

撞击器法评估吸入制剂空气动力学粒径分布的研究进展

陈立营¹, 张成飞¹, 李岩峰¹, 任树龙¹, 王爱潮¹, 张 杰^{2*}

1. 天津药业研究院有限公司, 天津 300386

2. 天津金耀集团有限公司, 天津 300450

摘要: 空气动力学粒径分布 (APSD) 是吸入制剂体外质量评价的重要检测项目, 级联撞击器法是国际公认的气溶胶 APSD 测定方法, 并且已被多国药典收载。其通过体外模拟气溶胶经过呼吸道到达肺部不同部位的沉积情况, 对吸入制剂的研究开发具有重要的指导意义。综述了目前国内外药典收载的双级液体撞击器、多级液体撞击器、马普尔-米勒撞击器、安德森级联撞击器、新一代撞击器等撞击器的主要结构以及应用情况。

关键词: 吸入制剂; 气溶胶; 撞击器; 空气动力学粒径分布

中图分类号: R944.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 12-2332-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.12.008

An overview of aerodynamic particle size distribution of inhaled formulations by impactor methods

ZHANG Chengfei¹, CHEN Liying¹, LI Yanfeng¹, REN Shulong¹, WANG Aichao¹, ZHANG Jie²

1. Tianjin Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Tianjin 300386, China

2. Tianjin KingYork Group Co., Ltd., Tianjin 300450, China

Abstract: Aerodynamic particle size distribution (APSD) is an important item for *in vitro* quality assessment of inhalation products. The cascade impactor method is an internationally recognized method for the determination of APSD of aerosols, and it has been recorded in Multinational Pharmacopoeia. The method has important guiding significance for the research and development of generic drugs and innovative drugs for inhaled products by simulating the deposition of aerosols through the respiratory tract to different parts of the lungs *in vitro*. In this paper, the main structures and applications of the two-stage liquid impactors, multi-stage liquid impactors, Marple Miller impactors, Anderson cascade impactors and the new generation impactors contained in the current domestic and international pharmacopoeia are reviewed.

Key words: inhalation product; aerosol; cascade impactor; aerodynamic particle size distribution (APSD)

经口吸入制剂是指通过吸入途径将药物递送至呼吸道和(或)肺部以发挥局部或全身作用的药物剂型^[1], 是国际上预防和治疗哮喘、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)等呼吸道疾病的首选给药方式, 也是至今认为最有效和最安全的疗法^[2]。目前常用的肺部吸入制剂包括干粉吸入粉雾剂(DPIs)、定量吸入气雾剂(MDIs)、吸入溶液(nebulizer)和吸入喷雾剂(SMI)。吸入制剂体外评价方式主要包括以下3个方面: 递送剂量及递送剂量均一性(DDU)、空气动力学粒径分布(APSD)、喷雾模式(spray pattern)和喷雾形态(spray form)^[3]。其中 APSD 是吸入剂体

外质量评价的最重要指标, 对仿制药和创新药的开发具有重要意义。

测定粒径分布的方法有级联撞击器法、飞行时间光谱法、激光衍射法等, 其中级联撞击器法是国际公认的用于测定气溶胶 APSD 的方法。目前各国药典均推荐使用级联撞击器(cascade impactor, CI)检测吸入制剂体外 APSD^[4], 主要收录的撞击器种类包括双级液体撞击器(twin-stage liquid impinge, TSLI)、多级液体撞击器(multi stage liquid impinge, MSLI)、马普尔-米勒撞击器(Marple-Miller impactor, MMI)、安德森级联撞击器(Andersen

收稿日期: 2019-09-30

基金项目: 国家科技部重大专项(2017ZX09201002)

*通信作者: 张 杰, 男, 高级工程师, 研究方向为药物制剂。E-mail: zhangjie@tjpc.com.cn

cascade impactor, ACI)、新一代撞击器(next generation impactor, NGI)^[4-5]。此外,还有目前未被药典收录的电子新一代撞击器(eNGI)、电子低压撞击器(electrical low-pressure impactor, ELPI)等,未来研究中可能会更多被用到。

