

· 药剂与炮制 ·

热毒宁吸入溶液体外吸入性能的相关性分析

罗赣^{1,2,3}, 陶永华⁴, 李翠^{1,2}, 王国华², 聂其霞², 张保献^{2*}

(1. 中国中医科学院, 北京 100700; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 北京中医药大学, 北京 100029; 4. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001)

[摘要] **目的:** 探寻热毒宁吸入溶液递送剂量信息和气溶胶粒径信息之间的相关性。**方法:** 选择绿原酸、栀子苷为指标成分, 采用呼吸模拟器测定递送剂量均一性, 利用新一代微粒撞击收集仪测定空气动力学粒径分布, 运用实时喷雾粒度分析仪测定实时喷雾粒径分布, 将递送剂量信息与粒径信息进行相关性分析。**结果:** 两变量组内多数原始变量具有较强的相关性, 原始变量组间相关性优劣不一。经典型相关分析后, 提取出2对相关性的典型变量, 其相关系数分别为0.998和0.955。递送剂量组接近90%的信息和粒径组超过70%的信息能够被这2对典型变量所概括。**结论:** 对于热毒宁吸入溶液递送剂量信息和气溶胶粒径信息, 原始变量组内相关性良好, 组间相关性参差不齐。相比原始变量, 典型变量呈现出了较好的组间相关性, 表明递送剂量信息和粒径信息有一定的相关性, 且提取出的2对典型变量能够较好的预测两组内的原始变量。

[关键词] 热毒宁吸入溶液; 体外吸入性能; 典型相关分析; 绿原酸; 栀子苷; 冗余分析; 标准化处理

[中图分类号] R22; R283.6; O645; R284; C8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0001-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018040001

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171127.0847.010.html>

[网络出版时间] 2017-11-27 8:47

Correlation Analysis of Inhalation Performance of Reduning Inhalation Solution

LUO Gan^{1,2,3}, TAO Yong-hua⁴, LI Cui^{1,2}, WANG Guo-hua², NIE Qi-xia², ZHANG Bao-xian^{2*}

(1. *China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*;
2. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*;
3. *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China*;
4. *Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China*)

[Abstract] **Objective:** To find out the correlation between information groups of delivery dose and aerosol particle size of Reduning inhalation solution. **Method:** Taking chlorogenic acid and geniposide as index components, the delivery dose uniformity was determined by a breathing simulator and the aerodynamic particle size distribution was measured by a new generation of particle impactor. Realtime particle size distribution was monitored by a laser diffractometers. The correlation analysis between information groups of delivery dose and aerosol particle size was investigated. **Result:** Most primitive variables of two sets had good intra-class correlations, but the inter-group correlation was not as good as intra-class correlation. After the canonical correlation analysis, two pairs of canonical variables had significant correlations with correlation coefficients being 0.998 and 0.955, respectively. Almost 90% information of delivery dose group and more than 70% information of particle size group could be elucidated by the two pairs of canonical variables. **Conclusion:** There is a good intra-class correlation for

[收稿日期] 20170831(003)

[基金项目] 江苏康缘药业有限公司与中国中医科学院中药研究所共建项目

[第一作者] 罗赣, 博士, 助理研究员, 从事中药吸入溶液的质量评价研究, Tel:010-64087445, E-mail:luna049@126.com

[通信作者] * 张保献, 研究员, 博士生导师, 从事中药新药研发和中药吸入制剂的质量研究, Tel:010-64087445, E-mail:zhangbaoxian925@tom.com

each of delivery dose group and particle size group, but the correlation between two sets is not so good. Canonical variables perform better inter-group correlation by comparing with original variables, indicating there is a certain correlation between delivery dose and aerosol particle size of Reduning inhalation solution. Furthermore, original variables of these two sets can be well predicted by the two pairs of canonical variables extracted.

[Key words] Reduning inhalation solution; *in vitro* inhalation performance; canonical correlation analysis; chlorogenic acid; geniposide; redundancy analysis; standardized processing

吸入溶液系指通过连续雾化器产生供吸入用气溶胶的溶液剂,属于供雾化吸入用液体剂项下的一种。2015 年版《中国药典》对吸入溶液的体外吸入性能评价包括递送总量、递送速率和空气动力学粒径分布^[1]。吸入溶液领域中对空气动力学粒径分布的研究较为广泛^[2-4],亦有将激光衍射法测定的实时喷雾粒径分布纳入到吸入溶液的体外吸入性能评价体系中^[3-4]。有报道对空气动力学粒径和实时喷雾粒径进行了相关性分析,结果发现对于吸入溶液而言,其质量中值粒径(MMAD)与 D_{50} (累计粒度分布达到 50% 时所对应的粒径)的相关性良好,但鲜有对递送剂量均一性研究的报道^[5],对递送剂量与粒径之间的相关性研究尚属空白。本实验以热毒宁吸入溶液为研究对象,选择绿原酸、栀子苷为指标成分,测定同一批热毒宁吸入溶液经过 5 款不同的空气压缩式雾化器雾化后产生的气溶胶的递送剂量均一性、空气动力学粒径分布、实时喷雾粒径分布,以此三者共同控制热毒宁吸入溶液的质量。以递送剂量均一性的相关参数作为递送剂量组,空气动力学粒径分布和实时喷雾粒径分布作为粒径组,并对二者进行相关性分析,以期寻找热毒宁吸入溶液递送剂量和粒径之间的相关性。

