

## 复方磺胺甲噁唑片体内外相关性的建立与应用

张啸然<sup>1,2</sup>, 李宏伟<sup>3\*</sup>, 王东凯<sup>1\*</sup>

(1. 沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳沃森科技有限公司, 辽宁 沈阳 110179;  
3. 哈尔滨三联药业股份有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150025)

**摘要:** **目的** 对抗菌药物复方磺胺甲噁唑片开展一致性评价研究。**方法** 采用 Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 软件分析体外溶出与体内药代动力学数据, 确定关键溶出曲线, 优化确定处方工艺, 并对制得的自研制剂的溶出曲线进行生物等效性预测。**结果** 自研制剂的关键溶出曲线与参比制剂相似(相似因子  $f_2$  均大于 50), 预测得到药代动力学参数  $C_{max}$  与  $AUC_{0-t}$  并计算对应的 T/R 值, 结果表明, 自研制剂与参比制剂生物等效。**结论** 利用软件可以依照体外溶出及体内药代动力学数据确定关键溶出曲线, 并依照自研制剂与参比制剂的溶出曲线预测生物等效性情况, 提高研发效率。

**关键词:** 磺胺甲噁唑; 甲氧苄啶; WinNonlin; 体内外相关性; 软件预测

**中图分类号:** R94

**文献标志码:** A

复方磺胺甲噁唑片是由磺胺甲噁唑(SMZ)和甲氧苄啶(TMP)组成的复方抗菌药物, 在临床治疗多种感染性疾病方面发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。其抗菌机制较为独特: 磺胺甲噁唑通过竞争对氨基苯甲酸, 有效抑制二氢叶酸的合成; 而甲氧苄啶则与二氢叶酸还原酶紧密结合, 可逆性地阻碍二氢叶酸向四氢叶酸的转化。二者协同作用, 成功阻断了细菌核酸和蛋白质生物合成的关键步骤<sup>[2]</sup>。基于这一作用机制, 复方磺胺甲噁唑片被广泛应用于急性泌尿感染、呼吸道感染和皮肤化脓性感染等多种疾病的治疗<sup>[1]</sup>。

在医药领域, 仿制药一致性评价具有极其重要的意义<sup>[3]</sup>。旨在确保仿制药在质量、疗效和安全性方面与原研药高度等效, 这不仅有助于提升药品的整体质量, 保障患者的用药安全, 还能够促进医药行业的公平竞争, 降低医疗成本, 让更多患者从中受益<sup>[3]</sup>。复方磺胺甲噁唑片作为临床常用药, 对其开展仿制药一致性评价研究已刻不容缓。

传统的一致性评价研究通常依赖大量繁琐的实验, 不仅耗时费力, 而且成本高昂<sup>[4]</sup>。随着科技的不断进步, 借助专业软件工具进行辅助研究成为提高研究效率的关键途径。Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 软件的 IVIVC Toolkit 工具, 作为药物研发领域中用于建立和分析体内外相关性 (*in vitro-in vivo* correlation, IVIVC) 的专业工具, 在仿制药一致性评价及新药研发等工作中发挥着核心作用<sup>[5]</sup>。该工具的工作原理建立在药代动力学和药效动力学的理论基础之上, 通过对体外溶出数据和体内药代动力学数据进行复杂的数学运算与模型拟合来实现其功能。其中, Levy 功能是 IVIVC Toolkit 工具的核心功能之一。Levy 功能的实现基于 Levy 分布原理, 这是一种特殊的概率分布, 在处理非高斯、长拖尾数据方面表现优异, 恰好契合药物体内外数据的复杂特性<sup>[6]</sup>。

**收稿日期:** 2024-12-24

**作者简介:** 张啸然(1993-), 男(汉族), 辽宁阜新人, 硕士研究生, E-mail 402744927@qq.com; \*通信作者: 李宏伟(1983-), 男(汉族), 黑龙江哈尔滨人, 正高级工程师, 硕士研究生, 主要从事新药研究, E-mail 13836033204@163.com; 王东凯(1962-), 男(汉族), 辽宁沈阳人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事药物新技术与新剂型研究, E-mail wangdksy@163.com。

在建立 IVIVC 时, Levy 功能能够将体外溶出时间设定在  $x$  轴, 体内吸收时间设定在  $y$  轴, 并通过特定的算法进行数据拟合<sup>[7]</sup>。研究人员可根据实际需求调整绘制间隔等参数, 对不同溶出条件下的数据进行评估, 进而得出溶出试验结果与体内吸收的时间缩放关系, 并生成线性拟合曲线<sup>[7]</sup>。依据拟合曲线计算得到的相关系数  $r$  值和线性模型斜率能够直观地反映体外溶出与体内吸收之间的相关性强弱<sup>[8]</sup>。相关系数  $r$  值用于衡量线性关系的紧密程度, 取值范围为  $-1 \sim 1$ 。当  $r$  值越接近 1 时, 体外溶出与体内吸收之间的线性关系越强, 意味着体外溶出情况能更好地反映体内吸收行为; 反之, 若  $r$  值远离 1, 则表明两者相关性较弱<sup>[8]</sup>。而线性模型斜率则反映了体外溶出时间和体内吸收时间之间的相对变化速率。 $r$  值及线性模型斜率为研究人员深入理解两者关系提供了更多信息<sup>[8]</sup>。

Levy 功能还可用于不同制剂间的比较。在仿制药研发中, 通过对比自研制剂和参比制剂在相同溶出条件下 Levy 分析的结果, 可以评估自研制剂在体外溶出和体内吸收方面与参比制剂的相似程度, 进而判断仿制药是否达到与原研药相似的质量和疗效。

此外, Levy 功能并非孤立存在, 它与 IVIVC Toolkit 工具中的其他功能协同工作, 可以建立体内外相关性模型。模型建立后, 采用工具中的预测功能, 可以整合来自不同实验阶段的数据, 如前期的体外溶出试验数据、体内药代动力学试验数据以及后续的处方工艺优化后的数据等, 为药物研发提供全面的数据支持和决策依据<sup>[9]</sup>。利用 IVIVC Toolkit 工具模块协同工作还可以方便研究人员对药物研发过程中的数据进行综合管理和分析<sup>[9]</sup>, 通过输入自研制剂与参比制剂在关键溶出曲线上的溶出数据, 利用该工具预测二者的药代动力学参数, 预测评估生物等效性情况, 在不进行临床生物等效性试验的情况下优化处方工艺, 大大提高了研究效率, 降低了研发成本和风险<sup>[10]</sup>。具体的操作方式为, 输入 Levy 分析确定的关键溶出条件和曲线数据, 需选择合适的溶出模型 (如 Weibull 模型), 并设定相关参数 (如 *In Vitro* Estimates 中 FINF 设定为 1, TLAG、INT 设定为 0 等), 运行工具, 预测体内药代动力学参数, 如  $C_{\max}$  (血药浓度峰值) 和  $AUC_{\text{all}}$  (药时曲线下总面积)。这些参数基于大量的研究和实践经验确定, 可以保证预测结果的准确性和可靠性<sup>[11]</sup>。

