

STANOVENÍ VELIKOSTNÍ DISTRIBUCE INHALAČNÍHO AEROSOLU ZA PODMÍNEK DÝCHACÍHO ÚSTROJÍ

LUDMILA MAŠKOVÁ, LUCIE ONDRÁČKOVÁ,
JANA KOZÁKOVÁ, ELIŠKA KOVÁŘOVÁ
a VLADIMÍR ŽDÍMAL

Laboratoř chemie a fyziky aerosolů, Ústav chemických
procesů AV ČR, Rozvojová 135, 165 02 Praha 6
maskova@icpf.cas.cz

Došlo 15.11.17, přijato 22.1.18.

Klíčová slova: inhalační lék, velikostní distribuce početní
koncentrace, velikostní distribuce hmotnostní koncentrace,
hygroskopicitá

Úvod

Kapesní inhalátory typu MDI (metered dose inhaler) a DPI (dry powder inhaler) představují nedílnou součást léčby plicních onemocnění, jako např. astmatu a chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN)^{1,2}. Klíčovým faktorem určujícím depozici léčiva v lidském dýchacím systému je distribuce velikosti částic léčiva³. Ta se může měnit v závislosti na chemickém složení inhalačního léku (účinné složce a pomocné látky – excipientu), ale také na změně teploty (t) a relativní vlhkosti (RH) při přechodu z inhalátoru do dýchacího ústrojí člověka. O hygroskopických vlastnostech inhalačního aerosolu je však známo překvapivě málo.

Aerosol generovaný inhalátory je nejčastěji charakterizován pomocí velikostní distribuce hmotnostní koncentrace částic měřené kaskádními impaktory^{4–7}. Přesnost tohoto měření je však omezená především nedokonalostí separace na patrech impaktoru pro jednotlivé velikostní frakce⁸ a z důvodu výrobních tolerancí⁹. Další nevýhodou je relativně malé rozlišení velikostního spektra a velká časová náročnost analýzy.

Alternativou je měření částic generovaných inhalátorem pomocí online spektrometrů na principu time-of-flight^{10,11}. Tato metoda poskytuje mnohem detailnější informaci o velikostní distribuci částic, což je zásadní informace nutná pro realistické modelování depozice v dýchacím ústrojí^{12,13}. Dále tyto přístroje poskytují data o intenzitě bočního rozptylu světla (IBRS) na částicích, což umožňuje při korelaci s velikostní distribucí určit módy jednotlivých složek inhalantu bez nutnosti další chemické analýzy vzorku¹⁴. Měření probíhá v řádu několika sekund, nevýhodou je naopak vyšší pořizovací cena online spektrometru.

Studie zabývající se srovnáním velikostní distribuce inhalačních aerosolů získané pomocí kaskádních impaktorů a online spektrometrů jsou ojedinělé^{15,16}. Zmíněné studie byly provedeny na poměrně malém vzorku inhalátorů a zaměřovaly se pouze na srovnání hmotnostní koncentrace generovaných částic. Jejich výsledky přesto naznačily, že hlavní módy získané pomocí obou metod jsou srovnatelné.

Cílem této práce bylo popsat velikostní distribuci částic generovaných šesti různými typy komerčně dostupných kapesních inhalátorů používaných k léčbě astmatu a CHOPN pomocí kaskádního impaktoru a online spektrometru na principu time-of-flight. Dalším cílem bylo porovnat velikostní distribuce získané pomocí obou přístrojů, odhadnout módy jednotlivých chemických komponent (účinné složky a excipientu) obsažených v inhalantu na základě bočního rozptylu světla a zhodnotit hygroskopické vlastnosti vybraných inhalačních aerosolů po jejich expozici do zvlhčeného vzduchu.

Experimentální část

Inhalátory

Bylo testováno šest komerčně dostupných kapesních inhalátorů používaných k léčbě astmatu a CHOPN. Inhalátory byly vybrány tak, aby reprezentovaly co nejrozmanitější spektrum zástupců. Seznam inhalátorů spolu s informacemi běžně dostupnými od výrobců je uveden v tab. I.