1 材料

BRS2000 型呼吸模拟器,TPK2000 型流量调节器,新一代微粒撞击收集仪(NGI),DFM2000 型流量计和 HCP5 型高流量真空泵均购自英国 Copley 公司;LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),Spraytec 型实时喷雾粒度分析仪(英国马尔文公司),403E 型雾化器(江苏鱼跃医疗设备有限公司);Boy SX 型红蓝芯可替换型雾化器,Junior Boy SX 型雾化器和 LC Plus 型雾化器(德国百瑞公司)。

热毒宁吸入溶液(江苏康缘药业股份有限公司,批号 160337),绿原酸、栀子苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110753-200413 和 110749-200309,纯度分别为 99.3% 和 97.6%),水为屈臣氏纯净水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 绿原酸、栀子苷的含量测定^[6]

2.1.1 对照品溶液的制备 取绿原酸、栀子苷对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含绿原酸 0.3 mg,栀子苷 0.5 mg 的混合对照品溶液,摇匀后备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取热毒宁吸入溶液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀后备用。

2.1.3 色谱条件 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 30 °C,流速 0.8 mL·min⁻¹,流动相甲醇(A)-0.1% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 15% ~ 25% A; 10 ~ 30 min, 25% ~ 35% A; 30 ~ 60 min, 35% ~ 50% A),绿原酸检测波长 324 nm,栀子苷检测波长 237 nm,相邻两针的平衡时间 10 min,进样量 10 μL。

2.2 递送剂量均一性的测定^[1] 吸入溶液的递送剂量均一性包括递送速率和递送总量,考虑到吸入过程中药物损耗的量,故将呼出总量也纳入到递送剂量均一性的测定中。连接雾化器、呼吸模拟器与滤纸(置于滤膜托内),取热毒宁吸入溶液 2 mL,充分振摇后置于雾化器中,将雾化器咬嘴与滤纸装置连接,开启呼吸模拟器,将雾化器的工作时间设定为 60 s,在呼吸循环的起始时启动雾化器。雾化结束后,关闭雾化器。取出滤膜(F1)置于 50 mL 离心管中,加稀乙醇 30 mL,涡旋 30 s;在吸入滤膜托中放置 1 张新的滤纸,继续雾化至雾化完毕,关闭设备。取出吸入滤膜(F2)和呼出滤膜(F3)托中的滤纸,分别置于 50 mL 离心管中,加稀乙醇 30 mL,涡旋 30 s。上述溶液分别转移至 50 mL 量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,滤液按 2.1 项下方法测定 3 张滤纸上收集的绿原酸、栀子苷含量($n = 3$),结果取均值。F1 滤纸上收集的药量与收集时间的比值为递送速率,F1 滤纸和 F2 滤纸上收集的药量为递送总量,F3 滤纸上收集的药量为呼出总量,有效喷雾时间即为递送总量与递送速率的比值。

2.3 空气动力学粒径分布的测定^[1] 将 NGI 置于

冷柜中,待 NGI 内部温度降至 5 °C 以下,开启真空泵并调节流速至 15 L·min⁻¹,取热毒宁吸入溶液 2 mL,充分摇匀后倒入雾化杯中,连接装置,开启雾化器 300 s,关闭雾化器和真空泵,以稀乙醇作为溶剂洗涤各部件收集的 药物活性物质,将各层级洗涤液转移至 50 mL 量瓶中,加稀乙醇定容至刻度,滤过,按 2.1 项下方法测定($n = 3$)。将各部件洗涤液 HPLC 测定结果导入到 CITDA 数据分析系统,计算可得 1~5 μm 微细粒子比例(FPF₅),质量中值粒径(MMAD),几何标准偏差(GSD)和 1~3 μm 微细粒子比例(FPF₃),用以表征空气动力学粒径分布。

2.4 实时喷雾粒径分布的测定 开启 Spraytec 软件和真空泵并调节流速至 15 L·min⁻¹,取本品 2 mL,充分摇匀后倒入雾化杯中,连接装置,设置测试 sop 扫描背景后测定,Spraytec 软件记录实时喷雾粒径随着喷雾时间的变化情况,输出累积分布 10% ,50% ,90% 的粒径分别简称为 D_{10} , D_{50} , D_{90} ,测定 3 次,结果取平均值。

