·实验研究·

新一代撞击器测定空气动力学粒径分布方法学验证

李选堂,陈翠翠,魏宁漪,周　颖,宁保明
(中国食品药品检定研究院,北京 100050)

[摘要]　**目的**:空气动力学粒径分布(aerodynamic particle size distribution,APSD)的首选测定方法是级联撞击器法(cascade impactor,CI),新一代撞击器(next generation impactor, NGI)是诸多 CI 中较新的仪器,已被收载在各国药典中,但由于方法的操作繁琐等问题,在方法学验证过程中仍存在诸多问题。本文对建立的 CI 测定方法进行系统验证,以减少 CI 方法的变异性,可用于吸入制剂的质量控制。**方法**:采用 NGI 对盐酸氨溴索吸入溶液的 APSD 进行测定,采用 HPLC 法测定各层级药物含量,采用 CITDS 软件计算空气动力学相关统计参数,方法学内容包括 HPLC 方法的建立、NGI 雾化时间的确定、二次夹带现象考察、流速耐用性、器壁损失测定、仪器校验及泄漏测试、回收率、稀释液的影响、重复性和中间精密度、实验温湿度等。**结果**:采用的 HPLC 方法可用于盐酸氨溴索含量测定;APSD 雾化时间确定为 1 min;仪器的器壁损失不大于雾化总药量的 2%;仪器进行校验,未检出泄露现象;总回收率均 >95.0%;稀释液的来源对 APSD 的结果无影响;平行测定的重复性和中间精密度良好,在实验室环境中(20 ℃ ~25 ℃)温度对实验结果无影响;不同湿度条件下(30% 和 50%)测得结果有一定影响;该方法适用于盐酸氨溴索吸入溶液的 APSD 测定。**结论**:本文采用 NGI 仪器,建立盐酸氨溴索吸入溶液的 APSD 测定方法,并进行系统验证,证明该方法的精密度及回收率良好,变异性较小,为 APSD 测定方法的建立和验证提供参考和依据,可用于吸入制剂的质量控制。

[关键词]　空气动力学粒径分布;新一代药物撞击器;盐酸氨溴索吸入溶液;雾化器
[中图分类号] R917　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1003 - 3734(2021)24 - 2315 - 07

Methodology validation of the determination of aerodynamic particle size distribution by next generate impactor

LI Xuan-tang, CHEN Cui-cui, WEI Ning-yi, ZHOU Ying, NING Bao-ming
(*National Institutes for Food and Drug Control*, *Beijing* 100050, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: The preferred method for measuring aerodynamic particle size distribution (APSD) is cascade impactor. The next generation impactor (NGI) is a relatively new instrument among cascade impactors (CI), which has been included in the pharmacopoeia of various countries, however, there are still many problems in the process of methodology validation due to the cumbersome and complex operation of the method. In this study, the established CI method was systematically validated to reduce the variability of method, which could be used for the quality control of inhalers. **Methods**: The APSD of ambroxol hydrochloride inhalation solution was determined by NGI, the drug contents at different stages were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) method, and aerodynamic statistical parameters were calculated by the CITDS software. The methodology investigation included the establishment of HPLC method, determination of NGI nebulization time, re-entrainment, robustness of flow velocity, inter-stage drug loss, instrument calibration and leakage test, recovery rate, influence of diluent, repeatability and intermediate precision, temperature and humidity, etc. **Results**: The adopted HPLC method could be used for the assay of ambroxol hydrochloride; the nebulization time of APSD was determined to be 1 min;

[作者简介]　李选堂,男,本科,主要从事化学药品质量控制研究。E-mail:lixuantang@ nifdc. org. cn。
[通讯作者]　宁保明,男,博士,研究员,主要从事化学药品质量控制研究。E-mail:ningbm@ nifdc. org. cn。

the inter-stage drug loss was not greater than 2% of the total nebulized drug amount; the instrument was calibrated and no leakage was detected. The total recoveries were over 95.0%. The source of diluent had no effect on APSD determination results. The established method had good repeatability and intermediate precision. In the laboratory environment (20 ℃ ~25 ℃) temperature had no effect on the experimental results. Humidity (30% and 50%) had certain influence on the measured results. **Conclusion**: NGI was used to establish the method for the determination of APSD of ambroxol hydrochloride inhalation solution, and systematic validation was finished. It was proved that the precision and recovery of the method are good, and the method variability is small, which is suitable for the determination of APSD of ambroxol hydrochloride inhalation solution. This study provided a reference and basis for the establishment and verification of aerodynamic particle size distribution determination, and this method can be used for the quality control of inhaled preparations.