本文作者旨在利用 Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 软件的 IVIVC Toolkit 工具, 深入探究复方磺胺甲噁唑片的体内外相关性, 为仿制药一致性评价提供科学、高效的研究方法, 助力提升复方磺胺甲噁唑片仿制药的质量和疗效。

## 1 仪器与材料

RC12AD 型溶出实验仪 (天津市天大天发科技有限公司), 1260DAD 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司), G10 实验型多功能湿法混合制粒机 (深圳信宜特科技有限公司), DPL-II 型多功能制粒制丸包衣机 (重庆精工制药机械责任有限公司), U&M-25 型单冲压片机 (上海优译柯机械有限公司)。

复方磺胺甲噁唑片 (商品名: BACTRIM<sup>®</sup>, 太阳药业有限公司)。

## 2 试验方法

首先通过检索已上市的复方磺胺甲噁唑片的文献, 利用软件从中获取体内药代动力学数据与体外溶出数据, 基于这些数据建立体内外相关性的联系, 评价最优的体外评价的关键溶出曲线。然后将关

键溶出曲线作为关键质量属性, 筛选并确定处方工艺, 并对确定的处方工艺制备的自研制剂进行溶出曲线检测。最后评价自研制剂与参比制剂溶出曲线的相似性, 并将关键溶出曲线代入 IVIVC 软件进行药代动力学参数  $C_{max}$  与  $AUC_{all}$  的预测, 比较自研制剂与参比制剂的结果, 预测生物等效性情况。

### 3 实验过程

#### 3.1 建立 IVIVC

##### 3.1.1 软件概述

Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 为一款分析药代动力学和药效动力学数据的软件, 利用该软件可以对实验获得的体内药代动力学结果进行反卷积, 分析其体内吸收情况, 与体外溶出建立相关性, 对不同溶出条件得到的相关性结果进行比较, 选择更优者即为关键的体外溶出曲线, 后续研发确定处方工艺后, 再根据关键溶出曲线的溶出结果, 卷积预测自研制剂与参比制剂的药代动力学参数, 通过比较预测结果而预测生物等效性情况, 从而降低生物等效性试验的风险、提高生物等效性试验的成功率, 达到提高研发效率的目的。

GetData Graph Digitizer 为一款图片数据抓取工具, 可以对数据图的  $x$  轴、 $y$  轴进行定位, 建立坐标系, 然后根据该坐标系的选点确定坐标值, 从而得到所需要的坐标点数据。

##### 3.1.2 数据来源

为了获得体外溶出数据及体内药代动力学数据, 本文作者以磺胺甲噁唑和甲氧苄啶为关键词检索了日本 PMDA 数据库中的“Interview Form”文件, 入选的要求为口服制剂有磺胺甲噁唑及甲氧苄啶的体外溶出结果及对应的体内药代动力学结果, 注射剂有磺胺甲噁唑及甲氧苄啶的体内药代动力学结果, 检索得到的结果如下所示。

DAIPHEN tablets / DAIPHEN granules<sup>[12]</sup>: 由鹤原制药株式会社生产, 其内容包含复方磺胺甲噁唑颗粒的溶出曲线、复方磺胺甲噁唑片的溶出曲线以及复方磺胺甲噁唑颗粒的药代动力学结果。该产品数据被采用, 且采用的是其中颗粒剂的参比制剂及仿制产品的数据, 原因是其包含磺胺甲噁唑及甲氧苄啶的体外溶出曲线及体内药代动力学结果。

BAKTAR<sup>®</sup> combination tablets / BAKTAR<sup>®</sup> mini combination tablets / BAKTAR<sup>®</sup> combination granules<sup>[13]</sup>: 由盐野义制药株式会社生产, 内容有复方磺胺甲噁唑颗粒的溶出曲线、复方磺胺甲噁唑片的溶出曲线、复方磺胺甲噁唑颗粒的药代动力学结果以及复方磺胺甲噁唑片的药代动力学结果。该产品中片剂的仿制产品数据被采用, 因为其具备磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的体外溶出曲线以及体内药代动力学结果。

BACTRAMIN<sup>®</sup> combination tablet / BACTRAMIN<sup>®</sup> combination granule<sup>[14]</sup>: 由太阳制药株式会社生产, 仅有复方磺胺甲噁唑片的药代动力学结果, 因缺少体外溶出曲线结果, 该产品数据未被采用。

BACTRAMIN<sup>®</sup> injection<sup>[15]</sup>: 由太阳制药株式会社生产, 是复方磺胺甲噁唑输液的药代动力学结果。该数据被采用, 因为静脉输液结果可用于确定体内消除速率, 进而建立体内吸收曲线。

最终, 研究采用了鹤原制药株式会社、盐野义制药株式会社公司开发产品的体外溶出曲线结果及体内药代动力学结果。

##### 3.1.3 获得的数据

利用 GetData Graph Digitizer 软件, 对上述文献中图谱进行抓取后获得的数据见表 1 和表 2。

Table 1 *In vitro* dissolution data ( $n = 12$ , mean)表 1 体外溶出数据 ( $n = 12$ , 平均值)

Items	<i>t</i> /h									
	0	0.08	0.17	0.25	0.5	0.75	1	1.5		
制剂 1	Water	SMZ/%	0	61	86	95	100	102	NT	NT
		TMP/%	0	47	76	90	99	101	NT	NT
	pH 1.2	SMZ/%	0	89	94	96	97	NT	NT	NT
		TMP/%	0	92	97	99	101	NT	NT	NT
	pH 4.0	SMZ/%	0	55	83	94	100	101	NT	NT
		TMP/%	0	58	85	91	94	97	NT	NT
	pH 6.8	SMZ/%	0	74	96	100	102	NT	NT	NT
		TMP/%	0	58	86	97	101	NT	NT	NT
制剂 2	Water	SMZ/%	0	84	96	99	101	101	NT	NT
		TMP/%	0	85	94	97	97	98	NT	NT
	pH 1.2	SMZ/%	0	86	95	99	100	101	NT	NT
		TMP/%	0	93	98	101	101	NT	NT	NT
	pH 4.0	SMZ/%	0	72	90	95	100	101	NT	NT
		TMP/%	0	74	94	97	99	101	NT	NT
	pH 6.8	SMZ/%	0	88	99	101	101	NT	NT	NT
		TMP/%	0	84	94	97	97	NT	NT	NT
制剂 3	Water	SMZ/%	0	NT	32	39	56	70	80	92
		TMP/%	0	NT	37	44	60	73	82	94
	pH 1.2	SMZ/%	0	36	52	64	82	92	96	NT
		TMP/%	0	81	87	91	97	100	100	NT
	pH 4.0	SMZ/%	0	31	49	64	88	96	100	NT
		TMP/%	0	45	59	71	91	98	101	NT
	pH 6.8	SMZ/%	0	43	63	78	96	100	101	NT
		TMP/%	0	37	58	73	94	100	101	NT

