

卷积法在体内外相关性研究中的应用

岳 鹏*

(上海华谊生物技术有限公司, 上海 200235)

摘要: 本文介绍了体内外相关性和卷积法/反卷积法的概念及原理, 阐述了采用卷积法使用 Excel 根据制剂的药代动力学数据计算其在体内释放行为的策略及方法, 并用于体内外相关性研究。该法用数学软件对药代动力学数据进行拟合以弥补缺失的数据点, 在假设输入函数基本符合威布尔规律的前提下, 在 Excel 中根据卷积法原理以试错法的方式确定拟合度最佳的输入函数(威布尔函数)参数, 最后以拟合度最佳的输入函数作为制剂的体内释放行为与体外释放数据进行相关性研究。在实例中不仅详细说明了该法的应用, 并且通过与隔室模型法和反卷积法的比较证明此方法简单有效, 可以作为体内外相关性研究的有力工具。

关键词: 卷积法; 体内外相关性; Excel

中图分类号: R94

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2009)01-0019-06

Application of numerical convolution in *in vivo* / *in vitro* correlation research

YUE Peng*

(Shanghai Huayi Bio-Lab Co. Ltd, Shanghai 200235, China)

Abstract: This paper introduced the conception and principle of *in vivo* / *in vitro* correlation (IVIVC) and convolution / deconvolution methods, and elucidated in details the convolution strategy and method for calculating the *in vivo* absorption performance of the pharmaceuticals according to their pharmacokinetic data in Excel, then put the results forward to IVIVC research. Firstly, the pharmacokinetic data were fitted by mathematical software to make up the lost points. Secondly, the parameters of the optimal fitted input function were defined by trail-and-error method according to the convolution principle in Excel under the hypothesis that all the input functions fit the Weibull functions. Finally, the IVIVC between *in vivo* input function and the *in vitro* dissolution was studied. In the examples, not only the application of this method was demonstrated in details but also its simplicity and effectiveness were proved by comparing with the compartment model method and deconvolution method. It showed to be a powerful tool for IVIVC research.

Key words: convolution; *in vivo* / *in vitro* correlation; Excel

体内外相关性 (*in vivo* / *in vitro* correlation, IVIVC)研究的目的是寻找药物体外特性(*in vitro* characteristics)与体内行为(*in vivo* performance)之间的相关性, 以体外实验预测体内行为, 从而减少体内研究数量以降低新药研发成本^[1]。体外特性主要指药物的体外释放行为, 体内行为主要指以药代动力学或药效学参数为表观指标反映的药物在体内的释放行为。两者之间的定量关系, 对于药物制剂特别是缓控释制剂的研究开发具有重要的指导意义。根据应用

的有效性, 体内外相关性可以被分为 3 个水平^[2]: 水平 A (最高水平): 代表药物体外溶出速度与体内输入速度(input rate)之间的点对点相关性(point-to-point relationship), 后者即体内溶出速度。这一水平拟合度最高, 根据这一关系既可以对某种制剂的体内行为进行预测, 也可以确定对于质量控制至关重要的体外释放的最终标准。水平 B: 根据统计矩原则(statistical moment analysis)将体外平均溶出时间(mean dissolution time, MDT *in vitro*)与体内平均滞留时间(mean residence time, MRT)或体内平均溶出时间(MDT *in vivo*)进行比较。MRT 或 MDT 并不能反映出

收稿日期: 2008-09-08.