[**Key words**] aerodynamic particle size distribution; next generation impactor; ambroxol hydrochloride inhalation solution; nebulizer

吸入制剂是指原料药物溶解或分散于适宜介质中,以气溶胶或蒸汽形式递送至肺部发挥局部或全身作用的液体或固体制剂,包括吸入气雾剂、吸入粉雾剂、吸入喷雾剂、吸入液体制剂和可转变成蒸汽的制剂[1]。吸入制剂因其独特的给药方式,药物经患者吸入之后可直接到达呼吸道、肺部,经由呼吸道、肺部表面细胞吸收后发挥局部或全身作用,因此具有起效迅速、无肝脏首过效应、使用方便等优点,临床应用广泛[2]。吸入制剂的体外评价方法主要有释药剂量、空气动力学粒径分布(aerodynamic particle size distribution,APSD)、喷雾模式和喷雾形态、贮藏和使用过程中药物和装置可能产生的毒性杂质和微生物污染[3]。APSD 测定吸入制剂气溶胶的粒径大小分布情况,描述了可能进入肺部的药物粒子的质量及比例,预测了药物粒子在肺部沉积的位点,对肺部吸入给药的质量评估具有重要意义[4]。用于吸入制剂 APSD 的测定方法主要有双级液体撞击器(twin-stage liquid impinge, TSLI)、安德森撞击器(adersen cascade impactor, ACI)、新一代撞击器(next generation impactor, NGI)、等级联撞击器(cascade impactor,CI)[5]。CI 方法虽然已被收载在各国药典中,但由于方法的操作繁琐等,在方法学验证过程中还存在诸多问题。目前国内外的药典和指导原则都没有方法学验证的详细要求,相关指导原则要求各不相同,《欧洲药典》(EP)10.5 版和《美国药典》(USP)2021 版标明 APSD 方法开发及验证时,只要求各层级不得过载、无二次夹带现象。

盐酸氨溴索吸入溶液为临床常用的痰液溶解剂,是哮喘、支气管、慢性阻塞性肺疾病等呼吸道疾病的一线用药[6]。盐酸氨溴索吸入溶液是吸入液体制剂中临床用途最广泛的品种之一,其处方简单,除表面张力外其他理化性质对雾化特性无明显影响[7],因此选取盐酸氨溴索吸入溶液进行 APSD 研究。吸入液体制剂由于雾化形成的气溶胶粒径较小,比表面积较大,易挥发,影响 APSD,因此 APSD 测定过程中应使用较低的空气流速,欧洲标准委员会要求流速为 15 $L\cdot min^{-1}$,而 ACI 经验证其应用的最低流速为 30 $L\cdot min^{-1}$,低于 30 $L\cdot min^{-1}$不适用于此类剂型测定,因此各国药典均要求吸入液体制剂只能用 NGI 方法测定[8]。目前国内外药典、相关指导原则中均未对 CI 方法学研究进行系统要求。因此本研究采用 NGI 测定吸入制剂 APSD,并进行方法学验证,为 NGI 方法的建立、方法学验证过程及标准制定提供参考和依据,为吸入制剂的体外评价提供参考。

材　　料

1　仪器

Ultimate 3000 高效液相色谱仪(包括单元泵、在线脱气机、自动进样器、UV 检测器、柱温箱、Chromeleon7 工作站,美国赛默飞世尔科技有限公司);NGI(包括 HT-5 单元泵、电子流量计、冷却装置、计算软件 CITDA,Copley 公司);雾化器(PARY BOY SX,德国百瑞有限公司)。

2　试剂

盐酸氨溴索吸入溶液(自制,规格 15 mg∶2 mL);盐酸氨溴索对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100599-201905,纯度:99.9%);氯化钠注射液(国药集团容生制药有限公司,批号:16060503);纯化水(实验室自制,电阻率:18.2 mΩ)。

方法与结果

1 液相色谱方法

1.1 液相色谱条件 采用 Inertsil ODS-3 C_{18}色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为 0.01 mol·L^{-1}磷酸氢二铵溶液(用磷酸调节 pH 值至 7.0)-乙腈(50∶50);流速 1 mL·min^{-1};检测波长 248 nm;柱温 30 ℃。