吸入制剂将药物通过呼吸系统递送到肺部发挥疗效,为了使药物尽可能地通过呼吸系统到达肺部,气溶胶的空气动力学粒径应在 $1\sim 5\ \mu\text{m}$ ^[6]。空气动力学直径是指气溶胶颗粒在空气中的沉降速度与单位密度球体的沉降速度一致时,这种球体的直径即为气溶胶颗粒的空气动力学直径,可以用下面的公式计算^[7-8]:

$$d_{\text{aer}} = d_g \sqrt{\frac{\rho}{\chi \cdot \rho_0}}$$

d_{aer} 是空气动力学直径, d_g 是几何直径, ρ 是颗粒密度, ρ_0 是单位密度(通常指水的密度), χ 是形状因子。

空气动力学直径是表征粒子跟随气流惯性运动能力的参数,决定了气溶胶颗粒在气道内沉积的位置,用于体外评估吸入制剂的雾化特性。撞击器的每个级段都有特定的截止粒径,超过该截止粒径的粒子在惯性作用下被截留,小于该截止粒径的粒子则继续随着气流进入后续级段。气溶胶颗粒根据粒径大小被不同级段依次截留,实现粒度分级^[9]。级联撞击器通过一系列收集盘/级段收集该粒径部分药物,通过测量每个收集盘或级段收集到的药物质量来评价吸入制剂的APSD特性,进而模拟颗粒在肺部的沉积情况。

本文针对吸入制剂APSD国内外药典规定测定方法进行总结。介绍各种方法的结构、原理、优缺点以及应用,为吸入制剂开发过程中APSD测试提供参考。

1 双级撞击器

TSLI是被欧洲药典收录的第1个用于吸入制剂检测APSD的撞击器,目前也被《中国药典》收录。该撞击器易于组装和使用,可快速测试可吸入部分的药物含量。TSLI由2个玻璃管连接的圆形玻璃瓶和一个锥形瓶组成(图1),其设计操作气流流速为 $(60\pm 5)\text{L}/\text{min}$,二级收集器截止直径为 $6.4\ \mu\text{m}$ ^[10]。工作原理为液体撞击,将吸入装置递送的剂量分为可吸入和不可吸入两部分。测试结束后,将撞击器不同部位收集到的活性成分进行检测,并以可吸入的剂量进行表示。

虽然这种方法相比其他撞击器对气溶胶粒度

分离的效率较低,但由于操作简单及测试时间短等优点,通常被用于处方开发的早期阶段。魏宁漪等^[11]对TSLI与ACI两种撞击器法进行了比较研究,微细粒子剂量(FPD)值的测试结果显示,TSLI测试结果精密性较差,变异性较大;而ACI精密性较好,变异性较小,并且认为当吸入制剂建立FPD值检测方法时,应选择最适宜的方法测试,两种方法的限度不能通用,应予以区别。