*通讯作者 Tel: 86-21-64849435, E-mail: ypsucker@hotmail.com

整个药时曲线的情况,因此不能单独依赖此水平确定影响制剂的诸多因素,而且其拟合的体外条件也不能作为最终控制标准。水平 C: 只将溶出曲线中的单个点(如 t_{50} , t_{90})与药代动力学参数(如 AUC, $C_{\max}$, 或 $T_{\max}$)进行拟合。由于其不能描述血药浓度水平,同样不能对体内行为进行预测,只能作为处方研究或质量控制的简单指导。

体内相关性研究的关键是从药物的药代动力学数据获得其在体内溶出释放的信息。目前国内研究者通常使用隔室模型依赖的 Wagner-Nelson 或 Loo-Riegelman 法计算体内吸收程度,其局限性在于许多缓控释剂型的药代动力学数据用隔室模型拟合准确度比较低,而且只适用于在体内具有高度透过性(permeability)的药物。例如:按照生物药剂学的分类(biopharmaceutical classification)药物可被分为 4 类: I 类 (high permeability, high solubility); II 类 (high permeability, low solubility); III 类 (low permeability, high solubility); IV 类 (low permeability, low solubility)。如果一个 III 类药物到达胃肠道,会与体外释放液中行为一样被胃液或肠液迅速溶解,但由于透过性低,它吸收入血的速度慢,血药浓度达峰也比较慢,那么用 Wagner-Nelson 或 Loo-Riegelman 法拟合出来的体内累计吸收度必然远远小于体外释放速度,相关性很差。美国 FDA 推荐使用卷积法/反卷积法进行体内相关性研究。

卷积(convolution)/反卷积(deconvolution)法是一种不使用模型直接根据药代动力学数据得到药物体内动态信息的数学计算方法^[3-5],尤其适用于隔室模型模拟困难和缓控释制剂的体内相关性研究,其拟合结果准确可靠。但目前国内相关文献中报道较少^[6-8],因此有必要对其概念和计算方法进行介绍。

1 背景知识

对任何一种给药方式来说,静脉注射是机体对于所有药物分子最快的应用形式,或者说做出最快的机体反应。与之对应的是其他给药途径和剂型的不同输入形式[input, $I(t)$]在体内所表现出来的“延迟行为”。如果将静脉注射结果看作是权函数[weighting, $W(t)$],其他延迟行为可以视为在不同时间点的小剂量权函数的叠加在体内引起的结果,即响应函数[response, $R(t)$],见图 1。

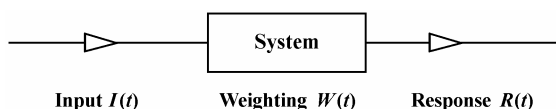


Figure 1 Illustration of input, weighting and response functions *in vivo*

叠加原则(superposition principle)在线性体系下有两个规律: 剂量比例性(dose proportionality), 即如果输入函数影响响应函数,一部分输入函数 $\varphi \times I(t)$ 会给出相应的响应结果 $\varphi \times R(t)$, 即机体对于不同剂量的输入具有线性的反应; 时间非变异性(time invariance), 即输入函数在时间 θ (非 0), 则响应结果不变, 但有 θ 的位移。

卷积法的数学表现式如下:

$$R(t) = \int_0^t I(\theta)W(t-\theta)d\theta,$$

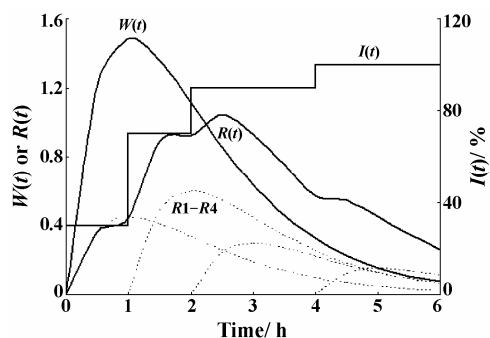
$$\text{简写为 } R(t) = I(t) * W(t) \quad (1)$$

$$\text{相反 } I(t) = R(t) // W(t) \quad (2)$$

$$\text{或者 } W(t) = R(t) // I(t) \quad (3)$$

这里*表示卷积法(注意不是简单的相乘), 而//表示反卷积法, 其为卷积的逆运算。

假设某种药物的速释剂型为权函数, 方程为 $W(t) = 10e^{-0.8t} - 10e^{-1.5t}$, 而缓控释制剂的输入函数 $I(t)$: 0、1、2 和 4 h 分别为 30%、40%、20%和 10%。在此情况下, 缓控释制剂体内血药浓度结果, 即响应函数见图 2。



