

肺部吸入制剂评价方法的研究进展

韩飞^{1*}, 赵志冬¹, 王跃生², 王金钱²

(1. 江西中医学院, 南昌 330004; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006)

[摘要] 对肺部吸入制剂的评价方法进行介绍, 为相关研究提供理论基础和研究思路。通过中国知网, PubMed, ScienceDirect 等数据库, 对近 12 年来 27 篇相关文献报道进行整理、分析和归纳, 将各种肺部吸入剂的评价方法按其特点进行分类。肺部吸入剂的评价方法主要有: 惯性撞击器法、现代光学仪器法、药效学评价、药动学评价、肺内沉积评价法等。肺部吸入剂评价方法存在体内、外评价相关性不强, 药动学、药效学评价方法单一, 动物模型与实际情况不相符, 安全性评价体系不完善等问题, 有待于逐步改进和完善。

[关键词] 肺部给药; 吸入制剂; 体内外评价

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0303-04

Progress of Research on Evaluation Methods for Pulmonary Inhalation Preparation

HAN Fei^{1*}, ZHAO Zhi-dong¹, WANG Yue-sheng², WANG Jin-qian²

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Chinese Medicine Solid Preparations National Engineering Research Center
for Manufacturing Technology, Nanchang 330006, China)

[Abstract] To provide research ideas and theoretical basis for relevant researches through summarizing on evaluation methods of pulmonary inhalation either *in vivo* or *in vitro*. Classifying various evaluation methods of pulmonary inhalation according to their characteristics after collecting, analyzing and concluding related 27 articles in last decade from the databases of CNKI, PubMed, ScienceDirect. Predominant evaluation methods were listed as follows: cascade impactor method, modern optic instruments method, pharmacodynamic evaluation method, pharmacokinetic evaluation method, intrapulmonary deposition method and so on. Currently, there were many problems yet to be solved for evaluation methods of pulmonary inhalation, for example, correlation between *in vivo* and *in vitro* evaluation methods was low, methods were single of pharmacodynamic and pharmacokinetic evaluation, animal models were not conforming to real situation of human body and safety assessment system was imperfect. All of these should be gradually improved and perfected in the future studies.

[Key words] pulmonary delivery; inhalation preparation; *in vivo* and *in vitro* evaluation

近年来随着人们对哮喘、肺气肿、急慢性支气管炎等疾病的深入了解, 大家逐渐认识到肺部吸入给药是治疗上述疾病较为有效的途径。肺部吸入制剂可使药物以较高浓度到达作用部位, 起效迅速, 使用方便, 避免了肝脏首过效应, 减少全身给药可能产生的不良反应, 是目前国内外研发的热

点剂型之一。

肺部吸入剂型主要有定量吸入气雾剂(MDI)、干粉吸入剂(DPI)和雾化吸入剂等。通常肺部给药的剂量较小(每剂量仅10%~15%能达肺部), 且肺部给药的生物利用度并不太高。对肺部吸入制剂的评价可反映制剂质量, 故本文就国内、外对其的各种评价方法进行简要综述。

1. 体外评价

肺部吸入给药的效果常受到药物粒子在呼吸道不同部位的沉积、吸气速度、上皮细胞渗透等多种因素的影响, 目前体外还没有模型能完全模拟这一复杂的环境。现阶段各国

[收稿日期] 20111205(023)

[通讯作者] * 韩飞, 硕士, 讲师, 从事药物新剂型及新技术研究, Tel: 13807054411, E-mail: hanfei8454871@163.com

一般采用人工呼吸道和人工肺,选择多级碰撞取样器,模拟进行体外沉积试验,从而测定药物粒子大小及粒度分布来反映药物粒子在呼吸道各部位的沉积率。

1.1 惯性撞击器法 肺部吸入剂的药物粒子应非常微细 ($< 5 \mu\text{m}$) 才能达到作用部位,仅有 20% 左右的药物能在有效部位沉积,发挥疗效。惯性撞击器法 (cascade impactor, CI) 是目前吸入制剂体外粒度分析最经典的方法,也是美国和欧洲药典评价吸入剂体外粒度分布推荐使用的方法^[1]。CI 是利用惯性撞击的原理,按粒径大小分离药物颗粒的方法,它既能直接测量并计算药物的粒径,同时能对不同粒径范围内的活性药物成分予以定量,与其他方法相比,该法操作方便,重复性好。这类装置有各国药典(《中国药典》2005 年版) 收录的双层液体碰撞器 (twin-stage liquid impinger, TSI), 美国和欧洲药典收录的 Marple Miler 多级撞击器 (USP apparatus 2), Andersen 多级撞击器 (Andersen cascade impactor, ACI, USP apparatus 1), 多层液体碰撞器 (multistage liquid impinger, MI, USP apparatus 4), 金属碰撞器 (metal impinger, EP 1995) 等^[2]。

