República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 1011721-0 B1

(22) Data do Depósito: 26/03/2010

(45) Data de Concessão: 16/11/2021

(54) Título: FORMULAÇÕES EM PÓ SECO INALÁVEIS COMPREENDENDO SAL DE CÁTION DE METAL DIVALENTE E MÉTODOS PARA TRATAR DOENÇAS PULMONARES

(51) Int.Cl.: A61K 9/00; A61K 47/02; A61K 47/12; A61K 33/14; A61P 31/00; (...).

(30) Prioridade Unionista: 08/12/2009 US 61/267,747; 18/02/2010 US 61/305,819; 25/01/2010 US 61/298,092; 26/03/2009 US 61/163,772; 26/03/2009 US 61/163,763; (...).

(73) Titular(es): PULMATRIX, INC..

(72) Inventor(es): JEAN C. SUNG; MICHAEL M. LIPP.

(86) Pedido PCT: PCT US2010028961 de 26/03/2010

(87) Publicação PCT: WO 2010/111680 de 30/09/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 23/09/2011

(57) Resumo: FORMULAÇÕES EM PÓ SECO E MÉTODOS PARA TRATAR DOENÇAS PULMONARES. A presente invenção é direcionada a partículas secas respiráveis para entrega de sais de cátions de metais divalentes e/ou sais de cátions monovalentes para o trato respiratório e métodos para tratar um indivíduo com uma doença e/ou infecção respiratória.

FORMULAÇÕES EM PÓ SECO INALÁVEIS COMPREENDENDO SAL DE CÁTION DE METAL DIVALENTE E MÉTODOS PARA TRATAR DOENÇAS PULMONARES

PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido reivindica o benefício do pedido provisório US 61/305.819, depositado em 18 de fevereiro de 2010, pedido provisória US 61/298.092, depositado em 25 de janeiro de 2010, pedido provisório US 61/267.747, depositado em 8 de dezembro de 2009, pedido provisório US 61/255.764, depositado em 28 de outubro de 2009, pedido provisório US 61/163.772, depositado em 26 de março de 2009, pedido provisório US 61/163.767, depositado em 26 de março de 2009 e pedido provisório US 61/163.763, depositado em 26 de março de 2009. Todo o conteúdo de cada um dos pedidos acima são aqui incorporados por referência.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A administração pulmonar de agentes terapêuticos pode oferecer várias vantagens sobre outros modos de administração. Essas vantagens incluem início rápido, a conveniência do paciente a auto-administração, o potencial para reduzir os efeitos colaterais da droga, a facilidade de administração por inalação, a eliminação de agulhas, e similares. A terapia inalatória é capaz de fornecer um sistema de administração de drogas que é fácil de usar em uma internação ou ambulatório, resulta em início muito rápido de ação de drogas, e produz efeitos colaterais mínimos.

Inaladores de dose calibrada (MDI) são usados para administrar agentes terapêuticos ao trato respiratório. MDI’s são geralmente adequados para administração de agentes terapêuticos que podem ser formulados como partículas sólidas secas respiráveis em um

líquido volátil sob pressão. A abertura de uma válvula libera a suspensão a uma velocidade relativamente alta. O líquido, em seguida, se volatiliza, deixando para trás um aerossol de movimento rápido de partículas secas que contêm o agente terapêutico. MDI's são confiáveis para a administração de droga somente para vias aéreas médias para o tratamento de doenças respiratórias. No entanto, são as vias aéreas de pequeno porte (isto é, os bronquíolos e alvéolos) muitas vezes o local da manifestação de doenças pulmonares, como asma e infecções.

A administração de aerossol líquido é uma das mais antigas formas de administração da droga pulmonar. Normalmente, os aerossóis líquidos são criados por um jato de ar de nebulização, que libera ar comprimido a partir de um pequeno orifício em alta velocidade, resultando em baixa pressão na região de saída devido ao efeito de Bernoulli. Ver, por exemplo, Patente US 5511726. A baixa pressão é usada para arrastar o fluido a ser expelido por aerossol de um segundo tubo. Este líquido se divide em pequenas gotas, a medida que se acelera no fluxo de ar. Desvantagens deste projeto de nebulizador padrão incluem tamanho de gota primária líquida de aerosol relativamente grande muitas vezes necessitando de impactação da gota primária em um defletor para gerar gotículas de abertura secundária de tamanhos respirável, a falta de uniformidade no tamanho da gota líquida de aerossol, recirculação significativa da solução em massa da droga, e baixas densidades de pequenas gotículas líquidas de aerossóis respiráveis no ar inalado.

Nebulizadores ultra-sônicos utilizam discos piezolétricos planos ou côncavos submersos abaixo de um reservatório de líquido para ressoar a superfície do reservatório de líquido, formando um cone de líquido que derrama partículas em aerossol de sua superfície

(US 2006/0249144 e US 5.551.416). Uma vez que nenhum fluxo de ar é necessário no processo de aerossol, altas concentrações de aerossóis podem ser alcançadas, porém os componentes piezoelétricos são relativamente caros para produzir e são ineficientes na suspensões de aerossol, exigindo que a droga ativa seja dissolvida em baixas concentrações em soluções de água ou soro fisiológico. Tecnologias mais recentes de aerosol líquidos envolvem a geração de partículas secas respiráveis líquidas menores e mais uniformes através da passagem do líquido a ser expelido por aerossol através de buracos de tamanhos de microns. Ver, por exemplo, US 6131570; US 5724957 e US 6098620. Desvantagens desta técnica incluem componentes piezoelétricos relativamente caros e mesh finos, bem como entupimento dos furos dos sais e de suspensões sólidas residuais.

A inalação de pó seco, historicamente, contou com mistura de lactose para permitir a dosagem de partículas que são suficientemente pequenas para serem inaladas, mas não são o suficiente dispersíveis por conta própria. Este processo é conhecido por ser ineficiente e que não funciona para algumas drogas. Vários grupos têm tentado melhorar essas deficiências através do desenvolvimento de formulações de inalador de pó seco (IPS) que são respiráveis e dispersíveis e, portanto, não requerem mistura lactose. Formulações de pó seco para terapia de inalação são descritos em US 5993805 de Sutton et al; US 69216527 de Platz et al;. WO 0000176 de Robinson et al;. WO 9916419 de Tarara et al; WO 0000215 de Bot et al; US 5855913 de Hanes et al; US 6.136.295 e 5.874.064 de Edwards et al.

