·重大新药创制专项巡礼·

计算机模拟技术与平行人工膜渗透模型在富马酸比索洛尔片生物等效性豁免研究中的应用

郭志渊[1],谢　华[1],雍子宜[2],唐　敏[3],袁　军[1]

(1 四川省食品药品检验检测院,成都 611731;2 成都医学院,成都 610500;
3 四川大学华西药学院,成都 610041)

[摘要] **目的:**采用计算机模拟技术结合平行人工膜渗透模型(the parallel artificial membrane permeability assay,PAMPA),指导国产富马酸比索洛尔片生物等效性豁免的研究。**方法:**首先利用 DDDplus™ 软件评估富马酸比索洛尔片中主成分(active pharmaceutical ingredient,API)及辅料的物理参数对其溶出行为的影响;第 2 步采用 Gastroplus™ 软件的群体模拟实验,模拟药物在体内具有不同释放速率($t_{85\%}$ = 15 ~ 120 min)时的体内吸收情况,计算出不影响生物等效性的释放速率范围;第 3 步测定国产富马酸比索洛尔片、富马酸比索洛尔原料、参比制剂的膜渗透曲线,评估辅料对渗透速率的影响,预测其生物等效性。**结果:**DDDplus™ 模拟结果显示主成分的粒径、各辅料的量和粒径发生变化时,富马酸比索洛尔片的体外溶出行为未发生变化;群体模拟结果显示该药物只要在 90 min 内完全溶出就能满足与参比制剂生物等效;在空腹肠模拟液中,膜渗透速率曲线显示辅料不影响药物的膜渗透,受试制剂与参比制剂渗透速率基本一致,ρ_{max} 和 $AUC_{0\to t}$ 无明显差异。**结论:**计算机模拟技术和平行人工膜渗透模型的结果能为富马酸比索洛尔片的生物等效性豁免提供数据支撑。

[关键词] 富马酸比索洛尔;计算机模拟技术;平行人工膜渗透模型;生物等效性

[中图分类号] R917　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003 - 3734(2021)06 - 0507 - 07

Application of computer simulations and parallel artificial membrane permeability assay in the biowaiver study of bisoprol fumarate tablets

GUO Zhi-yuan[1], XIE Hua[1], YONG Zi-yi[2], TANG Min[3], YUAN Jun[1]

(1 *Sichuan Institute for Food and Drug Control*, *Chengdu* 611731, *China*;2 *Chengdu Medical College*, *Chengdu* 610500, *China*;3 *West China School of Pharmacy*, *Sichuan University*, *Chengdu* 610041, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To evaluate the biowaiver of domestic bisoprolol fumarate tablets using computer simulations and parallel artificial membrane permeability assay (PAMPA). **Methods**: First, DDDplus™ software was used to evaluated the effects of physical parameters of API and excipients on dissolution behavior of bisoprolol fumarate tablets. Second, population simulation using Gastroplus™ software was used to predict the absorption behavior of the drug with different release rates ($t_{85\%}$ = 15 ~ 120 min) and obtain the release rate range which had no effect on bioequivalence. Third, the membrane permeation curves of domestic bisoprolol fumarate tablets, bisoprolol fumarate raw material and reference preparation were determined to evaluate the influence of excipients on permeation rate and predict their bioequivalence. **Results**: The results of DDDplus™ simulation indicated that the *in vitro* dissolution behavior of bisoprolol fumarate tablets did not change when the particle size of API and excipients, or the amount of excipients, or the particle size of excipients changed. The results of population simulation revealed

[基金项目] 国家"重大新药创制"科技重大专项资助项目(2017ZX09101001);四川省科技厅资助项目(2018SZ0001-02)

[作者简介] 郭志渊,女,大学本科,主要从事药物分析及质量控制研究。E-mail:410616402@qq.com。

that the drug preparation could be bioequivalent to the reference preparation as long as it was completely dissolved in 90 minutes. In the jejunum model solution, the membrane permeation rate curve showed that excipients did not affect the membrane permeation behavior of the drug, and the test preparation is bioequivalent with the reference preparation. There was no significant difference in ρ_{max} and $AUC_{0\to t}$. **Conclusion**: The application of computer simulations and PAMPA can provide evidence for the biowaiver study of bisoprolol fumarate tablets.