2.5 相关性分析 定义粒径信息组为 x ,包括空气动力学粒径分布中的 FPF₅,MMAD,GSD 和 FPF₃ 及实时喷雾粒径分布中的 D_{10} , D_{50} , D_{90} ,依次分别命名为 $x_1 \sim x_7$;定义递送剂量信息组为 y ,包括递送速率、递送总量、呼出总量和有效喷雾时间,依次分别命名为 $y_1 \sim y_4$ 。使用 Canonical correlation. sps 对两组变量进行相关性分析,在 SPSS 16.0 平台上实现。

3 结果

3.1 递送剂量均一性 以绿原酸计,递送速率、递送总量、呼出总量和有效喷雾时间的测定结果见表 1;以栀子苷计,递送速率、递送总量、呼出总量和有效喷雾时间的测定结果见表 2。对于给定的吸入溶液,递送速率反映了单位时间内雾化器输出功率的大小,即雾化器雾化的速度;递送总量反映了一共能雾化出多少体积的药液;而呼出总量反映了在雾化过程中,由于雾化给药本身所导致的药物损耗。由表 1,2 可知,某一雾化器递送速率越大,其递送总量越小,有效喷雾时间就越短,如百瑞蓝芯雾化器所示;而某一雾化器递送速率越小,其递送总量越大,有效喷雾时间就越长,如百瑞红芯雾化器所示。说明百瑞红芯雾化器发射气溶胶相对柔和,雾化等量药液所需时间更久,更适合于体弱的病人,例如老人、小孩、久病者;而百瑞蓝芯雾化器发射气溶胶相对快速,雾化等量药液所需时间较短,适合于体强的青壮年人士。

3.2 空气动力学粒径分布 以绿原酸计,雾化器残

表 1 以绿原酸计热毒宁吸入溶液递送剂量均一性的测定($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1 Delivery dose uniformity of Reduning inhalation solution calculated by chlorogenic acid($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

雾化器种类	递送速率 /mg·min ⁻¹	递送总量 /mg	呼出总量 /mg	有效喷雾时间/min
Boy SX 蓝芯	0.96 ± 0.02	3.17 ± 0.20	0.43 ± 0.04	3.30 ± 0.24
Boy SX 红芯	0.66 ± 0.01	5.19 ± 0.18	2.15 ± 0.10	8.05 ± 0.03
Junior Boy SX	0.77 ± 0.02	4.72 ± 0.19	1.84 ± 0.35	6.16 ± 0.22
LC Plus	0.79 ± 0.03	3.52 ± 0.04	1.40 ± 0.09	4.40 ± 0.09
403E	0.76 ± 0.03	3.55 ± 0.10	0.86 ± 0.01	4.71 ± 0.38

表 2 以栀子苷计热毒宁吸入溶液递送剂量均一性的测定($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Delivery dose uniformity of Reduning inhalation solution calculated by geniposide($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

雾化器种类	递送速率 /mg·min ⁻¹	递送总量 /mg	呼出总量 /mg	有效喷雾时间/min
Boy SX 蓝芯	1.52 ± 0.03	4.96 ± 0.31	0.67 ± 0.06	3.26 ± 0.23
Boy SX 红芯	1.02 ± 0.00	7.98 ± 0.31	3.29 ± 0.14	8.03 ± 0.01
Junior Boy SX	1.19 ± 0.03	6.03 ± 0.28	2.84 ± 0.54	5.09 ± 0.25
LC Plus	1.28 ± 0.05	5.67 ± 0.09	2.27 ± 0.14	4.34 ± 0.11
403E	1.24 ± 0.05	5.74 ± 0.16	1.40 ± 0.02	4.63 ± 0.36

留、人工喉和微粒收集盘上的药物沉积量以及相应的 FPF₅,MMAD,GSD 和 FPF₃ 的结果见表 3。同理,以栀子苷计,各项指标的测定结果见表 4。MMAD 的大小决定了雾化颗粒的沉积位置,一般认为 1~5 μm 的颗粒可以在肺部沉积,5~10 μm 的颗粒在口喉部沉积后进入消化道,>10 μm 的颗粒无法在肺部沉积,<1 μm 的颗粒随呼吸排出体外。其中 1~3 μm 的颗粒可以沉积在细小支气管、肺泡等下肺部组织,而 3~5 μm 的颗粒则只能沉积在大的气管、支气管等上肺部组织^[7]。FPF₅ 代表了可以在肺部沉积颗粒所占比例,而 FPF₃ 则代表了可以在下肺部颗粒所占比例。由表 3,4 可知,由百瑞蓝芯、LC Plus 型和 403E 型所产生的气溶胶微粒多数沉积在上肺部,而由百瑞红芯产生的气溶胶颗粒有将近 50% 可以沉积在下肺部。说明对于下肺部疾病,例如慢性阻塞性肺疾病、哮喘等,推荐使用百瑞红芯雾化器;对于上肺部疾病,例如感冒、上呼吸道感染等,推荐使用百瑞蓝芯,LC plus 型和 403E 型雾化器。