1.2 系统适用性实验[9] 称取盐酸氨溴索对照品约 5 mg,加甲醇 0.2 mL 溶解,加甲醛溶液(1→100) 40 μL,摇匀,60 ℃水浴加热 5 min,氮气吹干,残渣加水 5 mL 溶解,加入流动相稀释至 20 mL,混匀,精密量取 40 μL,注入液相色谱仪,按照"**1.1**"项下的色谱条件测定,氨溴索与杂质峰(相对保留时间为 0.8)的分离度为 7.3,见图 1。

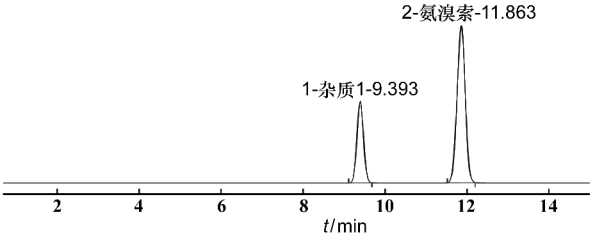


图 1 系统适用性溶液的 HPLC 图

1.3 空白辅料干扰实验 移取空白辅料溶液约 1 mL,至 25 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,混匀,精密量取 40 μL,注入液相色谱仪,按照"**1.1**"项下的色谱条件测定,结果见图 2,结果表明空白辅料在氨溴索出峰处无峰出现,辅料不干扰氨溴索的测定。

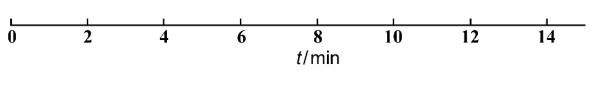


图 2 空白辅料的 HPLC 图

1.4 线性与范围 储备液的配制:精密称取盐酸氨溴索对照品 0.024 58 g 置于 100 mL 量瓶中,加入适量流动相溶液,加入流动相溶解并稀释至刻度,混匀,即得浓度为 245.8 μg·mL^{-1}对照品储备液。线性溶液 4,5,6,7 和 8 的配制:精密量取储备液 1,3,5,9 和 5 mL 分别置于 25,25,25,25 和 10 mL 量瓶中,加流动相溶液稀释至刻度,混匀,即得浓度为 9.83,29.50,49.16,88.49 和 122.9 μg·mL^{-1}的线性溶液;线性溶液 2 和 3 的配制:分别精密量取线性溶液 4(9.83 μg·mL^{-1})、线性溶液 5(29.50 μg·mL^{-1})各 2 mL 分别至 20 mL 量瓶中,加流动相溶液稀释至刻度,混匀,即得浓度为 0.983 和 2.950 μg·mL^{-1}的线性溶液。线性溶液 1 的配制:精密量取线性溶液 3(2.950 μg·mL^{-1})2 mL 至 25 mL 量瓶中,加流动相溶液稀释至刻度,混匀,即得浓度为 0.236 μg·mL^{-1}的线性溶液。精密吸取上述线性溶液各 40 μL,注入液相色谱仪计算氨溴索浓度与峰面积的线性关系,结果氨溴索在 0.236 ~ 122.96 μg·mL^{-1}的浓度范围内线性关系良好,回归方程为 $A = 978.58C - 0.043$,$R = 1.000$。

1.5 检出限和定量限 取线性溶液 1(0.236 μg·mL^{-1}),加流动相溶液逐步释稀,以色谱峰 $S/N = 10$ 确定浓度为 0.047 μg·mL^{-1},混匀,进样 40 μL,按照"**1.1**"项下色谱条件测定,记录色谱图,以色谱峰 $S/N = 10$ 确定定量限浓度为 0.047 μg·mL^{-1},进样质量为 1.9 ng;以色谱峰 $S/N = 3$ 确定检出限浓度为 0.014 μg·mL^{-1},进样质量为 0.56 ng。

1.6 仪器精密度 取对照品溶液,进样 40 μL,按照"**1.1**"项下色谱条件测定,记录色谱图,连续进样 6 次,计算氨溴索色谱峰的峰面积与保留时间的 RSD,结果均 <2%,表明仪器精密度良好。

