


ОТЧЕТ

**Изучение аэродинамических характеристик препарата
«Беклометазон-аэронатив»,
аэрозоль для ингаляций дозированных
производства ООО «Натива» (Россия)
в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза,
производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и
«Кленил» 250 мкг/доза,
производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)**

Москва 2013 г.

 <p>ООО «Натива»</p>	Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)
---	---

Введение

Качество лекарственных препарата контролируется по статьям нормативного документа – фармакопейной статьи предприятия.

Для аэрозольных ингаляционных препаратов обязательным является контроль по следующим показателям:

- Описание
- Подлинность
- Скорость утечки
- Респирабельная фракция
- Механические включения
- Средняя масса одной дозы и отклонение от средней дозы (однородность дозирования)
- Количество доз
- Посторонние примеси
- Микробиологическая чистота
- Количественное определение (масса активного вещества в дозе)
- Упаковка
- Маркировка

Из этих параметров на эффективность препарата на прямую влияют - респирабельная фракция, однородность дозирования и количественное определение.

Кроме этого эффективность препарата зависит от устройства для ингалирования - в нашем случае дозирующий клапан и распылитель (называемый так же актуатором). При замене актуатора с диаметром распылительного отверстия 0,3 мм на актуатор с отверстием 0,22 мм величина респирабельной фракции возрастает примерно в полтора раза.

Респирабельная фракция

Может характеризоваться как натуральной величиной - массой частиц активного компонента размером от 0,5 мкм до 5,0 мкм на дозу препарата (обычно в мкг), так и относительной – процентами. В последнем случае это отношение массы мелких частиц к массе указанной на упаковке лекарственного препарата (номинальная доза) или к массе



Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)

ингалированного активного компонента. Т.к. ни на упаковке, ни в инструкции по применению препарата данные о респирательной фракции не приводятся, то способ ее выражения не имеет значения.

В нормативном документе производители аэрозольных препаратов могут указывать или минимально необходимое значение или диапазон значений респирательной фракции (достаточно широкий). В НД на оригинальный препарат указан нижний необходимый лимит – 8 мкг, 16 мкг и 40 мкг в дозе для дозровок 50 мкг, 100 мкг и 250 мкг соответственно.

При промышленном выпуске необходимо обеспечивать стабильность значений респирательной фракции.


Величина респирательной фракции (или масса фракции мелких частиц) может быть измерена аэродинамическими методами с помощью импакторов, импиджеров или лазерных дифракционных анализаторов частиц.

Наиболее часто используемый импактор – это 8 каскадный (или стадийный) импактор Андерсена. Каскадные импакторы характеризуются т.н. «точками отсечки» для каждого каскада, размерами самых мелких частиц, которые оседают на уловителях каскада при определенной скорости потока воздуха.

Для импактора Андерсена при скорости потока 28,3 л/мин они следующие:

Каскад	Точка отсечки, мкм
0	9,0
1	5,8
2	4,7
3	3,3
4	2,1
5	1,1
6	0,65
7	0,43

Таким образом респирательная фракция это частицы осевшие на уловителях 3, 4, 5, 6 и 7 каскадов. Часто в респирательную фракцию включают частицы, задержанные финишным фильтром. Хотя они и имеют размер менее 0,5 мкм, часть их может оседать в легких пациентов (для этого рекомендуется задерживать дыхание после вдоха).

 <p>ООО «Натива»</p>	Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)
---	---

Для получения эффективного препарата важна не только величина респираторной фракции, но и распределение частиц по размерам внутри респираторной фракции. Использование импакторов и лазерных анализаторов позволяет не только измерить респираторную фракцию, но и оценить распределение частиц по размерам внутри респираторной фракции.

По результатам анализа частиц на каскадах импактора можно построить эпюры, которые наглядно характеризуют массовое распределение внутри респираторной фракции и дают возможность регулировать такое распределение.

Нормы величины респираторной фракции препарата Беклометазон-аэронатив (не менее):

50 мкг/доза: не менее 8 мкг/доза;

100 мкг/доза: не менее 16 мкг/доза;

250 мкг/доза: не менее 40 мкг/доза.

Однородность дозирования

Определяет стабильный лечебный эффект. Для препаратов в виде истинных растворов активных веществ в пропелленте зависит от работы клапана, чистоты отверстия актуатора и температуры.