A ampla aplicação clínica de administração de pó seco para inalação tem sido limitada por dificuldades na

geração de pó seco de tamanho de partícula, densidade de partículas e dispersibilidade apropriados, manter o pó armazenado em um estado seco e desenvolver um dispositivo manual conveniente e que efetivamente dispersa as partículas secas respiráveis para serem inaladas no ar. Além disso, o tamanho das partículas de pó seco para administração por inalação é inerentemente limitado pelo fato de que pequenas partículas secas respiráveis são mais difíceis de se dispersar no ar. Formulações em pó seco, enquanto oferece vantagens sobre formas de dosagem líquidas complicadas e formulações de dirigidas por propelente, são propensas a baixa agregação e fluidez, que diminui consideravelmente a dispersão e a eficiência das terapias baseadas inalação de pó seco. Por exemplo, interações interpartículas adesivo, Batycky et al. nos EUA Patent No. 7182961 ende Van der Waals e efeitos da condensação capilar são conhecidos por contribuir para a agregação de partículas secas. Hickey, A. et al. "*Factors influencing the dispersion of dry powders as aerosols*", Pharmaceutical Technology, agosto, 1994.

Para superar as forças adesivas interpartículas, Batycky et al. na US 7182961 ensinam a produção das chamadas " partículas respiráveis aerodinamicamente leves", que têm um diâmetro geométrico médio volumétrico (VDMG) de mais de 5 microns (μm), medido com um aparelho de difração de raios laser, como Helos (fabricado pela Sympatec, Princeton, NJ). Ver Batycky et al, coluna 7, linhas 42 a 65. Outra abordagem para melhorar a capacidade de dispersão de partículas respiráveis de tamanho médio de partícula de menos de 10 μm, envolve a adição de um polipeptídeo solúvel em água ou adição de excipientes apropriados (incluindo excipientes de aminoácidos como leucina) em uma quantidade de 50% a 99,9% em peso da composição total. Eljamal et al,

US 6582729, coluna 4, linhas 12 a 19 e coluna 5, linha 55 a coluna 6, linha 31. No entanto, esta abordagem reduz a quantidade de agente ativo que pode ser administrado através de uma quantidade fixa de pó. Portanto, um aumento da quantidade de pó seco é necessário para alcançar os resultados terapêuticos pretendidos, por exemplo, inalações múltiplas e/ou administração frequentes podem ser necessárias. Ainda outras abordagens envolvem o uso de dispositivos que aplicam forças mecânicas, tais como a pressão dos gases comprimidos, para as partículas pequenas interromperem a adesão interparticulas durante ou logo antes da administração. Ver, por exemplo, US 7.601.336 de Lewis et al. 6737044 de Dickinson et al, US 6546928 de Ashurst et al, ou US 20090208582 de Johnston et al.

Uma outra limitação que é compartilhada por cada um dos métodos acima é que os aerossóis produzidos tipicamente incluem quantidades substanciais de veículos inertes, solventes, emulsifïers, propulsores e outros materiais que não são drogas. Em geral, as grandes quantidades de materiais que não são drogas são necessárias para a formação efetiva de partículas secas respiráveis pequenas o suficiente para administração alveolar (por exemplo, menos de 5 microns e, de preferência menos de 3 microns). No entanto, estas quantidades de materiais que não são droga também servem para reduzir a pureza e a quantidade de substância ativa da droga que pode ser administrada. Assim, esses métodos permanecem substancialmente incapazes de introduzir grandes doses de droga ativa com precisão a um paciente para administração sistêmica.

Portanto, ainda há uma necessidade de formação de partículas de aerossóis de tamanho pequeno que são de alta dispersão. Além disso, os métodos que produzem aerossóis

compreendendo quantidades maiores de drogas e menores quantidades de materiais que não são droga são necessários. Finalmente, um método que permita que a um paciente administrar uma unidade de dosagem rapidamente com uma ou duas respirações de pequeno volume é necessário.

RESUMO DA INVENÇÃO

A invenção refere-se a pós secos respiráveis compostos de partículas secas que contêm um ou mais cátions metálicos divalentes, como cálcio (Ca^{2+}), como um ingrediente ativo, e a pós secos que contêm as partículas respiráveis. A invenção também se refere a partículas secas respiráveis que contêm um ou mais cátions monovalentes (como o Na^{+}) e pós secos que contêm partículas respiráveis. O ingrediente ativo (por exemplo, íons de cálcio) está geralmente presente nos pós secos e partículas secas na forma de um ou mais sais, que podem ser independentemente cristalinos, amorfos ou uma combinação de cristalino e amorfo. Os pós secos e partículas secas pode, opcionalmente, incluir outros sais monovalentes (por exemplo, sais de sódio), agentes terapeuticamente ativos ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis. Em um aspecto, as partículas secas respiráveis podem ser pequenas e de alta dispersão. Em outro aspecto, as partículas secas respiráveis podem ser grandes ou pequenas, por exemplo, um diâmetro geométrico (VMGD) entre 0,5 microns e 30 microns. Opcionalmente, o MMAD das partículas pode ser entre 0,5 e 10 microns, mais de preferência entre 1 e 5 microns.

Em alguns aspectos, os pós secos respiráveis têm um diâmetro geométrico médio volumétrico (VMGD) de cerca de 10 mícrons ou menos e uma razão de dispersão [razão de VMGD medido à pressão de dispersão de 1 bar a VMGD medido a 4 bar] (1/4 bar) de menos de cerca de 2 como medida por difração a laser (sistema RODOS/HELOS), e contém um sal de

cálcio, que fornece cátion de metal divalente em uma quantidade de cerca de 5% ou mais em peso do pó seco. Os pós secos respiráveis podem ainda compreender um sal monovalente que fornece cátion monovalente, como Na^+, em uma quantidade de cerca de 6% ou mais em peso dos pós.

Os pós secos respiráveis podem ter uma Fração de Partículas Finas (FPF) de menos de 5,6 microns de pelo menos 45%, FPF de menos de 3,4 microns de pelo menos 30%, e/ou FPF de menos de 5,0 microns de pelo menos pelo menos 45%. Alternativamente ou adicionalmente, os pós secos respiráveis podem ter um diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) de cerca de 5 mícrons ou menos. A relação peso molecular de cátion de metal divalente para sal de cátiom de metal divalente contida na partícula seca respirável pode ser maior do que cerca de 0,1 e/ou superior a cerca de 0,16.

Composições de pó seco respiravél podem incluir um excipiente farmaceuticamente aceitável, como leucina, maltodextrina ou manitol, que pode estar presente em uma quantidade de cerca de 50% ou menos em peso, de preferência em uma quantidade de cerca de 20% ou menos em peso.

