

ICS

点击此处添加中国标准文献分类号

团 体 标 准

T/CVMA XXXXX—XXXX

猪内服药物生物药剂学分类系统的建立

Establishment of biopharmaceutics classification system (BCS) for porcine oral drugs

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国兽医协会 发布

中国兽医协会
CVMA

目录

前言.....	1
1 范围.....	2
2 规范性引用文件.....	2
3 术语和定义.....	2
3.1 生物药剂学分类系统 Biopharmaceutics Classification System, BCS.....	2
3.2 药物有效渗透性系数 Effective permeability, P_{eff}	2
4 原理.....	2
5 器材和试剂.....	3
5.1 器材.....	3
5.2 试剂.....	3
5.3 实验动物.....	4
6 方法/实验步骤.....	4
6.1 溶液的配制.....	4
6.2 药物含量测定.....	4
6.3 溶解性的测定.....	5
6.4 药物最大使用剂量的确定.....	5
6.5 猪采食状态的胃液体积计算.....	5
7 P_{eff} 测定.....	6
7.1 猪的麻醉.....	6
7.2 猪在体小肠灌流.....	6
7.3 P_{eff} 的计算.....	6
8 猪内服药物 BCS 的分类标准.....	6
附录 A (资料性)	8
A.1 Clark-Lubs 缓冲液的配置.....	8
A.2 猪在体小肠单向灌流实验装置.....	9

中国兽医协会
CVMA

前言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由华中农业大学提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位：华中农业大学、中国农业大学。

本文件主要起草人：谢书宇、郝智慧、陈冬梅、曹兴元、李振霞、潘源虎、郝海红、瞿玮、王旭。

中国兽医协会
CVMA

猪内服药物生物药剂学分类系统的建立

1 范围

本文件规定了猪内服药物生物药剂学分类系统的分类标准。

本文件适用于对猪内服药物进行生物药剂学分类系统的分类，指导兽药临床合理用药活以及性成分的筛查、内服剂型的设计以及猪内服仿制药的开发。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 生物药剂学分类系统 Biopharmaceutics Classification System, BCS

是根据药物溶解度和渗透性对药物进行分类的一种科学体系，是从生物药剂学角度制定口服药物处方研发策略的有力工具。

[来源：GB/T 20000.1]

3.2 药物有效渗透性系数 Effective permeability, P_{eff}

药物在动物肠道单位体积透过的效率。

[来源：GB/T 20000.1]

4 原理

生物药剂学分类系统是根据药物溶解度和渗透性对药物进行分类的一种科学体系，是从生物药剂学角度制定内服药物处方研发策略的有力工具。根据药物的溶解性和渗透性的高低可将药物分为4类，即第I类：高溶解度、高渗透性；第II类：低溶解度、高渗透性；第III类：高溶解度、低渗透性；第IV类：低溶解度、低渗透性。目前，国内外尚无猪内服药物的BCS分类标准。

借鉴FDA指导原则，采用摇瓶法测定药物平衡溶解度并结合猪胃肠道的生理参数建立溶解性分类标准。高溶解性定义为：在39℃下，pH在2.0~7.5范围，药物的单次最大使用剂量能够完全溶解于采食状态的猪胃液体积内，该药物则为高溶解性药物。反之，则为低溶解性药物。

根据FDA指导原则，高渗透性的判定与药物在猪的内服生物利用度有直接联系。本标准将渗透性系数(P_{eff})值与药物的内服生物利用度进行相关性分析，以 P_{eff} 值为依据建立猪常用内服药物BCS渗透性分类标准。通过统计分析显示内服生物利用度 $\geq 85\%$ 的药物的 $P_{eff} \geq 21.63 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$ 。因此，药物在猪在体小肠单向灌流试验在十二指肠和回肠的 $P_{eff} \geq 21.63 \times 10^{-3} \text{ cm/min}$ 即为高渗透性，反之则为低渗透性。

5 器材和试剂

5.1 器材

5.1.1 色谱仪：如高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱法（GC）、液相色谱-质谱联用法（LC-MS）、气相色谱-质谱联用法（GC-MS）。

