

文章编号：(2007)03-0139-06

肺部给药的研究方法

陈东, 丁平田, 陈黎赞

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 从体内和体外两个方面综述国内外文献中关于肺部给药的研究方法, 探究其作用原理, 并报道相关应用实例。概括出的体外方法主要包括沉积行为的局部模型、整体模型和数学模拟 3 大类, 前两类是实物模型, 这两种模型能够比较直观的再现粒子在体内的沉积行为, 而数学模型是从统计学的角度对沉积数据进行计算, 来描述粒子的沉降行为; 体内方法分为气管内滴注、经口腔或气管给药及吸入室 3 种形式。期望为肺部给药制剂的研究提供参考。

关键词: 药剂学; 玻璃冲击器; 金属冲击器; 多级液体冲击器; Andersen 分级取样器

中图分类号: R94 **文献标志码**: A

肺部给药(pulmonary drug delivery)又称吸入给药, 该方法直接将药物传递到病变部位, 并能产生局部或全身的治疗作用。这种给药方式可以避免口服给药在胃肠内被破坏以及重复注射给药给患者造成的损伤。目前, 通过肺部将药物传递到全身从而发挥治疗作用的研究受到广泛的关注, 研究的药物既有小分子药物, 又有大分子药物, 其中多肽和蛋白质类药物的肺部给药研究发展得最快。近年来, 随着对肺功能以及哮喘、肺气肿、慢性阻塞性肺病和囊性纤维化等疾病的深入了解, 人们已经认识到吸入给药是治疗上述疾病较为简单有效的给药途径, 可以大大降低不良反应。与其他的给药途径相比, 肺部给药具有吸收表面积大, 吸收部位血流丰富以及避免肝脏首过效应的特点, 而且肺部具有酶活性较低、上皮屏障较薄及通透性高等优点, 此外, 它还能降低药物在其他组织中的分布。鉴于肺部给药的这些特点, 肺部给药系统研究发展迅速, 据报道, 2001 年全球肺部给药系统药品市场销售额达 84 亿美元, 预计将以 13% 的复合年增长率增长, 至 2005 年达 152 亿美元以上。随着生物技术和基因工程的发展, 使得越来越多的多肽和蛋白质类药物应用于临床治疗, 肺部给药系统在此类药物研究中的应用比较多, 发展也比较快, 世界各大制药公司纷纷介入肺部给药制剂的开发研究, 如: 美国的治疗技术公司(Theratech)向 Innovative Devices 公司购买粉末吸入装置的专利使用权; 礼来公司与 Inhale 公司合作开发出治疗骨质疏松症药物雷洛昔芬粉雾剂; Genteon 公司与 Inhale 公司合作开发治疗肺气肿的粉雾剂, 辉瑞公司与 Inhale 公司合作进行胰岛素粉雾剂的研发等^[1]。

吸入粒子进入人体后的沉积行为将直接影响药物作用的发挥, 因此, 研究粒子在进入呼吸道后的沉积行为是肺部给药发挥疗效的关键。对于肺部给药而言, 体内研究比较复杂而且有一定的难度, 寻找科学合理的体内外肺部给药研究方法是十分重要的。在此对国内外肺部给药的研究方法进行简要综述。

收稿日期: 2006-12-04

作者简介: 陈东(1983 -), 女(汉族), 山东枣庄人, 硕士研究生, E-mail chendong.ph@gmail.com; 丁平田(1969 -), 男(汉族), 山东临朐人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事药剂学研究, Tel. 024-23986305, E-mail dingpingtian@yahoo.com.cn。

1 体外研究方法

临床上通常把鼻、咽、喉称为上呼吸道,把气管、支气管及其在肺内的分支叫下呼吸道。在研究肺部给药时,既要从呼吸系统的整体考虑,又要对呼吸道的局部进行模拟,来设计合理的模型,预测粒子在体内的沉积行为。此外,从统计学的角度出发,利用数学工具分析大量体内数据得到的数学模型也是一种成功的体外研究方法。

1.1 呼吸系统局部模型

人的呼吸道是一个逐级分叉的网络结构,因此这些分叉和弯道便成为影响粒子沉积的主要因素。ZHANG Z 等^[2]设计了双分支弯道模型,考察了弯道对沉积行为以及它在生物学上产生的影响。此双分支弯道模型考虑了不同弯道部位对粒子沉淀行为的影响,可以用来评估正常呼吸流速下健康人支气管内的沉积情况。将混有微米级粒子的稳定气流经过带有弯道的双重分支模型,观测粒子的沉积行为,结果表明:粒子在轻度弯曲部分沉积较少,更多的粒子沉积在弯道的下游区。利用此项研究可以解释吸入粒子毒性或治疗方面的一些问题。

