

# Analiza ilości śladowych substancji czynnych stosowanych w lekach do inhalacji

J.Strzemieczny<sup>1,2</sup>, B.Musiał<sup>1</sup>, D.Siluk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dział Badań i Rozwoju Medana Pharma S.A. <sup>2</sup>Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Zakład Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, GUMed

## Wstęp

Formulacje leków wziewnych składają się z mikronizowanej substancji czynnej o rozmiarze cząstek poniżej 5µm oraz nośnika, którym najczęściej jest laktoza. Mikronizowane cząstki substancji czynnej przylegają do cząstek laktozy. Powstałe w ten sposób aglomeraty są rozdzielane w inhalatorze, a zmikronizowana i zdyspergowana substancja czynna dociera do dolnych partii układu oddechowego pacjenta. Charakterystycznymi badaniami opisanego leku są, aerodynamiczny rozkład wielkości cząstek wykonywany za pomocą impaktora kaskadowego oraz badanie jednolitości dawki dostarczonej wykonywane za pomocą aparatu DUSA – *Dosage Unit Sampling Apparatus*. [1]

W badanych produktach leczniczych przedstawionych na niniejszym plakacie zastosowano substancję aktywną z grupy LAMA (*long-acting muscarinic antagonists*) oznaczone jako – A oraz substancję aktywną z grupy LABA (*long-acting β<sub>2</sub>-agonists*) oznaczone jako – B. Leki inhalacyjne zawierają niewielką ilość substancji aktywnej. Aby możliwe było określenie jakości wytworzonego produktu, opracowane metody analityczne muszą cechować się dużą czułością oraz dokładnością i precyzją.

## Cel pracy

Celem pracy badawczej jest opracowanie, walidacja i wdrożenie metod analitycznych pozwalających ocenić jakość wytworzonej formacji leków w postaci proszku do inhalacji w dokładny, precyzyjny, szybki i jak najmniej kosztowny sposób.

## Materiały i metody

Zastosowana aparatura badawcza: chromatograf cieczerw Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), impaktor kaskadowy następnej generacji (NGI), aparat do badania jednolitości dawki dostarczonej (DUSA)