O sal de cátion de metal divalente presente no pós secos respiráveis pode ser um sal de berílio, um sal de magnésio, um sal de cálcio, um sal de estrôncio, um sal de bário, um sal de rádio e um sal ferroso. Por exemplo, o sal de cátion de metal divalente pode ser um sal de cálcio, tais como lactato de cálcio, sulfato de cálcio, citrato de cálcio, cloreto de cálcio ou uma combinação destes. O sal monovalente que está opcionalmente presente na partícula seca respirável pode ser um sal de sódio, um sal de lítio, um sal de potássio ou qualquer combinação destes.

Em certos aspectos, o pó seco respirável contém um sal de cátion de metal divalente e um sal monovalente, e

contém uma fase amorfa de cátion de metal divalente e uma fase cristalina de sal monovalente. A temperatura de transição vítrea da fase amorfa pode ser pelo menos de cerca de 120 °C. Estas partículas secas respiráveis podem opcionalmente conter um excipiente, como leucina, maltodextrina e manitol, que pode ser amorfo, cristalino ou uma mistura de formas. A partícula seca respirável pode ter um calor de solução entre cerca de -10 kcal/mol e 10 kcal/mol.

De preferência, o sal de cátion de metal divalente é um sal de cálcio e o sal monovalente é um sal de sódio. O sal de cálcio pode ser citrato de cálcio, lactato de cálcio, sulfato de cálcio, cloreto de cálcio ou uma combinação destes, e o sal de sódio pode ser cloreto de sódio.

Em outros aspectos, o pó seco respirável contém um sal de metal divalente que fornece um cátion em uma quantidade de cerca de 5% ou mais em peso do pó seco, o pó seco respirável têm uma razão de Hausner de maior que 1,5 e 1/4 bar ou 0,5/4 bar de 2 ou menos.

A invenção também se refere a um pó seco respirável que contém partículas secas respiráveis que contêm citrato de cálcio ou sulfato de cálcio, e que são feitas usando um processo que inclui a) fornecer uma primeira carga de alimentação líquida compreendendo uma solução aquosa de cloreto de cálcio, e uma segunda carga de alimentação líquida compreendendo uma solução aquosa de sulfato de sódio ou citrato de sódio; b) misturar a primeira carga de alimentação líquida e a segunda carga de alimentação líquida para produzir uma mistura na qual uma reação de troca aniônica ocorre para produzir uma solução saturada ou supersaturada compreendendo sulfato de cálcio e cloreto de sódio, ou citrato de cálcio e cloreto de sódio;

e c) secar a solução saturada ou supersaturada produzida em b) para produzir partículas secas respiráveis. A mistura em b) pode ser mistura em batelada ou mistura estática.

A invenção também se refere a métodos para tratar uma doença respiratória, como asma, hiper-reatividade das vias aéreas, alergia alérgica sazonal, bronquiectasia, bronquite crônica, enfisema, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística e similares, compreendendo administrar ao trato respiratório de um indivíduo que dela necessite uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis. A invenção também se refere a métodos para tratar ou prevenir exacerbações agudas de doenças pulmonares crônicas, como asma, hiper-reatividade das vias aéreas, alergia alérgica sazonal, bronquiectasia, bronquite crônica, enfisema, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística e similares, compreendendo a administração ao trato respiratório de um indivíduo que dela necessite uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis.

[00361] A invenção também se refere a métodos para tratar, prevenir e/ou reduzir o contágio de uma doença infecciosa do trato respiratório, compreendendo a administração ao trato respiratório de um indivíduo que dela necessite uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis.

A invenção também se refere a um pó seco ou partículas secas respiráveis, como aqui descrito, para uso em terapia (por exemplo, tratamento, profilaxia ou diagnóstico). A invenção também se refere à utilização de uma partícula seca ou pó seco, como aqui descrito, para uso em tratamento, prevenção ou redução do contágio como aqui descritos, e na fabricação de um medicamento para o

tratamento, profilaxia ou diagnóstico de uma doença e/ou infecção respiratória, conforme descrito aqui.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

As Figuras 1A a 1F é uma tabela que mostra as propriedades de pós secos preparados a partir de formulações de matéria-prima I, II, III e XIV descritas nos Exemplos 1 a 3 e 14. A Figura 1A inclui parâmetros de atomização utilizados para atomizar os pós. A Figura 1B mostra resultados de HPLC por conteúdo percentual de íons cálcio dos pós, resultados de densidade incluindo densidades derivada e aparente, e resultados de Karl Fischer para o conteúdo percentual de água nos pós. A Figura 1C mostra dados de fração de partículas finas (FPF) e o percentual de massa de pós coletados por meio de um impactador em cascada Andersen de dois estágios (ACI-2). A Figura 1D mostra dados de fração de partículas finas (FPF) e percentual de massa de pós coletados por meio de impactador em cascata Andersen de oito estágios (ACI-8). A Figura 1E mostra os dados para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) e FPF (com base na dose total e na dose recuperada). A Figura 1F mostra os dados para o diâmetro do volume médio geométrico (DV50), desvio padrão geométrico (GSD) e volume percentual menos do que 5,0 microns (V <5,0 µm) conforme medido pelo instrumento Spraytec e distribuição de tamanho de partícula geométrica ou volumétrica (que também é referido como VMGD, x50/dg ou x50), informações de GSD e 1/4 bar e 0,5/4 bar conforme medido pelo instrumento Helos com RODOS em anexo.

A Figura 2 é um gráfico que mostra uma comparação entre as densidades derivada e aparente de partículas preparadas a partir de formulações de matéria-prima I, II e III e um placebo.

A Figura 3 é um gráfico que mostra uma comparação entre as partículas (preparadas a partir de formulações de matéria-prima I a III e um placebo) em pressões de dispersão diferentes (regulador) para o diâmetro geométrico médio volumétrico medido (x50), utilizando um instrumento de difração a laser (Helos com RODOS).

A Figura 4 é um gráfico que mostra uma comparação entre as partículas preparadas a partir de Formulações de matéria-prima I (identificada como PUR111 (citrato)), II (identificada como PUR113 (lactato)) e III (identificada como PUR112 (Sulfato)) e um placebo para FPF média obtida por um ACI-2 e ACI-8.

As Figuras 5A a 5D são micrografias de elétrons da Formulação I (FIG. 5A); Formulação II (Fig. 5B); Formulação III (FIG. 5C) e Formulação XIV (FIG. 5D).