3.3 实时喷雾粒径分布 以百瑞蓝芯雾化器雾化热毒宁吸入溶液的过程为例,图 1 展示了 D_{10} , D_{50} , D_{90} 和透光率随时间变化的趋势。结果发现喷雾开始时,由于空气中突然有气溶胶颗粒的存在,透光率

表 3 以绿原酸计 NGI 的测试 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 NGI calculated by chlorogenic acid ($\bar{x} \pm s, n=3$)

雾化器种类	药杯残留 /mg	人工喉 /mg	Stage 1 /mg	Stage 2 /mg	Stage 3 /mg	Stage 4 /mg	Stage 5 /mg
Boy SX 蓝芯	3.35 ± 0.26	0.25 ± 0.03	0.54 ± 0.01	1.08 ± 0.03	1.34 ± 0.01	1.46 ± 0.01	0.99 ± 0.02
Boy SX 红芯	8.16 ± 0.01	0.03 ± 0	0.10 ± 0	0.15 ± 0	0.50 ± 0	0.97 ± 0.01	1.07 ± 0.02
Junior Boy SX	3.53 ± 0.20	0.10 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.63 ± 0.01	1.21 ± 0.03	1.68 ± 0.08	1.25 ± 0.03
LC Plus	4.34 ± 0.32	0.14 ± 0.01	0.43 ± 0.03	0.86 ± 0.04	1.10 ± 0.05	0.94 ± 0.23	0.91 ± 0.04
403E	6.57 ± 0.21	0.14 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.61 ± 0.05	0.95 ± 0.07	1.09 ± 0.05	0.77 ± 0.06
雾化器种类	Stage 6 /mg	Stage 7 /mg	MOC /mg	FPF5 /%	MMAD /μm	FPF3 /%	GSD
Boy SX 蓝芯	0.43 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.02 ± 0	44.7 ± 0.46	5.33 ± 0.04	21.07 ± 0.59	2.10 ± 0.01
Boy SX 红芯	0.56 ± 0	0.23 ± 0.01	0.14 ± 0.01	76.0 ± 0.14	3.12 ± 0	47.10 ± 0.08	1.94 ± 0.01
Junior Boy SX	0.67 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.04 ± 0.01	58.8 ± 0.69	4.21 ± 0.06	30.72 ± 0.67	2.84 ± 0.54
LC Plus	0.42 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0 ± 0	45.7 ± 2.52	5.38 ± 0.13	25.09 ± 1.36	2.08 ± 0.08
403E	0.41 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.16 ± 0.01	52.6 ± 1.46	4.58 ± 0.13	28.88 ± 1.57	2.15 ± 0.09

表 4 以栀子苷计 NGI 的测定 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 NGI calculated by geniposide ($\bar{x} \pm s, n=3$)

雾化器种类	药杯残留 /mg	人工喉 /mg	Stage 1 /mg	Stage 2 /mg	Stage 3 /mg	Stage 4 /mg	Stage 5 /mg
Boy SX 蓝芯	6.15 ± 0.52	0.52 ± 0	1.04 ± 0.03	2.01 ± 0.06	2.45 ± 0.08	2.73 ± 0.05	1.84 ± 0.02
Boy SX 红芯	11.77 ± 0.01	0.05 ± 0	0.15 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.73 ± 0.02	1.42 ± 0.02	1.57 ± 0.03
Junior Boy SX	5.73 ± 0.32	0.16 ± 0.01	0.59 ± 0.05	1.01 ± 0.02	2.08 ± 0.05	2.74 ± 0.12	1.97 ± 0.03
LC Plus	8.54 ± 0.30	0.23 ± 0.01	0.69 ± 0.05	1.39 ± 0.08	1.79 ± 0.08	1.33 ± 0.09	1.50 ± 0.07
403E	11.26 ± 0.32	0.20 ± 0.04	0.54 ± 0.05	1.04 ± 0.08	1.61 ± 0.12	1.86 ± 0.09	1.31 ± 0.10
雾化器种类	Stage 6 /mg	Stage 7 /mg	MOC /mg	FPF5 /%	MMAD /μm	FPF3 /%	GSD
Boy SX 蓝芯	0.82 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.07 ± 0.01	45.5 ± 0.13	5.25 ± 0.13	21.72 ± 0.81	2.16 ± 0.07
Boy SX 红芯	0.85 ± 0.01	0.34 ± 0	0.24 ± 0	75.8 ± 0.09	3.09 ± 0.01	47.63 ± 0.12	1.97 ± 0
Junior Boy SX	1.09 ± 0.08	0.40 ± 0.02	0.32 ± 0.01	60.0 ± 0.51	4.10 ± 0.04	32.69 ± 0.47	2.08 ± 0.08
LC Plus	0.69 ± 0.04	0.23 ± 0.01	0.19 ± 0.01	47.1 ± 2.45	5.23 ± 0.13	27.06 ± 1.28	2.11 ± 0.05
403E	0.70 ± 0.04	0.29 ± 0.02	0.24 ± 0.02	52.8 ± 1.73	4.61 ± 0.15	29.34 ± 2.67	2.15 ± 0.07