Time	WEI	RES1 0 h, 30%	RES2 1 h, 40%	RES3 2 h, 20%	RES4 4 h, 10%	RES
0	0	0				0
0.5	1.22	0.36				0.36
1	1.48	0.44	0			0.44
1.5	1.36	0.41	0.49			0.89
2	1.11	0.33	0.59	0		0.93
2.5	0.86	0.26	0.54	0.24		1.04
3	0.63	0.19	0.44	0.30		0.93
3.5	0.46	0.14	0.34	0.27		0.75
4	0.33	0.10	0.25	0.22	0	0.57
4.5	0.23	0.07	0.18	0.17	0.12	0.54
5	0.16	0.05	0.13	0.13	0.15	0.45
5.5	0.11	0.03	0.09	0.09	0.14	0.35
6	0.07	0.02	0.06	0.07	0.11	0.26

Figure 2 Illustration of superposition principle. The charts show weighting, input and response profiles; the table illustrates the corresponding data

权函数不仅限于静脉注射,任何一种给药方式或任何一种制剂在体内的表现形式都可以定义为权函数,而将比它输入更慢的另外一种形式定义为响应函数,然后进行反卷积计算求出输入函数,即体内的累积释放量,再与体外溶出数据进行相关性评价。

2 具体算法

反卷积法(numerical deconvolution)的具体算法如下:将取样时间点定为 $t_1, t_2, t_3, \dots, t_n$; 则相应的权函数,输入函数和响应函数分别为 $W_1, W_2, W_3, \dots, W_n; I_1, I_2, I_3, \dots, I_n; R_1, R_2, R_3, \dots, R_n$ (其中 I_i 为时间点 t_i 时的药物累积输入量,以百分数表示。规定 $I_0=0, R_0=0$), 根据公式(1):

$$\begin{aligned} R_0 &= 0 \\ R_1 &= I_1^1 \times \overline{W}_1^1 \\ R_2 &= I_1^1 \times \overline{W}_2^2 + I_2^2 \times \overline{W}_1^1 \\ R_3 &= I_1^1 \times \overline{W}_3^3 + I_2^2 \times \overline{W}_2^2 + I_3^3 \times \overline{W}_1^1 \\ &\dots \\ R_n &= I_1^1 \times \overline{W}_n^n + I_2^2 \times \overline{W}_{n-1}^{n-1} + \dots + I_n^n \times \overline{W}_1^1 \end{aligned} \quad (4)$$

其中 $I_{n-1}^n = I_n - I_{n-1}$, 为时间间隔 $t_{n-1} \sim t_n$ 内的药物累积输入量,以百分数表示; $\overline{W}_{n-1}^n = (W_n + W_{n-1})/2$ 为相邻两点权函数的中点均值。

反卷积求 $I(t)$ 公式即为:

$$\begin{aligned} I_1^1 &= R_1 / \overline{W}_1^1 \\ I_2^2 &= (R_2 - I_1^1 \times \overline{W}_2^2) / \overline{W}_1^1 \\ I_3^3 &= (R_3 - I_1^1 \times \overline{W}_3^3 - I_2^2 \times \overline{W}_2^2) / \overline{W}_1^1 \\ &\dots \\ I_n^n &= (R_n - I_1^1 \times \overline{W}_n^n - I_2^2 \times \overline{W}_{n-1}^{n-1} - \dots - I_{n-1}^{n-1} \times \overline{W}_2^2) / \overline{W}_1^1 \end{aligned} \quad (5)$$

