

基于生物等效性分析呋塞米片体内外试验的相关性

耿东升¹, 丁利², 张藤曦¹ (1.新疆军区药品仪器检验所, 乌鲁木齐 830063; 2.乌鲁木齐市友谊医院, 乌鲁木齐 830049)

摘要: 目的 开展体内外相关性试验以探讨国内生产的呋塞米片的药物溶出度试验是否可以替代生物等效性试验。方法 选择呋塞米片受试与对照制剂, 按照中国药典要求和光纤药物溶出度实时测定仪测试方法, 监测呋塞米累积溶出百分率并计算 f_2 相似因子, 测定2种制剂的体内血药浓度并计算药动学参数, 测算其体内吸收分数、生物利用度和生物等效性, 分析呋塞米片体内外试验的相关性。结果 经 f_2 相似因子方法评估, 受试与对照制剂的呋塞米溶出曲线相似, 2种制剂的主要药动学参数 $t_{\max}$ 、 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-24} 和 $AUC_{0-\infty}$ 、生物利用度和生物等效性均差异明显, 其体内百分吸收系数和体内外试验的相关性较差。结论 国内生产的呋塞米片的药物溶出度试验尚不能替代生物等效性试验。

关键词: 呋塞米片; 药物溶出度; 生物等效性; 体内外相关性

中图分类号: R944.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)09-1256-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.09.009

引用本文: 耿东升, 丁利, 张藤曦. 基于生物等效性分析呋塞米片体内外试验的相关性[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(9): 1256-1261.

Analysis of *in Vitro-in Vivo* Correlation of Furosemide Tablets Based on Bioequivalency

GENG Dongsheng¹, DING Li², ZHANG Tengxi¹ (1. Institute for Drug and Instrument of Xinjiang Military Region, Urumqi 830063, China; 2. Youyi Hospital of the District of Urumqi, Urumqi 830049, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To do the test of *in vitro-in vivo* correlation (IVIVC) for discussing whether or not drug dissolution test of furosemide tablets produced in the domestic could be replaced by bioequivalency (BE). **METHODS** The tested and control preparations of furosemide were selected. According to methods of requirements of the Chinese Pharmacopoeia 2015 and monitoring of fiber-optic in site dissolution testing equipment, the percent of accumulation furosemide dissolution were monitored and similar factor f_2 were calculated. The blood drug concentration of tested and control dosage forms *in vivo* were determined and the pharmacokinetic parameters were counted. The percent of absorption, bioavailability (BA) and BE were measured. IVIVC of furosemide tablets was analyzed. **RESULTS** Two furosemide dissolution curves of tested and control preparations were similar by the way of similar factor f_2 evaluation. The differences of main pharmacokinetic parameters such as $t_{\max}$, $C_{\max}$, AUC_{0-24} and $AUC_{0-\infty}$, BA and BE between two preparations were significant. The discrepancy of the percent of absorption *in vivo* and IVIVC of furosemide tablets were not significant. **CONCLUSION** The BE of furosemide tablets produced in the domestic can't be replaced by the drug dissolution test at present.

KEY WORDS: Furosemide tablet; drug dissolution; bioequivalence; *in vitro-in vivo* correlation

生物等效性 (bioequivalency, BE) 是仿制药 (abbreviated new drug application, ANDA) 质量控制的最终鉴定标准, 某些 ANDA 的质量可以用药物溶出度替代一致性评价, 但是, 基础是体内外试验须有相关性。对于溶解度较低的常用利尿剂呋塞米片, WHO 将其列入 BCS 分类系统中的 IV 类^[1], 有的研究基于化合物疏水常数即 $CLogP$ 值将其分为 II 类, 或基于油水分配系数即 $LogP$ 值将其分为 IV 类^[2]。而对于 BCS II 类的弱酸性药品, 且符合一定的溶解度要求, WHO 建议可以溶出度替代 BE 即生物豁免。《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》提出, BCS II 类药品, 溶出

是药物吸收的限速步骤, 有可能建立较好的体内外相关性 (*in vitro-in vivo* correlation, IVIVC)^[3]。对此, 本实验就国内呋塞米片的药物溶出度与 BE 的相关性进行研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器

