FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

PREPARAÇÕES PARA INALAÇÃO
AVALIAÇÃO AERODINÂMICA DAS PARTÍCULAS FINAS

CÁRLA ISABEL AMANTE CARLOS

DISSERTAÇÃO APRESENTADA PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
NO ÂMBITO DO CURSO DE MESTRADO EM CONTROLO DE QUALIDADE

PORTO, 2002

FACULDADE DE FARMÁCIA

UNIVERSIDADE DO PORTO

PREPARAÇÕES PARA INALAÇÃO

AVALIAÇÃO AERODINÂMICA DAS PARTÍCULAS FINAS

FACULDADE DE FARMACIA
U. P.
BIBLIOTECA
Data 01/04/2004
Reg. 2553
Cota

FFM
CAR
2553

CARLA ISABEL AMANTE CARLOS

DISSERTAÇÃO APRESENTADA PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CURSO DE MESTRADO EM CONTROLO DE QUALIDADE.

Porto, 2002

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho, apesar do seu carácter individual, teria sido difícil sem a colaboração e estímulo de várias pessoas. Desta forma, gostaria de expressar o meu agradecimento e gratidão:

Ao Professor Doutor Domingos Ferreira agradeço a sua disponibilidade, atenção com que me escutou, as sugestões e o entusiasmo com que sempre me apoiou. Quero também agradecer-lhe todos os meios materiais disponibilizados para a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor José Sousa Lobo agradeço o incentivo para o desenvolvimento de um trabalho numa área nova no laboratório de Tecnologia Farmacêutica.

À Professora Doutora Maria Helena Marques agradeço a disponibilidade e atenção com que me recebeu no laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa onde foi realizado o ensaio de determinação da "Distribuição da dimensão das partículas pelo Aerosizer ®LD".

A todos quantos trabalham no laboratório de Tecnologia Farmacêutica a minha expressão de estima e apreço pela forma como sempre me receberam, especialmente à Professora Helena Amaral pelo seu incentivo e disponibilidade sempre demonstrada.

Aos meus amigos e colegas agradeço a amizade e incentivo.

Por fim, a homenagem aos meus Pais e irmã, a quem dedico este trabalho pois sem a sua orientação nunca o teria realizado.

Índice Geral

Página

Abreviaturas VI

Índice de Figuras VII

Índice de Quadros X

1 - Inalação de fármacos – Aspectos gerais 1

1.1 Factores que contribuem para a eficácia da terapêutica inalatória 3

1.1.1 Tamanho das partículas 3

1.1.2 Padrão ventilatório 4

1.2 Dispositivos para administração de fármacos por inalação 5

1.2.1 Inaladores de dose calibrada - IDC 5

1.2.2 Inaladores de pó seco – IPS 9

1.2.2.1 Presença do veículo na formulação do IPS 10

1.2.2.2 Influência do débito inspiratório na libertação do fármaco por IPS 12

1.2.2.3 Influência da resistência específica dos inaladores na obtenção de FPF das preparações de pó para inalação 15

1.2.2.4. IPS / Humidade Ambiental 17

2. Avaliação aerodinâmica das partículas finas 20

2.1 Amostrador granulométrico de Andersen 23

2.1.1 Amostrador granulométrico de Anderson- Mark II 24

2.2. Materiais e métodos 26

2.2.1 Funcionamento do amostrador granulométrico de Anderson 26

2.2.2 Método gravimétrico 30

2.2.2.1. Determinação gravimétrica da distribuição das partículas pelos inaladores de dose calibrada 31

2.2.2.2. Determinação gravimétrica da distribuição das partículas pelos inaladores de pó seco. 32

2.2.3 Determinação analítica 35
2.2.3.1 Cromatografia Liquida – Materiais e métodos 35
2.2.3.2 – Análise cromatográfica do sulfato de salbutamol após emissão via Rotahaler 1. 37
3. Caracterização *in vitro* de preparações para inalação 39
3.1 Determinação gravimétrica da distribuição do tamanho das partículas produzidas por aerossolização via IDCs, através do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II. 39
3.1.1 IDC 1 39
3.1.2 IDC 2 43
3.1.3 IDC 3 47
3.2 Determinação gravimétrica da distribuição do tamanho das partículas emitidas pelos IPS, através do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II. 55
3.2.1 Turbohaler 1 55
3.2.2 Turbohaler 2 58
3.2.3 Rotahaler 1 62
3.3 Determinação analítica por cromatografia líquida (HPLC) 77
3.3.1 Curva de calibração do sulfato de salbutamol (SS) 77
3.3.2 Determinação da distribuição do tamanho das partículas emitidas após descarga pelo Rotahaler 1, através do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II, por cromatografia líquida 79
3.4. Discussão de resultados 87
4 – Optimização das formulações dos IPS 96
4.1. Inalação por Inaladores de Pó Seco e Formulação Farmacêutica 96
4.1.1. A formulação farmacêutica e a presença do "carrier" 97
4.1.2. Deposição *in vitro* de um fármaco/propriedades físico-químicas do "carrier" 98
4.1.3. Adição de lactose micronizada 101
4.1.4. Utilização de outro "carrier" que não a lactose 107

4.2 Caracterização farmacotecnológica de diversos tipos de lactose e de Sulfato de Salbutamol 109
4.2.1 Ensaio de escoamento 110
4.2.2 Ensaio do volume aparente 111
4.2.3 Humidade 112
4.2.4 Distribuição da dimensão das partículas - Aerosizer®LD 113
4.2.5. Discussão de resultados 116
5 - Conclusão 118
Referências Bibliográficas 124

FACULDADE DE FARMÁCIA DO PORTO BIBLIOTECA

Abreviaturas

μg – Microgramas

μm – Micrometros

μl - Microlitros

CFC – Clorofluorocarboneto

DAMM – Diâmetro aerodinâmico médio de massa

DE – Dose emitida

Df – Densidade final

Di – Densidade inicial

DEMI – Débito expiratório máximo instantâneo

DPF – Dose de partículas finas

FPF – Fracção de partículas finas

G – Grama

HPLC – Cromatografia Liquida

HFC – Hidrofluorocarboneto

IDC – Inaladores de dose calibrada

IPS – Inalador de pó seco

l/min –Litro/minuto

LG – Lactose grosseira – diâmetro entre 60 – 90 5 μm

LM – Lactose micronizada – diâmetro < 5μm

LTI – Lactose de tamanho intermédio ≈ 15 μm

mg – Miligramas

min - minuto

s - Segundo

SS – Sulfato de Salbutamol

Tr – Tempo de retenção

VMD – Volume median diameter

Índice de Figuras

Página

Figura 1 – Tubo de admissão – "Orofaringe" ou "Garganta Artificial".---------- 27

Figura 2 – Montagem completa do amostrador granulométrico de Anderson.--------- 28

Figura 3 - Percentagem de deposição de partículas após aerossolização pelo IDC 1 a um fluxo de ar de 28 l/min.---------- 42

Figura 4 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 1 a um fluxo de ar de 28 l/min.---------- 42

Figura 5 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após aerossolização pelo IDC 2 a um fluxo de ar de 28 l/min.---------- 46

Figura 6 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 2 a um fluxo de ar de 28 l/min.---------- 46

Figura 7 - Percentagem de deposição de partículas após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min.---------- 51

Figura 8 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min.---------- 51

Figura 9 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min.---------- 52

Figura 10 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min.---------- 52

Figura 11 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Turbohaler 1 a um fluxo de 28 l/min durante 15 s.---------- 57

Figura 12 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Turbohaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 58

Figura 13 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Turbohaler 2 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 61

Figura 14 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Turbohaler 2 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 62

Figura 15 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 65

Figura 16 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 66

Figura 17 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.---------- 68

Figura 18 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.---------- 68

Figura 19 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.---------- 70

Figura 20 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.---------- 71

Figura 21 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min.---------- 73

Figura 22 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15min.---------- 73

Figura 23 - Curva de calibração do sulfato de salbutamol por HPLC.---------- 78

Figura 24 – Cromatograma do Sulfato de Salbutamol (SS).---------- 80

Figura 25 - Percentagem de deposição de partículas no tubo de admissão e em cada estágio do amostrador granulométrico de Anderson após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 84

Figura 26 – Distribuição do tamanho das partículas após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 85

Índice de Quadros

Página

Quadro 1 - Débitos inspiratórios expressos em l/min requeridos para vários tipos de IPS em 39 indivíduos saudáveis.---------- 14

Quadro 2 - Caracterização dos orifícios dos vários estágios do amostrador granulométrico de Aderson - Mark II.---------- 25

Quadro 3 - Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 1 a um fluxo de ar de 28 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.- ---------- 40

Quadro 4 - Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 2 a um fluxo de ar de 28 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.- ---------- 44

Quadro 5 - Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.- ---------- 48

Quadro 6 - Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.- ---------- 49

Quadro 7 – Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após aerossolização de diferentes formulações por diversos IDC a 28 l/min. Os resultados obtidos são valores cumulativos de 6 descargas.---------- 54

Quadro 8 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após aerossolização de uma formulação de sulfato se salbutamol pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min. Os resultados são valores cumulativos de 6 descargas.---------- 54

Quadro 9 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga de uma formulação de formoterol, pelo Turbohaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s. ---------- 56

Quadro 10 - Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga de uma formulação de budesonido pelo Turbohaler 2, a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 60

Quadro 11 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1, a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 64

Quadro 12 - Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1, a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.---------- 67

Quadro 13 - Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.---------- 69

Quadro 14 - Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar 60 l/min durante 15 min.---------- 72

Quadro 15 – Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelos diferentes inaladores de pó seco a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.---------- 75

Quadro 16 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.---------- 75

Quadro 17 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.---------- 76

Quadro 18 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min.---------- 76

Quadro 19 – Tempos de retenção e áreas correspondentes aos picos obtidos para as diferentes concentrações de solução padrão de sulfato de salbutamol.---------- 77

Quadro 20 – Áreas e tempos de retenção dos picos obtidos de sulfato de salbutamol que permaneceu no dispositivo e nas cápsulas e o depositado no tubo de admissão e nos vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson.---------- 81

Quadro 21 - Quantidade de partículas de sulfato de salbutamol que ficaram retidas nas cápsulas e no interior do inalador.---------- 82

Quadro 22 – Perfil de deposição de uma formulação de sulfato de salbutamol, no amostrador granulométrico de Anderson, após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1.-
---------- 83

Quadro 23 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson - Mark II, após 5 descargas pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante15 s.---------- 86

Quadro 24 - Diferentes sequências da mistura ternária composta por LG, sulfato de salbutamol e LM. [a] Componentes misturados durante 30 min; [b] Último componente misturado com a ligação inicial durante 30 min, LM - lactose micronizada ≈5 μm; LTI –lactose de tamanho intermédio ≈15,9 μm.---------- 103

Quadro 25 - Perfis de deposição do sulfato de salbutamol a um fluxo de ar de 60 l/min pelo Rotahaler. LM - lactose micronizada; LTI - lactose de tamanho intermédio.---- 104

Quadro 26 - Perfis de deposição do sulfato de salbutamol a um fluxo de ar de 90 l/min pelo Rotahaler.---------- 105

Quadro 27 – Caracterização de vários tipos de lactose e de sulfato de salbutamol. Di corresponde à densidade inicial e Df corresponde à densidade final.---------- 114

Quadro 28 – Distribuição da dimensão das partículas de sulfato de salbutamol e de diferentes tipos lactose, utilizando o Aerosizer ® LD---------- 115

1 - Inalação de fármacos – Aspectos gerais

Actualmente a inalação de fármacos a partir de preparações para inalação é considerada a terapêutica de primeira linha no tratamento de doenças pulmonares como a asma, a doença pulmonar obstrutiva e a fibrose quística. A administração de fármacos por esta via permite a sua libertação directamente no tracto respiratório, local de acção terapêutica, sendo por este motivo conseguida uma acção terapêutica mais rápida e com uma dose de fármaco mais pequena quando comparada com as doses necessárias para uma administração "*per os*".

Quando se administra por via oral um broncodilatador são necessárias duas a três horas para que se verifique a sua acção terapêutica, enquanto que ao ser administrado por via inalatória são suficientes quinze a trinta minutos para que o mesmo efeito possa ser alcançado. Pequenas doses de fármaco inalado, na ordem dos microgramas, produzem uma resposta terapêutica de igual intensidade à evidenciada pela administração de 5-10 mg de uma dose oral (1).

A via inalatória como forma de administração de fármacos no sistema respiratório, diminui, assim, a quantidade de fármaco presente na corrente circulatória minimizando a ocorrência de efeitos colaterais inerentes à absorção dos mesmos, revestindo-se de particular importância quando se trata da administração de corticosteróides. Desta forma é também evitada a degradação gastrointestinal das moléculas de fármaco e o efeito da primeira passagem pelo fígado.

Apesar das inúmeras vantagens associadas à via inalatória, a sua eficácia terapêutica não é muito elevada, visto que apenas 10% da dose inalada atinge o tracto

respiratório inferior. Por outro lado, apesar de ser possível um inicio de acção rápido, a sua duração é relativamente pequena, uma vez que a molécula de fármaco é rapidamente removida do sistema respiratório por diversos mecanismos de eliminação dos pulmões.

A via inalatória inicialmente preferida para o tratamento de doenças pulmonares é, hoje em dia, alvo de estudos para a administração de fármacos, como é o caso da insulina, da heparina e da ergotamina, com o objectivo de conseguir um efeito sistémico através da absorção ao nível da circulação pulmonar sendo evitada a hidrólise no tracto gastrointestinal e o efeito da primeira passagem, tornando, por outro lado, a administração destes fármacos mais cómoda para os doentes (2).

A Farmacopeia Portuguesa VI define preparações para inalação como "preparações líquidas ou sólidas contendo um ou vários princípios activos destinados a ser administrados sob a forma de vapores de aerossoles ou de pós nas vias respiratórias, tendo em vista uma acção local ou sistémica".

Estabelece, assim, duas categorias: preparações líquidas (soluções ou suspensões inaladas como vapores ou aerossoles) e preparações sólidas (pós, comprimidos e cápsulas) que podem ser directamente inaladas mediante dispositivos adequados para pó ou após a sua dissolução como vapores ou aerossoles. Na primeira categoria estão incluídos os inaladores de dose calibrada (IDC) e os nebulizadores, e na segunda os inaladores de pó seco (IPS) (3).

1.1 Factores que contribuem para a eficácia da terapêutica inalatória

A inalação de fármacos surge aparentemente como uma forma muito fácil de administração quer por permitir uma deposição de fármacos directamente no seu local de acção, no tracto respiratório, quer por traduzir um boa alternativa à via injectável. No entanto, surgem alguns problemas como, a pequena quantidade de fármaco inalada comparativamente com a dose libertada pelo inalador, a fraca reproductibilidade da dose inalada, o receio de reacções alérgicas pelo sistema respiratório e a variabilidade do transporte do fármaco para a circulação sistémica.

Quando se recorre a esta via tem que considerar-se a possibilidade de o fármaco não alcançar o local de acção ou pelo menos não atingir a dose terapêutica. De facto, os estudos realizados demonstraram uma grande variabilidade entre, a fracção prescrita (disponível no dispositivo inalatório), a fracção gerada (libertada pelo dispositivo), a fracção inalada (quantidade de fármaco realmente libertada por um determinado dispositivo segundo um determinado padrão ventilatório e por um período de tempo definido) e a fracção depositada (quantidade de fármaco depositada nas vias aéreas inferiores). Para existir uma correlação entre a dose prescrita e a dose depositada é necessário conjugar diversos factores tais como, a formulação, as características individuais do doente e o dispositivo inalatório (4).

1.1.1 Tamanho das partículas

A deposição de partículas nos pulmões é fortemente condicionada pelo seu tamanho. Partículas de tamanho superior a 10 μm (designadas por inaláveis) são retidas

na boca e na orofaringe, enquanto que, por outro lado, partículas de tamanho inferior a 0,5 μm são inaladas até aos alvéolos e consequentemente exaladas sem que fiquem depositadas nos pulmões São consideradas partículas respiráveis aquelas que penetram na parte inferior do tracto respiratório e cujo diâmetro óptimo é entre 1 μm e 5 μm. As formulações utilizadas devem permitir a emissão do inalador de partículas com estas características (5).

Para os inaladores de dose calibrada é importante atender às características físico-químicas do fármaco e à sua dispersão no propelente. Em relação ao propelente utilizado na maioria dos aerossoles pressurizados, geralmente corresponde a uma mistura de dois gases em diferentes proporções. O objectivo é a obtenção de determinados valores de pressão de vapor, que vão influenciar o tamanho, a forma e a velocidade das partículas aerossolizadas e consequentemente a resposta terapêutica do fármaco (6).

Para os IPS é importante que o pó se liberte adequadamente do inalador sendo necessário, na maioria das vezes, incluir na formulação um "carrier".

1.1.2 Padrão ventilatório

Factores intrínsecos ao doente como, o padrão ventilatório, as características anatómicas das vias aéreas e o correcto conhecimento do modo como funciona o inalador, são condicionantes na optimização da terapêutica inalatória.

O doente deve conseguir conciliar o modo como realiza a respiração com o funcionamento do inalador, sendo importante que efectue uma inspiração profunda de forma a alcançar um débito inspiratório adequado. A coordenação entre inspiração e

activação do dispositivo torna-se particularmente importante quando se opera com os IDC, pois só desta forma é possível a inalação da dose terapêutica disponível no dispositivo. Para os IPS este facto não tem tanta relevância, sendo no entanto necessário que seja atingido um determinado débito inspiratório (7).

O débito inspiratório ideal é de aproximadamente 30 l/min, o qual poderá variar de acordo com o tipo de inalador em questão. Débitos inspiratórios elevados sugerem um aumento da fracção de partículas finas emitidas pelos IPS, visto estar promovida a desagregação das partículas de fármaco da formulação. No entanto, é de realçar que os débitos elevados favorecem a deposição orofaringea, pelo que será necessário estabelecer o débito inspiratório óptimo de forma a alcançar a maior fracção de partículas finas possíveis com mínima deposição orofaringea (8).

1.2 Dispositivos para administração de fármacos por inalação

Os dispositivos utilizados para administração de fármacos por via inalatória disponíveis no mercado são, os inaladores de pó seco (IPS), os inaladores de dose calibrada ou pressurizados com válvula doseadora (IDC) e os nebulizadores.

1.2.1 Inaladores de dose calibrada - IDC

Os IDC foram os primeiros a serem introduzidos no mercado farmacêutico e desde então os mais utilizados, dado o baixo custo de fabrico e facilidade de utilização. O fármaco micronizado encontra-se disperso num ou numa mistura de propelente(s) liquefeito(s) no interior de um recipiente resistente à pressão, que ao expandirem-se pela

abertura de uma válvula do próprio recipiente, formam uma dispersão gasosa. O aerossole é gerado a velocidades elevadas e com partículas de elevado diâmetro, adquirindo características de partículas respiráveis após a evaporação do propelente.

Os propelentes inicialmente utilizados foram os clorofluorocarbonetos (CFCs) pois são quimicamente estáveis e de baixa toxicidade. No entanto foi-lhes atribuída a contribuição para a depleção da camada de ozono, tendo sido, pelo Protocolo de Montreal, proibida a sua produção e utilização. O uso dos CFCs passou a ser permitido apenas em situações consideradas essenciais, ou seja, naquelas situações que pudessem colocar em risco o funcionamento da sociedade, nomeadamente a saúde pública, por não existirem substitutos com características técnica adequadas ou economicamente viáveis.

Esta controvérsia colocou em risco a utilização futura destes dispositivos na terapêutica inalatória, o que levou à criação de alternativas, tais como, a utilização de propelentes "amigos do ozono", surgindo deste modo os hidrofluorocarbonetos (HFCs) como prováveis substitutos dos CFCs nas formulações dos IDC. Também originou o aparecimento de novos dispositivos inalatórios, que não necessitam de incluir propelentes na formulação que acondicionam e que são designados por inaladores de pó seco (IPS) (9).

Dos vários propelentes investigados, os HFCs foram os escolhidos por serem aqueles cujas propriedades físico-químicas mais se assemelhavam com as dos CFCs. Para além destas semelhanças cumpriam outros requisitos essenciais como, não serem inflamáveis, não serem tóxicos para o ser humano, serem gases liquefeitos, quimicamente estáveis e possuírem cheiro e sabor aceitáveis.

Apesar de ser possível a substituição dos CFCs pelos HFCs ela não foi muito simples, pois implicou mudanças, por vezes radicais, nas formulações já existentes

devido ao facto dos HFCs serem fracos solventes, sendo incompatíveis, do ponto de vista tecnológico, com os excipientes correntemente utilizados, nomeadamente com o ácido oleico, a lecitina e o trioleato de sorbitano (Span). Assim, houve, necessidade de proceder-se à substituição de alguns dos excipientes utilizados por outros mais solúveis nos novos propelentes (por exemplo, polivinilpirrolidona, tocoferol, Tweens) ou então de adicionar-se à formulação cossolventes (por exemplo, etanol).

As pressões de vapor e os pontos de ebulição dos HFCs e dos CFCs são também significativamente diferentes. Os HFCs possuem pressões de vapor mais elevados.

A pressão de vapor num IDC determina a velocidade de evaporação do propelente e consequentemente, o tamanho das gotículas de aerossole formadas e a eficácia da sua deposição nos pulmões. A pressão de vapor criada nos IDC com HFCs é, assim, mais elevada do que nos com CFCs e não sendo viável a mistura de propelentes (HFC) com pressões de vapor significativamente diferentes, como acontecia nos IDC com CFCs, foi necessário incluir na formulação um componente não volátil como o glicerol ou o propilenoglicol de modo a aumentar as dimensões das partículas do aerossole e obter-se, assim, partículas respiráveis (1 e 5 μm).

A válvula doseadora é um dos componentes mais importantes nos IDC, pois é responsável pela emissão da dose terapêutica de fármaco do inalador. Também a válvula doseadora ficou comprometida com esta substituição, pois os HFCs afectaram as características dos elastómeros da válvula, resultando deste facto a necessidade de desenvolver novos elastómeros.

Foram, assim, feitas diversas alterações nas formulações e no próprio dispositivo de forma a alcançar a mesma "performance" dos IDC já existentes (10).

Os IDC continuaram a ser dispositivos muito utilizados por:

- Serem fáceis de utilizar e transportar;
- Emitirem uma dose fixa independentemente do débito inalatório;
- Permitirem a administração de doses múltiplas;
- Estarem protegidos do meio exterior, não sendo afectados pela humidade e temperatura;
- Baixo custo.

A estes dispositivos estão, no entanto, associadas algumas desvantagens como:

- Elevada deposição de fármaco na orofaringe;
- Exigência de uma correcta técnica de utlização, na medida em que é necessário boa coordenação entre inspiração e inalação;
- Limitação da dose a ser administrada (limite da dose até 1mg) devido às pequenas dimensões dos orifícios da válvula doseadora e do difusor;
- Broncoconstrição parodoxal relacionadas com o uso de propelentes e tensioactivos;
- Dificuldade em determinar o número de doses que permanecem disponíveis no dispositivo;
- Eficácia diminuída em crianças muito novas, para as quais será necessário recorrer a uma câmara expansora.

1.2.2 Inaladores de pó seco – IPS

A necessidade de eliminar os CFCs dos IDC e as dificuldades que envolveram a substituição destes propelentes por outros propelentes desprovidos do átomo de cloro, despoletou o início de uma nova era de dispositivos para inalação - os IPS.

Os IPS libertam partículas de fármaco na forma de pó seco, geralmente veiculado por um transportador ("carrier"), as quais são inaladas mediante inspiração activa pelo doente.

Existem vários tipos de IPS, diferindo uns dos outros pela forma como armazenam e libertam o fármaco. São, assim, classificados pela Farmacopeia Portuguesa VI como, formas farmacêuticas para dose única, aqueles em que a dose terapêutica de fármaco se encontra individualizada numa cápsula (por exemplo o Rotahaler) ou em blisters (por exemplo o Diskus), e formas farmacêuticas para dose múltipla, aqueles em que o fármaco se encontra num reservatório e mediante um sistema doseador integrado no dispositivo inalatório é libertado na dose terapêutica pretendida (por exemplo o Turbohaler) (3).

Os inaladores de pó seco:

- Não necessitam de coordenação entre manipulação do dispositivo e inspiração, sendo mais fáceis de utilizar, principalmente numa situação de crise;
- Não incluem na formulação propelente;
- Possibilitam a administração de doses maiores de fármaco;
- Não transmitem um sabor desagradável;

- São praticamente isentos de efeitos secundários como tosse e broncoconstrição, os quais estão aos IDC devido à elevada deposição de partículas na orofaringe;
- Permitem o conhecimento das doses administradas e das que permanecem no dispositivo.

1.2.2.1 Presença do veículo na formulação do IPS

As formulações dos IPS são geralmente compostas pelo(s) fármaco(s) micronizado(s) (diâmetro ideal entre 1 e 5 μm) e por partículas de "carrier" inerte (30-200 μm). O "carrier" é adicionado à formulação de forma a melhorar o escoamento e a dispersão das partículas de fármaco do inalador, dado que partículas de dimensões tão pequenas têm tendência a agregar-se, dificultando a sua libertação do dispositivo e comprometendo posteriormente a sua deposição nos pulmões.

Uma vez que o "carrier" estabelece ligações com as partículas de fármaco é importante ter em consideração as suas características fisico-químicas pois é necessário que favoreça a libertação do fármaco após inalação sem alterar a actividade terapêutica e o perfil de deposição. Também é necessário que após inalação seja libertado do fármaco e seja removido sem exercer qualquer efeito nocivo no sistema respiratório.

A lactose é o "carrier" mais utilizado por ser estável do ponto de vista químico e físico, inerte e não evidenciar qualquer efeito nocivo no organismo humano (8).

