

Marcin ODZIOMEK, Tomasz R. SOSNOWSKI

e-mail: m.odziomek@ichip.pw.edu.pl

Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Porównanie optycznych metod pomiaru rozkładów wielkości cząstek aerozolowych uzyskiwanych z proszków inhalacyjnych o zróżnicowanej morfologii

Wstęp

Osiągnięcie wysokiej skuteczności aerozoloterapii wymaga dostarczenia leków inhalacyjnych bezpośrednio w te miejsca dróg oddechowych, w których toczy się proces chorobowy. Aby osiągnąć ten cel, aerozol utworzony z proszku do inhalacji musi charakteryzować się jak największą zawartością cząstek tworzących tzw. frakcję drobną FPF (*Fine Particle Fraction*), tzn. cząstek o średnicy mniejszej niż 5 μm . Cząstki tej wielkości łatwo penetrują do płuc i dobrze deponują się w obszarach objętych stanem chorobowym. Na wartość FPF wpływa nie tylko pierwotna wielkość cząstek leku proszkowego, ale również ich skłonność do deagregacji podczas inhalacji. Aby zmniejszyć oddziaływanie pomiędzy cząstkami proszku, stosuje się wiele różnych rozwiązań. Jednym z nich jest nadawanie cząstkom proszku nieregularnego kształtu, aby ograniczyć m.in. działanie sił *Van der Waalsa*. [1]

Dogodną możliwość kontrolowania morfologii cząstek proszków inhalacyjnych daje metoda suszenia rozpyłowego. Podczas szybkiego odparowania rozpuszczalnika z kropli roztworu powstaje cząstka, której morfologia istotnie zależy od składu roztworu. W przypadku wytwarzania cząstek wieloskładnikowych często stosuje się substancje, które po wysuszeniu dają produkt w postaci cząstek o zdeformowanym kształcie i powierzchni [2]. Jest to m.in. mannitol, który jest substancją mukolityczną [3], wpływającą na uwodnienie śluzu, oraz dekstran, który podobnie jak mannitol ma również funkcje mukolityczne [4], ale ze względu na dużą masę cząsteczkową (6000 Da) ułatwia on otrzymywanie stabilnych cząstek kompozytowych metodą suszenia rozpyłowego. Badania nad zastosowaniem wspomnianych substancji w celach inhalacyjnych sprawiają, że szczególnego znaczenia nabiera dysponowanie szybką metodą (będącą alternatywą dla impaktorów kaskadowych) oznaczania rozkładu wielkości cząstek bez względu na ich morfologię.

Farmakopea Europejska przewiduje prowadzenie badań aerozoli inhalacyjnych przy użyciu klasyfikatorów inercyjnych, w tym impaktora kaskadowego *Andersena* (ACI) oraz impaktora nowej generacji (NGI). Ich podstawową zaletą jest pomiar średnicy aerodynamicznej, która uwzględnia gęstość, porowatość i kształt analizowanych cząstek. Umożliwia to skorelowanie uzyskanych wyników z obszarem depozycji cząstek w drogach oddechowych. Ponadto klasyfikatory inercyjne pozwalają na określenie rozkładu wielkości cząstek substancji aktywnej (leku), nawet jeżeli w skład aerozolu leczniczego wchodzi dodatkowe cząstki np. nośnika. Ograniczeniem tego typu metod przy rutynowej kontroli jakości jest jednak duża czasochłonność, która wynika również z konieczności poddania uzyskanych próbek odpowiedniej metodzie analitycznej (HPLC, spektrofotometria). Ogranicza to w znaczący sposób ilość wykonywanych analiz.

Alternatywą są instrumenty pomiarowe umożliwiające uzyskiwanie wyników *on-line*. Zapewniają one możliwość wykonania nieporównanie większej liczby analiz niż w przypadku klasyfikatorów inercyjnych. Ograniczeniem tego typu instrumentów pomiarowych jest natomiast brak możliwości analizy aerozoli niejednorodnych, tzn. takich, które zawierają różnego rodzaju dodatki (np. nośnik laktozowy). Słabą stroną tego typu instrumentów jest również brak pomiaru średnicy aerodynamicznej. Cechą analizatorów optycznych jest przyjęcie założenia, że uzyskany sygnał jest efektem rozproszenia światła białego lub monochromatycznego lub – w innego typu instrumentach pomiarowych – dyfrakcji promieniowania laserowego, wywołanego przez sferyczną cząstkę. Sprawia to, że tego typu urządzenia najlepiej sprawdzają się przy pomiarze kropeł lub proszków o cząstkach sferycznych. Niemniej

