

MARCIN ODZIOMEK
TOMASZ R. SOSNOWSKI

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Alternatywne metody określania udziału frakcji penetrującej do płuc (FPF) w aerozolach inhalacyjnych

Wprowadzenie

Aerzoloterapia jest metodą leczenia polegającą na wdychaniu cząstek lub kropeł o rozmiarach mikrometrycznych. Stosuje się ją zarówno w terapii chorób układu oddechowego (np. astma, przewlekła obturacyjna choroba płuc, zapalenie i grzybice płuc), jak i w celu dostarczenia do organizmu leków o działaniu ogólnoustrojowym (np. leki hormonalne, przeciwbólowe, insulina wziewna) [1]. Z punktu widzenia skuteczności inhalacji istotne jest, aby wdychany aerozol zawierał maksymalnie dużo cząstek (lub kropeł) mniejszych niż 5 μm (określa się je jako tzw. cząstki drobne – *fine particles*), łatwo penetrujących do drzewa oskrzelowego i efektywnie osadzających się w nim. Badania rozkładu wielkości aerozoli leczniczych są niezbędne m.in. na etapie projektowania i rozwoju nowych produktów inhalacyjnych (inhalator wraz z lekiem w określonej dawce) oraz ich dopuszczania do obrotu. Pomiary powinny być wykonywane zgodnie z procedurami *Farmakopei Europejskiej* [2], zalecającej stosowanie jednego z kilku zaaprobowanych typów wielostopniowych impaktorów kaskadowych, np. impaktora cieczowego MSLI (*Multi Stage Liquid Impinger* – 5 stopni), impaktora *Andersena* (8-stopni) lub impaktora NGI (*Next Generation Impactor* – 8 stopni). Umożliwiają one rozfrakcjonowanie cząstek aerozolowych o wielkości od ok. 0,4 do 10–12 mikrometrów. Masę leku osadzonego na poszczególnych stopniach oznacza się metodami instrumentalnymi (m.in. HPLC) po ich odmyciu odpowiednim rozpuszczalnikiem. W ocenie jakości aerozolu inhalacyjnego istotny jest masowy udział cząstek drobnych (*Fine Particle Fraction* – FPF), decydujący zarówno o spodziewanym efekcie leczniczym inhalacji jak i o możliwości wystąpienia efektów ubocznych wynikających z depozycji dużych cząstek w obszarze ust i gardła. W pomiarach impaktorowych informację o FPF uzyskuje się sumując masy leku określone z analizy kilku kolejnych stopni. Ponieważ istotną wadą tej metody oznaczania FPF jest jej znaczny koszt i czasochłonność, w niniejszej pracy przedyskutowano dwa alternatywne warianty techniki określania tego parametru.

Materiały i metody

W pomiarach badano aerozole emitowane z dwóch typów inhalatorów: (i) nebulizatora *Side-stream (Respironics)* zasilanego sprężonym powietrzem (1,5 bar) oraz (ii) inhalatora proszkowego typu *Aerolizer (Novartis Pharma)*. Substancją, z której wytwarzano aerozol był lek przeciwastmatyczny – kromoglikan disodowy (DSCG – GSK *Pharmaceuticals*). W nebulizatorze rozpylano 2,5% wodny roztwór DSCG, zaś

w inhalatorze proszkowym rozpraszało zmikronizowany DSCG w postaci stałej. Rozkład wielkości emitowanych cząstek aerozolowych mierzono w następujących układach:

- w pełnym 8-stopniowym aluminiowym impaktorze *Andersena (Copley Scientific)*,
- w impaktorze zredukowanym, tj. z liczbą stopni ograniczoną do trzech,
- w spektrometrze aerozolowym WELAS 2100 (*Palas GmbH*), tj. w mierniku optycznym zliczającym cząstki aerozolowe w zakresie 0,6–40 μm .

Schematy stanowisk pomiarowych wykorzystujących impaktor kaskadowy *Andersena* przedstawiono na rys.1. Aerodynamiczne średnice odcięcia na poszczególnych stopniach impaktora przy stosowanych dwóch przepływach zestawiono w tablicy 1. W konfiguracjach zredukowanych użyte zostały tylko stopnie klasyfikujące aerozol w sposób umożliwiający kumulacyjne wydzielenie cząstek drobnych. Przy przepływie 28,3 dm³/min, przy którym badano nebulizator, w impaktorze pozostawiono stopnie oznaczone jako: „0”, „2” i „F”, przy czym całe cząstki drobne deponowały się na filtrze.