A ligação que o "carrier" estabelece com o fármaco deverá possuir uma intensidade que permita uma eficiente libertação de fármaco do dispositivo inalatório e

consiga desprender-se dele após inalação. Sempre que exista uma deficiente separação das partículas de fármaco do "carrier" resultará numa fraca deposição pulmonar. Assim, o "carrier" torna-se num constituinte importante da formulação, pelo que qualquer alteração nas suas características físico–químicas poderá alterar o perfil de deposição do fármaco.

Na escolha do "carrier" é importante ter em atenção o processo de cristalização, formas polimórficas, o tamanho das suas partículas, a forma e a textura.

Todas estas características afectam a ligação que é estabelecida com o fármaco, pelo que consequentemente influenciam a desagregação e a dispersão da formulação após inalação. Alguns estudos demonstraram que a diminuição do tamanho e da rugosidade da superfície das partículas de "carrier" favorecem a separação da estrutura "carrier"-fármaco. Outros estudos evidenciaram que a FFP (Fracção de Partículas Finas) obtida para uma formulação contendo sulfato de salbutamol (SS) e lactose no anidra era superior à obtida para formulações de SS e lactose monohidratada, de formulações de SS e cristais de lactose, de formulações de SS e lactose amorfa (11).

Diversos trabalhos têm sido realizados com o objectivo de identificarem as características do "carrier" que favoreçam a deposição dos fármacos por um determinado dispositivo.

Estudos mais recentes incluíram na formulação um terceiro composto (mesma natureza química que o veículo principal ou de natureza diferente) de tenuidade mais fina de forma a cobrir os locais activos de maior energia do "carrier" principal, permanecendo o fármaco apenas ligado à superfície do "carrier", resultando num enfraquecimento desta ligação e permitindo ao fármaco desligar-se mais facilmente após inalação (12).

As formulações contidas no dispositivo Turbohaler não incluem nenhum "carrier", recorrendo-se à produção de agregados soltos de fármaco de fácil desagregação.

1.2.2.2 Influência do débito inspiratório na libertação do fármaco por IPS

Enquanto que nos IDC o aerossole produzido não depende do débito inspiratório, nos dispositivos IPS para que haja libertação de partículas é essencial que o doente proceda a uma inspiração com um débito inspiratório adequado, o qual varia conforme o dispositivo utilizado. Como consequência, a eficácia do IPS é totalmente dependente da actuação por parte do doente, fazendo-a depender de uma fonte de energia variável, que é a inalação.

Os IPS existentes no mercado diferem entre si quanto ao sistema de dosear o fármaco e quanto à sua resistência específica, a qual irá condicionar o débito inspiratório a que o doente deverá operar (13).

Existem poucos estudos que correlacionem a dose de partículas libertada por um IPS em função do débito inspiratório. No entanto, os estudos realizados permitiram concluir que o débito inspiratório influencia a dose de partículas libertadas.

Pitcairn *et al.* demonstraram que uma inalação lenta origina uma pequena deposição pulmonar, quando comparada com uma inalação rápida e apesar da quantidade de fármaco depositada nos pulmões ser diferente para débitos inspiratórios diferentes, a sua distribuição nas vias aéreas é feita de um modo semelhante.

Newman *et al.* realizaram um estudo envolvendo 10 asmáticos, aos quais foi administrado 500 μg de terbutalina utilizando um Turbohaler, a dois débitos

inspiratórios diferentes, 30 l/min e a 60 l/min. A quantidade de fármaco depositada nos pulmões foi maior para o débito de 60 l/min do que para o de 30 l/min (16,8% e 9,1% respectivamente). Também foi observada uma broncodilatação mais eficaz com o débito inspiratório superior, no entanto esta diferença não é estatisticamente significativa (11).

Holmann *et al.* investigaram o esforço requerido durante a inspiração para conseguir descarregar uma dose de fármaco por vários inaladores de pó seco, obtendo diferentes valores, para diferentes dispositivos. Os débitos inspiratórios requeridos variavam entre valores de 24 l/min para o Turbohaler e de 90-120 l/min para o Spinhaler.

Já em 1971, Bell *et al.* tinham demonstrado que para um débito inspiratório de 60 l/min, a dose de fármaco libertada da cápsula do Spinhaler dependia fundamentalmente do tamanho médio das partículas e das características da lactose usada como veículo.

Vidgren *et al.* através de ensaios *in vitro*, com impactor em cascata, concluíram que a dose de partículas finas libertadas pelo inalador ISF (Cyclohaler) era superior à obtida via Spinhaler, para diferentes tipos de formulações de cromoglicato de sódio, a um débito inspiratório de 60 l/min.

Bell *et al.* realizaram estudos *in vitro* de forma a determinar qual a dose de partículas finas libertadas pelo Spinhaler, a um débito inspiratório de 60 l/min, para uma formulação em que o diâmetro médio das partículas era inferior a 5,5 μm. Calcularam que a dose seria de 23,9%. Wetterlin *et al.* obteve ordens de grandeza semelhantes para a fracção de partículas respiráveis libertadas pelo Turbohaler, com débitos inspiratórios de apenas 28,3 l/min.

Zanen *et al.* demonstraram que para débitos compreendidos entre 40 e 80 l/min, o diâmetro das partículas respiráveis de salbutamol, libertadas pelo Cyclohaler, era

constante e inferior a 5 μm. Quando aumentaram o débito inspiratório obtiveram uma maior fracção de partículas com diâmetros compreendidos entre 5 μm e 7 μm.

Vários estudos demonstraram que a quantidade de partículas libertadas por um IPS aumentava à medida que aumentava o débito inspiratório. Também é evidente, existirem diferenças na quantidade de partículas libertadas pelos diferentes IPS para um mesmo débito inspiratório, pelo que o débito inspiratório capaz de libertar as partículas de fármaco do inalador não é o mesmo para os diferentes IPS (14).

Boer *et al.* realizaram um estudo com 39 indivíduos saudáveis, de modo a estudar os débitos inspiratórios requeridos para diferentes IPS. Os resultados encontrados para uma inspiração profunda, estão indicados no Quadro 1.

Quadro 1- Débitos inspiratórios expressos em l/min requeridos para vários tipos de IPS em 39 indivíduos saudáveis.

IPS	Média	Limites
Rotahaler	161	76 - 220
Spinhaler	137	67 - 187
Cyclohaler	126	58 - 171
Diskhaler	109	48 - 148
Turbohaler	59	25 - 83
Inalador da Ingelheim	50	24 – 71

Obtiveram-se valores diferentes consoante o dispositivo envolvido, o que demonstrou que o débito requerido para o Turbohaler que possui maior resistência específica, é inferior ao exigido pelo Spinhaler que possui menor resistência específica.

Quanto mais baixa for a resistência específica do dispositivo, maior será o débito inspiratório (15).

É, assim, um facto que os diferentes dispositivos actuam a diferentes débitos, pelo que é sempre recomendado que o doente proceda a uma inspiração profunda e forte, independentemente do dispositivo utilizado, de modo a que seja conseguida a inalação da maior quantidade de partículas de fármaco. Geralmente é considerado como o valor ideal de débito inspiratório para os IPS o débito de 60 l/min (14) (15).

1.2.2.3 Influência da resistência específica dos inaladores na obtenção de FPF das preparações de pó para inalação

A dispersão e consequente deposição das partículas de fármaco no tracto respiratório pelos IPS depende do fluxo inspiratório realizado pelo doente, das características fisico-químicas do fármaco e do "carrier" e do desenho do dispositivo inalatório.

Os diferentes dispositivos inalatórios apresentam diferentes deposições de fármaco. Assim para que uma dose terapêutica de fármaco seja libertada no local de acção é fundamental combinar a construção do dispositivo com a formulação utilizada.

Para os IPS é importante que no interior do dispositivo, no momento da inalação, seja gerado um fluxo com certa turbulência de forma a favorecer a libertação e desagregação da formulação e a originar elevadas FPF (fracção de partículas finas). O ideal será alcançar este efeito para um débito inspiratório baixo.

A turbulência do fluxo de ar criada no inalador depende da configuração interna do dispositivo, ou seja, da sua forma, dimensões e modo como é libertada a dose de fármaco, por meio de cápsulas, de blisters, ou de um reservatório.

A determinação do grau desta turbulência não é fácil, ultrapassando as áreas farmacêuticas e envolvendo já áreas como a física e engenharia. Alguns autores têm vindo a desenvolver técnicas no sentido de determinar as características do fluxo que atravessa os dispositivos através da determinação da resistência que estes oferecem ao fluxo de ar que os atravessa e tentam relacioná-la com as propriedades aerodinâmicas do inalador.

É de esperar que quanto maior for a resistência que o inalador oferece ao fluxo de ar que o atravessa maior será o grau de turbulência criado no seu interior, originando valores elevados de FPF para um determinado débito inspiratório. No entanto, estes valores de resistência não deverão ser nem muito baixos nem muito altos, pois o aumento da resistência no interior do dispositivo por diminuição das suas dimensões internas, poderá corresponder um maior esforço por parte do doente para atingir o débito inspiratório adequado (16).

Em concordância com estes resultados, estudos realizados demonstraram que os dispositivos que possuíam menores valores de resistência originavam baixas FPF para qualquer débito utilizado.

De acordo com os valores de resistência apresentados, Clark e Hollingworth estabeleceram uma classificação para os IPS em baixa resistência (< 5 $(mbar)^{1/2}$/ (l/min)), média resistência (5-10 $(mbar)^{1/2}$/ (l/min)) e alta resistência (>10 $(mbar)^{1/2}$/ (l/min) (15).

De acordo com esta classificação Martin et al. classificaram os IPS do seguinte modo: baixa resistência (Spinhaler, Rotahaler), média resistência (Cyclohaler,

Diskhaler) e alta resistência (Inhalers Ingelheim). O Turbohaler é também classificado como sendo um inalador de alta resistência (16).

Quando os inaladores de pó seco são manuseados no débito inspiratório adequado, independentemente da resistência específica de cada um, é obtida a mesma FPF de fármaco no caso de ser utilizada a mesma formulação. Do mesmo modo, são obtidas FPF similares, de uma mesma formulação, por diferentes dispositivos a um débito inspiratório de 60 l/min. No entanto a FPF de fármaco obtida para diferentes dispositivos a 30 l/min, depende do dispositivo utilizado (17).

Será de esperar que para débitos inspiratórios elevados e uma mesma formulação a "performance" dos diferentes IPS seja similar, independentemente da organização interna de cada um, no entanto para débitos baixos, que são os desejáveis, existirá diferenças quanto à FPF emitidas pelos diferentes dispositivos. Neste último caso há que atender às propriedades aerodinâmicas do dispositivo, formulação e débito inspiratório, ou seja, para que um dispositivo de baixa resistência origine uma FPF semelhante a um dispositivo de média resistência, terá de utilizar-se um débito inspiratório superior, ou então, fazer-se alterações na formulação.

1.2.2.4. IPS / Humidade Ambiental

A humidade pode influenciar as características de libertação da formulação do IPS, uma vez que favorece a agregação das partículas. Como os diferentes tipos de dispositivos diferem no modo de armazenamento do fármaco, são afectados de forma diferente pela humidade do ar.

O dispositivo Diskhaler é constituído por doses únicas de fármaco, as quais estão resguardadas em blisters, pelo que não é influenciado por ambientes muito húmidos.

No Turbohaler, o fármaco está contido num reservatório, tornando-se menos eficiente em ambientes com elevados valores de humidade. Com um índice de humidade relativa de 85% verifica-se um decréscimo de 25% da dose de fármaco disponível para débitos inspiratórios adequados.

O dispositivo Rotacaps pode ser negativamente afectado quando exposto a elevada humidade ambiental.

Contudo, verifica-se que na maioria dos países a humidade ambiental não altera eficácia dos IPS (18).

Uma forte desvantagem associada aos IPS é o facto de ser necessário um débito inspiratório elevado para que ocorra uma óptima libertação de fármaco nos pulmões (débitos inspiratórios de pelo menos 30 l/min). Outras limitações também lhe estão associadas como:

- O facto de alguns deles necessitarem de ser recarregados como o Diskhaler e o Rotahaler, o que se torna desconfortável para o doente;
- A necessidade de uma limpeza regular por forma a evitar a acumulação de pó no dispositivo;
- A limitação do número de fármacos disponíveis;
- Evitar ambientes húmidos por causa do carácter higroscópico dos pós (19).

A formulação farmacêutica, o dispositivo inalatório e o fluxo inspiratório são factores preponderantes para a eficácia da terapêutica inalatória. Reveste-se assim, de extrema importância uma completa caracterização da formulação e o comportamento do

aerossole formado, quer para os IDC quer para os IPS. O tamanho das partículas que constituem o aerossole deve estar compreendido entre 1 μm e 5 μm para que seja possível uma eficaz deposição na parte inferior do tracto respiratório. Partículas de tamanho inferior a 0,5 μm são inaladas até aos alvéolos e consequentemente exaladas sem que fiquem depositadas no pulmão e partículas de tamanho superior a 10 μm são retidas na boca e orofaringe ou absorvidas sistemicamente se deglutidas.

Vários métodos poderão ser utilizados para caracterizar e avaliar o comportamento *in vitro* das formulações aerossolizadas. Os métodos de separação por inércia, como o amostrador granulométrico de Andersen, são os vulgarmente utilizados, e o escolhido para os ensaios realizados ao longo deste trabalho. Em todos os métodos de separação por inércia o fundamento de funcionamento é o mesmo, consistindo em fazer passar pelo aparelho o aerossole e um fluxo de ar a uma velocidade constante.

2. Avaliação aerodinâmica das partículas finas

Após inalação as partículas que constituem as preparações para inalação são dispersas pelo aparelho respiratório, sendo importante que atinjam uma boa deposição na região dos bronquíolos. Para que este objectivo possa ser alcançado é importante conciliar inúmeros factores como a formulação, o tamanho das partículas de fármaco, a velocidade com que estas são libertadas e o dispositivo inalatório em causa.

Há, então que assegurar que quando se realiza uma inalação haverá uma fracção da dose emitida a exercer um efeito terapêutico, ou seja, que uma determinada fracção da dose emitida é inalada e depositada na parte inferior do tracto respiratório.

Assim, é importante determinar pré-clinicamente qual a FPF que é produzida por aerossolização da formulação, a qual corresponderá à fracção que realmente se depositará no pulmão e que irá exercer um efeito terapêutico.

A FPF é o resultado do balanço entre a força de coesão das partículas e a eficácia do inalador. A coesão entre as partículas é proporcional à sua área específica de superfície e inversamente proporcional ao seu tamanho. Por outro lado o fluxo de ar necessário para promover a dispersão das partículas do inalador é inversamente proporcional ao seu tamanho. Assim, partículas de pequenas dimensões (< 2 μm) dificilmente são dispersadas sob a forma de aerossole devido à sua tendência em agregar-se, requerendo fluxos de ar turbulentos, enquanto que partículas com tamanho compreendido entre 3 μm e 5 μm são mais facilmente dispersadas (menores áreas de superfície e menores forças de coesão) e dependem menos do fluxo de ar criado no inalador. Estudos realizados com formulações de pós cujo tamanho das partículas estava compreendido entre 3 μm e 5 μm evidenciaram um aumento do esvaziamento do pó do

do inalador à medida que aumentava o fluxo de ar, uma vez que o aumento da velocidade do fluxo de ar origina um acréscimo da energia necessária para a libertação e dispersão das partículas, resultando num aumento da FPF que constitui o aerossole. Por outro lado um aumento da velocidade do fluxo de ar significa um aumento da probabilidade de impacto das partículas na orofaringe, e atendendo que o impacto das partículas na parte superior do tracto respiratório é proporcional à velocidade do fluxo e à raiz quadrada do tamanho das partículas, o aumento do fluxo torna-se desvantajoso para partículas de maiores dimensões (20).

Assim, para a obtenção de uma boa FPF da formulação aerossolizada, para além do tamanho das partículas que constituem a formulação e da velocidade do fluxo que é gerada, é de extrema importância a eficácia com que o dispositivo inalatório dispersa a formulação, a qual depende da sua organização interna. Diferentes formas e diâmetros internos dos dispositivos geram diferentes resistências ao fluxo de ar que os atravessa, criando diferentes graus de turbulência. Ao aumento da eficácia da dispersão do inalador corresponde um aumento da quebra dos aglomerados em partículas finas. Assim, será de esperar a obtenção de valores diferentes de FPF quando uma formulação for utilizada em diferentes dispositivos mantendo a velocidade constante. Há, então, que tentar optimizar o dispositivo, através de, por exemplo, um aumento da velocidade do fluxo de ar.

Para tentar simular a deposição *in vivo* é, então, realizada a avaliação aerodinâmica das partículas finas a qual pode ser feita em diversos aparelhos, sendo os mais utilizados, o Twin-Stage Liquid Impinger e o Impactor em Cascata da Andersen.

O funcionamento básico destes aparelhos é o mesmo, ou seja, é fazer passar o aerossole e um fluxo de ar pelo aparelho a uma velocidade constante

O mais utilizado *in vitro* é o impactor em cascata, constituído por vários estágios de depósito com orifícios de diâmetros sucessivamente menores, onde são retidas as partículas consoante o seu tamanho. Corresponde a uma técnica não invasiva que permite o fraccionamento e recolha do aerossole gerado após libertação do inalador e de ser feito passar por uma "garganta" a qual mimetiza o que ocorre *in vivo*.

No impactor em cascata é correlacionado o factor velocidade com massa, onde partículas de maiores dimensões (> 10 μm) são depositadas nos estágios superiores por impacto e partículas mais finas conseguem penetrar nos estágios mais profundos do aparelho. Por meio deste aparelho é feita uma determinação da distribuição do tamanho das partículas, de muita utilidade para a comparação de diferentes dispositivos inalatórios e formulações.

Visto os impactores em cascata corresponderem a técnicas morosas de quantificação fisica-quimica das partículas de aerossole geradas, o twin–stage liquid impinger corresponde a uma alternativa para um rápido controlo de aerossoles. Este aparelho é constituído apenas por dois estágios, separados por um filtro com orifícios de diâmetro bem definidos. Após descarga pelo inalador, o aerossole gerado atravessa o impinger, inicialmente por uma parte que tenta simular a orofaringe e em seguida atravessa o filtro. Apenas partículas de tamanho inferior a 5-7 μm atravessam este filtro, sendo recolhidas no solvente que compõe o segundo estágio. Assim, a FPF pode ser calculada por dois processos, em percentagem do quociente de fármaco recolhido no segundo estágio sobre o total de fármaco recolhido nos dois estágios ou em percentagem do quociente da quantidade de fármaco recolhida no segundo estágio sobre a dose nominal. A primeira determinação é a mais utilizada visto representar a capacidade do inalador em dispersar o aerossole e pelo facto de apenas considerar a quantidade de fármaco que é realmente libertada nas vias aéreas.

Apesar do twin–stage liquid impinger ter demonstrado um boa correlação com o que ocorre *in vivo,* é um processo de determinação limitativo, pois a determinação da distribuição do tamanho das partículas é efectuado num intervalo restrito de diâmetros, e em que a separação entre os dois estágios não está perfeitamente definida (16).

2.1 Amostrador granulométrico de Andersen

O impactor em cascata de Andersen ou o amostrador granulométrico Anderson, segundo designação pela Farmacopeia Portuguesa VI, é um aparelho constituído por oito estágios de alumínio e um estágio final de filtração. Os estágios encontram-se ligados por molas e a estanquicidade das junções é assegurada por juntas tóricas. Cada um destes estágios é constituído por orifícios com intervalos de diâmetros bem definidos, os quais vão sendo sucessivamente mais estreitos até ao estágio de filtração.

Existem dois modelos de impactores de Anderson, o modelo original em que todos os orifícios dos vários estágios estão dispostos de um forma circular – o modelo Mark I, que surgiu em 1970 e o modelo Mark II , que surgiu em 1977, (21) no qual os dois primeiros estágios são constituídos por orifícios dispostos de uma forma radial ao passo que nos restantes seis estágios se dispõem de uma forma circular. A forma radial constitui um aperfeiçoamento do método, com o intuito de reduzir a turbulência com que o fluxo de ar atravessa o aparelho. Outra diferença entre estes dois modelos reside no facto de o modelo Mark II possuir nos dois primeiros estágios um menor número de orifícios e de maior diâmetro relativamente ao Mark I o que evidenciou uma diminuição dos erros nas determinações, por diminuir a perda de partículas por impacto contra as paredes do aparelho e por diminuir a agregação das partículas.

2.1.1 Amostrador granulométrico de Anderson- Mark II

O amostrador granulométrico de Anderson – Mark II foi o aparelho utilizado na realização deste trabalho. Consiste num conjunto de oito estágios, constituídos por um número variável de orifícios os quais vão progressivamente diminuindo de diâmetro desde o estágio zero até ao sétimo estágio. Os estágios, 0 e 1, são constituídos por 96 orifícios dispostos de uma forma radial, os estágios 2, 3, 4, 5, 6 por 400 orifícios dispostos de forma circular e o estágio 7 por 201 orifícios dispostos também de forma circular – Quadro 2

Cada estágio possui uma placa de depósito removível (diâmetro = 3,25"). Cada estágio é aproximadamente 0,75" mais largo em diâmetro que a placa de depósito, de forma a que as partículas que possuam um diâmetro inferior a um determinado estágio não embatam na placa de depósito desse estágio, podendo, então atravessá-lo e passar para o estágio seguinte, sendo apenas recolhidas na placa de depósito correspondente ao estágio em cujo intervalo de diâmetros se incluam.

As placas de depósito são compostas por uma parte côncava e outra convexa, devendo a parte côncava ser colocada para baixo de forma a que seja a sua superfície lisa a contactar com as partículas que atravessam o aparelho. As placas de depósito dos dois primeiros estágios (0 e 1) possuem uma abertura central (7/8") de forma a favorecer também a passagem de fluxo de ar pelo centro do sistema.

Quadro 2 - Caracterização dos orifícios dos vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II.

Estágio	**Distribuição de diâmetros (μm)**	**Diâmetro do orifício (polegadas)**	**Número de orifícios**
0	10,0 – 9,0	0,1004	96
1	9,0 – 5,8	0,0743	96
2	5,8 – 4,7	0,0360	400
3	4,7 – 3,3	0,0280	400
4	3,3 – 2,1	0,0210	400
5	2,1 – 1,1	0,0135	400
6	1,1 – 0,7	0,0100	400
7	0,7 – 0,4	0,0100	201
F	Filtro	0.1100	Estágio terminal de filtração

As partículas aerossolizadas são retidas ao longo dos diferentes estágios de acordo com o seu diâmetro. Ao longo do aparelho (Estágio 0 – 7) as partículas mais pequenas ficam sucessivamente retidas. As partículas de dimensões muito pequenas atravessam todo o aparelho depositando-se no filtro terminal (F).

Para determinar a distribuição do tamanho das partículas recorre-se a métodos gravimétricos e/ou a métodos de análise apropriados.

O tipo de material utilizado nestes ensaios deverá estar de acordo com o método de análise escolhido. Assim, as placas de depósito de metal são as mais utilizadas nas determinações analíticas, pois as amostras nelas colhidas são facilmente dissolvidas num solvente adequado e a solução resultante permite a quantificação do fármaco por um método de análise apropriado. No entanto outros tipos de placas podem ser utilizadas como as de vidro ou discos de fibra de vidro. Assim, quando se pretende fazer uma análise gravimétrica geralmente recorre-se aos discos de fibra de vidro, devido ao seu leve peso e às suas propriedades não higroscópicas. Contudo, não são as mais apropriadas para determinações analíticas devido aos vestígios de vários metais existentes na fibra de vidro. Os pratos de vidro raramente são usados, recorrendo-se a eles, apenas quando há necessidade de observar as partículas recolhidas por métodos ópticos (22).

2.2. Materiais e métodos

2.2.1 Funcionamento do amostrador granulométrico de Anderson

Para a realização de um ensaio de avaliação aerodinâmica das partículas finas o sistema só fica completo quando ao impactor, constituído pelos oito estágios e pelo estágio de filtração, se anexa uma bomba de vazio, que providencia um fluxo de ar constante, e um tubo de admissão de aço dobrado em ângulo recto, que mimetiza a geometria da orofaringe.



Figura 1 – Tubo de admissão – "Orofaringe" ou "Garganta Artificial".

Esta "garganta" artificial permite que o aerossole gerado no inalador percorra o trajecto similar ao que ocorre *in vivo* sofrendo a turbulência que é esperada na boca e na garganta dos doentes a qual é preponderante na desagregação e consequente deposição das partículas no sistema respiratório.

O impactor em cascata possui na sua base uma saída de ar onde será introduzido um tubo de borracha com 59 cm de comprimento, adquirido juntamente com o aparelho, que fará a ligação à porta de entrada da bomba de vazio. Na parte experimental deste trabalho foram utilizadas duas bombas de vazio, uma que funciona a 28 l/min e outra a 60 l/min.

Foi também utilizado um adaptador de borracha que foi colocado no corpo do inalador (no IPS e no IDC) e assegura a junção estanque entre a ponteira do inalador e o tubo de admissão, permitindo alinhar num mesmo plano a face anterior da ponteira e a face do tubo.

