

· 中药工业 ·

热毒宁吸入溶液中5种代表性成分递送速率 递送总量的批间一致性[△]

臧琛¹, 刘梦娇^{1a}, 王振中², 周恩丽², 王国华^{1*}

1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

[摘要] 目的: 对热毒宁吸入溶液中5个代表性成分新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、栀子苷、断氧化马钱苷的含量、递送速率及递送总量进行测定, 考察热毒宁吸入溶液各批次间的一致性。方法: 将10批热毒宁吸入溶液分别加入雾化杯中, 将雾化杯连接呼吸模拟装置, 采用BRS2000型呼吸模拟器装置, 模拟成人呼吸模式, 收集滤膜活性物质, 结合高效液相色谱法测定5个代表性成分的含量, 计算并比较10批热毒宁5个代表性成分的递送速率、递送总量及各批次间的一致性。结果: 10批样品中5个化学成分的含量较为稳定, 各成分含量的RSD均小于5%; 10批样品递送速率的RSD较大, 但均小于10%; 递送总量的RSD均小于8%。结论: 10批热毒宁吸入溶液具有较好的批间一致性, 可为热毒宁吸入溶液的质量控制提供参考。

[关键词] 热毒宁吸入溶液; 递送速率; 递送总量; 批间一致性

[中图分类号] R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)08-1451-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20200730004

Inter-batch Consistency in Delivery Rate and Total Delivery Quantity of Five Representative Components from Reduning Inhalation Solution

ZANG Chen¹, LIU Meng-jiao^{1a}, WANG Zhen-zhong², ZHOU En-li², WANG Guo-hua^{1*}

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the inter-batch consistency of Reduning inhalation solution by determining the contents, delivery rates, and total delivery quantities of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, geniposide, and secoxyloganin, five representative components in Reduning inhalation solution. **Methods:** Ten batches of Reduning inhalation solution were separately added into the atomizing cup, which was connected to the BRS2000 respiratory simulator in the adult respiratory mode for collecting the active substances in the filter membrane. The contents of the five representative components were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), followed by the calculation of their delivery rates and total delivery quantities and the analysis of the consistency between 10 batches of Reduning inhalation solution. **Results:** Among the 10 batches of Reduning inhalation solution, the contents of the five chemical components were relatively stable, with the RSD of each component less than 5%. The RSD of the delivery rate of each batch was larger, still less than 10%. The RSD of the total delivery quantity was less than 8%. **Conclusion:** The 10 batches of Reduning inhalation solution exhibited good inter-batch consistency, which has provided reference for the quality control of Reduning inhalation solution.

[Keywords] Reduning inhalation solution; delivery rate; total delivery quantity; inter-batch consistency

雾化吸入疗法被欧美和世界卫生组织推荐为临床上呼吸道疾病的首选疗法^[1]。热毒宁吸入溶液是由热毒宁注射液改变给药途径而命名的, 处方和工艺与原注射剂一致, 是由金银花、青蒿、栀子3种中

[△] [基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09201002-006)

* [通信作者] 王国华, 副研究员, 研究方向: 中药新剂型与新药开发; E-mail: ghwang@icmm.ac.cn

a 并列第一作者

药组成,规格为2 mL/支,具有清热、解毒、疏风的功效^[2],用于外感风热所致的感冒、咳嗽,症见高热、微恶风寒、头痛身痛、痰黄、上呼吸道感染、急性支气管炎等^[3]。

递送速率与递送总量是通过呼吸模拟器模拟人的呼吸模式下体外雾化吸入液体制剂的评价指标^[4-5],对于吸入制剂,不同批次间差异会造成递送速率和递送总量的差异,从而影响疗效,因此,测定吸入溶液递送剂量的均一性对于保证临床疗效具有重要意义^[6]。

本实验采用高效液相色谱法(HPLC)同时测定热毒宁吸入溶液中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、栀子苷、断氧化马钱苷5个代表性成分含量,并以此为指标,对10批热毒宁吸入溶液经过压缩式雾化器雾化后产生的气溶胶的递送速率及递送总量进行考察,为热毒宁吸入溶液的质量控制提供数据支持,同时为吸入溶液递送速率、递送总量的标准制定提供参考。