Analiza aerozolu emitowanego z inhalatora proszkowego wymagała odmiennego zestawienia impaktora, co wynikało zarówno z charakteru aerozolu (konieczność użycia tzw. preseparatora [3]), jak również z wyższego natężenia przepływu powietrza, niezbędnego do emisji aerozolu (60 dm³/min). Zgodnie z zaleceniami producenta, usunięto stopnie nr „0” i „7”, zaś dodano stopnie oznaczone jako „-1” oraz „-0”, wskutek czego nieznacznie zmieniły się średnice odcięcia (Tabl. 1).

W zaproponowanej konfiguracji zredukowanej ograniczono liczbę półek do niezbędnych dla oddzielenia cząstek drobnych. Przy 60 dm³/min były to poziomy oznaczone jako: „-1”, „1” i „F”, przy czym cząstki drobne osadzały się na filtrze. W celu wyeliminowania efektu odbijania cząstek aerozolu proszkowego od powierzchni depozycji w impaktorze, powierzchnie te (z wyjątkiem filtra) powlecano cienką warstwą 1% roztworu surfaktantu *Tween 20* w glicerynie. Analizę ilości DSCG w roztworach wodnych uzyskanych po odmyciu kolejnych stopni impaktora prowadzono spektrofotometrycznie (*Gensys*) przy długości fali 370 nm [4]. Wykonanie pojedynczego pomiaru w pełnym impaktorze wraz z analizą próbek i przygotowaniem aparatu do kolejnego pomiaru zajmowała około 3–4 godzin. Zaproponowana alternatywna metoda, wykorzystująca impaktor zredukowany, skróciła czas do około jednej godziny.

Najszybszą z badanych metod analizy rozkładu cząstek aerozolowych był pomiar *on-line* w spektrometrze *Welas 2100*

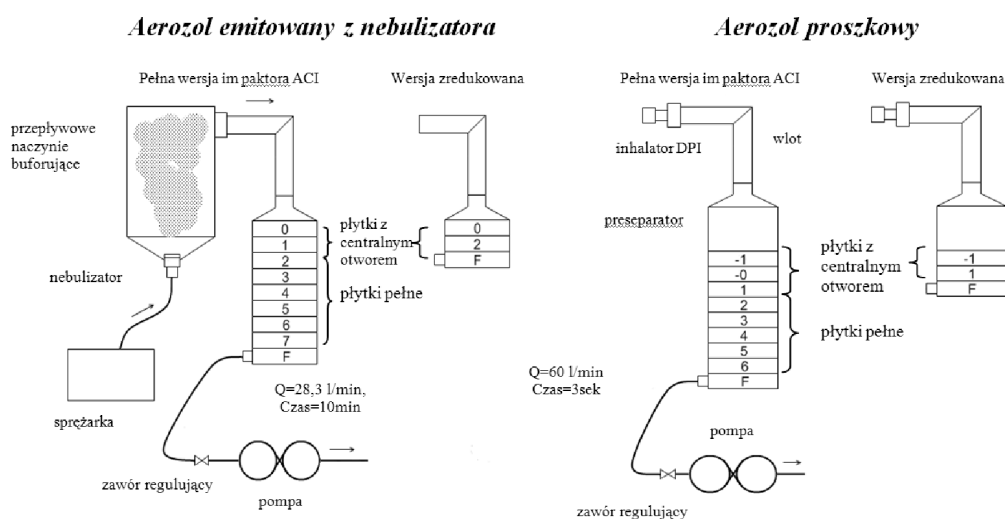
Tablica 1
Średnice odcięcia cząstek [μm] na poszczególnych półkach impaktora [3]

Poziomy (stopnie) impaktora	Aerodynamiczne średnice odcięcia [μm]			
	Przepływ 28,3 dm ³ /min $\pm 5\%$		Przepływ 60 dm ³ /min $\pm 5\%$	
	Impaktor pełny	Impaktor zredukowany	Impaktor pełny	Impaktor zredukowany
Wlot (+ preseparator dla proszków)	>10	>10	>10	>10
-1	–	–	8,6 – 10,0	8,6 – 10,0
-0	–	–	6,5 – 8,6	–
0	9,0 – 10,0	9,0 – 10,0	–	–
1	5,8 – 9,0	–	4,4 – 6,5	4,4 – 8,6
2	4,7 – 5,8	4,7 – 9,0	3,2 – 4,4	–
3	3,3 – 4,7	–	1,9 – 3,2	–
4	2,1 – 3,3	–	1,2 – 1,9	–
5	1,1 – 2,1	–	0,55 – 1,2	–
6	0,7 – 1,1	–	0,26 – 0,55	–
7	0,4 – 0,7	–	–	–
F	< 0,4	< 4,7	< 0,26	< 4,4

