# 阿奇霉素干混悬剂的制备及体内外评价

史红娟[1]，欧阳旭[2]，王瑞强[2]，王中彦[1]*
（1. 沈阳药科大学，辽宁沈阳 110016；2. 北京悦康科创医药科技股份有限公司，北京 102600）

**摘要**：该研究基于质量源于设计（QbD）理念，开发阿奇霉素（**1**）干混悬剂的处方和工艺。采用二步制粒法制备 **1** 干混悬剂，并通过 Box-Behnken 设计，以制粒时间、外加蔗糖比例、混合时间为自变量，以含量均匀度为因变量优化工艺，所得优化工艺为制粒时间 14 min，外加蔗糖比例 40%，混合时间 44 min。采用优化工艺制备了 3 批工艺验证样品，其含量均匀度均值为 2.3，且在 pH 2.0、4.5、6.0 的介质中溶出行为与参比制剂相似。以三周期部分重复交叉设计进行了自制制剂和参比制剂在健康志愿者体内的生物等效性研究。结果显示，空腹状态下口服自制和参比制剂的 $c_{max}$ 分别为 114.675、114.917 ng/mL，$AUC_{0\to t}$ 分别为 552.41、594.87 h·ng·mL$^{-1}$；餐后 $c_{max}$ 分别为 37.755、32.945 ng/mL，$AUC_{0\to t}$ 分别为 276.66、257.87 h·ng·mL$^{-1}$，参比制剂标定的生物等效性（RSABE）或平均生物等效性（ABE）统计分析结果显示自制与参比制剂生物等效。该研究制备的 **1** 干混悬剂质量和疗效与参比制剂一致。

**关键词**：阿奇霉素；干混悬剂；制粒；生物等效性；高变异药物；Box-Behnken 设计
**中图分类号**：R944.2$^{+}$7　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)08-1216-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.08.011

# Preparation and *in vitro-in vivo* Evaluation of Azithromycin Dry Suspension

SHI Hongjuan[1], OUYANG Xu[2], WANG Ruiqiang[2], WANG Zhongyan[1]*
(*1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016; 2. Beijing YOUCARE Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Beijing 102600*)

**ABSTRACT**: This study developed the formulation and preparation of azithromycin (**1**) dry suspension based on the concept of quality by design (QbD). First, **1** and trisodium phosphate were granulated to improve the taste, then **1** particles and sucrose (grinding) were granulated, followed by mixing with the added sucrose. The second-step granulation and mixing process were optimized by Box-Behnken design with granulation time, adding sucrose ratio after granulation, and mixing time as independent variables and content uniformity as the dependent variable. The optimal process was as follows: granule time was 14 min, adding sucrose ratio was 40%, and mixing time was 44 min. Three batches of process validation samples prepared according to the optimized parameters had an average content uniformity of 2.3. And the dissolution behaviors of self-made preparations (T) and reference preparations (R) were similar in media with pH values of 2.0, 4.5, and 6.0. The bioequivalence between T and R was studied through a three-cycle partially repeated cross-over design in healthy volunteers. The results showed that under fasting conditions, the $c_{max}$ of T and R were 114.675 and 114.917 ng/mL, the $AUC_{0\to t}$ were 552.41 and 594.87 h·ng·mL$^{-1}$; under fed conditons, the $c_{max}$ of T and R were 37.755 and 32.945 ng/mL, the $AUC_{0\to t}$ were 276.66 and 257.87 h·ng·mL$^{-1}$. The statistical analysis results of reference-scaled average bioequivalence (RSABE) or average bioequivalence (ABE) showed that T and R were bioequivalent. The quality and efficacy of the **1** dry suspension prepared in this study were consistent with the reference.

**Key Words**: azithromycin; dry suspension; granulation; bioequivalence; highly variable drug; Box-Behnken design

阿奇霉素（azithromycin，**1**）为第二代大环内酯类抗菌药，通过与 50S 核糖体的亚单位结合，阻碍细菌转肽过程，抑制细菌蛋白质的合成，发挥抗菌作用，可用于治疗支气管炎、肺炎、扁桃体炎、生

**收稿日期**：2023-01-20
**作者简介**：史红娟(1990—)，女，硕士研究生，专业方向：药物制剂研发。
**通信作者**：王中彦(1964—)，男，副教授，从事药物制剂研发工作。
E-mail：wangzhongyanlab@163.com

殖器感染等。**1** 干混悬剂为我国基本药物，其颗粒分布均匀，口服给药后在胃肠道中分布面积大、吸收快，同时可避免胶囊和片剂难吞服的缺点，特别适合儿科用药[1—2]。

**1** 干混悬剂参比制剂为辉瑞公司的“希舒美”，规格每袋 100 mg，口感良好，含量均匀；而部分仿制的 **1** 干混悬剂存在口感差、含量均匀度偏大、生物利用度低的问题。有研究[3—6]尝试采用含药微丸包 Eudragit L 30 D-55 衣层、制备 **1** 树脂复合物、制备固体分散体等策略改善口感，但均需引入新辅料，可能增加体内生物不等效的风险。

