

Anna Sunabacka

# Analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutus kuivajauheinhalaattoreiden FPD- ja DD-tulostasoon

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Bio- ja elintarviketekniikka

Insinöörityö

12.11.2015

Tekijä Otsikko	Anna Sunabacka Analyysin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutus kuivajauheinhalaattoreiden FPD ja DD tulostasoon
Sivumäärä Aika	52 sivua 12.11.2015
Tutkinto	Insinööri (AMK)
Koulutusohjelma	Bio- ja elintarviketekniikka
Suuntautumisvaihtoehto	Biolääketiede
Ohjaaja(t)	Tutkija Anni Turpeinen Lehtori Hannu Turunen
<p>Kuivajauheinhalaattoreiden analyysien tulostasoon voivat vaikuttaa monet muuttuvat tekijät valmistuksen ja analysoinnin aikana. Tämän insinööriyön aiheena oli tutkia analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutusta inhalaattorien hiukkaskokojaukauma- (FPD) ja annoskokoanalyysien (DD) tulostasoon. Laboratorion suhteellinen kosteus säädettiin 30 %RH:seen ja 60 %RH:seen ja näissä olosuhteissa suoritettiin FPD- ja DD-analyysit. Lisäksi FPD-analyysille suoritettiin referenssianalyysit normaalissa noin 40 %RH olosuhteissa. Laboratoriossa oli tutkimuksen ajan normaali huoneenlämpötila, 16–25 °C:ta.</p> <p>Työ suoritettiin Orion Oyj:n T&amp;K osastolla inhalaatioryhmässä. Tutkimuksessa oli mukana neljä kehitysvaiheen valmistetta, jotka on koodattu työhön valmisteina A–D yrityksen salassapitovelvollisuuden vuoksi. Kaikista valmisteista tutkittiin kosteuden vaikutusta FPD-tulostasoon sekä valmisteista A ja B lisäksi kosteuden vaikutus DD-tulostasoon. Analyysit suoritettiin Euroopan Farmakopean mukaisia vaatimuksia noudattaen ja näytteet analysoitiin HPLC-laitteella.</p> <p>Tehtyjen analyysien perusteella havaittiin, ettei analysoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella ole merkittävää vaikutusta DD-analyysin tulokseen. Prosentuaalinen muutos eri analysointiolosuhteiden välillä oli valmisteelle A alle 5 prosenttiyksikköä ja valmisteelle B alle 8 prosenttiyksikköä. Analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutus FPD-analyysin tulokseen vaikutti olevan riippuvainen inhalaatiovalmisteen vaikuttavasta aineesta. Tutkimuksessa mukana olleista neljästä valmisteesta RH vaikutti merkittävimmin valmisteiden A ja C tuloksiin. Valmisteen A FPD-tulos kasvoi keskimäärin 10 prosenttiyksikköä suhteellisen kosteuden kasvaessa. Eräkohtainen muutos oli riippuvainen analysoidun erän valmistuksen olosuhteista ja käytetyistä raaka-aineista. Valmisteen C FPD-tulos päinvastoin laski kosteuden kasvaessa 10 prosenttiyksikköä.</p> <p>Tutkimuksen perusteella voidaan todeta, että FPD- ja DD-analytiikassa analysoinnin aikainen suhteellinen kosteus on tärkeää kirjata ja hyvä tiedostaa sen mahdollinen vaikutus tuloksiin. Lisätiedon ja varmempien päätelmien tueksi täytyisi tutkia useampia rinnakkaisia näytteitä valmisteista.</p>	
Avainsanat	kuivajauheinhalaattori, suhteellinen kosteus, delivered dose -analyysi, fine particle dose -analyysi

Author Title	Anna Sunabacka The effect of varying relative humidity conditions on FPD and DD analyses
Number of Pages Date	52 pages 12 November 2015
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Biotechnology and Food Engineering
Specialisation option	Biomedicine
Instructor(s)	Anni Turpeinen, Research Scientist Hannu Turunen, Lecturer
<p>Many variable factors during the manufacture and analysis of dry powder inhalers (DPI) affect the analysis results. The aim of this thesis was to investigate the effect of different relative humidity levels of analysing conditions on fine particle dose (FPD) and delivered dose (DD) analysis results of dry powder inhaler products. The relative humidity of the laboratory was set to 30 %RH and 60 %RH and FPD and DD analyses were performed under such conditions. Also reference analyses were performed for FPD analyses at a laboratory condition 40 %RH. The temperature of the laboratory was normal room temperature, 16–25 °C.</p> <p>This thesis was carried out in the Inhalation Group of the R&amp;D department of Orion Oyj. Four products of the development phase were included in the thesis and are coded as Product A–D due to professional secrecy of the company. The effect of relative humidity on FPD results was studied in all four products, while the effect of relative humidity on DD results was investigated in Product A and Product B. Both FPD and DD analyses were performed according to the current Ph. Eur., and the samples were analysed with HPLC.</p> <p>On the basis of the analyses, it was observed that the relative humidity of analysis conditions did not have a remarkable effect on the DD results. Only a minor, a less-than-5-percentage-point change was observed in the DD results of Product A and a less-than-8-percentage-point change in the DD results of Product B. The magnitude of the effect of RH on the FPD results seemed to depend on the active pharmaceutical ingredient (API) of the DPI. For Product A, the FPD results increased by 10 %, on average, with the relative humidity. The batch-specific change in the results seemed to depend on the manufacturing conditions and used raw materials of batch. For Product C, the effect was contrary, the FPD results decreased by 10 percentage points when the relative humidity increased.</p> <p>On the basis of the analyses, it can be said that it is important to record the relative humidity of analysis conditions and be conscious of the possible effect on the results of the DD and FPD analyses. For more information and more certain conclusions, more parallel samples of products should be investigated.</p>	
Keywords	dry powder inhaler, relative humidity, fine particle dose, delivered dose

## Sisällys

### Lyhenteet

1	Johdanto	1
	<b>KIRJALLINEN OSA</b>	<b>2</b>
2	Inhalaatiolääkkeet	2
2.1	Lääkeformulaatio	5
2.2	Inhalaatiolaite	7
2.3	Potilas	8
3	Kosteus	9
3.1	Kosteuden teoriaa	9
3.2	Kosteuden vaikutus kuivajauheinhalaattoreihin	11
4	Inhalaatiolääkkeiden analytiikka	15
4.1	Delivered Dose –analytiikka	15
4.2	Fine Particle Dose –analytiikka	16
4.2.1	MSLI, Multi Stage Liquid Impinger (Monitasoinen liuos impaktori)	18
4.2.2	NGI, Next Generation Impactor (Uuden sukupolven impaktori)	19
	<b>KOKEELLINEN OSA</b>	<b>21</b>
5	Materiaalit ja menetelmät	21
5.1	DD- ja FPD-analyysit	22
5.2	HPLC	23
6	Tulokset	24
6.1	Valmiste A	24
6.1.1	Delivered Dose -tulokset	25
6.1.2	Fine Particle Dose -tulokset	27
6.2	Valmiste B	33
6.2.1	Delivered Dose -tulokset	33
6.2.2	Fine Particle Dose -tulokset	35
6.3	Valmiste C	41

6.4	Valmiste D	43
7	Tulosten tarkastelu	45
7.1	Delivered Dose -analyysit	46
7.2	Fine Particle Dose -analyysit	47
8	Yhteenveto	48
	Lähteet	50

## Lyhenteet

ACI	<i>Andersen Cascade impactor.</i> Andersenin kaskadi-impaktori
API	<i>Active Pharmaceutical Ingredient.</i> Lääkkeen vaikuttava-aine
COPD	<i>Chronic obstructive pulmonary disease.</i> Keuhkohtaumatauti
DD	<i>Delivered Dose.</i> Inhalaatiojauheen annoskoko-analyysi
DPI	<i>Dry Powder Inhaler.</i> Kuivajauheinhalaattori
DSCG	<i>Di-sodium cromoglycate.</i> Dinatriumkromoglikaatti
FPD	<i>Fine Particle Dose.</i> Inhalaatiojauheen hiukkaskokojakauma-analyysi
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography.</i> Korkeapainenestekromatografia
MDI	<i>Metered Dose Inhaler.</i> Mitta-annosinhalaattori
MOC	<i>Micro-orifice contactor.</i> Uuden sukupolven impaktorin (NGI:n) tason 8 suutin
MSLI	<i>Multi Stage Liquid Impactor.</i> Monitasoliuosimpaktori
n	Inhalaattorin etiketissä mainittu annosten lukumäärä
NGI	<i>Next Generation Impactor.</i> Uuden sukupolven impaktori
Ph. Eur.	<i>European Pharmacopoeia.</i> Euroopan Farmakopea
p-MDI	<i>Pressurized metered-dose inhaler.</i> Paineistettu mitta-annosinhalaattori
RH	<i>Relative humidity.</i> Suhteellinen kosteus

## 1 Johdanto

Inhalaatiolääkinnän merkitys on kasvanut viimeisien vuosikymmenien aikana. Inhalaatiolääkintää käytetään nykyisin lähinnä keuhkosairauksien, kuten astman ja keuhkoastumataudin (COPD) hoitoon sekä anestesiassa. Tulevaisuudessa inhalaatiolääkinnässä kiinnostaa sen soveltaminen systeemisessä lääkinnässä. Inhalaatiolääkkeet ovat monimutkaisia lääke-laite-yhdistelmiä, jotka vaativat yhteensopivan tehokkaan lääkeaineformulaation ja toimivan laitteen. Lisäksi lääkkeen inhalointitekniikka vaikuttaa sen tehokkuuteen. Toimivaa ja tehokasta inhalaatiolääkettä suunniteltaessa täytyykin ottaa huomioon lääkeaineen fysikaaliset ja kemialliset, laitteen mekaaniset sekä potilaan fysiologiset ominaisuudet. [Koulu ym. 2012; Marvola ym. 2007.]

Tämän työn tarkoituksena oli tutkia analyysin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutusta kuivajauheinhalaatiotuotteiden Fine Particle Dose (FPD) - eli hiukkaskokojakauma- ja Delivered Dose (DD) - eli annoskokoanalyysien tulostasoon. Inhalaatioanalytiikassa, etenkin FPD-analyyseissä, esiintyy suurehkoa vaihtelua FPD-analyysin tuloksessa inhalaattorin elinkaaren aikana. Analysoinnista aiheutuvaa vaihtelua on pyritty pienentämään muun muassa koneellistamalla analyysiä edeltävää inhalaattorin käsittelyä, jolloin tekijästä analyysiin aiheutuva vaihtelu pienenee.


Tutkimuksen aikana inhalaatiolaboratorion suhteellinen kosteus säädettiin 30 %RH:seen ja 60 %RH:seen. Näissä olosuhteissa suoritettiin FPD- ja DD-analyysit. Lisäksi FPD-analyyseille suoritettiin referenssianalyysit laboratorion tavanomaisessa suhteellisessa kosteudessa, joka on noin 40 %RH. Tutkimuksen ajan laboratorion lämpötila pidettiin normaalina huoneenlämpötilana, sallien sen vaihdella välillä 16–25 °C:ttä. Tutkimuksessa oli mukana neljä kehitysvaiheen valmistetta.

Opinnäytetyö tehtiin Orion Oyj:n tutkimus- ja tuotekehitysosastolla inhalaatioanalytiikka-ryhmässä. Orion on kehittänyt ja patentoinut oman Easyhaler<sup>®</sup>-inhalaattorin keuhkosairauksien hoitoon.

## KIRJALLINEN OSA

### 2 Inhalaatiolääkkeet

Inhalaatiolääkinnällä tarkoitetaan lääkkeen viemistä elimistöön keuhkojen kautta. Tällä hetkellä inhalaatiolääkintää käytetään lähinnä hengityselinsairauksien, kuten astman ja COPD:n hoitoon sekä anestesiassa. Keuhkojen suuren imeytymispinta-alan ja alveolien epiteelin hyvän läpäisevyyden vuoksi lääkkeiden annostelu inhalaation avulla systemisesti kiinnostaa tulevaisuudessa. Aikuisen ihmisen keuhkojen pinta-ala voikin olla jopa yli 100 m<sup>2</sup> (kuva 1). Kuvassa 1 on esitetty keuhkojen rakennetta ja toimintaa. Keuhkot jaetaan kahteen toiminnalliseen osaan: hengityskaasujen kuljetus ja vaihto. Hengityskaasut kulkeutuvat suun tai nenän kautta henkitorven, keuhkoputkien ja bronkiolien kautta keuhkorakkuloihin, joissa tapahtuu hengityskaasujen vaihto. Keuhkorakkuloita kohti kuljettaessa keuhkojen haarojen määrä kasvaa eksponentiaalisesti ja putkien halkaisija sekä pituus pienenevät. [Marvola ym. 2007; Smyth & Hickey 2011: 2–4.]



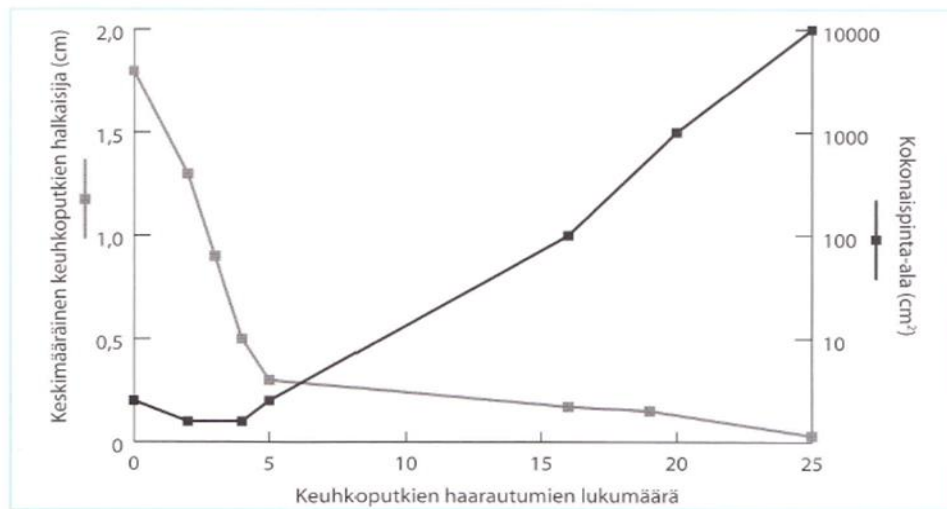
Toiminnallinen jako	Jako koon mukaan	Anatominen rakenne	Haaran numero	Haarojen määrä	Halkaisija, mm	Pituus, mm	Kokonaispoikkipinta-ala, cm <sup>2</sup>	
Hengityskaasujen kuljetus	Suuret ilmatiet	Henkitorvi	0	1	18,0	120	2,54	
		Pääkeuhkoputket	1	2	12,2	48	2,33	
		Lohkokeuhkoputket	2	4	8,3	19	2,13	
		Segmenttikeuhkoputket	3	8	5,6	7,6	2,00	
			4	16	4,5	12,7	2,48	
	Pienet ilmatiet	Subsegmenttikeuhkoputket		5	32	3,5	10,7	3,11
				6	64	2,8	9,0	3,94
		Terminaaliset keuhkoputket		7	128	2,3	7,6	5,31
				8	256	1,9	6,4	6,95
				9	512	1,5	5,4	9,53
				10	1 024	1,3	4,6	13,6
				11	2 048	1,1	3,9	19,1
				12	4 096	1,0	3,3	29,0
Hengityskaasujen vaihto	Keuhkorakkulat	Bronkiolit	13	8 192	0,8	2,7	43,2	
			14	16 384	0,7	2,3	70,4	
			15	32 768	0,65	2,0	112	
		Terminaaliset bronkiolit	16	65 536	0,60	1,65	185	
		Respiratoriset bronkiolit	17	131 907	0,55	1,41	300	
	18	262 144	0,50	1,17	534			
	19	524 288	0,47	0,99	944			
	20	1 048 576	0,45	0,83	1 600			
	21-23	≈15 000 000	0,40	0,60	≈140 m <sup>2</sup>			

Kuva 1. Keuhkojen rakenne ja toiminta [Karjalainen & Lehtimäki 2015].

Kuvassa 2 on esitetty graafisesti keuhkoputkien kokonaispinta-ala ja keskimääräinen halkaisija keuhkojen haarautumien lukumäärän suhteen. Keuhkoputkien haarautumien



lukumäärän kasvaessa keuhkojen kokonaispinta-ala kasvaa ja keskimääräinen halkaisija pienenee.

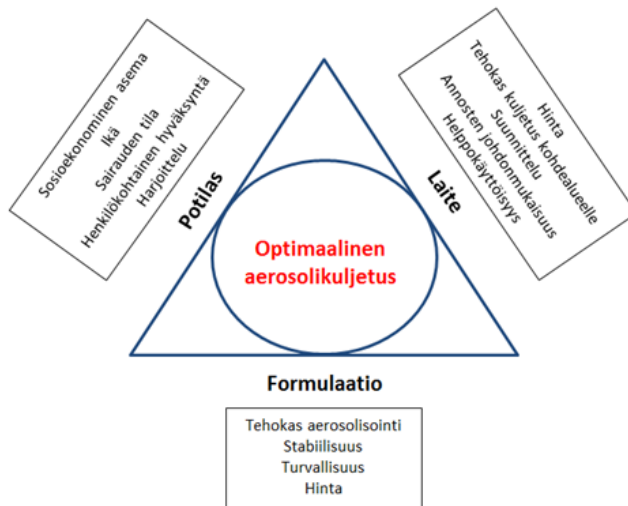


Kuva 2. Keuhkojen kokonaispinta-ala ja keuhkoputkien keskimääräinen halkaisija keuhkoputkien haarautumien lukumäärän suhteen [Marvola ym. 2007: 203].

Astman ja COPD:n hoidossa lääkkeaineet pääasiassa joko vaimentavat tulehdusreaktiota tai avaavat keuhkoputkien sileän lihaksen supistumista [Koulu ym. 2012: 513]. Inhalaatiolääkinnässä käytettävät lääke muodot ovat inhalaationesteet, inhalaatiosumutteet ja inhalaatiojauheet. Keuhkoihin kuljetettavat inhalaatiolääkkeet ovat kiinteitä lääkeainepartikkeleita tai lääkeainetta sisältäviä pisaroita. Inhalaatiolääkkeiden kuljetukseen keuhkoihin voidaan käyttää: nebulisaattoreita, mitta-annosinhalaattoreita (metered dose inhaler, MDI) ja kuivajauheinhalaattoreita (dry powder inhaler, DPI). [Koulu ym. 2012: 111; Marvola ym. 2007.] Tässä opinnäytetyössä tarkastellaan kuivajauheinhalaattoreita. DPI:n lääkejauheen inhaloinnissa voidaan erottaa kaksi eri vaihetta, lääkkeen aerosolisointuminen eli muuttuminen jauheesta aerosolimuootoon ja deponoituminen eli partikkeleiden jääminen keuhkoihin [Smyth & Hickey 2011]. Inhaloinnin ilmviralla tiedetään olevan vaikutusta lääkeaineen aerosolisointumiseen ja deagglomeroitumiseen eli API:n ja kantajan irtoamiseen toisistaan, mikä vaikuttaa lääkeaineen deponoitumiseen [Islam & Clearly 2012].

Tehokas DPI on monimuotoinen kokonaisuus, jossa yhdistyvät laitteen suunnittelu, lääkejauheen formulaatio ja potilas (kuva 3). Laitteen osalta huomioitavia tekijöitä ovat hinta, tehokas kuljetus kohdealueelle, muotoilu, yhtenäiset toimitettavat annokset sekä käytön helppous. Formulaation tulee olla tehokkaasti aerosolisoitava, stabiili, turvalli-

nen ja edullinen. Potilaan sosioekonominen asema, ikä, terveys ja opastus vaikuttavat siihen millaisen inhalaation potilas pystyy saamaan aikaan. Inhalaatiolääkkeen tehokkuuden määrittää lääkkeen deponoituminen keuhkoihin. Edellä mainittujen asioiden kokonaisuus vaikuttaa siihen, kuinka paljon ja mihin osiin keuhkoja lääkeainetta kulkeutuu. [Chougule ym. 2007; Ibrahim ym. 2015.]

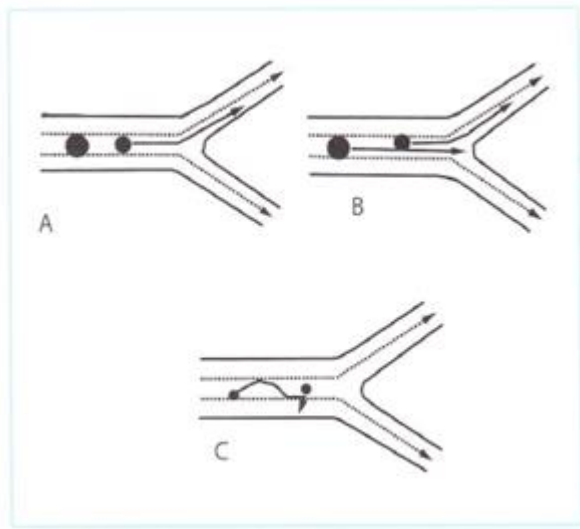


Kuva 3. Optimaaliseen inhalaatiolääkkeen kuljetukseen vaikuttavat tekijät [Ibrahim ym. 2015: 137].

