

质量分析

反相高效液相色谱法测定度鲁特韦钠的平衡溶解度^{*}熊婧¹, 许明哲¹, 颜旺², 何兰^{1**}, 刘新社^{3**}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 2. 北京石油化工学院, 北京 102617; 3. 西安交通大学医学院, 西安 710061)

摘要 目的: 建立反相高效液相色谱法测定度鲁特韦钠在不同介质中的平衡溶解度, 为其剂型设计及生物药剂学分类提供依据。方法: 用反相高效液相色谱法测定度鲁特韦钠的含量。色谱柱为 C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.042 5 mol · L⁻¹ 磷酸盐缓冲液 500 mL, 用 2 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.8, 加入甲醇 500 mL 混匀, 流动相 B 为 1% 磷酸乙腈溶液, A-B (85:15); 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长为 260 nm; 柱温为 30 °C。采用摇瓶法考察度鲁特韦钠在不同 pH 缓冲液中的平衡溶解度。结果: 37 °C 时, 度鲁特韦钠在 pH 1.2、pH 4.5、pH 6.8 缓冲液中的平衡溶解度分别为 0.071 3、0.067 2、0.073 0 mg · mL⁻¹。结论: 度鲁特韦钠几乎不溶于缓冲液, 属于低溶解度药物, 不可申请生物等效性试验豁免。
关键词: 度鲁特韦钠; 艾滋病; 人类免疫缺陷病毒 1 型; 高效液相色谱法; 摇瓶法; 平衡溶解度; 生物药剂学分类

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2019) 09-1698-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.09.22

Determination of equilibrium solubility of
dolutegravir sodium by RP-HPLC^{*}XIONG Jing¹, XU Ming-zhe¹, YAN Wang², HE Lan^{1**}, LIU Xin-she^{3**}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China;

2. Beijing Institute of Petrochemical Technology, Beijing 102617, China;

3. School of Forensic Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract Objective: To establish a RP-HPLC method to determine the equilibrium solubility of dolutegravir sodium in different mediums, so as to provide a basis for its formulation design and biopharmaceutical classification. **Methods:** The equilibrium solubility of dolutegravir sodium in different pH buffer solutions was determined by the RP-HPLC method combined with shaking flask. C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was adopted. The mobile phase A was 0.042 5 mol · L⁻¹ phosphate buffer 500 mL, adjusted pH 6.8 with 2 mol · L⁻¹ sodium hydroxide solution, added methanol 500 mL and mixed. The mobile phase B was 1% phosphate

^{*} 中国食品药品检定研究院学科带头人培养基金资助项目 (2017X4)^{**} 通信作者 何 兰 Tel: (010) 53851600; E-mail: helan1961@aliyun.com

刘新社 Tel: (029) 82655475; E-mail: lxins@mail.xjtu.edu.cn

第一作者 Tel: (010) 53851576; E-mail: xiongjing@nifdc.org.cn

acetonitrile solution. A-B (85:15) at the flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detection wavelength was 260 nm, and the column temperature was 30°C . **Results:** Under the temperature of 37°C , the equilibrium solubilities of dolutegravir sodium in the pH 1.2, pH 4.5 and pH 6.8 buffer solutions were 0.071 3, 0.067 2, 0.073 0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. **Conclusion:** Dolutegravir sodium is almost insoluble in buffer solutions. It is a low solubility drug, and can not be authorized for a biowaiver of bioequivalence.