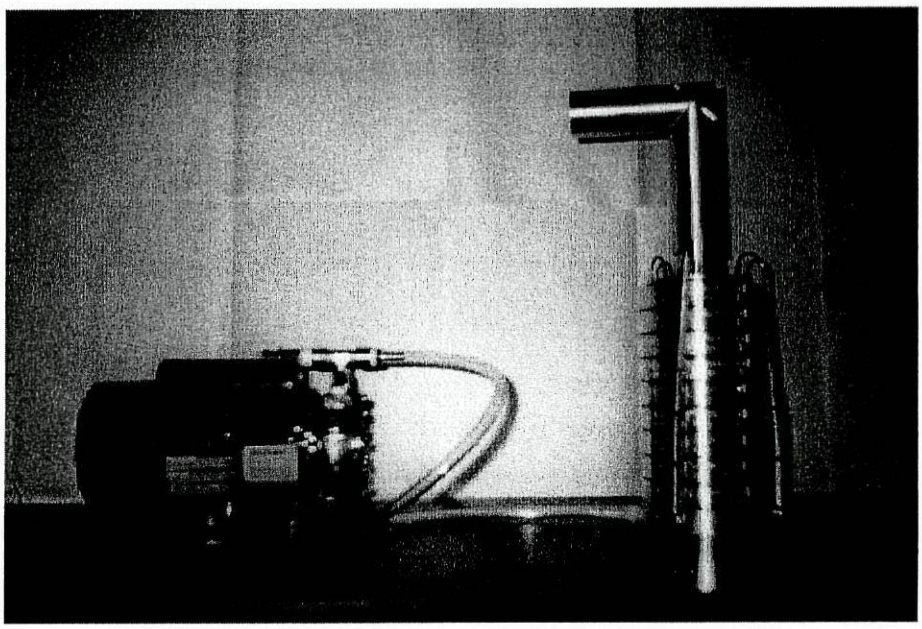


Figura 2 – Montagem completa do amostrador granulométrico de Anderson

Na configuração utilizada para os inaladores de pó seco, quando se trabalha com amostras que contêm partículas maiores que 10 μm é incluído no sistema um pré-separador, o qual corresponde a um compartimento com um orifício interno de diâmetro de 0,53" e três tubos de passagem, que é colocado acima do estágio superior e ligado ao tubo de admissão. Este pré-separador permite recolher a maior fracção não respirável do pó. Erros significativos podem ser cometidos quando não se utiliza o pré-separador,

principalmente para amostras constituídas por partículas de maiores dimensões. Este componente extra não foi utilizado neste trabalho experimental.

Para dar início a um ensaio há que estabelecer em primeiro lugar a conexão entre todos os constituintes do sistema e então colocar o sistema em funcionamento.

Os princípios básicos de funcionamento do amostrador granulométrico de Anderson segundo a Farmacopeia Portuguesa VI – Suplemento 2000, são:

- Montar o amostrador e verificar a estanquicidade do aparelho;
- Encaixar o tubo de admissão sobre o estágio zero do amostrador e verificar a estanquicidade do sistema;
- Ligar a bomba apropriada à saída do aparelho;
- Preparar o inalador (IPS ou IDC) e colocar o adaptador no corpo do inalador;
- Pôr a bomba em funcionamento;
- Descarregar o inalador, o número de descargas recolhidas não deve ser muito elevado (em regra, não mais de 10), mas devem ser as suficientes para permitir uma determinação exacta e fiel da dose de partículas finas;
- Após a última descarga esperar 5s e parar a bomba;
- Desmontar o aparelho começando por retirar o tubo de admissão e recuperar os resíduos de princípio activo nele depositados e nas placas de depósito correspondentes a cada estágio;
- Por um método de análise apropriado determinar a quantidade de princípio activo contida em cada estágio.

Esta técnica é a utilizada nos ensaios dos IDC e dos IPS diferindo em alguns aspectos que serão convenientemente referenciados (3).

Os dispositivos de inalador de pó seco ensaiados foram o Turbohaler 1, o Turbohaler 2 e o Rotahaler 1, correspondendo a formas farmacêuticas de dose múltipla e de dose única, respectivamente. Nas formas farmacêuticas de dose múltipla, o pó está acondicionado num reservatório e por meio de um sistema doseador integrado no inalador é libertada uma dose única a qual fica disponível para inalação, enquanto que nas formas farmacêuticas de dose única o pó está acondicionado em cápsulas que são introduzidas no dispositivo e por rotação deste ocorre a separação da cápsula em duas partes libertando o pó para o interior do dispositivo.

Os inaladores de dose calibrada utilizados neste trabalho foram o IDC 1, o IDC 2 e o IDC 3. Estes inaladores correspondem a dispersões de fármaco micronizado num propelente, o qual se encontra liquefeito no interior do recipiente. Ao recipiente está acoplado válvula doseadora que após compressão permite a libertação de uma quantidade determinada de propelente e de fármaco.

2.2.2 Método gravimétrico

Durante a realização deste trabalho foi efectuada a análise gravimétrica para a determinação do fraccionamento do pó no impactor, utilizando-se uma balança analítica com 5 casas decimais (Modelo AG 245 - Mettler Toledo).

Como foi referido anteriormente, neste tipo de ensaios utilizaram-se filtros de fibra de vidro, com diâmetro de 8 cm. Estes filtros são os mais adequados já que o seu leve peso permite que as amostras recolhidas no impactor em quantidades muito pequenas (ordem das microgramas) possam ser determinadas com rigor. Os filtros usados nos dois primeiros estágios possuem uma abertura ao centro, um anel de 2,2 cm

de diâmetro, de forma a ficarem sobreponíveis com o anel existente nos respectivos estágios.

O impactor é desmontado e à medida que os filtros de fibra de vidro vão sendo pesados são colocados sobre as placas de depósito de cada estágio, no sentido de baixo para cima. Sobre o estágio 0 é colocado o tubo de admissão e feita a união do aparelho por meio das 3 molas. Coloca-se o tubo de ligação à bomba e garante-se a estanquicidade do sistema. Após a realização do ensaio o impactor é desmontado e efectua-se a pesagem de cada filtro, agora no sentido inverso de cima para baixo. Pela diferença entre o peso final do filtro e o peso inicial é determinada a quantidade de partículas que ficam retidas em cada estágio.

Após cada ensaio é feita a limpeza de todos os constituinte do aparelho por lavagem com água e imediatamente secos com um pano ou com papel.

São realizados três ensaios e calculada para cada estágio a média da massa depositada, a percentagem de partículas depositadas, a percentagem acumulada abaixo do respectivo estágio e a FPF a qual corresponde à percentagem de partículas com um diâmetro inferior a 5 μm.

2.2.2.1. Determinação gravimétrica da distribuição das partículas pelos inaladores de dose calibrada

Neste ensaio foram utilizados três dispositivos existentes no mercado farmacêutico que são designados por IDC 1, IDC 2 e IDC 3. Foram realizadas para cada um dos inaladores determinações a um fluxo de ar de 28 l/min, tendo sido realizada para o IDC 3 uma determinação a um fluxo de ar de 60 l/min.

Após montagem completa do amostrador granulométrico de Anderson, agitou-se o inalador durante 5 segundos para homogeneizar o conteúdo e accionou-se uma vez com perda. Ligada a bomba de vazio, a ponteira do inalador designada por difusor, encaixou-se no adaptador e foi alinhada com o eixo horizontal do tubo de admissão, ficando o corpo do inalador orientado como está indicado para a utilização normal. Procedeu-se a uma descarga pressionando na válvula o tempo necessário para se obter uma descarga completa. Para cada ensaio foram realizadas 6 descargas com intervalos de 15 segundos entre cada uma. Desmontou-se o aparelho e pesou-se os filtros determinando a quantidade retida em cada estágio, a qual corresponde às partículas que possuem um diâmetro que se encontra no intervalo de diâmetros do respectivo estágio (3).

2.2.2.2. Determinação gravimétrica da distribuição das partículas pelos inaladores de pó seco.

Foram utilizados os inaladores Turbohaler 1, Turbohaler 2 e o Rotahaler 1.

Para os três inaladores foram realizados ensaios a um fluxo de ar de 28 l/min. Para o Rotahaler 1 também foram efectuadas determinações a um fluxo de ar de 60 l/min.

O tempo durante o qual o fluxo de ar atravessou o sistema foi de 15 segundos para todos os ensaios realizados.

Foi realizada uma outra série de ensaios para o Rotahaler 1 na qual o fluxo de ar atravessou o sistema durante 15 minutos. Assim, após ter sido introduzida a cápsula no

rotahaler e efectuada a rotação do dispositivo para originar a ruptura da cápsula, a bomba de vazio foi accionada e permaneceu ligada por um período de 15 minutos.

Antes do início do ensaio foi necessário preparar o inalador de pó seco. Cada IPS apresenta um modo de utilização específico, de acordo com as suas características, tendo sido seguidas as instruções inscritas no folheto informativo de cada um.

Turbohaler

- Retirar o tubo de protecção que recobre o inalador;
- Carregar o inalador com uma dose: segurá-lo na posição vertical com a peça bucal virada para cima, rodar a base para a direita até ao limite e faze-la voltar à posição inicial até ouvir um "clic". O turbohaler está pronto para ser usado.

O turbohaler possui uma janela que indica as doses que permanecem no inalador. Quando a marca vermelha aparece no topo da janela, significa que o turbohaler tem apenas 20 doses. Quando a marca vermelha atinge a parte inferior da janela, significa que já está vazio.

Rotahaler

- Segurar o inalador pela peça bucal e rodá-lo em qualquer direcção até parar;
- Com o inalador disposto verticalmente, introduzir uma cápsula, com a parte transparente em primeiro lugar, no orifício quadrado saliente, pressionando firmemente e assegurando que a parte superior da cápsula fica ao nível da extremidade superior do orifício;

- Segurar o rotahaler horizontalmente com a parte ponteada a branco para cima e rodar o corpo do inalador rapidamente na direcção oposta até parar. Isto vai separar as duas metades da cápsula. O rotahaler está pronto para ser usado.

O ensaio inicia-se após a preparação do inalador e a montagem completa do sistema com a colocação do tubo de admissão sobre o impactor e o estabelecimento da ligação à bomba de vazio.

Ligou-se a bomba de vazio. A ponteira do inalador à qual se encaixou o adaptador foi alinhada com o eixo horizontal do tubo de admissão. Procedeu-se à descarga da dose previamente preparada no aparelho. Para cada ensaio foi feita uma descarga que é equivalente a uma dose de fármaco.

Decorrido o tempo de ensaio desligou-se a bomba de vazio e procedeu-se à desmontagem do aparelho.

Os filtros foram sendo sucessivamente pesados à medida que foram retirados do impactor, de cima para baixo.

A diferença entre o peso final do disco de fibra de vidro e o seu peso inicial corresponde à quantidade de partículas que ficaram retidas nesse estágio, ou seja aquelas que possuem um diâmetro que se encontra no intervalo de diâmetros do respectivo estágio (3).

Foram realizados três ensaios. Todos os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios.

2.2.3 Determinação analítica

2.2.3.1 Cromatografia Liquida – Materiais e métodos

A cromatografia liquida (HPLC) é uma técnica amplamente utilizada em análise qualitativa e quantitativa, baseando-se na determinação da retenção de um componente de uma amostra, num determinado sistema e em determinadas condições cromatográficas.

Recorreu-se a esta técnica para dosear as partículas de sulfato de salbutamol retidas nos vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson – Mark II após se ter procedido a 5 descargas pelo Rotahaler 1.

Para este doseamento foram utilizados os seguintes materiais e métodos:

Cromatógrafo liquido VARIAN

Detector UV/VIS VARIAN 9050

Sistema de controlo de eluentes VARIAN 9012

Computador DELL OPTIPLEX GX 240

Programa de tratamento de dados VARIAN Workstation

Impressora HP Laser JET GP

Coluna Waters C18, 15 cm x 4,6 mm, 5 μm

Metanol (Merck) (Lote K30582507216)

Agua destilada para HPLC

Sulfato de salbutamol (Glaxo) (Lote AH 3365F)

Acetato de Amónio (Lote 913598)

Condições cromatográficas utilizadas:

Fase móvel – Acetato de amónio 0,1 % : Metanol (55: 45)

Fluxo – 1,0 ml/min

Detector UV/VIS – 276 nm

Volume de injecção – 50 µl

Eluição isocrática com a duração de 5 minutos

Atenuação – 0,100 UA (Unidades de Absorvância)

Acerto automático do zero – no tempo zero

Foi feita uma curva de calibração do sulfato de salbutamol utilizando a solução padrão nas seguintes concentrações:$1{,}25 \times 10^{-3}$ g/100ml; 0,0025 g/100ml; 0,005 g/100ml; 0,01 g/100ml e 0,02 g/100ml.

O solvente utilizado foi uma mistura de metanol: água (2 : 1).

Todas as soluções padrão utilizadas, eluente e solvente foram previamente filtradas e mergulhadas num banho de "ultrassons" durante 10 minutos, de modo a eliminar pequenas partículas em suspensão e gases dissolvidos que poderão interferir na análise cromatográfica (23).

2.2.3.2 – Análise cromatográfica do sulfato de salbutamol após emissão via Rotahaler 1.

O objectivo deste ensaio foi a caracterização da deposição das partículas de sulfato de salbutamol emitidas após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1.

O ensaio foi realizado a um fluxo de ar de 28 l/min e durante um tempo de 15 s. Foram realizados três ensaios, correspondendo os resultados apresentados à sua média.

Procedeu-se inicialmente à montagem do sistema. O tubo de admissão foi colocado sobre o impactor composto pelos 8 estágios e pelo estágio terminal de filtração. A união dos vários estágios e do tubo de admissão foi conseguida por três molas. Foi feita a ligação do impactor à bomba de vazio.

Neste ensaio não foram usados os discos de fibra de vidro, tendo sido utilizadas as placas de depósito para a deposição das partículas de sulfato de salbutamol.

Procedeu-se ao ensaio após montagem completa do sistema.

Uma após uma, as 5 cápsulas são introduzidas no Rotahaler 1. Cada cápsula foi introduzida com a parte transparente no orifício quadrado saliente do dispositivo e pressionou-se firmemente, assegurando-se que a parte superior da cápsula ficou ao nível da extremidade superior do orifício. Em seguida segurou-se o Rotahaler horizontalmente com a parte ponteada a branco para cima e rodou-se o corpo do inalador rapidamente na direcção oposta até parar. Este movimento separou as duas metades da cápsula.

A ponteira do inalador, à qual se encaixa o adaptador de borracha, foi alinhada com o eixo horizontal do tubo de admissão.

Neste momento o inalador está preparado para proceder à descarga de 5 doses no impactor.

No final do ensaio foram recolhidas as fracções de fármaco que ficaram retidas no inalador, nas 5 cápsulas, no tubo de admissão, nos oito estágios e no estágio terminal de filtração. Assim, cada um destes elementos foi lavado com 10 ml de solvente (metanol: água), tendo sido as soluções recolhidas em balões volumétricos de 10 ml.

Foi então feita a análise cromatográfica do sulfato de salbutamol por HPLC. Foram injectados 50 µl de solução. Registou-se a área do pico obtido e calculou-se a concentração de fármaco.

3. Caracterização *in vitro* de preparações para inalação

3.1 Determinação gravimétrica da distribuição do tamanho das partículas produzidas por aerossolização via IDCs, através do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II.

3.1.1 IDC 1

O IDC 1 é um inalador de dose calibrada com 200 doses calibradas de suspensão para inalação. O fármaco veiculado é um broncodilatador anticolinérgico, o brometo de ipratrópio, que está disperso numa mistura de propelentes (monofluorotriclorometano, difluorodiclorometano e tetrafluorodicloroetano). A formulação contém ainda um agente emulsivo, a lecitina de soja. Cada aerossolização corresponde a 20 μg de brometo de ipratrópio/dose.

O fluxo de ar usado na realização dos estudos de avaliação aerodinâmica das partículas finas que constituem o aerossole emitido pelo inalador foi de 28 l/min.

Foram realizados três ensaios. Todos os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios, tendo sido em cada ensaio efectuadas 6 descargas do inalador com intervalos de 15 s entre cada uma.

Nestes ensaios foram utilizados discos de fibra de vidro, os quais foram pesados antes e após a realização do ensaio. A diferença entre o peso final e o peso inicial corresponde à massa de partículas retidas (Quadro 3). O lote do inalador é o 916235b.

Quadro 3- Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 1 a um fluxo de ar de 28 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	13,33	169,99	7,84	100
5,8	0	156,66	0	92,16
4,7	33,33	156,66	19,61	92,16
3,3	0	123,33	0	72,55
2,1	23,33	123,33	13,72	72,55
1,1	66,67	100	39,22	58,83
0,7	13,33	33,33	7,84	19,61
0,4	0	20	0	11,76
Filtro	20	20	11,76	11,76

Foi visível a olho nu a deposição de pó no tubo de admissão. A distribuição das partículas que constituem o aerossole foi realizada de uma forme uniforme ao longo dos vários estágios do aparelho. A maioria das partículas depositadas possui um diâmetro

inferior a 2,1 μm. Apenas uma pequena porção se depositou no primeiro estágio, contudo a maioria das partículas atingiu os estágios inferiores do aparelho.

Em simultâneo com estes ensaios foi determinado o valor de massa de partículas que é emitido quando são feitas 6 descargas pelo IDC 1. As 6 descargas de aerossole foram feitas directamente para um vidro de relógio pré-pesado, sendo determinado, por balança analítica, o peso final do vidro de relógio com as descargas:

Peso inicial do vidro de relógio = 13,42248g

Peso vidro de relógio + 6 descargas = 13,42317g

Peso 6 descargas = 690 μg

A massa total de partículas emitidas pelas 6 descargas do inalador de dose calibrada foi de 690 μg. Contudo, no impactor apenas se depositaram 169,99 μg, pelo que a quantidade de partículas emitidas que ficaram retidas no inalador e no tubo de admissão foi de 520,01 μg.

A Figura 3 mostra a percentagem de partículas que se depositaram em cada estágio, sendo cada estágio caracterizado pelo limite mínimo de diâmetro. A Figura 4 representa a distribuição do tamanho das partículas emitidas pelo inalador.

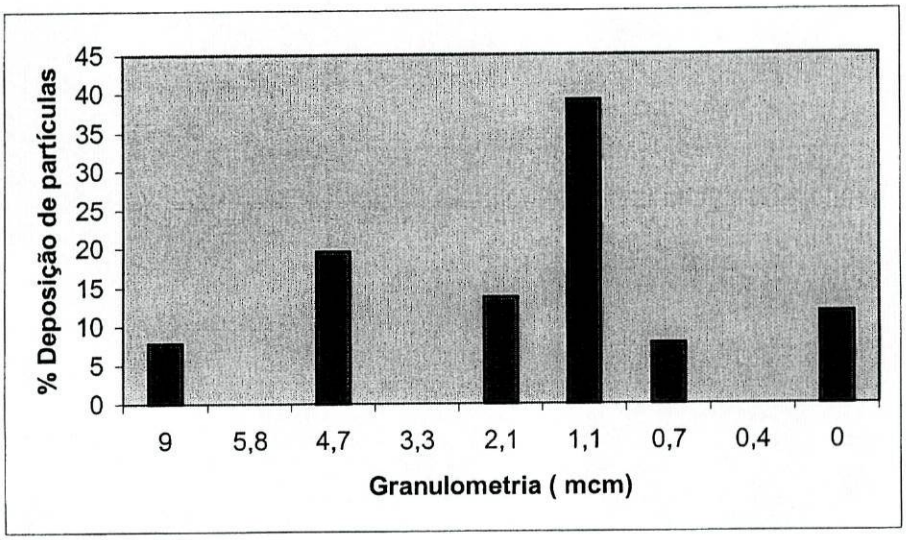


Figura 3- Percentagem de deposição de partículas após aerossolização pelo IDC 1 a um fluxo de ar de 28 l/min.

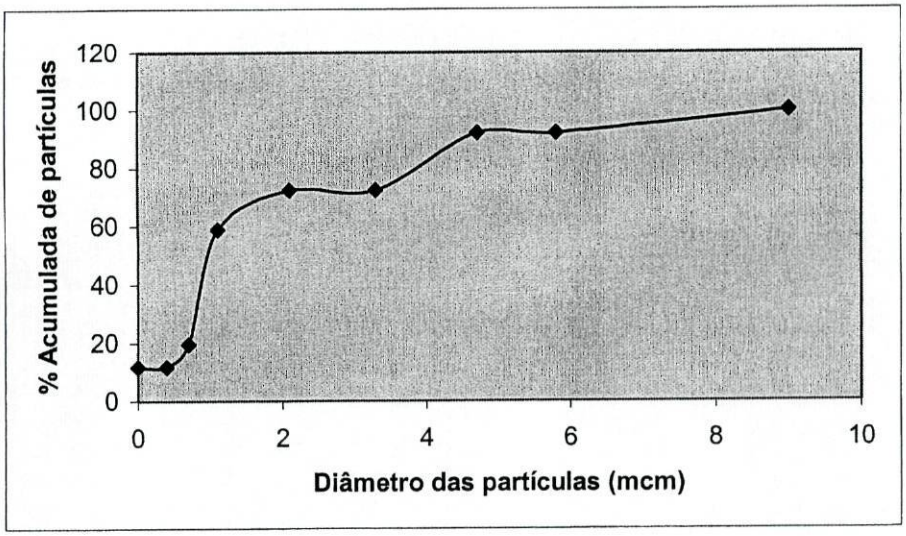


Figura 4 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 1 a um fluxo de ar de 28 l/min.

3.1.2 IDC 2

O IDC 2 é um inalador de dose calibrada com 60 doses calibradas de suspensão para inalação. O fármaco veiculado é um anti-inflamatório, o dipropionato de fluticasona. Encontra-se disperso numa mistura de propelentes (diclorodifluorometano e triclorofluorometano). A formulação contém ainda um agente emulsivo, a lecitina de soja. Cada aerossolização corresponde a 250 μg de fluticasona/dose.

O fluxo de ar usado na realização dos estudos de avaliação aerodinâmica das partículas finas que constituem o aerossole emitido pelo inalador foi de 28 l/min.

Foram realizados três ensaios. Todos os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios, tendo sido em cada ensaio efectuadas 6 descargas do inalador com intervalos de 15 s entre cada uma.

Nestes ensaios foram utilizados discos de fibra de vidro, os quais foram pesados antes e após a realização do ensaio. A diferença entre o peso final e o peso inicial corresponde à massa de partículas retidas (Quadro 4). O lote do inalador é o L105216.

Quadro 4 - Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 2 a um fluxo de ar de 28 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	0	400	0	100
5,8	0	400	0	100
4,7	0	400	0	100
3,3	400	400	100	100
2,1	0	0	0	0
1,1	0	0	0	0
0,7	0	0	0	0
0,4	0	0	0	0
Filtro	0	0	0	0

Foi possível observar a deposição de grande quantidade de pó no tubo de admissão, em todos os ensaios realizados. Assim, a maior parte das partículas que constituem o aerossole ficaram retidas no tubo de admissão, pois da dose disponível para inalação apenas um terço atravessou o aparelho, talvez devido ao facto da maioria das partículas da formulação não possuírem um diâmetro apropriado, ou o sistema de dispersão não ser o mais adequado.

As partículas depositadas possuíam um diâmetro inferior a 3,3 μm não havendo qualquer deposição de partículas nos pratos mais inferiores do aparelho.

Em simultâneo com estes ensaios foi determinado o valor de massa de partículas que é emitido quando são feitas 6 descargas pelo IDC 2. As 6 descargas de aerossole foram feitas directamente para um vidro de relógio pré-pesado, sendo determinado, por balança analítica, o peso final do vidro de relógio com as descargas.

Peso inicial do vidro de relógio = 22,02237 g

Peso vidro de relógio + 6 descargas = 22,02348 g

Peso 6 descargas = 1180 μg

A massa total de partículas emitida pelas 6 descargas do inalador de dose calibrada foi de 1180 μg. Contudo, no impactor apenas se depositaram 400 μg, pelo que a quantidade de partículas emitidas que ficaram retidas no inalador e no tubo de admissão foi de 780 μg.

O comportamento do aerossole está representado nas Figuras 5 e 6. A Figura 5 mostra a percentagem de partículas que se depositaram em cada estágio, sendo cada estágio caracterizado pelo limite mínimo de diâmetro. Na Figura 6 está representada a distribuição do tamanho das partículas emitidas pelo inalador.

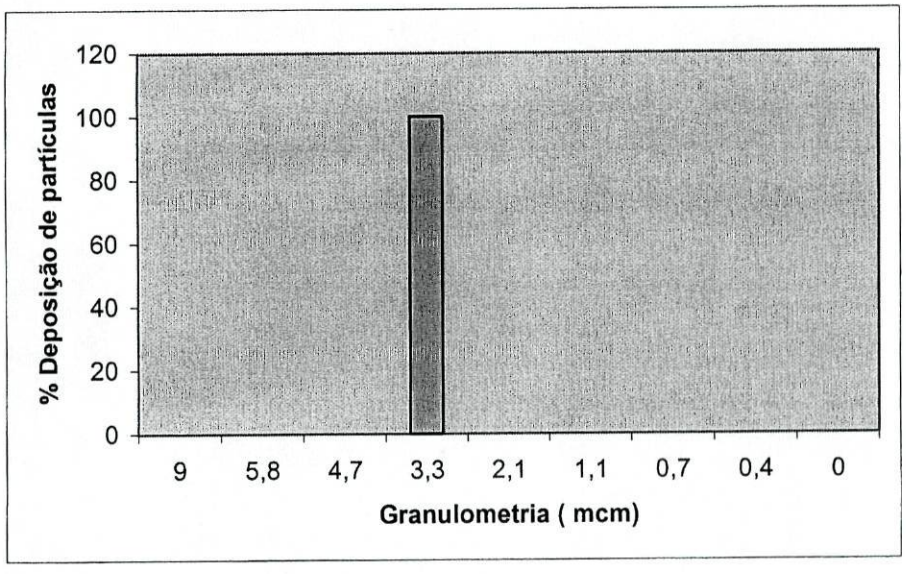


Figura 5 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após aerossolização pelo IDC 2 a um fluxo de ar de 28 l/min.