Inhalaatiolääkinnän etuna on lääkeaineen kuljettaminen suoraan kohdealueelle eli keuhkoihin. Se mahdollistaa pienemmät lääkeannokset, mikä taas vähentää mahdollisia sivuvaikutuksia. Paikallisesti kohdennetulla lääkeaineen annostelulla pystytään myös välttämään lääkeaineen ensikierron metaboliaa, eli sen hajoamista maksan ja suolen entsyymien vaikutuksesta ennen kuin se siirtyy yleiseen verenkiertoon. Ensi-kierron metabolian seurauksena kudokseen pääsevän lääkeaineen pitoisuus vähenee. Tämän vuoksi suun kautta annettavat verenkierrosta keuhkokudokseen siirtyvät lääkeaineet ovat inhaloitavia lääkkeitä tehottomampia. Inhaloitavissa lääkkeissä noin 10–30 % lääkeaineesta päätyy keuhkoissa halutulle vaikutusalueelle. Loput lääkeaineesta jäävät inhalaatilaiteeseen, suuhun ja nieluun. [Ibrahim ym. 2015; Karner & Urbanetz 2011; Marvola ym. 2007; Koulu ym. 111–112.]

Inhaloidut lääkeainepartikkelit jakautuvat hengitysteihin kolmella eri päämekanismilla: impaktoitumalla, sedimentoitumalla ja diffuntoitumalla. Kuvassa 4 on esitetty nämä mekanismit. Tapa A kuvaa painovoimasta johtuvaa sedimentoitumista, tapa B partikkeleiden impaktoitumista suuresta nopeudesta aiheutuvan törmäyksen vaikutuksesta ja

tapa C Brownin liikkeen aiheuttamaa diffuusiota. [Marvola ym 2007; Smyth & Hickey 2011.]



Kuva 4. Inhaloitujen lääkeainepartikkelien jakautumismekansimit hengitysteissä. A = sedimentoituminen, B = impaktoituminen, C = diffuntoituminen, Brownin liike. [Marvola ym. 2007: 206.]

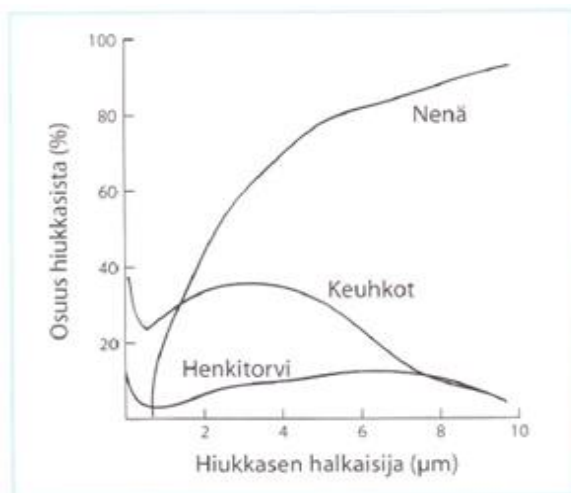
Lääkeainepartikkeleiden jakautumismekanismeista impaktoituminen on vallitseva yli  $2\ \mu\text{m}$  kokoisille partikkeleille, koska ne eivät pysty seuraamaan sisäänhengitettyä ilmapirtta, vaan törmäävät limakalvoille jo ylimmissä ilmasteissä, suussa ja nielussa sekä keuhkoputkien haaraumakohdissa inertiansa eli massan hitauden mukaisesti. Keuhkojen alaosissa ja alveoleissa noin  $0,5\text{--}2\ \mu\text{m}$  partikkelit jakautuvat limakalvoille pääsääntöisesti sedimentoitumalla. Alle  $0,5\ \mu\text{m}$  partikkelit diffuntoituvat Brownin liikkeeseen perustuen alveolien limakalvoille. Tämä jakautumismekanismi ei ole kovin vallitseva, koska inhalaatiojauheissa partikkelikoko on usein suurempi. Uloshengitystä pidättämällä inhaloinnin jälkeen voidaan kuitenkin lisätä lääkeaineen diffuusiota, mikäli partikkelit ovat riittävän pieniä. [Marvola ym 2007; Smyth & Hickey 2011.]

## 2.1 Lääkeformulaatio

Lääkeainehiukkasten kulkeutumiseen hengitysteissä vaikuttavat partikkelien hiukkaskoko ja -muoto, hygroskooppisuus sekä elektrostaattiset vuorovaikutukset. Tehokkaan lääkkeen deponoitumisen kannalta partikkeleiden tulee olla kooltaan  $0,5\text{--}5\ \mu\text{m}$ . Pitkänomainen (torpedomainen) hiukkasmuoto seuraa sisäänhengitysilmaa pyöreää muotoa paremmin ja näin ollen hiukkaset pääsevät kulkeutumaan keuhkojen alimpiin osiin.

Partikkelit eivät saa myöskään olla liian hygroskooppisia, koska vesihakuiset hiukkaset voivat kosteuden vaikutuksesta turvota ja kertyä keuhkojen ylemmille tasoille, kun taas hydrofobiset turpoamattomat hiukkaset pääsevät kulkeutumaan keuhkojen alempiin osiin. Samoin sähköisesti varautuneet partikkelit pyrkivät tarttumaan joko annostelulaitteeseen tai hengitysteiden ylempiin osiin eivätkä näin ollen pääse lääkkeen vaikutusalueelle. [Marvola ym. 2007.]

Kuvassa 5 näkyy, kuinka inhaloidut partikkelit jakaantuvat hengitysteissä hiukkaskoon mukaisesti. Alle  $0,5 \mu\text{m}$ :n kokoiset hiukkaset kulkeutuvat uloshengityksen mukana suoraan pois keuhkoista ja yli  $5 \mu\text{m}$ :n kokoiset partikkelit jäävät suuhun ja nieluun niiden inertian mukaisesti [Karner & Urbanetz 2011; Marvola ym. 2007]. Lääkeainepartikkelit halutaan pääasiallisesti kuljettaa keuhkojen alimpiin osiin, alveoleihin, koska siellä on suurin pinta-ala ja ohuin limakalvo diffuusion [Smyth & Hickey 2011].



Kuva 5. Inhaloitujen partikkelien jakautuminen hengitysteihin hiukkaskoon funktiona [Marvola ym. 2007: 206].

Jauheinhalaattoreissakin API:n hiukkaskoko on alle  $5 \mu\text{m}$ . Koska mikronoidut lääkkeet ovat kohesiivisiä ja niiden valumisominaisuudet ovat huonot, sidotaan API suurempaan kantaja-ainepartikkeliin. Tämä inaktiivinen apuaine on usein laktoosi. Kantaja-ainepartikkelin tarkoituksena on varmistaa lääkejauheen valuvuus, vähentää agglomeraatiota sekä mahdollistaa vaivaton käsittely ja tasainen annostelu. Kantaja-aineen ja API:n välisen adheesion tulee olla riittävän suuri, jotta lääkejauhe on stabiili, mutta kuitenkin niin heikko, että API pystyy irrottautumaan kantaja-aineesta potilaan inhaloinnin aikana. DPI:n lääkeformulaatiot ovat kemialliselta stabiilisuudeltaan parempia kuin nestemäiset lääkeformulaatiot, mutta niiden karakterisointi helppoon ventilointiin ja tehok-

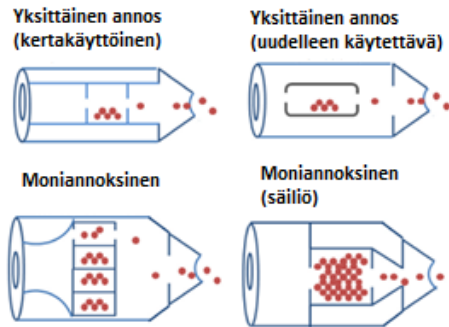
kaaseen kuljetukseen on monimutkaista ja vaatii paljon työtä. [Guchardi ym. 2007; Ibrahim ym. 2015.]

## 2.2 Inhalaatiolaite

Aerosolilääkeaineiden kuljetukseen keuhkoihin voidaan käyttää kolmeen eri pääryhmään kuuluvia laitteita: nebulisaattoreita, p-MDI-inhalaattoreita (pressurized metered-dose inhaler) ja DPI-inhalaattoreita (dry powder inhalers). Nebulisaattoreilla on pisin historia lääkaineiden kuljetuksessa, mutta nykyisin niitä käytetään lähinnä sairaaloissa ja lasten lääkinnässä. [Smyth & Hickey 2011; Ibrahim ym. 2015.] Tässä opinnäytetyössä tutkitaan DPI-inhalaattoreita ja näin ollen kirjallisuuskatsauksessakin keskitytään niihin mainiten vain muut inhalaatiolääkitsemiseen olemassa olevat mahdollisuudet.

DPI-laitteen etuihin kuuluvat sen kompakti koko, hyvä mukana kuljetettavuus, hengityksellä käynnistettävä inhalointi sekä se, ettei sen käyttöön tarvita annoksen vapauttamisen ja sisäänhengityksen välistä koordinaatiota kuten MDI-laitteessa, jossa annos vapautetaan ponneaineeseen suspentoituneena ja yhtäaikainen annoksen vapauttaminen sekä sisäänhengityksen aloitus on tärkeää [Koulu ym. 2012: 112]. DPI-laitteen heikkouksia ovat hengitettävän lääkeannoksen suuruuden riippuminen sisäänhengityksen voimakkuudesta, kosteuden aiheuttama mahdollinen jauheen paakkuuntuminen tai kapselien pehmentyminen, lääkeannoksen menettäminen, mikäli potilas tahattomasti hengittää laitteen sisälle sekä lääkeformulaation sisältämä laktoosi [Labiris & Dolovich 2003].

DPI:t voidaan luokitella laitteen sisältämien lääkeannosten perusteella yksiannoksisiin laitteisiin, jotka ovat joko kertakäyttöisiä tai uudelleen käytettäviä ja moniannoksisiin laitteisiin, joissa lääkeannokset ovat laitteen sisällä joko yksittäispakattuina tai koko lääkejauhe on säiliössä laitteen sisällä (kuva 6). Moniannoksisisissa säiliöllisissä DPI:eissa, on laitteesta riippuva sisäänrakennettu annostelija, joka kontrolloi laitteesta kerralla vapautuvaa lääkeannosta. Tällaisissa säiliöllisissä inhalaattoreissa annoksen vapautuminen virtauksesta riippuen ja kosteuden muutokset mahdollisesta potilaan laitteeseen hengityksestä tai ympäristön kosteudesta johtuen on tutkittava. [Ibrahim ym. 2015.]



Kuva 6. DPI:en luokittelu laitteen annosten mukaan [Ibrahim ym. 2015: 136].

DPI:eita on olemassa sekä passiivisesti että aktiivisesti inhaloitavia. Perinteisessä passiivisessa DPI:ssa jauhe liikkuu potilaan sisäänhengityksen mukana keuhkoihin. Aktiivisissa DPI:eissa inhalaattori on varustettu sisäisellä energianlähteellä, joka aktivoituu jo hyvin alhaisessa sisäänhengityksessä eikä lääkejauheen inhalointi ole enää riippuvainen potilaan inhaloinnista. Sisäänrakennettu energianlähde voi olla esimerkiksi paristo, kompressoitu kaasu tai vieteri-mekanismi. Aktiiviset DPI:t vaikuttavat olevan passiivisia helpompia käyttää, mutta niitä ei ole vielä markkinoilla. [Ibrahim ym. 2015.]

Inhalaattorin suunnittelulla ja rakenteella on huomattava merkitys lääkeaineen kulkeutumisessa keuhkoihin. Hyvän inhalaattorin tulisi kuljettaa tarkkoja ja toistuvia lääkeannoksia halutulle kohdealueelle keuhkoihin sekä ylläpitää stabiilisuutta. Lisäksi inhalaattorin tulisi olla riittävän pieni ja yksinkertainen, jotta sen käyttö on potilaalle helppoa. DPI:t ovatkin kasvattaneet suosiotaan helppokäyttöisyytensä ja säilyvyytensä vuoksi. [Ibrahim ym. 2015.]

### 2.3 Potilas

Potilaan inhaloinnin voimakkuudella, hengitysteiden anatomialla, keuhkojen kunnolla ja inhointitekniikalla on merkittävä rooli tehokkaan inhalaation aikaansaamiseksi [Marvola ym. 2007]. Potilaan aikaansaaman sisäänhengityksen ilmavirta on kriittinen lääkkeen tehokkaalle aerosolisoitumiselle ja depositiolle. Nopea ilmavirtaus lisää partikkelien deagglomeroitumista ja saa samalla aikaan tiheän ja vahvemman impaktoinnin, mikä taas nostaa lääkeaineen fine particle fraction (FPF) -arvoa, joka kuvaa FPD:n suhdetta annostelulaitteesta vapautuvaan kokonaisannokseen. [Smyth & Hickey: 2011.] Mikäli ilmavirta on liian heikko, API ei irtoa kantaja-aineesta, eivätkä lääkeainepartikkelit pää-

se kulkeutumaan vaikutusalueelleen keuhkojen alempiin osiin. Toisaalta liian nopea ilmavirtaus aiheuttaa lääkeaineiden jäämisen nielun epiteeleihin. Lääkeaineen jääminen nieluun ja ylempiin ilmateihin onkin inhalaatiolaitteiden suurin ongelma. Riittävän suuren virtauksen aikaansaaminen voi olla haastavaa etenkin vaikeaa astmaa sairastavilla henkilöillä, joilla ilmatiet ovat jo valmiiksi heikommassa kunnossa. Myös lapsilla ja iäkkäillä henkilöillä tämä saattaa aiheuttaa ongelmia. [Ibrahim ym. 2015; Koulu ym. 2012: 111.]

Koska inhalointitekniikalla on selkeä merkitys lääkkeen tehokkuuteen, on sekä hoitohenkilökunnalla että apteekeilla tärkeä rooli opastaa lääkkeen oikeanlainen käyttö. Usein tehottomaan DPI-lääkintään löytyy syy inhalaattorin käytön opastuksen puutteesta. Inhalaatio lääke-laite-yhdistelmiä on olemassa useampia, joten lääkäreiden olisi syytä tutkia tarkasti asiakkaan tarpeet ja vaatimukset ja etsiä niihin sopivin vaihtoehto, koska jokaisessa lääke-laite-yhdistelmässä on omat etunsa ja haittansa. [Chougule ym. 2007; Ibrahim ym. 2015.]

### 3 Kosteus

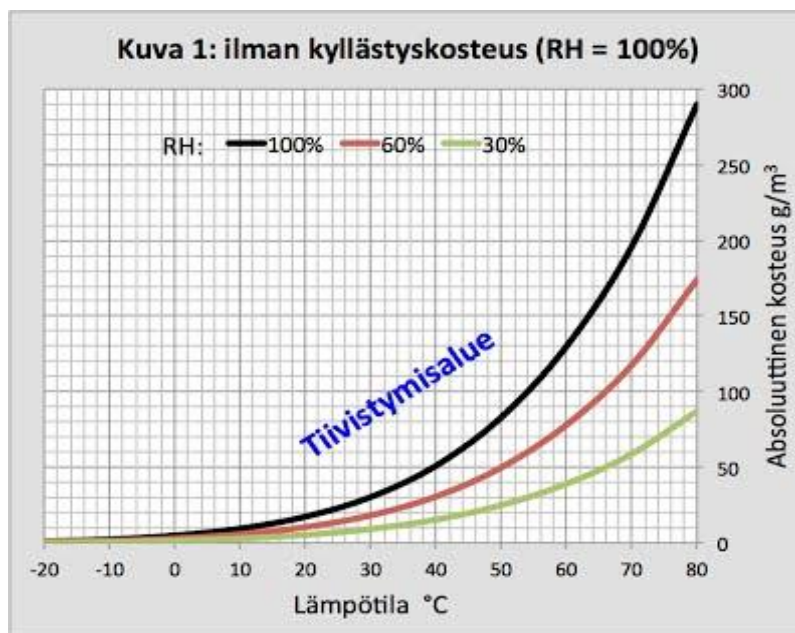
Kosteuden mittaaminen ja seuraaminen ovat lääketeollisuudessa osa arkipäiväistä työskentelyä, koska kosteus vaikuttaa tuotteiden laatuun ja säilymiseen [Hautala & Peltonen 2011]. Myös Orionilla ilmankosteutta sekä lämpötilaa mitataan ja kontrolloidaan DPI:iden valmistuksen, varastoinnin sekä analysoinnin aikana.

#### 3.1 Kosteuden teoriaa

Ilman kosteudella tarkoitetaan ilmassa olevan vesihöyryn määrää. Ilmankosteus voidaan ilmoittaa joko absoluuttisena tai suhteellisena kosteutena. Ilman absoluuttinen kosteus kuvaa ilmassa olevan vesihöyryn määrää tilavuusyksikköä kohden, yksikkönä käytetään  $\text{g/m}^3$  (grammaa vettä kuutiometrissä ilmaa). Maksimikosteudella ( $\rho_{\text{kyl}}$ ) tarkoitetaan kylläisen höyryn osatiheyttä tietyssä lämpötilassa eli kuinka paljon vesihöyryä ilmaan voi sitoutua kyseisessä lämpötilassa. Maksimikosteus ilmoitetaan vesihöyryn massana tilavuusyksikköä kohden. Ilman suhteellinen kosteus RH (relative humidity) ilmaisee kuinka paljon ilman absoluuttinen kosteus on tästä maksimikosteudesta. Suhteellinen kosteus ilmoitetaan yleensä prosentteina. Käytännössä tämä siis tarkoittaa

ilman absoluuttisen kosteuden suhdetta kylläisen höyryn osapaineeseen kyseisellä hetkellä vallitsevassa lämpötilassa. Sekä absoluuttista että suhteellista kosteutta käytetään ilmoittamaan ilmassa olevan vesihöyryn määrä. Kastepisteeksi kutsutaan tilaa, jossa ilma tulee kylläiseksi vesihöyrystä eli saavuttaa maksimikosteutensa ja vesihöyry alkaa kondensoitua. Oleskelutilojen ihanteellinen suhteellinen kosteus on 30–60 %. [Hautala & Peltonen 2011; Nikulainen.]

Kuvassa 7 on esitetty ilman sisältämän vesihöyryn määrä lämpötilan funktiona eri ilman kosteuksissa. RH = 100 % kuvaaja esittää ilmaan sitoutumaan kykenevän vesihöyryn määrää eri lämpötiloissa eli maksimikosteutta. Lisäksi kuvassa on havainnollistettu omilla kuvaajillaan suhteellisissa kosteuksissa RH = 30 % ja RH = 60 % ilman sisältämän vesihöyryn määrää eri lämpötiloissa. Jos ilmaa jäähdytetään tai lämmitetään suljetussa tilassa, ilman absoluuttinen kosteus ei muutu, mutta suhteellinen kosteus lisääntyy jäädyttäessä ja pienenee lämmittäessä. Tämä johtuu siitä, että lämmin ilma pystyy sitomaan itseensä enemmän vesihöyryä. Jos ilmaa jäähdytetään riittävästi, saavutetaan kastepiste, RH = 100 %. [Hautala & Peltonen 2011; Nikulainen.]



Kuva 7. Ilman sisältämän vesihöyryn määrä lämpötilan funktiona [Nikulainen].

Talvella ulkoilman absoluuttinen kosteus on pieni, mutta suhteellinen kosteus ulkona on kuitenkin suurempi kuin kesällä, koska pakkasella kylläisen vesihöyryn osapaine on paljon pienempi kuin kesällä. Vaikka ulkoilman suhteellinen kosteus onkin talvisin suuri, huoneilman kuivuus on ongelma. Ulkoa sisälle, selkeästi lämpimämpään, tullessaan



ilman suhteellinen kosteus laskee radikaalisti, koska huoneenlämpötilassa kylläisen höyryn osapaine on selvästi korkeampi kuin pakkasessa. [Hautala & Peltonen 2011.]