本研究基于质量源于设计理念，使用实验设计（design of experiment，DOE）开展处方工艺研究，采用部分重复试验设计进行生物等效性（BE）研究，以期得到与参比制剂体内外质量一致的产品。

## 1 仪器与试药

UDT-812A-12 型万用溶出仪（美国 Logan 公司）；FE28 型 pH 计［梅特勒 - 托利多仪器（上海）有限公司］；1260 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；LC-MS04 型三重四极杆质谱仪（美国 Sciex 公司）；WF-40 型万能粉碎机、YK-60 型和 YK-250 型摇摆颗粒机（常州市震华干燥设备有限公司）；ZF-1.2 $m^2$ 型不锈钢振荡筛（新乡市骏盛机械设备有限公司）；G30 型、G100 型和 G600 型高效湿法制粒机（深圳市信宜特科技有限公司）；FLZB3.0 型和 FLB50 型流化床［创志科技（江苏）股份有限公司］；FBD100 型和 FBD300 型流化床［翰林航宇（天津）实业有限公司］；VH-80L 型和 VH-800L 型 V 型混合机（常州市润邦干燥设备科技有限公司）；DXDK40VI 型自动颗粒包装机（天津市三桥包装机械有限责任公司）。

**1** 原料药（浙江国邦药业股份有限公司，含量 94.9%，批号 103-200223-11）；**1** 对照品（中国食品药品检定研究院，含量 94.3%，批号 130593-202004）；**1**-$^{13}$C-$d_3$（加拿大 Toronto Research Chemicals 公司，含量 93.4%，批号 1523-010A3）；**1** 干混悬剂（参比制剂，辉瑞制药有限公司，规格 0.1 g，批号 DR0624）；蔗糖（广西农垦糖业集团防城精制糖有限公司）；磷酸三钠（江苏科伦多食品配料有限公司）；羟丙纤维素（HPC，美国 Ashland 公司，型号 MF）；黄原胶（湖北葛店人福药用辅料有限责任公司）；香精［森馨香精色素科技（中国）有限公司］；0.22 μm 微孔滤膜（天津市津腾试验设备有限公司，材质聚醚砜）；乙腈为色谱纯，磷酸氢二钠、氢氧化钠、乙酸、乙酸钠、磷酸、盐酸等其他化学试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 含量测定方法

按《中华人民共和国药典》2020 年版（ChP 2020）收载的 **1** 干混悬剂项下含量测定方法测定。

*供试品溶液*：取 **1** 干混悬剂，研细，精密称取适量（约 0.1 g，以 **1** 计），加乙腈溶解，并定量稀释成 **1** 质量浓度为 1.0 mg/mL 的溶液，过 0.22 μm 微孔滤膜，取续滤液备用。

*对照品溶液*：取 **1** 对照品适量，精密称定，加乙腈溶解并定量稀释成 **1** 质量浓度为 1.0 mg/mL 的溶液。

*色谱条件*：色谱柱 Waters XTerra RP18 $C_{18}$ 柱（3.0 mm×150 mm，3.5 μm）；*流动相* 磷酸盐缓冲液（PBS，取 0.05 mol/L 磷酸氢二钾溶液，用 20% 磷酸调至 pH 8.2）和乙腈（体积比 45 ∶ 55）；*流速* 1 mL/min；*柱温* 25 ℃；*检测波长* 210 nm；*进样量* 50 μL。

### 2.2 体外溶出方法

参考 FDA 溶出数据库[7]建立 **1** 干混悬剂的体外溶出度测试方法。采用桨法，桨转速 50 r/min，(37±0.5)℃，溶出介质为 PBS（pH 6.0）900 mL。于 15 min 时取样 10 mL，使用 0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，按“**2.1**”项下方法测定含量。

*溶出曲线*：按上述溶出度测试方法，分别以盐酸（pH 2.0，模拟餐前胃液）、乙酸盐缓冲液（pH 4.5，模拟餐后胃液）和 PBS（pH 6.0，模拟肠液）为溶出介质，分别在 10、15、30、45、60 min 时取溶出液 10 mL（及时补充同温等量相应溶出介质），以 **1** 溶出率为纵坐标、时间为横坐标作图，绘制溶出曲线。

### 2.3 1 溶解度

参考 ICH《M9：基于生物药剂学分类系统的生物等效性豁免》[8]中平衡溶解度检测方法，使用摇瓶法测定。在（37±1）℃下，加入过量 **1** 于不同 pH 值的水性介质中，恒温振摇（120 r/min）使其达

到饱和状态，照“**2.1**”项下方法测定溶液中 **1** 的质量浓度，计算饱和溶解度。结果表明，**1** 在 pH 1.2、2.0、4.5、6.0、7.0、9.0、10.0、11.0 和 12.0 的水性介质中的饱和溶解度分别为（22.75±1.55）、（14.10±1.08）、（11.99±0.55）、（11.60±0.56）、（4.86±0.20）、（0.04±0.01）、（0.03±0.01）、0.01 和 0 mg/mL（$n$=3），可见 **1** 在碱性条件下的饱和溶解度较低。