对气雾剂沉积行为的研究表明,吸入剂进入呼吸道分枝和肺泡后的沉积行为是非常不稳定的,它的沉积行为与肺泡和气管的形状、开口方向有很大关系。用数学方程来计算沉积的有效性时不能描述呼吸道和肺泡内局部之间的不同,忽视这种不同会导致预测的不准确。BALASHAZYI 等^[3]利用其研制的粒子数量沉积模型,考察气管分枝和肺泡内的局部沉积行为。他们用处理过的可以扫描的粒子来得到局部平均沉积密度,计算增强因子,通过这种方法研究了气雾剂粒子在人体支气管和肺泡内的有效沉积和分布情况以及沉积的粒子在肺泡内的消除时间。在气道内的粒子数量模型中,人体支气管用平滑的圆柱形和圆形隆起状分枝来模拟,该模型考虑了布朗运动、惰性撞击、重力沉降以及截留作用对沉积行为的影响。在肺泡内的粒子数量模型中,肺泡的几何形状用扩展和收缩的半球形来模拟,为了研究重力作用的影响,采用了5个不同方向的半球形。研究结果显示,支气管处的局部蓄积明显,在呼吸道的凸起处附近增强因子可以大到400,特别是 $100\ \mu\text{m}\times 100\ \mu\text{m}$ 大小的粒子沉积作用更明显。值得注意的是这一尺寸正是致癌物质粒径的大小。研究表明:药物粒子粒径的大小对药物在肺泡内的沉积行为有如下影响:1)当粒子直径大于 $0.1\ \mu\text{m}$ 时受重力影响较明显,此时,沉积则完全取决于开口方向,说明沉积作用取决于重力的影响;2)粒子直径大小在 $0.1\sim 1\ \mu\text{m}$ 时,进入肺泡的时间对沉积的影响最大;3)非常小或非常大的粒子在一个呼吸周期后,留在肺泡中的几率很小,而在中间大小时(如直径为 $0.1\ \mu\text{m}$),粒子留在肺泡中的平均时间是10~15个呼吸周期。

1.2 沉积行为的整体模型

欧洲药典上记载了吸入剂体外试验的4种方法^[4]:玻璃冲击器法(glass impinger)、金属冲击器法(metal impinger)、多级液体冲击器法(multi-stage liquid impinger)和Andersen分级取样器法(Andersen sizing sampler)。其中玻璃冲击器法和金属冲击器法对于气雾剂、喷雾剂及粉雾剂都适用,而多级液体冲击器和Andersen分级取样器只适用于定量喷雾剂和粉雾剂。

4种方法中应用比较多的是玻璃冲击器法,2005版中国药典记载的体外试验方法类似于欧洲药

典上的玻璃冲击器法^[5]。金方等^[6]根据玻璃冲击器仿制了一种有效部位测定仪,以硫酸沙丁胺醇和丙酸倍氯米松的气雾剂和粉雾剂为模型药物研究了自制仪器的有效性,得到的结果与国外文献报道的结果一致,说明自制的双层液体碰撞器能够用于吸入剂的质量监控。顾浩琪等^[7]将此方法应用于验证丙酸倍氯米松粉雾剂的质量评价中,利用此装置对丙酸倍氯米松胶囊型粉雾剂进行了体外模拟试验,测试了湿度及外包装情况对该制剂吸入效果的影响。金方等^[8]还将有效部位测定仪用在无载体色甘酸钠粉雾剂的研究中,结果表明,在具有治疗意义的沉积部位(第二级),无载体色甘酸钠粉雾剂的沉积量为市售的色甘酸钠粉雾剂的3倍,提示无载体粉雾剂的临床疗效优于普通市售粉雾剂。

MATILAINEN L等^[9]用Andersen采样器验证了体外情况下湿度对环孢菌素A的环糊精冻干粉和其包合物粉末沉积行为的影响,最终采用Taifun[®]多剂量干粉吸入装置(multi-dose reservoir based DPIs)来抵抗湿度对粉末沉积行为的影响。INNARINEN T等^[10]也将其应用于布地奈德- γ 环糊精包合物在肺部给药可吸收分数(respirable fraction)的评价中,证实了环糊精包合物在制备吸入粒子中的作用。SEBTI T等^[11]用多级液体冲击器研究了干粉吸入剂的沉积行为,比较了布地奈德固体脂质微粒为基质的干粉吸入剂与简单的物理混合干粉吸入剂在体内沉积行为方面的优势,结果显示:布地奈德固体脂质微粒基本能够更大程度地进入多级冲击器的下层,该模型可以用来考察粒子的沉积行为,达到提高药物制剂生物利用度的目的。WEDA M^[12]分别用这4种方法研究了沙丁胺醇粉雾剂的体外沉积与体内试验的等效性。从体外测定结果来看,4种装置之间的差别较少,但由于玻璃冲击器和金属冲击器的回收率相对较低,因此,Andersen分级取样器和多极液体冲击器更适合于评价体内外的相关性。