注：制剂 1 为参比制剂(颗粒剂)；制剂 2 为鹤原制药株式会社的颗粒剂；制剂 3 为盐野义制药株式会社的片剂；“NT”表示未检测。

Table 2 *In vivo* release data

表 2 体内释放数据

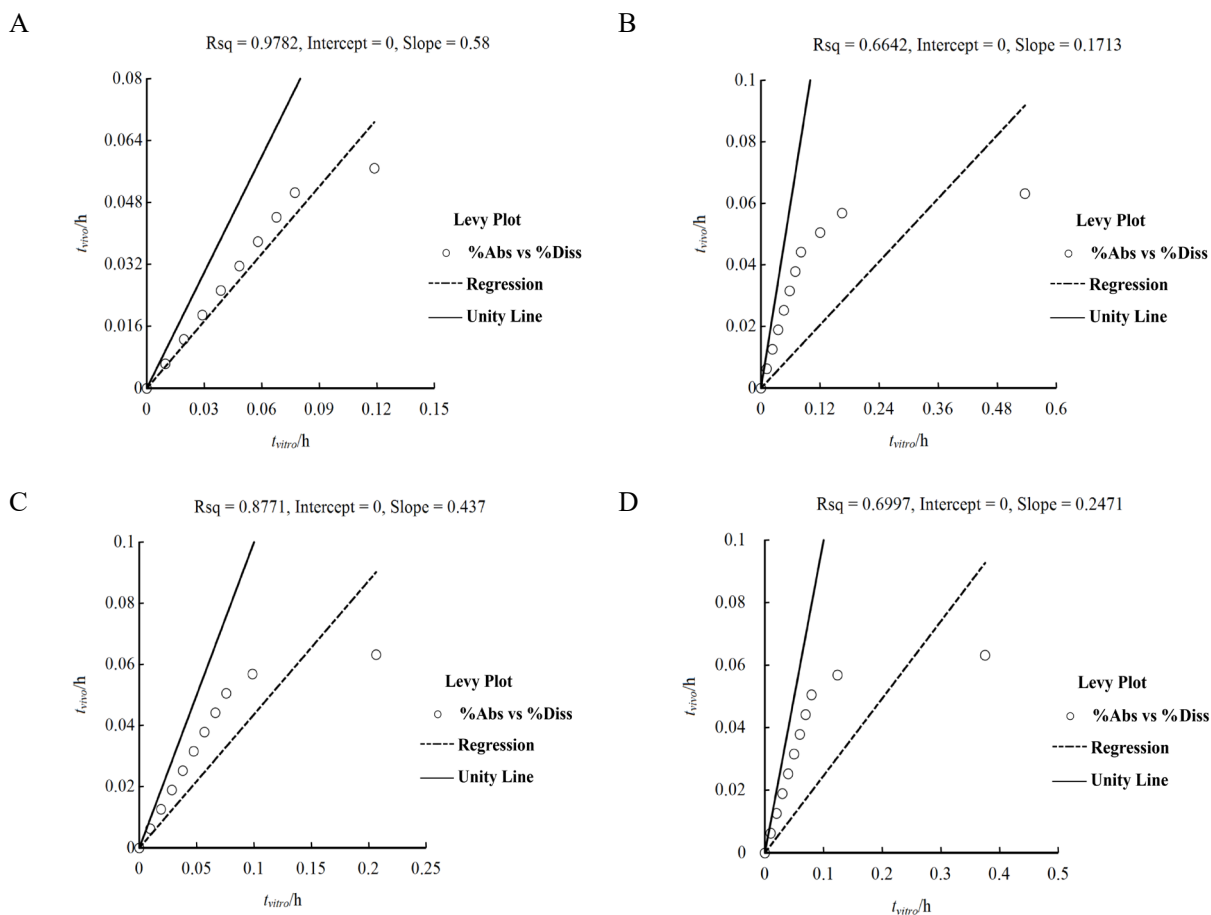
Items	<i>t</i> /h											
	0	0.25	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	12	
制剂 1	SMZ/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0.0	NT	NT	16.1	NT	24.8	42.6	46.0	38.1	31.8	24.0
	TMP/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0.0	NT	NT	0.4	NT	1.1	1.6	1.6	1.4	1.2	0.7
制剂 2	SMZ/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0.0	NT	NT	15.8	NT	24.5	42.9	45.6	37.2	31.2	23.2
	TMP/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0.0	NT	NT	0.4	NT	1.1	1.6	1.6	1.3	1.2	0.7
制剂 3	SMZ/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0.0	NT	6.1	13.5	NT	24.7	40.1	44.8	35.9	30.7	23.4
	TMP/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	0.0	NT	0.1	0.3	NT	0.7	1.2	1.4	1.3	1.0	0.7
制剂 4	SMZ/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	59.4	82.2	77.0	71.9	69.7	NT	NT	NT	49.8	43.5	33.0
	TMP/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	1.0	1.7	2.8	2.4	2.0	NT	NT	NT	1.9	1.6	1.3

注：制剂 1 为参比制剂(颗粒剂)；制剂 2 为鹤原制药株式会社的颗粒剂；制剂 3 为盐野义制药株式会社的片剂；制剂 4 为太阳制药株式会社的静脉滴注制剂；“NT”表示未检测。

### 3.1.4 利用 IVIVC 确定关键溶出条件

根据文献中报道的信息, 复方磺胺甲噁唑颗粒及复方磺胺甲噁唑片的体外溶出考察方法一致, 溶出曲线采用桨法进行溶出度测定, 转速为  $50 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 溶出介质体积为  $900 \text{ mL}$ 。溶出介质分别为水、pH 1.2 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液。溶出曲线测定结果可利用 IVIVC 的 Levy 功能确定关键的溶出介质。