公式(5)很少有数学或药动学软件可直接进行计算,必须进行编程。在 Kinetica 中,其 IVIVC 模块只能进行体内和体外两条累积函数之间的回归性计算,而体内释放结果需要研究者自行根据 Wagner-Nelson, Loo-Riegelman 或反卷积的方法手动计算得出;而 WinNonlin 只有在 Toolkit 工具包中才能进行反卷积计算。而在反卷积的手动计算过程中,由于实际数据波动所产生的不稳定性,会造成 $I(t)$ 的计算出现负值。

本文利用 Excel 强大的计算功能,根据卷积法原理以试错法(trial-and-error)的方式来计算体内输入函

数,使得计算过程近似于半程序化^[9]。

3 举例

粉防己碱犬体内药代动力学数据^[10]见表 1, 以 Wagner-Nelson 方法计算体内输入函数。卷积或反卷积法进行计算要求权函数与响应函数之间的数据点必须一一对应,然而由于两者的药代动力学行为差异较大(一般权函数达峰早,而响应函数达峰晚),为了准确描绘其药代动力学曲线,其取样点一般不同,这就造成了数据点的不一致,因此有必要采用内插法进行缺失点的补充(梯形法或抛物线法)。在本文中,如果将权函数或响应函数完全看作是符合某种数学规律的光滑曲线,则可以使用任何一种数学形式进行拟合,选择拟合程度最高的方程,也可以使用隔室模型进行拟合。此例中由于参比制剂数据完整,所以只需对缓释制剂进行拟合。本文采用 CurveExpert 1.3 软件对其进行拟合,此软件可以提供几十种不同形式的方程进行曲线拟合,还可以使用自己编写方程拟合,其中拟合度最高的方程为:

$$y = (a + bx) / (1 + cx + dx^2)$$

$$\begin{aligned} \text{参数: } a &= -0.108\ 116\ 16; & b &= 0.158\ 879\ 19; \\ c &= -0.283\ 464\ 2; & d &= 0.029\ 539\ 049 \end{aligned}$$

根据上述方程参比制剂 0.25 和 0.5 h 数据点为负值,考虑到实际情况将其修正为 0, Excel 数据表见表 2、3。表 2 中 WOBS 为权函数,即参比制剂的血药浓度,此例中数据完整,没有拟合数据点。WAVE 为 $\overline{W}_{n-1}^n$, 是 WOBS 的中点均值, Excel 公式为 $(RC[-1] + R[-1]C[-1])/2$,

其为卷积法计算用数值。ROBS 为响应函数,即缓释制剂的血药浓度,其中 0~0.5 h 点定为 0, 1.5 与 2.5 h 点为拟合点,其余数据均采用原始数据。RCALC 为卷积法得到的响应函数的计算值,其 Excel 公式为 $\{=\text{transpose}(\text{sum})\}$ 即 $\{=\text{transpose}(\text{R}[39] \text{ C}[2]: \text{R}[39] \text{ C}[16])\}$, 其中 $\{\}$ 表示数组公式,即数据必须以数组形式输入。ICUM 为猜想的输入函数(威布尔函数),其 Excel 公式为 $=\text{Weibull}(\text{TIME}, \text{SHAPE}, \text{SCALE}, 1)$ 即 $=\text{Weibull}(\text{RC}[-1], \text{SHAPE}, \text{SCALE}, 1)$ 。SSQ 为 RCALC 与 ROBS 的差平方和, Excel 公式为 $=\text{SUMXMY2}(\text{RCALC}, \text{OBS})$ 即 $=\text{SUMXMY2}(\text{R}[-16] \text{ C}[-1]: \text{R}[-1] \text{ C}[-1], \text{R}[-16] \text{ C}: \text{R}[-1] \text{ C})$, 以此值的大小判断 RCALC 与 ROBS 的拟合程度。可以利用 Excel 中规划求解模块的回归功能求 SSQ 的最小值:将 SSQ 即 R21C6, 设置为目标单元格;将 SHAPE 和 SCALE 即 R2C2 和 R3C2 设置为可变单元格,求得 SSQ 的最小值,同时得到相应的 SHAPE 和 SCALE 值。表 3 中 *Triangular Matrix* 中单元格的计算公式 $=\text{R}[-18] \text{ C}4 * (\text{WEIBULL}$