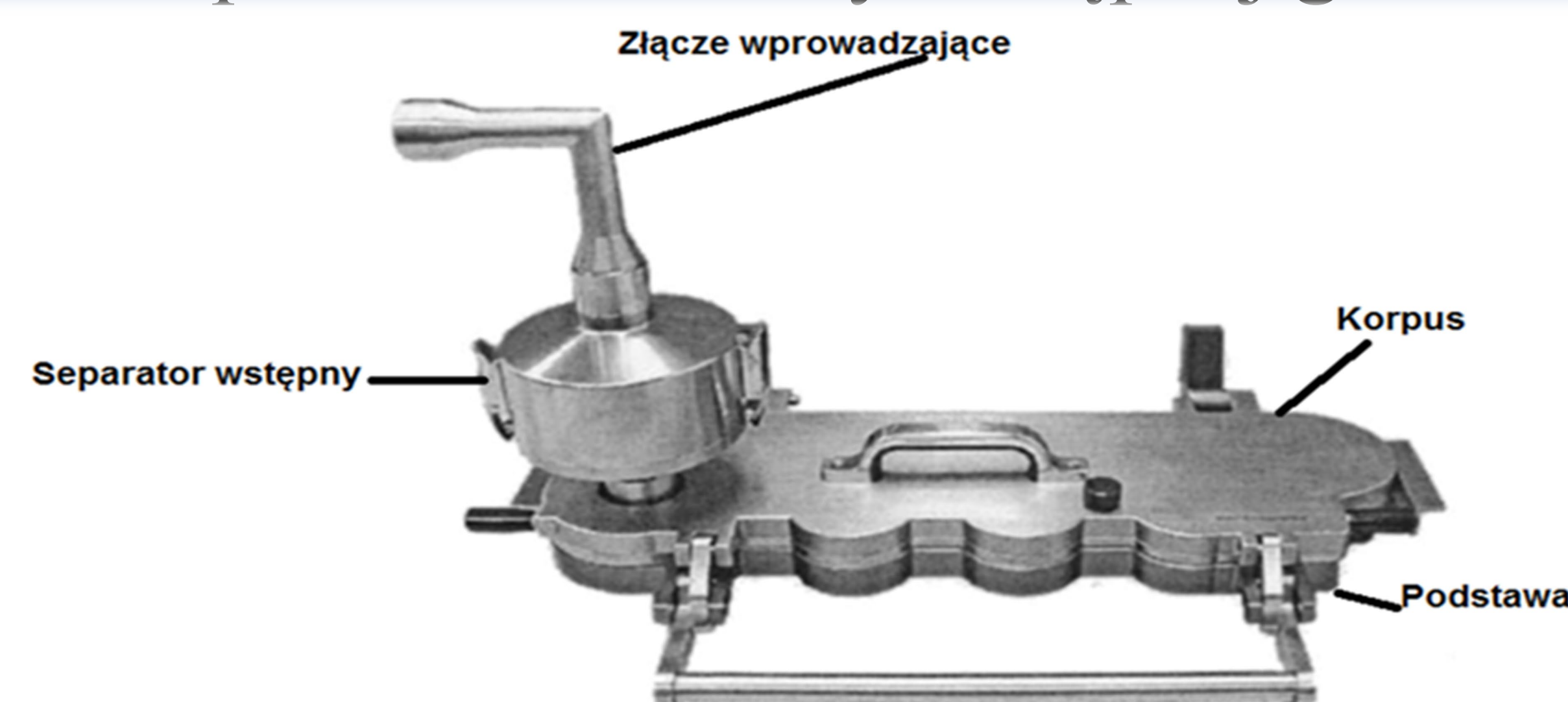
Faza stacjonarna : Luna Omega PS C18 (Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA)