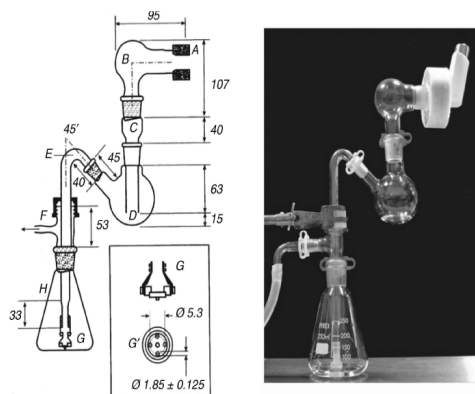


图1 双级撞击器的结构

Fig.1 Structure of twin-stage liquid impinge

2 多级液体撞击器

MSLI为TSLI的升级版,属于5级级联撞击器,收载于美国及欧洲药典,通常用于测试MDIs和DPIs。MSLI与其他级联撞击器具有相同的气流导口,前4级的侧壁为玻璃材质,最后1级为滤纸,用于收集微细粒子及保护真空泵(见图2)。MSLI优点在于无级间损耗,适用于体积流量 $30\sim 100\text{L}/\text{min}$ 。使用MSLI进行空气动力学粒度分布评估时,不需要采用如硅油或甘油等涂布液对收集盘进行涂层,而是每个级段加 20mL 分散液(除了最后级段)。分散液可以防止受撞击的粒子反弹,也可以模拟粒子在肺中液体内的真实碰撞过程。通常采用水作为分散液,而对于水难溶性药物,也可以选择有机溶剂作为分散液,但是会出现溶剂蒸发等问题,特别是在高流速气流条件下,导致药物的质量分析、吸入气溶胶的空气动力学粒径和粒径分布计算都可能不准确。溶剂蒸发的问题可以通过在溶剂中加入已知浓度的内标物来解决^[12]。由于MSLI级段数较少,不同粒度分布的数据收集存在一定的局限性。

严翠霞^[13]等以环索奈德气雾剂为模型药物,对TSLI、MSLI和ACI3种撞击器进行了比较研究,结果表明TSLI更加简便、快速,但是只能得到低于 6.4

μm 的细颗粒药物剂量,不能获得粒度分布;ACI不适合在 28.3 L/min 以上的流速下操作,并且各级损失高于 MSLI;而 MSLI 在评估吸入制剂质量时更为完善。

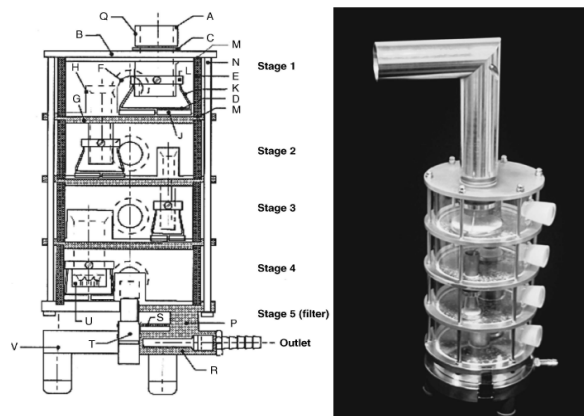


图2 多级液体撞击器的结构

Fig. 2 Structure of multi stage liquid impinger

3 马普尔-米勒撞击器

《美国药典》收录了 MMI 撞击器,仅用于吸入粉雾剂的测定^[5]。MMI 是带有收集杯的 5 级串联撞击器,粒子的收集容器不同于其他撞击器(图 3)。MMI 最初设计用于测试药物的气溶胶的粒度分布,后来用于了多种非药物用途,包括油雾的粒度分布和发动机产生的烟尘颗粒粒度分析。MMI 各级的截止粒径为 10、5、2.5、1.25、0.625 μm ,收集杯可直接称量收集的颗粒或液滴,也可以将溶剂加到收集杯中,进行样品的提取和随后的化学分析。MMI 共有 2 种型号,分别为 150(适合 30 L/min)和 160(适合 60 L/min)。Hindle 等^[14]用 MMI 在 60 L/min 时,考察了硫酸特布他林粉雾剂的 APSD(装置分别为 TurbuhalerTM (AstraZeneca) 和 SpinhalerTM (Sanofi-Aventis)),从结果可以看出 MMI 的粒子侧壁损失几乎可以忽略不计。尽管该研究的详尽验证方案能够解决粒子反弹问题,但很难预测对粒子反弹和撞击器级段之间的药物转移表现出最大敏感性的实验变量。

4 安德森级联撞击器

ACI 是 8 级串联撞击器,通常用于测试 MDIs 及 DPIs,被收录于《中国药典》、《欧洲药典》和《美国药典》。ACI 与其他级联撞击器机制一样,气溶胶通过每个级段时具有足够惯性的粒子撞击到收集盘,而较小的粒子由于惯性不足,会跟随气流进入下一撞击级段(图 4)。