1.7 稳定性 取 APSD 测定项下的供试品溶液,分别在 0,2,4,6,8,12,24,48 和 72 h 进样 40 μL,按照"**1.1**"项下色谱条件测定,记录色谱图,计算氨溴索色谱峰的峰面积与保留时间的 RSD,结果均 <2%,表明样品在 72 h 内稳定。

1.8 盐酸氨溴索溶液含量测定 精密称取盐酸氨溴索对照品 0.024 58 和 0.025 64 g 置于 100 mL 量瓶中,加入流动相溶液适量,超声至溶解,加入流动相溶液稀释至刻度,混匀,分别精密移取 5 mL 置于 25 mL 量瓶,加流动相稀释至刻度,摇匀即得浓度分别为 49.16 和 51.28 μg·mL^{-1}的对照品溶液 1 和对照品溶液 2。精密量取盐酸氨溴索吸入溶液 4 mL 至 100 mL 量瓶中,加流动相溶液稀释至刻度,混匀,精密量取 8 mL 至 50 mL 量瓶,加流动相溶液稀释至刻度,混匀,平行配置 6 份,作为供试品溶液。精密吸取上述对照品溶液与精密度溶液各 40 μL,按照上述色谱条件测定,按外标法以峰面积计算,测得氨溴索含量为 99.98%,RSD 为 0.13%($n = 6$)。

2 盐酸氨溴索雾化特性研究-APSD 测定

2.1 仪器设置与操作 控制环境温度(25 ± 2) ℃,

湿度(30 ±5)%,按照《中华人民共和国药典》2020年版四部通则 0951 要求安装 NGI,滤纸置于微孔过滤器(MOC)下(撞击器内部),并将装置放在 5 ℃的冷柜中预冷 90 min,开启真空泵,将流量计与 L 型连接管相连,调节流量控制阀使 L 型连接管进口的气体流速为 15 L·min^{-1}(±5%)[10],取下流量计。分别精密量取 2 mL(15 mg·2 mL^{-1})药液及 2 mL 稀释液至雾化杯,由口接适配器连接 L 型连接管与雾化器,确保所有连接处密封。打开真空泵,待流速稳定后,打开雾化器。设定雾化时间,雾化完成后,关闭雾化器,等待 15 s,关闭真空泵,从冷却装置中取出撞击器。

2.2 溶液制备 取 MOC 层级下的滤纸与收集杯用流动相冲洗,滤纸与洗液置于 100 mL 容量瓶,用流动相定容至刻度,混匀。取上述样品溶液过滤,取续滤液至液相小瓶。其余各层级下的收集杯分别用流动相冲洗至 25 mL 容量瓶中,L 型连接管和口接适配器用流动相冲洗至 50 mL 容量瓶中。精密量取上述各层级供试品溶液 40 μL,注入液相色谱仪。

2.3 雾化时间考察 分别将雾化器雾化时间设定为 0.5,1,2,3,4 和 5 min,进行测定。雾化完成后,将各层级样品淋洗至容量瓶中,按照"**1.1**"项下的色谱条件测定,按外标法以峰面积计算,测定每个层级的氨溴索含量,并将测定结果用 CITDAS 软件进行分析,获得各计量学参数选择微细粒子百分率(fine partical fraction,FPF)、微细粒子(<5 μm)剂量(fine partical dose,FPD)、质量中值空气动力学粒径分布(mass median aerodynamic diameter,MMAD)和几何标准偏差(geometric standard deviation,GSD),结果见表 1。

表 1 不同时间的雾化参数测定结果 $\bar{x} \pm s, n = 3$

雾化时间/min	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
0.5	61.67 ±5.79	0.39 ±0.16	3.85 ±0.35	2.22 ±0.15
1	55.37 ±1.16	0.74 ±0.01	4.29 ±0.10	2.24 ±0.02
2	59.31 ±1.21	1.75 ±0.20	3.99 ±0.10	2.30 ±0.20
3	57.29 ±2.69	2.61 ±0.40	4.14 ±0.20	2.26 ±0.02
4	59.28 ±2.68	4.17 ±0.60	4.04 ±0.27	2.19 ±0.08
5	60.82 ±2.16	5.26 ±0.30	3.93 ±0.20	2.21 ±0.03