As Figuras 6A a 6B são uma tabela que mostra as propriedades de pós secos preparados por formulações de matéria-prima 6,1 a 6,9. A formulação 6,1 na Figura 5 corresponde a formulação II-B no Exemplo 2. A formulação 6,4 na Figura 5 corresponde a formulação I-B no Exemplo 1. A formulação 6,7 na Figura 5 corresponde a formulação III-B no Exemplo 3. As abreviaturas no título da tabela são descritas em outras partes do Relatório Descritivo. Na Figura 5, todos os pós foram feitos usando um atomizador Büchi.

A Figura 7 é um esquema do modelo de passagem ("*pass-through*").

A Figura 8A é um gráfico que mostra os resultados do modelo de passagem bacteriana com exposição aos pós secos. Um pó contendo sulfato de cálcio (dose administrada de 4,5 ug Ca/cm^2) movimento reduzido bacteriano através de alginato de sódio mimético. iii. A Figura 8B é um gráfico que mostra os resultados do modelo de passagem bacteriana

com a exposição aos pós secos. Os pós secos de sal de cálcio, elaborado a partir das formulações de matéria-prima A a E, testadas continham 0 ug, 4,3 ug, 6,4 ug ou 10 ug de cálcio. O sulfato de cálcio (dose administrada de 4,3 ug Ca/cm^2), acetato de cálcio (dose administrada de 10 ug Ca/cm^2) e lactato de cálcio (dose administrada de 6,4 ug Ca/cm^2) contendo pós de movimento bacteriano reduzido através de alginato de sódio mimético.

A Figura 9 é um gráfico que mostra o efeito dos pós secos respiráveis, preparados a partir de formulações de matéria-prima 10-1 a 10-4 no exemplo 10A, em infecção por Influenza A/WSN/33 (H1N1) de uma forma dose-dependente.

A Figura 10 é um gráfico que mostra o efeito dos pós secos respiráveis preparados para o Exemplo 10B em infecção por Influenza A/Panama/99/2007 (H3N2) de uma forma dose-dependente.

As Figuras 11A a 11D são gráficos que mostram que as formulações de pó seco compostas de sais de cálcio e cloreto de sódio reduzem a severidade da gripe em furões. A Figura 11A mostra as mudanças na temperatura corporal de furões tratados com um pó de citrato de cálcio em comparação com os animais de controle. A Figura 11B mostra as mudanças na temperatura corporal de furões tratados com um pó de sulfato de cálcio em comparação com os animais de controle. A Figura 11C mostra as mudanças na temperatura corporal de furões tratados com um pó lactato de cálcio em comparação com os animais de controle. A Figura 11D mostra a mudança na temperatura corporal a paritr de uma linha de base para cada animal utilizando a área sob a curva para a duração do estudo (d0-d10). Os dados retratam a média ± EPM de cada grupo (p = 0,09 para o controle de leucina e grupo de lactato pelo teste t de Student).

A Figura 12 é um gráfico que mostra formulações de pó seco consistindo de excipientes diferentes (manitol, maltodextrina), com lactato de cálcio e cloreto de sódio influenza reduzida titulada em concentrações mais elevadas do que o pó da formulação III sozinho.

As Figuras 13A a 13C são gráficos que mostram as formulações pó seco de cálcio variam em eficácia contra diferentes patógenos virais. Células Calu-3 expostas a nenhuma formulação foram utilizadas como controle e comparados com células Calu-3 expostas a formulação I, formulação II, e formulação III. A concentração do vírus liberado pelas células expostas a cada formulação de aerossol foi quantificada. Símbolos representam a média e o desvio padrão de buracos duplicados para cada teste.

A Figura 14 é um gráfico que mostra a dose emitida do pó de formulação III em três diferentes pesos de cápsula cheia (25 mg, 60 mg, 75 mg) em energias inalação variadas.

A Figura 15 é um gráfico que mostra a distribuição de tamanho de partícula de pós de lactato de cálcio (formulação II) emitida por inaladores diferentes, caracterizada pelo diâmetro médio volumétrico (Dv50) e plotada contra a energia de inalação aplicada. Valores consistentes de Dv50 em valores de energia diminuindo indicam que o pó é bem disperso já que energia adicional não resulta em desaglomeração adicional do pó emitido.

A Figura 16 mostra um padrão XRPD de alta resolução do pó da formulação I. Este padrão mostra que o pó da formulação I consiste em uma combinação de cloreto de sódio cristalino e um citrato de cálcio amorfo ou cristalino fraco e, potencialmente, de fase rica em cloreto de cálcio.

A Figura 17 mostra uma comparação de padrões XRPD para o pó da Formulação I com reflecções cristalinas de NaCl.

A Figura 18 mostra uma sobreposição do termograma DSC ciclismo de temperatura da formulação I. Uma temperatura de transição vítrea de cerca de 167 °C foi observada via DSC cíclico para a fase rica em cálcio amorfa.

A Figura 19 mostra um padrão XRPD de alta resolução do pó da formulação III. Este padrão mostra que o pó da formulação II consiste em uma combinação de cloreto de sódio cristalino e um lactato de cálcio amorfo ou cristalino fraco e, potencialmente, de fase rica em cloreto de cálcio.

A Figura 20 mostra uma comparação de padrões XRPD para pó da Formulação III com reflexão cristalina de NaCl.

A Figura 21 mostra uma sobreposição de termograma DSC ciclismo de temperatura da formulação III. Uma temperatura de transição vítrea de cerca de 144 °C foi observada via DSC cíclico para a fase rica em cálcio amorfa.

A Figura 22 mostra um padrão XRPD de alta resolução do pó da formulação XIV.

A Figura 23 mostra uma comparação de padrões XRPD para o pó da formulação XIV com reflexo cristalino de NaCl.

A Figura 24 mostra uma sobreposição de termograma DSC ciclismo de temperatura da formulação XIV. Uma temperatura de transição vítrea de cerca de 134 °C foi observada via DSC cíclico para a fase rica em cálcio amorfa.

A Figura 25A mostra um padrão XRPD de alta resolução do pó da Formulação III. Este padrão mostra que a Formulação III tem algum grau de conteúdo de sal de cálcio

cristalino (sulfato de cálcio) presente, além de cloreto de sódio cristalino. A Figura 25B mostra uma comparação de padrões XRPD do pó da Formulação III com reflexão cristalina de NaCl.

A Figura 26 mostra uma sobreposição de termograma DSC de ciclismo de temperatura da Formulação III. Uma temperatura de transição vítrea de cerca de 159 °C foi observada via DSC cíclico para a fase rica em cálcio amorfa.