5.1.2 色谱柱 C18(250 mm×4.6 mm×5 μm)。

5.1.3 紫外-可见分光光度计。

5.1.4 电子分析天平。

5.1.5 pH 测定仪。

5.1.6 恒温摇床。

5.1.7 离心机。

5.1.8 蠕动泵。

5.1.9 硅胶管。

5.1.10 高速冷冻离心机。

5.1.11 超声波清洗机。

5.1.12 超纯水仪。

5.1.13 微型漩涡震荡仪。

5.1.14 恒温磁力搅拌器。

5.1.15 全自动高压灭菌器。

5.1.16 恒温水浴锅。

5.2 试剂

5.2.1 盐酸（分析纯）。

5.2.2 邻苯二甲酸氢钾（分析纯）。

5.2.3 磷酸二氢钾（分析纯）。

5.2.4 硼酸（分析纯）。

5.2.5 氯化钾（分析纯）。

5.2.6 氢氧化钠（分析纯）。

5.2.7 草酸（分析纯）。

5.2.8 磷酸（分析纯）。

5.2.9 氨水（分析纯）。

5.2.10 甲酸（分析纯）。

5.2.11 甲醇（色谱纯）。

5.2.12 乙腈（色谱纯）。

5.2.13 Krebs-Ringer 缓冲液。

5.2.14 其他试剂均为分析纯。

5.3 实验动物

5.3.1 商品猪。

6 方法/实验步骤

6.1 溶液的配制

6.1.1 Cluck-lubs 缓冲液的配制：根据调研文献提供的 Cluck-lubs 缓冲液的配制方法进行配置，配制方法应符合附录 A.1 的操作。

6.1.2 0.2 mol/L 盐酸：准确量取 3.33 mL 的浓盐酸于 200 mL 的容量瓶中，加超纯水定容至 200 mL。

6.1.3 0.2 mol/L 氯化钾：准确称取 2.98 g 氯化钾于 200 mL 容量瓶中，加超纯水定容至 200 mL。

6.1.4 0.2 mol/L 邻苯二甲酸氢钾：准确称取 8.17 g 邻苯二甲酸氢钾于 200 mL 容量瓶中，加超纯水定容至 200 mL。

6.1.5 0.2 mol/L 氢氧化钠：准确称取 1.60 g 氢氧化钠于 200 mL 容量瓶中，加超纯水定容至 200 mL。

6.1.6 0.2 mol/L 磷酸二氢钾：准确称取 5.44 g 磷酸二氢钾于 200 mL 容量瓶内，加超纯水定容至 200 mL。

6.1.7 0.2 mol/L 硼酸：准确称取 2.48 g 硼酸与 2.98 g 氯化钾于 200 mL 容量瓶中，加蒸馏水定容至 200 mL。

6.1.8 Cluck-lubs 缓冲液（pH=2.0）：准确量取 0.2 mol/L 氯化钾 88.1 mL，0.2 mol/L 盐酸 11.9 mL 于 200 mL 容量瓶中，加超纯水定容至 200 mL，逐滴滴加 0.2 mol/L 盐酸调 pH 为 2.0。

6.1.9 Cluck-lubs 缓冲液（pH=7.5）：准确量取 0.2 mol/L 氢氧化钠 39.34 mL，0.2 mol/L 磷酸二氢钾 50.0 mL 于 200 mL 容量瓶中，加超纯水定容至 200 mL，逐滴滴加 0.2 mol/L 盐酸调 pH 为 7.5。

6.1.10 Cluck-lubs 缓冲液（其他 pH），BCS 最大溶解性的 pH 测定根据胃肠 pH 2.0~7.5 及药物自身 pKa 值确定，包括 $\text{pH}=\text{pKa}$ 和 $\text{pH}=\text{pKa}\pm 1$ 。因此，其余 pH 测定根据药物本身 pKa 值进行设置。

6.2 药物含量测定

6.2.1 分析方法的选择

根据查阅文献结合《中华人民共和国国家标准》以及 2015 年版《中国兽药典》，建立猪常用口服药物的含量测定方法。选择特异、灵敏、可靠的分析方法，首选色谱法，如高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱法（GC）、液相色谱-质谱联用法（LC-MS）、气相色谱-质谱联用法（GC-MS）。

6.2.2 方法学考核

专属性：取适量贮备液，添加一定体积稀释液稀释至不同浓度，相应稀释液作为空白对照，比较空白样品与试样色谱图，以药品出峰时间处无杂质干扰判断为准，确定方法的特异性。

线性范围：取空白 pH 缓冲液，添加适量药物贮备液，稀释至一系列不同浓度的工作浓度，涡旋 1~2 min，0.22 μm 滤膜过滤后进行色谱法检测，每个浓度 3 次重复，将对应浓度与平均峰面积值作线性回归，得线性回归方程与相关系数。