1 材料

PARI BOY SX型压缩雾化吸入器(德国百瑞公司,配备蓝芯雾化杯);岛津LC20AT型高效液相色谱仪;BRS2000型呼吸模拟器(Copley Scientific公司);KQ-250型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Vortex-Genie2型涡旋振荡器(美国Scientific Industries公司);XP05型电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

热毒宁吸入溶液(江苏康缘药业股份有限公司,批号分别为170843、171211、171212、171213、171216、180306、180618、180705、180709、181108)。

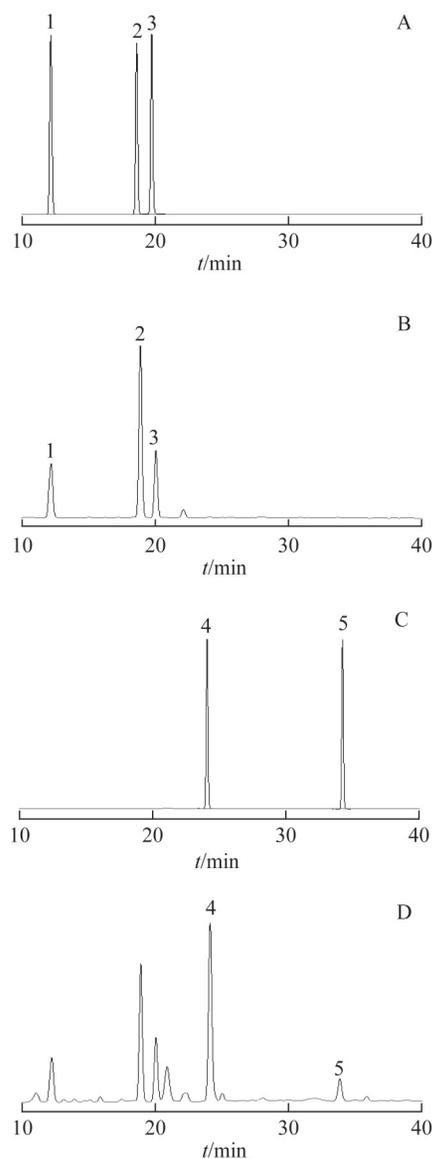
对照品绿原酸(中国食品药品检定研究院,批号:110753-201415,纯度 $\geq 98\%$);对照品栀子苷(批号:DST180103-032,纯度 $\geq 98\%$)购于成都德思特生物技术有限公司;水为屈臣氏去离子水;甲醇为色谱纯;磷酸为分析纯。

2 方法

2.1 色谱条件

采用Agilent EP-C₁₈色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),流动相甲醇(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 15%~25%A; 10~30 min, 25%~35%A; 30~60 min, 35%~50%A);柱温为

30 $^{\circ}$ C;绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸的检测波长为324 nm,栀子苷和断氧化马钱子苷的检测波长为237 nm;进样量为10 μ L;流速为0.8 mL \cdot min⁻¹。按外标法以峰面积计算样品中绿原酸、栀子苷含量,理论板数按绿原酸峰计算 $>10\ 000$,见图1。



注: A. 324 nm下,对照品新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸; B. 324 nm下,热毒宁吸入溶液供试品; C. 237 nm下,对照品栀子苷、断氧化马钱苷; D. 237 nm下,热毒宁吸入溶液供试品; 1. 新绿原酸; 2. 绿原酸; 3. 隐绿原酸; 4. 栀子苷; 5. 断氧化马钱苷。

图1 热毒宁吸入溶液中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、栀子苷及断氧化马钱苷HPLC图

2.2 对照品溶液的制备

分别取对照品绿原酸和栀子苷适量,精密称定,加50%甲醇制成含绿原酸0.3 mg \cdot mL⁻¹、栀子

苷 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

分别精密量取 10 批热毒宁吸入溶液各 2 mL, 置于 20 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.4 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、槲子苷、断氧化马钱苷的测定