As Figuras 27A a 27H são espectros Raman. A Figura 27A mostra os espectros Raman para seis partículas de amostra da formulação I, e são mostradas sobrepostas. A Figura 27B mostra o espectro 389575-6 é o espectro subtraído e revestida com os espectros Raman do tetrahidrato de citrato de cálcio, citrato de sódio e leucina. A Figura 27C mostra os espectros Raman para oito partículas de amostra da Formulação III, e são mostradas sobrepostas. A Figura 27d mostra o espectro 388369-4 é o espcetrp subtraído e revestido com espectros Raman de sulfato de cálcio, dihidrato de sulfato de cálcio, sulfato de sódio anidro e leucina. A Figura 27E mostra espectros Raman para doze partículas de amostra da Formulação II, e são mostradas sobrepostas. A Figura 27F mostra os espectros 389576-7 e 389576-12 são subtraídos e revestidos com os espectros Raman de pentahidrato de lactato de cálcio e leucina. A Figura 27G mostra espectros Raman para doze partículas de amostra da Formulação XIV, e são mostradas sobrepostas. A Figura 27H mostra o espectro 389577-9 é o espectro subtraído e revestido com os espectros Raman do pentahidrato de lactato de cálcio.

A Figura 28 é um gráfico que mostra os resultados do tamanho de partículas em voluma para Formulação III (sulfato de cálcio) em pós atomizados preparados a partir

de cargas de alimentação líquidas pré-misturadas e estáticas misturadas com concentrações crescentes de sólidos. A distribuição do tamanho de partícula amplia (GSD crescente) e tamanho de partícula médio em volume aumenta significativamente (x50) com o aumento da concentração de sólidos em cargas de alimentação pré-misturadas. A distribuição de tamanho de partícula permanece constante com o aumento da concentração de sólidos em cargas de alimentação misturadas estáticas, enquanto que o tamanho de partícula médio em volume aumenta ligeiramente, como se esperava com concentrações crescentes de sólidos.

A Figura 29 é um gráfico que mostra os resultados da distribuição do tamanho de partícula em volume para Formulação III (sulfato de cálcio) em pó atomizado preparado a partir de cargas de alimentação líquida misturads estáticas e pré-misturadas com concentrações crescentes de sólidos. A distribuição de tamanho de partícula amplia com o aumento da concentração de sólidos em cargas de alimentação pré-misturadas e permanece estreita com o aumento da concentração de sólidos em cargas de alimentação misturadas estáticas. Triângulos de 5 g/L, misturada estática; quadrados, 5 g/L, pré-misturada; diamantes, 30 g/L, misturada estática; círculos 30 g/L, pré-misturada.

A Figura 30 é um gráfico mostrando resultados de caracterização de aerossóis para Formulação III (sulfato de cálcio) em pós atomizado preparados a partir de cargas de alimentação líquida pré-misturada e misturada estático com o aumento da concentração de sólidos.

As Figuras 31A a 31B são gráficos que mostram a mudança na fração de partículas finas (FPF) da formulação I (citrato de cálcio), formulação II (lactato de cálcio) e formulação III (sulfato de cálcio) em uso durante os testes

de estabilidade em condições extremas. O gráfico compara a mudança na FPF (dose total) < 5,6 microns (%) versus o tempo decorrido na câmara à temperatura e condições de umidade extremas (30 °C, 75% UR). Os valores na legenda indicam o verdadeiro valor no tempo zero. Os gráficos mostram flutuação em função da mudança em relação ao tempo zero. A Figura 31B é um gráfico que mostra a mudança no tamanho do volume de partículas da formulação I (citrato de cálcio), formulação II (lactato de cálcio) e formulação III (sulfato de cálcio) em uso durante os testes de estabilidade em condições extremas. O gráfico compara a mudança no tamanho médio de partícula em volume em função do tempo decorrido na câmara em condições extremas de temperatura e umidade (30 °C, 75% UR). Os valores na legenda indicam o verdadeiro valor no tempo zero. Os gráficos mostram flutuação em função da mudança em relação ao tempo zero. A Figura 31C,D mostram dados semelhantes para um segundo conjunto de formulações atomizadas compostas de um pó de cloreto de cálcio controle:cloreto de sódio:leucina e pós de lactato de cálcio:cloreto de sódio contendo 10% (i) lactose, (ii) manitol) ou (iii) maltodextrina como excipientes. A Figura 31C compara mudanças na FPF (dose total) < 5,6 microns (%) versus o tempo decorrido na câmara para o segundo conjunto de pós em condições extremas de temperatura e umidade (30 °C, 75% UR). Os valores na legenda indicam o verdadeiro valor no tempo zero. Os gráficos mostram flutuação em função da mudança em relação ao tempo zero. A Figura 31D é um gráfico que mostra as mudanças nos tamanhos de partículas em volume do segundo conjunto de pós em uso durante os testes de estabilidade em condições extremas. O gráfico compara a mudança no tamanho médio de partícula em volume em função do tempo decorrido na câmara em condições extremas de

temperatura e umidade (30 °C, 75% UR). Os valores na legenda indicam o verdadeiro valor no tempo zero. Os gráficos mostram flutuação em função da mudança em relação ao tempo zero.

A Figura 32 é um gráfico que mostra estabilidade do pó para uma gama de diferentes pós conforme medida pelo tamanho de volume de partícula após a exposição a condições de -40% RH por até uma semana.

A Figura 33 é um gráfico que mostra tamanho de volume de partícula após a exposição a condições de -40% RH para uma gama de diferentes pós por até uma semana. Este valor é idêntico ao da Figura 32, exceto que o cloreto foi removido para permitir um melhor detalhe.

A Figura 34 é um gráfico que mostra um termograma TGA representativo para a formulação I.

A Figura 35 é um gráfico mostrando calores de solução obtidos após a dissolução das formulações I a III. As formulações I a III resultaram em diminuição significativa de calores de solução, em comparação com ambas as matérias-primas, o cloreto de cálcio dihidratadohidrato e cloreto de cálcio:cloreto de sódio:pó de leucina controle.

A Figura 36 é um gráfico que mostra os resultados de um estudo de pneumonia *in vivo*. Animais tratados com a formulação III (sulfato de cálcio) apresentaram cinco vezes menos títulos bacterianos, animais tratados com a formulação I (citrato de cálcio) apresentaram 10,4 vezes menos títulos bacterianos, e os animais tratados com a formulação II (lactato de cálcio) apresentaram 5,9 vezes menos títulos bacterianos.

A Figura 37 é uma tabela que mostra as composições de exemplares formulações de pó seco.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Esta invenção refere-se, em parte, a pós secos respiráveis que liberam um ou mais cátions metálicos divalentes, como cálcio, como um ingrediente ativo, e a partículas secas respirávies contendo um cátion metálico divalente (por exemplo, contendo cálcio) contidas dentro dos pós. A invenção também se refere a partículas secas respiráveis que contém um ou mais cátions monovalentes (tais como, Na^+) e a pós secos que contêm as partículas respiráveis.