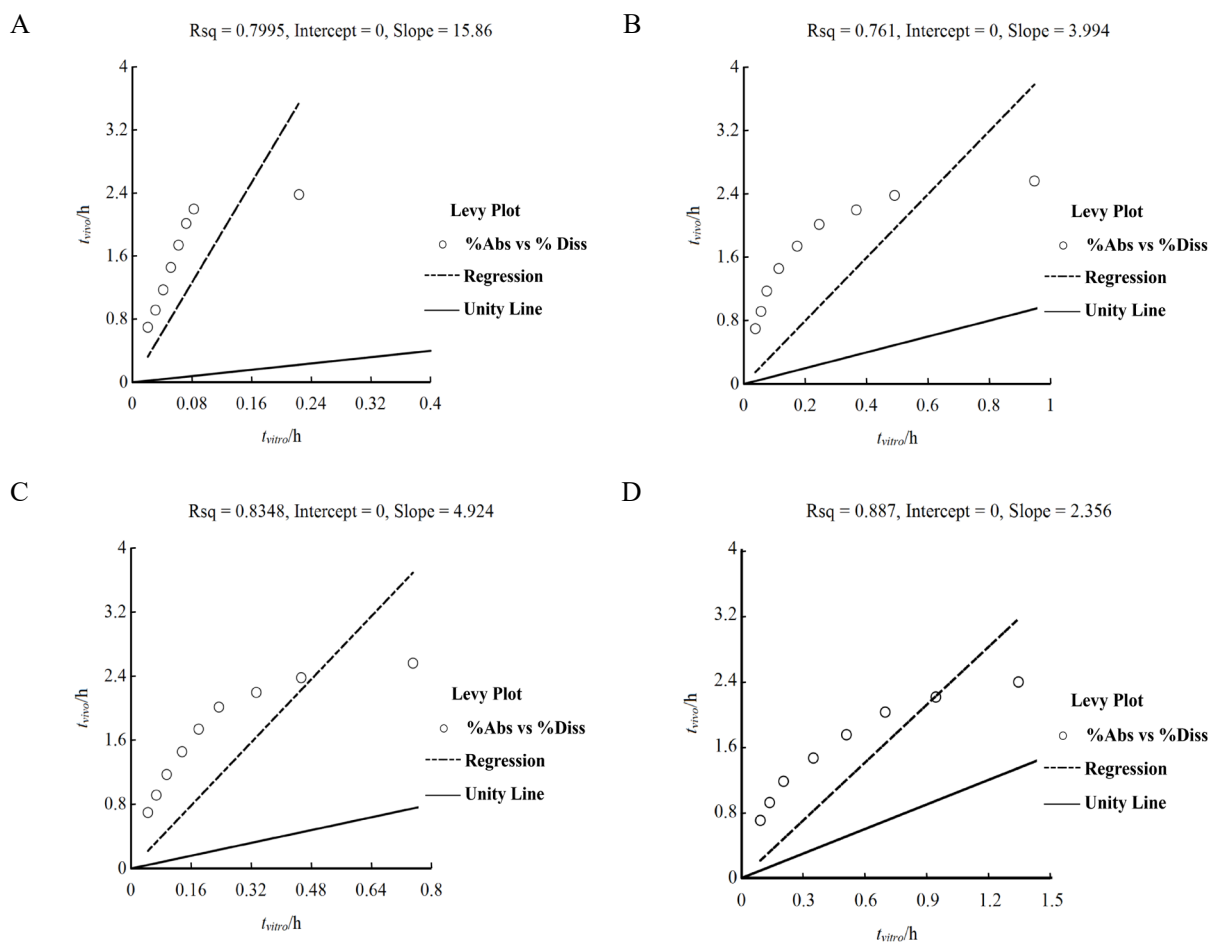
利用 IVIVC Toolkit 工具中的 Levy 功能, 设置参数:  $x$  轴设定为体外溶出的时间,  $y$  轴设定为体内吸收的时间, 绘制间隔为 0.1, 其余为 IVIVC Toolkit 的默认推荐参数。利用该功能对每个溶出条件进行评估, 得出溶出试验结果与体内吸收时间的线性拟合 Levy 图, 从而得到该线性的相关系数  $r$  值与线性模型的斜率。因此, 根据表 1 及表 2 的不同介质体外溶出数据与体内血药浓度数据可以得到磺胺甲噁唑和甲氧苄啶在不同 pH 值条件下的溶出结果与体内吸收的相关 Levy 图, 结果见图 1、图 2 和表 3。



A—pH 1.2; B—pH 4.0; C—pH 6.8; D—Water.

Fig. 1 Levy plots of SMZ in different dissolution media

图 1 不同溶出介质中 SMZ 的 Levy 图



A—pH 1.2; B—pH 4.0; C—pH 6.8; D—Water.

Fig. 2 Levy plots of TMP in different dissolution media

图 2 不同溶出介质中 TMP 的 Levy 图

Table 3 Correlation coefficient of dissolution media in Levy plots

表 3 不同溶出介质的 Levy 图中的相关系数

Medium	<i>r</i>			
	pH 1.2	pH 4.0	pH 6.8	Water
SMZ	0.989,0	0.815,0	0.936,5	0.836,5
TMP	0.894,1	0.872,4	0.913,7	0.941,8

由上述结果可知,对于磺胺甲噁唑,在 pH 1.2 介质中的溶出曲线与体内吸收的相关系数  $r$  为 0.989,0,大于其他介质,所以采用 pH 1.2 介质进行溶出曲线考察时,其结果与体内吸收行为相关性最佳;同理,对于甲氧苄啶,在水介质中的溶出曲线与体内吸收的相关系数  $r$  为 0.941,8,大于其他介质,所以采用水介质进行溶出曲线考察时,其结果与体内吸收行为相关性最佳。因此,确定在进行处方工艺开发时依照体内相关性情况将自研制剂与参比制剂磺胺甲噁唑成分的 pH 1.2 介质作为关键溶出曲线进行考察并进行相似性比较,对自研制剂与参比制剂甲氧苄啶成分的水介质溶出曲线进行考察并进行相似性评价。

## 3.2 处方工艺的确定

### 3.2.1 参比制剂的确定

自研制剂研究开发的仿制品种为复方磺胺甲噁唑片,规格为每片含磺胺甲噁唑 0.4 g、甲氧苄啶 80 mg,根据《仿制药参比制剂目录(第七批)》,参比制剂相关信息见表 4。

Table 4 Reference information

表 4 参比制剂信息

项目	内容
药品通用名称	复方磺胺甲噁唑片
英文名	Compound sulfamethoxazole tablets
商品名	BACTRIM®
规格	每片含磺胺甲噁唑 0.4 g 和甲氧苄啶 80 mg
剂型	片剂
持证商	太阳药业有限公司

### 3.2.2 依照 QBD 确定自研制剂的处方工艺

根据质量源于设计(quality by design, QBD)确定自研制剂的目标质量概况(quality target product profile, QTPP)、关键质量属性(critical quality attribute, CQA),评估各个 CQA 的风险情况,将 IVIVC 中研究得到的磺胺甲噁唑 pH 1.2 介质溶出曲线及甲氧苄啶的水介质溶出曲线作为关键溶出曲线进行处方与工艺筛选,最终确定自研制剂的处方工艺。

### 3.2.3 处方组成及工艺的确定

根据产品的目标质量概况以及关键质量属性,对处方组成及生产工艺进行风险识别及考察,确定了自研制剂的处方组成与工艺,见表 5 和表 6。

Table 5 Prescription composition (400 tablets)

表 5 处方组分(400 片)

组分	作用	用量/g	占比/%
磺胺甲噁唑	主药	160	76.0
甲氧苄啶	主药	32	15.2
玉米淀粉	黏合剂、崩解剂	6.4	3.0
聚山梨酯 80	增溶剂	0.2	0.1
羧甲基淀粉钠	崩解剂	10.8	5.1
硬脂酸镁	润滑剂	1.2	0.6
总计	—	210.6	100.0

