量分数99.5%);磷酸二氢钾、氢氧化钠、磷酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,Merck公司);混合纤维素膜(MCE)、聚醚砜膜(PES)、聚四氟乙烯膜(PTFE)(0.45 μm,天津市津腾实验设备有限公司)。

1.2 主要仪器

岛津高效液相色谱仪(配备DGL-403在线脱气机、LC-40D二元泵、SIL-40C自动进样器、CTO-40S柱温箱、SPD-M40 PDA紫外检测器),色谱柱为Waters SunFire C₁₈(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm);SYSYTEM 918-12干加热自动透皮系统(Logan Instruments Corp.);CPX8800H-C超声波清洗仪(美国Emerson公司);XA205十万分之一天平(梅特勒托利多公司);Milli-QIQ7000纯水仪(MILLIPORE公司);JMP Pro16.0软件。

2 方法与结果

2.1 建立分析目标和确定CAA

分析目标即分析方法要达到的目标,是分析方法建立的基础,只有确定了分析目标,才能建立有效、耐用、风险可控的分析方法。CAA来源于分析目标,是分析方法质量优劣的表征^[11],表1、2列出了本实验的分析目标和CAA。

表1 吡罗昔康凝胶IVRT方法的分析目标

Table 1 Analytical target profile of piroxicam topical gel IVRT method

分析目标元素	目标
样品	吡罗昔康凝胶
活性物质	吡罗昔康
样品规格	10 g:50 mg
分析装置	扩散池
IVRT CAA	释放速度快、释放度大,准确具有可重复性
样本分析方法	该方法可以准确地测定IVRT样品中吡罗昔康的浓度

表2 吡罗昔康凝胶 IVRT 的 CAA
Table 2 CAA of piroxicam topical gel

CAA	目标
IVRR	最大化
初始采样时间累积释放量(Q_0)	最大化
释放度	在6 h内释放度大于70% ^[11] 的基础上,尽量高
HPLC 分析方法	理论塔板数 $\geq 3\ 000$,分离度大于1.5,精密度高,重复性好

2.2 风险评估

基于先前的知识与经验,从分析目标中推导出有影响的方法变量,并利用石川图进行系统总结。对影响的变量进行风险等级评估,筛选出CMV。影响因素石川图见图1,风险等级评估见表3,上样量、释放介质类型、膜的类型是CMV。

2.3 实验设计

使用 JMP 软件对筛选出的 CMV 进行实验设计,包括2种上样量(150、300 mg)、3种释放介质(0.9% NaCl溶液、pH 5.5的磷酸盐缓冲液和pH 7.2的磷酸盐缓冲液)和3种膜(MCE、PES、PTFE),实验设计结果见表4。

2.4 IVRT 实验

IVRT采用静态垂直扩散池(扩散面积1.767 cm²,接收池体积12 mL),温度32℃,转速600 r·min⁻¹,取样模式采用全部取样,取样时间为30 min及1、2、3、4、5、6 h。

将IVRT实验中各时间点样品进行HPLC定量分析,具体方法见“2.5”项,进一步计算 Q_0 、释放度和

IVRR(表4)。凝胶释放符合Hugichir方程,即单位面积累积释放量(Q)与时间的平方根($\sqrt{t}$)成正比,IVRR为 Q 和 $\sqrt{t}$ 的斜率。

$$Q = V/A \times \sum_{i=1}^n C_i$$

V 为释放介质体积, A 为释放面积, C_i 为取样时间为 i 时样品浓度,将 $i=30\text{ min}$ 代入上述公式即为 Q_0 。

$$\text{释放度} = Q/(A \times \text{上样量} \times 0.5\%)$$

2.5 吡罗昔康分析方法及验证

2.5.1 色谱条件 Waters Sunfire C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm);流动相0.1%磷酸-乙腈(65:35);检测波长352 nm;进样量10 μL;柱温30℃;体积流量1 mL·min⁻¹。