Em um aspecto, os pós secos e partículas secas respiráveis da invenção podem ser partículas respiráveis densas de cátion de metal divalente (por exemplo, o cálcio) que são pequenas e dispersíveis. Em outro aspecto, as partículas secas respiráveis podem ser grandes ou pequenas, por exemplo, o pó seco tem um diâmetro geométrico (VMGD) entre 0,5 microns e 30 microns. Opcionalmente, o MMAD do pó seco pode estar entre 0,5 e 10 microns, mais preferivelmente entre 1 e 5 microns.

Pós secos respiráveis que contêm pequenas partículas e que são dispersíveis no ar, e de preferência densos (por exemplo, densos em ingrediente ativo) são um afastamento da sabedoria convencional. É bem sabido que a propensão para as partículas agregarem ou aglomerarem aumenta com a diminuição do tamanho da partícula. Ver, por exemplo, Hickey, A. et ah, "*Factors Influencing the Dispersion of Dry Powders as Aerosols*", Pharmaceutical Technology, agosto, 1994.

Tal como descrito aqui, a invenção fornece pós secos respiráveis que contêm partículas respiráveis que são pequenas e dispersíveis no ar, sem fontes de energia adicional, além da inalação do indivíduo. Assim, os pós secos respiráveis e as partículas secas respiráveis podem ser usadas terapeuticamente, sem incluir grandes

quantidades de componentes não ativos (por exemplo, excipientes) nas partículas ou nos pós, ou usando dispositivos que aplicam forças mecânicas para interromper partículas agregadas ou aglomeradas durante ou imediatamente antes da administração.

Os pós secos respiráveis e partículas respiráveis da invenção são também geralmente, densos em ingredientes ativos, ou seja, os cátions de metal divalente (por exemplo, sais contendo cálcio). Por exemplo, como aqui descrito, quando um excipiente está incluído no pó ou partículas secos respiráveis, o excipiente é um componente menor (por exemplo, cerca de 50% ou menos, em peso, de preferência cerca de 20% ou menos em peso, cerca de 12% ou menos em peso, cerca de 10% ou menos em peso, cerca de 8% ou menos em peso ou menos em peso). Assim, em um aspecto, as partículas respiráveis não são apenas pequenas e de alta dispersão, mas podem conter uma grande quantidade de cátion de metal divalente, por exemplo, cálcio (Ca^{2+}). Assim, uma quantidade menor de pó terá de ser administrada, a fim de liberar a dose desejada de cátions metálicos divalentes (cálcio, por exemplo). Por exemplo, a dose desejada de cálcio pode ser liberada com uma ou duas inalações a partir de um inalador tipo cápsula ou tipo blister.

Definições

O termo "pó seco", tal como aqui utilizado refere-se a uma composição contém partículas secas respiráveis finamente dispersas que são capazes de ser dispersas em um dispositivo de inalação e posteriormente inaladas por um indivíduo. Tal pó seco ou partícula seca pode conter até cerca de 15% de água ou outro solvente, ou estar praticamente isento de água ou outro solvente, ou ser anidro.

O termo "partículas secas", tal como aqui utilizado refere-se a partículas respiráveis que podem conter até cerca de 15% de água ou outro solvente, ou estar praticamente isento de água ou outro solvente, ou ser anidro.

O termo "respirável", tal como aqui utilizado refere-se a partículas secas ou pós secos que são adequados para liberação no trato respiratório (por exemplo, a administração pulmonar) em um indivíduo por inalação. Pós secos ou partículas secas respiráveis têm um diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) de menos de cerca de 10 microns, de preferência cerca de 5 mícrons ou menos.

Como usado aqui, os termos "administração" ou "administrar" partículas secas respiráveis refere-se a introdução de partículas secas respiráveis no trato respiratório de um indivíduo.

Como usado aqui, o termo "aparelho respiratório" compreende o trato respiratório superior (por exemplo, fossas nasais, cavidade nasal, garganta, faringe), vias respiratórias (por exemplo, laringe, traquéia, brônquios, bronquíolos) e pulmões (por exemplo, bronquíolos respiratórios, dutos alveolares, sacos alveolares, alvéolos).

O termo "dispersível" é um termo da técnica que descreve a característica de um pó seco ou partículas secas para ser dissipado em um aerosol respirável. Dispersibilidade de um pó seco ou partículas secas é aqui expresso como o quociente do diâmetro geométrico médio volumétrico (VMGD) medido a uma dispersão (ou seja, regulador) de pressão de 1 bar dividido pelo VMGD medido a uma dispersão (ou seja, regulador) de pressão de 4 bar, ou VMGD a 0,5 bar dividido pelo VMGD a 4 bar conforme medido por HELOS/RODOS. Estes quocientes são referidos aqui como

"1/4 bar" e "0,5/4 bar", respectivamente, e dispersibilidade correlaciona-se com um quociente baixo. Por exemplo, 1/4 bar refere-se ao VMGD de partículas ou pós secos respiráveis emitido a partir do orifício de um dispersor de pó seco RODOS (ou técnica equivalente) em cerca de 1 bar, conforme medido por um HELOS ou outro sistema de difração laser, dividido o VMGD das mesmas partículas ou pós secos respirável medido a 4 bar por HELOS/RODOS. Assim, um pó seco ou partículas secas de alta dispersão terá uma razão de 1/4 bar ou 0,5/4 bar que fica próximo a 1,0. Pós de alta dispersão têm uma tendência baixa para aglomerar, agregar ou aglutinar e/ou, se aglomerados, agregados ou aglutinados, são facilmente dispersos ou desaglomerados ao serem emitidos a partir de um inalador e são inalados pelo indivíduo. Dispersibilidade também pode ser avaliada medindo o tamanho emitido por um inalador em função da vazão.

Os termos "FPF (< 5,6)", "FPF (< 5,6 microns)" e "fração de partículas finas com menos de 5,6 microns", como usado aqui, referem-se à fração de uma amostra de partículas secas que têm um diâmetro aerodinâmico menor que 5,6 microns. Por exemplo, FPF (< 5,6) pode ser determinado pela divisão da massa de partículas secas respiráveis depositadas na primeira fase e no filtro de coleta de um Impactador em Cascata Andersen de dois estágios quebrados (ACI) pela massa de partículas secas respiráveis pesadas em uma cápsula para liberação ao instrumento. Este parâmetro também pode ser identificado como "FPF_TD (< 5,6)", onde TD significa dose total. Uma medida similar pode ser realizada utilizando um ACI de oito estágios. Os valores limites de oito estágios ACI são diferentes no padrão de vazão de 60 L/min, mas o FPF_TD (< 5,6) pode ser extrapolado a partir do conjunto de dados completo de oito estágios. O

resultado de ACI de oito estágios também pode ser calculado pelo método USP de usar a dose coletada no ACI em vez do que foi na cápsula para determinar FPF.