Table 6 Preparation (400 tablets)

表6 制备工艺(400片)

序号	工艺步骤	操作
1	称量	按处方量称取磺胺甲噁唑、甲氧苄啶、玉米淀粉、聚山梨酯 80、羧甲基淀粉钠和硬脂酸镁
2	配浆	质量分数 4% 淀粉浆的配制: 按比例称取纯化水和玉米淀粉, 边加热边搅拌, 搅拌 1 min 后加入聚山梨酯 80, 继续搅拌 2-6 min, 目测浆液变清, 控制配制终点温度在 75-85 °C, 停止加热后继续搅拌 1 min
3	制软材	1) 将磺胺甲噁唑、甲氧苄啶和玉米淀粉加入湿法制粒机中, 搅拌浆转速 150 r·min <sup>-1</sup> , 初混 5 min 2) 打开机盖, 粘合剂温度控制在 45 °C 左右, 一次性加入锅内, 搅拌浆转速 250 r·min <sup>-1</sup> , 搅拌 1 min, 开盖处理锅壁物料, 设置搅拌浆转速 250 r·min <sup>-1</sup> , 剪切刀转速 1,400 r·min <sup>-1</sup> , 4 min 后停止, 制得软材
4	湿整粒	10 目筛整粒, 制得湿颗粒
5	干燥	干燥箱 55 °C 干燥, 测得干燥水分小于 3% 即可
6	干整粒	20 目筛整粒
7	总混	外加羧甲基淀粉钠混合 10 min, 再加硬脂酸镁混合 3 min
8	压片	12 mm 浅凹冲, 片硬度控制在 10 kgf, 压片机转速控制在 10 r·min <sup>-1</sup> 左右

### 3.3 溶出曲线的检测结果

#### 3.3.1 溶出曲线测定方法

依据《中华人民共和国药典》2020 版相关规定, 溶出曲线检测方法如下所示。

溶出条件: 采用桨法进行溶出度测定, 转速设定为 75 r·min<sup>-1</sup>, 溶出介质体积为 900 mL。

色谱条件: 采用以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的 Welch Ultimate XB-C<sub>18</sub> 色谱柱(300 mm × 3.9 mm, 10 μm)。以乙腈-水-三乙胺(体积比 200:799:1)为流动相, 用氢氧化钠试液或冰醋酸调节流动相 pH 值至 5.9。检测波长为 240 nm, 柱温为 30 °C, 流速为 2 mL·min<sup>-1</sup>, 进样体积为 10 μL, 进行含量测定。

pH 1.2 溶出介质的配制: 称取 6.0 g 氯化钠, 置于适量容器中, 加入 3,000 mL 纯化水使其溶解, 然后使用盐酸调节溶液 pH 值至 1.2。

pH 4.0 溶出介质的配制: 取 21.492 g 十二水合磷酸氢二钠, 加入 1,200 mL 超纯水使其溶解; 另称取 15.75 g 柠檬酸, 加超纯水溶解并稀释至 3,000 mL。之后, 用柠檬酸溶液调节磷酸氢二钠溶液, 直至最终 pH 值达到 4.0。

pH 6.8 溶出介质的配制: 称取 5.1 g 磷酸二氢钾和 5.32 g 无水磷酸氢二钠, 加超纯水溶解并定容至 3,000 mL, 再使用磷酸二氢钾调节 pH 值至 6.8。

水介质的配制: 直接使用超纯水作为溶出介质。

#### 3.3.2 溶出曲线测定方法的验证

对用于检测复方磺胺甲噁唑片中磺胺甲噁唑和甲氧苄啶的 HPLC 法进行了全面的方法学验证, 具体内容及数据如下所示。

专属性: 考察空白辅料、降解产物及其他共存杂质对含量测定的干扰。取经酸、碱、氧化、光照和高温等强制降解的样品、空白辅料以及对照品溶液, 按拟定含量测定方法进样分析, 记录色谱图, 确保主峰与杂质峰及其他干扰峰分离度良好, 空白辅料无干扰峰出现, 表明方法专属性强。

线性: 配制一系列不同浓度的磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对照品溶液, 磺胺甲噁唑在  $8.731,6 \sim 873.16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的线性方程为  $y = 0.238,6x + 0.250,9$ ,  $r = 1.000$ ,  $y$  轴截距小于百分之百浓度的 2%, 证明该浓度范围内线性良好; 甲氧苄啶在  $1.799,2 \sim 179.92 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的线性方程为  $y = 0.555,8x + 0.157,8$ ,  $r = 1.000$ ,  $y$  轴截距小于百分之百浓度的 2%, 证明该浓度范围内线性良好。

重复性: 取同一批复方磺胺甲噁唑片样品, 平行制备 6 份供试品溶液, 分别进样测定磺胺甲噁唑和甲氧苄啶含量, 结果磺胺甲噁唑含量在 98.9%~99.2%, 相对标准偏差 (RSD) 为 0.5%, 甲氧苄啶含量在 98.5%~99.0%, RSD 为 0.6%, 均小于 2%, 说明该方法重复性良好。

中间精密度: 在不同日期由不同分析人员使用不同仪器设备对同一批样品进行测定, 结果磺胺甲噁唑含量在 98.5%~99.0%, RSD 为 0.8%, 甲氧苄啶含量在 98.6%~99.1%, RSD 为 0.9%, 均小于 2%, 验证了在不同实验条件下方法的可靠性和精密度。

准确度: 采用加样回收试验, 取已知含量的复方磺胺甲噁唑片样品, 分别加入高、中、低三个不同浓度水平的磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对照品, 结果磺胺甲噁唑平均回收率为 98.5%, 各浓度水平回收率的 RSD 为 1.3%; 甲氧苄啶平均回收率为 95.2%, 各浓度水平回收率的 RSD 为 2.1%, 证明该 HPLC 法准确度良好。

检测限与定量限: 经逐步稀释对照品溶液, 测定磺胺甲噁唑的检测限 (LOD) 为  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (信噪比  $S/N$  约为 3), 定量限 (LOQ) 为  $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (信噪比  $S/N$  约为 10); 甲氧苄啶的检测限为  $0.02 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (信噪比  $S/N$  约为 3), 定量限为  $0.06 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (信噪比  $S/N$  约为 10), 检测限和定量限满足检测需求, 表明该方法灵敏度较高。

稳定性: 取同一供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 和 24 h 时间点注入 HPLC 系统, 测定磺胺甲噁唑和甲氧苄啶峰面积, 结果磺胺甲噁唑峰面积测定在 20,020.7~20,050.3, 结果的 RSD 为 1.8%, 甲氧苄啶峰面积测定在 15,016.2~15,030.6, 结果的 RSD 为 1.9%, 表明供试品溶液在该时间段内稳定性良好。同时, 对照品溶液在相同条件下稳定性良好, 可确保使用过程中的准确性。