Faza ruchoma : bufor fosforanowy : acetonitryl

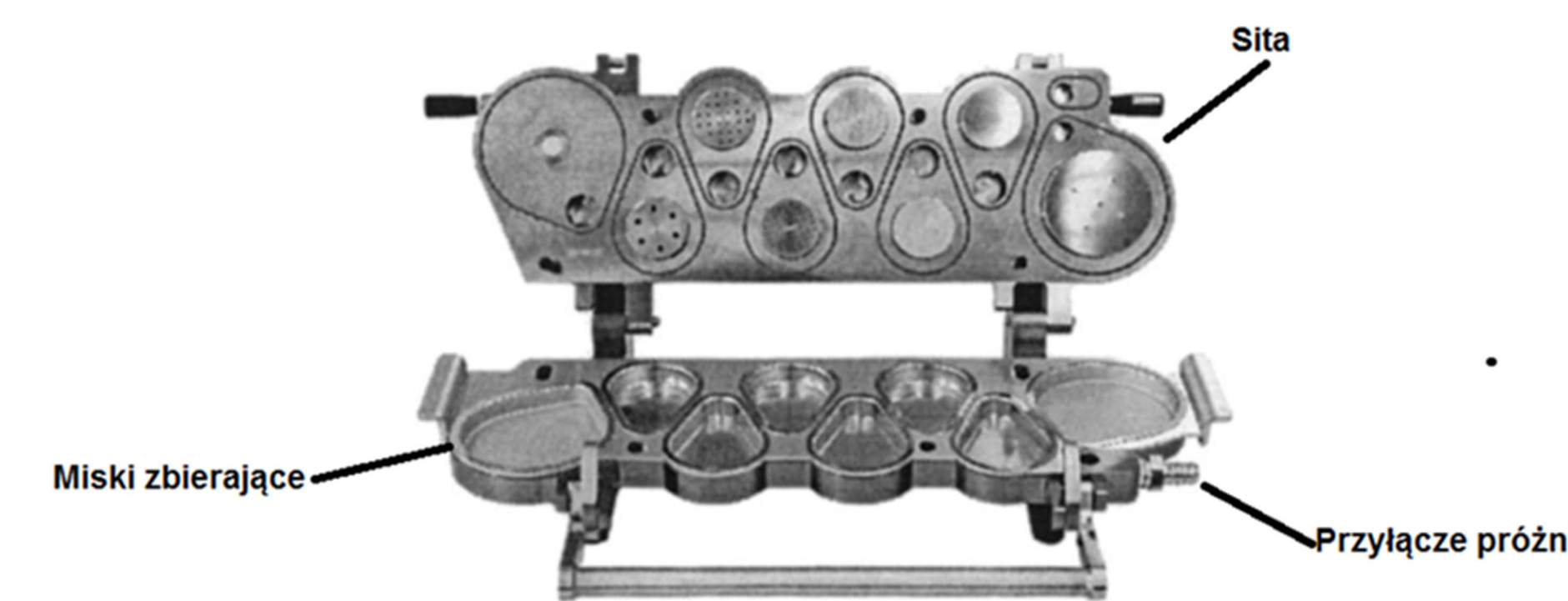
Długość fali: 210 nm oraz 270 nm

Detektor: UV – VIS

## Impaktor kaskadowy następnej generacji (NGI)



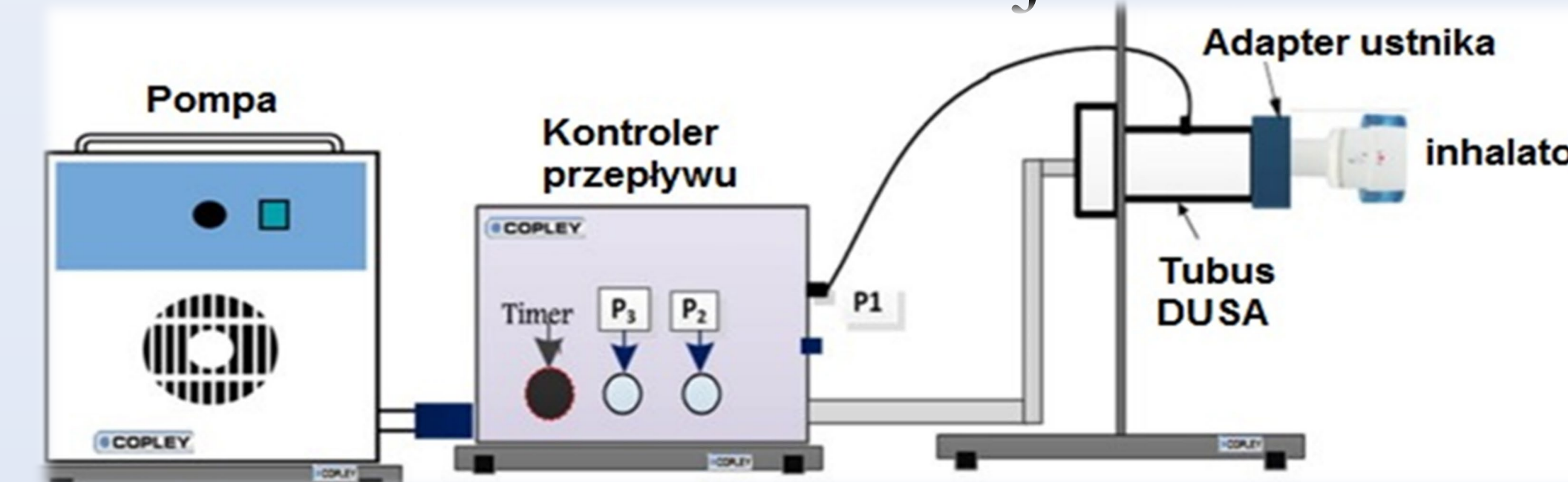
Rys 1 Impaktor kaskadowy następnej generacji wyposażony w separator wstępny oraz złącze wprowadzające (Copley Scientific Limited, Nottingham, UK).