[**Key words**] bisoprolol fumarate; computer simulations; parallel artificial membrane permeability assay; bioequivalence

富马酸比索洛尔是新一代选择性 β_1-肾上腺素能受体阻滞剂,无内在拟交感活性和膜稳定作用,对肾素分泌有抑制作用[1]。富马酸比索洛尔为生物药剂学分类(BCS)Ⅰ类药物[2],水脂双溶性化合物,口服几乎全部吸收,生物利用度高达 90% 以上,半衰期约为 10 ~ 12 h[3]。FDA 关于速释制剂的生物等效性豁免指导原则[4]中提到 BCS Ⅰ类药物的速释制剂只要满足高溶解性、高渗透性、仿制和参比制剂均为快速溶出且制剂中不含影响主药成分吸收速率和吸收程度的任何辅料即可申请生物等效性豁免。但富马酸比索洛尔片并未被列入《可豁免或简化人体生物等效性(BE)试验品种》目录中,该品种要获得生物等效性豁免难点在于证明仿制制剂的辅料不影响药物的吸收速度和吸收程度。

基于高级房室(advanced compartmental absorption & transit, ACAT)模型和生理药动学(physiologically based pharmacokinetic, PBPK)模型的 GastroPlus™软件可用于药物体内吸收的预测,该软件在建立药物的体内外相关性、进行虚拟生物等效性实验判断生物豁免性等方面有较为广泛的应用[5-7]。DDDPlus™软件可用于模拟 API 及其制剂在体外不同溶出条件下的释放行为,用于评估不同处方、辅料等对体外溶出曲线的影响,帮助筛选制剂处方、制定体外溶出条件,减少体外溶出试验的数量,提高药品研发效率。平行人工膜渗透性模型(PAMPA)是将卵磷脂的有机溶液涂布在聚偏氟乙烯或者聚碳酸酯膜上,形成稳定的人工膜结构,用以测定通过被动渗透机制吸收的药物渗透性[8-9]。PAMPA 在评估口服药物吸收潜力方面优于其他体外方法[10],它不仅可以在 BCS 分类和新药研发中发挥作用,还可以用于指导化合物的处方筛选,预测药物的生物等效性[11-12]。

本文用 DDDPlus™软件预测了富马酸比索洛尔片中主成分及各辅料参数对体外溶出曲线的影响,用 GastroPlus™软件建立富马酸比索洛尔片的生理药动学模型,结合富马酸比索洛尔的 BCS 特性,探讨在体外溶出度实验中具有不同溶出行为的制剂在体内的吸收情况,进而评价富马酸比索洛尔片的辅料对体内吸收可能产生的影响。同时利用 PAMPA 进一步考察了辅料对药物渗透速率、渗透量的影响,预测了国产富马酸比索洛尔片与参比制剂的生物等效性,为国产富马酸比索洛尔片的生物等效性豁免提供数据支撑。

材　　料

1　仪器

2695 － 2489 型 HPLC 仪(美国 Waters 公司);ZKT － 7F 真空脱气仪(天津市天大天发科技有限公司);708 － DS 型溶出仪－ 8000 型溶出自动取样系统(美国安捷伦公司);CPA225D 电子分析天平(德国赛多利斯公司);GastroPlus™软件 V9.7、DDDPlus™软件 V6.0、ADMET Predictor 软件 V7.2(美国 SimulationPlus Inc 公司);μ FLUX™型药物渗透性测试评价系统-Rainbow™原位光纤检测系统(美国 Pion. Inc 公司)。

2　药品与试剂

富马酸比索尔原料(成都苑东生物制药有限公司,批号:160101);受试制剂富马酸比索洛尔片(成都苑东生物制药有限公司,批号:Y160606,规格:5 mg);参比制剂富马酸比索洛尔片(Merck KGaA 公司,批号:22219920,规格:5 mg);富马酸比索洛尔对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100711-201602,纯度:99.7%)。

药物溶出模拟液固体粉末(北京牛牛基因技术有限公司,批号:FFF-0319-B);胃肠道模拟脂质体(美国 Pion Inc. 公司,批号:520616);ASB 缓冲液(美国 Pion Inc. 公司,批号:520668);乙腈、二甲亚砜为色谱纯;盐酸、醋酸钠、冰醋酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二铵、氯化钠、氢氧化钠均为分析纯。