2.5.2 溶液配制 稀释剂:pH 7.2磷酸盐缓冲液;对照品储备液:精密称取10 mg吡罗昔康对照品至10 mL量瓶中,用甲醇稀释并定容;对照品溶液:将对照品储备液稀释至30 μg·mL⁻¹。供试品溶液为IVRT实验的样品。

2.5.3 专属性考察 精密量取对照品溶液、释放1 h

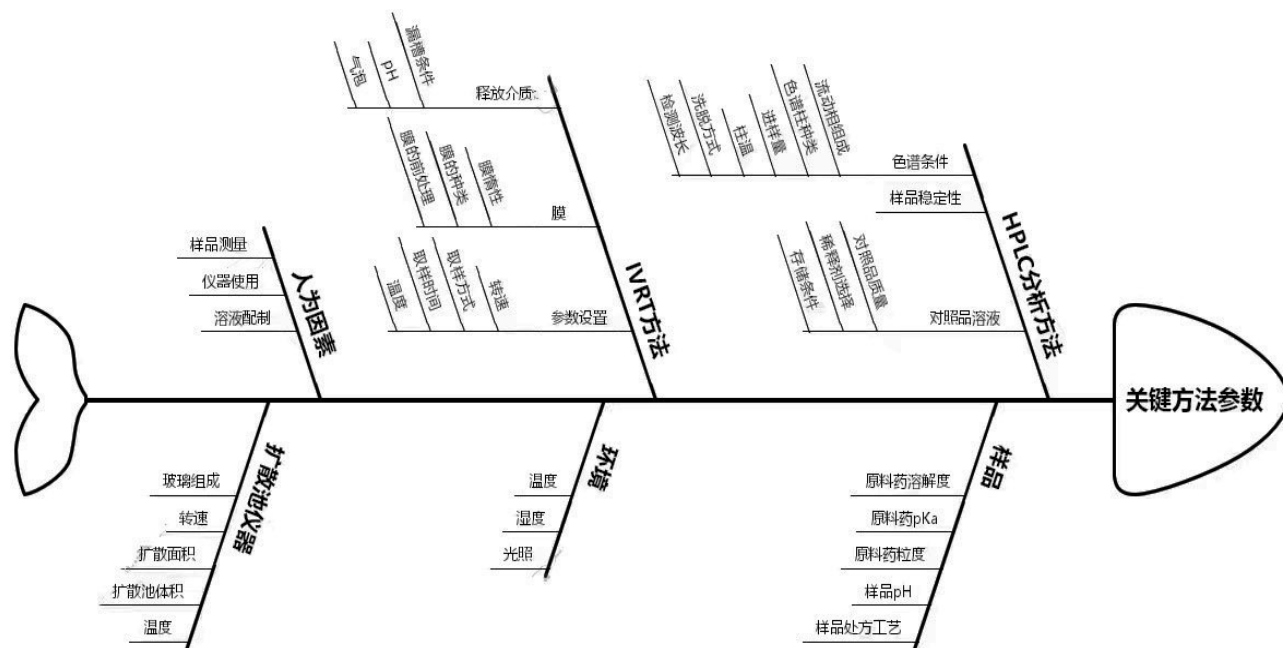


图1 对IVRT方法属性有影响的参数石川图

Fig. 1 Ishikawa diagram illustrating method parameters that may have an impact on method attributes