Rys 2 Widok wnętrza impaktora kaskadowego.

Podczas badania aerodynamicznego rozkładu wielkości cząstek leku inhalacyjnego w impaktorze następuje przepływ powietrza przez aparat, który powoduje przemieszczenie się substancji czynnej wraz z nośnikiem, substancją pomocniczą przez impaktor i odkładanie się substancji czynnej na poszczególnych miskach zbierających aparatu. Miski aparatu są powlekane lepкими substancjami w celu lepszego związania badanego produktu z miską zbierającą. Następnie rozdzielony względem wielkości cząstek produkt badany jest zbierany ilościowo poprzez rozpuszczenie w fazie ruchomej [2]. Powstały roztwór poddaje się analizie za pomocą techniki wysokosprawnej chromatografii cieczerw. W badaniu tym najtrudniejsza do oznaczenia jest substancja czynna zbierająca się na 7 misce oraz na 8 misce (kolektorze z mikrootworami KMO) ze względu na niewielkie ilości substancji czynnej o bardzo małej średnicy aerodynamicznej, mniejszej niż 0,5 µm.

## Aparat do badania jednolitości dawki dostarczonej



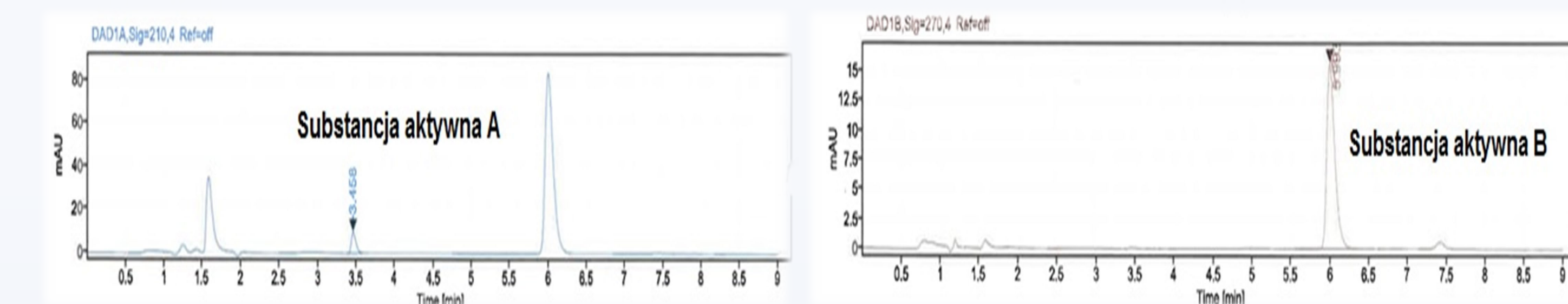
Rys 3 Zestaw do badania jednolitości dawki dostarczonej (Copley Scientific Limited, Nottingham, UK).

Badanie jednolitości dawki dostarczonej ma na celu sprawdzenie czy dawka leku inhalacyjnego jest dozowana w sposób powtarzalny i jednolity, tak aby pacjent zawsze otrzymywał deklarowaną porcję produktu leczniczego. Podczas badania dawka leku dozowana jest za pomocą inhalatora do tubusu DUSA w którym umieszczony jest filtr z włókna szklanego. Po za dozowaniem produktu badanego, do tubusu dodawana jest faza ruchoma w celu rozpuszczenia substancji czynnej i wypłukania jej z filtra [3]. Powstały roztwór jest sączony przez filtr strzykawkowy i poddawany analizie za pomocą techniki wysokosprawnej chromatografii cieczerw.