FODT-601 光纤药物溶出度实时测定仪 (富科思生物技术有限公司); ZKT-18 型真空脱气仪 (天大天发科技有限公司); CPA224S 型电子天平 ($d=0.1$ mg)、ME.225S 型电子天平 ($d=0.01$ mg) 均购自 Sartorius 公司; Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); UV-2450 型紫外分光光度仪

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2013211A119)

作者简介: 耿东升, 男, 硕士, 硕导, 主任药师 Tel: (0991)4975278 E-mail: dongsheng811@sina.com

(日本岛津公司); PHS-SB 型精密酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司); TCL-16C 型低温离心机(湖南星科科学仪器有限公司); AKHL-III-16 型艾柯超纯水仪(成都康宁实验专用纯水设备厂); YKH-Z 型涡旋混合器(江西医疗器械厂)。

1.2 试药

呋塞米对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100281-201204, 纯度: 100.0%); 呋塞米对照制剂(上海朝晖药业有限公司, 批号: 12111398, 规格: 每片 20 mg); 呋塞米受试制剂(江苏亚邦药业集团, 批号: 1207067, 规格: 每片 20 mg)。

实验用水为超纯水(电导率 $<10\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$); 氢氧化钠(批号: 20131006)、磷酸二氢钠(批号: 20121028, 20121102, 均为分析纯)、磷酸(批号: 20130602)均购自天津市致远化学试剂有限公司; 乙腈[色谱纯, 赛歌飞世尔科技(中国)有限公司, 批号: A998-4];。

1.3 动物

健康 SD 大鼠, 体质量 180~220 g, ♀♂各半, 均由新疆医科大学动物实验中心提供, 实验动物许可证号: SCXK(新)2011-0004。

2 方法与结果

2.1 实时测定药物溶出度

2.1.1 溶液的制备 溶出介质按中国药典 2015 年版^[4] II 部项下规定, 配制呋塞米片溶出介质: pH 5.8 磷酸盐缓冲液。

对照品溶液: 精密称定对照品呋塞米 31.95 mg, 置 200 mL 量瓶中, 用溶出介质溶解并定容, 即得浓度为呋塞米 $0.159\ 7\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品贮备液。

2.1.2 方法学验证 ①仪器条件: 检测采用 FODT-601 仪; 取 $23.955\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液(即取对照品贮备液 15 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加溶出介质定容), 预先在 UV-2450 紫外可见分光光度计上扫描, 确定呋塞米的检测波长为: 277 nm, 消除辅料干扰的参比波长为 550 nm; 传感探头的光程同为 3 mm。

②线性关系: 精密移取对照品贮备液 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 mL, 至 100 mL 量瓶, 用溶出介质稀释至刻度, 摇匀, 其系列浓度为呋塞米 4.791, 7.985, 11.179, 14.373, 17.567, 20.761 和 $23.955\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。分别加入 1~6 号 10 mL 测定标准曲线用烧杯中, 固定测定波长和参比波长, 规定适

宜的时间间隔, 将光纤探头浸入线性考察用对照品溶液中, 扫描系列标准溶液, 得到 6 个通道的药物浓度(折算成相对药物溶出百分率)-吸光度吸收光谱, 以药物溶出百分率 C 与吸光度 A 进行线性回归, 得到相应的 6 条回归方程, 分别为: 通道 1, $C=-0.30+131.2A$, $r=0.999\ 9$; 通道 2, $C=-0.70+130.8A$, $r=1.000\ 0$; 通道 3, $C=-0.90+129.8A$, $r=1.000\ 0$; 通道 4, $C=1.10+130.7A$, $r=1.000\ 0$; 通道 5, $C=-0.20+131.2A$, $r=0.999\ 9$; 通道 6, $C=-0.40+130.7A$, $r=1.000\ 0$, 其平均回归方程为 $C=-0.60+130.73A$, 相关系数 $r=0.999\ 9$; 表明方法的线性关系良好, 线性范围 $4.791\sim 23.955\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

③仪器精密度: 取 $23.955\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 用 FODT-601 仪连续测定 6 次, 测定仪器精密度, RSD 值为 0.76%, 结果表明仪器精密度良好。