Table 1 Pharmacokinetic and *in vitro* release data of tetrandrine

Time /h	0.25	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	7	8	10	12	24
Reference / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	0.17	0.31	0.93	1.79	2.72	3.53	2.65	2.03	1.64	1.16	1.02	0.71	0.55	0.41	0.17
Test / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$			0.13		0.29		1.04	1.38	2.17	2.47	2.14	1.68	1.37	1.09	0.35
<i>In vitro</i> release /%			8.01		22.08		24.55	33.24	63.83	82.66		95.31	99.84		100
Wagner-Nelson fitting			0.65		2.54		9.31	15.62	30.25	45.66		52.11	59.81		76.66

Table 3 Data of calculated response function of tetrandrine in Excel

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
22	Triangular Matrix															
23	0	0.25	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	7	8	10	12	
24	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25	0.5		0.00	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
26	1			0.01	0.04	0.06	0.08	0.09	0.08	0.04	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
27	1.5				0.02	0.08	0.14	0.18	0.19	0.13	0.06	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
28	2					0.04	0.14	0.23	0.33	0.28	0.16	0.06	0.02	0.00	0.00	0.00
29	2.5						0.06	0.19	0.42	0.44	0.30	0.14	0.05	0.00	0.00	0.00
30	3							0.06	0.32	0.45	0.38	0.22	0.09	0.00	0.00	0.00
31	4								0.19	0.56	0.68	0.52	0.27	0.03	0.00	0.00
32	5									0.15	0.44	0.53	0.41	0.08	0.00	0.00
33	6										0.11	0.33	0.40	0.16	0.02	0.00
34	7											0.09	0.26	0.24	0.05	0.00
35	8												0.07	0.25	0.10	0.00
36	10													0.20	0.32	0.00
37	12														0.15	0.00
38	24															0.29
39	SUM	0.00	0.00	0.02	0.08	0.21	0.44	0.78	1.54	2.06	2.15	1.92	1.57	0.97	0.64	0.29

Table 2 Tetrandrine data of convolution method in Excel

	1	2	3	4	5	6
1	ICUM Weibull Parameter					
2	SHAPE	2.218				
3	SCALE	3.144				
4	TIME	ICUM	WOBS	WAVE	RCALC	ROBS
5	0	0	0		0	0
6	0.25	0.00	0.17	0.09	0.00	0.00
7	0.5	0.02	0.31	0.24	0.00	0.00
8	1	0.08	0.93	0.62	0.02	0.13
9	1.5	0.18	1.79	1.36	0.07	0.20
10	2	0.32	2.72	2.26	0.20	0.29
11	2.5	0.46	3.53	3.13	0.43	0.61
12	3	0.61	2.65	3.09	0.75	1.04
13	4	0.83	2.03	2.34	1.51	1.38
14	5	0.94	1.64	1.84	2.04	2.17
15	6	0.99	1.16	1.40	2.15	2.47
16	7	1.00	1.02	1.09	1.93	2.14
17	8	1.00	0.71	0.87	1.58	1.68
18	10	1.00	0.55	0.63	0.98	1.37
19	12	1.00	0.41	0.48	0.65	1.09
20	24	1.00	0.17	0.29	0.29	0.35
21					SSQ:	0.698

(R23C-R[-1]C1,SHAPE,SCALE,1)-WEIBULL(R23C-RC1,SHAPE,SCALE,1)), 其中 R[-18]C4 即为相应的 WAVE 值。每个单元格代表着公式(4)中的 $\frac{1}{\Gamma(\frac{1}{n})}$ 的值,