1.3 沉积行为的数学模拟

上面提到的两种模型是根据人体呼吸系统的形态,利用一系列桶状、分叉和球状物对药物粒子进入呼吸道后的行为进行模拟,其特点是能直观地模拟吸入剂在呼吸道中的沉降行为。de HAAN W H等^[13]指出:在研究吸入粒子的沉降问题时,虽然利用实物模型可在一定程度上合理地模拟吸入剂在呼吸道中的沉降行为,但由于实际呼吸道是非常复杂的,而且存在很大的时间多变性,因而不能将呼吸系统简化成简单的形状,所以他们提出利用一系列基于大量试验数据所得的方程来计算沉积数据的方法。在总结前人的大量体内实验数据的基础上,他们提出了尺寸嵌入常数 $\rho_p d_p^2 Q$ (dimensional impaction parameter)的概念,其中 ρ_p 是粒子的密度($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), d_p 是粒子的几何直径(μm), Q 是气流的速度($\text{mL}\cdot\text{s}^{-1}$)。研究数据表明,虽然粒子沉积曲线对应呼吸道不同区域的形状不同,有线性的也有非线性的,但是都是关于上述参数的一次函数。经试验验证,基于此尺寸嵌入参数的方程预测的沉积数据,不论是在呼吸道的总体沉积行为还是在各区域的沉积行为与实测值都很接近。

2 体内研究方法

测定受试者吸入和呼出气体中粒子的性质(如粒子含量、直径变化等)是肺部给药时体内分布研

究的一个简单的方法^[14]，由于人体末梢气管处的沉积数据较难获得，因此，实验动物在肺部给药研究中扮演着重要角色，用以验证制剂的有效性、重现性和安全性，动物体内研究方法主要有3种。

2.1 气管内滴注法

这是一种较常见的给药方式，其特点是能够使药物直接作用于肺部，药物在鼻腔、咽喉及上呼吸道无损失，给药时间短，可以实现定量给药，且成本较低。沈央等^[15]在研究三七总皂苷脂质体肺部给药时采用了这种方法。但是这种方法在肺部的分散性较差，试验动物可以耐受的体积较小，它最大的缺点在于需要经过手术才能进行给药，难以实现多剂量、长时间给药。此外，为了使试验顺利进行，还必须使用镇痛药，这样可能会对试验结果产生影响。

2.2 经口腔和经气管给药法

这是肺部给药体内试验中两种常见的方法，经口给药时，动物容易配合给药，能比较客观地模拟人体气雾剂吸入给药的过程，但是药物粒子在经口吸入到达肺部的过程中，部分粒子容易被吸附或沉积于咽喉部，使吸入率降低。在胰岛素气雾剂的研究中^[16]，从药物相对生物利用度的角度来看，其损失大约占给药量的50%。经口腔给药的具体做法是：将实验动物用质量分数为2%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)麻醉后固定于手术台上。用胶条封住鼻孔，将动物与水平面成60~70°放置，使动物只能经口吸气而且呼吸变缓加深。气雾剂喷嘴处接一塑料管(3 cm)，将动物舌头拉出，并将塑料管伸至咽喉位置，待动物吸气时挤压阀门，完成给药。经气管内给药时，先经手术暴露出气管，于甲状软骨下第5~6气管环之间，剪出一小切口，给药时先使动物与水平方向垂直，将气雾剂喷嘴接一塑料管(3 cm)，往气管内伸入2 cm左右，待动物吸气时挤压阀门，完成给药，给药后维持30 s，再与水平面成30°放置，动物能自主呼吸。动物气管内给药方法国外报道很多，但与药物经口给药方式相比，动物难以主动配合。

2.3 吸入室(inhalation chambers)法

其具体做法是将试验动物整个身体或者鼻腔暴露于给药室内，动物处在清醒或麻醉状态，药物的雾化器连接在给药室上。按照给药剂量的需要，将动物放置在吸入室内一定时间，完成给药过程。MICILLINO J C等^[17]在他们的试验，将小鼠的鼻腔暴露于一种吸入室中进行肺部给药，这种吸入室由不锈钢制成，前面带有玻璃门，可以控制温度、湿度，可以有效防止泄漏。其内部容积为37 L，气流上口进、下口出以保证吸入室内药物的浓度。玻璃门上设有若干个口，供大鼠或小鼠鼻腔吸入，同时也可以用来取样。这种方法是非损伤性的，而且吸入的药物在肺内的分布情况良好，这种方法比较适合于研究药物的长期毒性。但是这种给药方式也存在一定的不足，一是药量无法定量给药，在房室内，动物皮毛内及鼻腔和咽喉处均有药物的损失，所以当给药剂量与药效密切相关时，就不能采用这种方法；二是药物的雾化需要相当长的时间，特别是当试验动物较多的时候，这一不足就更加明显^[18]。