下降,随着喷雾过程的进行,透光率稳定,当药杯内液体不足以支持稳定的雾化输出时,雾化输出减小,空气中的气溶胶微粒减少,透光率回升。整个喷雾过程,透光率随喷雾时间的变化呈 U 型曲线。 D_{10}, D_{50}, D_{90} 在喷雾稳定阶段保持平稳,当透光率上升时,三者出现不同程度的下降。在雾化稳定阶段,5 款雾化器雾化热毒宁吸入溶液气溶胶颗粒的 D_{10}, D_{50}, D_{90} 见表 5。与 NGI 测试类似,以 D_{50} 计,百瑞蓝芯所得微粒粒径最大,而百瑞红芯所得微粒粒径最小。

3.4 相关性分析 由于递送剂量均一性及空气动力学粒径分布以绿原酸计和以栀子苷计的结果类似,可得到类似的结论,故本部分相关性分析均以绿

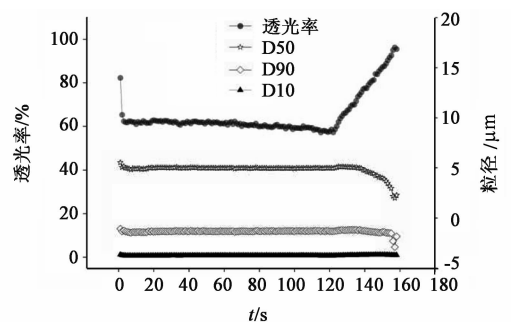


图 1 百瑞蓝芯雾化器雾化热毒宁吸入溶液过程的监测
Fig. 1 Monitoring of atomizing process of Reduning inhalation solution nebulized by Boy SX atomizer with blue core

原酸计的结果展示,以栀子苷计的公式、结论等不再赘述。

表 5 5 款雾化器形成的热毒宁吸入溶液气溶胶的粒径测试 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 5 Realtime particle size of Reduning inhalation solution aerosols generated by five atomizer ($\bar{x} \pm s, n = 3$) μm

雾化器种类	D_{10}	D_{50}	D_{90}
Boy SX 蓝芯	0.81 ± 0.06	4.88 ± 0.07	11.71 ± 0.20
Boy SX 红芯	1.30 ± 0.17	3.08 ± 0.29	7.37 ± 0.86
Junior Boy SX	1.35 ± 0.09	3.49 ± 0.06	8.13 ± 0.26
LC Plus	1.27 ± 0.32	4.67 ± 0.02	11.00 ± 0.28
403E	1.30 ± 0.02	4.18 ± 0.12	10.69 ± 0.33

3.4.1 简单相关分析 粒径信息组和递送剂量信息组两变量组内简单相关分析情况分别见表 6, 7。由表 6 可知,对于粒径信息组内变量而言,多

表 6 粒径信息组内的简单相关系数

Table 6 Simple intra-class correlation coefficients of particle size information group

粒径信息组	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	x_6	x_7
x_1	1.000 0	-0.990 4	-0.646 6	0.976 1	0.377 9	-0.957 2	-0.930 3
x_2	-0.990 4	1.000 0	0.567 7	-0.948 1	-0.355 5	0.960 5	0.912 4
x_3	-0.646 6	0.567 7	1.000 0	-0.679 3	-0.294 3	0.567 0	0.664 7
x_4	0.976 1	-0.948 1	-0.679 3	1.000 0	0.478 3	-0.929 2	-0.906 5
x_5	0.377 9	-0.355 5	-0.294 3	0.478 3	1.000 0	-0.490 1	-0.516 1
x_6	-0.957 2	0.960 5	0.567 0	-0.929 2	-0.490 1	1.000 0	0.973 5
x_7	-0.930 3	0.912 4	0.664 7	-0.906 5	-0.516 1	0.973 5	1.000 0

表 7 递送剂量信息组内的简单相关系数

Table 7 Simple intra-class correlation coefficients of delivery dose information group

递送剂量信息组	y_1	y_2	y_3	y_4
y_1	1.000 0	-0.785 0	-0.764 9	-0.936 5
y_2	-0.785 0	1.000 0	0.841 8	0.910 1
y_3	-0.764 9	0.841 8	1.000 0	0.805 5
y_4	-0.936 5	0.910 1	0.805 5	1.000 0