**2.4**　处方工艺研究

**2.4.1**　预试验处方和工艺

选择与参比制剂相同的处方组成进行预试验，处方用量根据参比制剂反向研究结果以及常规用量进行设计。制备工艺选择二步制粒法[9]。一方面，因为 **1** 溶解度随碱性增强而降低，苦味感也随着 **1** 溶解量的减小而减弱，所以用 **1** 和磷酸三钠制备 **1** 颗粒，可提高微环境 pH 值[10]，降低因 **1** 溶解产生的苦味，改善口感；另一方面，**1** 颗粒和蔗糖颗粒的密度为 0.45 和 0.78 mg/mL，相差较大，并且处方中二者占比相差也较大，易在颗粒混合、分装过程中分层，导致装量和含量均匀度不合格，故将蔗糖粉碎（减小松密度）后再与 **1** 颗粒及其他辅料混合、制粒，以保证均一性。处方组成及用量如表 1 所示。

**表 1　预试验中 1 干混悬剂的处方组成及用量**

Tab.1　Composition and Amounts of **1** Dry Suspension in the Pre-experiment

| 原辅料 | 用量 /mg | 作用分析 |
|---|---|---|
| **1** | 100 | 主药 |
| 蔗糖 | 1 880 | 甜味剂 |
| 磷酸三钠（无水） | 10 | pH 调节剂（掩味剂） |
| HPC | 10 | 黏合剂 |
| 黄原胶 | 10 | 助悬剂 |
| 樱桃粉末香精 | 15 | 矫味剂 |
| 香蕉粉末香精 | 2 | 矫味剂 |
| 奶油香草香精 | 2 | 矫味剂 |
| 总质量 | 2 029 | — |

**1** 颗粒制备：将 **1**、磷酸三钠、HPC 置高效湿法制粒机中，在搅拌转速 240 r/min 条件下混合 5 min；加入纯化水制软材，在搅拌转速 240 r/min、切割转速 1 800 r/min 条件下制粒 5 min，过 710 μm 孔径筛湿整粒；然后在流化床中干燥，控制进风温度为 60 ～ 80 ℃、物料温度为 45 ～ 65 ℃；所得干颗粒过 425 μm 孔径筛整粒。

二步制粒：将蔗糖粉碎、过 250 μm 孔径筛，然后置高效湿法制粒机中，依次加入 **1** 颗粒、黄原胶，在搅拌转速 120 r/min 条件下混合 5 min；使用纯化水制软材，在搅拌转速 120 r/min、切割转速 2 300 r/min 条件下制粒 5 min，过 710 μm 孔径筛湿整粒，在流化床中干燥，控制进风温度为 55 ～ 75 ℃、物料温度为 40 ～ 60 ℃，过 600 μm 孔径筛干整粒。

总混、分装：将二步制粒所得的颗粒和香精置混合机中混合 30 min，分装。

**2.4.2**　处方筛选

在预试验处方和工艺的基础上分别对原料药粒径、磷酸三钠、HPC、黄原胶用量进行单因素考察，结果如表 2 所示。结果显示，原料药粒径主要影响溶出率，随着粒径增加，溶出率降低，当 $d$(0.9) ≤ 300 μm 时可保证溶出率合格；磷酸三钠用量为每袋 5 mg 时口感苦，增加至每袋 10 mg 以上就可明显改善口感；黄原胶用量为 10 mg 即可保证沉降体积比大于 0.90。各处方含量均匀度（$Y_1$，设 $Y_1$=$A$+2.2$S$）符合规定（$Y_1$ 计算结果均小于 20），但所得制品的 $Y_1$ 值与参比制剂相比均偏高。

**2.4.3**　工艺优化

初步研究显示，二步制粒和混合工艺对混合均一性存在影响，其中制粒时间（$A$）、外加蔗糖（过 600 μm 孔径筛）比例（$B$）、混合时间（$C$）对颗粒的影响存在相互作用，因此以这 3 个因素作为自变量开展 DOE 以确定设计空间[11]。以表 3 所示的因素水平，按“**2.4.1**”项下方法制备 17 种不同处方工艺的 **1** 干混悬剂，所得制品口感均无明显苦味，按“**2.1**”“**2.2**”项下方法检测含量、溶出度，结果如表 4 所示；以 $Y_1$ 为主要考察指标进行响应面分析，结果如图 1 所示。

采用 Design Expert 12.0 软件以 $A$、$B$、$C$ 为自变量、$Y_1$ 为因变量进行模型拟合及方差分析。结果显示，拟合模型 $P$<0.05，表明模型有效；失拟项 $P$>0.05，表明模型的预测结果与实际结果有较好的拟合度，能用于 **1** 干混悬剂的处方筛选。通过方差分析对含量均匀度的 $F$ 值和 $P$ 值进行评估，结果显