jednak w praktyce spotyka się bardzo często cząstki o kształcie silnie odbiegającym od sferycznego. W tego typu przypadkach założenie leżące u podstaw pomiaru prowadzonego z wykorzystaniem spektrometrów aerozolowych może nie być spełnione, co może zafałszować wyniki pomiarów wielkości cząstek.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu, jaki ma morfologia badanych cząstek na zawartość cząstek drobnych (wartość FPF) wyznaczaną za pomocą dwóch instrumentów pomiarowych o odmiennych zasadach działania: laserowego spektrometru dyfrakcyjnego *Spraytec* (*Malvern Scientific*, Wielka Brytania) oraz optycznego licznika cząstek *WELAS 2100* (*Palas GmbH*, RFN). Cząstki o zróżnicowanej morfologii wytwarzano metodą suszenia rozpyłowego.

Materiały i metody

Do sporządzenia proszków wykorzystano 5%-owe roztwory laktozy (*POCH*, Gliwice), mannitolu i dekstranu (*Sigma-Aldrich*) oraz 5% roztwór laktozy z dodatkiem albuminy z jaja kurzego (*Sigma-Aldrich*) na poziomie 2% mas. Do sporządzenia roztworów wykorzystano wodę pochodzącą z instalacji osmozy odwróconej (*Puricom*). Przed przystąpieniem do suszenia wszystkie roztwory mieszano przez około 1 h z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego (*WIGO*, Pruszków).

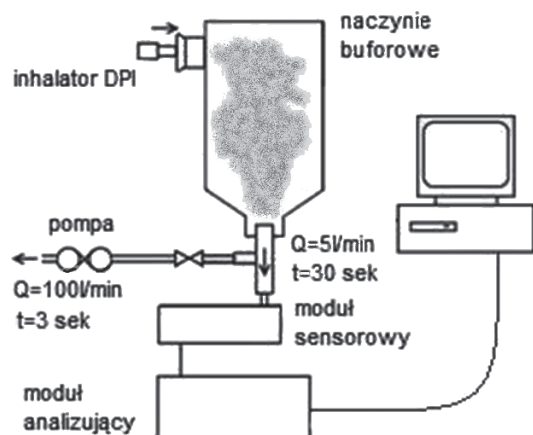
Suszenie rozpyłowe i ocena morfologii cząstek proszku

Do przygotowania proszków zastosowano laboratoryjną suszarkę rozpyłową B-290 (*BÜCHI Labortechnik AG*, Szwajcaria), wyposażoną w wysokosprawną cyklon szklany oraz standardową dyszę rozpylającą ($\varnothing = 0,7 \text{ mm}$). Zastosowano zoptymalizowane nastawy pracy suszarki. Temperatura wlotowa powietrza suszącego w każdym z przypadków była na poziomie 180°C, natomiast temperatura wylotowa wynosiła 70°C. Natężenie przepływu roztworu zasilającego ustawiono na wartość 20 ml/min. Natężenie przepływu sprężonego powietrza podawanego do dyszy rozpylającej wynosiło 0,475 m³/h, natomiast powietrza suszącego: 38 m³/h. Zebrany proszek przechowywano w eksykatorze. Morfologię cząstek otrzymywanych proszków oceniano na podstawie zdjęć ze skaningowego mikroskopu elektronowego SEM, model TM-1000 (*Hitachi*, Japonia). Aby poprawić jakość zdjęć, próbki proszków przed wykonaniem zdjęć SEM zostały napyłone 2 nm warstwą złota (*K550x Sputter Coater – Quorum Technologies*).

Charakterystyka wielkości cząstek po aerolizacji

W pomiarach wielkości cząstek po aerolizacji proszku wykorzystano kapsułkowy inhalator typu cyklohaler, w którym każdorazowo umieszczano dawkę ok. 10 mg proszku. Proszek z kapsułki był uwalniany w trakcie przepływu powietrza wymuszonego przez pompę próżniową (ok. 3 sek z natężeniem przepływu 100 dm³/min). W przypadku pomiarów prowadzonych spektrometrem *WELAS 2100*, powstający aerozol był wprowadzany do naczynia buforowego, skąd był pobierany do analizy przez czas 30 s. Analogiczną metodykę z powodzeniem stosowano we wcześniejszych badaniach dotyczących charakterystyki proszków [2]. Schemat układu pomiarowego przedstawiono na rys. 1. Pomiar wykonano w pięciu powtórzeniach.