④稳定性: 取 $23.955\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 分别在 1, 4, 7, 9, 12 h 测定对照品溶液浓度, RSD 值为 1.20%, 结果表明对照品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.3 药物溶出度测定^[5-7] 依照标准曲线方法, 分别在 0, 2, 5, 8, 10, 15, 20 和 30 min 时间点, 采用 FODT-601 仪实时在线分别测定呋塞米片对照和受试制剂随时间变化的药物累积溶出百分率(呋塞米片对照制剂简称为 FSMR; 呋塞米片受试制剂简称为 FSMT)。监测发现, FSMT 的药物累积溶出百分率略低于 FSMR, 结果见图 1; f_2 相似因子计算结果为 46.36, 根据日本文献有关判定普通制剂药物溶出曲线相似的 f_2 因子限度值规定, 受试与对照制剂药物溶出曲线相似(参比与受试制剂在 15~30 min 平均溶出率达 85% 以上时, $f_2>42$)^[8-10]。

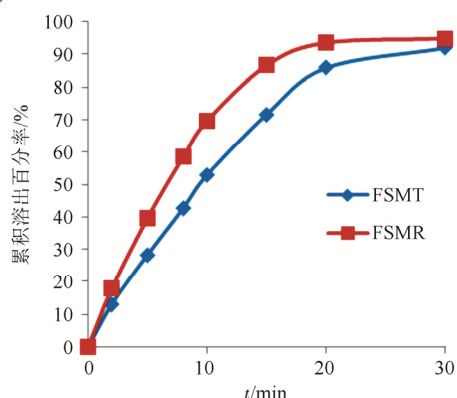


图 1 呋塞米片受试与对照制剂的药物累积溶出百分率曲线
Fig. 1 The curves of the percent of Furosemide accumulation dissolution of tested and control preparations

2.2 体内血药浓度及药动学参数测定^[11-12]

2.2.1 服药大鼠的血浆采集与制备 取健康 SD 大鼠 12 只, 采用随机区组实验设计将其随机分为 2 组, 每组 6 只, 将其放置在稳定的人工光照的动物房内喂养 2 周, 自由进食和饮水。正式实验开始时禁食 12 h, 给药前先采集空白血浆, 第 1 组整粒口服对照制剂 1 粒, 第 2 组整粒口服受试药品 1 粒, 并记录服药时间。于给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15 和 24 h 在大鼠眼球后静脉处采血 0.25 mL, 置于聚苯乙烯离心管中放置 30 min 后, 以 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后, 用微量移液枪将血浆移入聚苯乙烯离心管中, 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

2.2.1.1 色谱条件 AichromBond-AQ C_{18} 色谱柱 ($250\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸溶液 (32:68); 流速: $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$, 检测波长 235 nm ; 柱温: 室温。

2.2.1.2 血浆样品的处理 将血液样本 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 精密量取上层血浆样品 $100\text{ }\mu\text{L}$, 置于 1.5 mL 具塞聚苯乙烯离心管中, 加入 0.3 mL 乙腈, 涡旋混合振荡 1 min, 以 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下离心 10 min 后, 用注射器吸取上清液, 转移至另一离心管中, 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。使用时取出, 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 针头式过滤器过滤后, 注入进样瓶内插管中。

2.2.2 方法学考察 ①方法的专属性: 精密称取呋塞米对照品 10 mg 置于 50 mL 量瓶中, 加入乙腈定容配制成 $0.2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。将呋塞米的对照品储备液用乙腈稀释制成 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。取大鼠的空白血浆样本, 混合均

匀后取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 按“2.2.1.2”项下方法处理, 进样分析得到空白血浆色谱图。取混合均匀的空白血浆 $90\text{ }\mu\text{L}$, 加入呋塞米对照品储备液 $10\text{ }\mu\text{L}$, 涡旋混匀后按“2.2.1.2”项下方法处理后进样分析得加样血浆色谱图。结果显示: 呋塞米色谱峰形对称, 分离效果好, 分离度 >1.5 , 对称因子在 $0.95\sim 1.05$ 之间, 柱效 $>6\,000$, 药物的测定不受血浆内源性物质干扰。色谱图见图 2。