精密量取配置好的对照品溶液及 10 批热毒宁吸入溶液各 $10 \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 进行测定。以绿原酸对照品为对照, 采用外标法计算本品中绿原酸的质量浓度; 以本品中的绿原酸为内参物, 根据各化合物的相对校正因子 (表 1) 计算本品中新绿原酸和隐绿原酸的质量浓度。以槲子苷对照品为对照, 按外标法计算本品中槲子苷的质量浓度; 以本品中的槲子苷为内参物, 根据相对校正因子计算本品中断氧化马钱子苷的质量浓度; 以相对保留时间确定各成分峰位。按公式 (1) 计算本品中新绿原酸、隐绿原酸、断氧化马钱子苷的质量浓度^[7]。

$$C_i = f_{si} \times C_s / A_s \quad (1)$$

C_i 为本品中待测组分 i 的浓度, f_{si} 为待测组分 i 的相对校正因子, A_i 为供试品溶液中待测组分 i 的峰面积, C_s 为用外标法测得本品中内参物浓度, A_s 为供试品溶液中内参物的峰面积。

表 1 新绿原酸、隐绿原酸、断氧化马钱子苷的相对校正因子和相对保留时间 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

待测成分	相对校正因子/内参物	相对保留时间/内参物
新绿原酸	0.97/绿原酸	0.66±5%/绿原酸
隐绿原酸	0.99/绿原酸	1.11±5%/绿原酸
断氧化马钱苷	1.03/槲子苷	1.45±5%/槲子苷

2.5 递送速率

按照《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 0111 所示组装过滤器 (组件) 和呼吸模拟器, 见图 2。连接压缩雾化器、雾化杯和呼吸模拟器。分别精密量取 10 批热毒宁吸入溶液 2 mL, 置于雾化杯中。设定呼吸模拟器为成人呼吸频率 (潮气量为 500 mL, 频率为 15 个循环/min, 波形为正弦曲线吸入/呼出 1:1), 将雾化器的工作时间设定为 60 s, 同时启动呼吸模拟器及压缩雾化器。雾化结束后, 关闭雾化器。将滤膜①转移至 100 mL 量瓶中。加流动相 60 mL, 超声提取 10 min, 放冷至室温, 加流

动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 $20 \mu\text{L}$ 注入液相色谱仪。计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、槲子苷和断马钱苷的量。第一张滤纸收集的活性物质的量与收集时间相比, 即为递送速率。60 s 后暂停实验。开启呼吸模拟器, 收集的热毒宁吸入溶液转移至 50 mL 具塞试管中, 加稀乙醇 45 mL, 涡旋 60 s 后转移至 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 $10 \mu\text{L}$ 注入液相色谱仪, 计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、槲子苷、断氧化马钱苷的量。

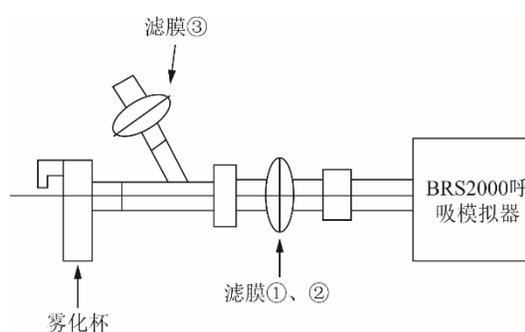


图 2 热毒宁吸入溶液 5 个代表成分递送速率和递送总量测定装置

2.6 递送总量

在过滤装置中放置 1 张新的滤纸 (滤膜②), 继续雾化, 直至雾化装置不再释放出明显气溶胶为雾化完毕。将滤膜②收集的热毒宁吸入溶液转移至 50 mL 具塞试管中, 加稀乙醇 45 mL, 涡旋 60 s 后转移至 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 $10 \mu\text{L}$ 注入液相色谱仪。计算新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、槲子苷、断氧化马钱苷的量, 滤膜①及滤膜②收集热毒宁吸入溶液量的总和, 即为递送总量。

3 结果与讨论

3.1 含量

热毒宁吸入溶液中, 金银花所含的新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸易相互转化^[8], 因此, 同时测定 3 个有机酸成分作为质量控制指标; 槲子苷和断氧化马钱苷均为槲子中有效化学成分, 作为热毒宁吸入溶液中槲子含量控制指标, 见表 2。10 批热毒宁吸入溶液中 5 个化学成分质量浓度分别为 (2.11 ± 0.09)、(5.20 ± 0.20)、(2.02 ± 0.09)、(10.53 ± 0.38)、