Масса активного вещества в дозе


Массу активного вещества в дозе препарата иногда сознательно увеличивают, для увеличения массы мелких частиц. В общем, чем ближе значение массы мелких частиц и массы вещества в дозе, тем препарат безопаснее и эффективнее.

Экспериментальная часть

Методика определения респираторной фракции

Испытания проводили аэродинамическим методом с использованием 8-каскадного импактора Андерсена («Westech Scientific Instruments») с устройством контроля потока TP-DG-DPI 1000 («Erweka») и вакуумным насосом HPV 1000 («Erweka»). Фильтр импактора – № 934-АН, Whatman). Скорость потока воздуха $28,3 \pm 1,5$ л/мин. Определяли количество беклометазона дипропионата, осевшее на каскадах 3 –7 и фильтре.

Определение количества беклометазона дипропионата, осевшего на каждой из ступеней импактора, проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

 <p>ООО «Натива»</p>	Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)
---	---

Реактивы: ацетонитрил для высокоэффективной жидкостной хроматографии («Scharlau» кат. № AC03332500); метанол для жидкостной хроматографии («Merck» кат. № 106018); вода очищенная.

Стандартные образцы: СО беклометазона дипропионата безводный (EP CRS, кат. № B0305000); СО беклометазона дипропионата для проверки пригодности системы, содержащий примесь D (EP CRS, кат. № Y0000352).

Растворитель. Смесь 600 мл ацетонитрила и 400 мл воды.

Раствор Э1. Смесь 320 мл ацетонитрила и 200 мл метанола.

Раствор Э2. Вода.

Стандартный раствор 1. Около 50 мг (точная навеска) СО бекламетазона дипропионата безводного помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл растворителя и обрабатывают ультразвуком до полного растворения навески. Раствор доводили до метки тем же растворителем.

Стандартный раствор 2.

для дозировки 50 мкг/доза: 0,4 мл стандартного раствора 1 помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем.

для дозировки 100 мкг/доза: 0,8 мл стандартного раствора 1 помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем.

для дозировки 250 мкг/доза: 2,0 мл стандартного раствора 1 помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем.

Проведение испытания.

Перед началом испытаний сбрасывали первые 5 доз препарата.

Объемную скорость потока воздуха устанавливали в пределах $28,3 \pm 1,5$ л/мин.


Подсоединяли к адаптеру импактора актуатор аэрозольного баллона и высвобождали 10 доз препарата.

Для анализа брали пластины №№ 3-7 и фильтр.

Испытуемые растворы. Помещали уловители анализируемых каскадов в стеклянные чашки Петри и растворяли препарат в растворителе, применяя ультразвуковую ванну. Растворы переносили в мерные колбы вместимостью 25 мл.

Перед вводом в хроматограф испытуемые растворы фильтровали через мембранный фильтр типа Millex GV с диаметром пор 0,45 мкм.

Хроматографические условия:

 ООО «Натива»	Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)
---	---

- колонка из нержавеющей стали длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом C₁₈ с размером частиц 5 мкм (типа Luna 5u C18(2)) фирмы «Phenomenex», США или аналогичная);

- подвижная фаза (элюент) состоит из смеси растворов Э1 и Э2 в соотношении 65:35;

- элюирование проводят в изократическом режиме;

- объем вводимой пробы – 50 мкл;

- скорость потока подвижной фазы 1,2 мл/мин;

- температура термостата колонки– 30 °С;

- детектирование (УФ) 238 нм;

- время хроматографирования – 30 мин;

- чувствительность устанавливают опытным путем.

В указанных условиях ожидаемое время удерживания пика беклометазона дипропионата составляет около 22 мин.

Хроматографическая процедура. Каждого из испытуемых растворов и стандартного раствора хроматографировали на жидкостном хроматографе Shimadzu SPD-20А, получая не менее двух хроматограмм для каждого из растворов.

Содержание беклометазона дипропионата на каждом уловителе импактора в пересчете на одну дозу (X_i) в мкг рассчитывали по формуле:

$$X_i = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot V \cdot 25 \cdot 1000}{S_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100 \cdot N}$$

где: S_1 – площадь пика беклометазона дипропионата на хроматограме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика беклометазона дипропионата на хроматограме стандартного раствора 2;

a_0 – навеска СО беклометазона дипропионата, взятая для приготовления стандартного раствора 1, мг;

V – объем стандартного раствора 1, взятый для приготовления стандартного раствора 2, мл;

P – содержание беклометазона дипропионата в СО, в процентах;

N – число доз, взятых для испытания ($N = 10$).



Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)

Определяли среднее количество беклометазона дипропионата на уловителях 3-7 и фильтре каскадного импактора в микрограммах, суммируют результаты.

Методика количественного определения

В 1 дозе препарата должно содержаться от 85 % до 115 % беклометазона дипропионата от заявленного количества (50 мкг/доза: от 42,5 до 57,5 мкг беклометазона дипропионата в одной дозе; 100 мкг/доза: от 85 до 115 мкг беклометазона дипропионата в одной дозе; 250 мкг/доза: от 212,5 до 287,5 мкг беклометазона дипропионата в одной дозе).

Определение проводили методом ВЭЖХ. Приготовление подвижной фазы и растворителя описаны в разделе «Респирабельная фракция».

Стандартный раствор 3. Около 50 мг (точная навеска) бекламетазона дипропионата безводного (EP CRS, кат. № B0305000) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл растворителя и обрабатывали ультразвуком до полного растворения навески. Объем раствора доводили до метки тем же растворителем.

Стандартный раствор 4.

для дозировки 50 мкг/доза: 1,0 мл стандартного раствора 3 помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем.


для дозировки 100 мкг/доза: 2,0 мл стандартного раствора 3 помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем.

для дозировки 250 мкг/доза: 5,0 мл стандартного раствора 3 помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем.

Испытуемый раствор.

Отбрасывали первые 5 доз препарата. Одевали на дозирующий клапан новую не использованную распылительную насадку с обрезанным загубником, встряхивали баллон в течение 5 с. В стеклянный стакан вместимостью 100 мл помещали 30 мл растворителя и баллончик с распылительной насадкой с обрезанным загубником так, чтобы распылительное отверстие было полностью погружено в растворитель. Стакан закрывали парафильмом, высвобождали 50 доз препарата, делая между процедурами интервал 5 с.

Вынимали баллон из распылительной насадки, оставляя ее в стакане. Стакан закрывали парафильмом, содержимое стакана обрабатывали ультразвуком в течение 4 мин. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, не вынимая распылительную насадку. Ополаскивали стакан и распылительную

 <p>ООО «Натива»</p>	<p>Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)</p>
--	--

насадку растворителем, смыв помещали в ту же колбу. Доводили объем раствора до метки растворителем.

Перед введением в хроматограф, раствор фильтровали через мембранный нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (испытуемый раствор).

Хроматографические условия:

- колонка из нержавеющей стали длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом C₁₈ с размером частиц 5 мкм (типа Luna 5u C18(2)) фирмы «Phenomenex», США или аналогичная);

- подвижная фаза (элюент) состоит из смеси растворов Э1 и Э2 в соотношении 65:35;

- элюирование проводят в изократическом режиме;

- объем вводимой пробы – 20 мкл;

- скорость потока подвижной фазы 1,2 мл/мин;

- температура термостата колонки– 30 °С;

- детектирование (УФ) 238 нм;

- время хроматографирования – 30 мин.

В указанных условиях ожидаемое время удерживания пика беклометазона дипропионата составляет около 22 мин.

Методика и расчеты. Хроматографировали стандартный раствор 4 и испытуемый раствор. На полученных хроматограммах определяли площади пиков беклометазона дипропионата.


Содержание беклометазона дипропионата (X) в одной дозе, в микрограммах, рассчитывали по формуле:

$$\tilde{O} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot V \cdot 50 \cdot 1000 \cdot P}{S_0 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 50 \cdot 100},$$

где: S₁ – площадь пика беклометазона дипропионата на хроматограмме испытуемого раствора;

S₀ – площадь пика беклометазона дипропионата на хроматограмме стандартного раствора 4;

a₀ – навеска СО беклометазона дипропионата, взятая для приготовления стандартного раствора 3, мг;

 ООО «Натива»	Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)
--	---

V – объем стандартного раствора 1, взятый для приготовления стандартного раствора 4, мл;

P – содержание беклометазона дипропионата в СО, в процентах.

Однородность дозирования.

Определяли измерением масс выделенных доз для 1, 2, 199 и 200 дозы (первые три дозы отбрасываются).

Результаты испытаний

Ниже приведены обобщенные результаты испытаний промышленных партий препарата.