**表 2 处方参数筛选及结果**

Tab.2 Screening and Results of Prescription Parameters

| 受试处方[1)] | 处方变量 | pH 值 | 沉降体积比 | 休止角 /(°) | 含量均匀度 ($Y_1$) | 溶出率 /% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 参比制剂 | — | 11.0 | 0.92 | 40 | 4.6 | 93 |
| 预试验处方 | — | 10.9 | 0.93 | 38 | 7.8 | 96 |
| 调整原料药粒径［$d$(0.9)］处方 | 202 μm | 10.8 | 0.92 | 38 | 10.5 | 99 |
| | 356 μm | 10.6 | 0.92 | 36 | 12.3 | 91 |
| | 436 μm | 10.9 | 0.92 | 37 | 13.2 | 80 |
| 调整磷酸三钠用量处方 | 5 mg | 9.6 | 0.92 | 38 | 14.2 | 96 |
| | 10 mg | 10.6 | 0.92 | 39 | 12.3 | 94 |
| | 15 mg | 11.2 | 0.92 | 40 | 13.1 | 93 |
| 调整黄原胶用量处方 | 5 mg | 10.8 | 沉淀 | 38 | 12.8 | 93 |
| | 10 mg | 10.7 | 0.92 | 39 | 13.1 | 95 |
| | 15 mg | 10.8 | 0.95 | 38 | 12.9 | 94 |

注：[1)] 除磷酸三钠用量为 5 mg 的处方为“口感苦”以外，其他各试验处方及参比制剂均为“入口甜，无明显苦味”。

**表 3 Box-Behnken 设计的因素和水平**

Tab.3 Factors and Levels for Box-Behnken Design

| 因素 | 水平 | | |
|---|---|---|---|
| | 低 | 中 | 高 |
| *A*/min | 5 | 10 | 15 |
| *B*/% | 30 | 50 | 70 |
| *C*/min | 30 | 45 | 60 |

**表 4 工艺参数检测结果**

Tab.4 Results of Process Parameters

| 序号 | *A*/min | *B*/% | *C*/min | $Y_1$/% | 溶出率/% |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 70 | 45 | 11.6 | 95 |
| 2 | 15 | 50 | 60 | 2.9 | 92 |
| 3 | 10 | 50 | 45 | 4.2 | 94 |
| 4 | 5 | 50 | 30 | 14.8 | 94 |
| 5 | 10 | 50 | 45 | 4.0 | 93 |
| 6 | 15 | 50 | 30 | 4.6 | 93 |
| 7 | 10 | 50 | 45 | 5.2 | 96 |
| 8 | 15 | 30 | 45 | 2.0 | 93 |
| 9 | 10 | 50 | 45 | 4.6 | 93 |
| 10 | 15 | 70 | 45 | 8.9 | 94 |
| 11 | 10 | 70 | 30 | 11.8 | 93 |
| 12 | 10 | 70 | 60 | 9.9 | 93 |
| 13 | 10 | 30 | 60 | 5.3 | 94 |
| 14 | 5 | 30 | 45 | 12.9 | 94 |
| 15 | 10 | 30 | 30 | 9.3 | 95 |
| 16 | 10 | 50 | 45 | 5.3 | 94 |
| 17 | 5 | 50 | 60 | 10.6 | 96 |

示因素 *A*、*B* 和 *C* 对含量均匀度均有显著影响，因素 *A* 和 *B* 的相互作用对含量均匀度影响显著，因素 *A* 和 *C*、*B* 和 *C* 的相互作用对含量均匀度的影响不显著。根据拟合结果得到的优化制备工艺为：制粒时间 14 min、外加蔗糖比例 40%、混合时间 44 min，此时 $Y_1$ 预测值为 1.7。

**2.4.4** 优化处方工艺的验证

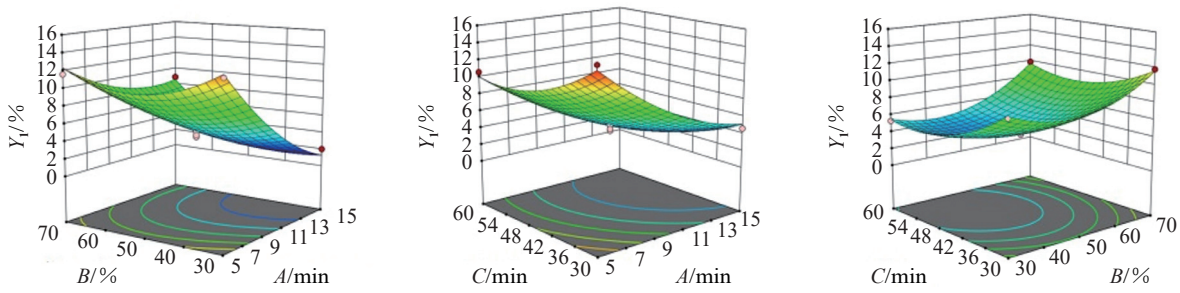
基于“**2.4.3**”项下的优化工艺进行放大样品制备，批量为每批 10 万袋，共 3 批。放大前后工艺参数对比如表 5 所示。3 批样品的 $Y_1$ 均值为 2.3，与预测值相差较小；在不同 pH 介质中的溶出曲线均与参比制剂相似，且 3 批样品的批间差异小（图 2）。上述结果表明，建立的优化工艺稳定、可靠，能达到 **1** 干混悬剂的制备要求。