表3 IVRT方法优化初始风险评估

Table 3 Initial risk assessment for IVRT method optimization

CMV	风险			判断依据
	IVRR	Q_0	释放度	
人为因素	上样技术	低	低	样品需要均匀放在膜上,不含有气泡,才能得到可靠的释放结果 ^[12] ,可以通过使用刮刀来达到
	样品放置	低	低	样品放置需要在扩散面积平铺,不能横向扩样品散 ^[13] ,可以通过使用橡胶圈固定避免发生横向扩散
	介质配制	中	中	介质配制和实验过程中会产生气泡,气泡会聚集在膜和介质之间的界面上,减少了药物释放的表面积,产生误差,RSD增加 ^[14] ,因此,该因素风险等级定义为中级
仪器	扩散面积	中	中	扩散面积会影响实验过程中药物累积释放量
	温度	低	低	膜表面温度应控制在(32±1)℃为宜,小的温度变化(±2℃)不应该对实验造成较大影响才满足IVRT方法的耐用性 ^[15]
	转速	低	低	FDA指导原则推荐使用600 r·min ⁻¹ 转速,且关于IVRT方法耐用性建议考察转速变化,已有研究表明转速对IVRT无明显影响
IVRT方法	膜的种类	高	高	膜在实验过程中仅起到支撑作用,应与药品和所选受体液相容,既不应限制药物的释放,也不应与药物结合,也不应对分析产生干扰。不同的膜对不同的药物扩散有不同的影响 ^[16]
	膜的前处理时间	低	低	膜在进行IVRT实验前应用释放介质进行浸泡达到饱和,浸泡时间对实验无影响,通常浸泡30 min ^[17]
	介质的pH值	高	高	释放介质的pH值影响药物的溶解度,释放介质pH值的选择应接近皮肤表面状态,使IVRT能具有体内预测性
	漏槽条件	高	高	为保证药物释放不受溶解度的限制,释放介质需要满足漏槽条件,药物在释放介质中的溶解度比在最后时间点所取样品中的浓度高5~10倍 ^[18]

表4 2×3×3全析因实验设计

Table 4 Experimental design matrix according to a 2×3×3 full factorial design

编号	上样量/mg	释放介质	膜的种类	$Q_0/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$	释放度/%	IVRR/ $(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2})$
1	150	0.9% NaCl	MCE	273.65	78.77	407.08
2	150	0.9% NaCl	PES	386.72	79.12	378.08
3	150	0.9% NaCl	PTFE	244.79	77.36	450.38
4	150	pH 5.5 PBS	MCE	356.55	77.79	395.99
5	150	pH 5.5 PBS	PES	251.86	80.08	397.08
6	150	pH 5.5 PBS	PTFE	359.99	79.91	357.18
7	150	pH 7.2 PBS	MCE	340.85	80.31	486.17
8	150	pH 7.2 PBS	PES	417.84	79.80	465.02
9	150	pH 7.2 PBS	PTFE	360.51	83.90	489.74
10	300	0.9% NaCl	MCE	384.72	74.71	488.06
11	300	0.9% NaCl	PES	213.94	81.19	344.57
12	300	0.9% NaCl	PTFE	333.76	73.01	343.69
13	300	pH 5.5 PBS	MCE	308.62	78.99	451.76
14	300	pH 5.5 PBS	PES	429.63	83.51	523.73
15	300	pH 5.5 PBS	PTFE	337.40	72.34	487.06
16	300	pH 7.2 PBS	MCE	405.05	74.40	518.63
17	300	pH 7.2 PBS	PES	243.91	79.16	375.64
18	300	pH 7.2 PBS	PTFE	410.37	86.71	356.32

样品溶液、释放介质溶液进样测定,记录色谱图,见图2。结果表明,在该色谱条件下,理论板数为13 205,目标峰与相邻峰能达到基线分离,分离度大

于1.5,本方法满足检测的需要。

2.5.4 进样精密度考察 取对照品溶液,连续进样6次,吡罗昔康峰的保留时间和峰面积的RSD均小

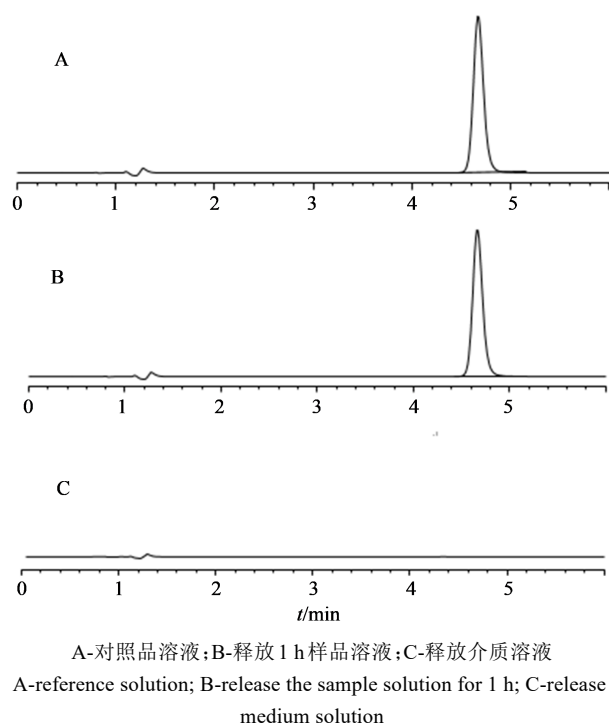


图2 HPLC分析方法的专属性色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram for special test