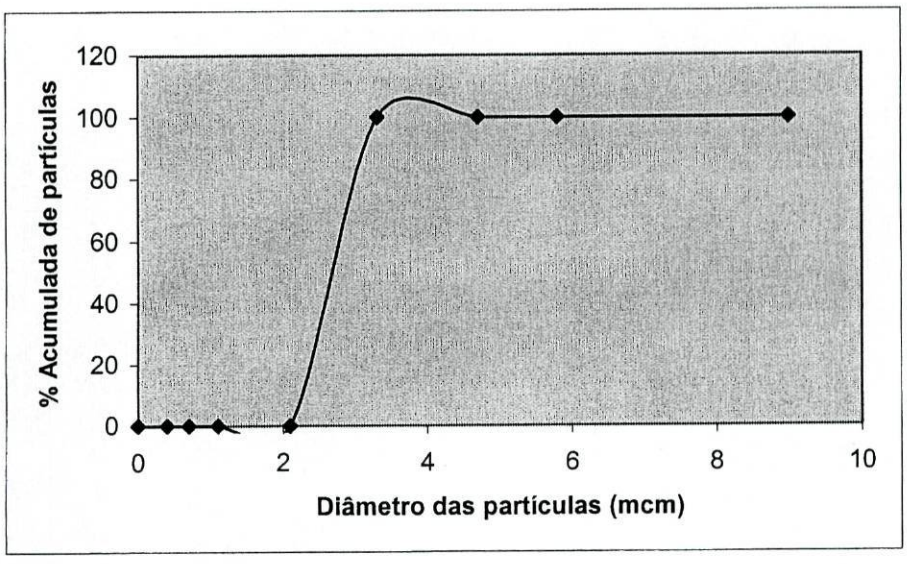


Figura 6- Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 2 a um fluxo de ar de 28 l/min.

3.1.3 IDC 3

O IDC 3 é um inalador de dose calibrada com 200 doses calibradas de suspensão pressurizada para inalação. O fármaco veiculado é um broncodilatador β adrenérgico, o salbutamol. Encontra-se disperso num propelente o HFA – 134a. Cada aerossolização corresponde a 100 μg de salbutamol/dose (sob a forma de sulfato).

Com este inalador (Lote R105) foram realizados duas séries de ensaios. Na realização do estudo de avaliação aerodinâmica das partículas finas emitidas pelo inalador o fluxo de ar usado numa das séries foi de 28 l/min. Na outra série o fluxo de ar usado foi de 60 l/min.

Para ambas as séries foram realizados três ensaios. Todos os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios e em cada ensaio foram efectuadas 6 descargas pelo inalador com intervalos de 15 s entre cada uma.

Nestes ensaios foram utilizados discos de fibra de vidro, os quais foram pesados antes e após a realização do ensaio. A diferença entre o peso final e o peso inicial corresponde à massa de partículas depositadas. Os resultados são expressos em média da massa depositada em cada estágio, sendo calculada a percentagem de deposição de partículas em cada um deles e calculada a percentagem acumulada abaixo de respectivo estágio (Quadro 5 e Quadro 6).

Quadro 5 - Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	10	163,34	6,12	100
5,8	36,67	153,34	22,45	93,88
4,7	0	116,67	0	71,43
3,3	10	116,67	6,12	71,43
2,1	26,67	106,67	16,33	65,31
1,1	73,33	80	44,89	48,98
0,7	0	6,67	0	4,08
0,4	6,67	6,67	4,08	4,08
Filtro	0	0	0	0

Quadro 6- Avaliação aerodinâmica das partículas finas produzidas pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min. A massa média resultou da massa acumulada após 6 descargas.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	20	376,67	5,31	100
5,8	6,67	356,67	1,77	94,69
4,7	0	350	0	92,92
3,3	53,33	350	14,16	92,92
2,1	30	296,67	7,96	78,76
1,1	70	266,67	18,58	70,80
0,7	40	196,67	10,62	52,21
0,4	50	156,67	13,27	41,59
Filtro	106,67	106,67	28,32	28,32

No final de cada ensaio foi possível observar a olho nu que uma grande quantidade de pó se depositou no tubo de admissão ("orofaringe").

Quer nos ensaios realizados a um fluxo de ar de 28 l/min quer nos realizados a um fluxo de ar de 60 l/min obteve-se uma distribuição uniforme das partículas do aerossole. Verificou-se que no ensaio realizado a um fluxo de ar de 60 l/min a quantidade de partículas depositadas foi superior, obtendo-se maior percentagem de partículas nos estágios mais inferiores e menor percentagem nos estágios superiores, o

que evidencia que o diâmetro das partículas aerossolizadas a um fluxo de ar de 60 l/min é inferior ao das geradas pelo fluxo de ar de 28 l/min.

Em simultâneo com estes ensaios foi determinado o valor de massa de partículas que é emitido quando são feitas 6 descargas pelo IDC 3. As 6 descargas de aerossole foram feitas directamente para um vidro de relógio pré-pesado, sendo determinado, por balança analítica, o peso final do vidro de relógio com as descargas:

Peso inicial do vidro de relógio = 11,27756 g

Peso vidro de relógio + 6 descargas =11,27810 g

Peso 6 descargas = 540 μg

A massa total de partículas emitidas pelas 6 descargas do inalador de dose calibrada foi de 540 μg. Contudo, no impactor apenas se depositaram 163,34 μg, no ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min e 376,67 μg no ensaio realizado a um fluxo de ar de 60 l/min, pelo que a quantidade de partículas emitidas que ficaram retidas no inalador e no tubo de admissão foram de 376,66 μg e de 163,33 μg para um fluxo de 28 l/min e 60 l/min, respectivamente.

A distribuição do tamanho das partículas produzidas por aerossolização pode ser observada nas Figuras 7 e 8, para o fluxo de ar de 28 l/min e nas Figuras 9 e 10 para o fluxo de ar de 60 l/min.

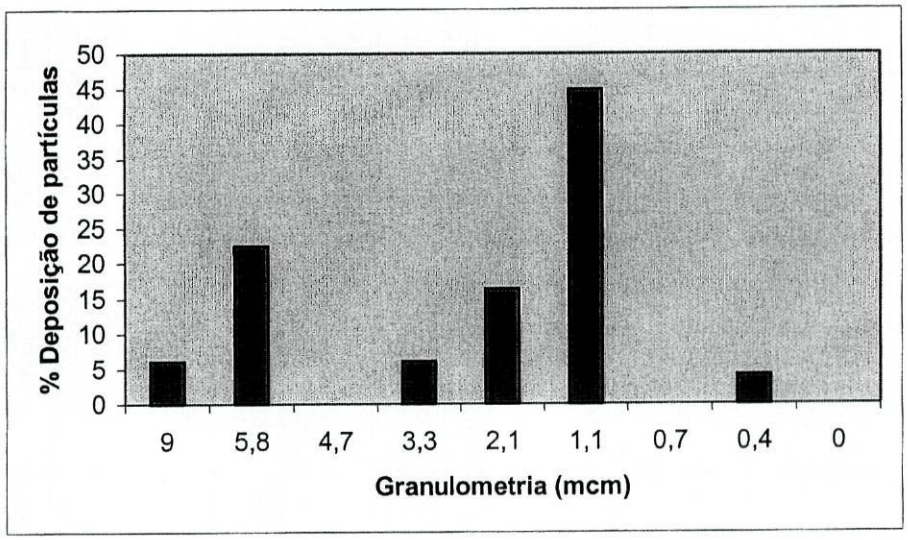


Figura 7 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min.

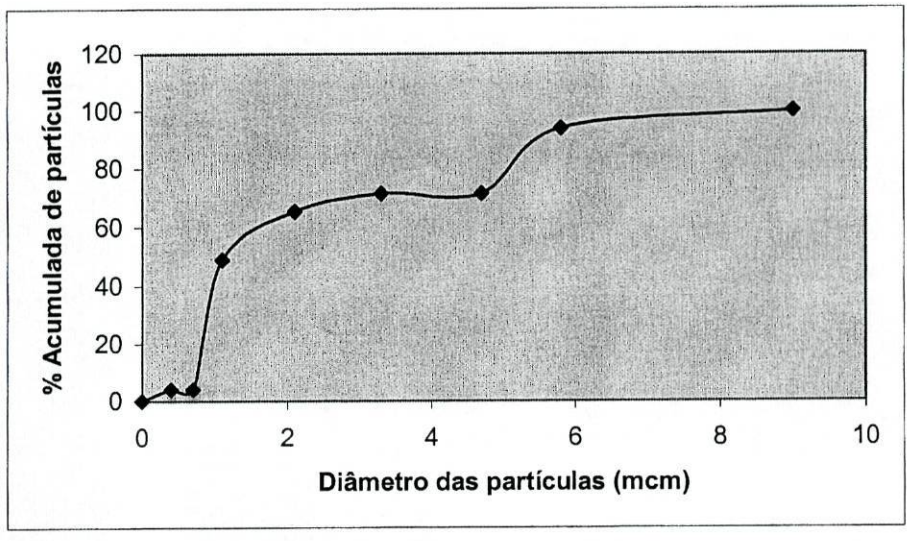


Figura 8 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min.

FACULDADE DE FARMÁCIA DO PORTO BIBLIOTECA

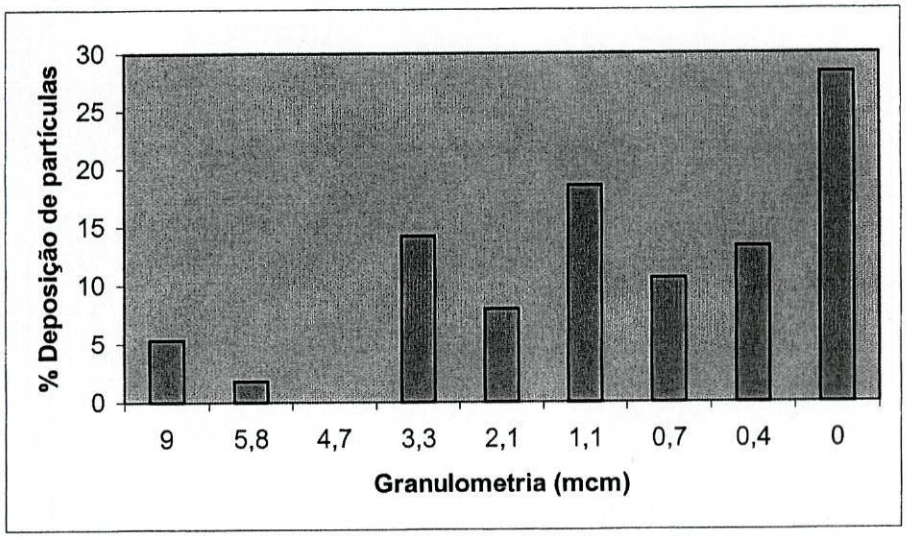


Figura 9 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min.

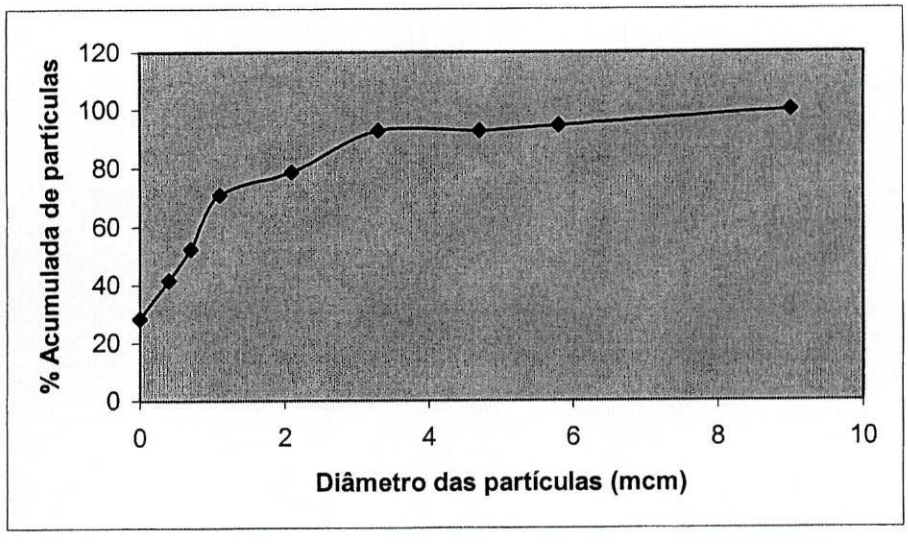


Figura 10 - Distribuição do tamanho das partículas após aerossolização pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min.

Vários parâmetros são utilizados para caracterizar os perfis de deposição das partículas no amostrador granulométrico de Anderson. Assim, pode definir-se:

- **DE** (dose emitida) corresponde à dose, em microgramas, que é emitida pelo inalador para o impactor, sendo a soma das massas depositadas nos vários estágios;
- **FPF** (fracção de partículas finas) é a percentagem de dose de partículas correspondentes à fracção de partículas respiráveis, ou seja, com diâmetros inferior a 5 μm;
- **DPF** (dose de partículas finas) é definida como a quantidade de partículas, em microgramas, com diâmetro inferior a 5 μm;
- **DAMM** (diâmetro aerodinâmico médio de massa), expresso em μm, representa o diâmetro médio de massa depositável;
- **Dispersibilidade** expressa, em percentagem, a razão entre a DPF e DE.

Os parâmetros FPF e o DAMM são calculados por interpolação gráfica relacionando a percentagem acumulada com o diâmetro das partículas. A DPF é calculada também por interpolação gráfica relacionando a massa acumulada com o diâmetro das partículas.

Nos Quadros 7 e 8 é feita a caracterização dos aerossoles emitidos pelos inaladores de dose calibrada estudados a um fluxo de ar de 28 l/min e 60 l/min, respectivamente.

Quadro 7 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após aerossolização de diferentes formulações por diversos IDC a um fluxo de ar de 28 l/min. Os resultados obtidos são valores cumulativos de 6 descargas.

IDC	DE (μg)	DPF (μg)	FPF (%)	DAMM (μm)	Dispersibilidade %
IDC 1	169,99	156	93	0,9	93,54
IDC 2	400	400	100	2,7	100
IDC 3	163,34	120	78	1,1	73,47

Quadro 8 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no impactor em cascata de Anderson – Mark II, após aerossolização de uma formulação de sulfato de salbutamol pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min. Os resultados são valores cumulativos de 6 descargas.

IDC	DE (μg)	DPF (μg)	FPF (%)	DAMM (μm)	Dispersibilidade %
IDC 3	376,67	350	94	0,6	92,92

3.2 Determinação gravimétrica da distribuição do tamanho das partículas emitidas pelos IPS, através do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II.

3.2.1 Turbohaler 1

O Turbohaler 1 é um inalador de pó seco de dose múltipla. É constituído por 60 doses de pó seco. A formulação constituída pelo fármaco e pelo "carrier" (lactose mono-hidratada) está acondicionada num reservatório. Por um sistema doseador integrado no inalador é libertada um dose cada vez que o inalador é accionado. O fármaco é o fumarato de formoterol, um broncodilatador. Cada descarga corresponde a 9 μg/dose.

O fluxo de ar usado na realização dos estudos de avaliação aerodinâmica das partículas finas emitidas pelo inalador foi de 28 l/min.

Foram realizados três ensaios. Todos os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios, e em cada ensaio foi efectuada 1 descarga pelo inalador. O tempo durante o qual o fluxo de ar atravessou o sistema foi de 15 segundos.

Nestes ensaios foram utilizados discos de fibra de vidro, os quais foram pesados antes e após a realização do ensaio. A diferença entre o peso final e o peso inicial corresponde à massa de partículas depositadas.

Os resultados são expressos em média da massa depositada em cada estágio, sendo calculada a percentagem de deposição de partículas em cada um deles e calculada a percentagem acumulada abaixo do respectivo estágio. No Quadro 9 estão esquematizados os resultados obtidos no ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min.

Quadro 9 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga de uma formulação de formoterol, pelo Turbohaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	40	40	100	100
5,8	0	0	0	0
4,7	0	0	0	0
3,3	0	0	0	0
2,1	0	0	0	0
1,1	0	0	0	0
0,7	0	0	0	0
0,4	0	0	0	0
Filtro	0	0	0	0

Não foi visível a olho nu a deposição de partículas no tubo de admissão.

A forma como ocorreu a deposição das partículas emitidas por uma descarga do Turbohaler 1 pode ser visualizada graficamente relacionando-se a percentagem de partículas que se depositaram em cada estágio em função da sua granulometria (Figura 11) ou através da determinação da percentagem acumulada abaixo de cada estágio (Figura 12).

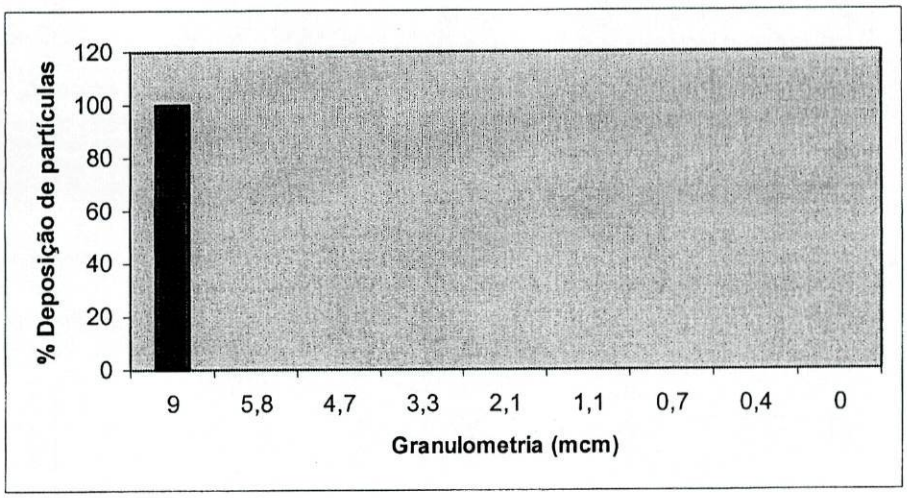


Figura 11 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Turbohaler 1 a um fluxo de 28 l/min durante 15s.

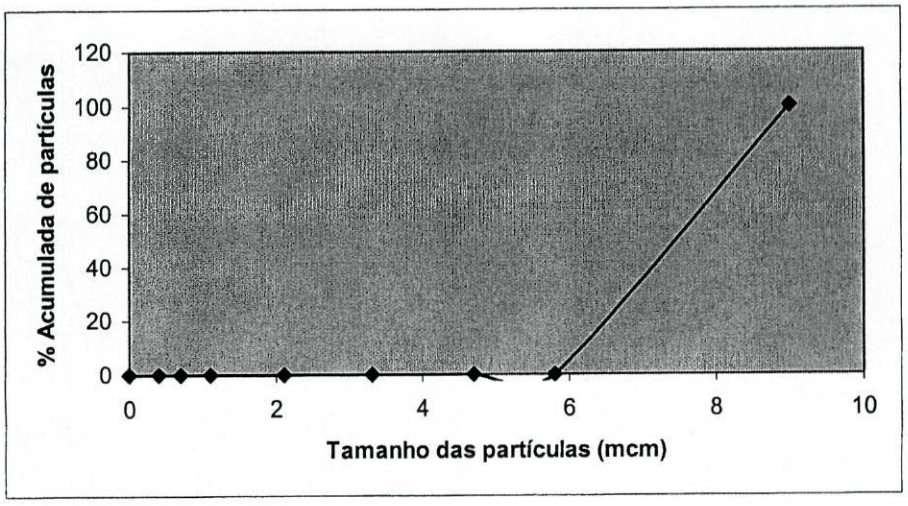


Figura 12 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Turbohaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

3.2.2 Turbohaler 2

O Turbohaler 2 é um inalador de pó seco de dose múltipla. É constituído por 200 doses de pó seco. A formulação é constituída apenas pelo fármaco, não contém excipientes e encontra-se num reservatório do dispositivo. Por um sistema doseador integrado no inalador é libertada um dose cada vez que o inalador é accionado. O fármaco é o budenosido, um anti-inflamatório glucocorticóide. Cada descarga corresponde a 200 μg/dose.

O fluxo de ar usado na realização dos estudos de avaliação aerodinâmica das partículas finas emitidas pelo inalador foi de 28 l/min.

Foram realizados três ensaios. Todos os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios, tendo sido em cada ensaio efectuada uma descarga pelo inalador. O tempo durante o qual o fluxo de ar atravessou o sistema foi de 15 segundos.

Nestes ensaios foram utilizados discos de fibra de vidro, os quais foram pesados antes e após a realização do ensaio. A diferença entre o peso final e o peso inicial corresponde à massa de partículas depositadas (Quadro 10). O lote do inalador é o 122307F.

Quadro 10 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga de uma formulação de budesonido pelo Turbohaler 2, a 28 l/min durante 15 s.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	0	150	0	100
5,8	25	150	16,67	100
4,7	20	125	13,33	83,33
3,3	45	105	30	70
2,1	0	60	0	40
1,1	0	60	0	40
0,7	0	60	0	40
0,4	60	60	40	40
Filtro	0	0	0	0

No final de cada ensaio foi possível observar uma pequena deposição de pó no tubo de admissão.

A forma como ocorreu a deposição das partículas emitidas após uma descarga efectuada pelo Turbohaler 2 pode ser visualizada graficamente, pela relação entre a percentagem de partículas que se depositaram em cada estágio em função da sua

granulometria (Figura 13), a um fluxo de ar de 28 l/min, ou através da determinação da percentagem acumulada abaixo de cada estágio, Figura 14.

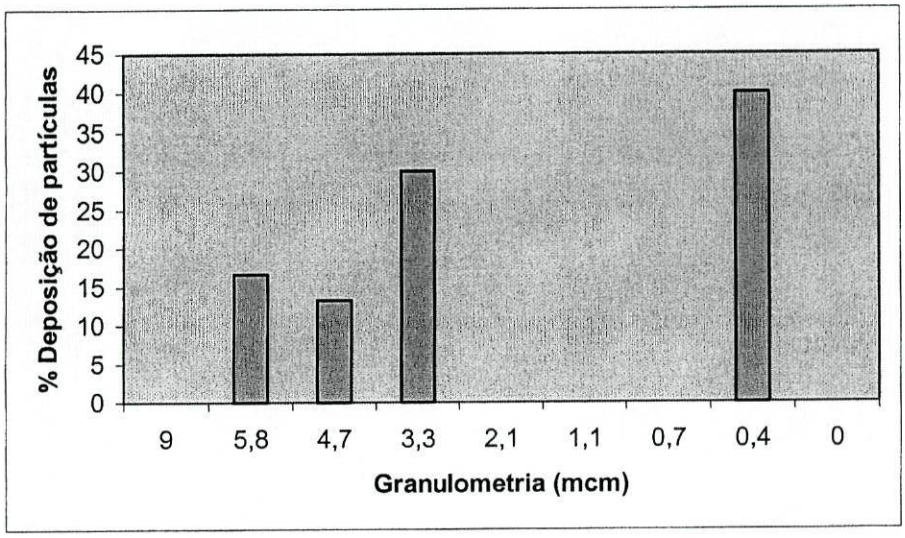


Figura 13 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Turbohaler 2 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

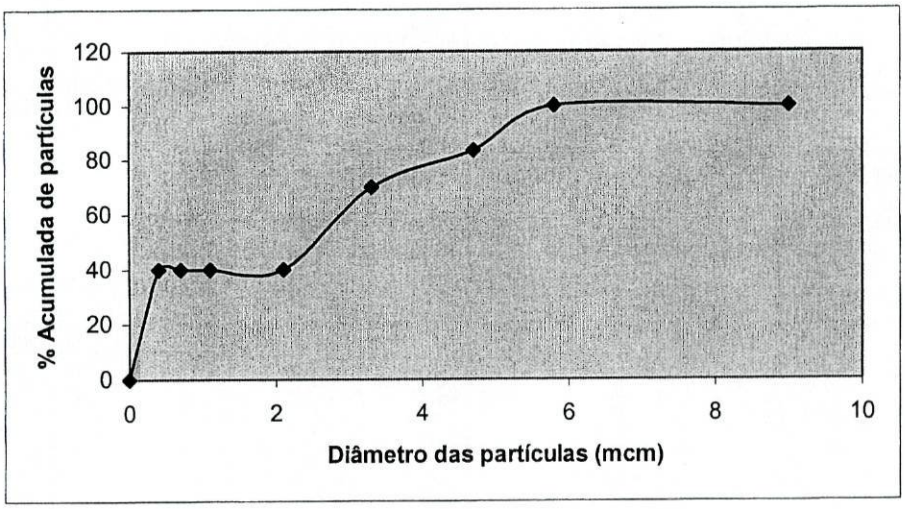


Figura 14 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Turbohaler 2 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15s.

3.2.3 Rotahaler 1

O Rotahaler 1 é um inalador de pó seco de dose única. A formulação é constituída pelo fármaco, o salbutamol, sob a forma de sulfato e pelo "carrier", a lactose, e está acondicionada em cápsulas. Assim, cada embalagem é constituída por 30 cápsulas duras contendo cada uma 400 μg de salbutamol.

Para cada inalação uma cápsula é introduzida no inalador e por rotação do dispositivo ocorre a separação da cápsula em duas partes libertando desta forma uma dose de fármaco para o interior do dispositivo e consequentemente para o impactor.

Foram realizadas quatro séries de ensaios, utilizando o lote de cápsulas D006015. Para cada série foram realizados três ensaios e em cada ensaio foi feita uma

descarga no impactor. Esta descarga corresponde à libertação do conteúdo de uma cápsula. Todos os valores determinados correspondem à média das três determinações

Nas duas primeiras séries o tempo durante o qual o fluxo de ar atravessou o sistema foi de 15 segundos, divergindo entre as séries o fluxo de ar usado na realização dos estudos de avaliação aerodinâmica das partículas finas que numa série foi de 28 l/min (Quadro 11) e na outra série foi de 60 l/min (Quadro12).

Nas duas séries seguintes foi também introduzida apenas uma cápsula no inalador mas o tempo durante o qual o fluxo de ar atravessou o sistema foi de 15 minutos. O que diferiu entre estas duas séries foi o fluxo de ar utilizado, tendo sido numa série de 28 l/min (Quadro 13) e na outra série de 60 l/min (Quadro14).