因此每列单元格的和 (SUM) 即为每个时间点的响应函数计算值, RCALC。SUM 的 Excel 公式为 =sum(R[-15]C:R[-1]C)。

为保证计算的流畅, ICUM Weibull Parameters 项下的 SHAPE 和 SCALE 数值需要定义, 即将 R2C2 和 R3C2 两单元格分别经“插入”, “名称”, “定义”为 SHAPE 和 SCALE。

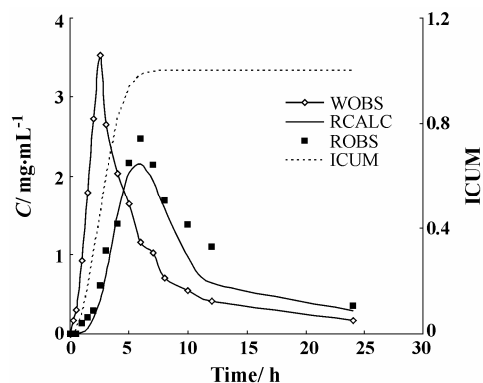
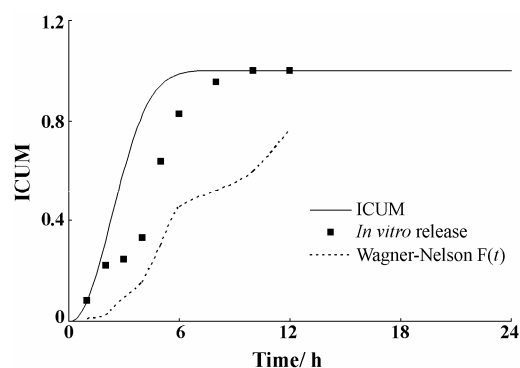
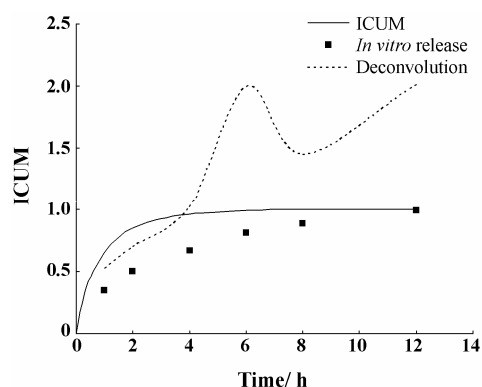
因为 Weibull 函数可以根据 SHAPE 和 SCALE 数值的变化表现出多种形式, 基本上满足不同类型的实际释放模式的拟合需要, 因此本文将其作为猜想的输入函数的数学方程, 拟合结果见图 3。

与文献中的体外释放数据及采用 Wagner-Nelson 法计算出的吸收百分数 $F(t)\%$ 进行比较结果见图 4。卷积法得到的结果与体外释放数据有更好的相关性。

盐酸二甲双胍人体药代动力学数据^[8]见表 4, 卷积法计算结果见表 5。本文卷积法计算结果与文献中反卷积法手动计算结果对比 (图 5) 可见: ① 本文卷积法计算结果与体外释放行为相关程度更好; ② 文献中反卷积手动计算结果可能由于计算量的原因缺失了许多数据点, 数据有波动 (6 h), 在给药剂量相同的情况下严重偏离了 100% 的理论值。

Table 4 Pharmacokinetic and *in vitro* release data of metformin hydrochloride

Time/h	0.3	0.6	1	1.5	2	2.5	3	4	6	8	12
Reference/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	187.7	700.9	1 042.3	1 140.7	1 266	1 421.6	1 373.5	1 140	737.2	455.1	125.6
Test/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	55.2	210.4	267.3	767.9	958.6	1 024.8	1 124.8	1 138.3	958.6	562	249.7
<i>In vitro</i> release /%			35.2		50.3			67.0	80.9	88.5	99.4
Deconvolution			52		70			102	199	145	201