Hammed 等^[3] 将甘露醇作为 DPI 中乳糖的替代载体,研究载体粒径、载体与药物的比例以及附加物(亮氨酸或甘露醇)的加入对载胰岛素 PLGA 微粒的体外吸入性能的影响。实验以 Andersen 撞击器法评价其体外沉积情况,再测定各收集部位药物的分布量,结果表明有效部位沉积率高,肺吸入效果良好。

Sichuan 等^[4] 以 TSI 和 Andersen 碰撞取样器考察沙丁胺醇气雾剂和载体颗粒的体外沉积,将气流速度控制在 $28.3 \sim 90.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 认为药物粒子的沉积方式与载体颗粒的粒径分布密切相关。

Hartwing Steckel 等^[5] 以羟甲叔丁肾上腺素(舒喘宁)的粉雾剂为研究对象,采用电子显微镜和多层液体碰撞器法测定粒径大小、粒度分布和体外沉积行为。结果显示平均粒径小于 $5 \mu\text{m}$, 细粉比例 (FPF) 为 40.7%, 完全符合肺沉积要求。

最近国外研制了新一代药用多级撞击器 (next generation pharmaceutical impactor, NGI, USP apparatus 5, 6), 一共有 7 级,可在 $15 \sim 100 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 的空气流速内使用^[6], 同时新一代电子撞击器 (electrical next generation impaction, ENGL) 也将问世,用 NGI 评价吸入剂的体外粒度分布,结果准确,易于自动化,目前已被欧美药典收录^[7]。

1.2 现代光学仪器法 该方法是通过光散射、衍射和飞行时间等来测定粒子大小及分布的方法^[8], 现阶段应用广泛的有激光衍射气雾粒径测定法 (LD) 和飞行时间空气动力学气雾粒径测定法 (TOF)。

陈桂良、候惠民等^[8] 分别采用 LD 法和 TOF 法测定了以氢氟烷为抛射剂的沙丁胺醇气雾剂的粒径,并与多层液体撞击器法比较。结果表明,LD 法能反映气雾剂气雾发生的过程变化,获得非空气动力学粒径;TOF 法获得的为空气动力学粒径参数,与撞击器法测定的结果一致。

Burgess DJ^[9] 等也采用 LD 法和 TOF 法对多种吸入制剂进行了研究指出:多级撞击器法适合于评价各种吸入剂的体外雾化特性,而 LD 法适于液滴的测定而不适于粉雾剂等固体颗粒的评价,TOF 法可获得空气动力学直径分布,结果准确。

除上述方法外,用于体外评价吸入剂的方法还包括测定粒子大小的全息法,测定喷雾雾滴速度的多普勒相位测速法以及 Gabrio 等^[10] 报道的测定喷雾温度和压力的方法等。

2 体内评价

肺部吸入剂临床前阶段的体内评价通常采用大鼠、兔等动物,以不同的吸入方式或借助特定的装置给药。肺部吸入制剂的体内评价存在给药剂量较小、动物模型难以建立、评价指标较多等问题,要全面评价肺部吸入剂的内在质量,应该建立药动学和药效学相关性试验。

2.1 气管插管吸入给药 肺部吸入制剂在实际应用中需要靠实验动物自身的吸力将药物吸入体内并输送到肺部,这通常并不容易办到。很多研究者采用改造过的装置模拟吸入给药方式进行体内评价,取得不错的效果。

李志平^[11] 在干扰素 $\alpha\text{-}2\text{b}$ 缓释微球及干粉吸入剂的研究中,将大鼠用乌拉坦麻醉后,手术剥离出气管,于大鼠甲状软骨下做一切口,然后将针头插入切口,在大鼠吸气时将活性碳和干扰素 $\alpha\text{-}2\text{b}$ 的混合物快速推入大鼠的肺中。1 h 后处死大鼠,剥离出其气管及肺组织观察活性碳的分布。结果表明,干粉药物粒子可到达肺部深层组织中。