### 3.2 Kosteuden vaikutus kuivajauheinhalaattoreihin

Farmaseuttiset jauheet, kuten jauheinhalaattoreissa käytettävät jauheet, koostuvat pääosin sähköä eristävistä pienhiukkasista, jotka ovat vuorovaikutuksessa sekä toistensa että jauhetta ympäröivien laitteen pintojen kanssa. DPI:n valmistuksen ja analysoinnin yhteydessä eri prosesseissa syntyvien vuorovaikutusten aikana elektroneja sekä luovutetaan että vastaanotetaan näillä rajapinnoilla. Vuorovaikutukset jaetaan kolmeen luokkaan: johdin-johdin, johdin-eriste ja eriste-eriste vuorovaikutuksiin. Koska inhalaatiojauhe on eriste, tulee DPI:ssa kysymykseen johdin-eriste ja eriste-eriste luokkien vuorovaikutukset. Sähköstaattisten vuorovaikutusten avulla voidaan vaikuttaa jauheen ominaisuuksiin ja saada aikaan parempi keuhkodepositio. Riittävän tiedon puuttuessa nämä vuorovaikutukset aiheuttavat ongelmia, minkä vuoksi niiden ymmärtäminen on tärkeää. Jauhe voi varautua sekoituksen, täytön, kuljetuksen ja annoksen vapauttamisen yhteydessä ollessaan kosketuksissa eri materiaalien kanssa. [Karner & Urbanetz 2011.]

Hengitettävien partikkeleiden sekoittumis-, deagglomeroitumis- ja dispersio-ominaisuuksien tasa-laatusuutta inhaloinnin aikana ohjailevat kohesiiviset ja adhesiiviset voimat lääkeformulaation välillä. Koheesivoimat ovat saman aineen sisäiset voimat, jotka pitävät aineen koossa eli toimivat kiinnevoimina. Inhalaatiojauheissa nämä tarkoittavat lääke-lääke-vuorovaikutuksia. Adheesivoimat vaikuttavat kahden eri molekyylin rajapinnassa tartuntavoimina. Nämä tarkoittavat lääke-apuaine-vuorovaikutuksia. [Suvanto 2010; Begat ym. 2004, Frijlink & Boer 2004.] Näistä voimista merkittävimpinä voidaan DPI:ssa havaita van der Waalsin voimat, sähköstaattiset voimat sekä kapillaarivoimat. Van der Waalsin voimat ovat herkkiä sekä partikkelin muodolle että sen pinnan karheudelle. Sähköstaattiset voimat esiintyvät kosketusvarautumisena, Coulombin voimana ja sähköstaattisena induktiona. Kapillaarivoimat puolestaan esiintyvät partikkeleiden välillä korkeissa suhteellisissa kosteuksissa, jolloin vesihöyry tiivistyy. [Smyth & Hickey 2011, kpl 4.3.1.]

Inhalaattorin säilytysajalla ja -olosuhteilla uskotaan olevan vaikutusta massan valmistuksen aikana syntyneisiin sähkövarauksiin ja tätä kautta adheesio- ja koheesivoimiin

valmisteessa. Tämän vuoksi valmistetut inhalaattorit folioidaan pakkauksen yhteydessä, jotta mahdolliset, esimerkiksi RH:n aiheuttamat, muutokset sähkövarauksissa voitaisiin estää. [Telko 2009.]

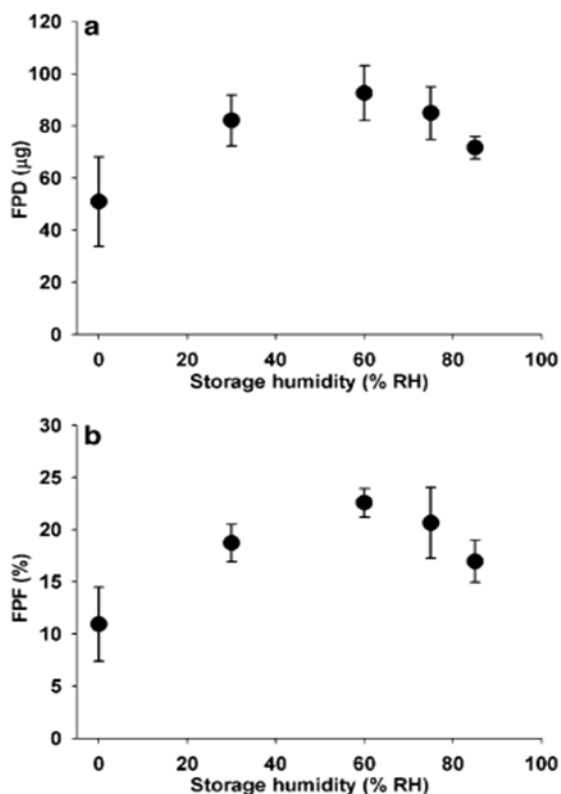
Kosteuden vaikutuksesta partikkelien adheesioon ja sitä kautta API:n ja kantaja-aineen dispersioon on melko vähän tutkimuksia. Kosteuden ja partikkelien välisten vuorovaikutusten yhteys toisiinsa on huomattu ja sen on raportoitu olevan lääkespesifistä. Lääkekantaja-aine adheesiossa kilpailevien van der Waalsin voimien, sähköstaattiset voimien ja kapillaarivoimien aiheuttama yhteisvaikutus adheesiossa riippuu vierekkäisten pintojen eli partikkeleiden fysikokemiallisista ominaisuuksista. Jauheen pintaan imeytyneellä vedellä on selkeä vaikutus esiintyviin kapillaarivoimiin, sähkönjohtavuuteen sekä joskus myös pinnan kemiaan. Suhteellisella kosteudella onkin näin merkitystä DPI:n suorituskykyyn. Myös lämpötilan on raportoitu vaikuttavan adheesiovoimiin. [Young ym. 2007; Zhu ym. 2008.] Adheesiovoima API:n ja kantaja-aineen välille syntyy tuotantoprosessista ja komponenteista sekä lääkkeen ja kantaja-aineen perus-fysikaalisista ja -kemiallisista ominaisuuksista [Price ym. 2002].

Varastoinnin ja aerosoloinnin aikaista suhteellisen kosteuden vaikutusta DPI:hin on selvitetty tutkimuksissa mittaamalla DPI:stä vapautuvan lääkejauheen varauksia sekä suorittamalla FPD-analyysijä. Varastoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutuksista DPI:n varauksissa ovat raportoineet muun muassa Begat ym. [2004], Bérard ym. [2002] ja Young ym. [2007]. Kwok & Chan [2008] raportoivat, että DPI:n lääkejauheen kuljetuksen suorituskyky on riippuvainen varastoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden lisäksi myös aerosoloinnin aikaisesta suhteellisesta kosteudesta. [Zhu ym. 2008.] Analysoinnin aikaisen ilmankosteuden vaikutusta tutkittaessa inhalaattorit eivät ole yhtä kauan altistuneita kuivalle tai kostealle ilmalle kuin tuotannon tai varastoinnin aikana, joten kosteuden vaikutukset DPI:eihin näissä tilanteissa ovat myös jonkin verran eroavaisia. Varastoinnin aikaista kosteuden vaikutusta tutkivista artikkeleista voidaan kuitenkin saada tietoa kosteuden mahdollisista vaikutuksista DPI:eihin, vaikkeivat ne täysin yhteneviä analysoinnin aikaisten vaikutusten kanssa olisikaan. Tässä tutkimuksessa inhalaattorit poistettiin foliopusseista analysointipäivän aamuna, jolloin kaikki inhalaattorit analysoitiin kahdeksan tunnin kuluessa pakkauksesta poistamisesta.

Varastoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella on tutkimuksissa havaittu olevan selkeä merkitys lääkeformulaation aerosolisoiutumistehokkuuteen ja sitä kautta keuhkodepositioon, jota pyritään määrittämään FPD-analyysin avulla. Ympäröivän ilman suhteel-

linen kosteus vaikuttaa FPD-tulokseen muokkaamalla DPI:n adheesio- ja koheesiovoimia. Kosteuden vaikutus tulokseen ja muutoksen suuruuden on havaittu olevan riippuvainen jauheen API:sta. Näin ollen eri lääkevalmisteille vaikutukset ovat eroavia. Tehokkuus riippuu API:n fysikaalisista ja kemiallisista ominaisuuksista. Esimerkiksi, jos lääkeformulaation API on hygroskooppinen, kuten dinatriumkromoglikaatti (DSCG), aerosolisoitumistehokkuus laskee selkeimmin korkeissa kosteuksissa kun taas hydrofobisella API:lla, kuten triamsinoloniasetonidi, on näkyvissä pieni, mutta selkeä tehokkuuden kasvu, joka liitetään sillä alhaisemmissa suhteellisissa kosteuksissa esiintyviin elektrostaattisiin varauksiin. [Young ym. 2007.]

Kosteuden ja aerosolisoitumistehokkuuden yhteys saattaa johtua kosteussorptiosta eli veden imeytymisestä lääkejauheeseen. Esimerkiksi on raportoitu, että DPI:lla, jossa API:na oli salbutamol ja kantaja-aineena laktoosi, kosteuden nousu aiheutti salbutamolin ja laktoosin välisen tiivistymisen ja sitä kautta kapillaarivoimien kohoamisen. Tämä vähensi lääkeaineen vapautumista inhaloinnin aikana. Varastoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutuksesta salbutamolin FPD- ja FPF-tuloksiin on saatu aiemmissakin tutkimuksissa samankaltaisia tuloksia ja vuonna 2007 julkaistussa artikkelissa Young ym. raportoivat molempien arvojen kasvavan välillä 0–60 %RH ja tämän jälkeen laskevan yli 60 %RH kosteuksissa (kuva 8). [Young ym. 2007.]



Kuva 8. Salbutamolien FPD- ja FPF-tulokset varastoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden funktiona [Young ym. 2007: 967].

Korkeissa kosteuksissa, yli 60 %RH, aerosolisoitumista dominoivat ilmeisesti kapillaarivoimat. Alemmissa kosteuksissa, 0–60 %RH välillä, aerosolisoitumistehokkuuden kasvu on liitetty triboelektriseen ilmiöön. Triboelektrisessä ilmiössä syntyy staattinen sähkövaraus, kun kaksi toisissaan kiinni olevaa materiaalia erotetaan. Kahden varauksettoman kappaleen ollessa toisiinsa kosketuksissa toinen luovuttaa toiseen materiaaliin elektroneja. Kun kappaleet erotetaan äkillisesti, ei varauksien tasapaino ehdi palautua vaan kappaleisiin jää sähkövaraukset. Syntyvän varauksen suuruuteen vaikuttavat muun muassa hankaaminen, lämmittäminen, erotusnopeus, ilman kosteus ja pintojen ominaisuudet. Ilman kosteuden ollessa suuri varauksien synty on heikompaa. Alhaisissa kosteuksissa, joissa varausten siirtoa tapahtuu helpommin, aerosolisoinnin aikana API:n ja kantaja-aineen erottamiseen tarvittavan voiman määrä on suurempi kuin korkeammassa kosteuksissa, joissa varausten siirtoa ei yhtä helposti tapahdu. [Kwok & Chan 2007; Young ym. 2007.]

NGI-laitteistolla tehdyissä tutkimuksissa on havaittu, ettei esimerkiksi varastoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella vaikuttaisi olevan merkitystä NGI:n totaaliannokseen eikä emittoituneeseen annokseen. Tämä johtunee siitä, että inhalaatiojauheissa käyte-

tyt API:t ja kantaja-aineet ovat harvoin hygroskooppisia, jolloin niiden massa ei koe suuria muutoksia, vaikka kosteus ympärillä lisääntyisi. [Marvola ym. 2007; Young ym. 2007; Zhu ym. 2008a; Zhu ym. 2008]. Näin ollen analysoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella ei pitäisi olla merkittävää vaikutusta DD-tulokseenkaan, jolla analysoidaan inhalaattorista poistuvan yhden annoksen lääkemäärä.

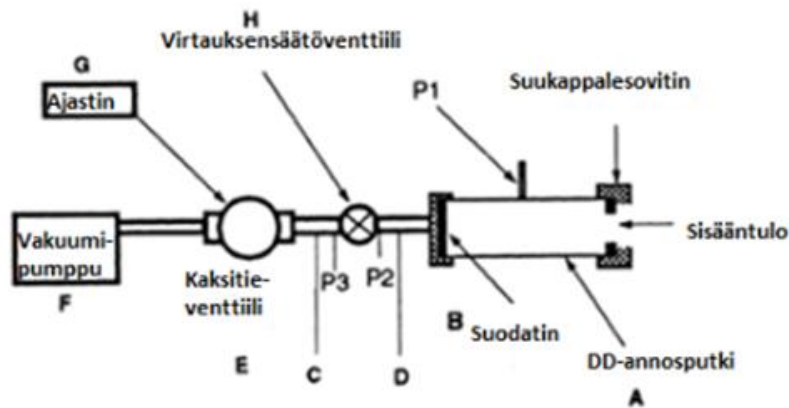
## 4 Inhalaatiolääkkeiden analytiikka

Inhalaatiolääkkeiden ominaisuuksia ja laatua voidaan tutkia useilla erilaisilla analyyseillä. Tässä työssä kehitysvaiheen inhalaatiovalmisteille suoritettiin annoskoko (delivered dose, DD) - ja hiukkaskokojakauma (fine particle dose, FPD) -analyyseja eri analysointiosuhteissa.

### 4.1 Delivered Dose –analytiikka

Delivered dose -analyysissä määritetään kuivajauheinhalaattorista, paljonko lääkejauhetta vapautuu yhdessä annoksessa. Tulos on keskiarvo usean inhalaattorin eri annoksista. Säiliöinhalaattoreissa analysoidaan kvantitatiivisesti 3 ensimmäistä annosta, sen jälkeen poistetaan annoksia kunnes jäljellä on  $n/2 + 1$  toimitettavaa annosta (n on inhalaattorin etiketissä ilmoitettujen annosten lukumäärä) ja analysoidaan seuraavat 4 annosta. Tämän jälkeen annoksia poistetaan kunnes jäljellä on kolme viimeistä annosta ja analysoidaan ne. Väliannosten poistojen jälkeen inhalaattoria voidaan tarvittaessa seisottaa sähköstaattisten varausten poistamiseksi. Analyysin hyväksymiskriteereinä ovat, että yhdeksän kymmenestä annoksesta on  $\pm 25\%$ :n sisällä keskiarvotuloksesta ja kaikki annokset täyttävät  $\pm 35\%$ :n rajat. [Ph. Eur. Preparation for Inhalation.]

Delivered Dose –analyysissä käytetään laitteistoa, joka koostuu näytteenkeräysputkesta, DD-keräysputki (A), inhalaattorin suokappalesovitteesta, suodattimesta (B), ilmavirtauskensäätö- (H) ja kaksitieventtiilistä (E), johon on liitetty ajastin (G), vakuumininjasta (C ja D) ja –pumpusta (F) (kuva 9). Sovite varmistaa ilmatiiviin liitoksen inhalaattorin ja DD-putken välille analyysiä tehtäessä. [Ph. Eur. Preparation for inhalation.]



Kuva 9. DD-analyysilaitteisto [Ph. Eur. Preparation for inhalation: 804].

Inhalaattorista imetään annokset 4 kPa paineenalennemaa vastaavalla virtausnopeudella. Annoksen ottoon käytettävä aika määritetään sekunteina niin, että laitteen läpi ehtii kulkea 4,0 l ilmaa. Näin ollen 240 jaetaan annoksen ottoon käytettävällä virtausnopeudella. Virtaukselle 48 l/min imuaika on esimerkiksi 5,0 s. DD-putken pohjalla on suodatin, johon suurin osa näytteestä kerääntyy ja annoksen ottamisen jälkeen putkeen lisätään liuotin, johon lääkeaine liukenee. Liuotuksen jälkeen DD-putkesta otetaan näyte ja se analysoidaan HPLC-laitteistolla. Analysoinnin aikana kaksitieventtiilistä tarkistetaan kriittinen virtaus eli kirjataan ylös P2- ja P3-arvot ja tarkistetaan, että kriteeri  $P3/P2 \leq 0,5$  täyttyy. Tällöin voidaan varmistua venttiilin toimivuudesta ja riittävästä kapasiteetista. [Ph. Eur. Preparation for inhalation.]

#### 4.2 Fine Particle Dose –analytiikka

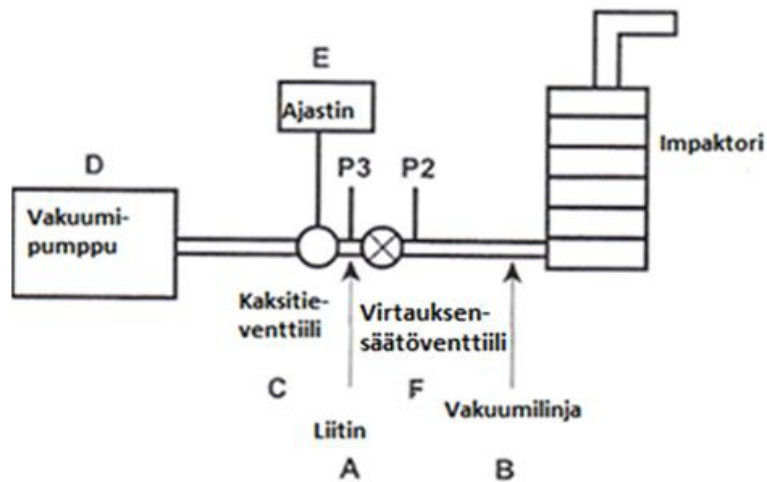
Fine Particle Dose –analytiikka suoritetaan Euroopan Farmakopean mukaisilla hiukkaskokomäärityksillä. Hiukkaskokomäärityksiä pidetään yhtenä tärkeimmistä inhalaatio tuotteen karakterisointitavoista. Sitä pidetään myös laajasti inhalaatiolääkkeen kulkeutumistehokkuutta keuhkoihin kuvaavana indikaattorina *in vitro* ja näin ollen yhtenä tärkeimmistä inhalaatiolääkkeen laatua määrittävistä tekijöistä. [Lewis & Copley 2011.] Hiukkaskokoanalyysillä määritetään DPI:stä laitteesta poistuneen jauhepilven hiukkaskokojakauma. DPI:eiden FPD-analytiikkaan voidaan käyttää useampaa erilaista impaktoria. Tässä työssä käytettiin MSLI- ja NGI-impaktoreita ja niiden toimintaan perehdytään tarkemmin. Impaktorin tarkoituksena on simuloida ihmiskeuhkoja, mutta FPD-tulos ei kuitenkaan tarkoita samaa kuin lääkkeen depositio. [Ph Eur. Preparation for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]

Kaskadierotuksella mitataan partikkelien aerodynaamista kokoa. Aerodynaaminen koko kuvaa tarkastelussa olevan hiukkasen kanssa samanlaisen asettumisnopeuden omaavan pyöreän hiukkasen halkaisijaa [Telko 2009: 19]. Monitasoiset kaskadi-impaktorit, joita sekä MSLI että NGI ovat, erottelevat impaktoriin tulevan näytteen partikkelien inertian mukaisesti. Hiukkasen inertia tarkoittaa sen liikkeen reagointia ilmavirtaan. Mitä suurempi massa partikkelilla on sitä vähemmän ilmavirta vaikuttaa sen liikkeeseen. Tämän vuoksi pienet partikkelit kulkeutuvat ilmavirran mukana syvemmälle keuhkoihin. Impaktorit koostuvat suokappaleesta ja eri määrästä tasoja. Inhalaattori ja impaktori liitetään toisiinsa kurkkuosalla. Se rajoittaa impaktoriin pääsevän jauheen massaa ja näin ollen se on syytä pitää mahdollisimman vakiona eri impaktorienkin välillä. Jokaisella tasolla partikkelit, joilla on sopiva inertia irrottautuvat ilmavirrasta ja impaktoituvat tason keräilyalustalle. Tasoille on määritetty eri virtauksilla oma cut-off-arvonsa, joka kertoo minkä suuruiset partikkelit kerääntyvät millekin tasolle. [Lewis & Copley 2011.]