由表 7 可知,对于递送剂量信息组内变量而言,各变量之间依然呈强相关。有效喷雾时间与递送总量正相关,而与递送速率负相关,归因于有效喷雾时间是递送总量和递送速率的比值。而递送总量与呼出总量呈强正相关,而递送速率与二者均呈强负相关。表明在本文中若某一雾化器的递送速率越大,则其递送总量和呼出总量越小,有效喷雾时间越短。两组变量组间简单相关分析结果见表 8。结果发现两变量组间的相关性较好,但不足以通过 1 组变量准确预测另 1 组变量的行为,有必要进行典型相关分析,以进一步挖掘两组变量间的相关性。

3.4.2 典型相关分析 两组变量经过典型相关分析后得到 4 对典型变量 $CV_{1-1}, CV_{2-1}; CV_{1-2}, CV_{2-2}; CV_{1-3}, CV_{2-3}; CV_{1-4}, CV_{2-4}$ 。4 对典型变量间的相关系

数变量的相关关系较强 ($r > 0.5$)。MMAD 和 D_{50} 存在着非常好的相关关系,其相关系数 (r) 达 0.960 5,这一结论与前人的研究结果相吻合^[3-4]。MMAD 与 D_{90} 的 r 也达到了 0.912 4,这表明尽管测试原理不同,所表征的粒径类型不同,但 MMAD 和 D_{50}, D_{90} 之间存在着较强的线性相关关系。提示对于吸入溶液而言,在喷雾稳定后,在累积颗粒的比例达到 50%,甚至达到 90% 以后,空气动力学粒径和累计分布粒径具有强相关关系。而 FPF_5 和 FPF_3 的相关系数为 0.976 1,表明二者强相关。且 MMAD 和 FPF_5 的 r 达到了 -0.990 4,说明二者强负相关,表明 MMAD 越大, FPF_5 越小。这一结论与上述颗粒沉积位置的结论一致^[7]。

表 8 粒径信息组和递送剂量信息组的组间简单相关系数

Table 8 Simple inter-class correlation coefficients between particle size information group and delivery dose information group

粒径信息组	y_1	y_2	y_3	y_4
x_1	-0.801 6	0.892 1	0.718 0	0.919 4
x_2	0.764 2	-0.865 6	-0.659 5	-0.879 9
x_3	0.654 3	-0.656 5	-0.504 7	-0.729 3
x_4	-0.851 2	0.865 5	0.768 1	0.927 0
x_5	-0.701 7	0.504 4	0.582 9	0.557 7
x_6	0.754 2	-0.925 6	-0.746 7	-0.860 0
x_7	0.759 3	-0.956 1	-0.782 3	-0.884 9

数分别为 0.998, 0.955, 0.817, 0.802。第 1 对典型变量的相关系数大于组间原始变量的相关系数,表明第 1 对典型变量的相关性优于原始变量。在此基础上进行显著性检验,假设对应典型变量之间的 r 为 0,进行 Bartlett χ^2 检验,检验水平为 0.05,结果见表 9。前 2 对典型变量的 $P < 0.05$,推翻原假设,其相关性显著;而后两对典型变量的 $P > 0.05$,接受原假设,其相关性不显著。故保留前 2 对典型变量进行讨论。原始变量标准化处理后经过典型相关分析,得到的 4 对典型变量的系数,见表 10,表 11。其中 * 代表经标准化处理后的数据,即标准化处理后的变量 = (原始变量 - 均值) / 标准差。则保留的 2

对相关显著性的典型变量表达式为 $CV_{1-1} = 5.356x_1^* + 1.663x_2^* + 0.011x_3^* - 1.472x_4^* + 0.553x_5^* + 1.652x_6^* + 0.009x_7^*$; $CV_{2-1} = 0.408y_1^* - 0.616y_2^* - 0.041y_3^* + 1.946y_4^*$; $CV_{1-2} = -6.712x_1^* - 7.527x_2^* - 0.167x_3^* + 2.623x_4^* + 0.243x_5^* + 5.637x_6^* - 1.696x_7^*$; $CV_{2-2} = 0.214y_1^* - 2.205y_2^* - 0.300y_3^* + 2.233y_4^*$ 。

表 9 粒径信息组和递送剂量信息组的典型相关显著性检验

Table 9 Significance testing of canonical correlation between particle size information group and delivery dose information group

典型变量	Wilk's	卡方检验值	<i>f</i>	<i>P</i>
1	0.000	82.204	28.000	0
2	0.011	36.450	18.000	0.006
3	0.118	17.078	10.000	0.073
4	0.356	8.260	4.000	0.082

表 10 标准化处理后粒径信息组的典型变量系数

Table 10 Canonical variable coefficients of particle size information group after normalization