Keywords: dolutegravir sodium; acquired immune deficiency syndrome (AIDS); human immunodeficiency virus-1 (HIV-1); HPLC; shake flask; equilibrium solubility; BCS

度鲁特韦 (dolutegravir) 是由葛兰素史克 (GSK) 公司旗下的 ViiV Healthcare 公司开发的抗人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) 感染药物, 是第 2 代 HIV 整合酶抑制剂, 能阻止病毒 DNA 链向宿主 DNS 转移, 可与其他抗逆转录病毒药物联合使用^[1-2]。国内外试验研究均显示, 度鲁特韦有较强的抗 HIV-1 病毒活性, 临床研究显示, 其与第 1 代 HIV 整合酶抑制剂雷特格韦、埃替格韦相比, 有较好的安全性、药效及耐受性, 不良反应少, 不影响联用药物的疗效及药动学参数^[3], 能显著延长艾滋病患者的寿命, 是临床应用前景很好的抗艾滋病新药。美国 FDA 以优先审评肯定了该药的突破性, 于 2013 年 8 月 12 日批准其上市。临床使用度鲁特韦钠盐 (dolutegravir sodium, 商品名为 Tivicay, DTGS), 结构式见图 1, 剂型为 10、25 及 50 mg 薄膜包衣片, 目前国内尚未批准该药物的进口^[4]。

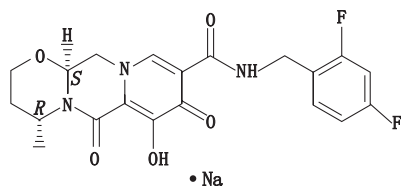


图 1 DTGS 的结构式

Fig. 1 The structure of DTGS

马丁代尔大药典^[5]对 DTGS 的基本信息、用法用量、不良反应以及药代动力学信息做了简单的介绍, 国内外其他药典尚未收载该品种。药物的物理化学参数与生物体内膜渗透性具有一定的相关性, 平衡溶解度能够结合其他参数推测药物在生物体内的吸收状况, 因此测定药物的平衡溶解度具有重要意义^[6-8]。目前国内外未见对 DTGS 平衡溶解度测定的文献报道, 本文建立适用于 DTGS 理化性质研究的反相高效液相色谱法, 进行相应的方法学验证, 并在此基础上, 采用摇瓶法测定 DTGS 在不同 pH 缓冲液中的平衡

溶解度, 为 DTGS 剂型选择、处方研究及合理用药提供参考, 同时为其生物药剂学分类及一致性评价研究提供基础数据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695-2998 高效液相色谱仪 (Waters 公司), Mettler XP 205DR 十万分之一电子天平 (Mettler 公司), Mettler S40K 酸度计 (Mettler 公司), HERMLE Z300K 离心机 (HERMLE 公司), TS-110X30 水浴恒温振荡器 (上海天呈实验仪器制造有限公司), Waters Symmetry Shield-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm ; 填料: 十八烷基硅烷键合硅胶, Waters 公司)。

1.2 试剂与材料

DTGS 原料药 (批号 LDX170021), Cipla 公司; 氢氧化钠 (含量 $\geq 96.0\%$)、氯化钠 (含量 $\geq 99.5\%$)、二水合磷酸二氢钠 (含量 $\geq 99.0\%$)、无水乙酸钠 (含量 $\geq 99.0\%$)、磷酸 (含量 $\geq 85.0\%$)、盐酸 (含量 $36.0\% \sim 38.0\%$)、乙酸 (含量 $36.0\% \sim 38.0\%$)、国药集团化学试剂有限公司; 甲醇 (含量 99.9%), Fisher 公司; 乙腈 (含量 $\geq 99.9\%$), Solvslichro 公司; 水为超纯水; MCM 滤膜 (0.22 μm 和 0.45 μm , 25 mm) 天津博纳艾杰尔科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 反相高效液相色谱方法的建立

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Waters Symmetry Shield-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 A 为 $0.0425 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液 500 mL, 用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液调节 pH 至 6.8, 加入甲醇 500 mL 混匀, 流动相 B 为 1% 磷酸乙腈溶液, A-B (85:15); 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 260 nm; 柱温: 30°C ; 进样量: 20 μL 。在上述色谱条件下测定, 色谱图见图 2, DTGS 的保留时间为 8.5 min, 峰形良好, 空白溶剂对测定无干扰。