于2%,表明仪器精密度良好。

2.5.5 线性关系考察 取对照品储备液适量,用稀释剂定量稀释制成质量浓度分别为1、5、10、20、30、40、50、60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列对照品溶液。取上述系列对照品溶液适量,按“2.5.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=31\,290x-4\,394.1$ ($r=0.999\,7$)。结果表明,吡罗昔康质量浓度与峰面积在1~60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.5.6 检测限和定量限考察 取对照品溶液适量,倍比稀释,注入液相色谱仪,按信噪比10:1确定定量限,信噪比为3:1确定检测限。经计算,吡罗昔康定量限为0.10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,检测限为0.03 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.5.7 稳定性考察 取样品溶液,分别在0、4、8、24 h测定。吡罗昔康峰面积RSD均小于2.0%,说明溶液稳定性良好。

2.5.8 回收率考察 精密量取0.5 h取样时间样品1 mL置10 mL量瓶中,加入定量对照品储备液0.1、0.3、0.5 mL,制成低、中、高3个质量浓度加标供试品溶液,平行制备3份。取上述系列待测溶液适量,按色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率。回收率为98.98%~101.88%,RSD均小于1.6%。

2.5.9 重复性考察 称取样品600 mg,置于10 mL量瓶,加稀释剂定容,平行配制6份,分别进样,计算

含量。样品含量的RSD为0.4%,表明该方法重复性良好。

2.6 建模及方法优化

通过建模的方式评价CMV对CAA的影响及协同影响。利用JMP Pro软件对实验结果(表4)进行建模分析,进行实验设计和多项式模型求解,对所建模型进行统计学检验。模型预测表达式见图3,表达式中的系数表明了CMV对CVA的影响程度,系数越大影响越大,系数为正表明有积极影响,系数为负,表明有消极影响。 t 检验、方差分析表明所建模型合理,见图4。

为使IVRT响应最大化,采用意愿函数对CMV进行优化,意愿函数越接近1,响应值越接近目标值。使用JMP Pro进行预测值刻画,意愿函数最大为0.83,见图5,此时CMV为上样量为300 mg、释放介质为pH 7.2的PBS、膜为MCE,该参数为最优参数。

2.7 IVRT方法学验证

2.7.1 膜惰性验证 将MCE置于30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液中,(32±1)°C、600 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 孵育6 h,重复3次,测定对照品溶液质量浓度前后变化,计算回收率。

2.7.2 释放介质验证 释放介质需要满足漏槽条件,测定pH 7.2磷酸盐缓冲液中吡罗昔康饱和溶解度。

2.7.3 线性、精密度和重复性考察 连续3 d进行3组IVRT实验,每组6个, Q 与 $\sqrt{t}$ 成线性,计算IVRR以表征IVRT方法的精密度和重现性。

2.7.4 敏感性和特异性 以市售吡罗昔康凝胶为原料,制备质量分数0.25%、0.375%的吡罗昔康凝胶,进行IVRR测定,评估IVRT方法的敏感性和特异性。

2.7.5 耐用性考察 IVRT温度为(32±2)°C,转速为(600±50) $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,考察方法的耐用性。