实验结果表明,各层级收集的样品均在分析方法的检测范围内。雾化时间为 0.5 min 时,各层级收集的药量较少,数据变异较大,测定结果平行性较差;雾化时间从 3 min 开始,第六层级收集盘中出现过载现象,且 MMAD 有明显变化,说明可能存在因层级过载而出现二次夹带现象,雾化 5 min 时,收集盘内的液滴已严重过载;雾化时间从 3 min 开始,测定结果的平行性较差;雾化时间为 2 min 的精密度较 1 min 的好,但是实验中发现同品牌的不同雾化泵之间雾化压力不同,雾化压力较高时,雾化器雾化时间为 2 min,某一层级也会出现过载现象,为保证该实验方法的适用性,最终确定雾化时间为 1 min。PARY BOY SX 雾化器临床建议每次使用不超过 20 min,本品临床使用时该雾化器雾化 15 min 即可完全雾化。

2.4 流速耐用性 USP 与 EP 均标明 APSD 测定用的真空泵流速为 15 L·min^{-1}(±5%),因此需验证在 15,14.25 和 15.75 L·min^{-1}流速下方法的耐用性。将雾化时间确定为 1 min,按"**2.1**"和"**2.2**"方法进行实验,将真空泵流速分别设定为 15,14.25,和 15.75 L·min^{-1}进行实验,雾化完成后,用流动相清洗 NGI 内部各层级喷嘴表面,收集洗液至 100 mL 量瓶中,按照"**1.1**"项下的色谱条件测定含量,每个流速条件下重复测定 3 次,计算不同流速条件下各 APSD 参数,结果见表 2。

表 2 不同流速下的雾化参数统计结果 $\bar{x} \pm s, n = 3$

流速/L·min^{-1}	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
15	56.76 ±1.28	0.87 ±0.02	4.28 ±0.10	2.09 ±0.02
14.25	56.10 ±0.12	0.92 ±0.02	4.30 ±0.01	2.17 ±0.01
15.75	57.19 ±1.80	0.93 ±0.06	4.24 ±0.14	2.10 ±0.01

结果表明,方法的流速在规定范围 15 L·min^{-1}(±5%)内对测定结果无显著影响。

2.5 撞击器内部的器壁损失考察 将雾化时间确定为 1 min,按"**2.1**"和"**2.2**"方法进行实验,雾化完成后,用流动相清洗 NGI 内部各层级喷嘴表面,收集洗液至 100 mL 量瓶中,按照"**1.1**"项下的色谱条件测定含量,重复测定 3 次,计算雾化总量和撞击器内部残留,结果见表 3。

表 3 雾化 1 min 时器壁损失量 $\bar{x} \pm s, n = 3$

编号	雾化总量/mg	器壁损失量/mg	器壁损失百分比/%
1	1.33	0.24	1.8
2	1.39	0.20	1.4
3	1.31	0.15	1.2

结果表明,撞击器内部器壁损失占雾化总量的百分比均 <2%,说明雾化时间为 1 min 时,器壁损失较小,符合相关国际上对方法开发和验证的要求。

2.6 仪器泄漏测试 NGI 仪器说明书中规定压力泄漏限度应 < 100 Pa·s^{-1}。按照《中华人民共和国药典》四部通则 0951 要求安装仪器,使用配套检漏仪检验,记录 20 s,未检出压力下降,表明仪器正常可用。

2.7 仪器校验 按照 EP 中对 NGI 的要求进行校验,采用 MitutoyoQV404 自动视觉检查系统对冲击器喷嘴进行光学检测,检测结果见表 4 和表 5。

表 4 NGI 各级段测量结果

NGI 级段	EP 9.0 规定		校验结果	
	喷嘴数量/个	规定直径/mm	喷嘴数量/个	喷嘴直径/mm
1	1	14.25 ~ 14.35	1	14.27 ~ 14.33
2	6	4.84 ~ 4.92	6	4.86 ~ 4.90
3	24	2.165 ~ 2.205	24	2.181 ~ 2.189
4	52	1.197 ~ 1.217	52	1.205 ~ 1.209
5	152	0.598 ~ 0.618	152	0.598 ~ 0.618
6	396	0.313 ~ 0.333	396	0.313 ~ 0.333
7	630	0.196 ~ 0.216	630	0.196 ~ 0.210 8

表 5 MOC 级测量结果

NGI 级段	EP 10.0 规定		校验结果	
	喷嘴数量/个	压力下降/kPa	喷嘴数量/个	压力下降/kPa
MOC	4 001 ~ 4 032	5.7 ~ 6.3	4 032	5.9