方法与结果

1 溶出曲线测试方法

采用桨法,转速为 75 r·min^{-1},分别以 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 900 mL 为溶出介质,取样时间点分别为 5,10,15 和 30 min,取溶液 5 mL 滤过,并及时补入同体积同温度溶出介质,续滤液作为供试品溶液。另精密量取富马酸比索洛尔对照品适量,分别加入相应的溶出介质,稀释制成每 1 mL 中约含 5.5 μg 富马酸比索洛尔的溶液,作为对照品溶液。采用《中华人民共和国药典》2015 年版富马酸比索洛尔含量测定方法[13],以 0.05 mol·L^{-1}磷酸氢二铵溶液(用磷酸调节 pH 值至 4.5)-乙腈(70∶30)为流动相;检测波长为 225 nm。按外标法,以峰面积计算溶出度。

2 DDDplus 模型搭建的参数

使用 DDDPlus 软件的主要参数设置见表 1,并将制剂处方中各辅料的名称、用量在软件中录入,即可模拟得到不同处方的制剂体外溶出曲线。

表 1 DP 模型中的参数设置

参数	设定值
剂型	片剂
压片压力	30kN
溶出方法	USP Paddle
介质类型	USP Phosphate Buffer 6.8
转速	75 r·min^{-1}

3 GastroPlus 模型搭建的参数

利用 GastroPlus 软件构建富马酸索洛尔片的体内吸收曲线模型。将模型预测的模拟药时曲线同文献[14]中报道的实际药时曲线进行比较,考察模型的准确性。通过建立的模型进行虚拟生物等效性预测。

模型中使用的理化参数见表 2,其中 ACAT 模型采用健康人空腹状态下的肠道各生理参数的软件默认值,PBPK 模型中各组织-血液分配系数采用软件自动计算,具体值见表 3。

表 2 GP 模型建立所需要的参数

参数	数值	来源
分子式	$C_{18}H_{31}NO_4$	—
相对分子质量	325.45	—
不同 pH 下的溶解度		
水	2.24	参考文献[15]
油水分配系数(log*P*)	2.2	参考文献[15]
pKa	9.5	参考文献[15]
扩散系数	0.66×10^{5} cm^2·s^{-1}	ADMET Predictor 7.2 计算
剂量 mg	5/10	—
剂型	片剂	—
游离药物分数(Fup)	70%	参考文献[16]
血液/血浆浓度比(Rbp)	1.11	ADMET Predictor 7.2 计算
渗透性(human)	0.85×10^{-4} cm·s^{-1}	软件优化

表 3 PBPK 模型中各组织/器官的 *Kp* 与 fut 值

组织/器官	游离在组织中的药物浓度 *Kp*	组织中药物游离分数 fut
肺	8.91	0.195
脂肪	1.03	1.689
肌肉	4.29	0.405
肝	10.32	0.168
脾	7.56	0.23
心	5.54	0.314
脑	2.03	0.856
肾	11.19	0.155
皮肤	3.53	0.493
生殖器官	11.19	0.155
红骨髓	2.07	0.841
黄骨髓	1.03	1.689
其他	7.56	0.23

4 PAMPA 试验方法

4.1 试验装置

采用平行人工膜试验测定富马酸比索洛尔原料、富马酸比索洛尔片在被动转运中的渗透速率,测定装置如图 1 所示。

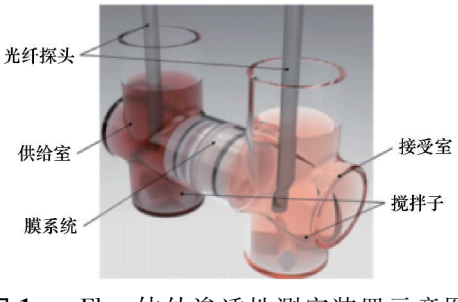


图 1 μFlux 体外渗透性测定装置示意图

该装置分为供药室和接收室(20 mL),供药室中盛有空腹胃肠道模拟液(pH 1.6→6.5,前 30 min 为 pH 1.6 的胃模拟液,30 min 后转换为 pH 6.5 的空腹肠模拟液),接收室中盛有血液模拟液(pH 7.4 的 ASB 缓冲液),中间由仿生膜隔开。在口服药物递送的情况下,供药室代表胃肠道,接收室代表血液,中间的膜代表胃肠道细胞膜。