ACI 的设计标准流速为 28.3 mL/min,也可以应

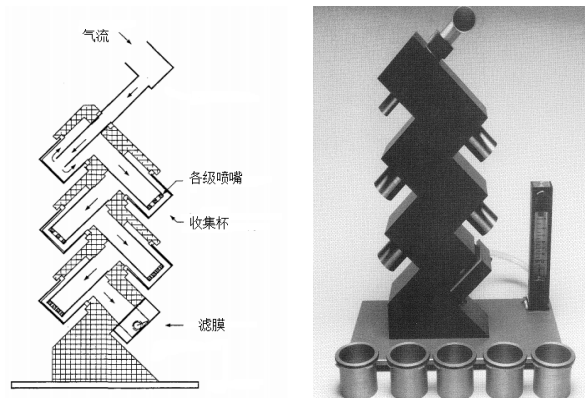


图3 Marple-Miller撞击器的结构

Fig.3 Structure of Marple-Miller impactor

用于更高体积流量要求的检测。Taki 等^[5]研究表明在较高流量下检测吸入粉雾剂,ACI 的适用性较差。

ACI 每个级段的截止粒径都遵循 Stokes 定律,截止直径与气流的平方根成反比,但是随着流速增加,各级段截止直径的区别会减小,出现跨级现象。为了解决这一问题,有两种相应改变的配置,可满足 60 L/min 和 90 L/min 流速的测试。在 60 L/min 撞击器的配置中,第 0 级和第 7 级段被移除并替换为另外两个级段 0 级和 1 级;在 90 L/min 撞击器的配置中,第 0、6 级和第 7 级段被移除并替换为另外 3 个级段 0、-1 和 -2 级。标准的 ACI 可以直接用来测试 MDIs 而不需要进行更改配置,在进行 DPIs 的相关检测时撞击器的吸入端口和 0 级之间需要连接 1 个预分离器,以分离大颗粒粒子。

在 NGI 被开发前,ACI 是应用最广泛的撞击器,但是也存在级间损失大、清洗费时、设计笨拙(喷嘴雷诺数低、级间空气渗透、喷嘴-收集盘距离/喷嘴直径的比值过小等)和精度不高等缺点^[15]。



图4 安德森级联撞击器的结构

Fig. 4 Structure of Andersen cascade impactor

5 新一代撞击器

NGI是《中国药典》《美国药典》与《欧洲药典》方法中唯一一种水平测试的仪器,最重要的部件是夹于中层的8个不同孔径的喷嘴,分别对应7个不同粒径分级的级段和1个最终收集微细粒子的MOC级。NGI弥补了ACI的各级之间密封性差、测试结果的偏差大等缺点,性能和精度大大提高(图5)。NGI不仅具有ACI的优点,还具有测试速度快、易操作、易于清洗等特点,在设定的体积流速范围(30~100 L/min),每级截止粒径没有显著的重叠,因此能更准确地测量药物微粒的APSD。

eNGI是基于NGI的基础上开发的,既能测量吸入制剂的粒度分布,还能表征电荷分布特征。Hoe等^[16]以丙酸氟替卡松、硫酸沙丁胺醇、二丙酸倍氯米松3种聚合MDIs(pMDIs)作为模型药物,在30 L/min的气流流速下,分别采用NGI、eNGI和电子低压撞击器(ELPI)进行APSD的检测,结果显示:eNGI在测量粒径分布方面与NGI测试结果一致,而在测量电荷分布方面与ELPI测试结果一致。

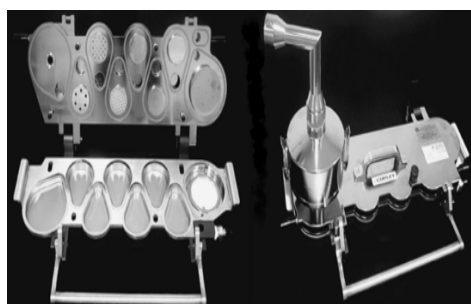


图5 新一代撞击器的结构

Fig. 5 Structure of next generation impactor

6 电子低压撞击器

ELPI的设计原理是通过电子检测来实现对空气中粒子的近距离实时监测^[17-19],其由1个13级的Berber型多喷嘴低压撞击器组成。样品测试结束后,不同粒度分布的粒子沉积在不同的级段上,沉积在不同部位粒子的电荷由各自的静电计测量,然后根据电流测量结果(图6)^[17],再推导出气溶胶微粒的粒度分布,不需要进行后续的化学分析。常规的撞击器所覆盖的尺寸范围通常是0.3~10 μm,而ELPI则可扩展至约30 nm,这是因为ELPI在低于大气压压力下进行检测的^[18]。