灵敏度：精确量取药物工作液备用，用特定稀释液稀释成系列不同的工作浓度样品，3次重复，记录测得的信号强度S与背景信号强度N，以 $S/N \geq 3$ 时样品浓度为最低检测限(Limit of detection, LOD)。以 $S/N \geq 10$ 时样品浓度为最低定量限(Limit of quantitation, LOQ)。

精确度和准确度：取空白灌肠液，添加适量的药物标准贮备液，配置低、中、高3个浓度，各5份，连续3天测定1次，取平均值，计算日内变异系数与日间变异系数以及回收率。

质量控制：分析方法只有经过严格考核后才能用于药物的检测。考核一般由独立的分析人员配制不同浓度的质控样品进行。质控样品是将已知量被测物添加到空白缓冲溶液和灌肠液中配制而成。

6.3 溶解性的测定

6.3.1 样品制备

将过量的待测药物加入至含有100 mL温度为39℃，pH为2.0、pKa-1、pKa、pKa+1、7.5的Cluck-lubs缓冲液的三角瓶中。若药物的pKa小于2.0或大于7.5时，则将过量的待测药物加入至含有100 mL温度为39℃，pH为2.0、4.5、5.5、6.8、7.5的Cluck-lubs缓冲液的三角瓶中。

6.3.2 溶液的平衡

将含有药物的混悬液置于预先调制至39℃(±0.5℃)的摇床，震荡频率设置为150 r/min，平衡时间为2或24 h。溶解达到平衡后，取1 mL混悬液8000 r/min离心2 min，取固定体积的上清液稀释一定倍数后利用色谱法进行检测，确保稀释后的浓度在建立的色谱方法的线性范围内。

6.3.3 药物浓度的测定

将稀释后的上清液采用建立的色谱法进行浓度的测定，将峰面积代入建立的标准曲线计算出的浓度按照公式(1)计算出药物的平衡饱和溶解度，公式为：

$$C = \frac{C_{\text{测}} \times V_1}{V} \quad (1)$$

C为药物最大溶解度 mg/mL； V_1 为稀释后的体积，mL；V为离心后吸取的初始溶液的体积， μL ； $C_{\text{测}}$ 为通过峰面积计算而得的浓度， $\mu\text{g/mL}$ 。

6.4 药物最大使用剂量的确定

通过《中国兽药典》(2015版)查阅猪常用的内服药物、给药的方式和剂量。猪的内服给药方式一般为混饲或混饮，无法直接得到药物的单次最大给药剂量，需要结合猪的单次采食量与饮水量确定最大给药剂量。若混饲和混饮给药，分别利用公式(2)和(3)计算药物单次最大给药剂量。

$$\text{混饮: } D_{\text{max}} (\text{mg/kg.B.W.}) = C_{\text{饮水}} (\text{mg/L}) \times [(0.045 \text{ BW} + 0.40) \times 2.5] / 3 / \text{B.W.} \quad (2)$$

$$\text{混饲: } D_{\text{max}} (\text{mg/kg.B.W.}) = C_{\text{混饲}} (\text{mg/kg}) \times [(0.045 \text{ BW} + 0.40) / 3] / \text{B.W.} \quad (3)$$

D_{max} 为单次最大给药剂量 mg/kg.B.W.； $C_{\text{饮水}}$ 饮水中药物最大添加浓度 (mg/L)； $C_{\text{混饲}}$ 饲料中药物最大添加浓度 (mg/kg)。

6.5 猪采食状态的胃液体积计算

$$\text{采食状态的胃液体积(L/kg): } V = 0.8803 \text{ B.W.}^2 + 29.371 \text{ B.W.} - 133.65 \quad (4)$$

B.W.为猪的体重。

7 P_{eff} 测定

7.1 猪的麻醉

健康三元杂交商品猪，肌肉注射 0.001 mL/kg.B.W.硫酸阿托品注射液与 0.05 mL/kg.B.W.痛立定，然后按 15 mg/kg.B.W.体重耳缘静脉缓慢推注 3% 戊巴比妥钠溶液 10 mL 进行麻醉。