结果表明,NGI 各级段内喷嘴数量及直径均在规定范围内,仪器正常可用。

2.8 回收率实验 按照"**2.1**"项所述方法进行实验,将喷嘴装置用流动相淋洗至 50 mL 容量瓶中,定容;雾化杯内残留药液用流动相溶液淋洗至 100 mL 量瓶中,定容,平行测定 6 次,考察该实验方法的整体回收率,回收率的计算公式为:回收率/% =(喷嘴装置 + 各层级总量 + 雾化器残留)/雾化杯初始加入量 ×100%,回收率结果见表 6。

表 6 雾化时间 1 min 的回收率测定结果 $\bar{x} \pm s, n = 3$

喷嘴装置/mg	各层级总量/mg	雾化器残留/mg	回收率/%
0.019 ± 0.005	1.34 ± 0.05	13.77 ± 0.12	101.08 ± 1.22

实验方法是通过流动相淋洗各层级、喷嘴装置、雾化器残留获得最终样品,淋洗过程中引入的误差因素较多,最终的回收率均在 95% 以上,RSD 值 <2%,因此该实验方法回收率良好,淋洗方式准确可靠。

2.9 稀释液的考察 稀释液的加入可能会影响制剂的雾化特性,因此分别考察不同厂家的稀释液,以及稀释液加入体积对 APSD 参数的影响。按照上述实验中筛选的参数进行测定,雾化杯内加入药液及稀释液各 2 mL,稀释液来源分别为 GY,QD 和 SH,每种来源的稀释液分别平行测定 3 次,各 APSD 参数结果见表 7;另设对照组不加入稀释液,平行测定 3 次,结果见表 8。结果表明,不同厂家的稀释液测得的结果相差较小,各项参数无明显差异,表明稀释液来源对 APSD 的结果无影响。

表 7 不同来源稀释液的雾化参数测定结果 $\bar{x} \pm s, n = 3$

稀释液来源	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
GY	56.76 ± 1.28	0.87 ± 0.02	4.28 ± 0.10	2.09 ± 0.02
QD	55.58 ± 1.31	0.90 ± 0.03	4.37 ± 0.11	2.10 ± 0.01
SH	56.02 ± 1.79	0.91 ± 0.04	4.33 ± 0.15	2.10 ± 0.01

表 8 是否加入稀释液的雾化参数测定结果对比 $\bar{x} \pm s, n = 3$

是否加入稀释液	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
是	55.37 ± 1.16	0.74 ± 0.01	4.29 ± 0.10	2.24 ± 0.02
否	55.85 ± 1.35	1.95 ± 0.07	4.33 ± 0.10	2.09 ± 0.01

结果显示,因为稀释液的加入,雾化杯内药液浓度减少 1 倍,因此 FPD 相应减少。而 FPF,MMAD 和 GSD 结果无显著性差异,因此稀释液的加入虽然改变了雾化杯内液体的理化性质,但并不影响粒径分布的结果。

2.10 不同温度和湿度的耐用性考察 由于实验室温度控制在 20 ℃ ~25 ℃,按照"**2.1**"中测定方法,在其他条件相同情况下,控制环境温度分别为 20 ℃和 25 ℃进行 APSD 的耐用性考察。不同温度的 APSD 参数结果见表 9。

表 9 不同温度的 APSD 测定 $\bar{x} \pm s, n = 3$

温度	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
20 ℃	58.94 ± 1.23	0.88 ± 0.06	4.00 ± 0.15	2.25 ± 0.08
25 ℃	59.50 ± 1.07	0.82 ± 0.05	3.96 ± 0.03	2.31 ± 0.19

温度为 20 ℃和 25 ℃时盐酸氨溴索雾化吸入溶液的 APSD 情况基本相同,2 个温度下粒径分布基本一致。各 APSD 参数经 t 检验表明不存在显著性差异,因此不同温度下(实验室环境中)本实验方法的耐用性良好。

按照"**2.1**"中测定方法,在其他条件相同情况下,控制环境温度为(25 ± 2) ℃,湿度分别设定为 30% 和 50% 进行 APSD 的耐用性考察,每个湿度平行实验 3 次。不同湿度的 APSD 参数结果见表 10。