冯立^[12] 在研究氨曲南肺部吸入粉雾剂体内评价时,用戊巴比妥钠麻醉大鼠,固定于木板上,分离气管,将针头插入气管,将称好的氨曲南药粉放入注射器,使药粉在注射器中雾化后吹入大鼠肺中,2 h 后处死大鼠,分别取出动物的肺、肝、肾等器官,测定各器官中氨曲南的药物浓度,并进行比较。结果表明,大鼠肺部氨曲南的浓度明显高于其他器官,故氨曲南粉雾剂可吸入给药。

Niven 等^[13] 在一微量取样器枪头内装入精密称定的重组人集落细胞刺激因子 (rhG-CFS) 干粉,连接充满空气的注射器后与儿科用气管插管连接,再将这一装置与实验兔的气管插管连接,利用注射器中的空气快速将干粉吹入肺中。这种方法可较地将药物运送到肺部。

2.2 气管内滴注给药 气管内滴注是另一种较常用的给药方法,简单易行,且能准确控制给药剂量。沈央,方晓玲等^[14] 在考察三七皂苷脂质体大鼠肺部给药药动学研究中,采用气管滴注给药的方法将药物粒子后成功送入麻醉的大鼠体内,然后尾静脉取血,并求出其药动学参数与相对生物利用度,验证了三七皂苷脂质体肺部给药的可行性。

张丽珺、邢斌等^[15] 在研究 9-一硝基喜树碱脂质体 (9-NC) 大鼠肺部给药药动学时,通过往麻醉大鼠气管内滴注给药方法考察脂质体在体内的药动学行为,用液液萃取法处理血浆样品,测定不同时间点大鼠血浆中的药物浓度,实验结果表明 9-NC 脂质体肺部给药后具有一定的缓释作用。虽然气管内滴注给药通常是用于吸入剂体内评价试验,但仅局限

于液体药物的给药,对于固体药物有一定的局限性,同时给药后可能在局部积液而对肺部产生影响。

2.3 药效学评价 由于肺部吸入制剂的特殊性,人们对其血药浓度与药效的关系一直存在争议,因而其生物等效性(BE)的评价方法尚无统一标准。近年来有研究者提出,吸入沙丁胺醇后 20 min 内的血药浓度能够反映到达肺部的药量,并据此观点进行了不少产品间的 BE 评价,取得了不错实验结果^[16]。目前,大多数研究人员还是采用药效学方法评价肺部吸入剂的等效性,即测定不同时间点的血药浓度,对时间作图,用梯形法计算药时曲线上面积 AAC,与不同给药途径相对比,得到相对生物利用度,该方法虽然有一定的局限性,但现阶段仍然具备一定的体内评价意义,故被广泛采用。

沈赞聪、张强^[17]在研究胰岛素毫微球肺部给药对正常大鼠的降血糖作用中,采用葡萄糖氧化酶法,以血糖下降至给药前 70% 以下所持续时间为考察指标,通过测定血糖浓度来评价胰岛素毫微球(INS-NP)经肺部给药后对大鼠的降血糖作用。结果表明 INS-NP 肺部给药的相对生物利用度达到 59.2%,与胰岛素溶液相比,INS-NP 经大鼠肺部给药后能显著延长其血糖下降的时间。

Kobayashi 等^[18]测定血浆中钙离子的浓度,计算血钙浓度曲线下面积,作为鲑降钙素干粉吸入剂的药理作用指标。试验结果显示血浆钙离子浓度随时间的变化与血浆中降钙素浓度水平有很好的对应性,表明该体内评价方法具有一定意义。

2.4 药动学评价 虽然肺部给药具有吸收表面积大,吸收部位血流丰富,能避免肝脏的首过效应等优点但其给药剂量小、血药浓度低,国内外有关体内药代动力学的研究较少。早期用同位素标记法进行测定的文献认为,肺部吸入剂在体内过程与口服剂型相似,表明大部分剂量经吞咽而被胃肠道吸收。近年来,有研究者^[19]以健康受试者为对象,进行了肺部吸入剂人体内药物动力学研究,并求算其相对生物利用度,与药效学取得了较好的一致性。

王智瑛等^[20]研究了不同促进剂对鲑降钙素(sCT)大鼠肺部给药系统的促渗作用。采用放射免疫分析法测定 sCT 溶液经大鼠肺部吸入给药后的体内血清降钙素浓度,并与肌肉注射对照计算不同条件下 sCT 的相对生物利用度(Fr),结果表明与肌肉注射相同剂量 sCT 溶液相比,其肺吸收的生物利用度更高,Fr 值为 121.0%。