Měřicí aparatura

Vzorky inhalantů byly přisávány do hlavního proudu filtrovaného vzduchu z laminárního boxu. Částice byly vedeny k detektoru potrubím zahnutým o 90° simulujícím průchod aerosolu z inhalátoru dutinou ústní a první zatáčkou za torax. Jako detektor částic byl použit a) Bernerův nízkotlaký kaskádní impaktor (BLPI, 25/0.018/2, Hauke, Rakousko) a b) aerodynamický spektrometr částic – online spektrometr na principu time-of-flight (APS, 3321, TSI, USA).

Pomocí BLPI byla měřena distribuce hmotnostní koncentrace částic. Impaktor dělí částice do 10 velikostních tříd v celkovém rozsahu velikostí 25 nm – 10 μ m. Vzorkování probíhalo při průtoku 25 l min⁻¹. Částice byly deponovány na folie Nuclepore potěně Apiezonem L, aby byly potlačen odraz částic na patře, a analyzovány gravimetricky. Každá fólie byla zvážena před a po vzorkování na vahách s citlivostí 1 μ g (Sartorius M5P, Data Weighing Systems, USA). Analýza byla provedena v klimatizované váhově při 20 \pm 1 °C a 50 \pm 3 % RH. Těmto podmínkám byly vzorky vystaveny vždy minimálně 24 hodin před analýzou. Pomocí APS byla měřena distribuce početní koncentrace částic v 52 velikostních třídách a celkovém rozsahu 500 nm – 20 μ m.

Tabulka I

Seznam testovaných inhalátorů spolu s informacemi poskytovanými výrobcem

Označení inhalátoru	Typ	Dávkování	Léková forma	Název generika [$\mu\text{g}/\text{dávku}$]	Pomocné látky
A	MDI	vicedávkový	roztok	Beclometason (100)	norfluran, bezvodý ethanol
B	MDI	vicedávkový	suspense	Salbutamol (100)	norfluran, bezvodý ethanol
C	DPI	vicedávkový	prášek	Flutikason (250) Salmeterol (50)	monohydrát laktosy
D	DPI	jednodávkový	prášek	Budesonid (200)	monohydrát laktosy
E	DPI	jednodávkový	prášek	Formoterol (12)	monohydrát laktosy
F	DPI	jednodávkový	prášek	Tiotropium (18)	monohydrát laktosy

Zároveň byla zaznamenávána intenzita bočně rozptýleného světla v korelovaném režimu měření. Vzorování probíhalo s průtokem vzduchu $17,3 \text{ l min}^{-1}$, kontrolovaným kritickou tryskou, z čehož 5 l min^{-1} představoval průtok APS. Výsledná distribuce byla vždy získána průměrem 5 měření. Data byla zaznamenávána softwarem Aerosol Instrument Manager (AIM v.8.0.0, TSI, USA). Pro přepočet početních koncentrací získaných pomocí APS na koncentrace hmotnostní byl použit předpoklad sférických částic s hustotou 1 g cm^{-3} .

Výše zmíněná měření probíhala za laboratorních podmínek ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ a $45 \pm 5 \text{ } \%$ RH). Za účelem otestování hygroskopických vlastností generovaného aerosolu byl vybrán MDI inhalátor B a DPI inhalátor D, u kterých byla provedena měření pomocí APS se zařazením termostatu a zvlhčovače do měřicí aparatury. Tak bylo dosaženo podmínek bližších lidskému dýchacímu ústrojí ($27 \pm 0,02 \text{ }^\circ\text{C}$ a $95 \pm 0,5 \text{ } \%$ RH). Při takto vysokých hodnotách RH nebylo možné dále zvyšovat teplotu vzorku, protože by došlo ke kondenzaci vodní páry v odběrové trase včetně vnitřních detekčních povrchů spektrometru APS a tím ke zkreslení měřených distribucí velikosti částic.