4.2 溶液的制备

4.2.1 Medium A 空腹肠模拟液 称取 22.4 g 的药物溶出模拟液固体粉末溶于 500 mL 的纯化水中,超声溶解,再加入 500 mL 纯化水,配制成 1 L 的空腹肠模拟液,然后超声 30 min,静置 30 min 备用。

4.2.2 MediumB 磷酸盐缓冲液 取 39.5 g 无水磷酸二氢钠(NaH_2PO_4),12.5 g NaCl,13.4 g NaOH 颗粒,于 1 L 量瓶中,用纯化水溶解并定容至 1 L,混匀即得。

4.2.3 MediumC 胃模拟液 精密量取 30 mL 1 mol·L^{-1}的盐酸溶液,加入 4.5 g NaCl 于量瓶中加纯化水溶解并定容至 1 L,混匀即得。

4.2.4 对照品溶液的制备 取富马酸比索洛尔对照品适量,精密称定,加二甲亚砜溶解并稀释制成每 1 mL 中约含富马酸比索洛尔 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

4.2.5 标准曲线的制备 精密量取对照品溶液适量,分别用 pH 6.5 缓冲液和 ASB 缓冲液稀释制成每 1 mL 中约含富马酸比索洛尔 50 ~ 130 μg·mL^{-1}的系列溶液,作为标准曲线溶液,按照紫外-可见分光光度法[13],以 284 ~ 294 nm 为测定波长,采用二阶导数法校正,以曲线下面积对浓度进行线性回归。

4.3 药物渗透速率测定

取富马酸比索洛尔原料 0.1 g,置 10 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度作为富马酸比索洛尔贮备液;精密量取此贮备液 250 μL,加入盛有 16 mL pH 1.6 MediumC 溶液(胃模拟液 pH 1.6)的供药室中,插入 20 mm 光纤探头,接收室中精密加入 20 mL ASB 缓冲液,插入 5 mm 光纤探头,调节转速为 150 r·min^{-1},在 250 ~ 400 nm 波长范围内,光纤采集系统每隔 30 s 采集供药室及接收室的药物浓度,经半小时后在供药室加入混合液 4 mL(2 mL Medium A 和 2 mL MediumB 混合)(空腹肠道模拟液 pH 6.5),继续采集药物浓度数据至 3 h。以时间为横坐标,药物浓度为纵坐标,绘制曲线。

取富马酸比索洛尔片参比制剂及受试制剂各半片,同法操作。分别比较原料、参比制剂、受试制剂的渗透速率(J),考察辅料对药物渗透速率的影响,根据 120 min 时接收室药物的浓度乘以接收室溶液体积 20 mL 计算出 ρ_{max},按照公式(2)计算出受试制剂 J 和 ρ_{max} 的 90% 置信区间,初步预测受试制剂与参比制剂的生物等效性。

$$J = \frac{dc}{dt} \times \frac{V}{A} \qquad \text{公式(1)}$$

式中 J(Flux)为渗透速率,即药物在单位时间通过单位膜面积的量(μg·min^{-1}·cm^{-2});$\frac{dc}{dt}$为单位时间内受体室中药物浓度的变化速率(μg·mL^{-1}·min^{-1});V 为受体室中缓冲液体积(mL);A 为人工膜面积(cm^2)。

$$90\%\text{ 置信区间上限} = A + \left(\frac{C \times S}{\sqrt{n}}\right);90\%\text{ 置信区间下限} = A - \left(\frac{C \times S}{\sqrt{n}}\right) \qquad \text{公式(2)}$$