表 10 不同湿度的 APSD 测定 $\bar{x} \pm s, n = 3$

湿度	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
30%	60.07 ± 1.22	0.86 ± 0.09	3.89 ± 0.04	2.22 ± 0.13
50%	58.48 ± 0.82	0.82 ± 0.10	4.05 ± 0.07[a]	2.29 ± 0.03[a]

a:与湿度 30% 相比,$P < 0.05$

不同湿度下盐酸氨溴索雾化吸入溶液的 APSD 情况略有不同,经 t 检验分析,不同湿度下 FPF 和 FPD 不具有显著性差异。不同湿度下 MMAD 和 GSD 具有显著性差异。液滴与潮湿空气接触时,会吸附水蒸气,导致微粒的空气动力直径增加。相反,当液滴遇到干燥空气时,由于蒸发,空气动力直径会减小。实验过程中应对湿度进行控制,考虑到临床使用机构环境,本研究选用湿度(30 ± 5)% 进行实验。

2.11 APSD 测定 按照"**2.1**"和"**2.2**"项下仪器参数设置与操作,将雾化时间设定为 1 min,流速设定为 15 L·min^{-1},稀释液选择 GY,测定盐酸氨溴索的 APSD,测定结果见表 11 和图 3。

表 11 APSD 测定 $n = 6$

参数	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
结果	55.51 ± 1.53	0.76 ± 0.03	4.27 ± 0.12	2.24 ± 0.09
RSD/%	2.25	2.42	3.02	2.24

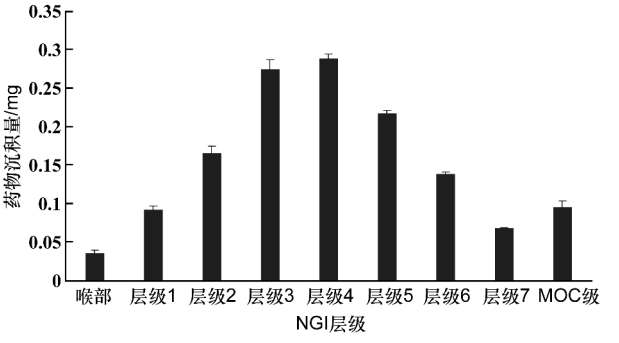


图 3 吸入用盐酸氨溴索溶液雾化 1 min 时的层级分布图

实验结果表明,雾化 1 min 时,FPF,MMAD 和 GSD 3 个参数的 RSD 值均不大于 3%,平行测定的实验数据重复性良好。

2.12 中间精密度 按照"**2.1**"项下的参数设置,分别考察在不同时间和不同人员的测定结果,见表 12 和表 13。

表 12 不同日期的 APSD 测定 $\bar{x} \pm s, n = 6$

日期	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
日期 1	55.51 ± 1.75	0.76 ± 0.03	4.27 ± 0.13	2.24 ± 0.09
日期 2	57.36 ± 2.37	0.79 ± 0.07	4.18 ± 0.28	2.15 ± 0.13

表 13 不同人员的 APSD 测定 $\bar{x} \pm s, n = 6$

人员	FPF/%	FPD/mg	MMAD/μm	GSD
人员 1	55.51 ± 1.75	0.76 ± 0.03	4.27 ± 0.13	2.24 ± 0.09
人员 2	56.31 ± 2.00	0.80 ± 0.05	4.26 ± 0.21	2.21 ± 0.11

不同时间和不同人员测得的各项 APSD 参数均无明显差异,表明方法变异性小,适用于盐酸氨溴索吸入溶液的测定。

讨 论

本研究采用 NGI 仪器,建立盐酸氨溴索吸入溶液的 APSD 测定方法,并进行验证,证明方法的耐用性、精密度及回收率良好,无器壁损失,方法变异性

较小,无过载现象和二次夹带现象,适用于盐酸氨溴索吸入溶液的 APSD 测定。另外,为保证方法的性能和变异性减少,在方法验证以及测定过程中应对仪器进行定期校验,保证仪器的关键尺寸与说明书(规范)要求一致;确保仪器设置没有问题(避免泄漏,正确安装各级段)[11];确保环境因素(温湿度)的变化对实验的影响最小化,有研究表明湿度 > 75% RH 时液滴大小会有微小增加,可能是由于雾化器夹带高湿度的环境空气会使液滴蒸发更少,甚至是液滴增长,因此在高于 75% RH 下测试的结果应该谨慎评估[12];因 CI 方法操作繁杂,各个操作步骤均容易产生人员误差,所以应该评估不同操作人员对测定结果的影响。