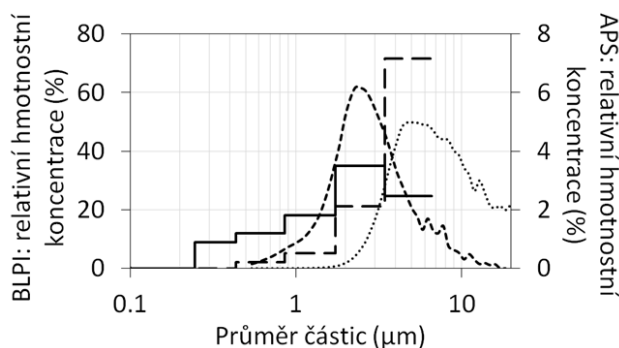
Výsledky a diskuse

Velikostní distribuce hmotnostní koncentrace

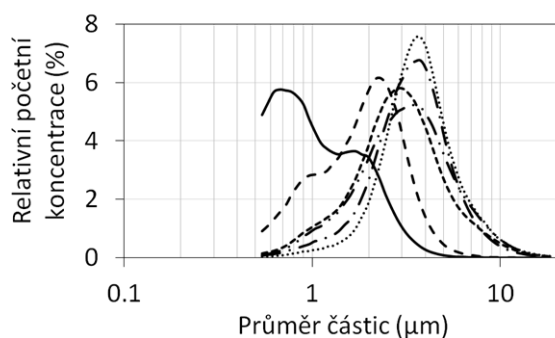
Získané velikostní distribuce byly monomodální pro všechny inhalátory, s maximálními koncentracemi okolo 2 až $3 \text{ } \mu\text{m}$ pro inhalátory MDI (A a B) a $5\text{--}10 \text{ } \mu\text{m}$ pro inhalátory DPI (C–F). Výsledky pro všechny testované vzorky ukázaly, že polohy módů získaných pomocí BLPI a APS byly srovnatelné. Toto zjištění je v souladu se závěry předchozích studií^{15,16}. Srovnání velikostních distribucí hmotnostní koncentrace částic naměřené pomocí BLPI a APS za laboratorních podmínek (t a RH) pro inhalátory A a F je uvedeno na obr. 1.

Velikostní distribuce početní koncentrace

Na obr. 2 jsou uvedeny velikostní distribuce početní koncentrace částic získané pomocí APS za laboratorních podmínek (t a RH). Je zřejmé, že zatímco inhalátory DPI (C–F) poskytovaly i v případě početní koncentrace monomodální velikostní distribuci s vrcholem okolo $3\text{--}4 \text{ } \mu\text{m}$,



Obr. 1. Velikostní distribuce hmotnostní koncentrace naměřená pomocí BLPI - hlavní osa y a APS - vedlejší osa y; inhalátor A měřený pomocí BLPI (—) a APS (---), inhalátor F měřený pomocí BLPI (— —) a APS (.....)



Obr. 2. Velikostní distribuce početní koncentrace naměřená pomocí APS pro inhalátory A (—), B (---), C (— · —), D (·····), E (— · · —), F (— · —)

pro inhalátory MDI (A a B) byla situace odlišná a jejich velikostní spektrum vykazovalo dva módy s prvním vrcholem v submikronové oblasti a druhým okolo 2 μm . Tyto submikronové frakce nebyly vzhledem ke své velikosti při hodnocení hmotnostní koncentrace patrné. Lze se domnívat, že tyto dva módy náležejí různým chemickým složkám inhalačního aerosolu (pravděpodobně účinné látky a excipientu).

Pro detailní analýzu módů jednotlivých složek inhalačního aerosolu byla použita korelace mezi IBRS a aerodynamickým průměrem částic. Takto získaná data potvrdila výskyt dvou módů pouze v aerosolu generovaném inhalátorem A. Výsledky pro inhalátor B nebyly zcela průkazné pravděpodobně z důvodu blízkosti obou módů¹⁴. Rovněž inhalační aerosol C, obsahující dvě účinné látky, vykazoval jen jeden mód, stejně jako ostatní inhalátory DPI obsahující jednu účinnou látku. Lze se proto domnívat, že obě účinné látky obsažené v inhalačním aerosolu C mají podobné rozdělení velikosti částic.

Práškové směsi pro DPI obsahující částice hrubé laktosy (aerodynamický průměr, $d_{ae} = 30\text{--}100 \mu\text{m}$) mohou obsahovat i mikronové částice jemné laktosy ($d_{ae} = 1$ až $5 \mu\text{m}$), které mají úlohu zaplnit póry na povrchu hrubé laktosy, následně jsou do této směsi přimíchány částice aktivní farmaceutické složky ($d_{ae} < 5 \mu\text{m}$). Jemná laktosa napomáhá lepší disperzi částic aktivní složky během inha-

lace, zatímco hrubé částice laktosy hrají roli nosiče léku do dýchacích cest. Během inhalace jsou částice aktivní složky uvolněny z hrubé laktosy a tak mohou proniknout až do cílené tracheobronchiální oblasti¹⁷. Námi měřené velikostní distribuce hmotnosti i počtu částic u DPI jsou monomodální, případně uvolněné částice jemné laktosy tedy vykazují obdobnou velikost jako částice aktivní složky.