粒径信息组	1	2	3	4
x_1	5.356	-6.712	-6.390	-8.534
x_2	1.663	-7.527	-6.729	-7.933
x_3	0.011	-0.167	-0.177	-1.336
x_4	-1.472	2.623	0.533	-0.433
x_5	0.553	0.243	-0.886	0.533
x_6	1.652	5.637	3.972	-1.394
x_7	0.009	-1.696	-3.583	1.327

表 11 标准化处理后递送剂量信息组的典型变量系数

Table 11 Canonical variable coefficients of delivery dose information group after normalization

递送剂量信息组	1	2	3	4
y_1	0.408	0.214	2.197	-2.555
y_2	-0.616	-2.205	0.231	2.231
y_3	-0.041	-0.300	-0.964	-1.712
y_4	1.946	2.233	2.537	-2.981

典型载荷系数表示的是该典型变量与本组所有原变量的简单相关系数,交叉载荷系数表示的是该典型变量与另外 1 组原变量的简单相关系数。典型载荷系数和交叉载荷系数分别见表 12,13。结果发现对于第 1 对典型变量 CV_{1-1} 和 CV_{2-1} 而言, CV_{1-1} 与 x_4 的相关系数高达 0.894,与 y_4 的相关系数高达 0.969, CV_{2-1} 与 x_4 的相关系数高达 0.892,与 y_4 的相关系数高达 0.971,这表明热毒宁吸入溶液气溶胶的 FPF_3 越大,其有效喷雾时间越长。同理对于第二对典型变量 CV_{1-2} 和 CV_{2-2} 而言,热毒宁吸入溶液气溶胶的 D_{90} 越大,其递送总量越小。

冗余分析以原始变量与典型变量间相关为基础,通过计算变量组由自身的典型变量解释与由对

表 12 粒径信息组的典型载荷系数和交叉载荷系数

Table 12 Canonical loading coefficients and cross loading coefficients of particle size information group

粒径信息组	典型载荷系数		交叉载荷系数	
	CV_{1-1}	CV_{1-2}	CV_{2-1}	CV_{2-2}
x_1	0.885	-0.316	0.883	-0.301
x_2	-0.842	0.320	-0.841	0.305
x_3	-0.729	0.116	-0.727	0.111
x_4	0.894	-0.263	0.892	-0.251
x_5	0.465	-0.201	0.464	-0.192
x_6	-0.767	0.530	-0.765	0.506
x_7	-0.793	0.555	-0.792	0.530

表 13 递送剂量信息组的典型载荷系数和交叉载荷系数

Table 13 Canonical loading coefficients and cross loading coefficients of delivery dose information group

递送剂量信息组	典型载荷系数		交叉载荷系数	
	CV_{2-1}	CV_{2-2}	CV_{1-1}	CV_{1-2}
y_1	-0.900	0.083	-0.898	0.080
y_2	0.801	-0.593	0.799	-0.566
y_3	0.696	-0.521	0.695	-0.498
y_4	0.971	-0.216	0.969	-0.206

方的典型变量解释的方差百分比与累计百分比,以反映由典型变量预测原始变量的程度,见表 14。结果发现粒径信息组的第 1,2 典型变量 CV_{1-1} 和 CV_{1-2} 分别解释了粒径信息组方差的 60.8% 和 13.1%,总计 73.9%,表明粒径信息组信息的 73.9% 可以被自身的典型变量 CV_{1-1} 和 CV_{1-2} 所概括;而 CV_{2-1} 和 CV_{2-2} 分别解释了粒径信息组方差的 60.6% 和 11.9%,总计 72.5%,表明粒径信息组信息的 72.5% 可以被对方的典型变量 CV_{2-1} 和 CV_{2-2} 所概括。同理,递送剂量信息组信息的 88.8% 能够被自身典型变量 CV_{2-1} 和 CV_{2-2} 所概括,87.1% 的递送剂量信息组信息能够被对方的典型变量所概括。提示粒径信息组和递送剂量信息组的典型变量不仅可以用于预测本组组内原始变量,还可用于预测对方组内的原始变量。

表 14 典型变量的冗余分析

Table 14 Redundancy analysis of canonical variables

组别	由自身典型变量解释的方差比例		由对方典型变量解释的方差比例	
	典型变量	解释的方差比例/%	典型变量	解释的方差比例/%
粒径信息	CV_{1-1}	60.8	CV_{2-1}	60.6
	CV_{1-2}	13.1	CV_{2-2}	11.9
递送剂量信息	CV_{2-1}	71.9	CV_{1-1}	71.7
	CV_{2-2}	16.9	CV_{1-2}	15.4

4 讨论

吸入溶液的体外吸入性能评价包含粒径评价和递送剂量均一性评价,本研究结果显示二者能够相互影响。即使是对于同一品种同一批次的吸入溶液,当雾化器的种类发生改变时,其雾化产生的气溶胶颗粒的吸入性能也会发生一定的变化,从而影响最终的疗效。因此对于吸入溶液吸入性能的体外评价需要严格控制,以保证吸入溶液的质量。