FPD-analysissä selvitetään API-partikkeleiden määrä kullakin impaktorin tasolla. Varsinainen FPD-tulos lasketaan Euroopan Farmakopean mukaisilla laskukaavoilla tasoilta. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: Aerodynamic assessment of fine particles] Tulos kertoo lääkejauheessa aerodynaamiselta halkaisijaltaan alle 5 µm:ä olevien API-partikkelien määrän. Tämä siis kertoo suoraan, kuinka paljon lääkejauhetta *in vitro* kulkeutuu keuhkojen alempiin osiin ja alveoleihin. Tuloksen perusteella voidaan ennustaa API:n kulkeutumista *in vivo*. Impaktori on usein yhdistelmä impaktorin suunnittelua ja ilmavirtausta, joka kulkee sen läpi. Näin ollen eri impaktoreiden välillä täytyy olla määriteltynä systeemin soveltuvuudet, jos käytetään eri laitteita. Jokaiselle lääkeformulaatiolle ja inhalaatiolaitteelle, jota testataan FPD-analytiikalla, täytyy valita erikseen käytettävä kaskadi-impaktointi-systeemi ja -tekniikka. Käytetyimmät impaktoryypit ovat monitasoinen liuosimpaktori (MSLI, Multi Stage Liquid Impinger), Andersenin kaskadi-impaktori (ACI, Andersen Cascade Impactor) ja uuden sukupolven impaktori (NGI, Next Generation Impactor). Tässä työssä käytettiin FPD:n määrittelyyn MSLI- ja NGI-laitteita ja niiden toiminta esitellään tarkemmin. [D. Lewis & M. Copley 2011; Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]

Kuvassa 10 näkyy FPD-analysilaitteistoon kuuluvat osat. Impaktorin lisäksi siihen kuuluvat vakuumininja (B) ja -pumppu (D), ilmavirtauksen säätöventtiili (F) ja kaksitieventtiili (C), joiden välissä on liitin (A). Venttiili on varustettu ajastimella (E) ja sillä sääde-

tään annoksenoton aikainen ilman virtausnopeus ja imuaika. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]



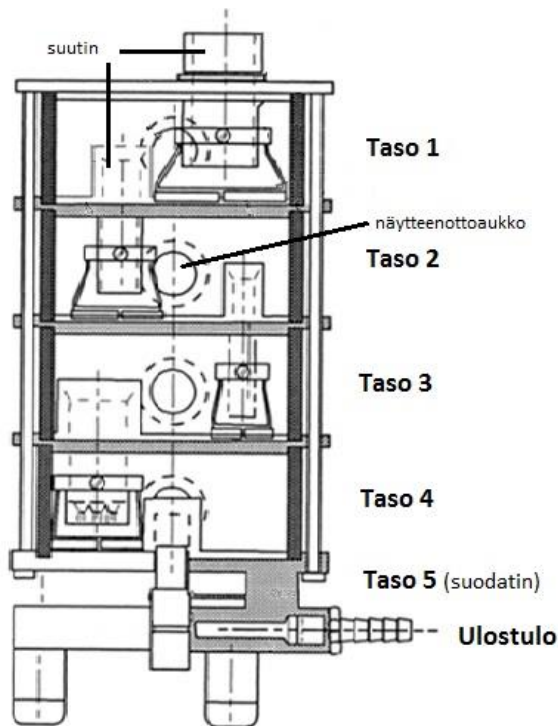
Kuva 10. FPD-analyysilaitteisto Euroopan farmakopean mukaisesti [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles: 314].

Analyysin virtausnopeus ja imuaika määritetään kuten DD-analytiikassakin vastaamaan 4 kPa:n paineenalennemaa ja 4,0 l:n imutilavuutta. Impaktoriin keräytyneen lääkemassan tulee olla  $\pm 25\%$ :a DD keskiarvotuloksesta. Tämän avulla voidaan varmistua, että tulokset ovat valideja. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]

#### 4.2.1 MSLI, Multi Stage Liquid Impinger (Monitasoinen liuos impaktori)

MSLI on esitettyinä kuvassa 11. Impaktori koostuu suu- ja nieluosasta eli suukappale-sovitteesta ja kurkkuosasta, joiden avulla inhalaattori liitetään impaktoriin tiiviisti. Lisäksi impaktorissa on neljä impaktiotasoa ja niiden alapuolella kiinteä suodatintaso, jossa on myös ilmavirran ulostulo, johon liitetään vakuumpumppu. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]





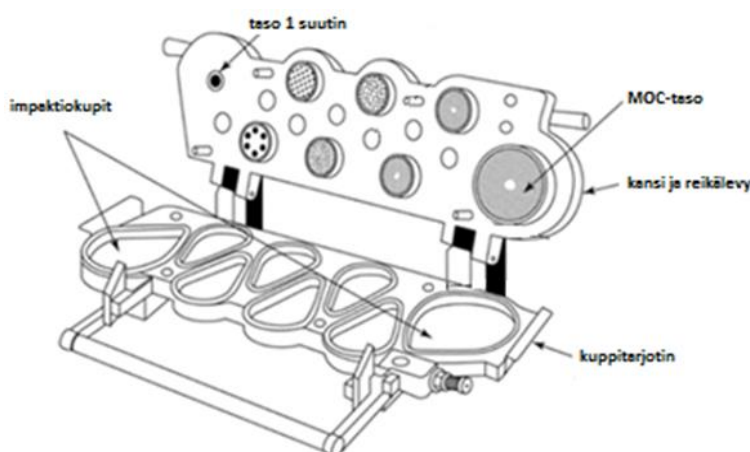
Kuva 11. MSLI-laitteisto [Ph. Eur. Preparations for for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles: 311].

MSLI:n tasot liittyvät toisiinsa erikokoisilla suuttimilla (kuva 11) ja tasojen reunat muodostuvat lasisylintereistä ja muuten laite on usein valmistettu ruostumattomasta teräksestä, titaanista tai alumiinista. Jokaisella tasolla on näytteenottoaukko, jonka saa tulpattua silikonisella tulpalla analysoinnin ajaksi. Näytteenottoaukon kautta tasoille pipetoidaan liuokset ja otetaan analysoinnin jälkeen näytteet. Horisontaaliset keräysalustat ovat kohtisuoria läpivientisuuttimien kanssa ja linjattu keskelle. Suuttimien alapuolella on tasoilla lasiset sintterit, jotka estävät liuoksen ilmavirtauksesta muuten aiheutuvat tasojen muutokset. Analysoinnin aikana tasot pidetään kosteina, niille ennen analysointia pipetoidulla liuottimella. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles; Minerva 2015.]

#### 4.2.2 NGI, Next Generation Impactor (Uuden sukupolven impaktori)

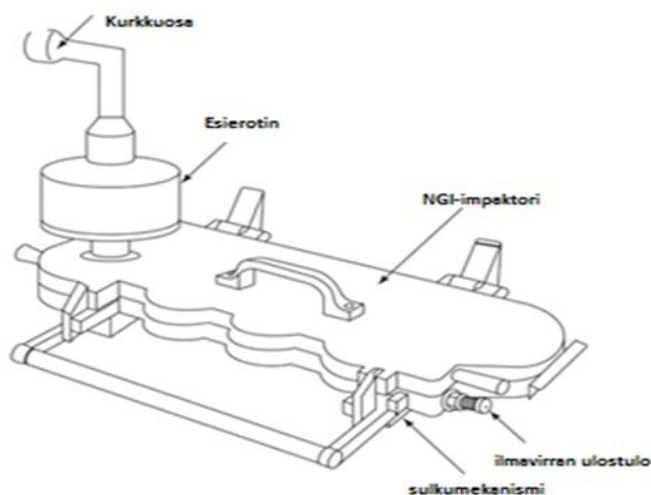
NGI-laitteisto koostuu suu- ja nieluosasta (suukappale-sovite ja kurkku), joiden avulla inhalaattori kiinnitetään laitteistoon tiiviisti. Lisäksi laitteistoon kuuluvat esierotin, impaktori ja keräyskupit. Impaktorissa on kolme pääosaa: pohjakehikko, jonka päälle keräyskupit asetetaan, reikälevy ja kansiosa. Reikälevyissä on seitsemän kappaletta tasoja ja kahdeksas taso on MOC-keräystaso. NGI:n materiaali on alumiini, ruostumaton teräs

tai muu sopiva materiaali. Keräyskupit ovat irrallisia, jotka laitetaan kaikki yhdelle tarjottimelle, minkä avulla ne pystytään siirtämään NGI:hin ja pois kaikki yhtäaikaaisesti. Reikälevy ja kansiosa liitetään ruuvein toisiinsa. Tämän jälkeen pohjakehikon päälle asetetaan keräilykupit tarjottimellaan ja laite suljetaan, jolloin siitä tulee tiivis impaktori. Impaktorin sisääntuloaukkoon yhdistetään kuivajauheinhalaattoreiden kanssa esierotin sekä nielu- ja suuosat. NGI on esitetty kuvassa 12 avattuna, jolloin eri tasojen suuttimet ja pohjatasolle asetetut keräyskupit näkyvät. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]



Kuva 12. NGI-laitteisto avattuna [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles: 318].

Kuvassa 13 NGI on esitetty suljettuna, jolloin suljetun impaktorin päälle on asetettu esierotin ja kurkkusovite paikallensa. Ilma kulkee impaktorin sisällä sahalaitaista kuviota ja partikkelit erottuvat tasolle inertiansa mukaisesti. Keräyskupit rasvataan glyserolilla, silikoniöljyllä tai muulla vastaavalla aineella, jotta varmistetaan tehokas partikkelien kiinnittyminen alustoille. Esierottimeen lisätään liuotinta, jotta siihen jäävät partikkelit kerääntyvät pieneen esierottimen sisällä olevaan kuppiin. Inhalaattori tulee kiinnittää ilmatiiviisti nieluosaan sopivalla sovitteella, joka toimii suuosana. Inhalaattori tulee myös asettaa suosa sovitteeseen samanlaiseen orientaatioon, kun se tulee olemaan lääkettä käytettäessä. [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]



Kuva 13. NGI-laitteisto koottuna [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles: 317].

NGI-analyysissä inhalaattorista kerätään haluttu määrä annoksia impaktoriin ja sen jälkeen suu- ja nieluosa sekä esierotin siirretään pois NGI:n päältä. Sekä suu- ja nieluosaan että esierottimeen kertynyt jauhe liuotetaan haluttuun määrään liuotinta. Impaktori avataan ja keräilykupit nostetaan tarjottimella pois impaktorista. Niille pipetoidaan haluttu määrä liuotinta ja annetaan jauheen liueta siihen. Tämän jälkeen kaikista liuoksista otetaan näytteet ja ne analysoidaan esimerkiksi HPLC-laitteella [Ph. Eur. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles.]

## KOKEELLINEN OSA

### 5 Materiaalit ja menetelmät

Tutkimuksessa oli mukana neljä kehitysvaiheen inhalaatiovalmistetta, jotka on koodattu opinnäytetyöhön nimillä valmiste A, valmiste B, valmiste C ja valmiste D. Tutkimus suoritettiin asettamalla laboratorion suhteellinen kosteus ensin 30 %RH:een ja sen jälkeen 60 %RH:een. Näissä olosuhteissa suoritettiin kullekin valmisteelle suunnitellut DD- ja FPD-analyysit. Laboratorion kosteutta ja lämpötilaa seurattiin kirjaamalla ne ylös kerran tunnissa. Lämpötila haluttiin pitää tutkimuksen ajan tasaisena huoneenlämpötilana, 20–25 °C:tta. Suhteellinen kosteus sai vaihdella  $\pm 5$  %:a tavoitearvostaan. Lisäksi analysoitiin referenssit FPD:n osalta laboratorion normaalissa suhteellisessa kosteudessa, joka on noin 40 %RH.

Analysointiolosuhteessa 30 %RH laboratorion olosuhteet pysyivät kaikkien analyysien aikana hyvin asetetuissa rajoissa (25–35 %RH). Kosteamman olosuhteen, 60 %RH, säädössä oli hieman haasteita. Aluksi laboratorion kosteutta ei saatu nousemaan kuin noin 50 %RH:seen. Lopulta se saatiin kuitenkin nousemaan tavoiteltuun 60 %RH:seen. Analyysien aikana kosteus laski muutaman kerran alle 55 %:in, mutta nousi pian takaisin asetettuihin rajoihin. Muuten kosteus vaihteli 55–62 %:in välillä. Referenssianalyysien aikana kosteus vaihteli välillä 32–45 %RH. Normaalisti laboratorion kosteus pysyy melko tasaisena analyysien aikana, vaihtelua voi olla muutaman prosenttiyksikön verran, mutta ei aivan näin paljon kuin tämän tutkimuksen aikana. Luultavasti olosuhteiden muuntelun jälkeen normaaliin tilaan tasoittuminen vei hieman normaalia enemmän aikaa. Vaikka vaihtelua oli tavanomaista enemmän, kosteus kuitenkin pysyi tavanomaisissa rajoissa.

### 5.1 DD- ja FPD-analyysit

Tutkimuksessa mukana olleille tuotteille suoritettiin taulukon 1 mukaiset analyysit. Valmisteele A ja valmisteele B suoritettiin sekä DD- että FPD-analyysit. Valmisteele C ja valmisteele D suoritettiin vain FPD-analyysit. Kaikista neljästä valmisteesta analysoitiin FPD myös referenssikosteudessa, 40 %RH.

Taulukko 1. Tuotteille suoritettut analyysit tutkimuksessa

Analysointiolosuhde	Valmiste A	Valmiste B	Valmiste C	Valmiste D
30 %RH	FPD, DD	FPD, DD	FPD	FPD
60 %RH	FPD, DD	FPD, DD	FPD	FPD
40 %RH	FPD	FPD	FPD	FPD

FPD- ja DD-analyysit suoritettiin voimassa olevien Euroopan farmakopean (Ph. Eur.) ohjeiden mukaisesti. Valmisteiden A ja B FPD-analyysit suoritettiin NGI-laitteistolla ja valmisteiden C ja D FPD:t analysoitiin MSLI-laitteistolla. DD:ssä analysoitiin annokset läpi laitteen eli kolme annosta alusta, neljä annosta keskeltä ja kolme annosta lopusta.

Taulukossa 2 on esitetty eri tuotteista analysoitujen erien ja rinnakkaisten inhalaattoreiden määrät. Valmisteesta A tutkimuksessa oli mukana kolme erää, valmisteista B ja C mukana oli kaksi erää ja valmisteesta D yksi erä. DD-analyyseissä analysoitiin kolme

rinnakkista inhalaattoria per erä ja FPD-analyseissä viisi rinnakkaista inhalaattoria per erä.

Taulukko 2. Analysoitujen erien ja rinnakkaisten inhalaattoreiden lukumäärät

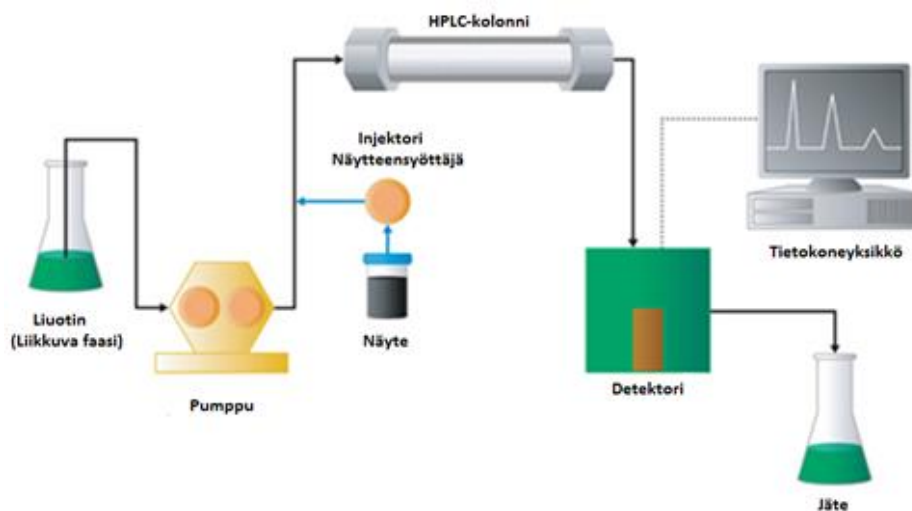
Analyysi	Valmiste A		Valmiste B		Valmiste C	Valmiste D
	DD	FPD	DD	FPD	FPD	FPD
Analysoitujen erien lkm	3	3	2	2	2	1
Rinnakkaisten inhalaattoreiden lkm/erä	3	5	3	5	5 *)	5 *)

\*) FPD-referenssianalyseissä analysoitiin vain 1 rinnakkainen inhalaattori per erä

Tässä tutkimuksessa haluttiin yhdenmukaistaa inhalaattorien analysointia edeltävää käsittelyä ja näin ollen kaikki mukana olleet kehitysvaiheen valmisteet ravisteltiin mekaanisesti. Lisäksi DD-analyseissä analysoimatta jäävät väliannokset poistettiin mekaanisesti käyttäen siihen suunniteltua laitteistoa.

## 5.2 HPLC

Tutkimuksessa DD- ja FPD-analyseistä saadut näytteet analysoitiin HPLC:llä. HPLC:n toiminta on esitetty kuvassa 14. HPLC:ssä korkeapainepumppu pumppaa liikkuvana faasina toimivaa liuotinta tasaisella nopeudella läpi laitteen. Liikkuvana faasina toimii usein orgaanisen liuottimen ja puskurin seos. Injektori injektoidaan halutun määrän ja se kulkeutuu liikkuvan faasin mukana kolonnille. Kolonnissa tapahtuu komponenttien erotus. Erotus perustuu komponentin taipumukseen pidäytyä stationäärifaasissa eli kiinteässä faasissa. Kolonnista komponentit kulkeutuvat detektorille, joka havainnoi saapuvat komponentit ja lähettää sitä vastaavan sähköisen signaalin tietokoneyksikölle. Retentioajaksi kutsutaan aikaa, joka komponentilla kestää kulkeutuessaan injektioinnin jälkeen detektorille. Kun saatua signaalia verrataan retentioaikaan, saadaan näytteen kromatogrammi. Vertaamalla signaalin suuruutta saman komponentin tietyn pitoisuuden standardin signaaliin voidaan määrittää kvantitatiivisesti näytteen komponenttien pitoisuudet. [Snyder ym. 2010; How Does High Performance Liquid Chromatography Work?.]



Kuva 14. HPLC-laitteiston toiminta [How Does High Performance Liquid Chromatography Work?].

Sekä FPD- että DD-analyseissä näytteet liuotetaan kullekin tuotteelle sopivaan liuottimeen. Tämän jälkeen näytteet ajetaan HPLC:llä käyttäen kullekin tuotteelle kehitettyä omaa HPLC-menetelmäänsä. Oma analysointiohjelma määrittää näytteistä ja standardeista saatujen kromatogrammien perusteella FPD-analyysissä API:n pitoisuudet jokaisella tasolla ja näistä pitoisuuksista lasketaan Ph. Eur.:in mukaisilla kaavoilla näytteen FPD-tulos  $\mu\text{g}$ :na. DD-analyysissä näytteen kromatogrammien avulla lasketaan annoksen pitoisuus ja ilmoitetaan yksiköllä  $\mu\text{g}/\text{annos}$ .

## 6 Tulokset

Valmisteiden A, B, C ja D DD- ja FPD-analyysien tulokset eri analysointiolosuhteissa ovat esitettynä seuraavissa kappaleissa valmiste- ja analyysikohtaisesti.

### 6.1 Valmiste A

Valmisteen A DD- ja FPD-analyysien tulokset on esitetty seuraavissa kappaleissa analyysikohtaisesti.

## 6.1.1 Delivered Dose -tulokset

Tutkimuksessa analysoitiin valmisteesta A kolme erää, joista kustakin suoritettiin kolme rinnakkaista DD-analyysiä. Erien 1–3 DD-analyysien tulokset on esitetty taulukoissa 3–5. Taulukoissa on jokaisessa olosuhteessa analysoitujen kolmen rinnakkaisen inhalaattorin DD-keskiarvotulos sekä komponentille 1 että komponentille 2. Lisäksi on taulukoi-  
tu analyysien RSD:t ja prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden välillä.