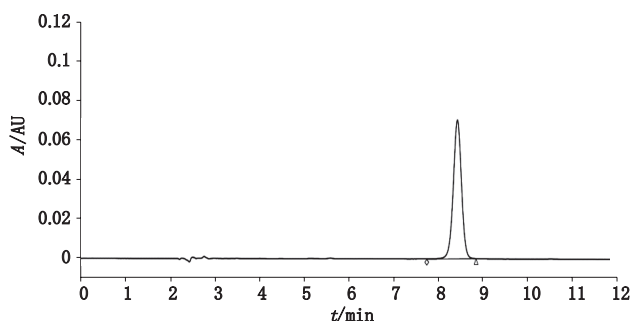


图2 DTGS的HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of DTGS

2.1.2 专属性试验 以强力破坏试验验证方法的专属性。取DTGS原料药,分别在①加 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 10 mL , $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 1 h ; ②加 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 10 mL , $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 1 h ; ③加 3% 过氧化氢溶液 10 mL , 室温放置 30 min ; ④ $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 3 h ; ⑤ $4\text{ }000\text{ lx}$ 光强度下照射 10 d 等极端条件进行破坏试验后,按“2.1.1”项下色谱条件进行检测。结果表明,本品经上述极端条件加速降解后,DTGS仅在酸破坏条件下发生降解,在碱、氧化、高温及光照破坏条件下均较稳定;降解产物峰均能与DTGS主成分峰达到基线分离,降解产物之间也有良好的分离度,二极管阵列检测分析结果显示,主成分峰中未发现杂质,表明方法专属性良好。见图3。

2.1.3 线性关系考察 取DTGS原料药适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成 $0.35\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为储备液,吸取储备液用流动相稀释,制成 0.005 、 0.021 、 0.070 、 0.105 、 0.175 、 $0.350\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列标准溶液。分别吸取上述标准溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$,注入液相色谱仪,记录色谱图,以DTGS浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,绘制标准曲线。线性回归方程: $A=3.433\times 10^7C-1.007\times 10^5$ $r=0.999\text{ }9$

结果表明,DTGS在 $0.005\sim 0.350\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系。

2.1.4 定量下限 取“2.1.3”项下储备液,加流动相逐级稀释,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,测得定量下限($S/N=10$)为 1.0 ng 。

2.1.5 精密度试验 按“2.1.3”项下方法制备高、中、低浓度(0.140 、 0.088 、 $0.035\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的DTGS溶液,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 5 次测定,记录峰面积,计算RSD分别为 0.53% 、 0.43% 、 0.77% ,表明该方法的精密度良好。

2.1.6 准确度试验 取高、中、低浓度(0.140 、 0.088 、

$0.035\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的DTGS溶液,依据线性回归方程得到对应的浓度,利用公式:准确度=(理论浓度值-实测浓度值)/理论浓度值 $\times 100\%$,计算出高、中、低浓度的平均准确度分别为 0.74% 、 -0.23% 、 0.76% (表1),表明该方法的准确度良好。

表1 准确度测定结果(%)

Tab. 1 The results of accuracy

浓度水平 (level of concentration)	理论浓度 (theoretical concentration)/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	实测浓度 (measured concentration)/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	准确度 (accuracy)/ %	平均准确度 (average accuracy)/ %
低(low)	0.035 0	0.034 8	0.57	0.76
	0.035 0	0.035 1	-0.29	
	0.035 0	0.034 3	2.0	
中(medium)	0.088 0	0.087 9	0.11	-0.23
	0.088 0	0.088 5	-0.57	
	0.088 0	0.088 2	-0.23	
高(high)	0.140 0	0.138 7	0.93	0.74
	0.140 0	0.138 4	1.1	
	0.140 0	0.139 8	0.14	

2.1.7 稳定性试验 取 $0.088\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的DTGS溶液,按“2.1.1”项下色谱条件,分别于 0 、 2 、 4 、 6 、 8 、 10 、 12 、 24 h 进行检测并记录峰面积,计算RSD为 0.60% ,表明溶DTGS液室温放置 24 h 稳定性良好。