**Figure 3** Profiles of WOBS (observed weighting function), RCALC (calculated response function), ROBS (observed response function) and ICUM (accumulated input function) functions of tetrandrine**Figure 4** Comparison of tetrandrine ICUM (accumulated input function), *in vitro* release and estimated *in vivo* absorption calculated from Wagner-Nelson method in reference**Figure 5** Comparison of metformin hydrochloride ICUM (accumulated input function), *in vitro* release and deconvolution results in reference

4 结语与展望

从以上实例中可以看到,本文中介绍的卷积法可以从药代动力学数据获得准确而合理的体内释放曲线,用于体内外相关性研究。然而,采用卷积/反卷积法研究体内外相关性不仅要求数据处理上的能力和技巧,更需要实验的设计周密严谨。既要准确的选择差别足够大的不同给药方式或剂型作为权函数和响应函数,还需要设计合理的体外释放试验来反映权函数和响应函数之间的药物释放差异,这样才能获得具有指导性意义的体内外相关性关系。相信随着药学工作者对其认识不断深入,卷积/反卷积法在体内外相关性研究中将得到越来越广泛的应用。

Table 5 Metformin hydrochloride data of convolution method

ICUM Weibull Parameter					
SHAPE	0.828				
SCALE	0.935				
TIME	ICUM	WOBS	WAVE	RCALC	ROBS
0	0	0			0
0.3	0.32	187.7	93.9	30.3	55.2
0.6	0.50	700.9	444.3	160.1	210.4
1	0.65	1 042.3	871.6	419.0	267.3
1.5	0.77	1 140.7	1 091.5	684.4	767.9
2	0.85	1 266	1 203.4	877.5	958.6
2.5	0.90	1 421.6	1 343.8	1 051.1	1 024.8
3	0.93	1 373.5	1 397.6	1 173.7	1 124.8
4	0.96	1 140	1 256.8	1 202.5	1 138.3
6	0.99	737.2	938.6	972.1	958.6
8	1.00	455.1	596.2	655.5	562
12	1.00	125.6	290.4	304.9	249.7
				SSQ:	58 893.56

References

- [1] US Pharmacopeia 31 (2007), <1088> *In vitro* and *In vivo* evaluation of dosage forms.
- [2] Emami J. *In vitro* - *in vivo* correlation: from theory to applications [J]. J Pharm Pharm Sci, 2006, 9: 169-189.
- [3] Gillespie WR. Convolution-based approaches for *in vivo* - *in vitro* correlation modeling [J]. Adv Exp Med Biol, 1997, 423: 53-65.
- [4] O'Hara T, Hayes S, Davis J, et al. *In vivo* - *in vitro* correlation (IVIVC) modeling incorporating a convolution step [J]. J Pharmacokinet Pharmacodyn, 2001, 28: 277-298.

- [5] Gaynor C, Dunne A, Davis J. A comparison of the prediction accuracy of two IVIVC modeling techniques [J]. J Pharm Sci, 2008, 97: 3422-3432.
- [6] Yu J, Zou MJ, Deng CX, et al. Evaluation of *in vitro* / *in vivo* correlation for propafenone hydrochloride sustained release pellets using deconvolution method [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2007, 42: 20-25.
- [7] Yang MS, You BG, Yang MH, et al. Evaluation of *in vitro* / *in vivo* correlateion for three kinds of self-designed sustained-release intrendipine formulation using deconvolution method [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2004, 39: 738-741.
- [8] Yin LL, Liu XH, Jin L, et al. Evaluation of *in vitro* / *in vivo* correlation for metformin hydrochloride sustained-release tablets by deconvolution method [J]. Chin J Pharm (中国药理学杂志), 2006, 4: 170-175.
- [9] Langenbucher F. Handling of computational *in vitro* / *in vivo* correlation problems by microsoft excel: III. Convolution and deconvolution [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2003, 56: 429-437.
- [10] Ma Y. Study on tetrandrine calcium alginate sustained release gel beads [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2003.