## Wyniki

W wyniku prowadzonych prac rozwojowych opracowane zostały metody analityczne pozwalające ocenić *in vitro* jakość wytworzonych formacji leków inhalacyjnych. Pierwsza z metod znalazła zastosowanie do oceny produktu zawierającego substancję aktywną A. Zarówno w badaniu aerodynamicznego rozkładu cząstek badanego produktu leczniczego, jak i w badaniu jednolitości dawki dostarczonej badanego produktu leczniczego. Dla drugiego produktu leczniczego złożonego z substancji aktywnej A oraz B zastosowano metodę analityczną z detekcją przy dwóch długościach fali 210 nm dla substancji A oraz 270 dla substancji B.

Walidacja opracowanych metod analitycznych potwierdziła ich użyteczność w wyznaczaniu aerodynamicznego rozkładu wielkości cząstek oraz jednolitości dawki dostarczonej w zakresie granicy oznaczalności, precyzji, odzysku i zakresu badanych stężeń.



Rys 4 Przykładowy chromatogram dla substancji aktywnych A (210 nm) oraz B (270 nm).

Tabela 1 Podsumowanie walidacji metod analitycznych

Jednolitość dawki dostarczonej (produkt założony)	Dawka wziewalna (produkt złożony)	Jednolitość dawki dostarczonej (produkt z jedną substancją aktywną)	Dawka wziewalna (produkt z jedną substancją aktywną)
<b>Specyficzność:</b> Brak interferencji z sygnałem substancji A oraz B	<b>Specyficzność:</b> Brak interferencji z sygnałem substancji A oraz B	<b>Specyficzność:</b> Brak interferencji z sygnałem substancji A	<b>Specyficzność:</b> Brak interferencji z sygnałem substancji A
<b>Precyzja:</b> CV = 4,1 % Substancja A CV = 7,5 % Substancja B	<b>Precyzja:</b> CV = 1,70 % Substancja A CV = 2,23 % Substancja B	<b>Precyzja:</b> CV = 6,28% Substancja A	<b>Precyzja:</b> CV = 2,78% Substancja A
<b>Precyzja pośrodkowa dla dwóch analityków:</b> CV = 4,4 % Substancja A CV = 8,9 % Substancja B	<b>Precyzja pośrodkowa dla dwóch analityków:</b> CV = 1,6 % Substancja A CV = 4,1 % Substancja B	<b>Precyzja pośrodkowa dla dwóch analityków:</b> CV = 6,5% Substancja A	<b>Precyzja pośrodkowa dla dwóch analityków:</b> CV = 6,2% Substancja A
<b>Odzysk średni:</b> 101,2 % Substancja A 97,9 % Substancja B	<b>Odzysk średni:</b> 98,9 % Substancja A 99,2 % Substancja B	<b>Odzysk średni:</b> 99,8 % Substancja A	<b>Odzysk średni:</b> 99,2 % Substancja A
<b>Zakres:</b> 50 – 150% zawartości substancji czynnych w dawce	<b>Zakres:</b> LOQ – 120% stężenia substancja A na 2 misce zbierające impaktora kaskadowego LOQ – 140% stężenia substancji B na poszczególnej misce zbierające impaktora kaskadowego.	<b>Zakres:</b> 50 – 150% zawartości substancji czynnej w dawce	<b>Zakres:</b> LOQ – 125% stężenia substancji A na poszczególnej misce zbierające impaktora askadowego.
	<b>Granica oznaczalności:</b> 0,027 µg/mL substancja A 0,046 µg/mL Substancja B		<b>Granica oznaczalności:</b> 0,028µg/ml Substancja A

## Podsumowanie i wnioski

Opracowane metody analityczne są specyficzne względem badanych substancji czynnych w badanych produktach leczniczych i spełniają parametry poddane walidacji. Metody są uniwersalne względem badania jednolitości dawki dostarczonej oraz oznaczania aerodynamicznego rozkładu cząstek substancji aktywnej na miskach zbierających impaktora kaskadowego dla badanych produktów leczniczych. Metody analityczne umożliwiają oznaczenie substancji czynnej na ostatnich miskach zbierających impaktora kaskadowego (7 oraz KMO). Metody pozwalają na przebadanie wielu serii badanego produktu leczniczego w krótkim czasie.