**2.5** 血样分析方法选择

**2.5.1** HPLC-MS/MS 检测方法

液相条件：色谱柱 Agilent ZORBAX SB $C_{18}$ 柱（2.1 mm×50 mm，3.5 μm）；流动相 A 为 5 mmol/L 甲酸铵溶液（含 0.1%甲酸），B 为乙腈，梯度洗脱（0—0.01 min：A 75%，0.01—1.10 min：A 75%—5%，1.10—2.10 min：A 5%，2.10—2.20 min：A 5%—75%，2.20—3.50 min：A 75%）；流速 0.45 mL/min；柱温 40 ℃；自动进样器温度 5 ℃；进样量 6.00 μL。

质谱条件：离子源 电喷雾离子化源（ESI）；电离方式 正离子；检测模式 多反应监测（MRM）；离子源参数 气帘气（CUR）206.8 kPa，碰撞气（CAD）55.2 kPa，离子喷雾电压（IS）5 500 V，离子化温度（TEM）550.0 ℃，喷雾气（GS1）310.3 kPa，辅助气（GS2）344.7 kPa。**1** 和 **1**-$^{13}$C-$d_3$：检测离子 *m*/*z* 749.7 → *m*/*z* 591.4 和 *m*/*z* 753.6 → *m*/*z* 595.6，去簇电压（DP）130 和 120 V，裂解电压（CE）41.0 和 40.0 eV，入口电压（EP）10.0 和 10.0 V，碰撞室出口电压（CXP）15.0 和 15.0 V，驻留时间 200 和 200 ms。




A　　B　　C

A—因素$A$、$B$对$Y_1$的影响；B—因素$A$、$C$对$Y_1$的影响；C—因素$B$、$C$对$Y_1$的影响。

**图 1　3 个自变量对含量均匀度影响的三维响应面图**

Fig.1　Three-dimensional Response Surface Plots Showing the Impacts of Three Independent Variables on Content Uniformity

**表 5　小试和中试工艺参数的对比**

Tab.5　Comparison of Process Parameters between Small- and Pilot-scale Tests

| 对比项目 | | | 阶段 | | 变化 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 小试（每批 1 万袋） | 放大（每批 10 万袋） | |
| 设备信息 | | 湿法混合制粒机型号 | G30（5 L、30 L） | G100、G600 | 选择合适型号的设备，使产能与批量相匹配 |
| | | 流化床 | FLZB3.0、FLB50 | FBD100、FBD300 | |
| | | 摇摆式颗粒机 | YK-60 | YK-250 | |
| | | V 型混合机 | VH-80L | VH-800L | |
| 一步制粒 | 混合 | 搅拌速度（$W$）/（r·min$^{-1}$） | 240 | 140 | 线性放大，基于 Froude 数，保持制粒时间和加水量恒定，根据 $W_2/W_1=[$ 搅拌桨直径（$D$）$_1/D_2]^{0.5}$ 计算 $W$，根据物料分散状态调整剪切速度 |
| | | 时间 /min | 5 | 5 | |
| | 制粒 | $W$/（r·min$^{-1}$） | 240 | 140 | |
| | | 剪切速度 /（r·min$^{-1}$） | 1 800 | 1 500 | |
| | | 加水量 /% | 30 | 30 | |
| | | 时间 /min | 5 | 5 | |
| | 干燥 | 进风温度 /℃ | 60 ～ 80 | 60～80 | 一致 |
| | | 片床温度 /℃ | 45 ～ 65 | 45～65 | |
| | 干整粒 | 筛网孔径 /μm | 425 | 425 | 一致 |
| 二步制粒 | 混合 | $W$/（r·min$^{-1}$） | 120 | 65 | 线性放大，基于 Froude 数，保持制粒时间和加水量恒定，根据 $W_2/W_1=[$ 搅拌桨直径（$D$）$_1/D_2]^{0.5}$ 计算 $W$，根据物料分散状态调整剪切速度 |
| | | 时间 /min | 5 | 5 | |
| | 制粒 | $W$/（r·min$^{-1}$） | 120 | 65 | |
| | | 剪切速度 /（r·min$^{-1}$） | 2 300 | 1 500 | |
| | | 加水量 /% | 25 | 25 | |
| | | 时间 /min | 14 | 14 | |
| | 干燥 | 进风温度 /℃ | 55 ～ 75 | 55 ～ 75 | 一致 |
| | | 片床温度 /℃ | 40 ～ 60 | 40 ～ 60 | |
| | 干整粒 | 筛网孔径 /μm | 600 | 600 | 一致 |
| 总混 | 混合 | 混合转速 /（r·min$^{-1}$） | 10 | 10 | 一致 |
| | | 混合时间 /min | 44 | 44 | |

**2.5.2**　溶液配制和样品处理

内标工作液制备：精密称取 **1** 对照品适量，用甲醇溶解并稀释为 5.00 mg/mL 的贮备液，用 50% 甲醇溶液定量稀释，得 100 ng/mL 的内标工作液。置 －20 ℃冰箱中保存。