Em todas as séries de ensaios foram utilizados discos de fibra de vidro, os quais foram pesados antes e após a realização do ensaio. A diferença entre o peso final e o peso inicial corresponde à massa de partículas depositadas nesse estágio.

A forma como ocorreu a deposição das partículas emitidas por uma descarga do Rotahaler 1 pode ser visualizada graficamente relacionando a percentagem de partículas que ficaram retidas em cada estágio em função da sua granulometria a um fluxo de ar de 28 l/min (Figura 15 para um T= 15 s e Figura 19 para T= 15 min) e a um fluxo de ar de 60 l/min (Figura 17 para T= 15 s e Figura 21 para T= 15 min) ou através da determinação da percentagem acumulada abaixo de cada estágio a um fluxo de ar de 28 l/min (Figura 16 para T= 15 s e Figura 20 para T= 15min) e a um fluxo de ar de 60 l/min (Figura 18 para T= 15 s e Figura 22 para T= 15 min).

Ensaio com Rotahaler 1 : 1 cápsula; Fluxo de ar de 28 l/min; Tempo = 15 s.

Antes de introduzir a cápsula no dispositivo Rotahaler 1 foi previamente pesada, tendo sido determinada a quantidade de pó que está disponível para a inalação.

P cápsula cheia = 0,07110 mg

P cápsula vazia = 0,04500 mg

P pó = 25600 μg

Quadro 11 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1, a 28 l/min durante 15 s.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	33,33	60	55,55	100
5,8	0	26,67	0	44,45
4,7	0	26,67	0	44,45
3,3	0	26,67	0	44,45
2,1	26,67	26,67	44,45	44,45
1,1	0	0	0	0
0,7	0	0	0	0
0,4	0	0	0	0
Filtro	0	0	0	0

Neste ensaio em que foi utilizado um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s, foi possível observar que uma grande quantidade de pó permaneceu no inalador e que houve uma considerável deposição de pó no tubo de admissão.

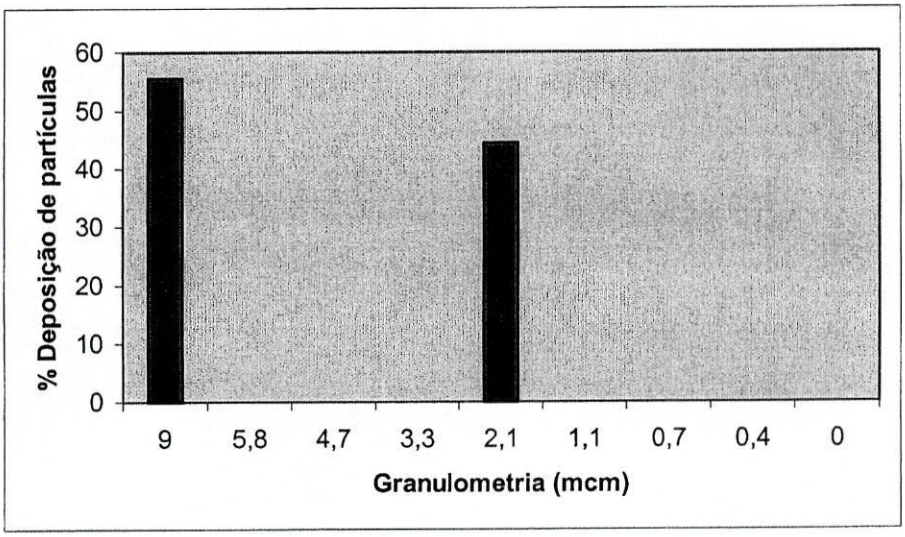


Figura 15 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

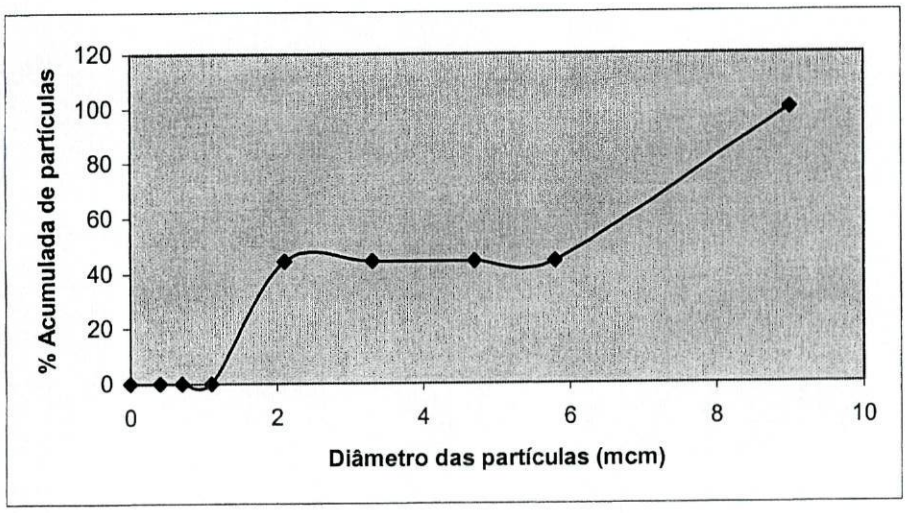


Figura 16 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15s.

Ensaio com Rotahaler 1 : 1 cápsula; Fluxo de ar de 60 l/min; Tempo = 15 s.

Antes da cápsula ser introduzida no dispositivo Rotahaler 1 foi previamente pesada, tendo sido determinada a quantidade de pó que está disponível para a inalação.

P cápsula cheia = 0,07153 mg

P cápsula vazia = 0,04595 mg

P pó = 25580μg

Quadro 12 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	1070	1547	69,17	100
5,8	250	477	16,16	30,97
4,7	50	227	3,23	14,84
3,3	17	177	1,1	11,46
2,1	0	160	0	10,32
1,1	0	160	0	10,32
0,7	50	160	3,23	10,32
0,4	40	110	2,59	7,10
Filtro	70	70	4,52	4,52

Para este ensaio em que foi utilizado um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s, foi possível observar, a olho nu, que uma grande quantidade de pó permaneceu no inalador e que uma considerável deposição de pó ficou retido no tubo de admissão. A quantidade que não se libertou da cápsula e a que ficou retida no inalador foi consideravelmente maior no ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min.

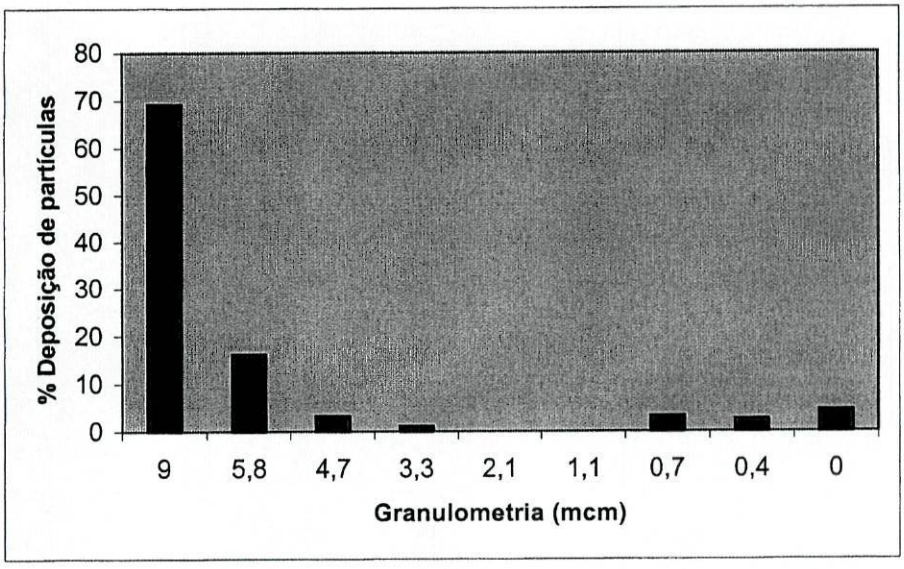


Figura 17 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.

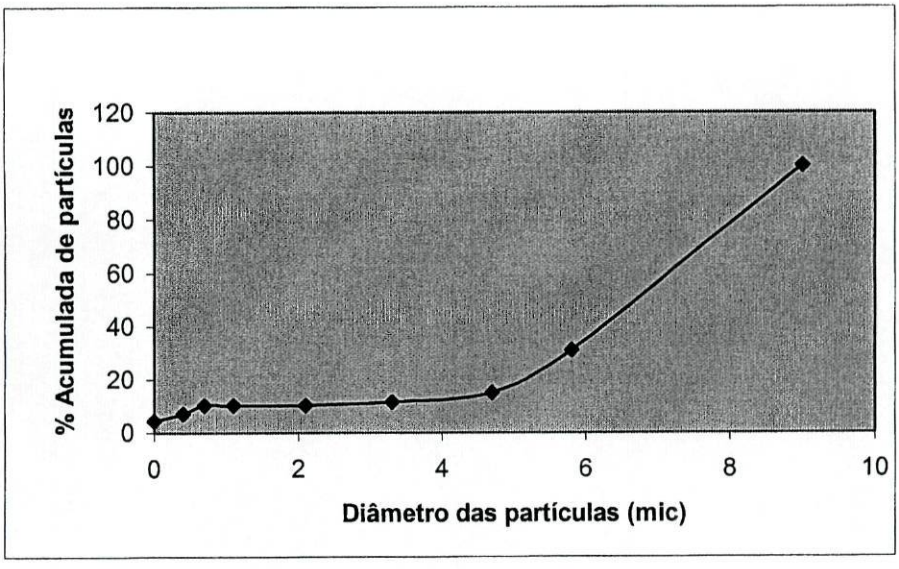


Figura 18 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15s.

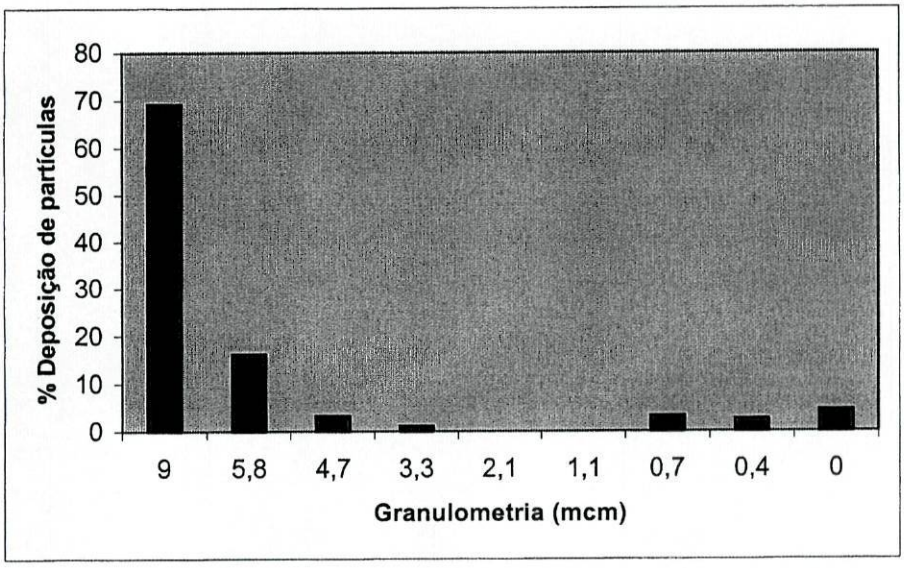


Figura 17 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.

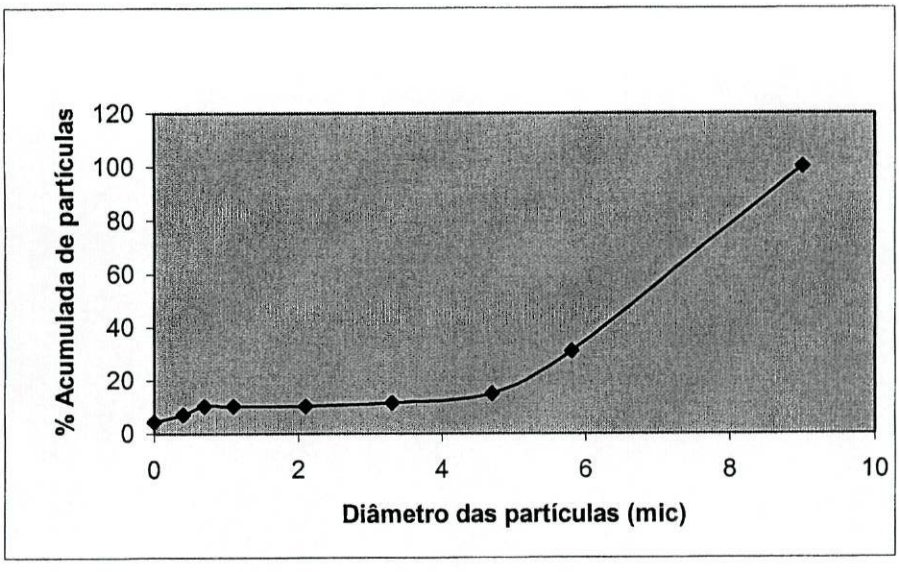


Figura 18 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15s.

No ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min, foi possível observar que nos primeiros 5 min uma grande quantidade de pó permaneceu na cápsula. Ao fim de 10 min algum desse pó libertou-se da cápsula, passando para o bucal do inalador e para o tubo de admissão. Após 15 min de ensaio observou-se uma maior quantidade de pó retido no tubo de admissão e nos dois primeiros estágios do impactor, permanecendo ainda pó na cápsula e no inalador.

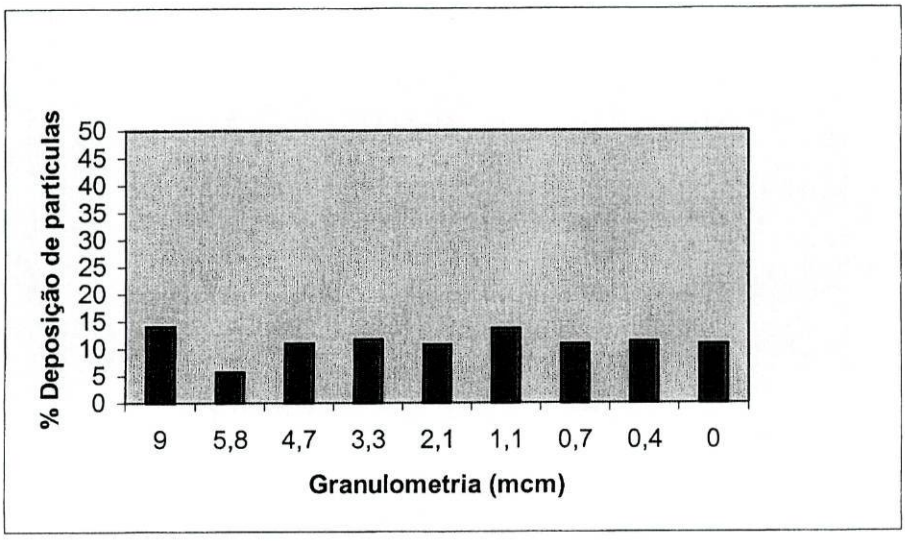


Figura 19 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.

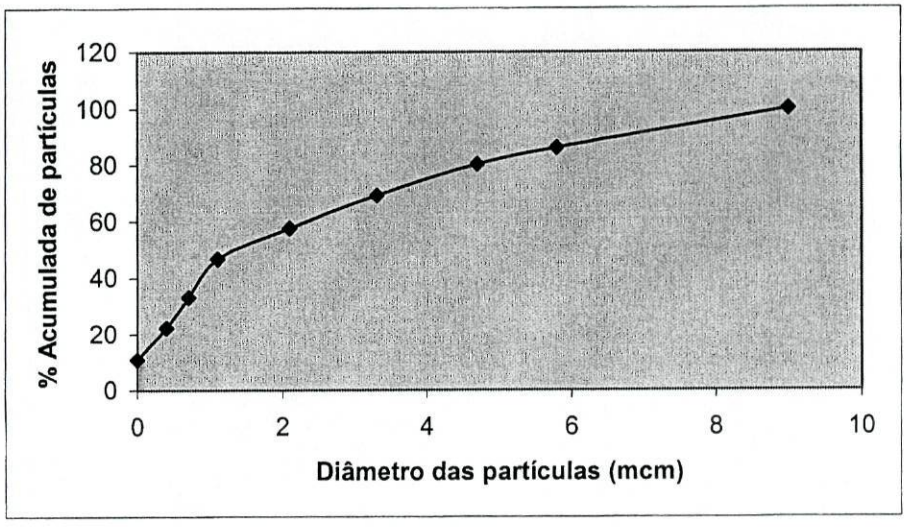


Figura 20 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.

Ensaio com Rotahaler 1: 1 cápsula; Fluxo de ar de 60 l/min; Tempo = 15 min.

Antes da cápsula ser introduzida no dispositivo Rotahaler 1 foi previamente pesada, tendo sido determinada a quantidade de pó que está disponível para a inalação.

P cápsula cheia = 0,07367 mg

P cápsula vazia = 0,04766 mg

P pó = 26010μg

Quadro 14 – Perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min.

Diâmetro limite (μm)	**Massa depositada em cada estágio (μg)**	**Massa acumulada (μg)**	**% em cada estágio**	**% acumulada**
9	4800	6127	78,34	100
5,8	380	1327	6,20	21,66
4,7	120	947	1,96	15,46
3,3	90	827	1,47	13,50
2,1	190	737	3,1	12,03
1,1	120	547	1,96	8,93
0,7	57	427	0,93	6,97
0,4	150	370	2,45	6,04
Filtro	220	220	3,59	3,59

Neste ensaio realizado a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min, verificou-se que após 2 min de ensaio já era visível a libertação de pó da cápsula, mas grande quantidade de pó permaneceu no inalador e no tubo de admissão. Ao fim de 10 min de ensaio verificou-se um aumento da quantidade de pó libertado da cápsula, ficando algum retido no inalador e no tubo de admissão. Decorridos os 15 min de ensaio a cápsula estava praticamente vazia, continuando a observar-se pó no inalador, no tubo de admissão e nos dois primeiros estágios do amostrador.

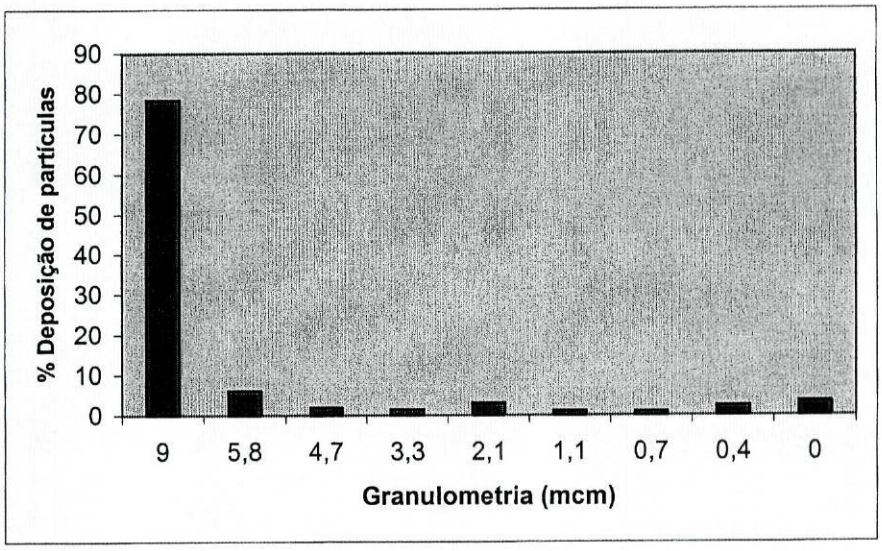


Figura 21 - Percentagem de deposição de partículas em cada estágio após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min.

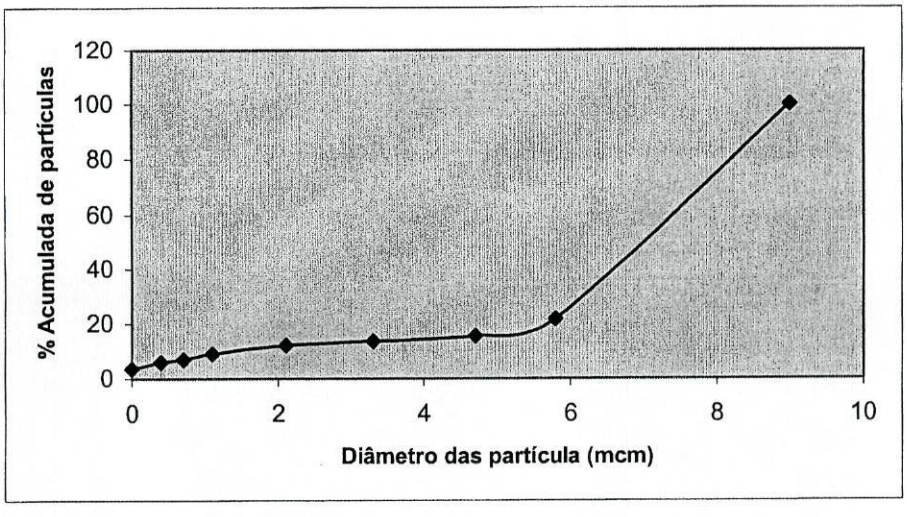


Figura 22 - Distribuição do tamanho das partículas após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15min.

A caracterização dos perfis de deposição das partículas emitidas por uma descarga pelos diferentes IPS é feita mediante a determinação de vários parâmetros. Nos Quadros 15 e 16 são apresentados os resultados obtidos para a caracterização da distribuição das partículas emitidas por uma descarga dos inaladores de pó seco a um fluxo de ar de 28 l/min e de 60 l/min, respectivamente.

Para além do cálculo da fracção respirável de partículas (**FPF**) é também determinado a dose que realmente é emitida pelo inalador (**DE**), o diâmetro aerodinâmico médio de massa (**DAMM**), a dispersibilidade e a dose de partículas finas (**DPF**).

Os parâmetros FPF e o DAMM são determinados por interpolação gráfica relacionando a percentagem acumulada com o diâmetro de partículas e a percentagem acumulada com o logaritmo do diâmetro das partículas, respectivamente. À FPF corresponde a percentagem de partículas que possuem um diâmetro aerodinâmico inferior a 5 μm e ao DAMM corresponde o diâmetro de 50 % das partículas emitidas. A DPF corresponde à dose de partículas, expressa em μg, que possuem um diâmetro aerodinâmico inferior a 5 μm e é determinada por interpolação gráfica relacionando a massa acumulada com o diâmetro das partículas.

A DE, expressa em μg, corresponde à massa total de partículas depositada nos vários estágios do impactor. A dispersibilidade é expressa em percentagem e é calculada a partir do quociente entre a DPF e a DE.

Quadro 15- Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelos diferentes inaladores de pó seco a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

IPS	DE (μg)	DPF (μg)	FPF (%)	DAMM (μm)	Dispersibilidade %
Turbohaler 1	40	0	0	7,2	0
Turbohaler 2	150	135	90	2,5	90
Rotahaler 1	60	26	44	5,7	43,33

Quadro 16- Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 s.

IPS	DE (μg)	DPF (μg)	FPF (%)	DAMM (μm)	Dispersibilidade %
Rotahaler 1	1547	275	17,5	6,6	19,39

Com o inalador Rotahaler 1 foram realizados outros dois ensaios em que o fluxo de ar foi aumentado de 15 s para 15 min. Um dos ensaios foi realizado a um fluxo de ar de 28 l/min enquanto que o outro utilizou-se a um fluxo de ar de 60 l/min.

No Quadro 17 pode observar-se o comportamento das partículas emitidas pelo Rotahaler 1 quando submetidas a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.

Quadro 17 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no impactor em cascata de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min.

IPS	DE (μg)	DPF (μg)	FPF (%)	DAMM (μm)	Dispersibilidade %
Rotahaler 1	8190	6750	82	1,3	82,42

O comportamento das partículas emitidas pelo Rotahaler 1 quando submetido a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min encontra-se caracterizado no Quadro 18.

Quadro 18 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson – Mark II, após uma descarga pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min durante 15 min.

IPS	DE (μg)	DPF (μg)	FPF (%)	DAMM (μm)	Dispersibilidade %
Rotahaler 1	6127	1000	16	6,9	16,32

3.3 Determinação analítica por cromatografia líquida (HPLC)

3.3.1 Curva de calibração do sulfato de salbutamol (SS)

Foram preparadas cinco soluções padrão de sulfato de salbutamol de diferentes concentrações. O solvente utilizado foi uma mistura de metanol: água (2:1). As soluções padrão foram previamente filtradas e colocadas num banho de "ultrassons" durante 10 min.

Partindo da solução padrão de menor concentração para a de maior concentração foram feitas consecutivamente injecções de 50 µl de cada solução. No Quadro 19 estão esquematizados os tempos de retenção e as respectivas áreas obtidas para cada solução.

Quadro 19 – Tempos de retenção e áreas correspondentes aos picos obtidos para as diferentes concentrações de solução padrão de sulfato de salbutamol.

Concentração da sol.de SS em g/100ml	**Tempo de retenção (Tr)**	**Área**
0,00125	2,583	83179
0,0025	2,558	184856
0,005	2,547	365621
0,01	2,532	725739
0,02	2,429	1500039

Com os valores inscritos no Quadro 19 foi possível traçar o gráfico apresentado na Figura 23 e no qual se observa que existe uma relação linear entre a área dos picos e a concentração das soluções padrão.