综上, 该 HPLC 法可行且可靠, 可为复方磺胺甲噁唑片的质量控制提供有效分析方法。

### 3.3.3 溶出曲线的测定结果

对采用表 5 及表 6 的处方组成和工艺制得的自研制剂以及参比制剂进行溶出曲线测定, 溶出曲线的检测方法见表 7, 检测结果见表 8、图 3~6。

Table 7 Method of dissolution

表 7 溶出方法

类别	项目	内容
溶出条件	转速	75 r·min <sup>-1</sup>
	介质体积	900 mL
色谱条件	色谱柱	十八烷基硅烷键合硅胶柱 COSMOSIL C <sub>18</sub> (150 mm × 4.5 mm, 5 μm)
	方法	参照《中华人民共和国药典》2020 版
溶出介质配制	pH 1.2 介质	取氯化钠 6.0 g, 加纯化水 3,000 mL 溶解, 盐酸调 pH 至 1.2
	pH 4.0 介质	取十二水合磷酸氢二钠 21.492 g, 加超纯水 1,200 mL 溶解; 另取柠檬酸 15.75 g, 加超纯水溶解并稀释至 3,000 mL; 用柠檬酸溶液调节磷酸氢二钠溶液, 使最终 pH 值至 4.0 即可
	pH 6.8 介质	取磷酸二氢钾 5.1 g 和无水磷酸氢二钠 5.32 g, 加超纯水溶解至 3,000 mL, 用磷酸二氢钾调 pH 至 6.8
	水介质	超纯水

Table 8 Results of dissolution (n = 3, mean)

表 8 溶出结果 (n = 3, 平均值)

Items	t/h								Similarity	
	0	0.08	0.17	0.25	0.5	0.75	1			
Reference	Water	SMZ/%	0	34	52	66	82	90	93	NA
		TMP/%	0	44	63	76	89	94	97	NA
	pH 1.2	SMZ/%	0	42	67	86	99	102	103	NA
		TMP/%	0	100	101	102	102	102	102	NA
	pH 4.0	SMZ/%	0	22	38	49	68	78	84	NA
		TMP/%	0	74	90	94	99	100	100	NA
pH 6.8	SMZ/%	0	48	70	81	93	97	99	NA	
	TMP/%	0	28	50	65	86	95	99	NA	
Test	Water	SMZ/%	0	36	54	65	79	86	89	f <sub>2</sub> = 80
		TMP/%	0	37	54	65	79	86	88	f <sub>2</sub> = 54
	pH 1.2	SMZ/%	0	52	71	79	90	94	95	f <sub>2</sub> = 60
		TMP/%	0	93	97	98	99	99	99	Very fast
	pH 4.0	SMZ/%	0	32	48	57	70	79	83	f <sub>2</sub> = 59
		TMP/%	0	71	86	91	96	99	100	Very fast
	pH 6.8	SMZ/%	0	58	73	80	90	94	96	f <sub>2</sub> = 65
		TMP/%	0	34	53	64	79	86	91	f <sub>2</sub> = 67

注: “NA”表示不适用; “Very fast”表示 15 min 累积释放 ≥ 85%。

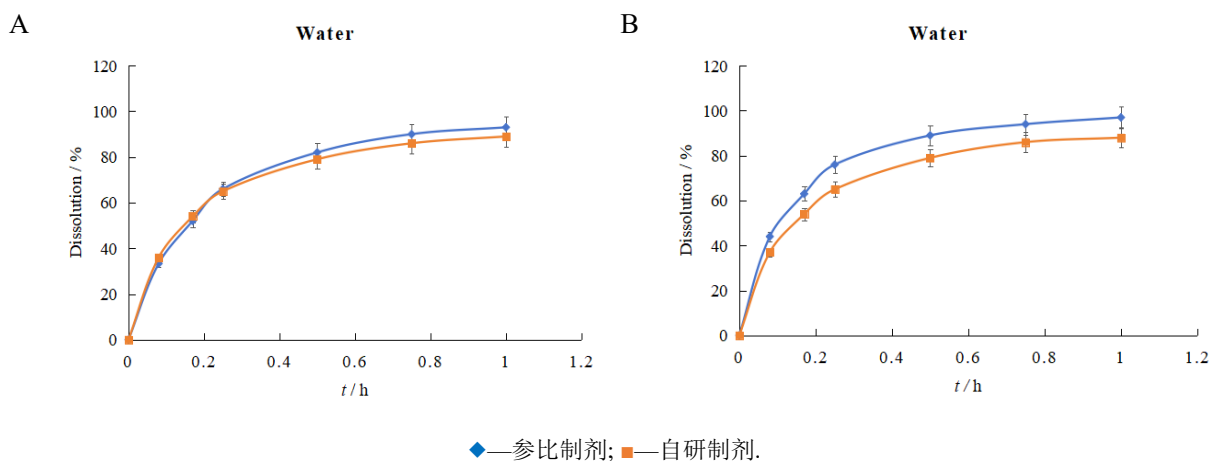


Fig. 3 Dissolution curves of water medium (A—SMZ; B—TMP)  
图 3 水介质溶出曲线 (A—SMZ; B—TMP)

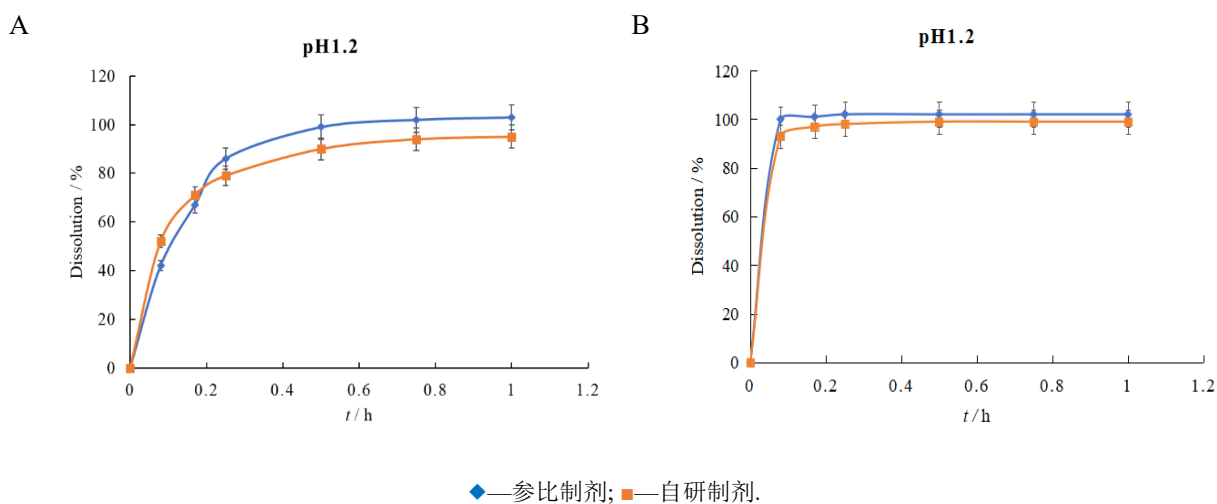


Fig. 4 Dissolution curves of pH 1.2 medium (A—SMZ; B—TMP)  
图 4 pH 1.2 介质溶出曲线 (A—SMZ; B—TMP)