样品处理：精密移取室温下解冻的血浆样品 80 μL，置 96 孔板中；加入内标工作液 50 μL 和乙腈 250 μL，于 2 500 r/min 涡旋 3.0 min 后再于 4 ℃离心（14 500×$g$）5 min，取上清液 100 μL 于 96 孔板中，加纯水 100 μL，1 500 r/min 涡旋 3.0 min，混

合均匀。

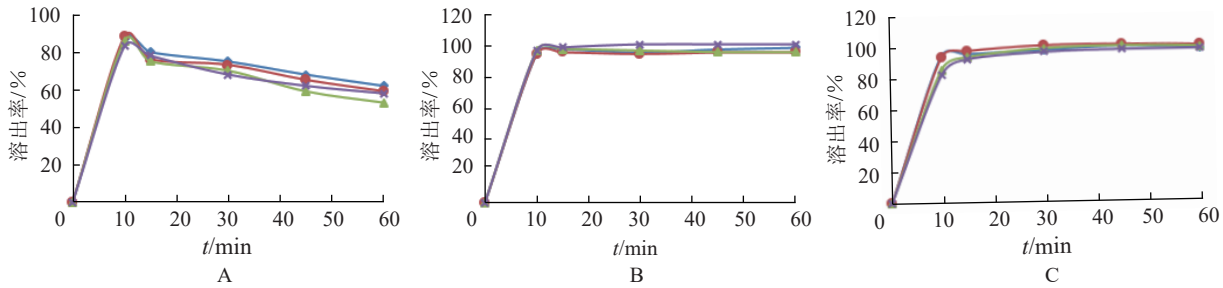
**2.5.3** 方法学验证

参考 ChP 2020 版四部通则 9012 生物样品定量分析方法验证指导原则及相关文献[12]进行方法学验证。结果表明：空白血浆对待测物和内标无干扰，内标和待测物相互之间也无明显干扰，选择性良好，典型图谱如图 3 所示；**1** 的质量浓度（$c$）为 1 ～ 300 ng/mL 时与响应值（待测物与内标峰面积的比值，$y$）线性关系良好，标准曲线方程 $y$=0.010 7$c$－0.000 733（$R$=0.996 4）；LOQ 为 1.00 ng/mL；**1** 的 LOQ、低、中、高 4 个质量浓度水平质控样品的批内、批间精密度均不超过 15%，批内准确度偏差为 2.40%～ 15.53%，批间准确度偏差为 14.4%；**1** 低、中、高浓度样品的提取回收率分别为 93.4%、92.3%、92.9%，**1**-$^{13}$C -$d_3$ 的提取回收率为 91.7%。基质效应、溶血效应、高脂效应均符合要求，表明该法可用于人血浆中 **1** 含量测定。

**2.6** BE 研究

**2.6.1** 受试者选择

本试验经过长沙市中心医院伦理委员会审查通过（[2021]014 号）。受试者需满足以下条件：身体健康，年龄 18 ～ 60 周岁，男女均可；男性受试者体质量≥ 50.0 kg，女性受试者体质量≥ 45.0 kg，体质量指数（BMI）为 19 ～ 26 kg/m$^2$；无药物过敏史，4 周内未接受过外科手术，14 d 内未服用过任何药物或保健品，30 d 内未使用任何抑制或诱导肝脏代谢的药物；对 **1**、红霉素、其他大环内酯类或酮内酯类药物不过敏；既往使用 **1** 后无胆汁淤积性黄疸或肝功能不全病史；对饮食无特殊要求，能遵守统一饮食要求，对乳糖耐受；2 周内无接种疫苗史或试验期间无疫苗接种计划；可接受静脉穿刺采血；查体生命体征无异常等。受试者均需要签署知情同

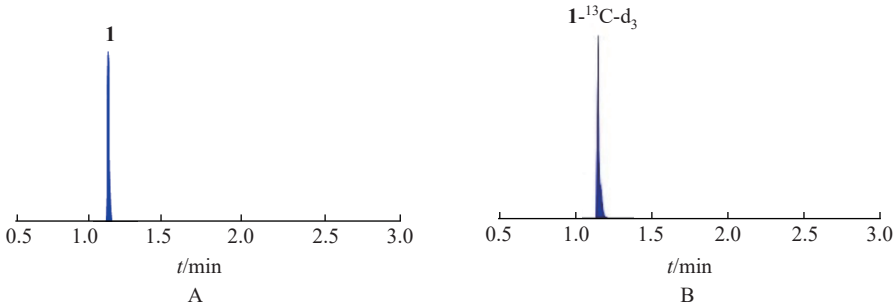



A—盐酸（pH 2.0）；B—乙酸盐缓冲液（pH 4.5）；C—PBS（pH 6.8）。

◆—参比制剂；●—批次1；▲—批次2；×—批次3。

**图 2 3 批工艺验证样品在不同 pH 介质中体外溶出曲线**（$n$=12）

Fig.2 *In vitro* Dissolution Profiles of Three Batches of Process Validation Samples in Various pH Media（$n$=12）