7.2 猪在体小肠灌流

猪麻醉后，常规消毒，在腹中线上方约 20 cm，切开皮肤约 10 cm，分别取十二指肠与回肠约 10 cm 的肠段，于两段切口插管结扎。用预热至 39 °C 生理盐水将肠内容物冲洗干净，用温热的浸有生理盐水的纱布盖住。先以预热至 39 °C 的 K-R 营养液以 5 mL/min 的流速灌流 10 min，再调至 3 mL/min 流速进行供试液灌流，平衡灌流 30 min，进口处用已知质量的装有供试液（灌流浓度根据药物饱和溶解度和色谱法的定量限而设定）的进样瓶进行灌流，在出口处用另一已知质量的接样瓶进行收集，每隔 15 min 更换一次供试液和收集液瓶子，持续 75 min，冷却至室温后，称量供试液小瓶和收集液小瓶重量。试验结束后处死猪，剪下被灌流肠段，置于充满 39 °C 的 K-R 营养液的玻璃板上，测量其长度与内径，灌流应符合附录 A.2 的操作。

7.3 P_{eff} 的计算

将收集的灌流液 12000 r/min，25 °C，离心 20 min，吸取上清液，0.22 μ m 滤膜过滤，精密吸取滤液于高效液相色谱仪进行测定。

根据以下公式计算药物的 P_{eff} ：

$$P_{eff} = \frac{-Q \ln \left(\frac{Q_{out}}{C_{in}} \times \frac{Q_{out}}{Q_{in}} \right)}{2\pi r L} \quad (5)$$

式中： Q_{in} 和 Q_{out} 分别为灌入和收集的供试液体积（mL，假定供试液密度为1.0 g/mL，根据测得质量计算体积）； C_{in} 和 C_{out} 分别为进口和出口处灌流液中的药物浓度（mg/L）； Q 为灌流速度（mL/min）； r 为被灌流肠段内径（cm）； L 为被灌流肠段长度（cm）； V 为灌流肠段的体积（cm³）。

8 猪内服药物 BCS 的分类标准

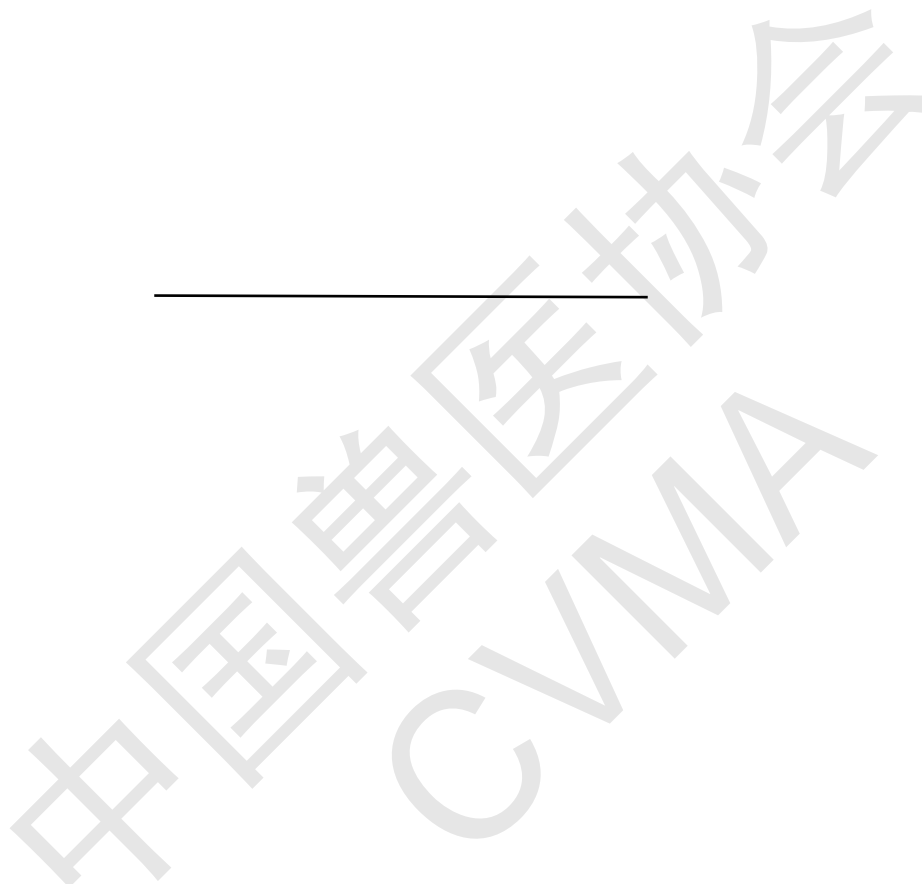
根据测定的药物在不同pH Cluck-lubs缓冲液的饱和溶解度和药物的最大给药剂量与采食状态下胃液的体积的比值进行比较，采食状态下的胃液体积计算为公式4所示。若药物最大使用剂量与胃液体积的比值小于药物在不同pH Cluck-lubs缓冲液的最小饱和溶解度，则为高溶解性的药物；否则为低溶解性药物。猪在体小肠单向灌流试验在十二指肠和回肠的 $P_{eff} \cong 2.163 \times 10^{-2}$ cm/min，大于此渗透系数即为高渗透性，反之则为低渗透性。