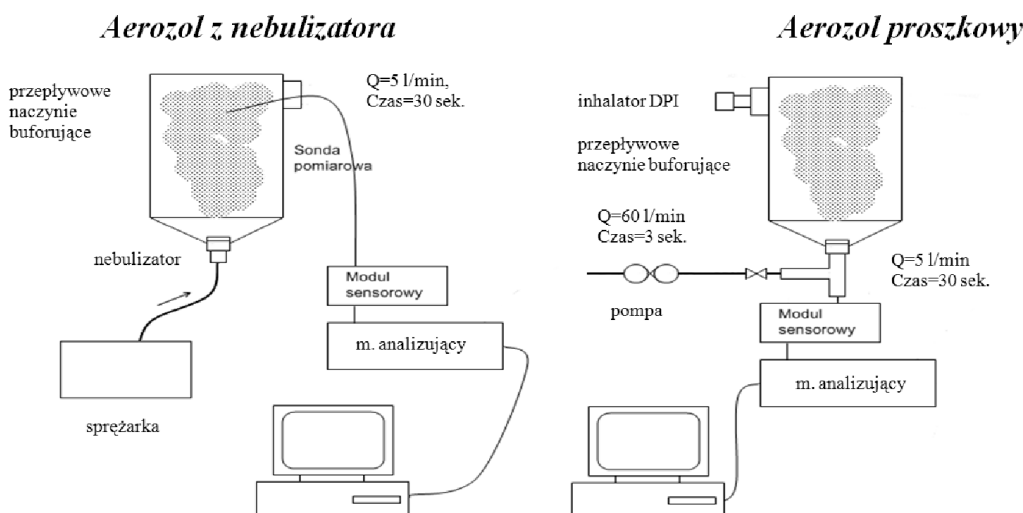
(Rys. 2). Aerosol emitowany z nebulizatora kierowano do naczynia buforowego, skąd był on pobierany przez 30 s do modułu sensorowego spektrometru. W inhalatorze proszkowego uwolnienie aerosolu następowało w trakcie 3-sekundowego przepływu powietrza ze strumieniem 60 dm³/min, po czym aerosol zawieszony w naczyniu był pobierany do modułu sensorowego. Wyniki uzyskano w postaci rozkładu liczbowego odniesionego do średnicy geometrycznej badanych cząstek. W celu ich porównania z wynikami z impaktora, przeliczono średnicę geometryczną na średnicę aerodynamiczną oraz rozkład liczbowy na masowy.

Zbiorne wyniki i dyskusja

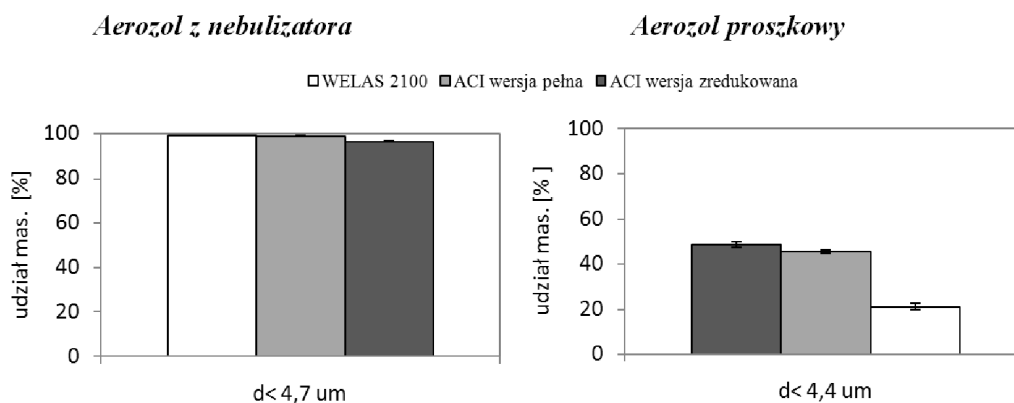
Na rys. 3 zestawiono finalne wartości FPF (procentowe udziały masowe cząstek drobnych) uzyskane dla obu typów inhalatorów przy zastosowaniu impaktora pełnego, impaktorów zredukowanych oraz spektrometru aerosolowego. W przypadku aerosolu emitowanego z nebulizatora obydwie metody alternatywne dają podobne wyniki, zbliżone do uzyskanych w metodzie pełnej. Wynika to z faktu, że nebulizatory emitują przede wszystkim cząstki drobne i nieznaczne błędy oznaczenia zawartości większych cząstek metodami skróconymi nie wpływają na uzyskiwaną wartość FPF. Dla aerosolu proszkowego pełną wersję impaktora kaskadowego