Taulukko 3. Valmisteen A erän 1 DD-analyysin tulokset

Analysointi- olosuhde	Erä 1			
	Komponentti 1 (µg/ann)	RSD (%)	Komponentti 2 (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	<b>45</b>	3,9	<b>461</b>	4,7
<b>60 %RH</b>	<b>44</b>	2,8	<b>449</b>	3,6
<b>prosentuaalinen muutos</b>	-2 %		-3 %	

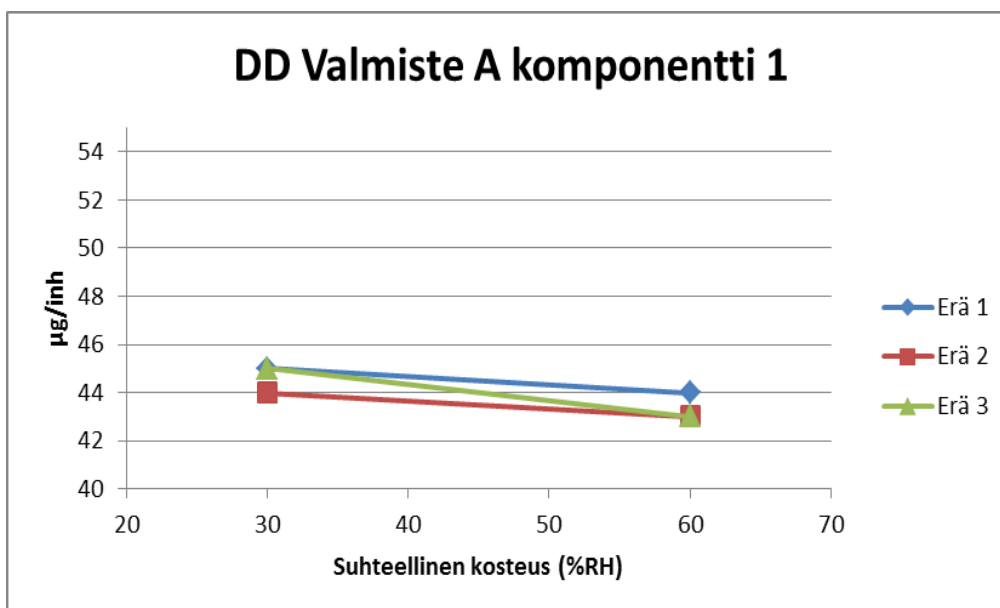
Taulukko 4. Valmisteen A erän 2 DD-analyysin tulokset

Analysointi- olosuhde	Erä 2			
	Komponentti 1 (µg/ann)	RSD (%)	Komponentti 2 (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	<b>44</b>	2,8	<b>456</b>	3,2
<b>60 %RH</b>	<b>43</b>	2,9	<b>456</b>	2,7
<b>prosentuaalinen muutos</b>	-2 %		0 %	

Taulukko 5. Valmisteen A erän 3 DD-analyysin tulokset

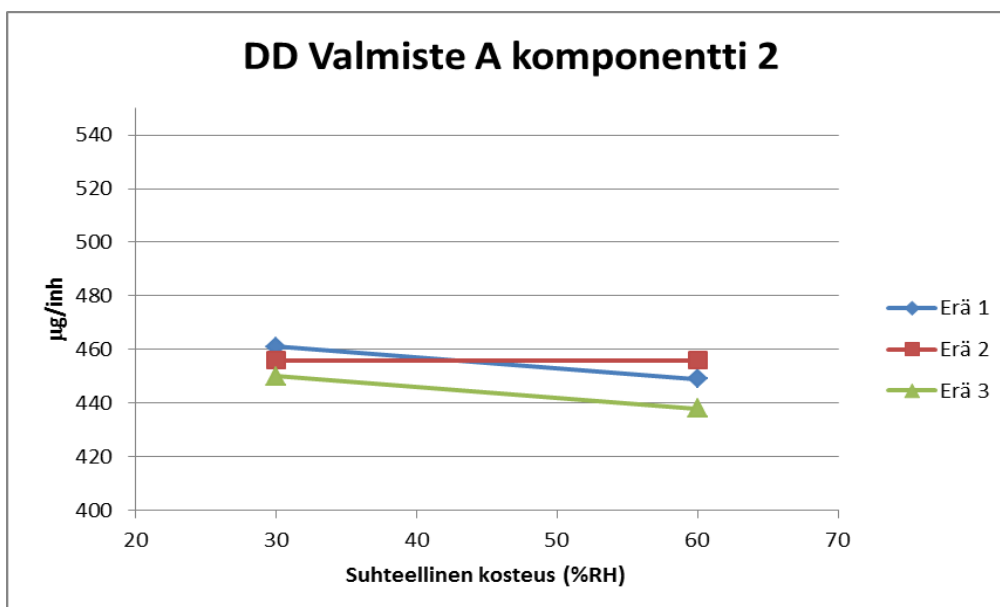
Analysointi- olosuhde	Erä 3			
	Komponentti 1 (µg/ann)	RSD (%)	Komponentti 2 (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	<b>45</b>	5,1	<b>450</b>	4,2
<b>60 %RH</b>	<b>43</b>	6,4	<b>438</b>	4,8
<b>prosentuaalinen muutos</b>	-4 %		-3 %	

Valmisteen A komponentin 1 pitoisuus laski hieman kaikilla tutkituilla erillä analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa DD-analyysissä (kuva 15). Pitoisuuden lasku oli kuitenkin hyvin vähäistä.



Kuva 15. Valmisteen A komponentin 1 DD-tulokset analysointiolosuhteissa 30 ja 60 %RH

Valmisteen A komponentin 2 DD-analyysin tulokset on esitetty kuvassa 16. Komponentin 2 pitoisuudet laskivat hieman komponentin 1 tavoin erillä 1 ja 3. Erän 2 komponentin 2 pitoisuus pysyi muuttumattomana analysoinnin aikaisesta suhteellisesta kosteudesta huolimatta.



Kuva 16. Valmisteen A komponentin 2 DD-tulokset analysointiolosuhteissa 30 ja 60 %RH

Valmisteen A molemmissa komponenteissa havaittiin lievä laskeva trendi analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa 30 %RH:sta 60 %RH:seen. Prosentuaali-



nen muutos näiden olosuhteiden DD-tulosten välillä oli kuitenkin hyvin vähäinen, alle 5 %, kaikilla tutkituilla erillä. Rinnakkaisten inhalaattorien RSD eri analysointiolosuhteissa oli korkeimmillaan 6 %:in luokkaa.

### 6.1.2 Fine Particle Dose -tulokset

Valmisteen A erien 1-3 FPD-analyysien tulokset on esitetty taulukoissa 6–8. Taulukossa näkyy analysoitujen annoksien paino, NGI-analyysin totaalitulos sekä FPD-tulos kaikissa analysointiolosuhteissa. Tulokset ovat keskiarvoja viidestä rinnakkaisesta analysoidusta inhalaattorista. Lisäksi on taulukoitu rinnakkaisten inhalaattorien RSD:t jokaisessa analyysissä sekä FPD-tuloksen prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH välillä.

Taulukko 6. Valmisteen A erän 1 FPD-analyysin tulokset

Analysointi-olosuhde	Erä 1						
	Paino (mg)	Komponentti 1			Komponentti 2		
		NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)	NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	169	45,9	<b>5,5</b>	7,5	468	<b>61</b>	6,9
<b>40 %RH</b>	171	46,5	<b>5,8</b>	5,6	465	<b>64</b>	5,0
<b>60 %RH</b>	174	45,8	<b>5,5</b>	5,7	464	<b>61</b>	5,5
<b>prosentuaalinen muutos</b>			0 %			0 %	

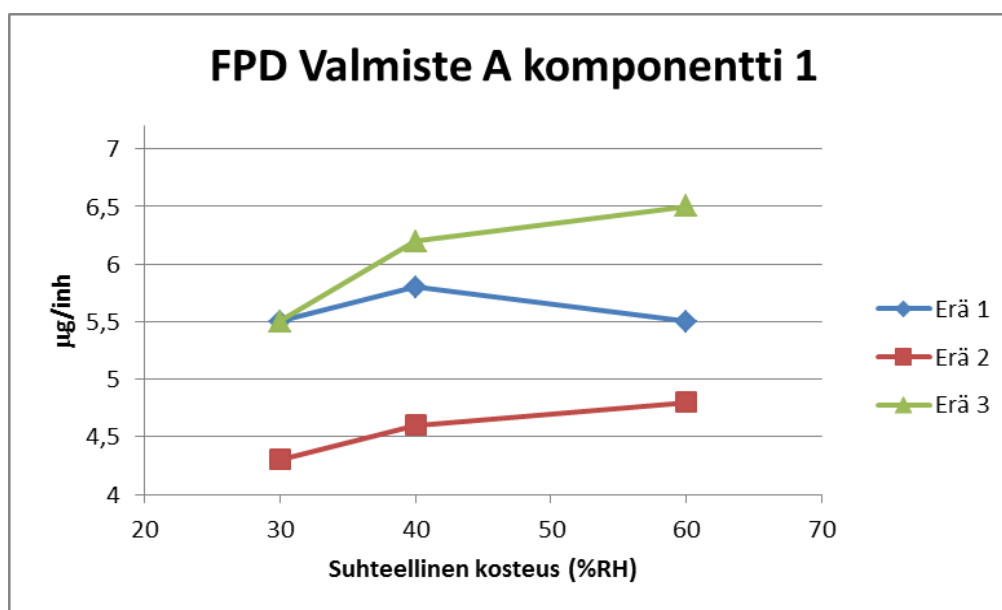
Taulukko 7. Valmisteen A erän 2 FPD-analyysin tulokset

Analysointi-olosuhde	Erä 2						
	Paino (mg)	Komponentti 1			Komponentti 2		
		NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)	NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	171	46,1	<b>4,3</b>	8,6	462	<b>50</b>	7,2
<b>40 %RH</b>	171	47,5	<b>4,6</b>	5,6	474	<b>54</b>	5,8
<b>60 %RH</b>	174	46,0	<b>4,8</b>	9,5	461	<b>56</b>	9,2
<b>prosentuaalinen muutos</b>			12 %			12 %	

Taulukko 8. Valmisteen A erän 3 FPD-analyysin tulokset

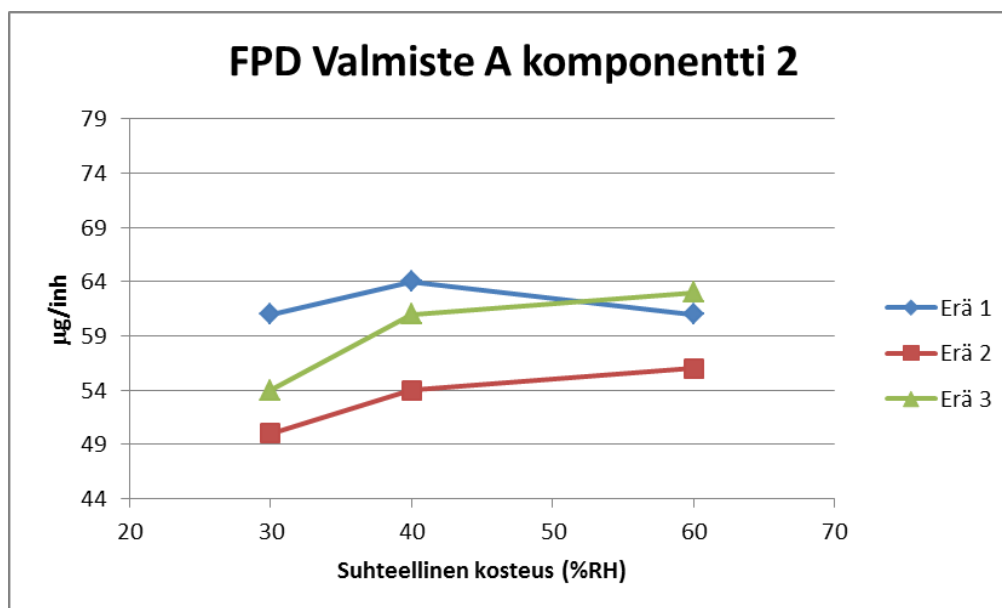
Analysointi- olosuhde	Erä 3						
	Paino (mg)	Komponentti 1			Komponentti 2		
		NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)	NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	169	48,3	<b>5,5</b>	5,0	475	<b>54</b>	4,3
<b>40 %RH</b>	171	46,4	<b>6,2</b>	8,2	462	<b>61</b>	7,9
<b>60 %RH</b>	173	46,7	<b>6,5</b>	4,9	464	<b>63</b>	3,3
<b>prosentuaalinen muutos</b>			18 %			17 %	

Komponentin 1 FPD-tuloksen havaittiin kasvavan suhteellisen kosteuden kasvaessa. Prosentuaalisen muutoksen suuruus oli eräkohtainen. Erän 1 komponentin 1 FPD-tulos pysyi analysointiolosuhteissa 30 %RH ja 60 %RH muuttumattomana, mutta oli hieman suurempi referenssianalysissä. Erän 2 komponentin 1 FPD-tulos kasvoi 12 % ja erän 3 FPD-tulos kasvoi 18 %. Valmisteen A komponentin 1 tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 17.



Kuva 17. Valmisteen A komponentin 1 FPD-tulokset analysointiolosuhteissa 30, 40 ja 60 %RH

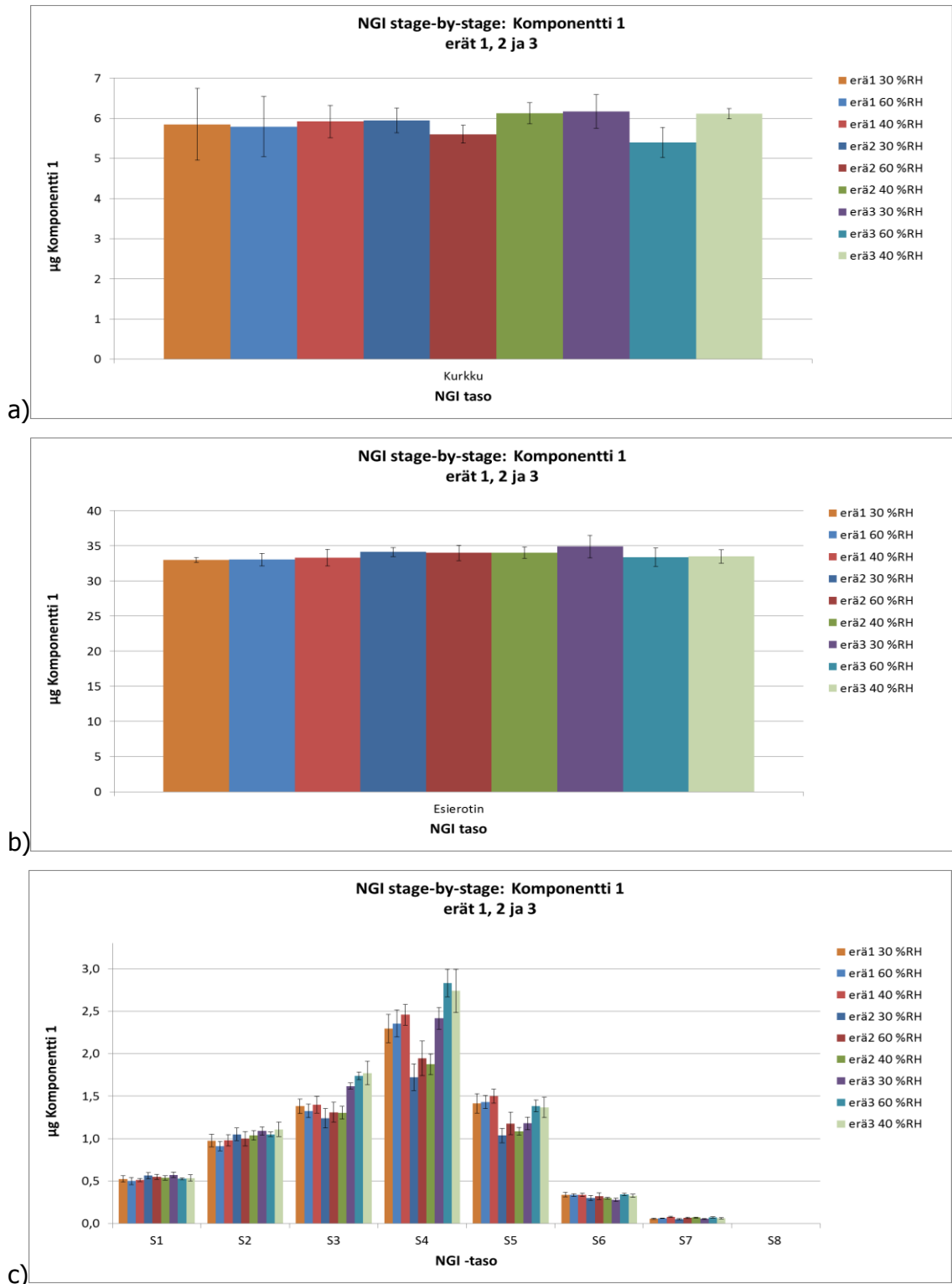
Komponentin 2 FPD-tulokset olivat hyvin samankaltaiset komponentin 1 FPD-tulosten kanssa. Erän 1 komponentin 2 tulos pysyi muuttumattomana analysointiolosuhteissa 30 %RH ja 60 %RH, mutta oli referenssianalysissä hieman korkeampi. Erän 2 komponentin 2 FPD-tulos kasvoi 12 % ja erän 3 FPD-tulos kasvoi 17 %. Komponentin 2 FPD-tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 18.



Kuva 18. Valmisteen A komponentin 2 FPD-tulokset analysointiolosuhteissa 30, 40 ja 60 %RH

Analysoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella oli yhteneväiset vaikutukset sekä komponentin 1 että komponentin 2 FPD-tuloksiin kaikilla kolmella tutkitulla erällä. Kolmesta tutkitusta erästä kahdella havaittiin FPD-tason nousu suhteellisen kosteuden kasvaessa. Analyysien RSD:t vaihtelivat 4–10 %:n välillä. Tällaista vaihtelua voidaan pitää FPD-analyysille normaalina. Totaali NGI-tuloksessa ei havaittu suuria muutoksia eri analysointiolosuhteiden välillä, vaikka FPD-tuloksissa muutoksia tapahtuikin.

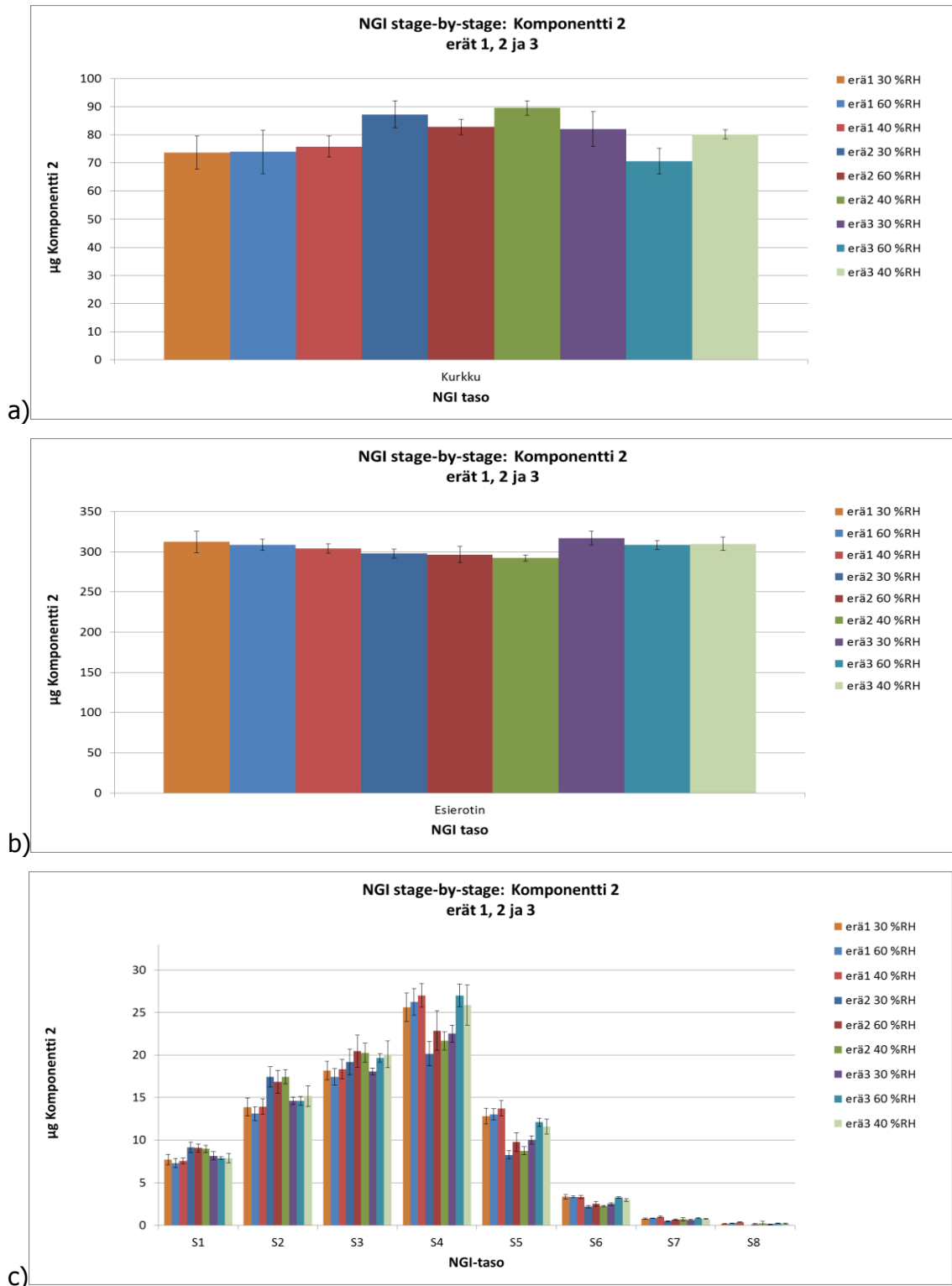
Tasoittaisissa (stage by stage) NGI-tuloksissa havaittiin komponentin 1 pitoisuudessa tapahtuvan selkeimpiä muutoksia kurkussa ja tasolla 4 erillä 2 ja 3. Kurkussa API:n pitoisuus laski ja tasolla 4 se kasvoi analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa. Vähäisempiä muutoksia oli nähtävissä myös tasoilla 3 ja 5, joilla API:n pitoisuus hieman kasvoi ja tasolla 2, jossa API:n pitoisuus vastakohtaisesti hieman väheni kosteuden kasvaessa. Muut tasoittaiset tulokset pysyivät lähes stabiileina. Erän 1 tasoittaisista NGI-tuloksista havaittiin, että analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH tulokset olivat melko stabiileja tasoilla 3–5 verrattuna kahteen muuhun tutkittuun erään. Referenssianalysissä etenkin tasolla 4 havaittiin komponentin 1 määrässä selkeä kasvu verrattuna analysointiolosuhteiden 30 ja 60 %RH tuloksiin. Valmisteen A komponentin 1 tasoittaiset NGI-tulokset on esitetty kuvassa 19.