A—含 **1** 的 LOQ 样品；B—含 **1**-$^{13}$C-$d_3$ 的 LOQ 样品。

**图 3 典型色谱图**

Fig.3 Typical LC-MS/MS Chromatograms

意书。

**2.6.2** 试验设计

参考 FDA 对 **1** 干混悬剂的 BE 指南[13]的要求，开展空腹、餐后条件下的 BE 研究。文献[14]报道本品最大个体内变异系数达到 30%，故设计为单中心、随机、开放、三周期、自身交叉、单次口服给药。入组健康受试者共 42 人，随机分为 3 组，每组 14 人。

*空腹给药方法*：受试者给药前禁食 10 h 以上，试验当天早上空腹条件下服用受试制剂或参比制剂 1 袋（用水 240 mL 溶解药物，搅匀后服用），服药前后 1 h 内禁止饮水，服药后 4 h 内禁食。21 d 后进行第 2 周期服药，再过 21 d 后进行第 3 周期服药，给药剂量和给药方式同第 1 周期。

*餐后给药方法*：受试者当日给药前 30 min 时开始进食高脂餐，并在 30 min 内用餐完毕，餐毕准时服用受试制剂或参比制剂 1 袋，其余同空腹给药。

在给药前（0 h）及给药后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、10、12、24、48、72 h 时采集静脉血 4 mL 于肝素钠抗凝管中，离心（2 200×*g*）10 min，分离血浆，置 －20 ℃冰箱中保存，待 1 个周期采血结束后转移至 －80 ℃冰箱中保存。按“**2.5.2**”项下方法处理血浆样品，按“**2.5.1**”项下条件进行测定。

**2.6.3** 体内试验结果

将受试制剂（工艺验证批批次 1，T）与参比制剂（R）进行空腹和餐后条件下的 BE 研究，所得主要药动学参数如表 6 所示，平均药 - 时曲线如图 4 所示。参考《高变异药物生物等效性研究技术指导原则》[15]，采用 SAS 9.4 软件对主要药动学参数（AUC、$c_{max}$）进行 BE 评价。通过参比制剂标定的生物等效性（RSABE）计算参比制剂的主要药动学（PK）参数的个体内标准差（$S_{WR}$）。若 $S_{WR}$<0.294（即个体内变异 <30%时），采用平均生物等效性（ABE）方法评价 BE；若 $S_{WR}$ ≥ 0.294，采用 RSABE 方法评价 BE。

**表 6　口服 T 与 R 后的主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$）**

Tab.6　Main Pharmacokinetic Parameters after Oral Administration of T and R（$\bar{x}\pm s$）

| 给药时状态 | 参数 | T（$n$=42） | R（$n$=84） |
|---|---|---|---|
| 空腹 | $t_{max}$/h | 2.50（1.00，6.00） | 2.50（1.00，24.00） |
| | $c_{max}$/（ng·mL$^{-1}$） | 114.675±43.200 | 114.917±48.346 |
| | $AUC_{0\to t}$/（h·ng·mL$^{-1}$） | 552.41±116.40 | 594.87±360.10 |
| | $t_{1/2}$/h | 32.77±6.71 | 32.71±5.87 |
| | $\lambda_z$/h$^{-1}$ | 0.022 0±0.004 3 | 0.021 8±0.003 7 |
| 餐后 | $t_{max}$/h | 2.50（0.50，10.00） | 2.76（0.50，24.00） |
| | $c_{max}$/（ng·mL$^{-1}$） | 37.755±28.661 | 32.945±29.938 |
| | $AUC_{0\to t}$/（h·ng·mL$^{-1}$） | 276.66±140.03 | 257.87±118.24 |
| | $t_{1/2}$/h | 29.54±12.34 | 38.73±62.22 |
| | $\lambda_z$/h$^{-1}$ | 0.026 8±0.010 1 | 0.025 4±0.009 9 |

空腹给予 **1** 时 $c_{max}$ 的个体内变异 >30%，故采用 RSABE 判断标准：$c_{max}$ 的点估计值为 1.01，落

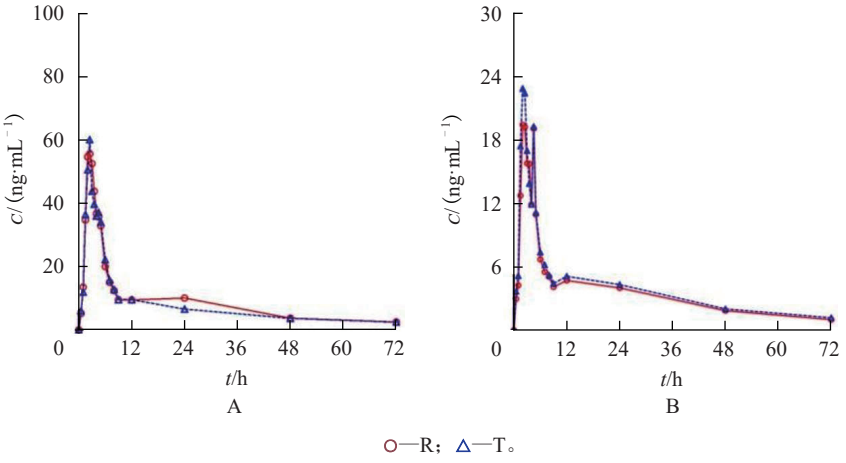



**图 4　空腹（A）及餐后（B）口服 T 和 R 的血浆样品的药 - 时曲线图**

Fig.4　Plasma Concentration-time Curves after Oral Administration of T and R under Fasting（A）and Fed（B）Conditions