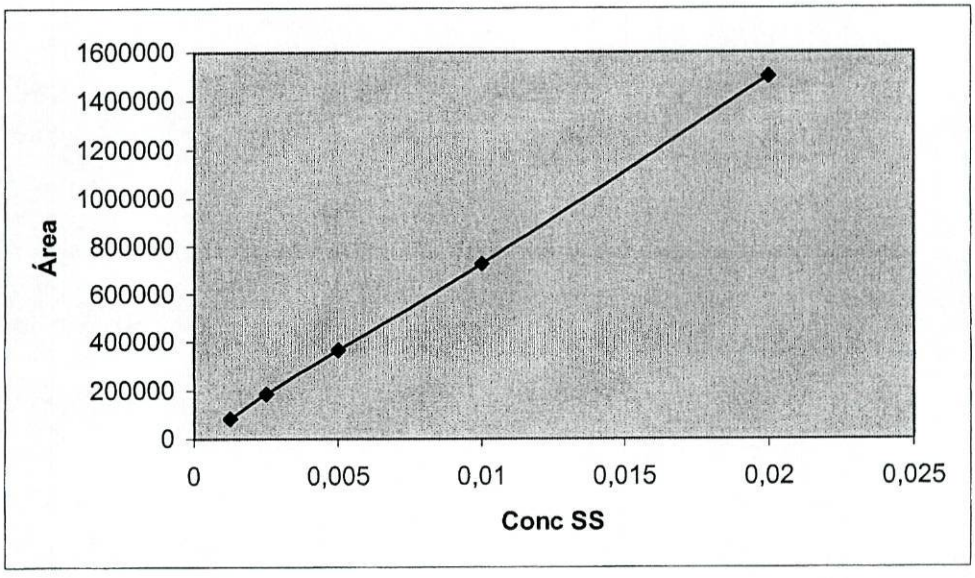


Figura 23 - Curva de calibração do sulfato de salbutamol por HPLC.

3.3.2 Determinação da distribuição do tamanho das partículas emitidas após descarga pelo Rotahaler 1, através do amostrador granulométrico de Anderson - Mark II, por cromatografia líquida

O Rotahaler 1 é um inalador de pó seco de dose única. A formulação é constituída pelo fármaco, o salbutamol, sob a forma de sulfato e pelo "carrier", a lactose, que está acondicionada em cápsulas. Assim, cada embalagem é constituída por 30 cápsulas duras contendo cada uma 400 μg de salbutamol.

Para cada inalação uma cápsula é introduzida no inalador e por rotação do dispositivo ocorre a separação da cápsula em duas partes libertando desta forma uma dose de fármaco para o interior do dispositivo e consequentemente para o impactor.

Na realização dos estudos de avaliação aerodinâmica das partículas finas emitidas pelo Rotahaler 1 utilizando o HPLC para determinar a quantidade de fármaco depositada em cada estágio do impactor, o fluxo de ar usado foi de 28 l/min durante 15 s.

Antes das cápsulas serem introduzidas no dispositivo Rotahaler 1 foram previamente pesadas, tendo sido determinada a quantidade de pó que está disponível para a inalação. As massas correspondem à média das cápsulas utilizadas nos 3 ensaios.

P 5 cápsulas cheias = 0,366445 mg

P 5 cápsula vazias = 0,239445 mg

P pó = 127000 μg

Após descarga no amostrador granulométrico de Anderson de 5 cápsulas pelo inalador procedeu-se à determinação da quantidade de partículas que permaneceram no inalador e nas cápsulas, as que ficaram retidas no tubo de admissão e as depositadas nos vários estágios do impactor. Para tal, cada um destes elementos foi lavado com 10 ml de solvente e recolhida a solução para balões volumétricos de 10 ml. De cada uma destas soluções foi injectado um volume de 50 µl e feita a análise cromatográfica por HPLC (Quadro 20).

Foram realizados três ensaios. O lote de cápsulas utilizado foi o D026504. Os valores determinados correspondem à média das determinações dos três ensaios tendo sido em cada ensaio utilizadas 5 cápsulas.

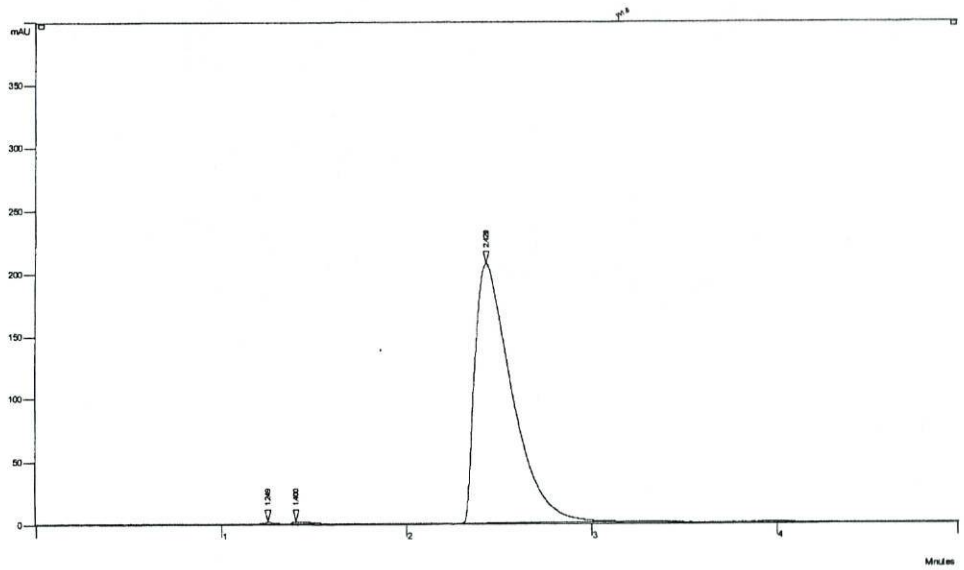


Figura 24 – Cromatograma do Sulfato de Salbutamol (SS)

Quadro 20 – Áreas e tempos de retenção dos picos obtidos de sulfato de salbutamol que permaneceu no dispositivo e nas cápsulas e o depositado no tubo de admissão e nos vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson.

Soluções	**Área**	**Tempo de retenção (min)**
Sol.1 – inalador	333047	2,538
Sol. 2 – cápsulas	457162	2,661
Sol. 3 - Tubo de admissão	45732	2,602
Sol. 4 – Estágio 0	35149	2,572
Sol 5 – Estágio 1	14835	2,720
Sol. 6 – Estágio 2	6456	2,782
Sol. 7 – Estágio 3	6493	2,488
Sol. 8 – Estágio 4	3401	2,461
Sol. 9 – Estágio 5	_____	_____
Sol. 10 – Estágio 6	_____	_____
Sol. 11 – Estágio 7	_____	_____
Sol. 12 – Estágio terminal de filtração	_____	_____

Em qualquer um dos três ensaios a quantidade de pó que permaneceu no dispositivo e a que ficou nas cápsulas foi considerável, facto este visível a olho nu. O fluxo de ar de 28 l/min não foi eficaz para que ocorresse uma desagregação completa das partículas das cápsulas.

salbutamol.

admissão e nos

Quadro 20 – Áreas e tempos de retenção dos picos obtidos de sulfato de s
que permaneceu no dispositivo e nas cápsulas e o depositado no tubo de
vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson.

Soluções	Área	Tem
Sol.1 – inalador	333047	
Sol.2 – cápsulas	457162	
Sol.3 - Tubo de admissão	457	
Sol.4 – Estágio 0		
Sol.5 – Estágio 1		
Sol.6 – Estágio 2		
Sol.7 – Estágio 3		
Sol.8 – Estági		
Sol.9 – E		
Sol		

mpo de retenção (min)	
2,538	
2,661	
32 2,602	
35149 2,572	
14835 2,720	
6456 2,782	
6493 2,488	
gio 4 3401 2,461	
Estágio 5 ——— ———	
.10 – Estágio 6 ——— ———	
Sol. 11 – Estágio 7 ——— ———	
Sol. 12 – Estágio terminal de filtração ——— ———	

Em qualquer um dos três ensaios a quantidade de pó que permaneceu no dispositivo e a que ficou nas cápsulas foi considerável, facto este visível a olho nu. O fluxo de ar de 28 l/min não foi eficaz para que ocorresse uma desagregação comple das partículas das cápsulas.

eta.

Quadro 22 – Perfil de deposição de uma formulação de sulfato de salbutamol, no amostrador granulométrico de Anderson após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1.

Local de deposição das partículas de SS	Massa SS depositada (μg)	Massa acumulada (μg)	% em cada estágio	% acumulada
Tubo de admissão	63,01	154,41	40,81	100
Estágio 0	48,43	91,40	31,36	59,19
Estágio 1	20,44	42,97	13,24	27,83
Estágio 2	8,89	22,53	5,76	14,60
Estágio 3	8,95	13,64	5,80	8,83
Estágio 4	4,69	4,69	3,04	3,04
Estágio 5	0	0	0	0
Estágio 6	0	0	0	0
Estágio 7	0	0	0	0
Estágio F	0	0	0	0

A maior parte das partículas ficaram retidas nas cápsulas e no inalador e das partículas emitidas verificou-se elevada deposição no tubo de admissão. O diâmetro das partículas depositadas no amostrador é superior a 2,1 μm.

A forma como ocorreu a deposição das partículas emitidas pela descarga de 5 cápsulas do Rotahaler 1 pode ser visualizada graficamente relacionando a percentagem de partículas que se depositaram no tubo de admissão e em cada estágio em função da

sua granulometria (Figura 24) ou através da determinação da percentagem acumulada abaixo de cada estágio (Figura 25).

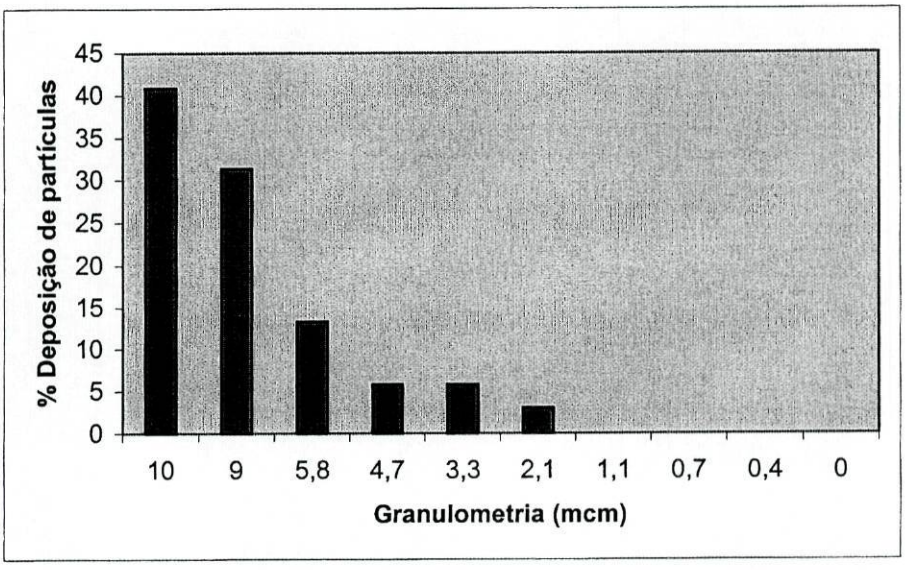


Figura 25 - Percentagem de deposição de partículas no tubo de admissão e em cada estágio do amostrador granulométrico de Anderson após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

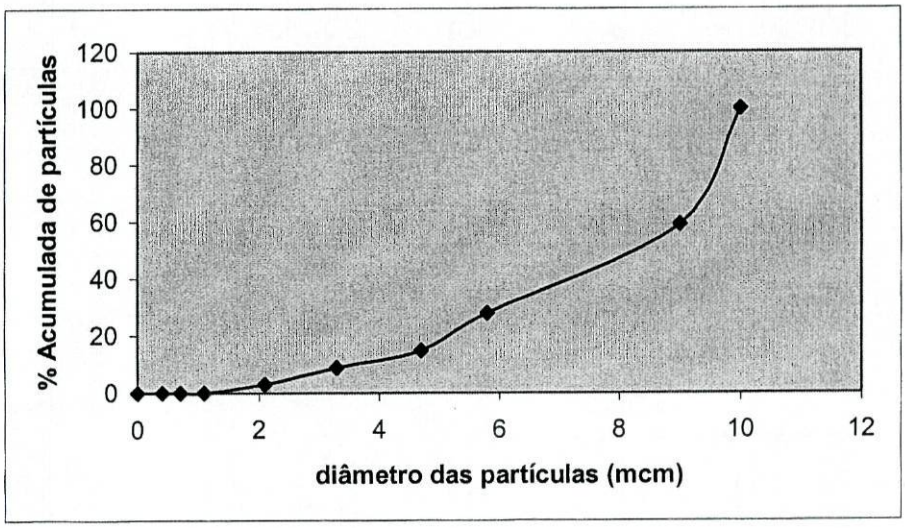


Figura 26 – Distribuição do tamanho das partículas após descarga de 5 cápsulas pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

Em simultâneo com estes ensaios foi determinada, por HPLC, a quantidade de sulfato de salbutamol existente em 5 cápsulas do mesmo lote das utilizadas neste ensaio. Assim, o conteúdo das 5 cápsulas foi dissolvido em 50 ml de solvente, tendo sido injectado um volume de 50 µl desta solução. A quantidade de sulfato de salbutamol determinada foi de 1872,05 µg.

Mediante os valores determinados da quantidade de sulfato de salbutamol retida ou depositada foi possível caracterizar o perfil de deposição das partículas emitidas por este inalador no amostrador granulométrico de Anderson, determinando-se para tal a fracção de partículas finas (**FPF**), a dose de partículas finas (**DPF**), o diâmetro aerodinâmico de massa (**DAMM**), a dose emitida (**DE**) e a dose total recuperada (**DR**).

A DE corresponde à quantidade, em μg de fármaco realmente emitida pelo Rotahaler 1, ou seja à massa total de fármaco depositada nos vários estágios do impactor e no tubo de admissão.

A DR corresponde à soma das partículas que permaneceram no inalador, nas cápsulas, no tubo de admissão e as que foram depositadas nos vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson.

Quadro 23 - Caracterização do perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson - Mark II, após 5 descargas pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min durante15 s.

IPS	**DE(μg)**	**DR (μg)**	**DPF (μg)**	**FPF (%)**	**DAMM (μm)**	**Dispersibilidade %**
Rotahaler 1	154,41	1243,25	29	18	5,2	18,78

3.4. Discussão de resultados

3.4.1 Ensaios com inaladores de dose calibrada a um fluxo de ar de 28 l/min

A distribuição do tamanho das partículas emitidas pelo IDC 1 foi realizada de uma forma homogénea tendo havido deposição de partículas ao longo de quase todos os estágios do impactor inclusive nos estágios mais periféricos. O perfil desta deposição pode ser observado no Quadro 3, onde estão representados os valores de massa de partículas depositadas, verificando-se deposição de quantidades consideráveis nos estágios 4 (13,72 %), 5 (39,22 %), 6 (7,84 %) e no estágio terminal de filtração (11,76 %).

O IDC 1 demonstrou produzir uma boa aerossolização da formulação apresentando uma FPF de 93 %, à qual corresponde um DAMM relativamente pequeno, de 0,9 μm. No entanto, verificou-se que uma fracção significativa de partículas (75%) ficaram retidas no dispositivo e principalmente no tubo de admissão.

Contrariamente ao IDC 1 a distribuição das partículas emitidas pelo IDC 2 após 6 descargas não foi uniforme, tendo ocorrido deposição de toda a dose emitida no estágio 3 (Figura 5), o que significa que as partículas emitidas possuem um diâmetro compreendido entre 3,3 μm e 4,7 μm. Realmente o DAMM das partículas que constituem o aerossole emitido pelo IDC 2 é de 2,7 μm, sendo superior ao das partículas que constituem a formulação emitida pelo IDC 1. Apesar do IDC 2 não apresentar um perfil de deposição tão periférico como o IDC 1 a FPF originada é de 100%, o que confere a este inalador características ideais de aerossolização da formulação. Tal como aconteceu com o IDC 1, com o IDC 2 também se verificou uma elevada, embora não

tão elevada como o IDC 1, deposição de partículas no tubo de admissão e inalador (66 %).

No Quadro 5 estão representados os valores de massa de partículas depositadas pelo IDC 3 após 6 descargas e tal como ocorreu com o IDC 1, observou-se para o IDC 3 valores baixos de DE (30 %). Com o IDC 3 também se verificou uma elevada deposição de partículas no tubo de admissão (69,75 %). O perfil de deposição das partículas emitidas pelo inalador IDC 3 é semelhante ao do IDC 1 tendo havido uma deposição de partículas nos estágios mais periféricos do impactor, o que equivale a que 16,33 % das partículas emitidas têm um diâmetro compreendido entre 2,1 μm e 3,3 μm, 44,89 % um diâmetro compreendido entre 1,1 μm e 2,1 μm e 4,08 % um diâmetro compreendido entre 0,4 μm e 0,7 μm. O DAMM das partículas da formulação emitida pelo IDC 3 a um fluxo de ar de 28 l/min é de 1,1 μm.

Dos três inaladores de dose calibrada em estudo o IDC 3 foi o que originou valores mais baixos de FPF (78%), tendo sido o IDC 2 aquele que produziu uma melhor aerossolização da formulação.

Para o ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min obteve-se para os três inaladores diferentes valores de FPF, DE e DAMM, o que permite afirmar que os inaladores apresentam "performances" diferentes. Essas diferenças poderão ser devidas à formulação, visto tratar-se de diferentes fármacos e diferentes propelentes ou ao dispositivo inalatório uma vez que apesar de serem todos IDC, possuem características diferentes o que influenciará as características das partículas emitidas.

3.4.2. Ensaio com inalador de dose calibrada a um fluxo de ar de 60 l/min

Foi apenas realizado um ensaio com o IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min. O perfil de deposição das partículas emitidas pelo IDC 3 a 60 l/min é similar ao obtido a um fluxo de ar de 28 l/min, tendo-se verificado uma distribuição de tamanhos das partículas aerossolizadas homogénea, o que pode observar-se na Figura 9 pela deposição de partículas em todos os estágios do impactor. A este fluxo ocorreu um aumento da DE que passou de 30 %, a um fluxo de ar de 28 l/min, para 69,75 %. Por sua vez a FPF que o IDC 3 originou a um fluxo de ar de 60 l/min foi também superior, passando de 78 % para 94 %.

Assim, é de realçar que para o IDC 3 um fluxo de ar de 60 l/min favoreceu a aerossolização do fármaco emitido pelo inalador e melhorou a sua capacidade de dispersar a formulação, visto que a deposição no tubo de admissão foi menor relativamente ao ensaio realizado para o IDC 3 a 28 l/min, de 69,75 % passou a 30, 24 % (Quadro 7 e 8).

Se o aumento do fluxo pode por um lado promover a deposição de partículas no tubo de admissão e nos estágios superiores do impactor, por outro lado promove a desagregação das partículas de maior tamanho em partículas de menor tamanho, as quais não são depositadas no tubo de admissão e são dispersas no fluxo de ar, resultando em deposições de partículas nos estágios mais inferiores do impactor . O que se verificou no ensaio com o IDC 3 a um fluxo de 60 l/min foi precisamente um aumento da FPF, como pode observar-se nos Quadros 6 e 8.

3.4.3. Ensaio com inaladores de pó seco a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 s.

O Turbohaler 1 evidenciou um fraco poder de escoamento e uma fraca capacidade de aerossolização, uma vez que as partículas emitidas pelo inalador ficaram depositadas no estágio 0 do impactor (Figura 11). De acordo com os resultados obtidos (Quadro 9) pode concluir-se que todas as partículas emitidas apresentavam um diâmetro superior a 9 μm, na realidade o DAMM da formulação emitida é de 7,2 μm.

A formulação do Turbohaler 1 é constituída pelo complexo fármaco-"carrier" e um fluxo de 28 l/min parece não ser suficiente para libertar o complexo do dispositivo e promover a separação do fármaco do "carrier". Como as partículas de "carrier" geralmente possuem um diâmetro compreendido entre 30 μm e 200 μm é, então compreensível que tenha ocorrido a deposição das partículas emitidas no estágio 0, e que consequentemente não se tenha obtido uma fracção respirável de partículas (FPF de 0 %).

Contrariamente com o que se verificou com o Turbohaler 1, a formulação emitida após uma descarga do Turbohaler 2 é constituída por partículas de diâmetro mais pequeno, apresentando um perfil de deposição de partículas homogéneo ao longo dos vários estágios do impactor. De acordo com os resultados apresentados no Quadro 10 pode verificar-se que para além da deposição de partículas no estágio 1 (16,67 %), no estágio 2 (13,33 %) e no estágio 3 (30%), as quais apresentavam um diâmetro compreendido entre 3,3 μm e 9 μm, verificou-se que uma grande percentagem de partículas (40%) tinham um diâmetro mais pequeno, compreendido entre 0,4 μm e 0,7 μm. O DAMM das partículas emitidas é de 2,5 μm.

A formulação emitida pelo Turbohaler 2 produziu uma FPF de 90% o que traduz uma boa capacidade de aerossolização deste inalador a um fluxo de ar de 28 l/min.

A DE pelo Turbohaler 2 foi muito elevada (150 μg) o que permite afirmar que o pó fluiu facilmente do inalador.

A DE pelo Rotahaler 1 foi muito baixa, apenas 0,23 % da dose disponível na cápsula se depositou no impactor. Como pode observar-se no Quadro 11, 55,55 % das partículas emitidas apresentaram um diâmetro superior a 9 μm e 44,45 % um diâmetro compreendido entre 2,1 μm e 3,3 μm. Estes resultados permitem concluir que 99,77 % das partículas que constituem a formulação emitida pelo Rotahaler ficaram retidas no tubo de admissão, na cápsula e no dispositivo.

O fluxo de ar de 28 l/min não foi suficiente nem para libertar o complexo fármaco-"carrier" da cápsula e do inalador, nem para promover uma adequada separação do fármaco do "carrier", resultando que a FPF seja de 44 %.

3. 4.4. Ensaio com inalador de pó seco : fluxo de ar de 60 l/min, durante 15 s.

A DE pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min (6,05 %) foi superior à obtida a um fluxo de ar de 28 l/min (0,23 %), obtendo-se ainda um perfil de deposição de partículas mais periférico. Deste modo verificou-se que 3,23 % das partículas emitidas apresentavam um diâmetro compreendido entre 0,7 μm e 1,1 μm, 2,59 % um diâmetro compreendido entre 0,4 μm e 0,7 μm e 4,52 % um diâmetro inferior a 0,4 μm (Quadro 12).

Apesar de verificar-se uma maior emissão de partículas deste inalador a um fluxo de ar de 60 l/min, a capacidade de dispersão da formulação pelo inalador não foi tão eficaz, uma vez que se obteve uma FPF de 17,5 %.

Ao aumentar o fluxo de ar de 28 l/min para 60 l/min foi favorecido o escoamento do pó do inalador, tendo sido obtida uma DE superior para o Rotahaler 1. No entanto, o que aconteceu foi que estas partículas emitidas ficaram depositadas nos estágios superiores do impactor. Assim, o aumento do fluxo favoreceu o escoamento das partículas da cápsula, mas não foi gerada uma turbulência capaz de quebrar a ligação do complexo fármaco-"carrier", pois as partículas de "carrier" apresentavam dimensões elevadas, se não sendo possível a quebra da ligação e a degradação das partículas do complexo em partículas de menor diâmetro, o complexo acaba por se depositar nos estágios superiores do impactor por não ter um diâmetro apropriado para penetrar no impactor (diâmetro das partículas superior a 10 μm).

A curva da Figura 18 encontra-se inclinada mais para a direita, relativamente à curva da Figura 16, o que mostra a fraca dispersão do pó por este inalador a um fluxo de ar de 60 l/min.

3.4.5 Ensaio com inalador de pó seco: fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min

Ao aumentar o fluxo de ar de 15 s para 15 min verificou-se um aumento considerável da DE pelo Rotahaler 1, passando de 60 μg para 8190 μg e consequentemente foi aumentada a percentagem de partículas depositadas ao longo dos vários estágios do impactor (Quadro 13).

O prolongamento do tempo de ensaio permitiu uma maior libertação do pó da cápsula o que significa que para este dispositivo uma só inalação não é suficiente para

libertar toda a quantidade de pó disponível da cápsula. Na realidade uma das vantagens deste dispositivo é a de permitir que se proceda a mais do que uma inalação de modo a que possa ser libertada a maior quantidade de fármaco possível para que ocorra a deposição da dose terapêutica no local de acção.

Comparando o ensaio realizado com o Rotahaler a um fluxo de 28 l/min durante 15 s e o ensaio realizado ao mesmo fluxo durante 15 min, verificou-se uma aerossolização melhor da formulação emitida pelo Rotahaler 1 durante 15 min, tendo-se obtido uma FPF de 82 %.

3.4.6 Ensaio com inalador de pó seco: fluxo de ar de 60 l/min, durante 15 min

A DE pelo Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 60 l/min (6127 μg) durante 15 min foi muito superior à DE ao mesmo fluxo de ar durante apenas 15 s (1547 μg). Este facto é justificado pela melhoria da capacidade de escoamento da formulação pelo aumento do tempo durante o qual o fluxo de ar atravessa o impactor.

Assim, ao prolongar o tempo de fluxo de ar de 15 s para 15 min, é promovida a desagregação das partículas e a sua libertação das paredes da cápsula e do inalador, o que se traduzirá num aumento da DE e consequentemente num aumento da deposição de partículas ao longo dos vários estágios do impactor (Quadro 14).

Embora fosse previsível um aumento da FPF relativamente ao ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min, tal facto não se verificou. A FPF obtida neste ensaio foi de 16 %, sendo inferior à obtida no ensaio realizado a um fluxo de ar de 28 l/min durante 15 min (82 %).

Existem vários estudos publicados com IPS, principalmente com o Rotahaler, que demonstram que o aumento do fluxo de ar além de originar um aumento da DE, é

aumentada a FPF, já que é promovido um maior fraccionamento das partículas que constituem a formulação originando-se partículas de menor diâmetro. Este facto é justificado pelo aumento da turbulência que é criada no inalador para fluxos superiores, traduzindo-se numa desagregação mais completa da formulação, com quebra das ligações entre fármaco–"carrier", sendo maior o número de pequenas partículas dispersas no fluxo inalado.