Беклометазон-аэронатив 50 мкг/доза


Шифр партии	Масса мелких частиц мкг/доза	Респирабельная фракция, %	Респирабельная фракция по номиналу, %	Количественное определение, мкг/доза (среднее)
130718	9,7-11,9	18,9-21,7	19,4-23,82	51,6
130730	13,1-13,3	24,2-24,6	26,1-26,7	55,8

Беклометазон-аэронатив 100 мкг/доза

Шифр партии	Масса мелких частиц мкг/доза	Респирабельная фракция, %	Респирабельная фракция по номиналу, %	Количественное определение, мкг/доза (среднее)
130718	24,2-27,8	20,3-24,2	24,8-28,8	111,2
130808	23,3-26,5	23,1-27,3	23,3-26,5	102,4

Беклометазон-аэронатив 250 мкг/доза

Шифр партии	Масса мелких частиц мкг/доза	Респирабельная фракция, %	Респирабельная фракция по номиналу, %	Количественное определение, мкг/доза (среднее)
130718	50,5-52,2	19,5-20,0	20,2-20,9	271,4
130819	67,8-70,9	23,5-24,5	27,2-28,3	285,1
130822	62,3-62,6	21,4-22,4	24,9-25,0	287,4
130827	60,0-62,3	21,1-22,2	24,4-24,9	286,9

 <p>ООО «Натива»</p>	<p>Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)</p>
---	--

130829	56,6-60,1	21,1-23,1	24,0-24,1	276,7
--------	-----------	-----------	-----------	-------



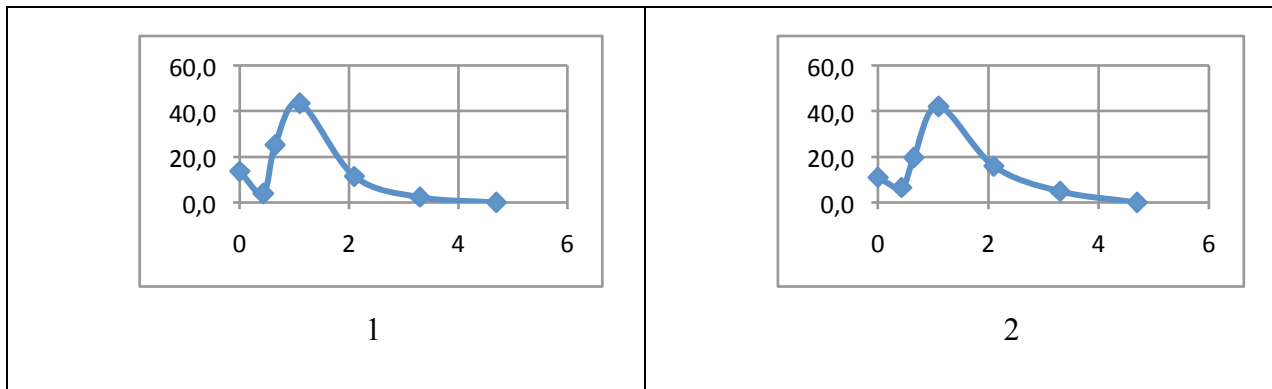
Изучение аэродинамических характеристик препарата «Беклометазон-аэронатив», аэрозоль для ингаляций дозированный производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон Эко» 250 мкг/доза, производства «Нортон Вотерфорд» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, производства «Къези Фармацевтичи С.п.А.» (Италия)

Оригинальный препарат и препарат сравнения

Препарат	Масса мелких частиц мкг/доза	Респирабельная фракция, %	Респирабельная фракция по номиналу, %	Количественное определение, мкг/доза
Беклазон ЭКО 250 мкг/доза	82,1	26,3	32,8	251
Кленил 250 мкг/доза	62,1	24,8	24,8	198

Профиль распределения частиц

На эпюрах приведены профили распределения частиц для препарата «Беклазон Эко» и препарат «Беклометазон-аэронатив». По оси абсцисс – «точка отсечки» в мкм, по оси ординат – процент, посчитанный как отношения массы частиц, отложенных на каскаде к массе мелких частиц.



1. Препарат «Беклазон Эко».

2. Препарат «Беклометазон-аэронатив»

Заклучение: как следует из выше приведенных данных, препарат «Беклометазон-аэронатив» производства ООО «Натива» (Россия) в сравнении с препаратами «Беклазон ЭКО» 250 мкг/доза, производства «Нортон» (Ирландия) и «Кленил» 250 мкг/доза, («Къези», Италия) демонстрируют сопоставимые результаты по показателям однородности дозирования и респирабельной фракции.