(1.19 ± 0.06) $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 5个化学成分含量RSD分别为4.50%、3.87%、4.65%、3.64%、4.95%,均小于5%,说明5个成分含量均一稳定、批间一致性好。

表2 10批热毒宁吸入溶液中5个化学成分质量浓度

批号	质量浓度				
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	栀子苷	断氧化马钱苷
170843	2.15	5.09	1.94	11.39	1.07
171211	2.23	5.10	2.08	10.66	1.21
171212	2.16	5.22	2.14	10.74	1.23
171213	2.21	5.00	2.09	10.01	1.18
171216	2.21	5.08	2.09	10.67	1.31
180306	2.11	5.13	2.04	10.50	1.17
180618	1.93	4.92	1.88	10.09	1.22
180705	2.06	5.45	1.91	10.53	1.18
180709	2.00	5.48	1.93	10.59	1.15
181108	2.05	5.52	2.15	10.11	1.17
平均值	2.11	5.20	2.02	10.53	1.19
标准差	0.09	0.20	0.09	0.38	0.06
RSD/%	4.50	3.87	4.65	3.64	4.95

3.2 递送速率

递送速率反映了吸入溶液经雾化器雾化后,在一定呼吸模式下,单位时间内药物递送至肺部的量。控制药物的递送速率可以有效控制药物在肺部的药动学,从而保证药物的起效时间等。10批热毒宁吸入溶液递送速率结果见表3。5个化学成分递送速率分别为(0.32 ± 0.03)、(0.79 ± 0.07)、(0.31 ± 0.03)、(1.59 ± 0.14)、(0.19 ± 0.02) $\text{mg} \cdot \text{min}^{-1}$,5个成分递送速率的RSD分别为9.15%、8.30%、9.83%、8.61%、8.09%,均小于10%,批间一致性好。

3.3 递送总量

递送总量反映了吸入溶液经雾化器雾化后,在一定呼吸模式下药物递送至肺部的总剂量。控制药物的递送总量可以有效控制药物在体内的最大血药浓度,保证药物的作用强度及减低不良反应等。10批热毒宁吸入溶液递送速率结果见表4。5个化学成分的递送总量分别为(2.09 ± 0.14)、(5.06 ± 0.34)、(2.03 ± 0.09)、(10.23 ± 0.49)、(1.12 ± 0.09) mg,5个化学成分的递送总量RSD分别为6.62%、6.68%、4.36%、4.82%、7.64%,均小于10%,批间一致性好。

表3 10批热毒宁吸入溶液递送速率

批号	递送速率				
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	栀子苷	断氧化马钱苷
170843	0.27	0.64	0.24	1.23	0.20
171211	0.34	0.79	0.32	1.69	0.19
171212	0.33	0.75	0.30	1.54	0.18
171213	0.36	0.81	0.34	1.63	0.20
171216	0.36	0.82	0.34	1.74	0.22
180306	0.35	0.85	0.34	1.72	0.17
180618	0.28	0.71	0.27	1.47	0.18
180705	0.30	0.86	0.31	1.68	0.18
180709	0.30	0.84	0.31	1.61	0.17
181108	0.32	0.86	0.34	1.59	0.21
平均值	0.32	0.79	0.31	1.59	0.19
标准差	0.03	0.07	0.03	0.14	0.02
RSD/%	9.15	8.30	9.83	8.61	8.09

表4 10批热毒宁吸入溶液递送总量

批号	递送总量				
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	栀子苷	断氧化马钱苷
170843	2.29	4.54	2.06	10.16	0.97
171211	1.98	4.43	1.89	9.35	1.05
171212	2.32	5.33	2.18	10.93	1.28
171213	2.09	4.71	1.97	9.40	1.14
171216	2.24	5.07	2.12	10.70	1.06
180306	2.15	5.27	2.09	10.69	1.06
180618	2.00	5.07	1.94	10.39	1.25
180705	1.90	5.46	1.94	10.58	1.11
180709	1.92	5.37	1.96	10.18	1.10
181108	2.01	5.37	2.11	9.87	1.17
平均值	2.09	5.06	2.03	10.23	1.12
标准差	0.14	0.34	0.09	0.49	0.09
RSD/%	6.62	6.68	4.36	4.82	7.64