2015年版《中国药典》中对吸入溶液的质量控制中包括了递送剂量均一性和空气动力学粒径分布。目前对吸入溶液的质量研究中,递送剂量均一性的研究相对较少,笔者推测其原因在于并没有法定的标准规定递送速率、递送总量合适的上下限,且每个品种其测试结果差别很大,需要针对每个品种建立相应的标准来控制其质量。作为体外吸入性能评价的一部分,吸入溶液递送剂量均一性的重要性无需赘言。递送速率能将单位时间内递送药物定量,递送总量能够将一次雾化药物定量,而本文中呼出总量纳入到递送剂量均一性实验中,以表征在雾化过程中由于雾化给药方式自身造成的药物损耗,能够更为深刻地理解递送剂量均一性,从而全面地控制吸入溶液的质量。空气动力学粒径分布的测定是吸入溶液质量控制的经典方法,但其缺点一样明显,操作繁琐、费时费力,而激光衍射法测定的实时粒径是光学测试,与成分含量不直接相关,检测时间是该经典方法的百分之一,省时省力,而且与经典方法所得的空气动力学粒径相关性良好。因此,激光衍射法在新药研发早期或者临床应用上雾化器的早期筛选时,可以迅速将吸入溶液的粒径信息呈现出来。故本文将激光衍射法纳入到吸入溶液的质量控制体系中,能够快速准确的获取吸入溶液经雾化器雾化后微粒的粒径信息。

本文中热毒宁吸入溶液递送剂量信息组和粒径信息组的组内相关性良好,在提取出典型相关变量后,组间相关性也得到了提升,并且两组内和两组间的信息均可以使用本组典型变量或者对方组典型变量来预测,表明在一定程度上,能够使用较为快捷的检测技术来预测整体吸入溶液的质量信息。例如Spraytec快速获取实时喷雾粒径信息,能够预测NGI中的MMAD的同时,也能够从一定程度上预测递送剂量均一性的相关指标变化趋势,譬如递送速率、递送总量等。这对于吸入溶液新药研发中早期的雾化器筛选,能够极大地节省研发成本,提高研发效率。

尽管本研究取得了一定的结果,但仍有可提高

之处。本文选取了热毒宁吸入溶液和5款空气压缩式雾化器作为研究载体进行了相关研究,对于其他品种的吸入溶液、其他种类的雾化器是否能够得出类似的结论,则需要吸入溶液的品种、雾化器的种类和型号等方面进行更为深入的研究。在递送剂量均一性的研究中,本文仅选取了成人模式进行研究,但在儿科临床雾化治疗使用的相当普遍,后期需要对吸入溶液在儿童、婴儿甚至新生儿的呼吸模式下的递送剂量均一性进行更为深入的研究,以期更好地控制吸入溶液质量。本文通过测定同一批热毒宁吸入溶液经过5款不同的空气压缩雾化器雾化后的递送剂量均一性、空气动力学粒径分布、实时喷雾粒径分布,并进行相关性分析,以期探寻热毒宁吸入溶液递送剂量信息组和粒径信息组之间的相关性。结果表明热毒宁吸入溶液递送剂量信息组和粒径信息组组内相关性较好,组间相关性参差不齐,提取出的2对具有显著相关性的典型相关变量呈现出了较好的组间相关性。这2对典型变量能够较好地预测本组内和对方组的原始变量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:13-15.
- [2] Häussermann S, Winnips C, Edelman J, et al. Lung deposition of α 1-proteinase inhibitor (human) (A1-PI [H]) inhalation solution using two inhalation modes of the I-neb adaptive aerosol delivery (AAD) system in healthy subjects and subjects with cystic fibrosis [J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2016, 29(3):242-250.
- [3] SONG X H, HU J H, ZHAN S Y, et al. Effects of temperature and humidity on laser diffraction measurements to jet nebulizer and comparison with NGI [J]. AAPS PharmSciTech, 2016, 17(2):380-388.
- [4] 宋培光,刘昕. 参麦注射液雾化吸入对放射性肺炎患者血清C-反应蛋白和体液免疫功能变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(10):170-173.
- [5] 朱俊,陈保全,卢嘉彤,等. 不同喷射雾化器对吸入混悬液体外沉积性质的影响[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(6):1140-1144.
- [6] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品标准(修订)颁布件——热毒宁注射液[S]. 2015: YBZ08202005-2015Z.
- [7] Elphick M, von Hollen D, Pritchard J N, et al. Factors to consider when selecting a nebulizer for a new inhaled drug product development program[J]. Expert Opin Drug Deli, 2015, 12(8):1375-1387.

[责任编辑 刘德文]