IVRT方法学验证可接受标准及结果见表5。

3 讨论

3.1 CMV选择

吡罗昔康凝胶属于无限剂量样品,上样量选择150、300 mg;0.9%氯化钠水溶液比较接近人体皮肤生理状态,人体皮肤表面呈弱酸性^[19],因此选择0.9%氯化钠溶液、pH 5.5磷酸盐缓冲液和pH 7.2磷酸盐缓冲液作为释放介质。不同膜结构性能不同,选择具有亲水性的MCE、PES和具有疏水性的PTFE。

$$\begin{aligned}
 \text{IVRR} &= 336.67 + 50.50 \times \frac{\text{剂量} - 225}{75} + \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} = -24.41 \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} = 5.26 \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} = 19.15 \end{array} \right. + \text{膜} \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 22.88 \\ \text{PES} = 11.49 \\ \text{PTFE} = -34.37 \end{array} \right. + \left(\frac{\text{剂量} - 225}{75} \right) \times \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} = 4.99 \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} = -13.67 \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} = 8.68 \end{array} \right. \\
 &\quad \left(\frac{\text{剂量} - 225}{75} \right) \times \text{膜} \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 1.34 \\ \text{PES} = -16.57 \\ \text{PTFE} = 15.23 \end{array} \right. + \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = -4.95 \\ \text{PES} = -23.08 \\ \text{PTFE} = 28.03 \end{array} \right. \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 14.53 \\ \text{PES} = 19.18 \\ \text{PTFE} = -33.71 \end{array} \right. \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = -9.58 \\ \text{PES} = 3.89 \\ \text{PTFE} = 5.68 \end{array} \right. \end{array} \right. \\
 Q_0 &= 428.68 + -3.49 \times \frac{\text{剂量} - 225}{75} + \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} = -31.04 \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} = 7.53 \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} = 23.51 \end{array} \right. + \text{膜} \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 23.30 \\ \text{PES} = 42.97 \\ \text{PTFE} = -66.26 \end{array} \right. + \left(\frac{\text{剂量} - 225}{75} \right) \times \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} = -17.06 \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} = -0.46 \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} = 17.52 \end{array} \right. \times \\
 &\quad \text{膜} \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 7.12 \\ \text{PES} = -0.60 \\ \text{PTFE} = -6.53 \end{array} \right. + \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = -28.36 \\ \text{PES} = -17.41 \\ \text{PTFE} = 45.76 \end{array} \right. \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 16.09 \\ \text{PES} = 9.72 \\ \text{PTFE} = -25.82 \end{array} \right. \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 12.25 \\ \text{PES} = 7.68 \\ \text{PTFE} = -25.82 \end{array} \right. \end{array} \right. \\
 \text{释放度} &= 78.95 + -0.18 \times \frac{\text{剂量} - 225}{75} + \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} = -0.11 \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} = -0.12 \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} = 0.23 \end{array} \right. + \text{膜} \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 1.14 \\ \text{PES} = -2.20 \\ \text{PTFE} = 1.06 \end{array} \right. + \left(\frac{\text{剂量} - 225}{75} \right) \times \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} = 0.28 \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} = -2.81 \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} = 2.53 \end{array} \right. \times \\
 &\quad \text{膜} \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 0.90 \\ \text{PES} = 0.94 \\ \text{PTFE} = 0.04 \end{array} \right. + \text{介质} \left\{ \begin{array}{l} 0.9\% \text{ NaCl} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = -1.02 \\ \text{PES} = 0.93 \\ \text{PTFE} = 0.09 \end{array} \right. \\ \text{pH } 5.5 \text{ PBS} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 0.10 \\ \text{PES} = 2.68 \\ \text{PTFE} = -2.78 \end{array} \right. \\ \text{pH } 7.2 \text{ PBS} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{MCE} = 0.92 \\ \text{PES} = -3.61 \\ \text{PTFE} = 2.69 \end{array} \right. \end{array} \right.
 \end{aligned}$$