第 I 类(高溶解度、高渗透性)：在 39 °C 下，pH 在 2.0~7.5 范围，药物的单次最大使用剂量能够完全溶解于采食状态的猪胃液体积内且药物在猪在体小肠单向灌流试验在十二指肠和回肠的 $P_{eff} \cong 2.163 \times 10^{-2}$ cm/min。

第 II 类(低溶解度、高渗透性)：在 39 °C 下，pH 在 2.0~7.5 范围，药物的单次最大使用剂量不能够完全溶解于采食状态的猪胃液体积内但药物在猪在体小肠单向灌流试验在十二指肠和回肠的 $P_{eff} \cong 2.163 \times 10^{-2}$ cm/min。

第 III 类(高溶解度、低渗透性): 在 39 °C 下, pH 在 2.0~7.5 范围, 药物的单次最大使用剂量能够完全溶解于采食状态的猪胃液体积内但药物在猪在体小肠单向灌流试验在十二指肠和回肠的 $P_{eff} < 2.163 \times 10^{-2} \text{ cm/min}$ 。

第 IV 类(低溶解度、低渗透性): 在 39 °C 下, pH 在 2.0~7.5 范围, 药物的单次最大使用剂量不能够完全溶解于采食状态的猪胃液体积内但药物在猪在体小肠单向灌流试验在十二指肠和回肠的 $P_{eff} < 2.163 \times 10^{-2} \text{ cm/min}$ 。



附录 A
(资料性)

A.1 Clark-Lubs 缓冲液的配置

pH	KCl (mL)	HCl (mL)	KHC ₈ H ₄ O ₄ (mL)	NaOH (mL)	K ₂ HPO ₄ (mL)	H ₃ BO ₃ (mL)	pH	KCl (mL)	HCl (mL)	KHC ₈ H ₄ O ₄ (mL)	NaOH (mL)	K ₂ HPO ₄ (mL)	H ₃ BO ₃ (mL)
1.0	25.00	48.5	5.2	50.00	29.75
1.2	24.00	75.10	5.4	50.00	35.25
1.4	52.60	47.40	5.6	50.00	39.70
1.6	70.06	29.90	6.2	8.55	50.00
1.8	81.14	18.86	6.4	12.60	50.00
2.0	88.14	11.90	6.6	12.74	50.00
2.2	92.48	7.52	6.8	23.60	50.00
2.4	39.60	50.00	7.0	29.54	50.00
2.6	33.00	50.00	7.2	34.90	50.00
2.8	26.50	50.00	7.4	39.34	50.00
3.0	20.40	50.00	7.6	42.74	50.00
3.2	14.80	50.00	8.2	5.90	50.00
3.4	9.95	50.00	8.4	8.55	50.00
3.6	6.00	50.00	8.6	12.00	50.00
3.8	2.65	50.00	8.8	16.40	50.00
4.0	50.00	0.40	9.0	21.40	50.00
4.2	50.00	3.65	9.2	26.70	50.00
4.4	50.00	7.35	9.4	32.00	50.00

4													
4.	50.00	12.00	9.6	36.85	50.00
6													
4.	50.00	17.50	9.8	40.80	50.00
8													
5.	50.00	23.65	10.	43.90	50.00
0							0						

A. 2 猪在体小肠单向灌流实验装置



注：A：完整实验装置；B：灌流部位

中国兽医协会
CVMA