Os termos "FPF (< 3,4)", "FPF (< 3,4 microns)" e "fração de partículas finas com menos de 3,4 microns", como usados aqui, referem-se a fração de uma massa de partículas secas respiráveis que possuem um diâmetro aerodinâmico menor que 3,4 microns. Por exemplo, FPF (< 3,4) pode ser determinado pela divisão da massa de partículas secas respiráveis depositado no filtro de coleta de um ACI de dois estágios quebrados pela massa total de partículas secas respiráveis pesadas em uma cápsula para liberação ao instrumento. Este parâmetro também pode ser identificado como "FPF_TD (< 3,4)," onde TD significa dose total. Uma medida similar pode ser realizada utilizando um ACI de oito estágios. O resultado do ACI de oito estágios também pode ser calculado pelo método USP de usar a dose coletada no ACI, em vez do que foi na cápsula para determinar FPF.

Os termos "FPF (< 5,0)", "FPF (< 5,0 microns)" e "fração de partículas finas com menos de 5,0 microns", como usados aqui, referem-se a fração de uma massa de partículas secas respiráveis que possuem um diâmetro aerodinâmico inferior a 5,0 microns. Por exemplo, FPF (< 5,0) pode ser determinado usando um ACI de oito estágios na vazão padrão de 60 L/min por extrapolação a partir do conjunto de dados completo de oito estágios. Este parâmetro também pode ser identificado como "FPF_TD (< 5,0)" onde TD significa dose total.

Como usado aqui, o termo "dose emitida" ou "ED" refere-se a uma indicação da liberação de uma formulação de droga de um dispositivo inalador adequado após um disparo ou um evento de dispersão. Mais especificamente, para as formulações de pó seco, a ED é uma medida da percentagem de

pó que é retirado de um pacote de dose unitária e que sai do bocal de um dispositivo inalador. A ED é definida como a razão da dose liberada por um dispositivo inalador com a dose nominal (ou seja, a massa de pó por dose unitária colocada em um aparelho inalador adequado, antes do dipsaro). A ED é um parâmetro experimentalmente medido, e pode ser determinado usando o método USP Seção 601 Aerossóis, inaladores de dose medida e inaladores de pó seco, Uniformidade de Dose liberada, Amostragem da dose liberada a partir de inaladores de pó seco, convenção Pharmacopia dos Estados Unidos, Rockville, MD, Revisão 13, 222-225, 2007. Este método utiliza um dispositivo *in vitro* criado para imitar a dosagem do paciente.

O termo "quantidade eficaz", como usado aqui, refere-se a quantidade de agente necessária para alcançar o efeito desejado, tal como uma quantidade que é suficiente para aumentar a superfície e/ou viscoelasticidade volumétrica do muco do trato respiratório (por exemplo, fluido de revestimento das vias aéreas), aumentar a gelificação do muco do trato respiratório (por exemplo, na superfície e/ou gelificação volumétrica), aumentar a tensão superficial do muco do trato respiratório, aumentar a elasticidade do muco do trato respiratório (por exemplo, a elasticidade superficial e/ou elasticidade volumétrica), aumentar a viscosidade superficial do muco do trato respiratório (por exemplo, a viscosidade superficial e/ou viscosidade volumétrica), reduzir a quantidade de partículas exaladas, reduzir a carga de patógeno (por exemplo, bactéria, vírus), reduzir os sintomas (por exemplo, febre, tosse, espirro, corrimento nasal, diarréia e outros), reduzir a ocorrência de infecção, reduzir a replicação viral ou melhorar ou prevenir a deterioração da função respiratória (por exemplo, melhorar o volume

expiratório forçado em 1 segundo FEV1 e/ou volume expiratório forçado em 1 segundo FEV1 como uma proporção da capacidade vital forçada FEV1/FVC, reduzir a broncoconstrição). A quantidade real efetiva para um uso específico pode variar de acordo com o pó seco ou partícula seca em particular, o modo de administração, e da idade, peso, estado geral de saúde do indivíduo, e a gravidade dos sintomas ou condição a ser tratada. Quantidades adequadas de pós secos e partículas secas para serem administrados, e posologia, para um paciente em particular pode ser determinadas por um médico de habilidade comum com base nestas e outras considerações.

O termo "excipiente farmaceuticamente aceitável" como aqui utilizado significa que o excipiente pode ser levado para os pulmões sem efeitos toxicológicos adversos significativos sobre os pulmões. Tal excipiente é geralmente considerado seguros (GRAS) pela Food and Drug Administration dos EUA.

Pós secos e Partículas secas

A invenção refere-se a pós secos e partículas secas respiráveis que contêm um ou mais cátions metálicos divalentes, tais como o berílio (Be^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), estrôncio (Sr^{2+}), bário (Ba^{2+}), rádio (Ra^{2+}), ou ferro (íon ferroso, Fe^{2+}), como um ingrediente ativo. O cátion de metal divalente ativo (por exemplo, o cálcio) está geralmente presente no pós secos e partículas secas em forma de um sal, que pode ser cristalino ou amorfo. Os pós secos e partículas secas pode opcionalmente incluir sais adicionais (por exemplo, sais monovalentes, tais como sais de sódio, sais de potássio e sais de lítio), agentes terapeuticamente ativos ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

Em alguns aspectos, o pó seco e partículas secas respiráveis contêm um ou mais sais de um elemento do grupo IIA (ou seja, um ou mais sais de berílio, sais de magnésio, sais de cálcio, sais de bário, sais de rádio ou qualquer combinação destes). Em aspectos mais particulares, o pó seco e partículas secas respiráveis contêm um ou mais sais de cálcio, sais de magnésio ou qualquer combinação destes. Em modalidades particulares, o pó seco e partículas secas respiráveis contêm um ou mais sais de cálcio. Em outras modalidades particulares, o pó seco e partículas secas respiráveis contêm um ou mais sais de magnésio.

Sais de berílio adequados incluem, por exemplo, fosfato de berílio, acetato de berílio, tartarato de berílio, citrato de berílio, gluconato de berílio, maleato de berílio, succinato de berílio, malato de sódio e berílio, sulfonato de cânfora alpha brom berílio, acetilacetonato de berílio, formato de berílio ou qualquer combinação dos mesmos.