Kuva 19. Valmisteen A komponentin 1 tasoittaiset tulokset, a) kurkku, b) esierotin, c) tasot 1–8

Komponentin 2 tasoittaiset NGI-tulokset olivat yhtenevät komponentin 1 tasoittaisten tulosten kanssa. Erillä 2 ja 3 API:n määrä siis kasvoi tasolla 4 ja laski kurkussa suhteellisen kosteuden kasvaessa. Lisäksi vähäistä API:n määrän kasvua oli havaittavissa

tasoilla 3 ja 5 sekä pientä laskua tasolla 2. Erän 1 tasoittaiset tulokset olivat analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH välillä lähes stabiilit, etenkin tasoilla 3–5 verrattuna kahden muun analysoidun erän tuloksiin. Referenssianalyysin tasoittaisissa tuloksissa sen sijaan huomattiin etenkin tasoilla 4 ja 5 kasvua API:n määrässä. Valmisteen A komponentin 2 tasoittaiset NGI-tulokset on esitetty kuvassa 20.



Kuva 20. Valmisteen A komponentin 2 tasoittaiset tulokset, a) kurkku, b) esierotin, c) tasot 1–8

Analysoinnin aikainen suhteellinen kosteus vaikutti valmisteen A erissä 2 ja 3 molemmissa komponenteissa yhteneväisesti kaikilla tasoilla, joissa muutoksia API:en määrissä oli havaittavissa. Erän 1 tasoittaisessa tulosten tarkastelussa ei havaittu suurta vaih-

telua analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH välillä kuten ei havaittu FPD-tuloksessakaan. Referenssianalyyseissä tasojen 2–5 API:en pitoisuudet hieman kasvoivat, mikä oli havaittavissa myös hieman korkeammassa FPD-tuloksessa.

## 6.2 Valmiste B

Valmisteen B DD- ja FPD-analyyseiden tulokset eri analysointiolosuhteissa on esitetty seuraavissa kappaleissa analyysikohtaisesti.

### 6.2.1 Delivered Dose -tulokset

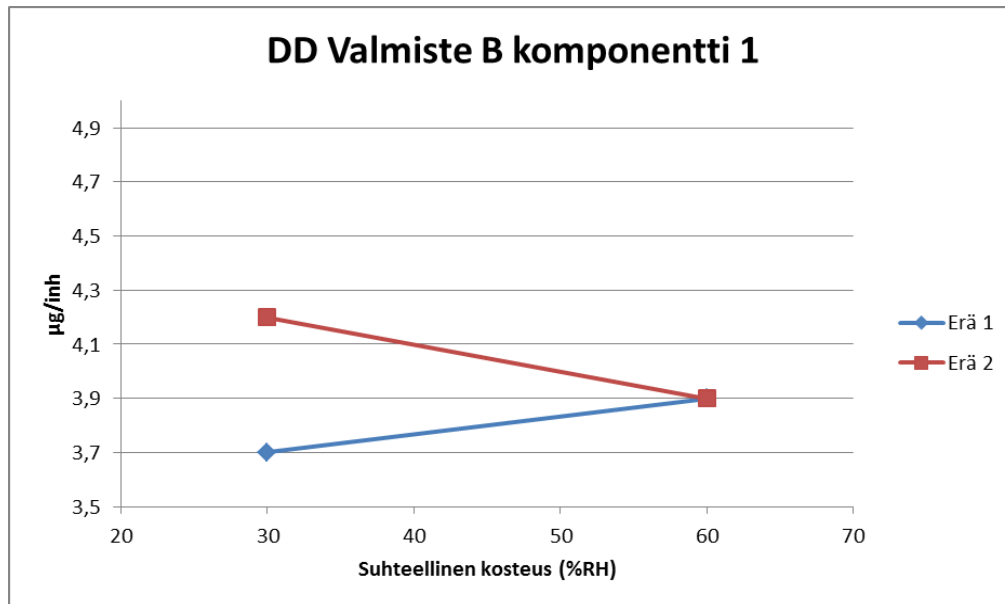
Valmisteen B DD-analyyseissä molemmista tutkituista eristä saatiin yksittäisiä poikkeavia tuloksia. Varsinainen DD-tulos on keskiarvo kolmesta eri inhalaattorista saaduista 30 annoksesta. Etenkin erän 1 analytiikassa selkeästi poikkeavia, liian pieniä tuloksia, saatiin useampia ja näin ollen ne näkyvät keskiarvotuloksessakin. Valmisteen B kohdalla sekä inhalaattorin ravistelu että väliannosten poisto on suoritettu normaalisti manuaalisesti, mutta tässä tutkimuksessa ne suoritettiin mekaanisesti. Mekaanisen väliannosten poistamisen huomattiin aiheuttavan inhalaatiojauheen sähköistymistä etenkin analysointiolosuhteessa 30 %RH. Oletettavaa onkin, että mekaaninen ravistelu ja väliannosten poisto saattoi aiheuttaa osan poikkeavista tuloksista. Laboratoriovirheitä valmisteen B DD-analyyseissä ei tapahtunut.

Valmisteen B erien 1 ja 2 DD-tulokset on esitetty taulukossa 9. Lisäksi on taulukoitu analyyseiden RSD:t sekä DD-tulosten prosentuaalinen muutos eri analysointiolosuhteiden välillä. Analyyseiden RSD:t ovat jopa yli 20 %, mistä näkee, että yksittäisiä poikkeavia tuloksia esiintyi analyyseissä.

Taulukko 9. Valmisteen B DD-analyyseiden tulokset

Analysointiolosuhte	Erä 1				Erä 2			
	Komponentti 1 (µg)	RSD (%)	Komponentti 2 (µg)	RSD (%)	Komponentti 1 (µg)	RSD (%)	Komponentti 2 (µg)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	<b>3,7</b>	18	<b>154</b>	16	<b>4,2</b>	8,7	<b>172</b>	9,7
<b>60 %RH</b>	<b>3,9</b>	16	<b>160</b>	15	<b>3,9</b>	23	<b>162</b>	20
<b>prosentuaalinen muutos</b>	5 %		4 %		-7 %		-6 %	

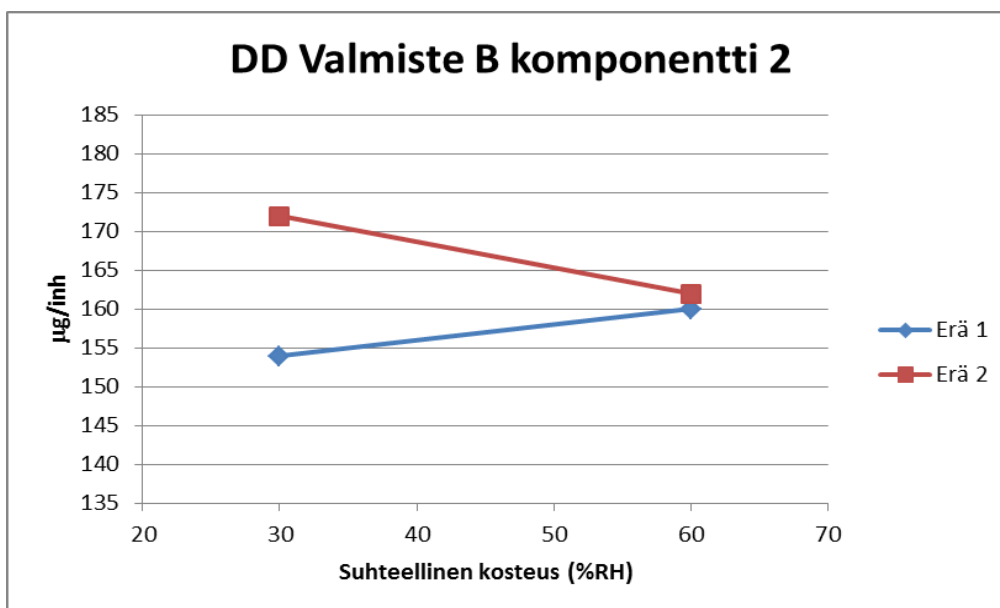
Saatujen tulosten perusteella valmisteen B komponentin 1 tulos hieman nousi analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa erällä 1. Erän 2 komponentin 1 DD-pitoisuus päinvastaisesti vaikutti hieman laskevan suhteellisen kosteuden kasvaessa. Valmisteen B DD-analyysien tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 21.



Kuva 21. Valmisteen B komponentin 1 DD-tulokset analysointiolosuhteissa 30 ja 60 %RH

Komponentin 2 tulokset olivat molempien erien osalta samankaltaiset kuin komponentin 1 tulokset. Erän 1 kohdalla komponentin 2 DD-pitoisuus näin ollen hieman nousi ja erän 2 kohdalla se laski suhteellisen kosteuden kasvaessa. Valmisteen B komponentin 2 DD-analyysien tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 22.





Kuva 22. Valmisteen B komponentin 2 DD-tulokset analysointiolosuhteissa 30 ja 60 %RH

Valmisteen B analysoinnissa esiintyneiden haasteiden vuoksi saatujen tulosten perusteella ei voida tarkkoja päätelmiä tuloksista esittää. Kuitenkin yleisesti vaikuttaisi siltä, ettei analyysin aikaisella kosteudella ole huomattavaa vaikutusta valmisteen B DD-tulokseen. Eri analysointiolosuhteiden välinen prosentuaalinen muutos molempien tutkittujen erien ja molemmilla komponenteilla oli noin 5 prosenttiyksikön luokkaa. Analyysien rinnakkaisten inhalaattorien RSD:t ovat jopa yli 20 %, mistä voidaan havaita esiintyneet poikkeavat analysointitulokset, jotka nostavat hajontaa.

#### 6.2.2 Fine Particle Dose -tulokset

Valmisteen B erien 1 ja 2 FPD-analyysien tulokset on esitetty taulukossa 10 ja 11. Taulukoissa on analysoitujen annosten paino, NGI totaalitulos sekä FPD-tulos. Lisäksi taulukoituna on analyysien RSD:t sekä analysointiolosuhteiden 30 ja 60 %RH välinen FPD-tuloksen prosentuaalinen muutos.

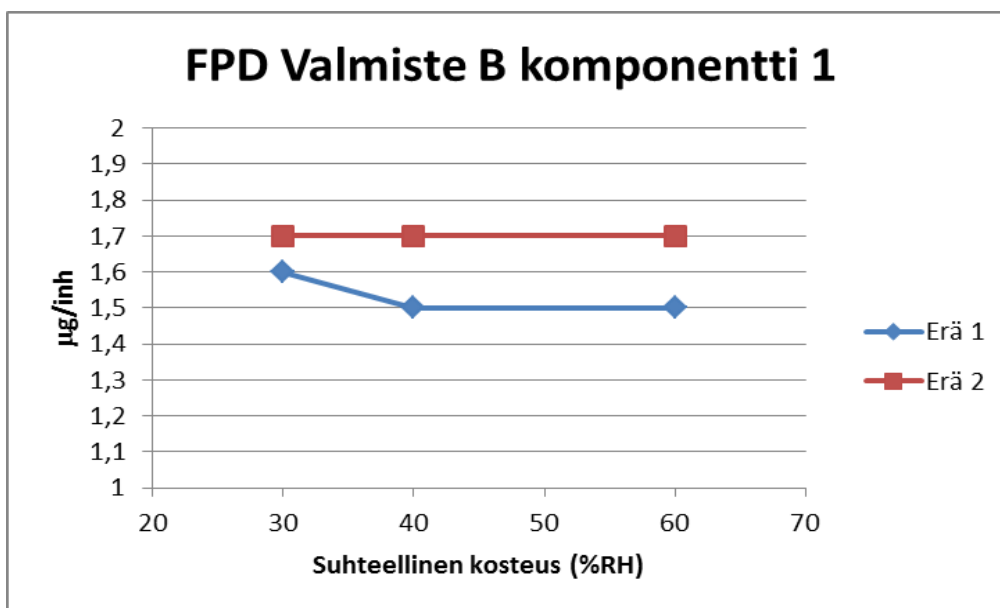
Taulukko 10. Valmisteen B erän 1 FPD-analyysien tulokset

Analysointi- olosuhde	Erä 1						
	Paino (mg)	Komponentti 1			Komponentti 2		
		NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)	NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	36	3,9	<b>1,6</b>	2,5	150	<b>71</b>	1,0
<b>40 %RH</b>	37	3,8	<b>1,5</b>	6,2	150	<b>71</b>	5,0
<b>60 %RH</b>	40	3,7	<b>1,5</b>	4,7	145	<b>67</b>	2,7
<b>prosentuaalinen muutos</b>			-6 %			-6 %	

Taulukko 11. Valmisteen B erän 2 FPD-analyysien tulokset

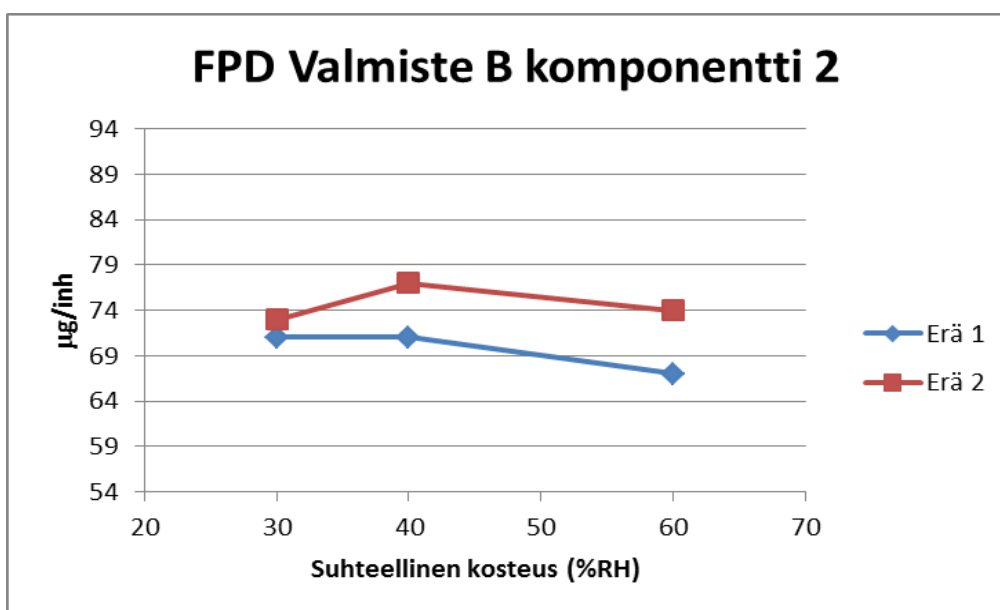
Analysointi- olosuhde	Erä 2						
	Paino (mg)	Komponentti 1			Komponentti 2		
		NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)	NGI Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	39	4,1	<b>1,7</b>	8,1	160	<b>73</b>	2,4
<b>40 %RH</b>	43	4,2	<b>1,7</b>	4,8	164	<b>77</b>	2,9
<b>60 %RH</b>	44	4,1	<b>1,7</b>	5,0	161	<b>74</b>	3,4
<b>prosentuaalinen muutos</b>			0 %			1 %	

Valmisteen B komponentin 1 FPD-tuloksen havaittiin pysyvän lähes stabiilina analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden muutoksista huolimatta. Ainoastaan pieni API:n pitoisuuden lasku esiintyi erällä 2 siirryttäessä analysointiolosuhteesta 30 %RH analysointiolosuhteisiin 40 %RH ja 60 %RH. Prosentuaalinen muutos tuolle laskulle on 6 prosenttiyksikköä. Valmisteen B komponentin 1 FPD-tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 23.



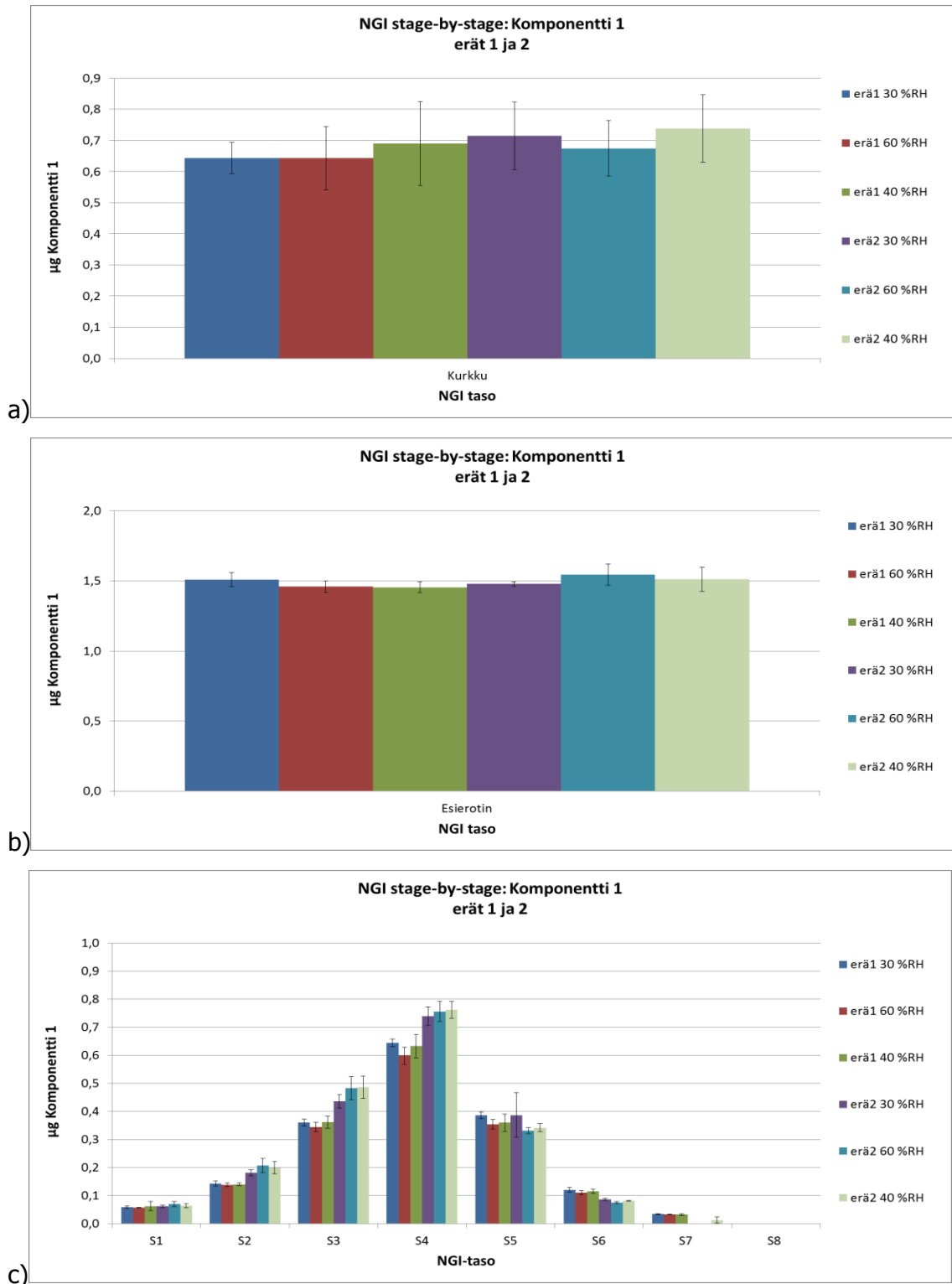
Kuva 23. Valmisteen B komponentin 1 FPD-tulokset analysointiolosuhteissa 30, 40 ja 60 %RH

Valmisteen B komponentin 2 FPD-tuloksissa erällä 1 API:n pitoisuus hieman laski analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa. Erän 2 tulokset sen sijaan olivat olosuhteissa 30 ja 60 %RH lähes stabiilit ja referenssikosteudessa FPD-tulos hieman kasvoi. Komponentin 2 prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden 30 ja 60 %RH välillä oli erälle 1 6 % ja erälle 2 1 %. Tuotteen B komponentin 2 FPD-tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 24.