图3 IVRR、 Q_0 和释放度的模型表达式

Fig. 3 Coefficient values of IVRR, Q_0 , and release

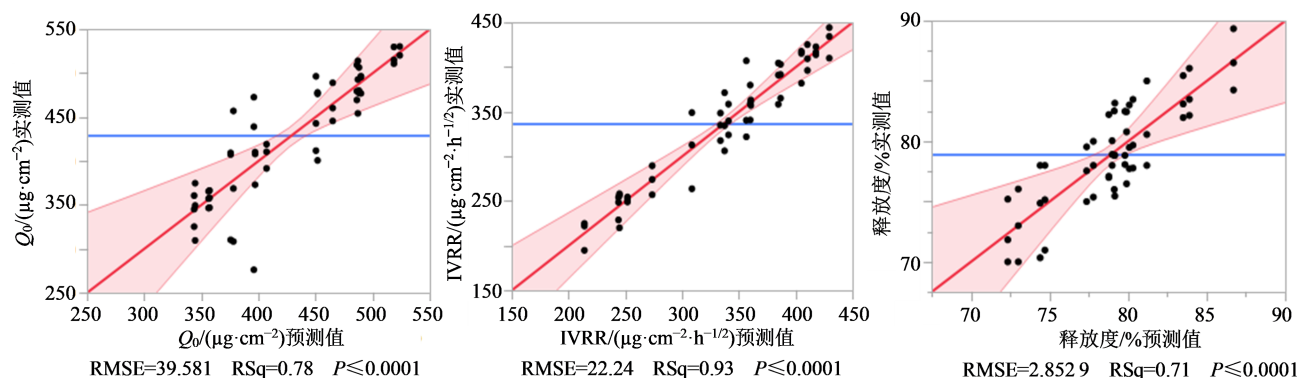


图4 CAA预测图

Fig. 4 CAA prediction chart

3.2 CAA分析

通过绘制 Q 与 $\sqrt{t}$ 的关系得到的回归线的斜率, 即 IVRR。IVRR 是 IVRT 的 CAA, 也是评价半固体制剂质量一致性的重要工具之一^[20]。建模结果表

明 CMV 中上样量对 IVRR 的影响最大, 其次是膜和释放介质, 膜与上样量、介质的交互影响作用显著, 其余交互影响作用不显著。 Q_0 为 30 min 时累积释放量, 旨在排除剂量倾倒的可能性^[21], 建模结果表