式中 A 为测量值的平均值;S 为测量值的标准偏差;n 为样本重复次数;C 为换算系数,与重复次数具有相关性($n = 3$,$C = 2.92$)。

5 体外溶出曲线测定结果

受试制剂和参比制剂在 3 种介质中 15 min 溶出率均达到 85%,符合 FDA 速释制剂的生物等效性豁免指导原则中快速溶出的标准,见图 2。

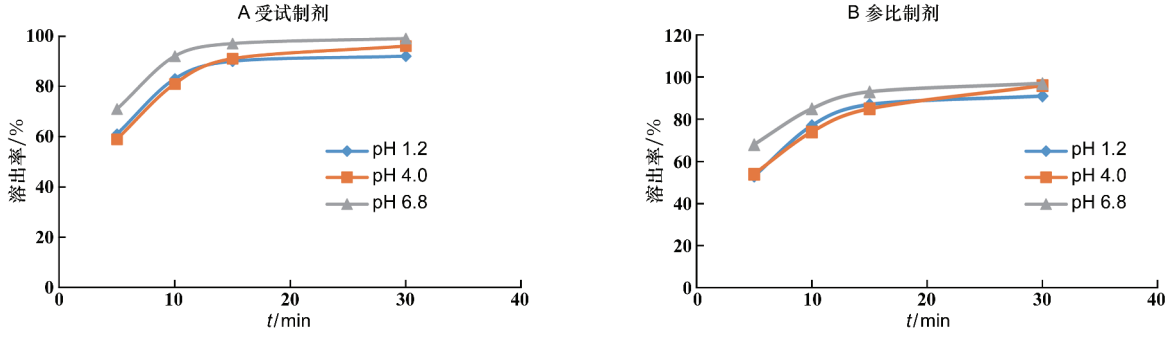


图 2 体外溶出曲线测定结果

6 DDDplus 模型预测制剂工艺对富马酸比索洛尔片体外溶出的影响

药物制剂的溶出行为主要决定于药物的溶解度、粒径、晶型、制剂的处方与制备工艺等[17]，而 BCS Ⅰ类药物的生物等效性豁免还需证明所用辅料对药物的吸收不产生影响。采用 DDDplus 软件的参数灵敏度分析功能，分析了最有可能影响富马酸比索洛尔片药物溶出的参数（包括主成分的粒径、各辅料的量和粒径），结果显示，各参数的变化均不会影响药物的溶出率，药物的溶出率均可达到 99.5% 以上，见图 3。进一步列举了主要辅料崩解剂的量的改变对溶出曲线的影响，结果显示不同崩解剂用量的富马酸比索洛尔片的体外溶出曲线未发生改变，见图 4。