Uarez S, Garcia Contreras L 等^[21]实验表明含 H-MAP 的胰岛素吸入给药,可明显改变其肺部的药动学参数,并与胰岛素和 H-MAP 的剂量有关。当 H-MAP 用量为 $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,胰岛素用量为 $1.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,相对生物利用度比单独给予胰岛素增加 2.5 倍,可达到 $(77 \pm 23)\%$ 。

2.5 肺内沉积评价 药物进入人体后需到达肺泡沉积后才能进入血循环被吸收,而沉积在上呼吸道的药物大多被纤毛运动排出体外。要增加肺部吸入制剂的生物利用度,首先得提高药物在肺泡内的沉积率,因此肺内沉积也是反映吸入制

剂内在质量的重要因素之一。 γ -闪烁照相法是无损伤的影像技术,可准确测定肺及肺的不同区域中药物的分布量,非常适合用于吸入制剂的肺内沉积评价试验。Karhu 等^[22]采用 γ -闪烁成像技术测定乳糖载体在 10 名健康男性的肺部沉积情况,证实在标记过程中,乳糖粉末的粒径不改变,肺部沉积较少(2.5% ~ 3.3%),体外分散试验结果表明 PPF 为 10.3% ~ 26.0%,说明布地奈德颗粒的再分散性可通过载体性质而改变。Wild Haber 等^[23]选择 6 ~ 16 岁患有哮喘病人,以含有布地奈德的 DPI 进行试验,平均吸入气流为 $65 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,采用 γ -标记摄像分析药物在肺部的沉积,发现肺部药物的沉积平均占给予药物的 29.1%,结果表明肺内沉积率与患者的年龄和最大呼吸气流有关。

3 安全性评价

国外对蛋白和多肽类药物的肺部给药已有广泛的研究,虽然有试验证明大部分蛋白和多肽类药物肺部给药在短期内是安全的,但长期给药后的安全性是必须考虑的问题。

Heinemann L^[24]和 Watts 等^[25]指出,胰岛素肺部给药制剂中常添加胆盐,虽然可以大大提高药效,但是在临床应用中,特别是长期使用对肺部有损伤作用,这可能是胆盐侵蚀肺泡表皮所致。

Yamamoto 等^[26]还发现降钙素肺部给药时若加入吸收促进剂和酶抑制剂等添加剂后能显著提高药物生物利用度,但对肺部都有一定的毒性。

有报道指出短期肺部给药的安全性评价使用组织病理学的研究方法,长期安全性评价则依赖临床试验和上市后的不良反应监测,这些评价方法都存在一定的局限性,并不能很好的评价肺部吸入剂的安全性。随着肺部给药研究的迅速发展,建立更加完整、更加合理的肺部给药安全性评价体系,研究长期肺部给药的安全性是非常必要的。

4 讨论

据报道,2001 年全球肺部给药市场达 84 亿美元,并且每年以 13% 的速度增长,2005 年已达到 152 亿美元,预计到 2012 年可接近 200 亿美元^[27]。近年来肺部给药系统在给药装置和制剂手段研究等方面取得了巨大进步,其中一些已应用于临床并形成产品,国外蛋白质和多肽类肺部给药系统的研制也取得了一定成果,应用前景乐观。但目前为止,还没有哪个国家建立了一整套完整的肺部吸入制剂的评价体系,有关肺部给药评价方法的报道也比较有限,这对于一个拥有着百亿美元市场的剂型来说是非常遗憾的,也是急待解决问题之一。

肺部吸入制剂的评价本身存在较多影响因素,如药物理化性质差异、动物实验模型差异、给药装置的差异、靶组织和器官的差异、分析方法的差异等,建立一套先进、合理、标准的评价体系面临的困难很多。但我们相信,随着制剂技术和分析水平的不断发展以及药学工作者的努力,将来肺部吸入给药制剂评价体系的建立和发展指日可待。

[参考文献]