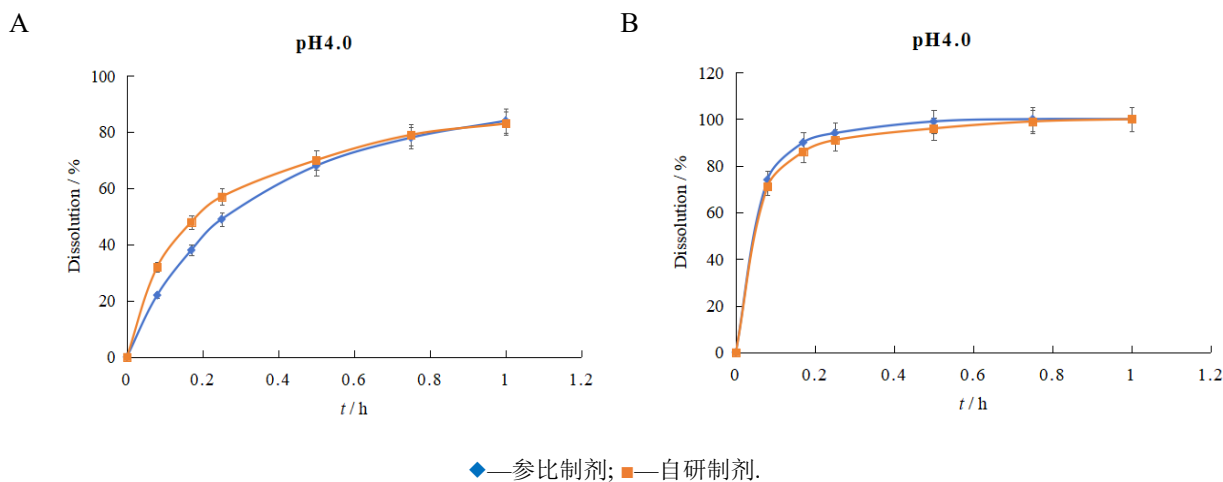


Fig. 5 Dissolution curves of pH 4.0 medium (A—SMZ; B—TMP)  
图 5 pH 4.0 介质溶出曲线 (A—SMZ; B—TMP)

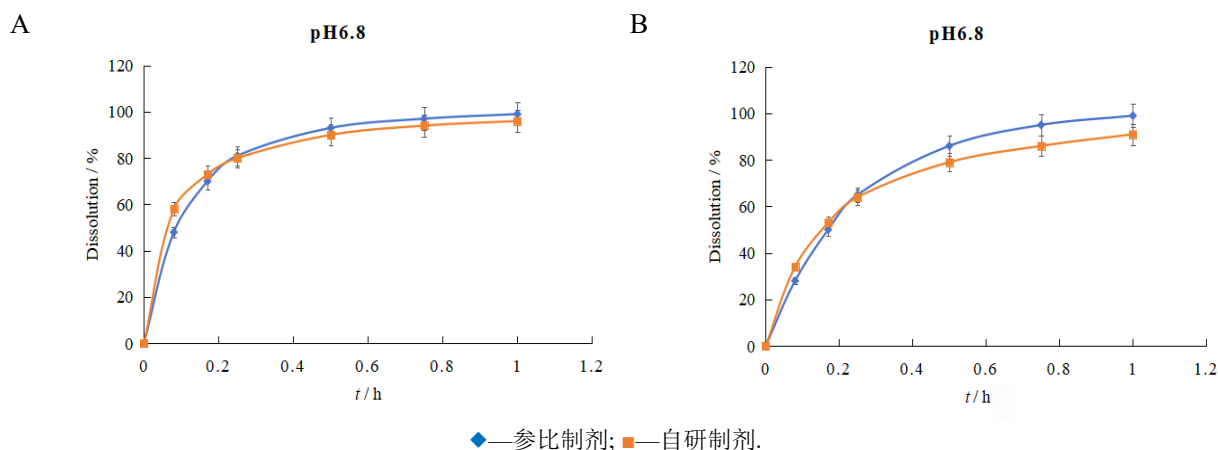


Fig. 6 Dissolution curves of pH 6.8 medium (A—SMZ; B—TMP)

图 6 pH 6.8 介质溶出曲线 (A—SMZ; B—TMP)

根据溶出曲线检测结果可知,在拟定的溶出曲线检测方法下,自研制剂在 pH 1.2、pH 4.0、pH 6.8 介质及水介质四种溶出介质中磺胺甲噁唑和甲氧苄啶两种成分的溶出曲线与参比制剂比较均相似。

### 3.4 利用 IVIVC Toolkit 预测药代动力学参数

在利用参考资料中的溶出结果及体内药代动力学数据建立完成复方磺胺甲噁唑片的体内外相关性模型后,可以根据体外溶出结果预测体内的药代动力学参数。根据 Levy 图的拟合结果,预测体内药代动力学参数采用磺胺甲噁唑成分的 pH 1.2 介质溶出曲线检测数据及甲氧苄啶成分的水介质溶出曲线检测数据。预测的药代动力学模型采用表 3 中的数据,预测的相关设置采用 Phoenix WinNonlin User's Guide<sup>[16]</sup> 中推荐的参数,其中 Dissolution Model (溶出模型)选择 Weibull, *In Vitro* Estimates (体外估算)中 FINF 设定为 1, TLAG、INT 设定为 0,其余均采用推荐的默认参数。最终得到的预测结果见表 9。

Table 9 Pharmacokinetic parameters predicted using the IVIVC toolkit

表 9 使用 IVIVC toolkit 预测的药代动力学参数

Ingredient	AUC <sub>all</sub> /( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ )			C <sub>max</sub> /( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		
	R	T	Ratio(T/R)	R	T	Ratio(T/R)
SMZ	381.35	372.81	0.978	42.80	38.56	0.901
TMP	14.24	13.08	0.918	1.54	1.43	0.929

注: R 为参比制剂; T 为受试制剂。

生物等效性通常通过比较受试制剂 (T) 和参比制剂 (R) 的药代动力学参数 [如血药浓度-时间曲线下面积 (AUC<sub>all</sub>) 和最大血药浓度 (C<sub>max</sub>)] 来判断,一般认为当受试制剂与参比制剂相应参数的比值的 90% 置信区间为 80%~125% 时,可认为两者具有生物等效性。

由表 9 的结果可知:对于磺胺甲噁唑,受试制剂与参比制剂的 AUC<sub>all</sub> 比值为 0.978,该比值为 80%~125% (即 0.8~1.25),表明在吸收总量方面,受试制剂和参比制剂较为相似;受试制剂与参比制剂的 C<sub>max</sub> 比值为 0.901,同样为 80%~125%,表明在药物吸收的最大速度上,受试制剂和参比制剂也具有相似性;综合分析 AUC<sub>all</sub> 和 C<sub>max</sub> 两个参数,磺胺甲噁唑的受试制剂和参比制剂