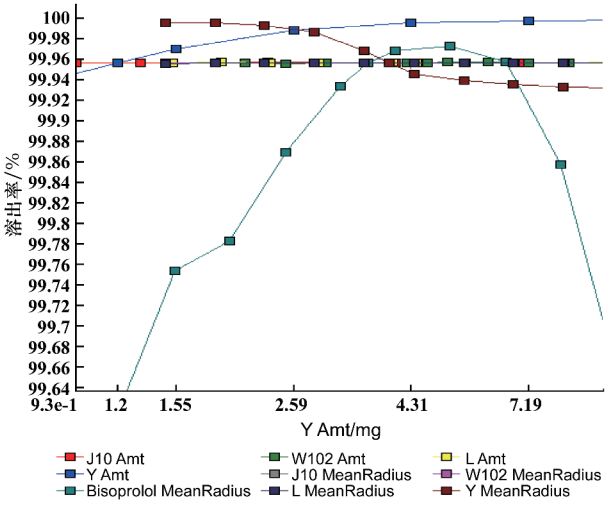


图 3 参数灵敏度分析结果

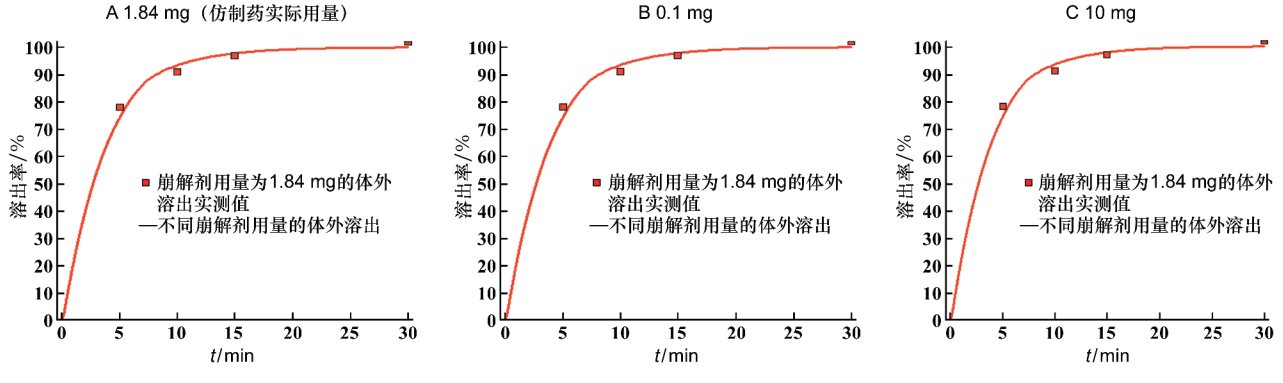


图 4 使用不同量的崩解剂时体外溶出曲线的变化情况

7 GastroPlus 模型预测富马酸比索洛尔片生物等效性

根据参考文献[18-20]中的 PK 数据，搭建并验证了富马酸比索洛尔的 GastroPlus 模型见图 5。

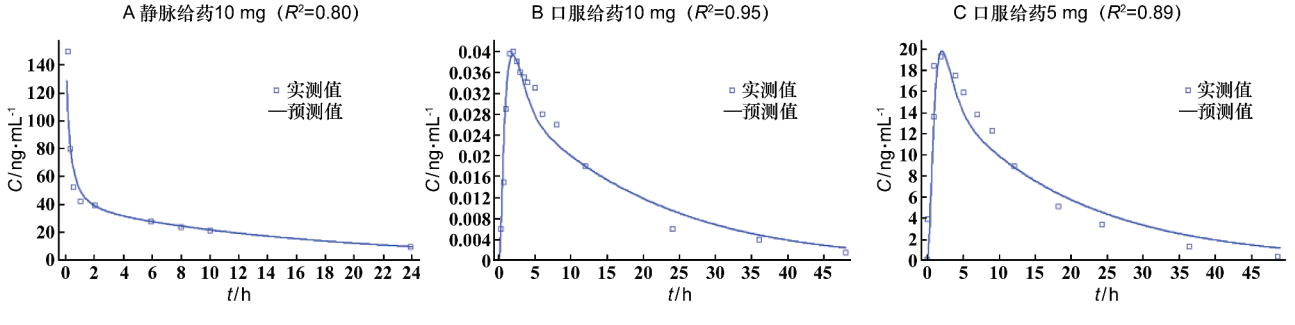


图 5 富马酸比索洛尔 GastroPlus 模型

利用构建的模型，可以模拟出药物在体内的释放和吸收曲线，可以看出，药物到达吸收部位的药物已释出的量远大于该部位的吸收量，见图 6。进一步通过 GastroPlus™ 软件中的群体模拟功能，预测不同释放速率下富马酸比索洛尔片 C_{max} 和 AUC 的差异。在 500 例的虚拟人群模拟实验中，以 15 min 溶出率达到 85%（$t_{85\%}$ = 15 min）的药时曲线的平均 C_{max} 和 AUC 作为参比，考察满足生物等效性标准时富马酸索洛尔片所能接受的最慢释放速度。预测结果显示，以 C_{max} 和 AUC 为指标，当富马酸比索洛尔片释

放速率 $t_{85\%}$ =90 min 时,其几何均值的 90% 置信区间完全在参比几何均值 80% ~125% 内,仍与参比制剂具有生物等效性。当 $t_{85\%}$ =120 min 时,C_{max} 几何均值的 90% 置信区间落在了参比几何均值 80% ~125% 范围外,生物不等效。见图 7。