②标准曲线与检测限: 精密吸取呋塞米储备液 $1.25, 2.5, 12.5, 25, 50$ 和 $100\text{ }\mu\text{L}$, 分别加入空白血浆至 $200\text{ }\mu\text{L}$, 配制成浓度分别为 $1.25, 2.5, 12.5, 25, 50$ 和 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列呋塞米血浆样品, 按“2.2.1.2”项下方法处理后进样分析。以呋塞米对照品的峰面积 (Y) 对浓度 (C) 作线性回归得标准方程: $Y=143.03C+83.597 (r=0.994\,7)$ 。结果表明, 呋塞米血药浓度在 $1.25\sim 100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。制备 5 个独立的定量下限浓度的血浆样本, 进一步验证其浓度是否使 $S/N\geq 3$ 。结果显示: 呋塞米血浆检测限为 $0.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

③方法的精密度: 吸取呋塞米对照品储备液 $12.5, 50$ 和 $100\text{ }\mu\text{L}$, 分别加入空白血浆至 $200\text{ }\mu\text{L}$, 其呋塞米浓度分别为 $12.5, 50.0$ 和 $100.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 每个浓度做 5 份, 按“2.2.1.2”项下方法操作, 测定峰面积代入标准曲线方程计算药物浓度, 低, 中, 高浓度的呋塞米日内精密度 ($n=5$) RSD 分别为 $0.78\%, 0.64\%$ 和 0.61% 。同法, 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 1, 2, 3, 5, 7 d 测定, 考察日间精密度 RSD 分别为 $1.55\%, 0.89\%$ 和 1.76% 。测定结果表明, 测定血浆中呋塞米的分析方法符合要求 (日内和日间 RSD 均 $<15\%$)。

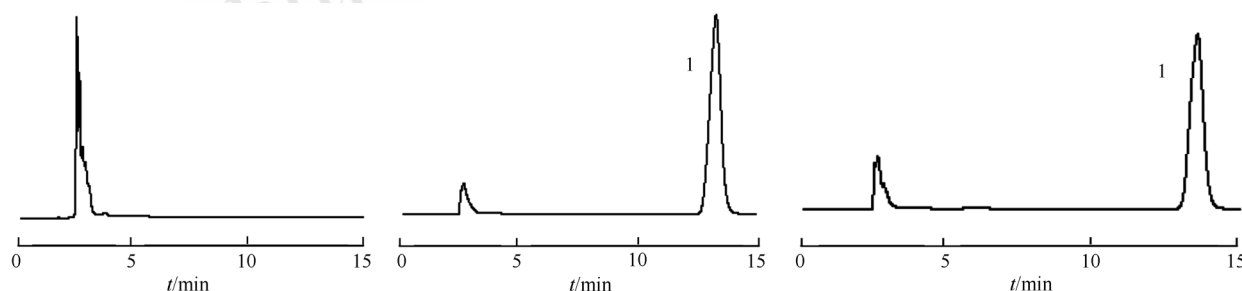


图 2 HPLC 图

A-空白血浆; B-空白血浆+呋塞米; C-大鼠服药血浆; 1-呋塞米。

Fig. 2 HPLC chromatogram

A-blank plasma; B-blank plasma + Furosemide; C-rat plasma of taken tablet; 1-furosemide.

④方法的回收率：吸取呋塞米对照品储备液 12.5, 50 和 100 μL ，分别加入本底空白血浆至 200 μL ，其呋塞米质量浓度分别为 12.5, 50.0 和 100.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，每个质量浓度做 5 份，不加呋塞米的本底血浆做 3 份，按“2.2.1.2”项下方法操作，测定峰面积代入标准曲线方程计算药物浓度，低，中，高浓度的呋塞米回收率($n=5$)分别为 100.51%，100.37%和 99.44%；RSD 值分别为 1.23%，0.84%和 1.54%；平均回收率为 100.11%。

2.2.3 血药浓度测定 采用外标法峰面积定量，分别代入血浆标准曲线方程，求算血药浓度。受试与对照制剂平均时间-血药浓度结果见图 3。

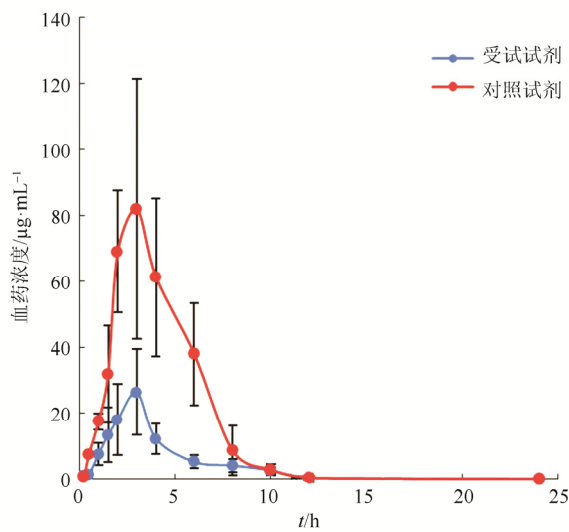


图 3 大鼠口服呋塞米片后不同时间的血药浓度
Fig. 3 The blood drug concentration in different time after oral Furosemide Tablet in rats