在 0.8 ～ 1.25，95％置信限（CI）上限小于 0，符合生物等效性判定标准；$AUC_{0\to t}$ 的个体内变异 < 30%，故采用 ABE 判断标准：$AUC_{0\to t}$ 的几何均值比为 97.53％，90％ CI 为 89.72％～ 106.03％，落在 80.00％～ 125.00％，$AUC_{0\to t}$ 的双向单侧 $t$ 检验的 $P$ 值 <0.05，符合 BE 判定标准。$t_{max}$ 的秩和检验结果显示，**1** 在受试制剂与参比制剂之间的差异无统计学意义（$P$=0.547）。

餐后给予 **1** 时 $c_{max}$、$AUC_{0\to t}$ 的个体内变异均 > 30%，故采用 RSABE 判断标准：$c_{max}$、$AUC_{0\to t}$ 的点估计值分别为 1.10 和 1.05，落在 0.8 ～ 1.25；95％ CI 上限均小于 0，符合 BE 判定标准。$t_{max}$ 指标分析表明，2 种制剂 $t_{max}$ 总体分布中位数之间的差异无统计学意义（$P$=0.101）。

## 3 结论

本研究采用二步制粒法制备 **1** 干混悬剂，以 Box-Behnken 设计对二步制粒和混合工艺进行优化，在试验次数较少的前提下获得较优的工艺参数，确保本品含量均匀度符合要求（$Y_1$ 值较小）。**1** 血药浓度采用 HPLC-MS/MS 法进行检测，基于 ChP 2020 中生物样品定量分析方法验证指导原则，对方法学内容进行全面验证，结果表明该方法可准确测定人体血浆中 **1** 的浓度。**1** 为高变异药物，生物等效性试验难度较大，但经过药学及临床研究中合理的方案设计（三周期部分重复试验）验证，空腹及餐后条件下自制制剂与参比制剂生物等效。综上所述，自制制剂与参比制剂的质量、疗效一致，为 **1** 干混悬剂的仿制积累了试验数据。

## 参考文献：


[1] 贾文君, 仝立卿. 不同厂家阿奇霉素干混悬剂的溶出度比较[J]. 中国药物评价, 2017, **34**(4): 258-260.

[2] 吴一凡, 刘福利, 王亚敏. 儿童用口服溶液剂研发及审评中的药学关注问题[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(11): 1579-1582.

[3] 江西赣南海欣药业股份有限公司. 一种阿奇霉素干混悬剂: 中国, 109875965A [P]. 2019-06-14.

[4] 王腾飞, 张先华, 王　丽. 阿奇霉素固体分散体制备工艺研究[J]. 中国药业, 2020, **29**(3): 31-34.

[5] 中国药科大学. 一种释药速度可控的阿奇霉素树脂复合物及其掩味干混悬剂: 中国, 108014120A [P]. 2018-05-11.

[6] 北京科信必成医药科技发展有限公司. 一种阿奇霉素掩味的干混悬颗粒剂及其制备方法: 中国, 105982858A [P]. 2016-10-05.

[7] FDA. Dissolution methods database – azithromycin for oral suspension [EB/OL]. (2006-08-17) [2022-12-01]. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults.cfm.

[8] ICH. ICH M9 – biopharmaceutics classification system-based biowaivers [EB/OL]. (2019-11-20) [2022-12-01]. https://www.ich.org/page/search-index-ich-guidelines.html.

[9] 华裕(无锡)制药有限公司. 阿奇霉素干混悬剂的制备方法: 中国, 110151704A [P]. 2019-08-23.

[10] STEPHENSON G A, ABURUB A, WOODS T A. Physical stability of salts of weak bases in the solid-state [J]. *J Pharma Sci*, 2011, **100**(5): 1607-1617.

[11] 孙钦勇, 牟艳芳, 张　朝, 等. 他达拉非口腔崩解片的制备及体内外评价[J]. 中国医药工业杂志, 2021, **52**(12): 1630-1637.

[12] 潘　静, 龚志成. 人血浆中伊马替尼的LC-MS/MS法测定及生物等效性评价[J]. 中国医药工业杂志, 2015, **46**(9): 991-995.

[13] FDA. Product-specific guidances for generic drug development [EB/OL]. (2008-01-01) [2022-12-01]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs Draft Guidance on Azithromycin.

[14] FDA. Azithromycin for oral suspension lable [EB/OL]. (2019-04-24) [2022-12-01]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label.

[15] 国家药品监督管理局药品审评中心. 高变异药物生物等效性研究技术指导原则[EB/OL]. (2018-10-29) [2022-11-30]. https://www.cde.org.cn/zdyz/fullsearchpage.html.