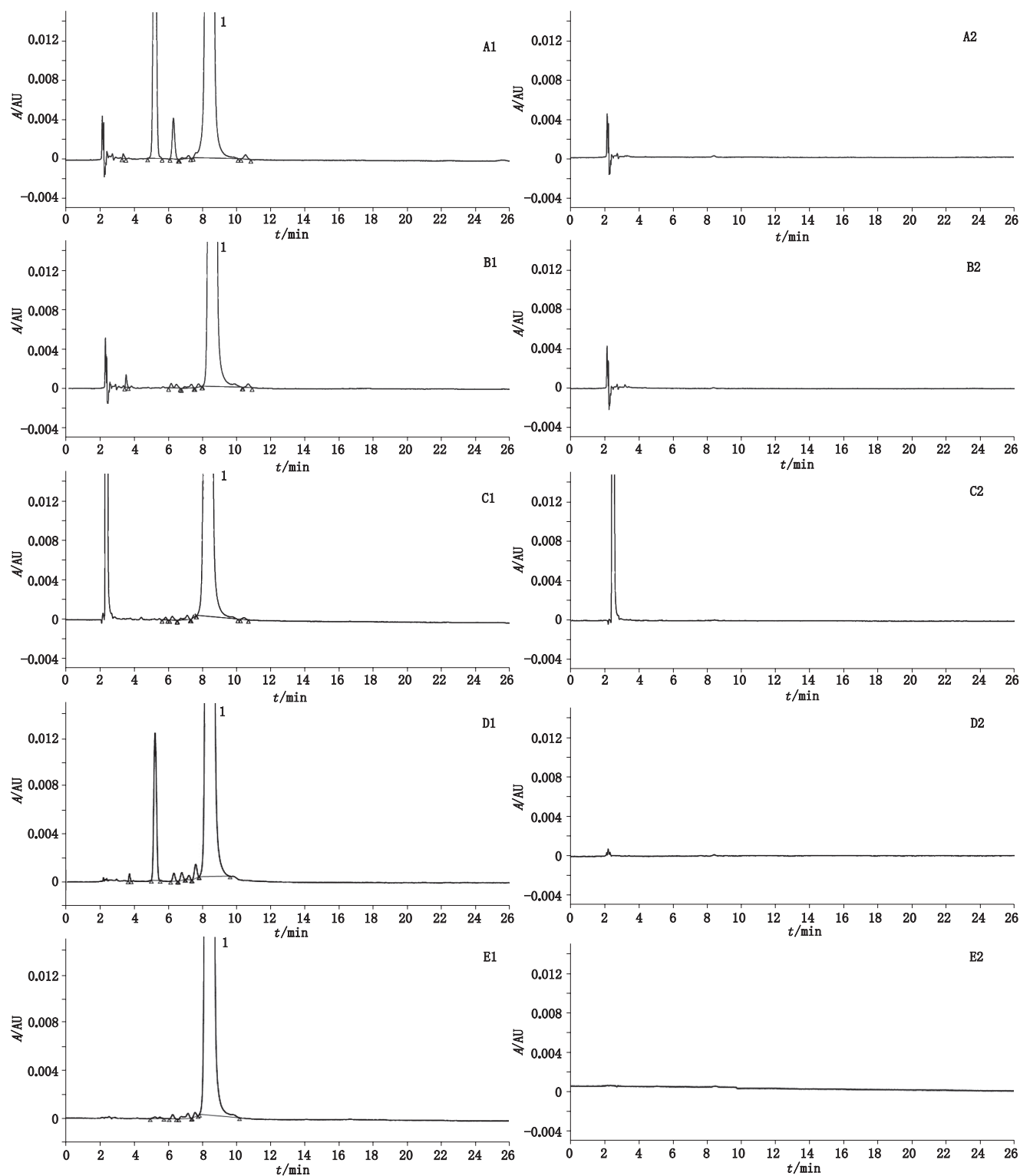
2.2 DTGS平衡溶解度的测定

2.2.1 缓冲液的制备 pH 1.2 氯化钠-盐酸缓冲液:称取氯化钠 2.52 g ,加水 900 mL ,用 $70\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液调节pH为 1.2 ,并用水稀释定容至 $1\text{ }000\text{ mL}$,即得。