Kuva 24. Valmisteen B komponentin 2 FPD-tulokset analysointiolosuhteissa 30, 40 ja 60 %RH

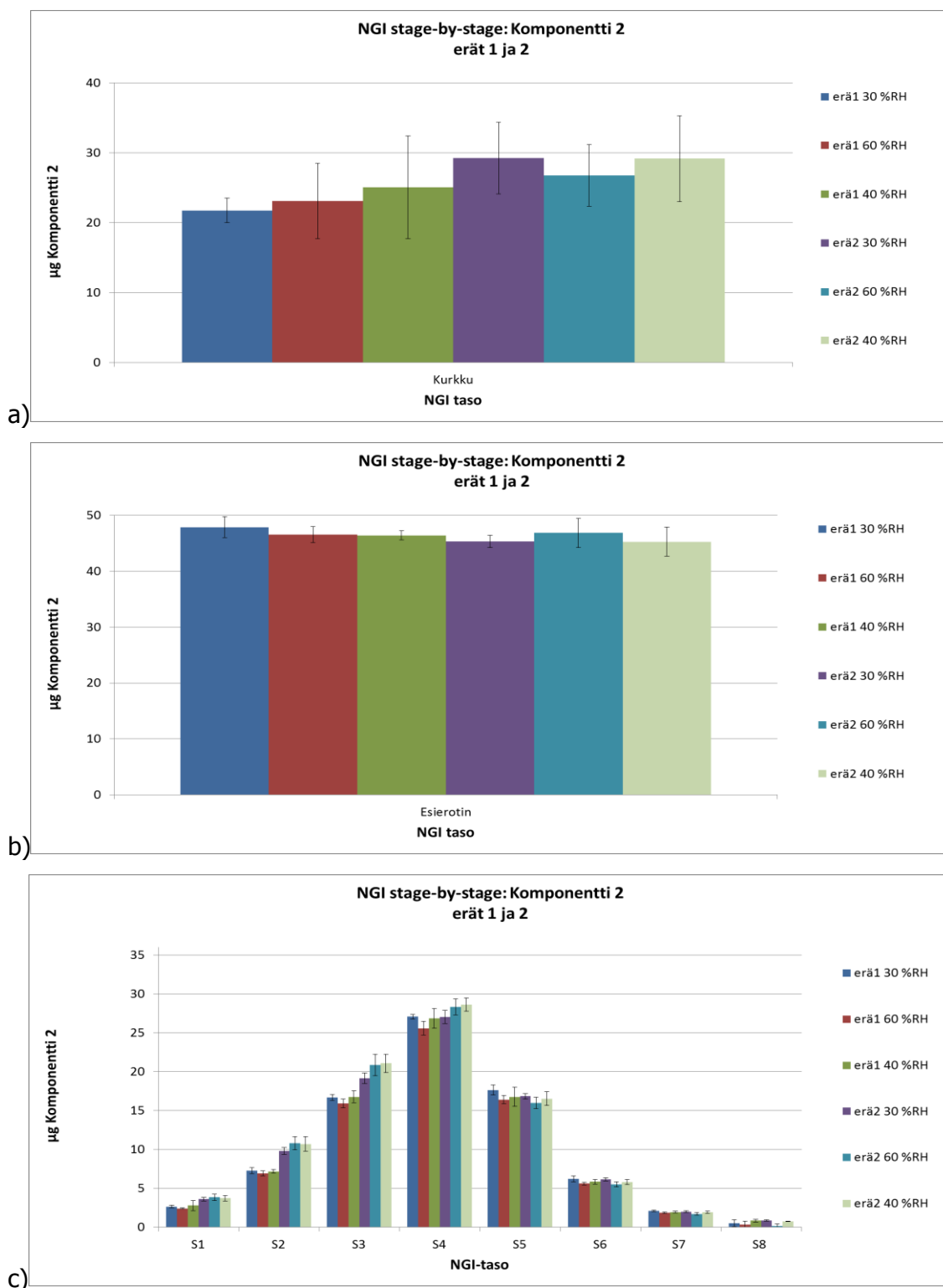
Valmisteen B komponentin 1 NGI-tulosten tasoittaisessa tarkastelussa havaittiin erällä 1 vähäistä API:n määrän laskua tasoilla 3–5 suhteellisen kosteuden kasvaessa. Erän 2 tuloksissa komponentin 1 määrä hieman laski tasoilla 3 ja 4 ja kasvoi kurkussa sekä tasolla 5. Muut tasoittaiset tulokset olivat komponentin 1 osalta lähes stabiilit. Valmisteen B komponentin 1 tasoittaiset NGI-tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 25.



Kuva 25. Valmisteen B komponentin 1 tasoittaiset tulokset, a) kurkku, b) esierotin, c) tasot 1–8

Komponentin 2 tasoittaiset tulosten vaihtelut olivat hyvin samankaltaiset kuin komponentin 1. Pientä vaihtelua on havaittavissa erällä 1 tasoilla 3–5, joilla API:n määrä vähentyi suhteellisen kosteuden kasvaessa. Erän 2 tuloksissa havaittiin tasoilla 2–4

API:n määrän kasvua ja kurkussa sekä tasolla 5 API:n määrän laskua suhteellisen kosteuden kasvaessa. Valmisteen B komponentin 2 tasoittaiset NGI-tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 26.



Kuva 26. Valmisteen B komponentin 2 tasoittaiset tulokset, a) kurkku, b) esierotin, c) tasot 1–8

Valmisteen B FPD-tuloksia voidaan luonnehtia stabiileiksi analysoinnin aikaisesta suhteellisesta kosteudesta huolimatta. Vain vähäisiä muutoksia havaittiin sekä FPD-tuloksissa että tasoittaisissa NGI-tuloksissa.

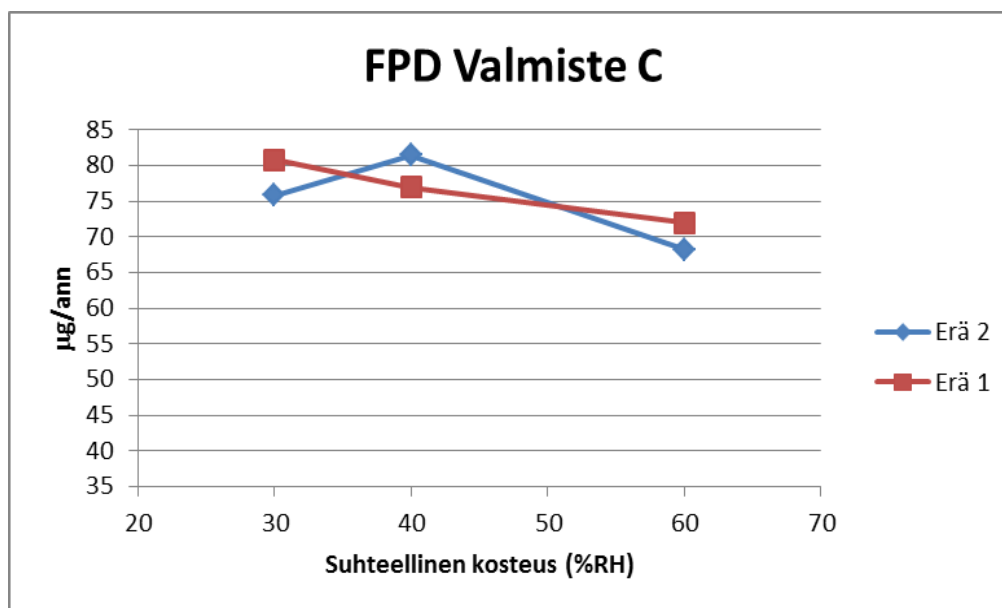
### 6.3 Valmiste C

Valmisteen C erien 1 ja 2 FPD-analyysien tulokset on esitetty taulukossa 12. Taulukoituina on analysoitujen annosten paino, totaali MSLI-tulos ja FPD-tulos. Lisäksi taulukossa esitetään analyysien RSD:t sekä analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH FPD-tulosten prosentuaalinen muutos. Analyysien RSD:t olivat alle 10 %, mitä voidaan pitää normaalina tasona FPD-analyysille.

Taulukko 12. Valmisteen C FPD-analyysin tulokset

Analysointi-olosuhde	Erä 1				Erä 2			
	Paino (mg)	Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)	Paino (mg)	Totaali (µg/ann)	FPD (µg/ann)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	40,2	222,27	<b>80,72</b>	1,9	39,3	211,58	<b>75,84</b>	8,5
<b>40 %RH</b>	42,0	205,07	<b>76,94</b>	n.a.	42,6	227,21	<b>81,43</b>	n.a.
<b>60 %RH</b>	41,6	215,52	<b>72,00</b>	6,6	40,2	210,29	<b>68,25</b>	7,1
<b>prosentuaalinen muutos</b>			-11 %				-10 %	

Tutkimuksen perusteella valmisteen C FPD-tason havaittiin laskevan analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa (kuva 27). Prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH oli molemmille erille noin -10 %. Erille tehtiin myös referenssianalyysit normaalissa laboratorion suhteellisessa kosteudessa. Erän 1 referenssianalyysin FPD-tulos oli selkeästi suurempi kuin analysointiolosuhteiden 30 %RH tai 60 %RH FPD-tulokset. Erän 2 referenssianalyysin tulos taas asettui 30 %RH ja 60 %RH analysointiolosuhteissa saatujen tulosten välille. Referenssianalyysit suoritettiin vain yhdellä inhalaattorilla, kun sekä 30 %RH että 60 %RH tulos on keskiarvo viidestä rinnakkaisesta inhalaattorista. Näiden tulosten perusteella havaittiin, että valmisteen C yksittäinen annospaino korreloisi mahdollisesti kevyesti FPD-tuloksen kanssa.

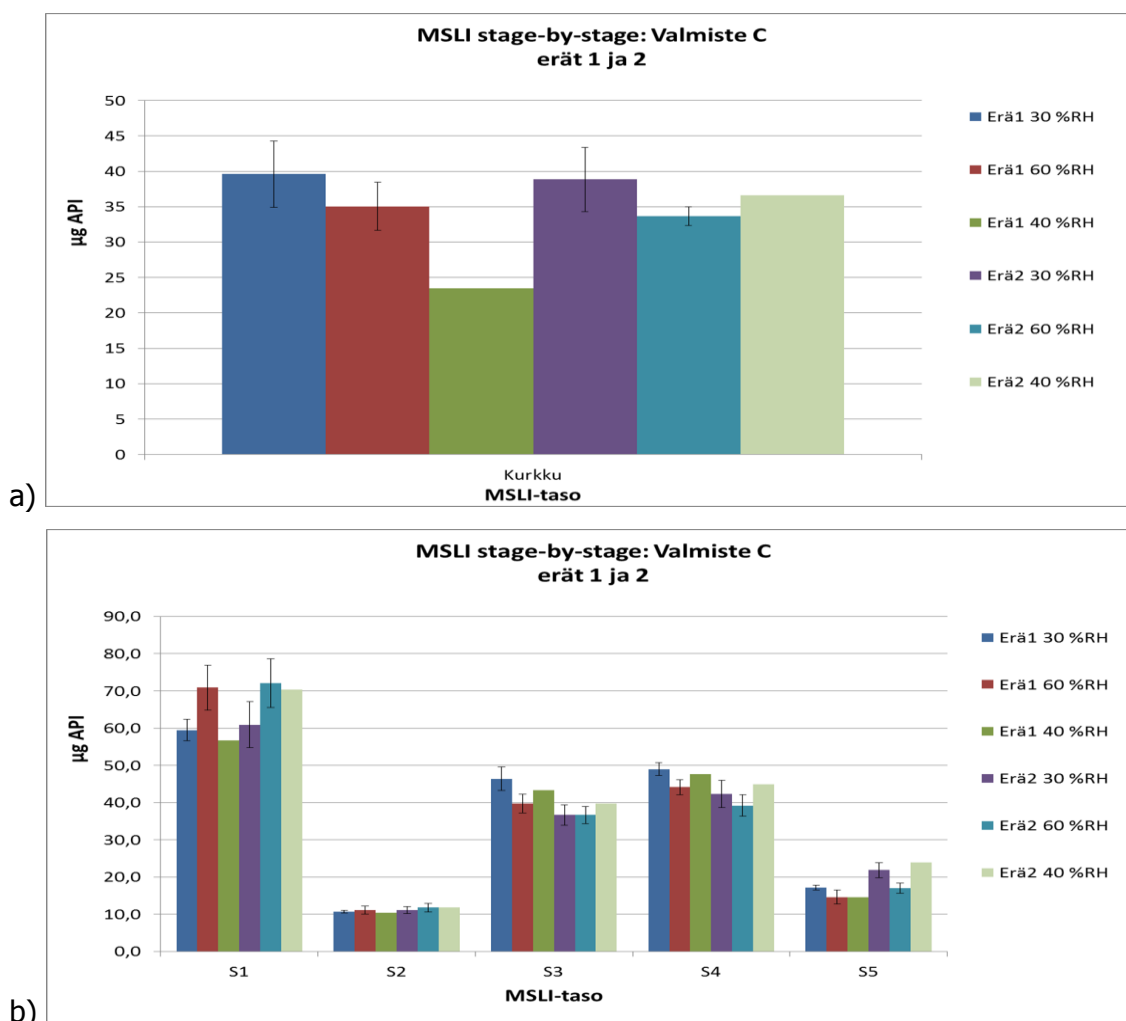


Kuva 27. Valmisteen C FPD-tulokset analysointiolosuhteissa 30, 40 ja 60 %RH

Erällä 2 referenssianalyysin annospaino oli suurempi kuin annospainot 30 %RH:ssa tai 60 %RH:ssa. Sekä FPD-tulos että MSLI-analyysin totaalitulos olivat myös selkeästi suurempia referenssianalyysissä kuin muissa erän analysointiolosuhteissa. Kuitenkin erän 2 tuloksista huomattiin myös niissä referenssin annospainon olevan suurempi kuin muiden tämän erän analysointiolosuhteiden annospainot. Erällä 2 suurempi annospaino ei kuitenkaan näkynyt korkeampana FPD- tai MSLI-totaalituloksena. Mikäli referenssianalyysitkin olisi suoritettu viidellä rinnakkaisella inhalaattorilla, olisivat tulokset voineet olla jonkin verran erilaisempia, kun analysoitujen inhalaattorien lukumäärää kasvattamalla yksittäisen tuloksen merkitysarvo vähenee saadussa keskiarvotuloksessa. Näin ollen tämän yhden analysoinnin perusteella ei voida vielä kovin paljoa päätellä asiasta.

Tasoisissa MSLI-tulosten tarkastelussa API:n pitoisuudessa nähtiin pieniä muutoksia kaikilla muilla tasoilla paitsi tasolla 2. Molempien erien kohdalla API:n pitoisuus kasvoi suhteellisen kosteuden kanssa tasolla 1 ja muilla tasoilla pitoisuus laski suhteellisen kosteuden kasvaessa. Referenssianalyyseissä erän 1 tasoittaiset tulokset ovat tasoilla 3, 4 ja 5 suuremmat kuin muissa saman erän analyyseissä. Sama ilmiö nähdään myös kyseisen erän FPD-tuloksessa. Erän 2 referenssianalyysin tuloksissa havaittiin kurkusovitteen pitoisuuden olevan selkeästi pienempi kuin muissa saman erän analyyseissä. Tämä ei kuitenkaan vaikuta FPD-tulokseen, joten se ei näy niissä. Valmisteen C tasoittaiset MSLI-tulokset on esitetty graafisesti kuvassa 28.





Kuva 28. Valmisteen C tasoittaiset tulokset, a) kurkku, b) MSLI-tasot 1–5

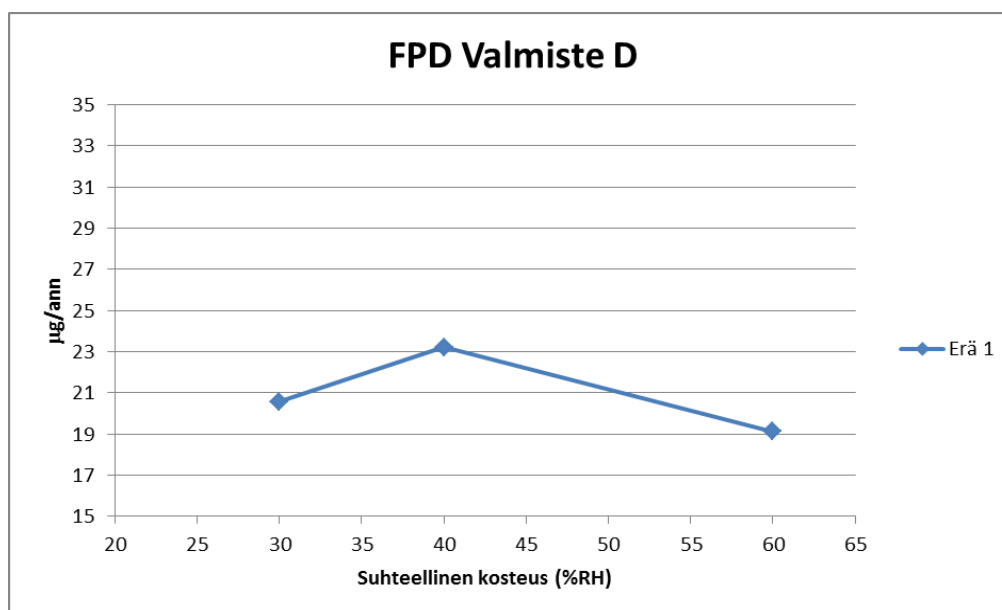
#### 6.4 Valmiste D

Valmisteen D FPD-analyysien tulokset on esitetty taulukossa 13. Taulukoitu on analysoitujen annosten paino, MSLI-totaalitulos ja FPD-tulos, analyysien RSD:t sekä analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH välisten FPD-tulosten prosentuaalinen muutos. FPD-analyysin RSD olosuhteessa 30 %RH oli 11 % ja olosuhteessa 60 %RH se oli 5 %. Näitä arvoja voidaan pitää normaaleina FPD-analyysille.

Taulukko 13. Valmisteen D FPD-analyysin tulokset

Analysointi- olosuhde	Erä 1			
	Paino (mg)	Totaali (µg/dose)	FPD (µg/dose)	RSD (%)
<b>30 %RH</b>	93,0	93,58	<b>20,57</b>	11
<b>40 %RH</b>	107,4	108,19	<b>23,22</b>	n.a.
<b>60 %RH</b>	95,9	95,02	<b>19,12</b>	5,1
<b>prosentuaalinen muutos</b>			-7 %	

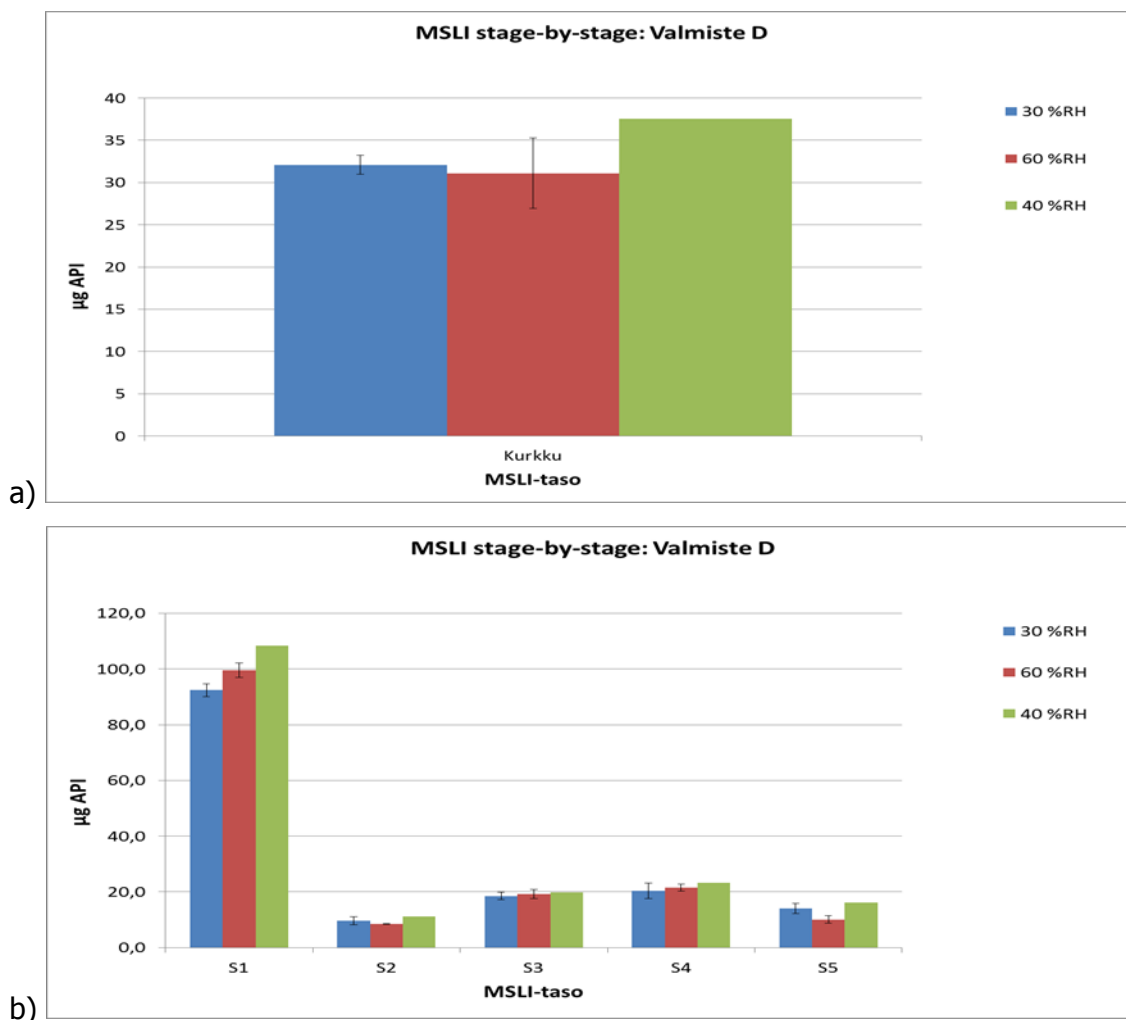
Valmisteen D FPD-tason havaittiin laskevan vain hieman analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa (kuva 29). Tässä tutkimuksessa referenssiolosuhteessa (40 %RH) FPD-tulos oli jonkin verran suurempi kuin analysointiolosuhteissa 30 %RH tai 60 %RH. Kuten valmisteella C Referenssianalyysi suoritettiin kuitenkin vain yhdellä inhalaattorilla, joten tulosta ei voida täysin verrata muiden olosuhteiden analyysituloksiin, jotka ovat viiden rinnakkaisen analyysin keskiarvotuloksia. Referenssianalyysin annospaino oli myös selkeästi muiden analyysien annospainoja suurempi.