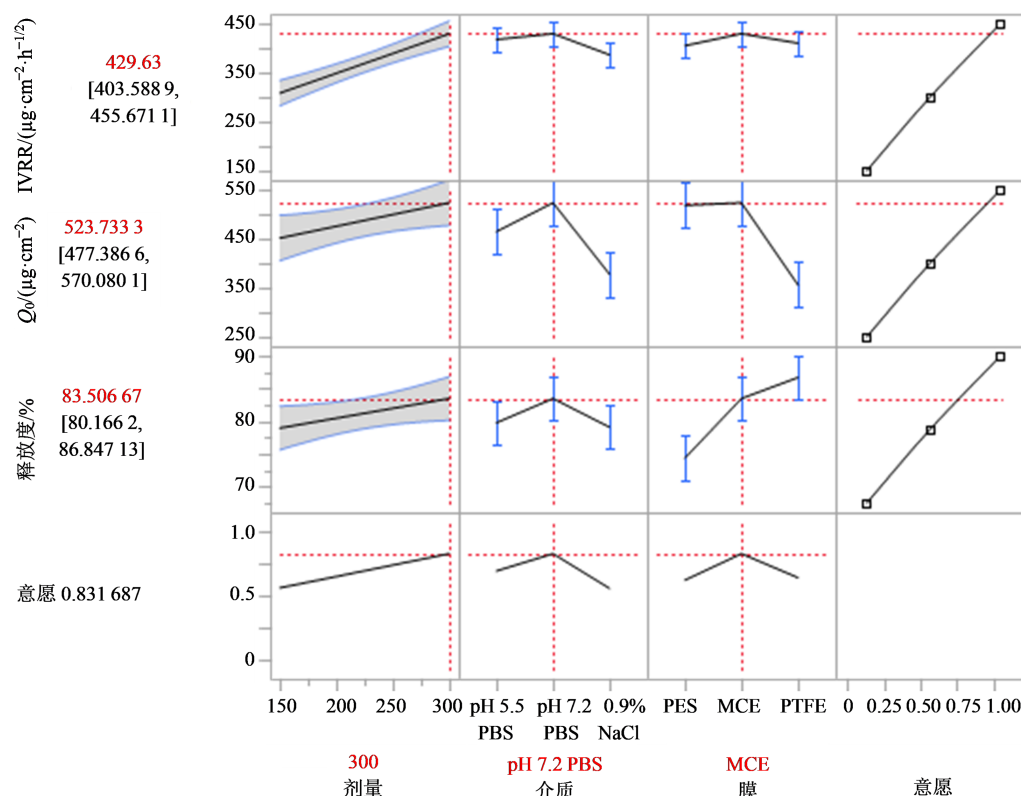


图5 吡罗昔康凝胶IVRT意愿函数最大图

Fig. 5 Maximum desirability for IVRT for piroxicam gel

表5 IVRT方法学验证结果

Table 5 Result of IVRT method validation

验证项目	可接受标准	结果
膜惰性	回收率 $\geq 95\%$	97.2%
释放介质验证	溶解度 $> 5.35 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$587 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
精密度和重复性	$\text{RSD} \leq 10\%$	日内精密 $\text{RSD} = 1.02\% (n=6)$ 日间精密 $\text{RSD} = 3.23\% (n=6)$
线性	$r \geq 0.90$	$R^2 = 0.998$
敏感性、特异性	3种不同规格制剂IVRR随浓度升高而升高,且呈线性, $r \geq 0.90$	0.25%吡罗昔康凝胶 $\text{IVRR} = 213.44 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 9.18\% (n=3)$ 0.375%吡罗昔康凝胶 $\text{IVRR} = 326.48 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 8.16\% (n=3)$ 0.5%吡罗昔康凝胶 $\text{IVRR} = 437.71 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 1.02\% (n=3)$ $R^2 = 1$
耐用性	$\text{RSD} \leq 15\%$ $372.05 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2} < \text{IVRR} < 503.36 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$	30 °C $\text{IVRR} = 448.35 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 0.69\% (n=3)$ 34 °C $\text{IVRR} = 441.91 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 4.07\% (n=3)$ 550 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ $\text{IVRR} = 430.27 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 1.35\% (n=3)$ 550 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ $\text{IVRR} = 408.66 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 、 $\text{RSD} = 5.77\% (n=3)$

明CMV中膜、释放介质和膜与释放介质的交互影响具有显著性。释放度旨在评价释放过程中质量守恒,表达式中释放度的各项系数相对较小,表明该CAA受影响较小。

本研究以AQbD理念作为IVRT方法开发的框架,从定义分析目标入手,确定CMA后,将IVRT的影响因素进行全面剖析,并进行风险评估,确定CMV,采用 $2 \times 3 \times 3$ 全因子设计实验,评估上样量、