3.4 结论与讨论

3.4.1 结论 有效成分含量、递送速率及递送总量可直观地反映出不同批次热毒宁吸入溶液中不同化学成分递送的实际剂量,为热毒宁吸入溶液重要的评价指标^[9]。研究表明,10批热毒宁吸入溶液中5个成分含量的RSD均小于5%,而递送速率、递送总量RSD均小于10%,因此,热毒宁吸入溶液的批间一致性好,可为热毒宁吸入溶液的质量控制提供依据。

3.4.2 误差分析 有效成分的递送速率、递送总量与其含量是相关的^[10],为保证热毒宁吸入溶液批间一

致性,应严格控制热毒宁吸入溶液中有效成分的含量范围;另一方面,递送速率、递送总量RSD>含量的RSD,这可能是由雾化杯、呼吸模拟器等雾化装置及测定仪器本身导致的误差。本实验为热毒宁吸入溶液不同批次递送剂量均一性标准的制定提供参考。

3.4.3 中药批间一致性 目前,化学药和生物制品等的批间一致性研究较多^[11-13],而中成药批间一致性鲜有报道。中药复方成分复杂、作用机制不明确,质量控制范围应由单一指标成分扩展到多指标的中药活性成分^[14]。中药成分含量多为下限控制,缺乏上限控制,造成批间一致性难以评价,而中药不同批次间化学成分的含量差异直接影响中药制剂批间质量的稳定,甚至影响药物临床疗效。因此,建议在中药制剂的生产过程中,应对历年年度产品质量回顾分析报告进行汇总,并进行大数据分析,同时,参考国家药品监督管理局发布的《中药均化研究技术指导原则》,对不同批次的合格处方药味等按适当比例均化投料,从而减少中成药的批间差异,提高批间质量一致性。最后,还要针对中成药的给药途径和剂型特点,建立适宜的制剂学特征评价指标,对中成药进行全面的质量控制,从而提高中成药的批间一致性。

参考文献

- [1] 杜光,赵杰,卜书红,等.雾化吸入疗法合理用药专家共识(2019年版)[J].医药导报,2019,38(2):135-146.
- [2] 李海波.热毒宁注射液药效物质基础研究[D].南京:南京中医药大学,2013.
- [3] 陈文君,李可欣,廖国咏.热毒宁注射液的药理作用与临床应用及不良反应分析[J].中国药物经济学,2018,13(5):28-30.
- [4] 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.
- [5] 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,2015:13-16.
- [6] NELSON H S. Inhalation devices, delivery systems, and patient technique[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2016, 117(6):606-612.
- [7] 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:YBZ08202005-2015Z[J].中国药品标准,2016,17(4):299-303.
- [8] 朱鹏,苗满磊,陈勇.绿原酸、隐绿原酸和新绿原酸在中性和碱性pH条件下的降解动力学[J].药学学报,2016,51(1):122-126.
- [9] 杨文智,宁黎丽,罗俊永,等.供雾化器用的液体制剂(溶液型)仿制药药学研发一般考虑[J].中国新药杂志,2019,28(18):2197-2199.
- [10] EVERARD M L, CLARK A R, MILNER A D. Drug delivery from jet nebulisers[J]. Arch Dis Child, 1992, 67(5):586-591.
- [11] 刘冬,哈莉莉,李芳,等.我国化学仿制药一致性评价进展与展望[J].中国临床药理学杂志,2020,36(16):2381-2385.
- [12] 沈启雯,梁毅.从质量管理角度看药品的一致性评价[J].中国药事,2017,31(11):1229-1232.
- [13] 胡玉玺,韩天娇,胡延臣.多肽类仿制药研发和一致性评价的考虑[J].中国新药杂志,2020,29(8):875-880.
- [14] 侯湘梅,岳洪水,张磊,等.中药质量一致性评价探讨[J].药物评价研究,2016,39(1):38-45.

(收稿日期:2020-07-30 编辑:王笑辉)