pH 4.5 醋酸盐缓冲液:称取无水乙酸钠 2.99 g ,加水 900 mL ,用 $120\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸溶液调节pH为 4.5 ,并用水稀释定容至 $1\text{ }000\text{ mL}$,即得。

pH 6.8 磷酸盐缓冲液:称取二水合磷酸二氢钠 7.8 g 和氢氧化钠 0.9 g ,加水 800 mL ,用 $80\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液调节pH为 6.8 ,并用水稀释定容至 $1\text{ }000\text{ mL}$,即得。

2.2.2 不同分离方式考察 取过量的DTGS原料药,分别置 6 个 15 mL 具塞试管中,每个试管中精密加入pH 4.5醋酸盐缓冲液 10 mL ,置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中分别振摇 2 、 4 、 8 、 24 、 48 、 72 h ,每个时间点取出溶液分成 3 份,1份离心($6\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$) 10 min ,作为样品1,另2份分别经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 和 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜



1. DTGS

A1. 酸破坏溶液 (acid destroyed solution) A2. 酸破坏空白溶液 (acid destroyed blank solution) B1. 碱破坏溶液 (alkali destroyed solution) B2. 碱破坏空白溶液 (alkali destroyed blank solution) C1. 氧化破坏溶液 (oxidation destroyed solution) C2. 氧化破坏空白溶液 (oxidation destroyed blank solution) D1. 高温破坏溶液 (high temperature destroyed solution) D2. 高温破坏空白溶液 (high temperature destroyed blank solution) E1. 光照破坏溶液 (light destroyed solution) E2. 光照破坏空白溶液 (light destroyed blank solution)

图3 专属性试验 HPLC 色谱图

Fig. 3 The HPLC chromatograms for specificity

过滤,作为样品 2 和样品 3,取上清液或续滤液稀释 1 倍后,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算每个时间点溶液的浓度,结果见表 2。分析由于 DTGS 样品粉末较为松散,离心后取上清液时可能混入粉末,造成离心的结果偏高。另溶液中悬浮的粒子可能小于 0.45 μm ,导致 0.45 μm 过滤的结果略高于 0.22 μm 过滤,因此最终选择了 0.22 μm 过滤的样品分离方式。

表 2 DTGS 样品分离方式的考察

Tab. 2 Investigation of the separation method for DTGS			
振摇时间 (shaking time)/h	浓度 (concentration)/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)		
	样品 1 (sample 1)	样品 2 (sample 2)	样品 3 (sample 3)
2	0.038 4	0.029 6	0.034 4
4	0.037 0	0.030 9	0.030 9
8	0.042 8	0.035 4	0.037 6
24	0.044 0	0.036 8	0.040 3
48	0.037 9	0.032 9	0.038 8
72	0.042 3	0.036 1	0.038 6

2.2.3 不同转速考察 将恒温水浴的转速分别设置为 50、75 和 100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,振摇 24 h,分别取出溶液经 0.22 μm 滤膜过滤,取续滤液稀释 1 倍后,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,平衡溶解度分别为 0.069 6、0.073 7 和 0.077 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,最终确定恒温水浴的转速为 75 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

2.2.4 平衡时间的确定 取“2.2.2”项下经 0.22 μm 滤膜过滤的溶液,计算振摇不同时间的溶解度,结果 DTGS 原料药振摇 2、4、8、24、48、72 h 的溶解度分别为 0.059 1、0.061 8、0.070 7、0.073 7、0.065 7、0.072 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,从而确定了 DTGS 在 37℃恒温水浴中振摇 24 h 可达到溶解平衡。