采用ELPI测试的粒度分布是1种间接的方法,但由于不需要进行后续相关的化学分析,因此速度快且方便^[20]。ELPI主要用于工业或环境气溶胶的测量或实时监测,但总的来说对药物的应用相对

较少^[21-22]。

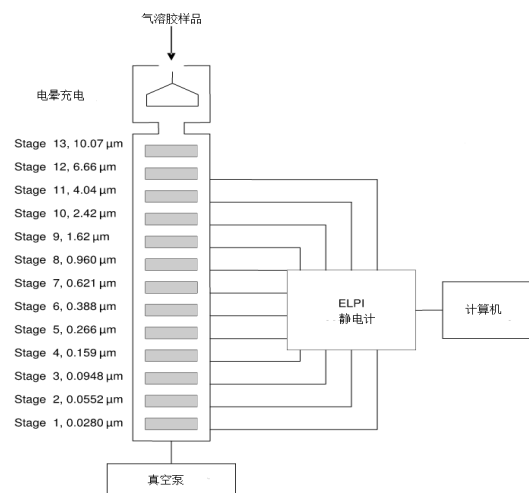


图6 电子低压撞击器的结构

Fig.6 Structure of electrical low-pressure impactor

7 结语

目前不同的撞击器方法均不能用来预测体内药物的真实沉积情况,而是用来进行吸入制剂相关质量评估的方法,因为在体外粒子的速度从撞击器的入口进入后逐渐增加;而在体内速度从喉部到肺泡逐渐降低。Newman等^[23]的研究表明CI方法测试得到的APSD数据相比体内肺部真实沉积结果偏高,而且体外检测降低了产品自身的变异性。因此,对于CI法测试的吸入制剂APSD数据,更应开展体内外数据相结合研究。

另外,不同的撞击器都有各自的设计规范和不同的截止粒径,因此不能对比不同撞击器的APSD数据^[24]。

本文详细介绍了TSLI、MSLI、MMI、ACI、NGI与ELPI 6种APSD测试方法,其中TSLI、ACI与NGI收录于《中国药典》;ACI、MMI、MSLI与NGI收录于《美国药典》。TSLI是第一个被收录于《欧洲药典》用于测试APSD的撞击器,其构造简单,操作方便但测试结果精密度低,不能检测微细粒子粒度分布。MSLI为5级撞击器,是TSLI的升级,测试过程中使用稀释液收集各级API,可以防止药粉的反弹。但其级数过少、粒度分布的区分度较差。MMI仅可用于粉雾剂的测定,是带有收集杯的5级级联撞击器,使用该方法测试较难避免粒子在侧壁的损失和粒子在收集杯中的反弹等问题。ACI是首个8级级联撞击器,被收录于《中国药典》、《欧洲药典》和《美国药典》中。ACI适用于小流速、特别是气雾剂的

APSD检测,不建议进行高流速条件下的APSD测试。NGI为一种水平放置撞击器,其第8级设计为MOC级用于收集微细粒子,测试流速范围宽(30~100 L/min)、测试速度快、易清洗,为目前吸入制剂开发过程中最为常用的APSD测试方法。ELPI通过电子检测的方式测试粒度分布,目前在药物中的应用较少。

APSD测试需要研究人员根据吸入制剂开发类型、装置特点,并结合各国药典要求选择合适的撞击器进行测试。测试过程中同样需要考虑装置流阻、涂布液、稀释液、分析方法等问题。