膜的种类和释放介质对CAA(IVRR、 Q_0 和释放度)的影响。对这些影响进行建模并通过 t 检验和方差分析验证所建模型。利用所建模型的预测功能,得到IVRT释放最大化的参数MCE、pH 7.2磷酸盐缓冲液和300 mg的上样量。根据欧洲和美国监管机构的最新指南,对优化后的IVRT条件进行了膜惰性、线性、精度、耐用性性和区分力指标的评估,同时对HPLC法进行了验证,证明该方法可靠、耐用具有区分力。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 世界中医药学会联合会经皮给药专业委员会. 皮肤和黏膜用半固体制剂体外释放试验技术规范专家共识[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(20): 2707-2716.
The Transdermal Drug Delivery Committee of the World Federation of Chinese Medicine Societies. Expert consensus on technical practice for the *in vitro* release test of topical semisolid dosage forms for skin and mucous membrane preparations [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(20): 2707-2716.
- [2] Tiffner K I, Kanfer I, Augustin T, et al. Comparative *in vitro* release testing (IVRT) of acyclovir products [J]. Int J Pharm, 2021, 609: 121186.
- [3] 邵鹏, 郑金琪, 潘芳芳, 等. 外用半固体制剂的体外释放试验和等效性评价 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(20): 2481-2487.
Shao P, Zheng J Q, Pang F F, et al. *In vitro* release tests and equivalence evaluation for topical semisolid dosage forms [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38(20): 2481-2487.
- [4] 李姿锐, 王一婷, 兰帆, 等. 基于质量源于设计(QbD)理念的黄芪甲苷PLGA纳米粒制备工艺研究 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4678-4686.
Li Z R, Wang Y T, Lan F, et al. Study on preparation process of astragaloside IV PLGA nanoparticles based on quality by design (QbD) [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(15): 4678-4686
- [5] Muchakayala S K, Katari N K, Saripella K K, et al. AQbD based green UPLC method to determine mycophenolate mofetil impurities and identification of degradation products by QToF LCMS [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 19138.
- [6] 伊博文, 张芹, 江晓泉, 等. 基于AQbD的培植牛黄中18种氨基酸含量测定方法的建立与优化 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(7): 927-933.
Yi B W, Zhang Q, Jiang X Q, et al. Establishment and optimization of simultaneous determination of 18 kinds of amino acids in cultured bezoar based on AQbD [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(7): 927-933.
- [7] Benson H A E, Grice J E, Mohammed Y, et al. Topical and transdermal drug delivery: From simple potions to smart technologies [J]. Curr Drug Deliv, 2019, 16(5): 444-460.
- [8] 国家食品药品监督管理总局. 皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则(试行) [S]. 2021.
State Food and Drug Administration. Guidelines for the Research Technology of Chemical Genetics for Skin External Use (Trial) [S]. 2021.
- [9] 国家食品药品监督管理总局. 新注册分类的皮肤外用仿制药的技术评价要求(试行) [S]. 2020.
State Food and Drug Administration. Technical evaluation Requirements for Newly Registered Skin Topical Generic Drugs (Trial) [S]. 2020.
- [10] EMA, CHMP, QWP. Draft Guideline on Quality and Equivalence of Topical Products [S]. 2018.
- [11] Barnett K, McGregor P L, Martin G P, et al. Analytical target profile: Structure and application throughout the analytical lifecycle [J]. In Pharmacopeial Forum, 2016, 42(5). <https://www.researchgate.net/publication/308467600>.
- [12] FDA. Guidance for Industry: Nonsterile Semisolid Dosage Forms; Food and Drug Administration [S]. 1997.
- [13] Walters K, Watkinson A, Brain K. Methods for Studying Percutaneous Absorption [S]. 2002.
- [14] Naik P, Shah S, Heaney J, et al. Influence of test parameters on release rate of hydrocortisone from cream: Study using vertical diffusion cell [J]. Dissolution Technol, 2016, 23(3): 14-20.
- [15] Klein R R, Heckart J L, Thakker K D. *In vitro* release testing methodology and variability with the vertical diffusion cell (VDC) [J]. Dissolution Technol, 2018, 25(3): 52-61.
- [16] Katrin I T, Isadore K, Thomas A, et al. A comprehensive approach to qualify and validate the essential parameters of an *in vitro* release test (IVRT) method for acyclovir cream, 5% [J]. Int J Pharm, 2018, 535(1/2): 217-227.
- [17] Ng S F, Rouse J J, Sanderson F D, et al. The relevance of polymeric synthetic membranes in topical formulation assessment and drug diffusion study [J]. Arch Pharm Res, 2012, 35(4): 579-593.
- [18] Dominik, Selzer, . Finite and infinite dosing: Difficulties in measurements, evaluations and predictions [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2013, 65(2): 278-294.
- [19] FDA. Draft Guidance on Acyclovir [S]. 2019.
- [20] 蔺茂强, 辛淑君, Peter M Elias. 皮肤表面pH值及其临床意义 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2007, 21(8): 503-505.
Man M Q, Xin S J, Elias P. Skin surface pH and its clinical implication [J]. Chin J Dermatovenereol, 2007, 21(8): 503-505.
- [21] EMA. CHMP: Draft guideline on quality and equivalence of topical products [S]. 2018.
- [22] EMA. Guideline on quality of transdermal patches [S]. 2014.

[责任编辑 兰新新]