CI 方法可以模拟气溶胶粒子在呼吸道的沉积过程,被认为是评价吸入制剂 APSD 的"黄金标准"[13]。但是 CI 方法仍存在局限性,如 ACI 级间损耗高,易发生级间气体泄漏,喷嘴雷诺数低,喷嘴-板距离/喷嘴直径比值过小,导致分段收集效率曲线重叠[11];TSLI 只能获得两部分粒子质量,一部分模拟肺腑,另一部分模拟喉部,直接测定空气动力学直径 <6.4 μm 的药物粒子。而 NGI 在 15 L·min^{-1}流速下各层级之间分辨率较高,相邻层级粒径几乎无重叠,层级损失小,数据稳定可靠,且无需使用预分离器[14],相比 TSLI,NGI 可以获得更为准确、丰富的粒径分布结果,因此,NGI 的应用日益广泛。

APSD 主要参数选择 FPF(<5 μm),FPD(<5 μm),MMAD 和 GSD。FPF 为进入撞击器内部的 <5 μm 的粒子占总量的百分数,描述了可能在肺部沉积的药物粒子百分比;MMAD 是一个空气动力学粒径的中间值,大于和小于这个粒径的粒子质量各占总质量的一半,是决定粒子在肺部沉积位置的重要变量;GSD 是无量纲参数,是累积分布低于 84.1% 和 15.9% 的粒子直径比值,GSD 越大粒子的空气动力学直径分布越广。以上 4 个参数可以表征盐酸氨溴索吸入溶液的体外粒径分布情况。使用 NGI 方法测得的 APSD 数据仅描述了药物体外粒径分布特征,用于产品的质量控制,预测了药物在肺部可能的沉积情况,而不能反映真实的体内肺部沉积数据。因此,对于 NGI 方法测得的数据应进行更多的体内外相关性研究,从而改进吸入制剂 APSD 的评价方法。

[参 考 文 献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 四部. 北京:中国医药科技出版社,2020.

[2] 丁云娜, 康彬, 王健. 吸入制剂在肺部感染性疾病治疗中的应用[J]. 世界临床药物, 2016, 37(10): 712 - 716.

[3] NEWMAN S. Respiratory drug delivery:essential theory and practice[M]. 2009:59 - 60.

[4] 欧洲药典委员会. European Pharmacopoeis[S]. 10.0. 2017: 363 - 365.

[5] 高蕾, 魏宁漪, 周颖, 等. 吸入制剂空气动力学粒径分布测定法浅析[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(12): 1433 - 1438.

[6] WEISER T. Ambroxol: a CNS drug? [J]. *CNS Neurosci Therap*, 2008, 14(1): 17 - 24.

[7] 王祯, 魏宁漪, 周颖, 等. 不同处方盐酸氨溴索吸入溶液雾化特性比较[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(13): 1535 - 1539.

[8] 陈翠翠, 魏宁漪, 周颖, 等. 供雾化器用液体制剂的雾化特性质量控制进展[J]. 中国药品标准, 2018, 19(3): 171 - 179.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1268 - 1269.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 138 - 143.

[11] BYRON PR, HARRIS CR, NICHOLS SC, *et al*. Selection and validation of cascade impactor test methods[J]. *Respir Drug Deliv*, 2004, 9: 169 - 178.

[12] BERG E, SVENSSON JO, ASKING L. Determination of nebulizer droplet size distribution: a method based on impactor refrigeration[J]. *J Aerosol Med*, 2007, 20(2): 97 - 104.

[13] TAKI M, MARRIOTT C, ZENG XM, *et al*. Aerodynamic deposition of combination dry powder inhaler formulations *in vitro*: a comparison of three impactors[J]. *Int J Pharm*, 2010, 388(1 - 2): 40 - 51.

[14] MARPLE VA, OLSON BA, SANTHANAKRISHNAN K, *et al*. Next generation pharmaceutical impactor: a new impactor for pharmaceutical inhaler testing. part III. extension of archival calibration to 15 L/min[J]. *J Aerosol Med*, 2004, 17(4): 335 - 343.

编辑:刘卓越/接受日期:2021 - 08 - 12