Hygroskopické vlastnosti částic

Za účelem otestování možného vlivu změny teploty a RH při přechodu generovaného aerosolu z inhalátoru do podmínek dýchacího ústrojí člověka byl vybrán MDI inhalátor B a DPI inhalátor D, u kterých byla provedena měření pomocí APS se zařazením termostatu a zvlhčovače do měřicí aparatury. Hlavní módy početní velikostní distribuce částic byly stanoveny při laboratorních podmínkách ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ a $45 \pm 5 \%$ RH), laboratorní teplotě a RH dýchacího ústrojí ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ a $95 \pm 0,5 \%$ RH) a podmínkách simulujících dýchací ústrojí ($27 \pm 0,02 \text{ }^\circ\text{C}$ a $95 \pm 0,5 \%$). Přesná pozice módů byla stanovena robustní neparаметrickou metodou založenou na algoritmech matematické gnostičky¹⁸ (nestatistický přístup k analýze neurčitých dat). Výsledky ukázaly, že rozdíl v poloze módů za laboratorních podmínek a za podmínek simulujících lidské dýchací ústrojí byly malé, nicméně významné (tab. II). Tuto malou změnu by bylo možné vysvětlit tím, že při vysoké RH (95 %) se na povrch částic nasorbuje tenký vodní film, který zároveň zdrsňuje povrch, tvar částic se více zakulatí a tím může dojít i k mírné změně jejich aerodynamického průměru d_{ae} , stanoveného spektrometrem APS. Měření ale ukázalo, že inhalační částice generované vybranými inhalátory nejsou hygroskopické.

Závěr

Cílem této studie bylo porovnání velikostní distribuce aerosolu generovaného kapselními inhalátory naměřené dvěma metodami (kaskádního impaktoru BLPI a time-of-flight online spektrometru APS) a odhadnutí možné změny velikostní distribuce při průchodu z inhalátoru do lidského dýchacího ústrojí. Hodnoceno bylo šest inhalátorů (dva

Tabulka II

Hlavní módy početní velikostní distribuce částic při laboratorních podmínkách a podmínkách dýchacího ústrojí

Označení inhalátoru	Pořadí módu	Mód [μm]		
		t laboratorní ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)	t laboratorní ($25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$)	t dýchací ústrojí ($27 \pm 0,02 \text{ }^\circ\text{C}$)
		RH laboratorní ($45 \pm 5 \%$)	RH dýchací ústrojí ($95 \pm 0,5 \%$)	RH dýchací ústrojí ($95 \pm 0,5 \%$)
B	1	$0,99 \pm 0,03$	$0,90 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,03$
	2	$2,26 \pm 0,04$	$2,14 \pm 0,04$	$2,38 \pm 0,04$
D	1	$3,33 \pm 0,04$	$3,21 \pm 0,04$	$3,36 \pm 0,04$

MDI a čtyři DPI) běžně používaných k léčbě astmatu a CHOPN. Výsledky ukázaly, že polohy hlavních módů velikostní distribuce hmotnostní koncentrace získané pomocí obou metod byly srovnatelné. Na základě hodnocení velikostní distribuce početní koncentrace a bočního rozptylu v korelovaném režimu měření pomocí online spektrometru se podařilo určit dva módy jednotlivých chemických složek pouze pro jeden inhalátor MDI, zatímco pro druhý inhalátor MDI se výsledky obou metod lišily. Monomodální distribuce byla měřena u všech čtyř inhalátorů DPI, i když jeden z nich obsahoval dvě léčivé složky. Při změně teploty a RH byl pozorován jen minimální posun velikostní distribuce vybraných inhalantů, což naznačuje, že při přechodu léčiva z inhalátoru do dýchacího ústrojí nedochází k významné změně jeho vlastností a není tedy ovlivněno místo depozice léčiva. Z výsledků vyplývá, že použití online spektrometrů pro hodnocení velikostní distribuce částic inhalačních léčiv představuje vhodnou alternativu k tradičnímu způsobu měření.

Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy LTC17010 a grantem COST-European Cooperation in Science and Technology COST Action MP1404 (SimInhale).

LITERATURA

1. Virchow J. C., Crompton G. K., Dal Negro R., Pedersen S., Magnan A., Seidenberg J., Barnes P. J.: *Respir. Med.* 102, 10 (2008).
2. Chorão P., Pereira A. M., Fonseca, J. A.: *Respir. Med.* 108, 968 (2014).
3. Byron P. R. (ed.): *Respiratory Drug Delivery*. CRC Press, Boca-Raton 1990.
4. Weda M., Zanen P., De Boer A. H., Gjaltema D., Ajroud A., Barends D. M., Frijlink H. W.: *Int. J. Pharm.* 249, 247 (2002).
5. Kamiya A., Sakagami M., Hindle M., Byron P. R.: *J. Pharm. Sci.* 93, 1828 (2004).
6. Marple V. A., Olson B. A., Santhanakrishnan K., Mitchell J. P., Murray S. C., Hudson-Curtis B. L.: *J. Aerosol Med.* 16, 283 (2003).
7. Taki M., Marriott C., Zeng X.-M., Martin G. P.: *Int. J. Pharm.* 388, 40 (2010).
8. O'Shaughnessy P. T., Raabe O. G.: *Aerosol Sci. Technol.* 37, 187 (2003).
9. Stein S. W.: *Int. J. Pharm.* 186, 43 (1999).
10. Mitchell J. P., Nagel M. W.: *J. Aerosol Med.* 12, 217 (1999).
11. TSI Incorporated: *Model 3321 Aerodynamic Particle Sizer® Spectrometer Rapid Tool for Accelerated Inhaler Development*. TSI, USA 2008.
12. Stylianou F., Sznitman J., Kassinos S. C.: *Int. J. Heat Fluid Flow* 61 (Part B), 677 (2016).
13. Koullapis P. G., Kassinos S. C., Bivolarova M. P., Melikov A. K.: *J. Biomed.* 49, 2201 (2016).
14. Bischof O. F.: *Model 3321 Aerodynamic Particle Sizer® Spectrometer 3D-Correlated Data Analysis for Pharmaceutical Applications*. TSI, Germany 2007.
15. Mitchell J. P., Nagel M. W., Wiersema K. J., Doyle C. C.: *AAPS Pharm-SciTech* 4, E54 (2003).
16. Stein S. W., Myrdal P. B., Gabrio B. J., Obereit D., Beck T. J.: *J. Aerosol Med.* 16, 107 (2003).
17. Nokhodchi A., Martin G. P. (ed.): *Pulmonary Drug Delivery: Advances and Challenges*. J. Wiley, Chichester 2015.
18. Ždímal V., Brabec M., Wagner Z.: *Aerosol Air Quality Res.* 8, 392 (2008).

L. Mašková, L. Ondráčková, J. Kozáková, E. Kovářová, and V. Ždímal (*Laboratory of Aerosols Chemistry and Physics, Institute of Chemical Process Fundamentals of CAS, Prague*): **Determination of Particle Size Distribution of Inhalation Aerosol under Respiratory Tract Conditions**

The aim of this study was to determine particle size distributions (PSDs) generated by six pocket inhalers (2 × MDIs – metered dose inhalers and 4 × DPIs – dry powder inhalers) used in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Two methods were compared – cascade impactor and time-of-flight online spectrometer. The results showed that the main modes positions of mass PSDs obtained by either of the methods were comparable. During the measurements of number PSDs by using of APS spectrometer, we measured bimodal distributions for MDI inhalers and monomodal ones for DPI inhalers. The differences of PSDs measured under ambient and respiratory tract conditions were minimal and did not influence the deposition area of inhalants. The results showed that the determination of the PSDs by online spectrometer is a suitable alternative to the traditional methods of measuring the particle size distributions of inhalation aerosol.

Keywords: inhalation medicine, number particle size distribution, mass particle size distribution, hygroscopicity