Kuva 29. Valmisteen D FPD-tulokset analysointiolosuhteissa 30, 40 ja 60 %RH

Valmisteen D tasoittaisista MSLI-tuloksien havaittiin olevan FPD-tulosten kaltaisesti lähes stabiileja riippumatta analysoinnin aikaisesta suhteellisesta kosteudesta. Vähäistä API:n pitoisuuden kasvua huomattiin tasolla 1 ja laskua tasolla 5 suhteellisen kos-

teuden kasvaessa. Referenssanalyysissä API:n pitoisuus kurkussa ja tasolla 1 on selkeästi suurempi kuin analysointiolosuhteissa 30 %RH ja 60 %RH. Annospaino oli kuitenkin referenssissä myös suurempi kuin muissa analyyseissä. Valmisteen D tasoittaiset MSLI-tulokset on esitetty kuvassa 30.



Kuva 30. Valmisteen D tasoittaiset MSLI-tulokset, a) kurkku, b) MSLI-tasot 1–5

## 7 Tulosten tarkastelu

Tulosten tarkastelussa on esitelty DD- ja FPD-analyysien tulostasossa havaitut muutokset kaikkien analysoitujen valmisteiden osalta.

## 7.1 Delivered Dose -analyysit

Delivered Dose -analyysissä inhalaatiojauheen sähköistyminen aiheutti jonkin verran haasteita. Sähköistymisen vuoksi yksittäiset annospainot heittelivät hyvin suuresti eivätkä ne korreloineet saadun DD-tuloksen kanssa. Enimmillään yhden inhalaattorin annospainojen RSD oli jopa 50 %, kun se normaalisti on selkeästi alle 5 %:n luokkaa. Ennen annospainon punnitusta inhalaattori käytettiin sähköpoistajassa, mutta luultavimmin sähköpoistajat eivät aluksi olleet riittävän tehokkaita. Lopulta kolmannen sähköpoistajan käyttöönoton jälkeen annospainot alkoivat olla tasaisia. Sekä valmisteella A että valmisteella B sähköisyys oli huomattavinta analysointiolosuhteessa 30 %RH. Oletettavasti sekä kuiva ilma että mekaaninen väliannosten poisto aiheuttivat molemmat inhalaatiojauheen sähköistymistä. Sähköistymisilmiö havaittiin molemmissa analysoiduissa tuotteissa, mutta selkeintä se oli valmisteen B kohdalla, jonka annospaino on merkittävästi valmisteen A annospainoa pienempi. Luultavasti pienempi lääkejauheannos on suurempaa annosta herkempi sähköistymiselle.

Sähköistymisongelman poistuttua valmisteen B analyysistä tuli kuitenkin vielä muutamia hyvin pieniä annospainoja, mutta ne korreloivat myös DD-tuloksen kanssa, joka oli näissä tapauksissa myös huomattavasti normaalia pienempiä. Näihin tuloksiin saattoi vaikuttaa mekaaninen ravistelu. Valmistetta A on ravisteltu mekaanisesti alusta alkaen, mutta valmistetta B manuaalisesti, joten sen käyttäytyminen mekaanisen ravistelijan kanssa ei ole yhtä tunnettua. Tässä tutkimuksessa inhalaattoreiden käsittelyä halettiin yhdenmukaistaa ja molemmat valmisteet ravisteltiin mekaanisesti.

Tutkimuksessa suoritettujen Delivered Dose -analyysien perusteella voidaan todeta, ettei analysoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella ole merkittävää vaikutusta valmisteiden A ja B DD-tulostasoon. Valmisteella A DD-tulosten prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden välillä oli alle -5 %, tuloksen laskiessa RH:n kasvaessa. Valmisteen B molempien erien prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden välillä oli noin 5 prosenttiyksikön luokkaa. Tutkimuksessa mukana olleista eristä toisen DD-tulos kasvoi RH:n kasvaessa ja toisen päinvastaisesti laski RH:n kasvaessa. Vaikka yksittäiset tulokset olivat poikkeavia ja analyysien RSD:t olivat 20 %:in luokkaa, vaikuttaisi, ettei kosteudella ole merkittävää vaikutusta valmisteen B:nkään DD-analyysin tulokseen. Poikkeavat tulokset aiheutuivat luultavimmin jo aiemmin läpikäydystä inhalaattorien käsittelyn koneellistamisesta.

## 7.2 Fine Particle Dose -analyysit

Tehtyjen Fine Particle Dose -analyysien perusteella havaittiin, että analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden merkitys inhalaatiolääkkeeseen vaikuttaisi olevan riippuvainen lääkejauheen API:sta sekä lääkejauheen koostumuksesta ja valmistuksen aikaisista tekijöistä. Tutkimuksessa mukana olleista neljästä lääkevalmisteesta yhdelle, valmisteelle A, suhteellisen kosteuden lisääntyminen kasvatti FPD-tulosta ja kolmelle muulle tutkimusvalmisteelle vaikutus oli päinvastainen eli FPD-tulos pieneni kosteuden kasvaessa. Valmisteissa B ja D FPD-tulostason muutokset olivat vain vähäisiä, mutta valmisteissa A ja C ne olivat nähtävissä selkeämmin.

Valmisteen B FPD-tulos laski toisen analysoidun erän molemmilla komponenteilla 6 % ja toisen erän tulos pysyi lähes muuttumattomana RH:n kasvaessa. Valmisteen D FPD-tulos laski 7 % RH:n kasvaessa. Valmisteen A molempien komponenttien FPD-tuloksen sijaan kasvoi 0–18 % RH:n kasvaessa. FPD-tuloksen kasvun suuruus riippui analysoidun erän valmistusolosuhteista ja raaka-aineista. Valmisteen C FPD-tulos laski noin 10 % RH:n kasvaessa.

Saatujen tulosten perusteella analysoinnin aikaisella suhteellisella kosteudella ei havaita olevan merkittävää vaikutusta FPD-analyyseissä saatuihin totaalituloksiin. Ne pysyivät kaikilla tutkimuksessa mukana olleilla kehitysvaiheen tutkimusvalmisteilla lähes muuttumattomina eri analysointiolosuhteissa. FPD totaalituloksessa oli nähtävissä vaihtelua ainoastaan valmisteiden C ja D referenssianalyysien osalta. Normaalessa analysointiolosuhteissa analysoitiin näiden tuotteiden osalta vain yhden inhalaattorit. Niissä analysoitujen annoksien painot olivat selkeästi suuremmat kuin muissa olosuhteissa analysoitujen inhalaattoreiden keskiarvo annospainot. Myös FPD totaalitulokset olivat näissä selkeästi suurempia kuin muissa analysointiolosuhteissa. Mikäli referenssianalyysissäkin olisi ollut mukana viisi rinnakkaista inhalaattoria, olisi saatu tulos voinut olla hieman erilaisempi rinnakkaisten inhalaattorien lukumäärän kasvaessa, jolloin yksittäisen tuloksen painottuminen keskiarvotuloksissa vähenee.

Tasoisissa tulosten tarkasteluissa suurimmat muutokset havaittiin API:en pitoisuuksissa tasoilla 3–5. FPD-tulokseen vaikuttaa eniten juurikin näiden tasojen pitoisuudet, joten muutokset niissä näkyvät myös FPD-tuloksessa. Tutkimuksessa valmisteilla A ja C havaittiin selkeimmät muutokset tasoilla 3–5 tasoisissa tulosten tarkasteluissa. Näillä valmisteilla myös FPD-tuloksen muutokset olivat suurimmat.

## 8 Yhteenveto

Työn tarkoituksena oli tutkia analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutusta kuivajauheinhalaattorien FPD- ja DD-analyysien tulostasoon. Tutkimuksessa laboratorion suhteellinen kosteus säädettiin 30 %RH:een ja 60 %RH:een. Molemmissa olosuhteissa suoritettiin FPD- ja DD-analyysit. Lisäksi FPD-analyysille suoritettiin referenssi-analyysit laboratorion tavanomaisessa suhteellisessa kosteudessa, joka on noin 40 %RH. Analyysien tuloksia eri analysointiolosuhteiden välillä verrattiin toisiinsa.

Kosteuden vaikutusta DPI:ihin on tutkittu enimmäkseen tuotannon ja varastoinnin aikana. Analysoinnin aikaisesta suhteellisen kosteuden vaikutuksesta ei ole yhtä paljon tutkimustietoa. Kosteuden vaikutuksista tehtyjen tutkimusten ja julkaisujen pohjalta oletettavaa kuitenkin oli, että jonkinlaista vaikutusta analysoinnin aikaisella suhteellisellä kosteudella on ainakin FPD-analytiikkaan. DD-analytiikassa mitattavaan inhalaattorista poistuvan vaikuttavan aineen määrään RH:lla ei uskottu olevan suurta vaikutusta.

Kosteuden on havaittu vaikuttavan inhalaatiojauheiden partikkelien sisäisiin sidoksiin ja niiden hajoamiseen inhaloinnin aikana. Tämä vuoksi, ainakin maltillisissa kosteuksissa, inhalaattorista poistuu haluttu määrä inhalaatiojauhetta analysoinnin aikaisesta suhteellisesta kosteudesta riippumatta. API:n ja kantaja-aineen väliset vuorovaikutukset kuitenkin muuttuvat eri kosteuksissa ja sen vuoksi niiden eroaminen toisistaan inhaloinnin aikana saattaa olla helpompaa tai vaikeampaa RH:sta ja API:sta riippuen. FPD-tulos kertoo lääkejauheessa aerodynaamiselta halkaisijaltaan alle 5 µm:ä olevien API-partikkeleiden määrän. Tämän kokoiset partikkelit ovat niitä, jotka kulkeutuvat potilaan keuhkoissa oikeisiin haluttuihin kohtiin ja vaikuttavat tehokkaasti. Jos API:n ja kantaja-aineen välisissä sidoksissa tapahtuu muutoksia se vaikuttaa suoraan FPD-tulokseenkin deagglomeroitumisen helpottuessa tai vaikeutuessa.

Tässä tutkimuksessa analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutusta DD-analyysiin tutkittiin kahdella eri tuotteella. Vaikka valmisteen B käsittelyn koneellistaminen todennäköisesti aiheutti hieman haasteita ja vaihtelua tuloksiin, voidaan sanoa, että tehtyjen analyysien perusteella suhteellisen kosteuden vaikutus DD-analyysin tulostasoon on vain vähäinen. Prosentuaalinen muutos analysointiolosuhteiden 30 ja 60 %RH välillä oli valmisteella A alle 5 % DD-tuloksen laskiessa RH:n kasvaessa. Valmisteella B muutos analysointiolosuhteiden välillä oli 4–8 % toisen erän DD-tuloksen kasvaessa RH:n kanssa ja toisen päinvastaisesti laskiessa RH:n kasvaessa.

Analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden vaikutusta FPD-analyysiin tutkittiin neljällä eri kehitysvaiheen valmisteella. Näistä tutkituista valmisteista kahdella, valmisteilla B ja D, FPD-analyysin tulokset olivat melko muuttumattomat analysoinnin aikaisesta kosteudesta huolimatta. Molempien valmisteiden muutokset olivat alle 10 prosenttiyksikön luokkaa. Valmisteen B toisen analysoidun erän molempien komponenttien FPD-tulos laski 6 % RH:n kasvaessa ja toisen erän molempien komponenttien FPD-tulokset olivat lähes muuttumattomat analysointiolosuhteiden 30 %RH ja 60 %RH välillä. Valmisteen D FPD-tulos laski 7 % RH:n kasvaessa.

Valmisteilla A ja C havaittiin analysoinnin aikaisella kosteudella olevan hieman selkeämpiä vaikutuksia FPD-tuloksiin. Valmisteen A FPD-tuloksen muutokset vaihtelivat tutkimuksessa mukana olleiden erien välillä. Yhdellä mukana olleista eristä muutosta FPD-tuloksessa ei ollut ollenkaan ja kahdella muulla erällä FPD-tulos kasvoi 12–18 %:iin RH:n noustessa. Analysoinnin aikainen suhteellinen kosteus vaikutti valmisteen A erien FPD:hen eri tavoin, riippuen erän valmistusolosuhteista ja käytetyistä raaka-aineista. Keksimääräisesti FPD-tulos kasvoi molemmilla komponenteilla noin 10 % analysoinnin aikaisen suhteellisen kosteuden kasvaessa. Valmisteen C molempien tutkimuksessa mukana olleiden erien FPD-tulos päinvastaisesti pieneni noin 10 % suhteellisen kosteuden kasvaessa.

Saatujen tulosten perusteella voidaan todeta, että analysoinnin aikainen suhteellinen kosteus on syytä kirjata kuivajauheinhalaattorien FPD- ja DD-analytiikassa ylös ja tiedostaa RH:n mahdollinen vaikutus analyysien tulostasoon etenkin FPD-analytiikassa. Näin ollen se osataan ottaa huomioon tuloksia analysoitaessa. Opinnäytetyössä mukana oli vain pieni määrä tutkittavia näytteitä ja rinnakkaisia analyysejä. Tarkemman tiedon saamiseksi sekä varmempien johtopäätösten tueksi tarvitsisi tehdä useampia rinnakkaisia määryksiä analyyseistä.

## Lähteet

P. Begat, D. A. V. Morton, J. N. Staniforth, R. Price. 2004. The Cohesive-Adhesive Balances in Dry Powder Inhaler Formulations II: Influence on Fine Particle Delivery Characteristics. *Pharmaceutical Research*, vol 21, No. 10, 2004.

V. Bérard, E. Lesniewska, C. Andrès, D. Pertuy, C. Laroche, Y. pourcelot. 2002. Dry powder inhaler: influence of humidity on topology and adhesion studied by AFM. *International Journal of Pharmaceutics* 232 (2002) s. 213–224.

M. B. Chougule, B. K. Badhi, K. A. Jintukar, A. Misra. 2007. Development of Dry Powder Inhalers. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. 2007, 1, s. 11–21.

HW Frijlink, AH De Boer. 2004. Dry powder inhalers for pulmonary drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2004, 1(1):67–86.

European Pharmacopoeia 8.0. 2012. "Preparation for inhalation". s. 800–805.

European Pharmacopoeia 8.0. 2012. "2.9.18. Preparations for inhalation: aerodynamic assessment of fine particles". s. 309–320.

R. Guchardi, M. Frei, E. John, J.S. Kaerger. 2007. Influence of fine lactose and magnesium stearate on low dose dry powder inhaler formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 348 (2008) 10–17.

Hautala Mikko, Peltonen Hannu. 2011. *Insinöörin (AMK) fysiikka osa 1*. Saarijärvi: Lahden Teho-Opetus Oy.

M. Ibrahim, R. Verna, L. Garcia-Contreras. 2015. Inhalation drug delivery devices: technology updates. *Medical Devices: Evidence and Research*. 2015:8, s. 131-139.

N. Islam, M. J. Cleary. 2012. Developing an efficient and reliable dry powder inhaler for pulmonary drug delivery – A review for multidisciplinary researchers. *Medical Engineering & Physics* 34 (2012), s. 409–427.

J. Karjalainen, L. Lehtimäki. 2015. Astma pienissä ilmäteissä – haaste klinikoille. *Suomen lääkärilehti* 7/2015 vsk 70.

S. Karner, N. A. Urbanetz. 2011. The impact of electrostatic charge in pharmaceutical powders with specific focus on inhalation-powders. *Journal of Aerosol Science* 42 (2011) 428–445.

M. Koulu, E. Mervaala, J. Tuomisto. 2012. *Farmakologia ja Toksikologia*. Kuopio: Medicina.



Kwok Philip Chi Lip, Chan Hak-Kim. 2007. Effect of Relative Humidity on the Electrostatic Charge Properties of Dry Powder Inhaler Aerosols. *Pharmaceutical Research*. vol 25 no. 2. February 2008.

N. R. Labiris, M. B. Dolovich. 2003. Pulmonary drug delivery. Part II: The role of inhalant delivery devices and drug formulations in therapeutic effectiveness of aerosolized medications. Department of Medicine.

D. Lewis, M. Copley. 2011. Inhaled Product Characterization. *Pharmaceutical Technology* Nov 01, 2011.

M. Marvola, A. Urtti, J. Mönkkönen. 2007. *Biofarmasia ja farmakokinetiikka*. Jyväskylä: Farmasian opiskelijayhdistys Fortis ry.

Minerva Marco. FPD-analyysin virhelähteet inhalaatiotuotannon optimoinnissa. 2015. Aalto-Yliopisto.

Nikulainen Pasi. Ilmankosteus: käyttäytyminen, ilmiöitä ja vinkkejä. <<http://www.tekeville.fi/ilmankosteus>>. Luettu 19.9.2015.

R. Price, P.M. Young, S. Edge, J.N. Staniforth. 2002. The influence of relative humidity on particulate interactions in carrier-based dry powder inhaler formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 246 (2002) 47–59.

H. D.C. Smyth, A. J. Hickey. 2011. *Controlled Pulmonary Drug Delivery*. London: Springer New York Dordrecht Heidelberg.

Snyder Lloyd R., Kirkland Joseph J., Dolan John W. 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Third Edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Suvanto Kari. 2010/2003. *Tekniikan fysiikka 1*. Helsinki: Edita Publishing Oy.

M. J. Telko. 2009. Investigation of electrostatic charging phenomena in dry powder inhalers and the effect on deposition.

Waters Corporation. "How Does High Performance Liquid Chromatography Work?". Waters. <[http://www.waters.com/waters/en\\_US/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?locale=en\\_us&cid=10049055](http://www.waters.com/waters/en_US/How-Does-High-Performance-Liquid-Chromatography-Work%3F/nav.htm?locale=en_us&cid=10049055)>. Luettu 20.9.2015.

Paul M Young, Adrian Sung, Daniela Traini, Philip Kwok, Herbert Chiou, Hak-Kim Chan. 2007. Influence of Humidity on the Electrostatic Charge and Aerosol Performance of Dry Powder Inhaler Carrier based Systems. *Pharmaceutical Research*, vol. 24, no. 5, May 2007.

K. Zhu, R. B.H. Tan, W. K. Ng, S. Shen, Q. Zhou, P. W.S. Heng. 2008. Analysis of the influence of relative humidity on the moisture sorption of particles and aerosolization process in dry powder inhaler. *Aerosol Science* 39 (2008), s. 510–524.

K. Zhu, W. K. Ng, S. Shen, R. B. H. Tan, P. W. S. Heng. 2008a. Desing of a Device for Simultaneous Particle Size and Electrostatic Charge Measurement of Inhalation Drugs. Pharmaseutical Research , vol. 25, no. 11, November 2008.