Neste trabalho quer para os ensaios realizados a um fluxo de ar 60 l/min durante 15 s quer para os ensaios realizados ao mesmo fluxo de ar durante 15 min os resultados obtidos não estão totalmente de acordo com os resultados de estudos publicados, relativamente aos ensaios realizados a um fluxo de ar de 28 l/min. Na realidade para os fluxos superiores não houve o aumento previsível da FPF, ocorrendo uma diminuição, deste parâmetro.

3.4.7. Ensaio com o Rotahaler 1 por HPLC a um fluxo de ar de 28 l/min, durante 15 s

A DE pelo Rotahaler foi de 8,25 %, o que revela uma fraca capacidade de escoamento da formulação por este dispositivo a um fluxo de ar de 28 l/min, sugerindo que este fluxo de ar não é suficiente para promover a libertação do complexo fármaco – "carrier" das cápsulas, o que é confirmado pela elevada quantidade de fármaco que permaneceu nas cápsulas e no inalador (58,16 %).

Da DE verificou-se que as partículas de fármaco se depositaram nos primeiros estágios do impactor, pelo que a dimensão das partículas emitidas é superior a 2,1 μm (Quadro 22).

A um fluxo de ar de 28 l/min além da fraca capacidade de escoamento evidenciada por esta formulação do Rotahaler, verificou-se, também, uma fraca aerossolização da formulação já que a FPF é de apenas 18 %.

Nenhuma das curvas de distribuição das partículas emitidas pelo Turbohaler 1 e pelo Rotahaler 1 a um fluxo de 28 l/min durante 15 s (Figuras 12 e 16, respectivamente) originou um recta, o que indica que cada curva de emissão de partículas corresponde à distribuição de dois tipos de partículas de tamanhos diferentes. Uma corresponderá às partículas de lactose de maior diâmetro e a outra às partículas micronizadas de fármaco. Realmente nos métodos gravimétricos o que se determinou foram distribuições de deposições de partículas, pois o método utilizado não é um método específico para o fármaco. No ensaio da determinação da distribuição do tamanho das partículas de SS emitidas pelo Rotahaler 1, por métodos analíticos observa-se uma relação linear entre a distribuição e o tamanho das partículas, uma vez que é analisada uma substância com intervalos de diâmetro restritos (Figura 26).

4 – Optimização das formulações dos IPS

4.1. Inalação por Inaladores de Pó Seco e Formulação Farmacêutica

A eficácia da terapêutica por inalação é determinada pelas características das partículas emitidas pelo inalador, as quais resultam da combinação das características da formulação e do inalador.

Existem diversos tipos de IPS, os quais possuem organizações internas e modos de funcionamento diferentes. Um contributo importante para a eficácia da terapêutica por inalação é o correcto conhecimento, pelo operador, de como manusear o inalador. Procedimentos incorrectos de utilização resultam em fracas deposições pulmonares de fármaco, comprometendo de imediato a terapêutica, sem que tenha sido tirada qualquer vantagem do inalador.

Apesar do correcto manuseamento do inalador, observam-se, por vezes, diferentes deposições pulmonares de fármaco pelos diferentes inaladores, devido ao facto de cada inalador possuir um mecanismo próprio de dispersão das partículas e por outro lado devido às diferentes formulações que os constituem.

Para que seja possível atingir uma óptima deposição pulmonar de um determinado fármaco por inalação, é importante conciliar o tipo de dispositivo inalatório a utilizar com a formulação que veicula o fármaco.

4.1.1. A formulação farmacêutica e a presença do "carrier"

O tamanho das partículas de fármaco que constituem as formulações dos dispositivos IPS é, geralmente, inferior a 5 μm, de forma a que seja possível a sua deposição na parte inferior do tracto respiratório. No entanto, partículas destas dimensões são normalmente coesas, com tendência a aderirem entre si e com fracas capacidades de escoamento.

A coesão entre partículas, por contacto entre as suas superfícies é proporcional à área específica de superfície das partículas e inversamente proporcional ao seu tamanho (20). Por este motivo, torna-se difícil a sua total remoção do dispositivo e dispersão nas vias respiratórias. Este problema foi contornado recorrendo à adição na formulação de um "carrier" inerte ou à produção de "agregados soltos" de fármaco que facilmente se desagregam, como acontece com o Turbohaler.

Através da adição do "carrier" obtém-se uma mistura com partículas de fármaco micronizadas, as quais estabelecem ligações, por meio de forças físicas, com os locais activos das partículas do "carrier". Este deve ser química e fisicamente estável, existir numa forma farmacêutica aceitável, ser inerte relativamente ao fármaco utilizado e, fundamentalmente, não deve provocar danos nas vias respiratórias e ser facilmente removido após inalação.

A lactose é geralmente a mais utilizada, dado preencher a maior parte destes requisitos. É possível obter lactose com diferentes tenuidades, mas geralmente o tamanho das partículas de lactose usadas como "carrier" varia entre 63 μm e 90 μm (24). Este processo melhora as características de escoamento do fármaco, promovendo uma libertação mais eficiente da formulação do dispositivo. Contudo, verificou-se que após a inalação nem sempre houve a desejada deposição pulmonar devido a uma

deficiente libertação das partículas de fármaco do "carrier". Surgiu então a necessidade de modificar a formulação, com o intuito de enfraquecer as forças que mantêm a ligação fármaco–"carrier".

Kassem *et al.* concluíram que diminuindo o tamanho e a rugosidade da superfície das partículas de "carrier" era possível favorecer a separação entre o fármaco e o "carrier". A inclusão, na formulação, de um terceiro composto, como é o caso do estearato de magnésio aumentou a eficácia da formulação, diminuindo as forças de ligação entre as partículas de fármaco e do "carrier", requerendo, no entanto, a realização de ensaios de toxicidade.

Lord *et al.* propuseram uma estratégia clinicamente mais aceitável, a qual consistiu na ligação de partículas finas de lactose às partículas grosseiras de "carrier" de forma a melhorar a deposição da formulação de salbutamol (25).

4.1.2. Deposição *in vitro* de um fármaco/propriedades físico-químicas do "carrier"

A lactose é a substância mais utilizada como "carrier", fazendo parte integrante da formulação, daí que as suas características físico-químicas como, o tamanho das partículas, os aspectos morfológicos e as formas polimórficas tenham um papel preponderante na forma como ocorre a desagregação e dispersão da formulação após inalação, influenciando, assim, o grau de deposição das partículas de fármaco nos pulmões.

A lactose pode ser obtida numa das suas duas formas isoméricas α e β, ou no estado amorfo. A α-lactose existe na forma mono-hidratada e anidra, correspondendo, a

primeira, à forma termodinâmica mais estável, sendo por isso a mais utilizada como "carrier" nas formulações de IPS. As diferentes formas polimórficas têm propriedades físico-químicas diferentes, tais como a solubilidade, o ponto de fusão, a densidade e a dureza. A α-lactose mono-hidratada apresenta uma dureza e elasticidade maior que a β-lactose e a α-lactose anidra. De acordo com o processo de cristalização a α-lactose mono-hidratada pode ser preparada com diferentes formas, as quais também diferem nas propriedades físico-químicas. O tamanho e a distribuição das partículas de lactose são também características muito importantes uma vez que influenciam as propriedades de escoamento, compressibilidade e distribuição aerodinâmica da formulação (26).

Larhrib *et al.* estudaram a deposição de sulfato de salbutamol micronizado, libertado pelo Rotahaler a um débito inspiratório de 60 l/min e concluiram que foi influenciada pelas propriedades físicas da lactose incorporada na formulação. Foram usados 5 tipos diferentes de lactose, a lactose anidra, a lactose média (medium lactose), a lactose amorfa, os cristais de lactose e a lactose Foremost (obtida da Foremost Farms, WI, USA). Todas foram fraccionadas nas mesmas condições, de forma a obter-se partículas de tamanho entre 63 μm e 90 μm.

Recorrendo a diversos métodos procedeu-se a uma correcta caracterização de cada tipo de lactose quanto à forma (por microscopia óptica e electrónica), ao tamanho (difracção por laser) e às formas cristalinas (análise térmica gravimétrica e colorimetria diferencial de varrimento).

Cada tipo de lactose foi misturada, separadamente, com uma quantidade igual de salbutamol micronizado. Posteriormente procedeu-se à determinação dos perfis de deposição do sulfato de salbutamol para cada preparação, recorrendo ao Liquid Impinger de 5 estágios.

Apesar de submetidas a idênticos processos de tamização, os vários tipos de lactose exibiram diferentes tamanhos, formas, texturas, distribuições aerodinâmicas de tamanhos e concentrações de partículas finas.

A lactose anidra tinha uma forma diferente das outras lactoses ensaiadas, apresentando uma textura áspera e uma forma mais regular e arredondada, menor tamanho (menores VMD - volume median diameter ≈70,27 ± 1,76) e maiores percentagens de partículas finas.

A lactose média tinha a textura mais lisa e foi a que apresentou valores de VMD mais baixos (≈84,03 ± 1,75).

A lactose amorfa, a Foremost e os cristais de lactose são as que apresentam as formas mais irregulares, em "acha". Apresentam também valores mais elevados de VMD (sendo o maior valor de VMD encontrado para a lactose Foremost de ≈96,65 ± 1,12 e menores concentrações de partículas finas. Os cristais de lactose apresentam inúmeros poros na sua superfície.

A deposição de salbutamol para cada mistura (fármaco + "carrier") foi determinada através de um Liquid Impinger com cinco estágios. As formulações contendo os diferentes tipos de lactose originaram perfis de deposição de sulfato de salbutamol semelhantes. Contudo, foram obtidos melhores resultados com a formulação em que a lactose anidra foi usada como "carrier", pois obtiveram-se valores superiores de, DE (dose emitida pelo dispositivo), de DR (dose recuperada, correspondendo à soma das fracções de fármaco recuperadas do dispositivo, da peça colocada entre o dispositivo e o impactor e dos cinco estágios do impactor), da DPF (dose de partículas finas, que é a soma das quantidades de fármaco recuperadas do 3º, 4º e 5º estágio do impactor) e de FPF.

A maior eficácia obtida na libertação do fármaco pela lactose anidra foi devida à maior concentração de partículas finas de lactose existentes nesta formulação, já que as partículas finas ocupam os locais activos de maior energia do "carrier", passando este a estabelecer com o fármaco ligações de menor intensidade. Em virtude da diminuição das forças de ligação fármaco–"carrier", após inalação o fármaco liberta-se mais facilmente do "carrier", obtendo-se valores de deposição pulmonar de fármaco mais elevados.

A formulação contendo lactose média foi a que originou, a seguir à lactose anidra, valores mais elevados de FPF, devido ao pequeno diâmetro das suas partículas e à sua textura lisa.

A existência de poros na superfície dos cristais de lactose explica os baixos valores de FPF e DPF obtidos. Após a mistura dos cristais de lactose com o salbutamol, uma porção deste é incorporado nas saliências dos cristais, tornando difícil a sua libertação durante a inalação, diminuindo, assim, a fracção de fármaco aerossolizada.

A redução do tamanho das partículas de lactose ou o alisamento da sua superfície, contribui para melhorar a desagregação e a dispersão da formulação de sulfato de salbutamol (24).

4.1.3. Adição de lactose micronizada

As partículas de fármaco, nas formulações dos IPS, encontram-se em concentrações muito pequenas, quando comparadas com as do "carrier", sendo a relação fármaco/"carrier", geralmente, de 1:67,5. Após inalação, o "carrier" deverá libertar-se das partículas de fármaco e ficar retido no próprio inalador, ou depositado na região da

orofaringe, dado o seu tamanho estar compreendido entre 63 μm e 90 μm. Pelo que é possível concluir-se que um IPS liberta eficazmente o fármaco que acondiciona quando a ligação fármaco-"carrier" é facilmente quebrada.

Zeng *et al.* realizaram um estudo no qual se adicionaram lactose micronizada (LM-5 μm) a formulações que continham lactose grosseira (LG-90,8 μm) como "carrier" melhorando, deste modo, a desagregação e a dispersão do sulfato de salbutamol (5,8 μm) contido na formulação. Constataram, ainda, que a libertação do fármaco nas vias aéreas inferiores, por estas misturas ternárias, era superior à libertada pelas misturas contendo apenas LG e fármaco.

Contudo, nas formulações em que foi adicionada LM, teve que controlar-se a concentração a que esta foi adicionada e o tamanho que as suas partículas apresentavam, já que ao aumento da concentração e/ou diminuição do tamanho da LM, corresponde uma melhoraria na capacidade de dispersão do fármaco. No entanto, também poderá originar uma diminuição da capacidade de escoamento, da homogeneidade e da estabilidade da formulação farmacêutica a longo prazo.

O tamanho das partículas de LM e a concentração utilizada são específicas para um determinado dispositivo, fármaco e LG (26). Contudo, a adição de partículas muito finas de LM, faz com que durante a inalação sejam capazes de penetrar nas vias aéreas inferiores, situação que é particularmente indesejável para doentes intolerantes à lactose.

Zeng *et al.* estudaram o efeito do tamanho das partículas de LM adicionadas e a sequência da mistura dos três constituintes da formulação (fármaco, LG e LM) na deposição *in vitro* do fármaco após inalação a 60 l/min e 90 l/min.

Foram preparadas seis formulações contendo cada uma, LG, LM (ou lactose de tamanho intermédio - LTI ≈15,9 μm) e sulfato de salbutamol na proporção de 66,1:1:1,

divergindo na ordem em que cada um dos componentes foi adicionado (Quadro 24). Foi também preparada uma formulação de controlo constituída apenas pelo fármaco e pela LG. O dispositivo em estudo foi o Ventilan Rotahaler.

Quadro 24- Diferentes sequências da mistura ternária composta por LG, sulfato de salbutamol e LM. [a] Componentes misturados durante 30 min; [b] Último componente misturado com a ligação inicial durante 30 min, LM - lactose micronizada ≈5 μm; LTI - lactose de tamanho intermédio ≈15,9 μm.

Formulações	Sequência da mistura		
	Ligação inicial[a]		Último componente[b]
Controlo	Sulfato de Salbutamol	+	Lactose G
A	Lactose G + LM	+	Sulfato de Salbutamol
B	Sulfato de Salbutamol + Lactose G	+	LM
C	Sulfato de Salbutamol + LM	+	Lactose G
A′	Lactose G+ LTI	+	Sulfato de Salbutamol
B′	Sulfato de Salbutamol + Lactose G	+	LTI
C′	Sulfato de Salbutamol + LTI	+	Lactose G

A deposição do sulfato de salbutamol foi determinada recorrendo ao Twin Stage Liquid Impinger (TI, Apparatus A, da Farmacopeia Britânica, 1993) após descarga de 5

cápsulas por um Rotahaler, contendo cada uma, uma dose nominal de 32 ± 2 mg de pó, a um fluxo de ar de 60 l/min e de 90 l/min.

As diferentes formulações apresentam diferentes valores de fracções de partículas finas (FPF) e de doses de partículas finas (DPF), como mostram os Quadros 25 e 26 para débitos inspiratórios de 60 l/min e 90 l/min, respectivamente.

Quadro 25 - Perfis de deposição do sulfato de salbutamol a um fluxo de ar de 60 l/min pelo Rotahaler. LM - micronizada; LTI - lactose de tamanho intermédio

Formulações	DPF (μg)	FPF(%)	Dispersão (%)	Quantidade emitida (%)
Controlo	29,8 ± 2,7	6,7 ± 0,6	8,0 ± 0,7	83,4 ± 2,4
Com LM				
A	61,0 ± 4,6	14,7 ± 1,1	19,8 ± 1,5	74,4 ± 0,8
B	35,8 ± 2,0	9,1 ± 0,5	11,6 ± 0,6	78,4 ± 2,5
C	42,2 ± 2,4	10,7 ± 0,6	14,1 ± 0,8	76,1 ± 2,3
Com LTI				
A´	39,5 ± 3,7	9,6 ± 0,9	12,1 ± 1,1	79,5 ± 1,1
B´	31,7 ± 2,1	7,6 ± 0,5	9,4 ± 0,6	80,8 ± 2,1
C´	42,9 ± 4,0	9,7 ± 0,9	12,0 ± 1,1	80,9 ± 3,3

Quadro 26- Perfis de deposição do sulfato de salbutamol a um fluxo de ar de 90 l/min pelo Rotahaler.

Formulações	DPF (μg)	FPF (%)	Dispersão (%)	Quantidade emitida (%)
Controlo	47,5 ± 1,3	10,6 ± 0,3	13,2 ± 0,4	80,4 ± 2,1
Com LM				
A	96,6 ± 7,2	22,9 ± 1,7	29,9 ± 2,2	76,7 ± 0,9
B	80,1 ± 3,9	18,6 ± 0,9	23,9 ± 1,2	77,9 ± 0,7
C	83,3 ± 7,2	18,6 ± 1,6	24,0 ± 2,1	77,5 ± 0,7
Com LTI				
A´	54,4 ± 3,7	13,3 ± 0,9	16,6 ± 1,1	80,0 ± 3,1

Perante os resultados inscritos nos Quadros 25 e 26, os autores concluíram que a presença de LM na formulação farmacêutica resultou numa melhoria das capacidades de dispersão e desagregação do sulfato de salbutamol, sendo obtidos valores superiores de FPF e DPF para o fármaco, quando comparado com a formulação controlo.

Além da presença de LM na preparação, é importante também a ordem pela qual ela é adicionada à mistura inicial. Como se pode observar nos Quadros 25 e 26, os melhores resultados foram obtidos quando a LM foi adicionada previamente à LG e só depois foi adicionado o fármaco a esta mistura. Os autores justificaram estes resultados devido ao preenchimento dos locais activos de maior energia da LG, pela LM, que resultou na alteração das ligações entre o fármaco e o "carrier" (LG), visto este estar saturado ou coberto por partículas de LM. Consequentemente, menos partículas de

fármaco estão fortemente ligadas ao "carrier", aderindo apenas à sua superfície (a locais de menor energia), resultando num enfraquecimento da ligação, e permitindo ao fármaco desligar-se mais facilmente do "carrier" após inalação. Por este motivo a formulação A foi a que produziu uma maior fracção de partículas respiráveis de fármaco.

Os melhores resultados obtidos pelas formulações com LM em relação aos obtidos com as formulações que contêm LTI são explicados pelo facto do maior tamanho de partícula da LTI permitir uma adesão menos eficaz à LG do que a LM. Assim, o maior tamanho da LTI é menos eficaz em revestir os locais activos de maior energia da LG, de que resultam valores mais baixos de FPF e DPF para as formulações que contêm LTI.

O débito inspiratório também influencia a deposição das partículas de fármaco. Maiores débitos inspiratórios melhoraram a desagregação e a dispersão de partículas de fármaco. Para todas as formulações, um débito de 90 l/min traduziu-se num aumento dos valores de FPF e da DPF.

Zeng *et al.* concluíram ainda, que a deposição do fármaco não dependia apenas da ordem pela qual são adicionados os diferentes constituintes da mistura, mas também foi influenciada pelo desenho do dispositivo. A deposição pulmonar de partículas por dispositivos que apresentavam elevada resistência específica dependia menos da ordem em que foi feita a mistura, quando comparada com a obtida por dispositivos de baixa resistência, uma vez que para o mesmo débito inspiratório gerou-se nos primeiros dispositivos velocidades lineares superiores às destes últimos. Segundo Baron *et al.* estas velocidades lineares criadas no inalador geraram a força e a turbulência do fluxo de ar que atravessou o dispositivo, durante a inalação, sendo responsáveis pela desagregação e dispersão das partículas de fármaco. Esta velocidade pode ser

determinada pelo quociente entre o débito inspiratório e a área do dispositivo (cross-sectional area). Assim, um débito inspiratório de 60 l/min origina num Diskhaler (de área ≈2,5 cm^2), uma velocidade linear de 4 m/s, sendo similar à gerada num Rotahaler (área ≈4,0 cm^2) para um débito inspiratório de 90 l/min.

Uma vez que a sequência com que foi feita a mistura dos vários constituintes se revestiu de extrema importância para as formulações que se destinavam a dispositivos de baixa resistência, poderá ser uma boa estratégia proceder ao controlo dessa mistura de forma a optimizar a deposição pulmonar de fármacos quando a inalação se realiza a baixos débitos inspiratórios (27).

4.1.4. Utilização de outro "carrier" que não a lactose

A maioria das formulações para IPS tem como "carrier" a lactose. Este excipiente foi inicialmente o escolhido visto ser considerado um excipiente farmacêutico seguro, facilmente disponível, estável e compatível com a maioria dos fármacos de peso molecular pequeno. Estudos recentes mostraram a possibilidade de serem utilizadas outras substâncias como "carrier", nomeadamente outros açúcares.

Um dos motivos que levou a que outros açucares fossem experimentados foi o facto da lactose ser um açúcar redutor e como tal, não ser indicada a sua utilização como excipiente em formulações cujos fármacos sejam proteínas ou peptídeos.

Tee *et al.* investigaram a dispersão e a desagregação de formulações contendo diferentes açúcares, pelo Rotahaler. Os açucares escolhidos foram a lactose, o manitol e o sorbitol. Várias formulações foram estudadas, constituídas por misturas binárias de salbutamol e "carrier" (lactose, manitol ou sorbitol) com tenuidade grosseira

(63-90 μm), ou misturas ternárias em que para além do "carrier" utilizado foi adicionada a mesma substância mas com tenuidade diferente, mais fina (< 10 μm) (por exemplo, salbutamol + lactose grosseira + lactose fina) ou uma substância diferente com tenuidade diferente (por exemplo, salbutamol + lactose grosseira + manitol fino). A proporção da substância de tenuidade grosseira e a de tenuidade fina constitui também uma variável deste estudo, em que foram possíveis 27 combinações diferentes.

A forma das partículas foi determinada por microscopia óptica e a análise qualitativa da superfície das partículas foi realizada por microscopia electrónica. Foram observadas diferenças na morfologia das três substâncias usadas como "carrier". As partículas de manitol são as mais alongadas e com superfícies ásperas e as de sorbitol são as mais simétricas e arredondadas.

As diferenças nas formas das partículas dos três açúcares justificam as diferentes distribuições de tamanho das partículas. Os valores de VMD encontrados decrescem da seguinte ordem sorbitol> lactose> manitol.

A deposição do sulfato de salbutamol foi realizada *in vitro* através do Twin Stage Impinger. Para as misturas binárias, sem adição de açúcares finos, a formulação cujo "carrier" era o manitol grosseiro originou valores de FPF e DPF maiores e uma melhor dispersibilidade do sulfato de salbutamol do que as formulações com sorbitol e LG. Estes resultados são, em parte, devidos à maior concentração de partículas finas existentes no manitol (maior número de partículas cujo diâmetro é < 10 μm, relativamente aos outros açúcares) e ainda devido à sua forma alongada.

A adição de partículas finas de sorbitol e manitol a formulações que utilizam LG como "carrier", resultou num efeito sobre a dispersão do fármaco semelhante ao observado quando da adição de lactose fina, ou seja, em aumento dos valores de FPF e

DPF. É sugerido que quando a lactose grosseira é usada como "carrier", o efeito da adição do "carrier" com tenuidade fina, em altas concentrações, é independente da sua natureza química.

Tal não aconteceu para formulações cujo "carrier" foi o manitol ou sorbitol, nas quais se verificou que não é indiferente adicionar lactose fina ou outros açúcares finos, obtendo-se aumentos consideráveis de FPF e DPF quando a lactose fina foi adicionada, não havendo qualquer alteração destes valores pela adição dos outros açúcares.

Para além dos efeitos das partículas finas de "carrier" sobre a FPF e DPF, também afectam a emissão do pó do IPS. A emissão de sulfato de salbutamol de uma formulação com LG foi aumentada quando à formulação foi adicionado sorbitol fino.

As formulações que utilizam sorbitol como "carrier" foram as que produziram emissões de fármaco mais consistentes. As partículas de sorbitol eram mais esféricas que as partículas dos outros dois açúcares, melhorando as características de escoamento, do que resultou uma melhor emissão de fármaco do IPS, para formulações que utilizaram o sorbitol como "carrier".

Tee *et al.* demonstraram que quer o manitol quer o sorbitol podem ser substitutos da lactose como "carrier" em formulações com o sulfato de salbutamol (28).

4.2 Caracterização farmacotecnológica de diversos tipos de lactose e de Sulfato de Salbutamol

Com o objectivo de desenvolver uma formulação farmacêutica apropriada à deposição de sulfato de salbutamol pelo dispositivo Rotahaler 1 foi feita uma caracterização de diversos tipos de lactose, de forma a determinar qual seria a mais adequada para servir de veículo a este fármaco.

Para cada tipo de lactose e para o sulfato de salbutamol foram determinados os seguintes parâmetros: o ângulo de repouso através do ensaio de escoamento, a humidade utilizando o aparelho "Infra-tester" e a densidade através do ensaio do volume aparente. No Quadro 27 estão representados os valores obtidos nestes ensaios.

Foi ainda feita uma determinação da distribuição da dimensão das partículas de sulfato de salbutamol e dos diferentes tipos de lactose utilizando o Aerosizer®LD (Quadro 28).

4.2.1 Ensaio de escoamento

Uma propriedade intrínseca dos pós é a resistência ao movimento relativo das suas partículas quando submetidas a forças externas.

O ângulo de repouso é uma manifestação da resistência ao movimento das partículas quando submetidas a essas forças externas. O ângulo de repouso dá uma ideia do grau de atrito que se manifesta entre as partículas de pó. Quanto maior o grau de atrito entre as partículas maior será o ângulo de repouso (29).

Na determinação do ângulo de repouso a aparelhagem utilizada está conforme a descrita na Farmacopeia Portuguesa VI para o ensaio de escoamento.