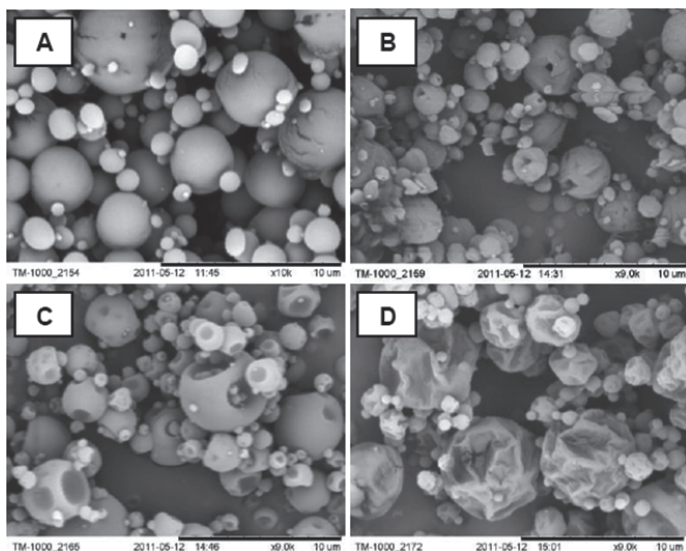
Pomiar wielkości cząstek aerozolu inhalacyjnego prowadzono także z użyciem dyfraktometru laserowego *Spraytec*, wyposażonego w komorę inhalacyjną. Do komory podłączono pompę, która generowała przepływ powietrza przez inhalator o natężeniu 100 dm³/min przez okres 3 sekund. Analizę danych prowadzono przez 4 sek. z częstotliwością zliczeń 2,5 kHz. Każdy pomiar został powtórzony pięciokrotnie.



Rys. 1. Schemat stanowiska do pomiaru wielkości cząstek proszków z wykorzystaniem optycznego licznika cząstek Welas 2100

Wyniki i dyskusja

Zdjęcia SEM wyprodukowanych proszków zostały przedstawione na rys. 2. Każdy z otrzymanych proszków był polidispersyjny. Z roztworu czystej laktozy uzyskano cząstki sferyczne o gładkiej powierzchni (Rys. 2a). W przypadku cząstek wytworzonych z mannitolu charakteryzowały się one sferycznym kształtem, jednak ich powierzchnia była zdeformowana (Rys. 2b). Ponadto na podstawie uzyskanych zdjęć SEM można stwierdzić, że niektóre z wytworzonych cząstek były wewnątrz puste. Z 5% roztworu wodnego niskocząsteczkowego dekstranu (6000 Da) powstał proszek zawierający cząstki globularne z charakterystycznymi wgłębieniami, które w niektórych przypadkach powodowały znaczne deformacje kształtu (Rys. 2c). Jeszcze silniej zdeformowane cząstki uzyskano poprzez suszenie rozpyłowe 5% roztworu laktozy z 2% dodatkiem albuminy (Rys. 2d). Kształt zbliżony do sferycznego został zachowany, jednak znacznej deformacji (pofałdowaniu) uległa powierzchnia cząstek, na której pojawiły się wyraźne bruzdy i wgłębienia.



Rys. 2. Zdjęcia SEM analizowanych proszków. Cząstki powstałe w wyniku suszenia rozpyłowego roztworów: A – 5% mas. laktozy, B – 5% mas mannitolu, C – 5% mas. Dextranu, D – 5% mas. laktozy + 2% albuminy. Powiększenie 9000 razy

Wartości FPF (Tab. 1) uzyskane w pomiarach wykonanych z wykorzystaniem dyfraktometru laserowego *Spraytec* wskazują w każdym przypadku nieznacznie większy udział masowy cząstek drobnych w porównaniu z wynikami uzyskanymi z *Welasa 2100*. Może być to związane z depozycją największych cząstek proszku wewnątrz wlotu

prowadzącego do komory inhalacyjnej. Cząstki, które zostaną tam zdeponowane nie są rejestrowane przez instrument pomiarowy, przez co zawyżeniu ulega wartość FPF. Element ten występuje również w imaktoraach kaskadowych, gdzie jednak możliwe jest oznaczenie cząstek w nim zdeponowanych i uwzględnienie ich masy przy określaniu wartości FPF. W przypadku przyrządu *Spraytec* nie ma takiej możliwości, co stanowi niewątpliwie wadę tego urządzenia.