参考文献

- [1] 经口吸入制剂仿制药药学和人体生物等效性研究指导原则(征求意见稿) [S]. 2019-08-02.
- [2] 何光杰,李宏,李静,等. 肺内吸入给药治疗哮喘和慢性阻塞性肺病研究进展 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(6): 690-696.
- [3] 周学海,张成飞,杨敏,等. 肺部吸入制剂评价方法研究进展 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(9): 1891-1895.
- [4] 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): 1572-1578.
- [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): 143-1438.
- [6] Carvalho T C, Peters J I, Williams III RO. Influence of particle size on regional lung deposition: What evidence is there? [J]. Int J Pharm, 2011, 406(1/2): 1-10.
- [7] De Boer A H, Hagedoorn P, Gjaltema D, et al. Air classifier technology (ACT) in dry powder inhalation: Part 1. Introduction of a novel force distribution concept (FDC) explaining the performance of a basic air classifier on adhesive mixtures [J]. Int J Pharm, 2003, 260(2): 187-200.
- [8] De Boer A H, Chan H K, Price R. A critical view on lactose-based drug formulation and device studies for dry powder inhalation: Which are relevant and what interactions to expect? [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2012, 64(3): 257-274.
- [9] Taki M, Marriorr C, Zeng X, et al. Aerodynamic deposition of combination dry powder inhaler formulations *in vitro*: Acomparision of three impactors [J]. Int J Pharm, 2010, 388(1/2): 40-51.
- [10] European Pharmacopoeia 7.1. Section 2.9.18. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles [S]. 2011: 274-284.
- [11] 魏宁漪,周颖,高蕾,等. 双级撞击器与安德森撞击器的比较 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(19): 2324-2327.
- [12] Christopher D, Curry P, Doub B, et al. Considerations for the development and practice of cascade impaction testing, including a mass balance failure investigation tee [J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2003, 16(3): 235-247.
- [13] 严翠霞,江文明,陈桂良,等. 吸入粉雾剂粒径测定方法的评价: 3种撞击器的比较 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1296-1299.
- [14] Hindle M, Byron P R, Miller N C. Cascade impaction methods for dry powder inhalers using the high flow rate Marple-Miller Impactor [J]. Int J Pharm, 1996, 134: 137-146. DOI: 10.1016/0378-5173(95)04493-0.
- [15] 李明媛,梅兴国. 干粉吸入剂体内评价技术的研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2014, 41(4): 432-443.
- [16] Hoe S, Young P M, Chan H K, et al. Introduction of the electrical next generation impactor (eNGI) and investigation of its capabilities for the study of pressurized metered dose inhalers [J]. Pharm Res, 2009, 26(2): 431-437.
- [17] Keskinen J, Pietarinen K, Lehtimäki M. Electrical low pressure impactor [J]. J Aerosol Sci, 1992, 23(4): 353-360.
- [18] Marjamäki M, Keskinen J, Chen D R, et al. Performance evaluation of the electrical low-pressure impactor (ELPI) [J]. J Aerosol Sci, 2000, 31(2): 249-261.
- [19] Van Guljik C, Schouten J M, Marijnissen J C M, et al. Restriction for the ELPI in diesel particulate measurements [J]. J Aerosol Sci, 2001, 32: 1117-1130.
- [20] Baltensperger U, Weingartner E, Burtscher, et al. Dynamic mass and surface area measurements//Baron P A, Willeke K. *Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications* [M]. New York: John Wiley & Sons, Ltd. 2001: 387-418.
- [21] Crampton M, Kinnersley R, Ayres J. Sub-micrometer particle production by pressurized metered dose inhalers [J]. J Aerosol Med, 2004, 17(1): 33-42.
- [22] Mikkonen P, Moisio M, Ristamäki J, et al. Measuring DPI charge properties using ELPI//Dallby R N, Byron P R, Peart J, et al. *Respiratory Drug Delivery IX* [M]. River Grove, IL: Davis Healthcare International. 2004: 465-468.
- [23] Newman S P, Chan H. *In vitro/in vivo* comparisons in pulmonary drug delivery [J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2008, 21(1): 77-84.
- [24] Bonam M, Christopher D, Cipolla D, et al. Minimizing variability of cascade impaction measurements in inhalers and nebulizers [J]. Am Assoc Pharm Sci, 2008, 9(2): 404-413.