No funil seco, cujo orifício foi previamente obturado por um meio apropriado, foi introduzido sem compactar 50,0 g de amostra. O orifício é, então, aberto deixando o pó fluir livremente pelo funil. Na base do suporte do funil foi colocada uma folha de papel milimétrico na qual o pó se depositará formando uma pilha cónica..

São, então, determinados, o tempo de escoamento, o qual corresponde ao tempo que demorou para que todo o pó caísse do funil e o ângulo de repouso (α) cujo valor corresponde à tg^{-1} da razão entre a altura e o raio da base do cone formado (3).

São efectuadas três determinações correspondendo os valores apresentados à médias destas determinações.

O ângulo de repouso de um pó permite avaliar a capacidade de escoamento do pó. Para valores inferiores a 30° o pó apresenta boas propriedades de escoamento, enquanto para valores superiores a 40° o pó tem dificuldade em escoar (29).

4.2.2 Ensaio do volume aparente

Volume aparente de um pó é igual à soma do volume ocupado pelas suas partículas com o volume de ar intersticial.

O ensaio de volume aparente destina-se a determinar, em condições definidas, os volumes aparentes antes e depois de compactação, bem como as massas volúmicas aparentes dos sólidos divididos.

Foi utilizado, neste ensaio, um equipamento automático que está conforme o descrito na Farmacopeia Portuguesa VI. O aparelho consiste numa proveta de 250 ml graduada de 2 em 2 ml de massa conhecida e num suporte da proveta, também de massa conhecida. Este aparelho de determinação automática do volume aparente de pós para além de fixar a altura da queda da proveta em 3mm, indica ainda o ritmo de pancadas (250 por minuto) (29).

Na proveta seca foi introduzido, sem compactar, 100 g de amostra, em seguida fixou-se a proveta no suporte e foi lido o volume aparente não compactado V_0

Submeter a 10, 500 e 1250 pancadas e ler os volumes aparentes correspondentes V_{10}, V_{500}, V_{1250}. Se a diferença entre V_{500} e V_{1250} for superior a 2 ml deve efectuar-se mais uma série de 1250 batimentos (3).

São realizadas três determinações correspondendo os valores apresentados à média das determinações efectuadas.

O aparelho fornece automaticamente os valores de massa volúmica aparente antes da compactação (densidade inicial), massa volúmica aparente após compactação (densidade final), o Índice de Carr [$(d_{500} - d_{inicial} / d_{final}$] e a Razão de Hausner (densidade inicial/densidade final).

O Índice de Carr (IC) permite prever a capacidade de escoamento do pó. Assim, para valores de IC inferiores a 15 % o escoamento é excelente, para valores compreendidos entre 12 % e 16 % o escoamento é bom, para valores compreendidos entre 18 % e 21 % o escoamento é razoável, para valores entre 23 % e 35 % o escoamento é fraco, para valores compreendidos entre 33 % e 38 % o escoamento é muito fraco e para valores superiores a 40 % o escoamento do pó é muito mau (29).

4.2.3 Humidade

Geralmente um pó deve apresentar um teor de humidade inferior a 8 %. A determinação da quantidade de água existente num pó pode realizar-se por diferentes processos, dos quais o mais simples consiste em avaliar a perda de peso do pó quando submetido ao aquecimento a 100 – 105ºC, que corresponde ao ensaio de perda de massa por secagem descrito na Farmacopeia Portuguesa VI

Um outro processo de determinação da humidade consiste no uso de um sistema designado por "Infra – tester", o qual foi utilizado neste trabalho para determinar a humidade de alguns tipos de lactose e de sulfato de salbutamol. Este processo consiste em pesar numa balança que está incorporada no aparelho, cerca de 5 g da amostra, a amostra conserva-se no prato da balança e submete-se durante alguns minutos à acção calorífica dos raios infravermelhos produzidos por uma lâmpada acoplada até peso constante. O teor em humidade é determinado em percentagem mediante leitura directa numa escala do aparelho.

A determinação da humidade de um pó apresenta muito interesse, pois há pós facilmente alteráveis pela humidade, sendo necessário verificar se o teor de água não excede o limite tolerável (29).

4.2.4 Distribuição da dimensão das partículas - Aerosizer®LD

A distribuição da dimensão das partículas foi determinada utilizando o Aerosizer®LD. Este aparelho desagrega o pó e mede o "tempo de voo" das partículas que é transformado em dimensão e por sua vez em distribuição geométrica.

Quadro 27 – Caracterização de vários tipos de lactose e de sulfato de salbutamol. Di corresponde à densidade inicial e Df corresponde à densidade final.

Substância	**Ângulo de Repouso (°)**	**Humidade (%)**	**Densidade (g/cm^3)**	**Índice de Carr (%)**	**Área de superfície (m^2/g)**
Sulfato de salbutamol	42,37	0,9	Df =0,6005 Di =0,4297	28,56	0,28
Lactose monohidratada	28,89	0,81	Df =0,8522 Di =0,7896	7,36	0,31
Lactose Spray-Dried 202	29,53	0,87	Df =0,7075 Di=0,6206	12,37	0,25
Lactose Anhydrous Crystals	18,24	0,42	Df =0,8521 Di=0,7425	12,86	0,38
Lactose Anhydrous powder 266	46,63	0,33	Df =0,8064 Di=0,5583	30,81	0,27
Lactopress Anhydrous 265	43,01	0,38	Df =0,9090 Di=0,6977	23,25	0,16
Pharmatose DCL11	29,58	1,02	Df =0,7142 Di=0,6339	11,39	0,15
Lactohale LH 200	47,46	1,79	Df =0,9324 Di=0,6594	29,33	0,42

Quadro 28 – Distribuição da dimensão das partículas de sulfato de salbutamol e de diferentes tipos lactose, utilizando o Aerosizer®LD.

Substâncias	Volume mean diameter ± GSD (μm)	% < 10 μm (média ± GSD)	% < 5 μm (média ± GSD)
Sulfato de salbutamol	16,83 ± 1,483	10 %	5%
Lactose mono-hidratada	15,87 ± 1,593	15%	5%
Lactose Spray-Dried 202	20,57 ± 1,687	10%	0%
Lactose Anhydrous Crystals	13,26 ± 1,690	30%	5%
Lactose Anhydrous powder 266	18,22 ± 1,648	15%	0%
Lactopress Anhydrous 265	30,65 ± 1,522	5%	0%
Pharmatose DCL11	32,07 ± 1,535	5%	0%
Lactohale LH 200	11,82 ± 1,616	35%	5%

4.2.5. Discussão de resultados

A caracterização dos diversos tipos de lactose teve como objectivo seleccionar a lactose que apresentasse propriedades farmotecnológicas que permita a sua utilização como "carrier" para o desenvolvimento de uma formulação contendo sulfato de salbutamol, de modo a ser acondicionada em cápsulas e posteriormente libertada pelo Rotahaler.

Todas as lactoses em ensaio apresentaram baixos índices de humidade (Quadro 27), o que é muito importante quando se pretende desenvolver uma formulação com o objectivo de ser acondicionada numa cápsula. O pó quando é colocado numa cápsula pode ser afectado pela humidade e em presença de humidade as pequenas partículas que constituem a formulação tornam-se maiores por terem tendência a aglomerar, modificando o seu escoamento da cápsula e consequentemente a sua deposição no tracto respiratório inferior.

A lactose Anhydrous powder 266 e a Lactopress Anhydrous 265 apresentaram ângulos de repouso e Índice de Carr elevados o que implica fracas capacidades de escoamento, pelo que poderão não servir como "carrier" em formulações para IPS uma vez que é muito importante que o "carrier" permita um fácil escoamento da formulação da cápsula.

A Lactose mono-hidratada, a lactose Spray Dried 202, a lactose Anhydrous Crystals e a Pharmatose DCL 11, apresentam ângulos de repouso inferiores a 30° e valores de Índice de Carr inferiores a 15 %, pelo que possuem boas propriedades de escoamento (Quadro 27), pelo que podem ser utilizadas como "carrier" em formulações para IPS.

O tamanho das partículas de "carrier" geralmente está compreendido entre 63 μm e 90 μm. Todas as lactoses em estudo apresentaram valores de VMD inferiores (Quadro 28). Apenas a Lactopress Anhydrous 265 e a Pharmatose DCL 11 apresentaram VMD superiores a 30 μm, pelo que talvez uma destas possa ser utilizada como "carrier". A dimensão das partículas de "carrier" não deve ser muito pequena, pois não interessa que ele penetre no tracto respiratório. O "carrier" deverá libertar-se do fármaco após inalação e ficar retido na orofaringe. Se o "carrier" possuir dimensões muito pequenas ele irá penetrar juntamente com o fármaco no sistema respiratório podendo causar efeitos desagradáveis.

A lactose Lactohale LH 200 apresentou um ângulo de repouso de 47,46° e um Índice de Carr de 29,33 %, conferindo-lhe fracas propriedades de escoamento. Apresenta dimensões muito pequenas (VMD de 11,82 μm).

Um aspecto importante e que não foi estudado foi a determinação da morfologia das partículas de lactose por microscopia óptica. Na formulação para IPS a morfologia do "carrier" é muito importante uma vez que determina o carácter da ligação que estabelece com o fármaco, pelo que só por determinação das características farmacotecnológicas não é possível seleccionar de todas as lactoses estudadas aquela que melhor serviria como "carrier". A lactose Anhydrous Crystals talvez não fosse uma boa escolha como "carrier", pois estudos publicados destacam que a morfologia dos cristais não favorece a separação do "carrier" com o fármaco.

Talvez fosse interessante realizar uma formulação utilizando mais do que uma lactose, por exemplo misturar a lactose Pharmatose DCL 11 com a Lactohale LH 200. Assim, a lactose Lactohale LH 200 uma vez que apresenta baixos valores de VMD e maiores concentrações de partículas finas (35 %) seria incorporada nos locais de maior energia da Pharmatose DCL 11, facilitando a quebra da ligação "carrier" – fármaco.

5 - Conclusão

Qualquer que seja o dispositivo inalatório utilizado para que a via inalatória seja uma terapêutica eficaz é necessário assegurar que as partículas emitidas pelo dispositivo possuam dimensões adequadas para que ocorra a sua deposição no tracto respiratório inferior. São vários os factores que poderão afectar o modo como ocorre a deposição das partículas que constituem o aerossole como, a formulação, o desenho do inalador, o fluxo de ar utilizado e o modo como se opera com o dispositivo.

Quando o dispositivo utilizado é um IDC é importante ter em consideração alguns aspectos da formulação como: a forma farmacêutica, nomeadamente se é solução ou suspensão, para determinados fármacos a dissolução do fármaco na mistura propelente-solvente parece melhorar a estabilidade química do fármaco durante o acondicionamento no dispositivo; o propelente utilizado, cuja pressão de vapor influencia o tamanho das partículas emitidas e a deposição na orofaringe, pelo que elevadas pressões de vapor apesar de produzirem partículas mais finas originam um aumento da deposição na orofaringe devida à velocidade com que o aerossole é emitido; excipientes, que contribuem para a estabilidade do aerossole e a adição de co-solventes de forma a melhorar a solubilidade dos excipientes nos solventes. Outros aspectos como o desenho do inalador e o diâmetro do orifício da válvula doseadora influenciam a dose de partículas emitidas e a fracção de partículas respiráveis, por exemplo ao diminuir o diâmetro do orifício da válvula é aumentada a DPF emitidas pelo IDC.

De todos os IDC estudados a um fluxo de ar de 28 l/min o IDC 2 foi o que produziu uma melhor aerossolização da formulação obtendo-se um valor maior de FPF e uma menor deposição no tubo de admissão, no entanto o IDC 1 e o IDC 3 originaram

um perfil de deposição de partículas no amostrador granulométrico de Anderson mais uniforme, tendo sido alcançada a deposição de partículas nos estágios mais periféricos. O perfil de deposição de partículas é muito importante do ponto de vista clínico pois o facto de as partículas não atingirem as regiões mais periféricas do sistema respiratório compromete a eficácia clínica do fármaco.

O facto de ter ocorrido, em todos os ensaios realizados com os IDC, elevadas deposições de partículas na orofaringe constitui uma limitação para os IDC que resultou da velocidade com que o aerossole foi emitido do dispositivo.

Os resultados encontrados para o IDC 3 a um fluxo de ar de 60 l/min não estão de acordo com os resultados dos estudos publicados, pois geralmente para os IDC o aumento de fluxo é traduzido numa diminuição da FPF como consequente aumento da deposição na orofaringe. O que ocorreu com o IDC 3 foi precisamente o contrário, o fluxo de ar de 60 l/min melhorou a sua capacidade de aerossolização da formulação. Esta diferença pode estar justificada pelo facto de o aumento do fluxo de ar favorecer a degradação das partículas de maior tamanho em partículas de menor tamanho e estas não se depositarem por impacto por inércia na orofaringe, e devido ao seu pequeno tamanho dispersarem-se no fluxo de ar e consequentemente depositarem-se nos vários estágios do amostrador granulométrico de Anderson.

Os métodos *in vitro* sugerem uma boa "performance" destes inaladores, no entanto só os métodos *in vivo* poderão comprovar a sua eficácia terapêutica.

Dispersar pós de um inalador seja de uma cápsula ou de um reservatório, é mais difícil do que dispersar suspensões líquidas, o que explica o facto de se terem obtido valores de dispersibilidade mais fracos para os IPS do que para os IDC.

A "performance" de um inalador de pó seco pode ser avaliada pela capacidade de escoamento de um pó do dispositivo, que é traduzido por valores elevados da DE ou

por valores baixos da quantidade de partículas que permanecem no inalador ou pela sua capacidade de aerossolização (dispersão) da formulação que é traduzida por valores elevados de FPF.

Para que um IPS apresente boa "performance" é importante conciliar diversos factores como: a formulação, a qual deverá ser desenvolvida com o intuito de produzir agregados de partículas de fácil dispersão, quer através de agregados soltos ou através da inclusão de um "carrier" que estabelecerá ligações com o fármaco de forma a facilitar o escoamento das partículas micronizadas de fármaco do dispositivo e posteriormente libertá-lo facilmente no sistema respiratório; o desenho e dimensões internas do dispositivo e o fluxo inspiratório utilizado.

Assim, é importante conciliar todos estes factores, pois a um dispositivo com um determinado desenho interno corresponder-lhe-á uma formulação farmacêutica com características adequadas, devendo ser manuseado a um fluxo inspiratório que evidencie óptimos valores de deposição de partículas finas no tracto respiratório inferior.

Nos ensaios realizados com os IPS a um fluxo de ar de 28 l/min verificou-se que o Turbohaler 2 foi o que produziu a maior FPF. Este facto é justificado pelo desenho interno deste dispositivo e pela forma como armazena e liberta o fármaco. É conhecido que a indução de um fluxo turbulento no interior de um IPS está associada à maior desagregação dos aglomerados de pó que constituem a formulação. Assim, as dimensões e o desenho interno do dispositivo por onde passa o fluxo de ar promovem a criação de um fluxo mais ou menos turbulento. O Turbohaler é o dispositivo que oferece mais resistência ao fluxo de ar gerando fluxos mais turbulentos para baixos débitos inspiratórios, o que justifica as diferenças encontradas par o Turbohaler 2 e o Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min.

O Turbohaler 1 possui um desenho interno semelhante ao Turbohaler 2, no entanto, os resultados obtidos são contraditórios. Uma possível justificação poderá residir no facto de a formulação do Turbohaler 1 ser constituída pelo fármaco e pelo "carrier", enquanto que a formulação do Turbohaler 2 é constituída apenas pelo fármaco. Assim, talvez o "carrier" tenha dimensões elevadas e o facto do fluxo de ar não ser suficientemente forte, pode não promover convenientemente a separação fármaco-"carrier", fazendo com que ocorra uma deposição logo no estágio 0 do impactor.

No dispositivo Rotahaler 1 as partículas finas de fármaco encontram-se misturadas com partículas de lactose grosseiras de modo a melhorar o escoamento do pó da cápsula. Antes da inalação o pó sai da cápsula por rotação do dispositivo conduzindo à libertação das partículas para o dispositivo devido à força da gravidade.

Durante a inalação o pó liberta-se das superfícies do inalador e é disperso no fluxo de ar. No entanto, a libertação do pó das paredes do dispositivo é particularmente difícil devido às forças de adesão das partículas à superfície das paredes, combinada com o fraco fluxo que atravessa o dispositivo junto das paredes. Mesmo que as partículas se dispersem no fluxo de ar, se este não for suficientemente forte para desagregar os aglomerados das partículas, estas não serão emitidas pelo dispositivo. Por este motivo é que fluxos de ar mais elevados promovem uma maior emissão de partículas finas pelo Rotahaler. Assim, o Rotahaler 1 a um fluxo de ar de 28 l/min produz baixas FPF relativamente ao Turbohaler 2.

No ensaio com o Rotahaler 1 a um fluxo de 60 l/min durante 15 s seria normal ocorrer um aumento da FPF e da DE. Na realidade houve um aumento da DE, ou seja o aumento do fluxo de ar promoveu uma maior libertação do pó da cápsula e do inalador, no entanto não foi suficiente para gerar maiores valores de FPF, antes pelo contrário, as

partículas evidenciaram possuir um DAMM superior, de 6,6 μm, tendo-se registado uma maior deposição de partículas nos estágios superiores. No entanto observou-se que para um fluxo de ar de 60 l/min o perfil de deposição de partículas foi mais uniforme, ocorrendo uma deposição mais periférica das partículas, o que pode considerar-se muito importante, uma vez que estudos publicados sugerem que é obtida uma broncodilatação mais eficaz quando a deposição das partículas ocorre nas regiões mais periféricas.

O aumento do tempo durante o qual o fluxo de ar atravessou o impactor constitui também um factor importante, pois ao ser aumentado o tempo de ensaio verificou-se um aumento da DE pelo inalador e da DPF. Assim, para o Rotahaler 1 é imprescindível que o dispositivo seja correctamente manuseado e se necessário proceder a mais do que uma inalação para libertar a maior quantidade possível de pó da cápsula.

De todos os inaladores o Turbohaler 2 foi o inalador que apresentou melhores resultados pois com uma descarga obteve-se perfis de deposição e FPF similares aos obtidos com os IDC após 6 descargas e superiores aos obtidos com os outros IPS após 1 descarga além de evidenciar uma boa "performance" a baixos fluxos inspiratórios.

Ao longo deste trabalho foi realizada uma avaliação das partículas emitidas por diferentes tipos de inaladores por métodos *in vitro*, utilizando-se o amostrador granulométrico de Anderson. Foi possível traçar uma ideia de como actuaram *in vivo* estes inaladores.

Poucos estudos foram feitos nesta área principalmente no nosso país, daí que tenham sido muitas as dificuldades com que me deparei ao longo do trabalho, no entanto julgo ter aberto uma pequena porta para futuras investigações nesta área, visto que a via pulmonar será sem dúvida uma das principais vias de administração de fármacos no futuro, quer com intuito de se obter uma acção local no tracto respiratório,

quer como forma de administração de fármacos com vista a um efeito sistémico através da absorção a nível da circulação pulmonar.

Um dos objectivos iniciais deste trabalho era o de realizar uma formulação de sulfato de salbutamol utilizando a lactose como "carrier", com intuito de ser emitida pelo Rotahaler, para tal foi realizada a caracterização farmacotecnológica de diferentes tipos de lactose e de sulfato de salbutamol. Contudo por limitação de carácter profissional não foi possível realizar esse estudo. Talvez no futuro isso possa ser possível...

Referências Bibliográficas

(1) - Ambikanandan Misra, Mayank Joshi, *Dry powder inhalation of liposomal Ketotifen fumarate formulation and characterization*, International Journal of Pharmaceutics, 223, 2001, 15-27.

(2) - Wildhaber JH, *Aerosol Therapy*, Aerosol Therapy, Schweiz Med Wochenschr, 128(33), 1998, 1223-8.

(3) - Farmacopeia Portuguesa VI - Suplemento 2000, Lisboa, Infarmed e Ministério da Saúde, 2000, 36-44.

(4) - Smaldone GC., *Drug delivery via aerosol systems: concept of aerosol inhaled*, J Aerosol Med, 4 (3), 1991, 229-35.

(5) - Sanders P., Washington N., Frier M., Wilson C.G., Feely L.C., Washington C., *The deposition of solution-based and suspension-based aerosols from metered dose inhalers in healthy subjects and asthmatic patients*, S.T.P. Pharma Sciences, 7 (4), 1997, 300-306.

(6) - Rocha M.J., Coelho C., *Asma brônquica e inalação*, Revista Farmácia Clínica, Julho / Setembro 2000, 14-17.

(7) - Barreto Celeste, Pinto Paula, Froes Filipe e Cravo Paula, *Normas de terapêutica inalatória*, Revista Portuguesa de Pneumologia VI, 5, 2000, 395-437.

(8) - Timsina M.P., Martin G.P., Marriott C., Ganderton D., Yianneskis M., *Drug delivery to the respiratory tract using dry powder inhalers*, International Journal of Pharmaceutics, 101, 1994, 1-13.

(9) - Comissão das Comunidades Europeias, *Estratégia para a eliminação progressiva dos CFC dos inaladores de dose calibrada*, Bruxelas, Outubro 1998, 1-50.

(10) - Wright Paul, *HFA Propellant Metered Dose Inhalers*, European Pharmaceutical Review, Junho 1997,59-63.

(11) – Chrystyn H., *Is total particle dose more important than particle distribution?*, Respiratory Medicine, 91 (suplento A), 1997, 17-19.

(12) - Smith KJ, Chan HK, Brown KF, *Influence of flow rate on aerosl particle size distributions from pressurized and breath- actuated inhalers*, J Aerosol Med, 11(4), 1998, 231-45.

(13) - Boer A.H., Winter H.M.I., Lerk C.F., *Inhalation characteristics and their effects on in vitro drug delivery from dry powder inhalers Part 1. Inhalation characteristics, work of breating and volunteers' preference in dependence of the inhaler resistance*, International Journal of Pharmaceutics, 130, 1996, 231-244.

(14) - Boer A.H., Gjaltema D., Hagedoorn P., *Inhalation characteristics and their effects on in vitro drug delivery from dry powder inhalers Part 2: Effect of peak flow rate (PIFR) and inspiration time on the in vitro drug release three different types of commercial dry powdere inhalers, International Journal of Pharmaceutics"*, 138, 1996, 45-56.

(15) - Clark A.R., Hollingworth A.M., *The relationship between powder inhaler resistence and pezk inspiratory conditions in healthy volunteers – implications for in vitro testing,* J. Aerosol med., Vol.6 Nº 2, 1993, 99-109.

(16) - Lee K.C., Marriott C., Suen K.O., Yianneskis M., *Investigation of the aerodynamic characteristics of inhaler aerosols with an inhalation simulation machine,* International Journal of Pharmaceutics 130, 1996, 103-113.

(17) - Marriott C., Martin G:P., Srichana T., *Dry powder inhalers: The influence of device resistance and powder formulation on drug and lactose deposition in vitro,* European Journal of Pharmaceutical Sciences, 7, 1998, 73-80.

(18) - Crompton Graham K., *Dry Powder Inhalers: Advantages and Limitations,* Journal of Aerosol Medicine, vol.4 nº3, 1991, 151-154.

(19) - Prime D, Grant AC, Slater AL, Woodhouse RN, *A critical comparison of the dose delivery characteristics of four alternative inhalation devices delivering salbutamol: pressurized metered dose inhaler, Diskus inhaler, Diskhaler inhaler, and Turbuhaler inhaler.*, J Aerosol Med, 12(2), 1999, 75-84.

(20) - Chew Nora Y. K., Bagster David F., Chan Hak-Kim, *Effect of particle size, air flow and inhaler device on the aerosolisation of disodium cromoglycate powders*, International Journal of Pharmaceutics, 206, 200, 75-83.

(21) - Stein W. Stephen, *Size distribution measurements of metered dose inhalers using Anderson Mark II cascade impactors*, International Journal of Pharmaceutics 186, 1999, 43-52.

(22) - Aderson Instruments Incorporated, *Explanation of the new Anderson cascade impactor*, Manual de instruções.

(23) - Carthy Mc P.T., Croes K., Flanagan R.J., *HPLC of basic drugs and quaternary ammonium compounds on microparticulate strong cation-exchange materials using methanolic or aqueous methanol eluents containing an ionic modifier*, J. Chromatogra.693, 1995, 289-306.

(24) - Larhrib Hassan, Zeng Xian Ming, Martin Gary Peter, Marriott Christopher, Pritchard John, *The use of different grades of lactose as a carrier for aerosolised salbutamol sulphate*, International Journal Pharmaceutics, 191, 1999, 1-14.

(25) - Lucas Paul, Anderson Kerry, Staniforth Jonh N., *Protein Deposition from Dry Powder Inhalers: Fine Particle Multiplets as Performance Modifiers*, Pharmaceutical Research, 15 nº 4, 1998, 562-569.

(26) - Zeng Xian Ming, Pandhal Kiranpal H., Martin Gary P., *The influence of lactose carrier on the content homogeneity and dispersibility of beclomethasone dipropionate from dry powder aerosols*, International Journal of Pharmaceutics, 197, Novembro 2000, 41-52.

(27) - Zeng Xian Ming, Martin Gary Peter, Tee Sean-Kee, Ghoush Abeer Abu, Marriott Christopher, *Effects of particle size and adding sequence of fine lactose on the deposition of salbutamol sulphate from a dry powder formulation*, International Journal of Pharmaceutics, 182, 1999, 133-144.

(28) – Tee S.K., Marriott C., Zeng X.M., Martin G:P., *The use of different sugars as fine and course carriers for aerosolised salbutamol sulphate*, International Journal Pharmaceutics, 208, 2000, 111-123.

(29) – Alves A.C., Morgado R., Prista L.N., Tecnologia Farmacêutica, Caloust Gulbenkian, I Vol., 5ª Edição.

FACULDADE DE FARMÁCIA DO PORTO BIBLIOTECA