[1] 严翠霞,王麟达,陈桂良.新一代药用撞击器及其应

- 用[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9):1572.
- [2] Vermeer, Frokjaer, Austral, et al. Lung surfactant as a drug delivery system [J]. *Int J Pharmac*, 2006, 37(8):89.
- [3] Hammed H, Jaber E, Abdolhossien R N, et al. Influence of carrier particle size, carrier ratio and addition of fine ternary particles on the dry powder inhalation performance of insulinloaded PLGA microcapsules [J]. *Powder Technol*, 2010, 201(3):289.
- [4] Sichuan T, Martin G P. On the relationship between drug and carrier deposition from dry powder inhalers *in vitro* [J]. *Int J Pharm*, 1998, 167(1):13.
- [5] Hartwig Steckel, Heike G. A novel spray-drying technique to produce low density particles for pulmonary delivery [J]. *Int J Pharmac*, 2004, 278(5):187.
- [6] Pilcer G, Vanderbist F, Amighi K. Correlations between cascade impastor analysis and laser diffraction techniques for the detemiation of the particle size of aerosolized powder fomulations [J]. *Int J Pharm*, 2008, 358(1/2):75.
- [7] Hoe S, Young P M, Chan H K, et al. Introduction of the electrical next generation impactor and investigation of its capabilities for the study of pressurized metered dose inhalers [J]. *Pham Res*, 2009, 26(2):431.
- [8] 陈桂良, 侯惠民. 吸入用气雾剂雾粒测定方法的评价 [J]. *中国医药工业杂志*, 2007, 38(3):194.
- [9] Burgess D J. Particle size analysis: AAPS workshop report, cosponsored by the food and drug dministration and the United States Pharmacopeia [J]. *APS J*, 2004, 6(3):20.
- [10] Gabrio, Smyth H D C. The influence of formulation variables on the performance of alternative propellant-driven metered dose inhalers [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2003, 55(7):807.
- [11] 李志平. 干扰素 α -2b 缓释微球及干粉吸入剂研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2007.
- [12] 冯立. 氨曲南肺吸入粉雾剂的研制 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2007.
- [13] Niven R W, Lott F D, IP A Y, et al. Pulmonary delivery of powders and solutions containing recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG2CFS) to the rabbit [J]. *Pharm Res*, 2004, 11(8):1101.
- [14] 沈央, 方晓玲. 三七总皂苷脂质体的药剂学性质及大鼠肺部给药药动学研究 [J]. *中草药*, 2004, 35(7):745.
- [15] 张丽珺, 邢斌. 9-硝基喜树碱脂质体 (9-NC) 大鼠肺部给药药动学 [J]. *复旦学报: 医学版*, 2007, 34(2):273.
- [16] Hassan M S, Lau R. Inhalation performance of pollen-shape car-rier in dry powder formulation with different drug mixing ratios: comparison with lactose carrier [J]. *Int J Pharm*, 2010, 386(1/2):6.
- [17] 沈赞聪, 张强, 魏树礼, 等. 胰岛素毫微球肺部给药对正常大鼠的降血糖作用 [J]. *北京医科大学学报*, 1999, 31(5):436.
- [18] Kobayashi S, Kondo S, Junín K. Pulmonary delivery of salmon calcitonin dry powders containing absorp tion enhancers in rats [J]. *Pharm Res*, 1999, 13(1):80.
- [19] Sony J, Mcconville J T. Advancements in dry powder delivery to the lung [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2008, 34(9):948.
- [20] 王智瑛, 张强. 鲑鱼降钙素大鼠肺部给药系统的研究 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2003, 35(3):329.
- [21] Uarez S, Contreras L. Facilitation of pulmonary insulin absorption by H-MAP: pharmacokinetics and pharmacodynamics in rats [J]. *Pharm Res*, 2001, 18(12):1677.
- [22] Karhu M, Kuikka J, Kauppinen T, et al. Pulmonary deposition of lactose carriers used in inhalation powders [J]. *Int J Pharm*, 2000, 196(1):95.
- [23] Wildhaber J H, Devadason S G. et al. Lung deposition of budesonide from turbuhaler in asthmatic children [J]. *Eur J Pediatr*, 1998, 157(12):1017.
- [24] Heinemann L, Klappoth W, Rave K, et al. Intra-individual varability of metabolic effect of Inhaled-insulin together with enhancer [J]. *Diabetes Care*, 2003, 23(9):1343.
- [25] Watts A, Williams R O. Current therapies and technological advances in aqueous aerosol drug delivery [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2008, 34(9):913.
- [26] Yamamoto A, Okumura S, Fuknda Y, et al. Improvement of the pulmonary absorption of caleitonin by various absorption enhancers and their pulmonary toxicity In rats [J]. *J Pharm Sci*, 2000, 86(10):1144.
- [27] 陈新梅. 肺部给药研究新进展 [J]. *中国现代药物应用*, 2010, 4(1):224.

[责任编辑 仝燕]