Rys. 1. Schematy stanowisk do pomiaru rozkładu wielkości cząstek z użyciem impaktora kaskadowego



Rys. 2. Schematy stanowisk do pomiaru rozkładu wielkości cząstek z użyciem spektrometru aerosolowego



Rys. 3. Porównanie wartości udziału cząstek drobnych w aerozolu emitowanego z nebulizatora i inhalatora DPI

można zastąpić jedynie impaktorem skróconym. Metoda spektrometryczna wyraźnie zaniża wartość FPF, nie może więc być polecana jako alternatywna w stosunku do metod impaktorowych.

Różnica w wynikach oznaczeń wynika najprawdopodobniej z faktu zawyżania masy dużych cząstek przy rejestrowaniu sygnału optycznego przez spektrometr (tzw. błąd koincydencji). Inną możliwością interpretacji rozbieżności uzyskanych wyników jest fakt, że impaktor, będąc klasyfikatorem aerodynamicznym, może również mieć cechy urządzenia wspomagającego deagregację cząstek proszkowych, na co zdają się wskazywać wyniki niedawnych badań [4].

Wnioski

Wykazano, że czasochłonne i kosztowne pomiary rozkładu wielkości cząstek aerozoli medycznych prowadzone z użyciem standardowego 8-stopniowego impaktora kaskadowego Andersena, mające na celu określenie udziału cząstek drobnych (FPF) mogą być zastąpione wybranymi metodami alternatywnymi. Zalecaną metodą, niezależnie od rodzaju badanego inhalatora, jest użycie impaktora o liczbie stopni zredukowa-

nej do trzech. Technika ta umożliwia trzykrotne skrócenie czasu pomiaru i zużycia materiałów. Spektrometr aerozolowy, choć pozwala na jeszcze większą redukcję czasu wykonania badań, nie może być polecony do analizy cząstek aerozoli proszkowych ze względu na istotne zawyżanie udziału masowego cząstek większych od $5 \mu\text{m}$ w porównaniu z wynikami z badań impaktorowych.

Praca wykonana w ramach działalności sieci naukowej SURUZ („Surfaktanty i układy zdyspergowane w teorii i praktyce”) przy współfinansowaniu ze środków budżetowych na naukę w latach 2007–2010 (projekt 45/N-COST/2007/0).

LITERATURA

1. A. Hickey (Ed.): Inhalation aerosols. New York, Marcel Dekker Inc. (1996).
2. European Pharmacopoeia 5.0. Strassbourg, Council of Europe (2005).
3. Andersen Cascade Impactor Instruction Manual. Nottingham, Copley Scientific (2001).
4. M. Odziomek: Praca magisterska, WChiP PW (2008).
5. T.R. Sosnowski: European Aerosol Conference, Thessaloniki, Abstract T09A035P (2008).

INŻYNIERIA I APARATURA CHEMICZNA

Czasopismo naukowo-techniczne

- poświęcone problemom obliczeń procesowych i zagadnieniom projektowo-konstrukcyjnym aparatury i urządzeń dla przemysłów przetwórczych, w tym szczególnie dla przemysłu chemicznego, jak również dla energetyki, gospodarki komunalnej i ochrony środowiska;
- prezentujące procesy i operacje jednostkowe w aspekcie poprawy wydajności, lepszego wykorzystania surowców, oszczędności energii, ochrony środowiska; omawiające badania naukowe, nowe lub ulepszone konstrukcje oraz właściwą eksploatację i obsługę aparatów i urządzeń;
- przeznaczone dla pracowników badawczych, projektantów, konstruktorów, a także menadżerów i inżynierów ruchowych.

Artykuły główne są recenzowane przez specjalistów.