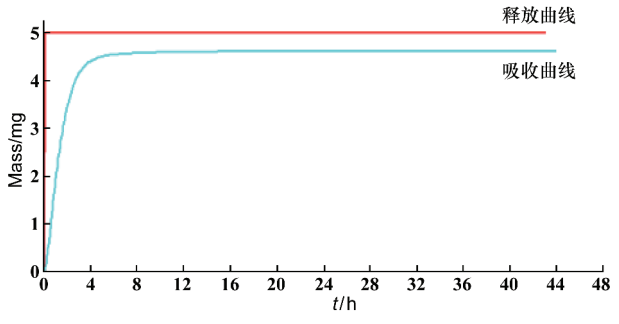


图 6 药物在体内的释放和吸收曲线

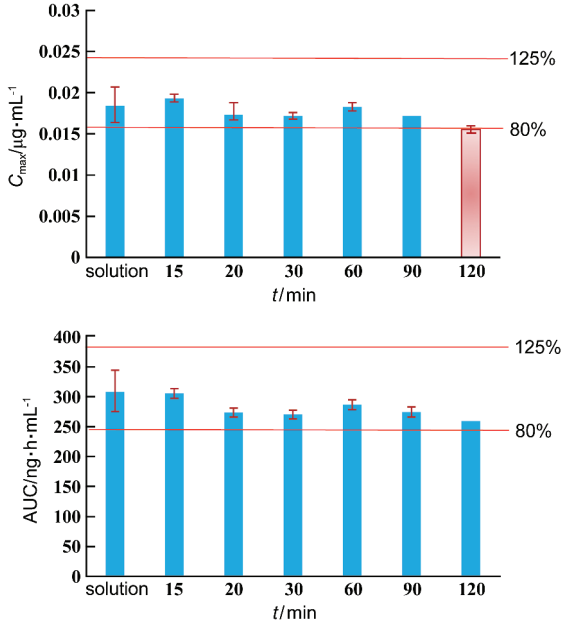


图 7 不同的溶出速率对生物等效性的影响

8 药物渗透速率与生物等效性预测结果

在空腹小肠模拟液(pH 6.5)中富马酸比索洛尔原料、参比制剂、受试制剂从 50 min 开始的渗透速率与时间呈线性相关。选取 60 ~150 min 的数据,在 284 ~294 nm 下进行二阶导数校正,排除辅料的干扰。根据受体室中测得的药物浓度,以时间对浓度进行线性回归,结果见图 8。将线性回归方程中的斜率(即 dc/dt)带入公式(1)中,可计算出药物的渗透速率 J,根据 120 min 时接收室药物的浓度乘以接收室溶液体积 20 mL 计算出 ρ_{max},结果见表 4。

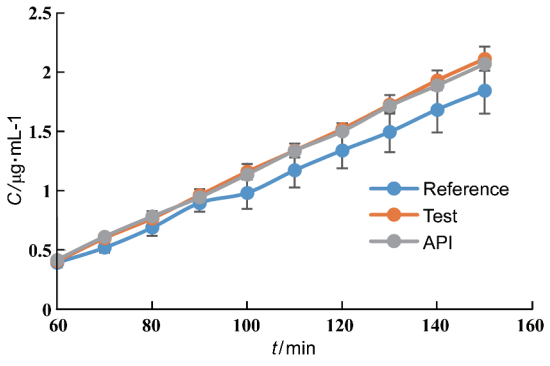


图 8 富马酸比索洛尔渗透速率曲线

表 4 渗透速率与渗透总量测定结果 $n=3$

项目	dc/dt /μg·mL^{-1}·min^{-1}	J /μg·min^{-1}·cm^{-2}	ρ_{max}
原料	0.018 60	0.095 9	—
参比制剂	0.016 63	0.085 7	26.80
受试制剂	0.018 90	0.097 4	30.44

结果显示,受试制剂与参比制剂、原料的渗透速率无明显差异,辅料对药物的渗透性未产生影响;受试制剂渗透速率 J 的 90% 置信区间为 0.017 68 ~0.020 11 μg·min^{-1}·cm^{-2},药物吸收总量(ρ_{max})的 90% 的置信区间为 28.92 ~31.97 μg,分别约为参比制剂的 106.3% ~121.0% 和 107.9% ~119.3%,预测受试制剂与参比制剂生物等效。

讨 论

本文通过计算机模型从多角度证明了富马酸比索洛尔片受试制剂的现有处方中辅料的量、辅料的粒径等参数变化不会对其体外溶出行为产生影响,富马酸比索洛尔的溶出率 15 min 均能达到 85%;通过 GastroPlus 模型的虚拟生物等效性模拟功能,预测富马酸比索洛尔片只要 90 min 内溶出率达到 85%,即不会影响药物的生物等效。结合人工平行膜试验,验证了富马酸比索洛片的辅料未对该药物的渗透速率造成影响,并进一步分析预测了国产富马酸比索洛尔片与参比制剂具有生物等效性。

BCS Ⅰ类药物要获得生物等效性豁免,其难点在于证明仿制制剂的辅料不影响药物的吸收速度和吸收程度,企业需要提供大量的体外实验数据,且要证明其与体内的相关性仍有较大难度。计算机模拟技术与平行人工膜模型指导国产富马酸比索洛尔片

生物等效性豁免的研究省时省力,为 BCS Ⅰ类药物生物等效性豁免的数据研究提供一种新思路。

[参 考 文 献]

[1] 黄峻.《β 受体阻滞剂在心血管疾病中应用的专家共识》精要[J].中华高血压杂志,2011,19(2):109 - 111.