Tab. 1. Wartości FPF i MMS wytworzonych proszków (Rys.2) wyznaczone przy użyciu spektrometru dyfrakcyjnego *Spraytec* i optycznego licznika cząstek *WELAS 2100*

Proszek	<i>Spraytec</i>				<i>Welas 2100</i>			
	FPF [%]	SD [%]	MMD [μm]	SD [μm]	FPF [%]	SD [%]	MMD [μm]	SD [μm]
A	56,3	8,9	4,4	1,1	52,0	3,3	4,7	0,5
B	74,7	4,6	3,0	0,5	69,0	7,9	3,9	0,9
C	66,3	6,3	3,2	0,4	54,7	2,4	4,8	0,2
D	62,7	4,2	3,7	0,3	54,3	1,8	4,9	0,1

W tab. 1 zamieszczono również wartości zastępczej średnicy odpowiadającej medianie rozkładu masowego MMD (*Mass Median Diameter*). Wartości FPF uzyskane przy pomocy obu instrumentów pomiarowych są najbardziej zbliżone dla proszku o cząstkach kulistych (różnica wynosi poniżej 5%). Wraz ze wzrostem deformacji kształtu cząstek odnotowuje się większą rozbieżność między uzyskanymi wartościami FPF i MMD. Dla proszku B jest to różnica na poziomie 6%, dla proszku C – 12%, natomiast dla proszku D – 8%. Uzyskane wyniki potwierdzają więc, że morfologia badanych cząstek wpływa na wartości wskaźników charakteryzujących rozkład wielkości cząstek. Wynika to m.in. z odmiennej zasady działania obydwu urządzeń.

W urządzeniu *Spraytec* cząstki, jako drobne obiekty o rozmiarze bliskim długości fali światła wprowadzone w wiązkę promieniowania laserowego powodują zjawisko dyfrakcji. Na ugięcie wiązki promieniowania wpływają równocześnie wszystkie cząstki znajdujące się w przestrzeni pomiarowej. Sprawia to, że urządzenie pozwala mierzyć aerozole o wysokich stężeniach cząstek, ale może też powodować nakładanie się niedokładności związanych z nieregularnym kształtem cząstek.

Spektrometr *Welas 2100* wykorzystuje natomiast światło białe oraz zjawisko jego rozproszenia na pojedynczych cząstkach aerozolu [5]. Sprawia to, że urządzenie jest wrażliwe na zbyt dużą koncentrację cząstek w przepływającym strumieniu powietrza, ale, co sugerują mniejsze niż w przypadku urządzenia *Spraytec* wartości odchylenia standardowego, może być mniej czułe na efekty związane z kształtem cząstek.

Wnioski

W wyniku badań stwierdzono, że morfologia cząstek ma wpływ na wyniki pomiaru rozkładu wielkości, jakie są uzyskiwane przy pomocy optycznych analizatorów aerozolowych o dwóch różnych zasadach działania.

W przypadku cząstek silnie niekulistych uzyskano 8–12% rozbieżności w wartości FPF i około 1,5 μm rozbieżności w wartości MMD z pomiarów wykonanych w obu przyrządach. Błąd wyznaczania wielkości cząstek niekulistych wynika z zasady działania przyrządów. Może on powodować, że wyliczane wskaźniki liczbowe, takie jak FPF czy MMD, które są ważne w ocenie jakościowej produktów inhalacyjnych [6], będą przyjmować zafałszowane wartości. Stąd szybkie pomiary optyczne należy stosować z pełnym zaufaniem jedynie w przypadku analizy rozkładów cząstek kulistych.

LITERATURA

- [1] H. K. Chan: Expert Opin. Drug Deliv. **5**, 909 (2008).
- [2] M. Odziomek, T. R. Sosnowski, L. Gradoń: Inż. Ap. Chem. **49**, nr 2, 91 (2010).
- [3] E. Daviskas et al.: Eur. Resp. J. **10**, 2449 (1997).
- [4] W. Feng et al.: Am. J. Respir. Crit. Care Med. **157**, 710 (1998).
- [5] M. Kuhli et al.: Materiały Konf. "Drug Delivery to the Lungs XIX", Edinburgh (2008), <http://ddl-conference.org.uk/files/posters/41.Kuhli.pdf>
- [6] T. R. Sosnowski: Inżynieria procesów biomedycznych. Aerozole wziewne i inhalatory. WICHiP PW, Warszawa 2010.