2.2.5 DTGS 在不同 pH 缓冲液中平衡溶解度的测定 取过量 DTGS 原料药,分别置 9 个 50 mL 量瓶中,分别加入 pH 1.2 氯化钠-盐酸缓冲液、pH 4.5 醋酸盐缓冲液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液各 25 mL ($n=3$),在恒温水浴 (37 $^{\circ}\text{C}$, 75 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$) 中振摇 24 h,取适量溶液经 0.22 μm 滤膜过滤,续滤液稀释 5 倍后,按“2.1.1”项下色谱条件进样 20 μL 测定,记录峰面积,代入线性回归方程计算 DTGS 在上述缓冲液中的平衡溶解度,测定结果见表 3。

DTGS 在不同 pH 缓冲液中的溶解度按《中华人

表 3 DTGS 在不同介质中的平衡溶解度

Tab. 3 The equilibrium solubility in different medium of DTGS ($n=3$)

溶剂 (solvent)	平衡溶解度 (equilibrium solubility)/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
pH 1.2 缓冲液 (pH 1.2 buffer)	0.071 3
pH 4.5 缓冲液 (pH 4.5 buffer)	0.067 2
pH 6.8 缓冲液 (pH 6.8 buffer)	0.073 0

民共和国药典》2015 年版^[9]表示为几乎不溶或不溶,其溶解度不受 pH 的影响。

3 讨论

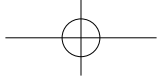
GSK 公司 DTGS 的专利 (专利号: WO2006116764) 将于 2026 年到期,国内企业若想申报该品种仿制药,需要与原研药符合相同的质量、疗效及安全性标准,原则上应采用体内生物等效性试验的方法进行一致性评价,通过本文的研究可以判断 DTGS 是否符合申请生物等效性试验豁免的条件^[10-13]。我国于 2016 年发布了《人体生物等效性试验豁免指导原则 (征求意见稿)》^[14],对于生物药剂学分类系统 (BCS)^[15] I 类和 III 类药物,只要处方中的其他辅料成分不显著影响活性药物成分的吸收,则可申请生物等效性试验豁免。

DTGS 制剂的最高剂量规格为 50 mg,根据测定得到的平衡溶解度计算,DTGS 在 pH 1.2、pH 4.5 和 pH 6.8 缓冲液中剂量与溶解度的比值分别为 701、744、685 mL,根据指导原则的判断标准,最高剂量规格与溶解度的比值等于或小于 250 mL 可认为是高溶解性的,故判断该品种是低溶解性的药物,不可申请生物等效性试验豁免。

选择 250 mL 作为剂量与溶解度比值的判断标准是因为在药物动力学生物等效性研究中,制剂是用一大杯水 (约 250 mL) 服用的,如果最高规格的制剂能够在不依赖生理 pH 的情况下完全溶解在 250 mL 水中,那么原料药的溶解度就不会成为阻碍该药物在小肠中吸收的因素^[12]。

4 结论

本文所建立的反相高效液相色谱法,除可测定 DTGS 的平衡溶解度外,还可用于分析其含量等理化性质。根据指导原则^[14],采用摇瓶法测定了 DTGS 在不同介质中的平衡溶解度,选择 pH 1.2、pH 4.5、pH 6.8 缓冲液,模拟人体胃和肠道不同 pH 下药物