2.2.4 药动学参数的计算 采用中国药理学学会数学药理专业委员会编制的 3p97 药动学程序对血药浓度时间数据进行处理，计算有关的药动学参数。其中，达峰时间($t_{\max}$)及峰浓度($C_{\max}$)为实测值，药-时曲线下面积(AUC)采用梯形法计算，半衰期($t_{1/2}$)按末端相血药浓度对数值和时间进行线性回归，求得斜率(Ke)法计算，结果见表 1。

表 1 呋塞米片单剂量给药后的主要药动学参数($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The main parameters of pharmacokinetics of Furosemide tablet after oral single dosage($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

类别	$t_{1/2}/\text{h}$	$t_{\max}/\text{h}$	$C_{\max}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\text{AUC}_{0-24}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	$\text{AUC}_{0-\infty}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$
受试制剂	2.87 ± 0.35	3.11 ± 0.027	26.13 ± 3.80	97.22 ± 6.04	97.22 ± 6.04
对照制剂	2.97 ± 0.31	3.34 ± 0.039	82.89 ± 8.92	355.78 ± 21.95	355.89 ± 21.92

2.3 生物等效性分析

根据表 1 中 AUC，计算相对生物利用度($F = \text{AUC}_{0-24} \text{ 供试品} / \text{AUC}_{0-24} \text{ 参比制剂}$)；采用 SPSS 统计学软件，根据表 3 列出的 AUC_{0-t} ， $\text{AUC}_{0-\infty}$ ， $C_{(t)}$ 和 Ke 统计量数值，按照 Wagner-Nelson 方法，计算体内药物吸收百分数(absorbent portion, AP%)；将表 1 中 3 个药动学参数 $t_{\max}$ ， $C_{\max}$ 和 AUC_{0-24} 经对数转换后用单因素方差分析进行显著性检验，然后用双单侧 t 检验，计算 90%置信区间法和非参数检验的统计分析方法来评价和判断受试样品和对照制剂间的生物等效性，设定 $\alpha=5\%$ ， $\beta=20\%$ ^[13-14]。

AP%计算公式如下：

$$AP\% = \frac{X_{A,t}}{X_{A,\infty}} \times 100\% = \frac{\text{AUC}_{0-t} + \frac{C_{(t)}}{Ke}}{\text{AUC}_{0-\infty}} \times 100\%$$

式中 $X_{A,t}$ 为 t 时活性药物被吸收进入机体的药物量； $X_{A,\infty}$ 为经足够长时间后进入人体的药物量； AUC_{0-t} 为给药后至 t 时曲线下的面积； $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为给药后至足够长时间的曲线下面积； $C_{(t)}$ 为给药至 t 时的血药浓度； Ke 为活性药物的体内清除速率常数。

2.3.1 呋塞米片受试与对照制剂在大鼠体内的吸收分数 根据平均血药浓度，采用 Wagner-Nelson 法计算各时间点 AP(%)，比较受试与对照制剂在药物进入体内吸收度的差异。结果与药-时变化规律一致，受试与对照制剂相同，AP(%)的峰值均出现在大鼠给药后 3 h；经 t 检验，比较不同时刻受试与对照制剂 C 和 AP(%)，除 0.25 h 外，各时刻受试与对照制剂 C 的差异均有统计学意义；各时刻受试与对照制剂 AP(%)的差异均无统计学意义。结果见表 2。

2.3.2 呋塞米片受试与对照制剂在大鼠体内的生物利用度 按“2.3.1”项下数据处理方法，得到呋塞米片受试制剂相对于对照制剂在大鼠体内的相对生物利用度为 $F = (\text{AUC}_{0-24T} D_R / \text{AUC}_{0-24R} D_T) \times 100\% = (\text{AUC}_{0-24T} / \text{AUC}_{0-24R}) \times 100\% = (97.22 / 355.78) \times 100\% = 27.32\%$ 。