综上所述，在进行肺部给药研究时，应根据药物的性质、剂型特点、作用靶点等选择合理的体内、体外研究方法进行试验，最终筛选出最佳的处方、工艺。

参考文献：

- [1] 田治科, 潘一斌, 黄雅琴. 吸入粉雾剂给药装置的研究进展[J]. 中国药业, 2005, 14(1): 23 - 24.
- [2] ZHANG Z, KLEINSTREUER C, KIM C S. Effects of curved inlet tubes on air flow and particle deposition in bifurcating lung models[J]. Biomech, 2001, 34(5): 659 - 669.
- [3] BALASHAZY I, NEMETH I, ALAFOLDY B ,et al. Aerosol deposition modeling in human airways and alveoli [J]. Aerosol Sci , 2000, 39(Suppl.1):482 - 483.
- [4] Council of Europe. European Pharmacopoeia[Z]. Strasbourg : Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe, 2002: 209 - 219.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[Z].北京:化学工业出版社, 2005: 附录 77.
- [6] 金方, 施丽西, 陆敏, 等. 吸入剂有效部位药物沉积量试验方法的研究[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(10):672 - 674.
- [7] 顾浩琪, 杨琿琿, 金方, 等. 丙酸倍氯米松粉雾剂质量控制的研究[J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31(9):401 - 404.
- [8] 金方, 谢保源, 陆敏, 等. 无载体色甘酸钠粉雾剂的研究 评价疗效的体外试验方法研究[J]. 中国医药工业杂志, 1998, 29(1):19 - 22.
- [9] MATILAINEN L, JARVINEN K, TOROPARINEN T ,et al. *In vitro* evaluation of the effect of cyclodextrin complexation on pulmonary deposition of a peptide, cyclosporin A [J]. Int J Pharm, 2006, 318(1): 41 - 48.
- [10] KINNARINEN T, JARHO P, JARVINEN K ,et al. Pulmonary deposition of a budesonide/g-cyclodextrin complex *in vitro* [J]. Controll Rel, 2003, 90(2):197 - 205.
- [11] SEBTI T, AMIGHI K. Preparation and *in vitro* evaluation of lipidic carriers and fillers for inhalation[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2006, 63(1):51 - 58.
- [12] WEDA M, ZANEN P, de BOER A H, et al. Equivalence testing of salbutamol dry powder inhalers: *in vitro* impaction results versus *in vivo* efficacy [J]. Int J Pharm, 2002, 249(1):247—255.
- [13] de HAAN W H, FINLAY W H. Predicting extrathoracic deposition from dry powder inhalers [J]. Aerosol Sci, 2004, 35(3): 309 - 331.
- [14] LODAHL J, PAGELS J, SEIETLICKI E, et al. A set-up for field studies of respiratory tract deposition of fine and ultrafine particles in humans [J]. Aerosol Sci, 2006, 37(9): 1152 - 1163.
- [15] 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 - 749.
- [16] 沈赞聪, 张强, 崔纯莹, 等. 胰岛素气雾剂经大鼠肺部给药的生物利用度[J]. 药学学报, 2000, 35(6):465 - 468.
- [17] MICILLINO J C, COULAIS C, BINET S ,et al. Lack of genotoxicity of bitumen fumes in transgenic mouse lung [J]. Toxicology , 2002, 170(1): 11 - 20.
- [18] BIVAS-BENITA M, ZWIER R, JUNGINGER H E, et al. Non-invasive pulmonary aerosol delivery in mice by the endotracheal route [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2005, 61(3):214 - 218.

Investigation methods of pulmonary drug administration

CHEN Dong, DING Ping-tian, CHEN Li-yun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Investigation methods of pulmonary drug administration in home and overseas were reviewed according to *in vitro* and *in vivo* approaches. The mechanisms and examples of these methods were also given. There were three kinds of models for *in vitro* methods, which were regional, total and mathematical models. The former two species were practical models which could simulate the behaviors of the inhaled particles factually, while mathematical model could predict the results statistically. Three main means were used for *in vitro* investigation. Preparations could be dropped in trachea, inhaled through mouth or trachea, or dispersed and then inhaled in “inhalation chambers”.

Key words: pharmaceuticals; glass impinger; metal impinger; multi-stage liquid impinger; Andersen sizing sampler

(本篇责任编辑：秦 昕)