具有生物等效性。对于甲氧苄啶,受试制剂与参比制剂的  $AUC_{all}$  比值为 0.918,该比值为 80% ~ 125%,表明两者在吸收总量上较为接近;受试制剂与参比制剂的  $C_{max}$  比值为 0.929,同样为 80% ~ 125%,表明在药物吸收的最大速度方面,受试制剂和参比制剂差异不大;综合分析  $AUC_{all}$  和  $C_{max}$  两个参数,甲氧苄啶的受试制剂和参比制剂具有生物等效性。

此外,自研制剂的  $AUC_{all}$  和  $C_{max}$  均小于参比制剂,此结果与自研制剂的溶出释放速率慢于参比制剂的溶出曲线检测结果相一致。因此,采用该方法预测自研制剂与参比制剂可以达到生物等效。

## 4 结论

本文作者利用 Phoenix<sup>®</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 软件的 IVIVC Toolkit 工具在复方磺胺甲噁唑片仿制药一致性评价研究前先采用文献提供的数据建立体内外相关性,首先确定了溶出曲线的关键介质,然后通过此介质的溶出结果筛选优化处方工艺,最终确定处方工艺,再将制得产品的溶出结果通过软件预测功能得到预测的药代动力学参数,为降低误差,采用了自研制剂与参比制剂同时以同样的参数进行预测,最终预测结果为自研制剂与参比制剂生物等效。采用该方法可以快速确定处方工艺的关键质量属性,并以此为依据高效筛选处方工艺,减少了溶出曲线检测的工作量,降低了仿制药的研发成本。

### 参考文献:

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光. 新编药理学[M]. 17 版. 北京:人民卫生出版社,2011:389-390.
- [2] KRESGE N, SIMONI R D, HILL R L. The discovery of the folic acid coenzymes and their importance in intermediary metabolism[J]. J Biol Chem, 2005, 280(45): e11-e14.
- [3] 国家药品监督管理局. 关于开展仿制药质量和疗效一致性评价的意见[EB/OL]. (2016-02-01)[2024-12-24]. <https://www.cde.org.cn/main/policy/view/b6ade8dd048cdb9df90ebc32bfaeddec>.
- [4] 汪永忠,韩燕全,高家荣,等. 体内外相关性技术在中药新药研发中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 222-228.
- [5] YU L X, AMIDON G L, POLLI J E, et al. Understanding the relationship between dissolution and *in-vivo* performance: dissolution methods development and validation[J]. AAPS J, 2009, 11(2): 228-236.
- [6] FELLER W. An introduction to probability theory and its applications, volume 2[M]. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1971: 583-672.
- [7] SHAH V P, TSONG Y, SATHE P, et al. *In vitro-in vivo* correlation (IVIVC) in drug development: regulatory perspectives and recommendations[J]. Pharm Res, 1998, 15(7): 1093-1098.
- [8] LESKO L J, WILLIAMS R L. *In vitro-in vivo* correlation for drug products-development, evaluation, and application[J]. Clin Pharmacol Ther, 1997, 62(3): 275-283.
- [9] ZHAO Z, WANG R, LI Z, et al. Data-driven approaches for integrated drug development: strategies and applications[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(8): 2231-2243.
- [10] LIU X, ZHANG Y, WANG X, et al. *In vitro-in vivo* correlation-based quality control strategies for generic drug development[J]. Chin J New Drugs, 2020, 29(18): 2119-2125.
- [11] FDA. Guidance for industry: extended-release oral dosage forms: development, evaluation, and application of *in vitro/in vivo* correlations[EB/OL]. (1997-10-01)[2024-12-24]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/extended-release-oral-dosage-forms-development-evaluation-and-application-vitro-in-in-vivo-correlations>.

- [12] 鹤原制药株式会社. Interview form: DAIPHEN tablets/DAIPHEN granules[EB/OL]. (2024-07-01)[2024-12-24]. [https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/460028\\_6290100D1070\\_1\\_019\\_1F.pdf](https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/460028_6290100D1070_1_019_1F.pdf).
- [13] 盐野义制药株式会社. Interview form: BAKTAR<sup>®</sup>[EB/OL]. (2024-07-01)[2024-12-24]. [https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/343018\\_6290100D1088\\_2\\_024\\_1F.pdf](https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/343018_6290100D1088_2_024_1F.pdf).
- [14] 太阳制药株式会社. Interview form: BACTRAMIN<sup>®</sup>[EB/OL]. (2018-10-01)[2024-12-24]. [https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/431010\\_6290100D1096\\_2\\_002\\_1F.pdf](https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/431010_6290100D1096_2_002_1F.pdf).
- [15] 太阳制药株式会社. Interview form: BACTRAMIN<sup>®</sup> injection[EB/OL]. (2018-10-01)[2024-12-24]. [https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/3/431010\\_6419500A1020\\_3\\_1F.pdf](https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/3/431010_6419500A1020_3_1F.pdf).
- [16] Certara. Phoenix WinNonlin user's guide[EB/OL]. (2020-06-30)[2024-12-24]. [https://onlinehelp.certara.com/phoenix/8.3/responsive\\_html5!MasterPage!/WinNonlin User's Guide.pdf](https://onlinehelp.certara.com/phoenix/8.3/responsive_html5!MasterPage!/WinNonlin%20User's%20Guide.pdf).

## Establishment and application of the IVIVC for compound sulfamethoxazole tablets

ZHANG Xiaoran<sup>1,2</sup>, LI Hongwei<sup>3\*</sup>, WANG Dongkai<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Shenyang Watson Technology Co., Ltd., Shenyang 110179, China; 3. Harbin Medisan Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin 150025, China)

**Abstract:** **Objective** To conduct a consistency evaluation study on the antibacterial drug compound sulfamethoxazole. **Methods** The Phoenix<sup>®</sup> Winnonlin<sup>®</sup> software was employed to analyze *in vitro* dissolution and *in vivo* pharmacokinetic data, identify critical dissolution profiles, optimize formulation processes, and predict bioequivalence of the self-developed product's dissolution profile. **Results** The  $f_2$  value of key dissolution curve of the self-developed product and the reference preparation was greater than 50, indicating the similar dissolution curves. The predicted pharmacokinetic parameters  $C_{max}$  and  $AUC_{all}$  were calculated, and the corresponding T/R values were obtained. The results showed that the self-developed product was bioequivalent to the reference preparation. **Conclusion** The software can be used to determine the key dissolution curves based on *in vitro* dissolution and *in vivo* pharmacokinetic data, and to predict the bioequivalence situation based on the dissolution curves of the self-developed product and the reference preparation, thereby improving research and development efficiency.

**Key words:** sulfamethoxazole; trimethoprim; WinNonlin; *in vitro-in vivo* correlation; software prediction