的溶解情况,依据测定结果,判断 DTGS 属于低溶解性药物,不符合申请生物等效性试验豁免的条件,同时为该品种的剂型设计及质控方法研究提供了数据支持。

参考文献

- [1] 闻家辰,赵临襄. Dolutegravir[J]. 中国药物化学杂志, 2014, 24(1): 83
WEN JC, ZHAO LX. Dolutegravir[J]. Chin J Med Chem, 2014, 24(1): 83
- [2] 杨臻峰. 抗艾滋病药 Dolutegravir[J]. 药学进展, 2013, 37(2): 92
YANG ZZ. An anti-AIDS drug Dolutegravir[J]. Prog Pharm Sci, 2013, 37(2): 92
- [3] 李艳玲,刘红森,王彩霞,等. 抗艾滋病新药一度鲁特韦[J]. 医药导报, 2015, 34(8): 1064
LI YL, LIU HM, WANG CX, *et al.* A new anti-AIDS drug—dolutegravir[J]. Her Med, 2015, 34(8): 1064
- [4] 赵长阔,王先恒,曹颖,等. 抗艾滋病药物度鲁特韦的全球专利技术布局分析[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(17): 2003
ZHAO CK, WANG XH, CAO Y, *et al.* Research on global patent technology profile of dolutegravir; an anti-AIDS drug[J]. Chin J New Drugs, 2017, 26(17): 2003
- [5] Martindale: The Complete Drug Reference. 39th edition[S]. 2017: 995
- [6] 穆顺达,郑国华,宋成武,等. 白杨素平衡溶解度、油水分配系数及解离常数的测定[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(6): 997
MU SD, ZHENG GH, SONG CW, *et al.* Measurement of equilibrium solubility, oil-water partition coefficients and dissociation constant of chrysin[J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38(6): 997
- [7] 曾佳,黄婷,李芳,等. RP-HPLC 测定左炔诺孕酮与孕二烯酮表观油水分配系数及平衡溶解度[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(14): 1703
ZENG J, HUANG T, LI F, *et al.* Determination of apparent oil-water partition coefficient and equilibrium solubility of levonorgestrel and gestodene by RP-HPLC[J]. Chin J New Drugs, 2014, 23(14): 1703
- [8] DEZANI AB, PEREIRA TM, CAFFARO AM, *et al.* Equilibrium solubility versus intrinsic dissolution: characterization of lamivudine, stavudine and zidovudine for BCS classification[J]. Braz J Pharm Sci, 2013, 49(4): 853
- [9] 中华人民共和国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 凡例 X III
ChP 2015. Vol II[S]. 2015: General Notice X III
- [10] 金方方,尹婕,南楠. 化学口服固体制剂仿制药质量和疗效一致性评价研究思考[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(4): 575
JIN FF, YIN J, NAN N. Study on quality and efficacy consistency evaluation of chemical oral solid generic drugs[J]. Chin J Pharm Anal, 2018, 38(4): 575
- [11] Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: “Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System” [EB/OL]. Silver Spring. (2017-12-22) [2018-11-05]. [http://www.fda.gov/Drugs/Guidance Compliance RegulatoryInformation/Guidances/default.htm](http://www.fda.gov/Drugs/Guidance%20Compliance%20RegulatoryInformation/Guidances/default.htm)
- [12] 世界卫生组织. 世界卫生组织药品标准专家委员会第 40 次技术报告[M]. 金少鸿,宁保明,译. 北京: 中国医药科技出版社, 2009: 333
WHO. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations Technical Report Series Fortieth Report No. 40[M]. Translated by JIN SH, NING BM. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2009: 333
- [13] European Medicines Agency. Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence[EB/OL]. London. (2001-07-26) [2018-11-05]. https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/note-guidance-investigation-bioavailability-bioequivalence_en.pdf
- [14] 国家食品药品监督管理总局. 人体生物等效性试验豁免指导原则(征求意见稿)[EB/OL]. 北京. (2016-04-08) [2018-11-05]. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0778/149640.html>
China Food and Drug Administration. Human Bioequivalence Test Waiver Guidelines (Draft) [EB/OL]. Beijing. (2016-04-08) [2018-11-05]. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0778/149640.html>
- [15] AMIDON GL, LENNEMAS H, SHAH VP, *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability[J]. Pharm Res, 1995, 12(3): 413

(本文于 2018 年 11 月 14 日收到)