[2] RAMIREZ E, LAOSA O, GUERRA P, *et al*. Acceptability and characteristics of 124 human bioequivalence studies with active substances classified according to the Biopharmaceutic Classification System[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2010, 70(5): 694 - 702.

[3] HORIKIRI Y, SUZUKI T, MIZOBE M. Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol enantiomers in humans[J]. *J Pharm Sci*, 1998, 87(3): 289 - 294.

[4] FDA. Guidance for Industry: Waiver on *In Vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System [EB/OL]. (2017 - 12)[2018 - 02 - 03]. https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070246.pdf.

[5] OKUMU A, DIMASO M, LÖBENBERG R. Computer simulations using GastroPlus™ to justify a biowaiver for etoricoxib solid oral drug products[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 72(1): 91 - 98.

[6] KOVACEVIĆ I, PAROJCIĆ J, HOMSEK I, *et al*. Justification of biowaiver for carbamazepine, a low soluble high permeable compound, in solid dosage forms based on IVIVC and gastrointestinal simulation[J]. *Mol Pharm*, 2009, 6(1): 40 - 47.

[7] WEI H, DALTON C, DIMASO M, *et al*. Physicochemical characterization of five glyburide powders: a BCS based approach to predict oral absorption[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, 69(3): 1046 - 1056.

[8] 吴一凡, 刘晖, 倪京满. 平行人工膜渗透模型及其应用进展[J]. 药学学报, 2011, 46(8): 890 - 895.

[9] KANSY M, AVDEEF A, FISCHER H. Advances in screening for membrane permeability: high-resolution PAMPA for medicinal chemists[J]. *Drug Discov Today Technol*, 2004, 1(4): 349 - 355.

[10] 王洋洋, 黄聪, 王彩君, 等. 基于平行人工膜渗透分析法对药物溶出/吸收仿生系统优化及其药物渗透性评价研究[J]. 药物评价研究, 2019, 42(8): 1544 - 1550.

[11] 赵海云, 刘广桢, 王松, 等. 基于来氟米特的溶解度、渗透性分析初步预测制剂的生物等效性[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(13): 1117 - 1122.

[12] 王琳, 吴斌, 王铁松, 等. 基于孟鲁司特钠咀嚼片渗透速率分析初步预测制剂的生物等效性[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(18): 1511 - 1514.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2015 年版. 二部. 北京: 中国医药科技出版社,2015:121.

[14] 潘瑞雪,高源,陈万里,等. 溶出度实验结合计算机模拟技术评价国产阿莫西林胶囊的生物等效性[J]. 药学学报, 2014, 49(8): 1155 - 1161.

[15] TUTUNJI MF, IBRAHIM HM, KHABBAS MH, *et al*. Simultaneous determination of bisoprolol and hydrochlorothiazide in human plasma by HPLC coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877(16 - 17): 1689 - 1697.

[16] GOMENI R. PHARM: an interactive graphic program for individual and population pharmacokinetic parameter estimation[J]. *Comput Biol Med*, 1984, 14(1): 25 - 34.

[17] DRESSMAN JB, AMIDON GL, REPPAS C, *et al*. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms[J]. *Pharm Res*, 1998, 15(1): 11 - 22.

[18] LI GF, WANG K, CHEN R, *et al*. Simulation of the pharmacokinetics of bisoprolol in healthy adults and patients with impaired renal function using whole-body physiologically based pharmacokinetic modeling[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(11): 1359 - 1371.

[19] SUSANTO L, SETIAWATI E, YUNAIDI, *et al*. Bioequivalence study of two formulations of bisoprolol fumarate film-coated tablets in healthy subjects[J]. *Drug Des Dev Ther*, 2012: 311.

[20] BUŚ-KWAŚNIK K, RUDZKI PJ, KSYCIŃSKA H, *et al*. Bioequivalence study of 2.5 Mg film-coated bisoprolol tablets in healthy volunteers[J]. *Kardiol Pol*, 2017, 75(1): 48 - 54.

编辑:刘卓越/接受日期:2020 - 07 - 26