表 2 呋塞米片受试与对照制剂不同时间体内药物吸收分数的比较($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The comparison of drug absorption percent in different time between tested and control Furosemide tablets ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

时间/ h	对照制剂		受试制剂	
	$C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	AP/%	$C/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	AP/%
0.25	0.55±0.16	0.26±0.08	0.90±0.48	1.23±0.66
0.5	7.47±0.60	2.25±0.17	1.46±1.33 ²⁾	1.66±1.51
1	17.62±2.50	6.22±0.88	7.60±3.28 ²⁾	9.32±4.02
1.5	31.88±14.64	11.46±5.26	13.48±8.41 ¹⁾	17.26±10.77
2	68.93±18.49	24.48±6.57	18.07±10.81 ²⁾	23.61±14.12
3	81.88±39.47	38.03±18.33	26.41±12.94 ²⁾	40.77±19.98
4	61.23±23.95	31.42±12.29	12.25±4.68 ²⁾	24.18±9.24

注：与对照制剂比较，¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with control, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

2.3.3 呋塞米片受试与对照制剂在大鼠体内的生物等效性 按“2.3.1”项下数据处理方法，得到呋塞米片受试制剂相对于对照制剂在大鼠体内 BE 结果：呋塞米片的受试药品和对照制剂的主要药动学参数有显著性差异($P<0.05$)， $t_1<t_{1-0.05(5)}$ ， $t_2<t_{1-0.05(5)}$ ，受试药品与对照制剂 $C_{\max}$ 对数值比值的 90%置信区间(44.52%~61.08%)不在 70%~143% 范围内， AUC_{0-24} 对数值比值的 90%置信区间(51.35%~54.2%)不在 80%~125% 范围内， $t_{\max}(\text{h})$ 经秩和检验 $P<0.05$ 。因此，呋塞米片的受试药品与对照制剂不具有生物等效性。

3 讨论

无论 BCS 分类如何，呋塞米片不宜生物豁免。呋塞米即 4-氯-2-糠基氨基-5-磺酰氨基苯甲酸，极微溶于水，溶于乙醇(1:75)^[15]。国外一些研究显示：呋塞米片规格 40 mg，呋塞米溶解度为 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，属于弱酸， pKa 值为 3.9， $\text{Log}P$ 值为 0.74， $\text{CLog}P$ 值为 1.9。按照 $\text{Log}P$ 值呋塞米片为 BCS IV 类，按照 $\text{CLog}P$ 值呋塞米片为 BCS II 类^[2]；WHO 相关指导原则中说明，对于含有 BCS II 类活性药物成分的弱酸性药品，若满足其标示量在 250 mL，pH 6.8 的缓冲液中完全溶解，可以作为适合生物豁免的前提条件^[1]，这似乎适合国内规格为 20 mg 的呋塞米片；具体到品种，因为国外呋塞米片的主药含量是 40 mg，根据以上溶出度推算，溶解其标示量的缓冲液体积为 400 mL，>250 mL，所以 WHO 的说明是，呋塞米片属于低溶解性-低渗透性的 BCS IV 类，其生物利用度(bioavailability，

BA)高度变异，不能生物豁免^[2]。尽管按照 WHO 指导原则，国内生产的呋塞米片溶解性可以达到免除 BE 的前提条件，本研究结果显示呋塞米片 BA 差别较大，不宜生物豁免。

呋塞米片体外溶出过程与其体内 BE 不符。虽然对照制剂较受试制剂药物溶出的速度和数量略高，2 条溶出曲线的相似度无明显差异；然而，对照制剂的体内血药浓度明显高于受试制剂；相比较而言，受试制剂 BA 明显偏低，受试与对照制剂的 BE 检测结果明显不一，说明按照中国药典方法检查呋塞米片药物溶出度，不能替代其 BE 检测。之所以呋塞米片的体内外相关性不一致，一是作为药物溶出度可能是药物吸收的限速步骤的呋塞米片，影响其吸收的因素可能因溶解度、晶型、溶媒化物和粒子大小的差异，导致 IVIVC 与预测偏差较大；二是药物在胃肠道中的溶解度接近饱和和溶解度，标准的体外溶出度试验是在“漏槽条件”下进行，可能难以预测 IVIVC。

吸收分数反映生物等效性的作用有限。虽然受试制剂各个时间的血药浓度明显低于对照制剂，但是 2 组制剂的吸收百分数却相差无几。是因 Wagner-Nelson 的吸收百分数计算，主要基于 $0-t$ 与 $0-\infty$ 时刻药物曲线下面积的比值百分数，是一种相对结果。尽管对照制剂的 AUC_{0-24} 较受试制剂的大，但对照制剂的 $AUC_{0-\infty}$ 也较大，反之亦然。因此，药物的吸收百分数被平衡，看不出受试与对照制剂的差别。建议若将吸收百分数作为 BE 指标的一个部分，应当设置一定的条件和范围。

呋塞米溶出和血药浓度并非越高越好。不同厂家生产的呋塞米片可能会有不同的药物溶出度和血药浓度水平，笔者以为，设计呋塞米溶出过程，应以适应药物在机体中合理发挥疗效而达到的科学的血药浓度水平为依据，不可以盲目以呋塞米溶出的越快越多、达到的血药浓度越高越好。呋塞米片溶出度的设计必须结合药动学和药效学，不能特立独行，为了优化溶出过程而设计呋塞米片溶出度的条件和方法。反过来，应当根据呋塞米在体内的过程和疗效，调整呋塞米片溶出度测定的条件和方法，从而达到较好的 IVIVC。

致谢：赵婷等研究生所做的试验与付出的辛勤劳动。

REFERENCES

- [1] World Health Organization. Proposal to waive *in vivo* bioequivalence requirements for the WHO Model List of Essential Medicines immediate release solid oral dosage forms [S]. Geneva, October 2005.
- [2] TAKAGI T, RAMACHANDRAN C, BERMEJO M, et al. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drug products in the United States, Great Britain, Spain and Japan [R]. Molecular Pharmaceutics, 2006, 3: 631-634.
- [3] China Food and Drug Administration. The guiding principles for dissolution test of common oral solid preparation(普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则) [S]. 2015.
- [4] 中国药典. 四部[S]. 2015: 121-124.
- [5] GENG D S, FU X Y, CHEN M. Determination of dissolution of Compound Sulfamethoxazole tablets by fiber-optic in situ dissolution testing method [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2009, 44(17): 1343-1346.
- [6] GAO Z F, ZHANG L H, LI Y, et al. Application of optical fiber sensing detection in pharmaceutical analysis [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2016, 36(10): 862-866.
- [7] GENG D S. Studies with fiber-optic in situ dissolution testing equipment on the dissolution rate of ciprofloxacin hydrochloride tablets and capsules [J]. China Pharm(中国药事), 2010, 24(8): 783-786.
- [8] 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインについて [S]. 医薬審第 487 号平成 9 年 12 月 22 日. 厚生省医薬安全局審査管理課签发
- [9] 医薬用医薬品の品質に係る再評価の実施手順等について [S]. 医薬審第 595 号平成 10 年 7 月 15 日日本厚生省医薬安全局審査管理課長签发
- [10] 医薬用医薬品の品質に係る再評価の実施等について [S]. 医薬審第 634 号平成 10 年 7 月 15 日日本厚生省医薬安全局局長签发
- [11] ZHANG J H, WANG R, XIE H, et al. Effects of hypoxia environment at high altitude on serum protein-binding rate of furosemide and methazolamide in rats [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2015, 35(20): 1839-1843.
- [12] ZHU F J, SHEN Q, HUANG Y, et al. Pharmacokinetics study of Rivaroxaban in elderly patients with non-valvular atrial fibrillation [I]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(8): 978-981.
- [13] CFDA. Guiding principles for the study of human bioavailability and bioequivalence of chemical drugs(化学药物制剂人体生物利用度和生物等效性研究技术指导原则) [S]. 2005
- [14] WILLIAMS R L, CHEN M L, HAUCK W W. Equivalence approaches [J]. Clin Pharmacol Ther, 2002, 72: 229-237.
- [15] SHEN K W, WANG X M, HAN Y P. Manual for the isolation and Identification of Practical Drugs(实用药物分离鉴定手册) [M]. Vol 2. Beijing: People's Military Medical Press, 1986: 552.

收稿日期: 2016-12-06

(本文责编: 曹粤锋)