Sais de magnésio adequados incluem, por exemplo, fluoreto de magnésio, cloreto de magnésio, brometo de magnésio, iodeto de magnésio, fosfato de magnésio, sulfato de magnésio, sulfito de magnésio, carbonato de magnésio, óxido de magnésio, nitrato de magnésio, borato de magnésio, acetato de magnésio, citrato de magnésio, gluconato de magnésio, maleato de magnésio, succinato de magnésio, malato de magnésio, taurate de magnésio, orotato de magnésio, glicinato de magnésio, naftenato de magnésio, acetilacetonato de magnésio, formiato de magnésio, hidróxido de magnésio, estearato de magnésio, hexafluorsilicato de magnésio, salicilato de magnésio ou uma combinação dos mesmos.

Sais de cálcio adequados incluem, por exemplo, cloreto de cálcio, sulfato de cálcio, lactato de cálcio,

citrato de cálcio, carbonato de cálcio, acetato de cálcio, fosfato de cálcio, alginito de cálcio, estearato de cálcio, sorbato de cálcio, gluconato de cálcio e similares.

Sais de estrôncio adequados incluem, por exemplo, cloreto de estrôncio, fosfato de estrôncio, sulfato de estrôncio, carbonato de estrôncio, óxido de estrôncio, nitrato de estrôncio, acetato de estrôncio, tartarato de estrôncio, citrato de estrôncio, gluconato de estrôncio, maleato de estrôncio, succinato de estrôncio, malato de estrôncio, aspartato de estrôncio em ambos as formas L e/ou D, fumarato de estrôncio, glutamato de estrôncio em ambas as formas L e/ou D, glutarato de estrôncio, lactato de estrôncio, L-treonato de estrôncio, malonato de estrôncio, ranelato de estrôncio (quelato de metal orgânico), ascorbato de estrôncio, butirato de estrôncio, clodronato de estrôncio, ibandronato de estrôncio, salicilato de estrôncio, acetil salicilato de estrôncio ou qualquer combinação dos mesmos.

Sais de bário adequados incluem, por exemplo, hidróxido de bário, fluoreto de bário, cloreto de bário, brometo de bário, iodeto de bário, sulfato de bário, sulfeto de bário (S), carbonato de bário, peróxido de bário, óxido de bário, nitrato de bário, acetato de bário, tartarato de bário, citrato de bário, gluconato de bário, maleato de bário, succinato de bário, malato de bário, glutamato de bário, oxalato de bário, malonato de bário, naftenato de bário, acetilacetonato de bário, formiato de bário, benzoato de bário, p-t-butilbenzoato de bário, adipato de bário, pimelato de bário, suberato de bário, azelato de bário, sebacato de bário, ftalato de bário, isoftalato de bário, tereftalato de bário, antranilato de bário, mandelato de bário, salicilato de bário, titanato de bário ou qualquer combinação dos mesmos.

Sais de rádio adequados incluem, por exemplo, fluoreto de rádio, cloreto de rádio, brometo de rádio, iodeto de rádio, rádio de óxido, nitreto de rádio ou qualquer combinação dos mesmos.

Sais de ferro (ferroso) adequados incluem, por exemplo, sulfato ferroso, óxido ferroso, acetato ferroso, citrato ferroso, citrato de amônio ferroso, gluconato ferroso, oxalato ferroso, fumarato ferroso, maleato ferroso, malato ferroso, lactato ferroso, ascorbato ferroso, eritrobato ferroso, glicerato ferroso, piruvato ferroso ou qualquer combinação dos mesmos.

Em um aspecto, as partículas secas da invenção são pequenas e de preferência o cátion de metal divalente (por exemplo, cálcio) denso, e são dispersíveis. O tamanho das partículas secas pode ser expresso em uma variedade de maneiras que são convencionais na técnica, tais como, a fração de partículas finas (FPF), o diâmetro médio geométrico volumétrico (VMGD) ou diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD). Geralmente, as partículas secas da invenção têm um VMGD medido por HELOS/RODOS a 1,0 bar de cerca de 10 μm ou menos (por exemplo, cerca de 0,1 mícron a cerca de 10 μm). De preferência, as partículas secas da invenção têm um VMGD de cerca de 9 μm ou menos (por exemplo, cerca de 0,1 mícron a cerca de 9 μm), cerca de 8 μm ou menos (por exemplo, cerca de 0,1 mícron a cerca de 8 μm), cerca de 7 μm ou menos (por exemplo, cerca de 0,1 mícron a cerca de 7 μm), cerca de 6 μm ou menos (por exemplo, cerca de 0,1 mícron a cerca de 6 μm), cerca de 5 μm ou menos (por exemplo, menos de 5 μm, cerca de 0,1 mícron a cerca de 5 μm), cerca de 4 μm ou menos (por exemplo, 0,1 mícron a cerca de 4 μm), cerca de 3 μm ou

menos (por exemplo, 0,1 mícron a cerca de 3 μm), cerca de 2 μm ou menos (por exemplo, 0,1 mícron a cerca de 2 μm), cerca de 1 μm ou menos (por exemplo, 0,1 mícron a cerca de 1 μm), cerca de 1 mícron a cerca de 6 μm, cerca de 1 mícron a cerca de 5 μm, cerca de 1 mícron a cerca de 4 μm, cerca de 1 mícron a cerca de 3 μm, ou cerca de 1 mícron a cerca de 2 μm, medida por HELOS/RODOS a 1,0 bar.

Em outro aspecto, as partículas secas da invenção são grandes, e de preferência de cálcio denso, e são dispersíveis. Geralmente, as partículas secas da invenção tem um VMGD medido por HELOS/RODOS a 1,0 bar de cerca de 30 μm ou menos (por exemplo, cerca de 5 μm para cerca de 30 μm). De preferência, as partículas secas da invenção têm um VMGD de cerca de 25 μm ou menos (por exemplo, cerca de 5 μm a cerca de 25 μm), cerca de 20 μm ou menos (por exemplo, cerca de 5 μm para cerca de 20 μm), cerca de 15 μm ou menos (por exemplo, cerca de 5 μm para cerca de 15 μm), cerca de 12 μm ou menos (por exemplo, cerca de 5 μm para cerca de 12 μm), cerca de 10 μm ou menos (por exemplo, cerca de 5 μm para cerca de 10 μm), ou cerca de 8 μm ou menos (por exemplo, 6 μm para cerca de 8 μm), medido por HELOS/RODOS a 1,0 bar.

Além disso, se as partículas são pequenas ou grandes, as partículas secas da invenção são dispersíveis, e tem 1/4 bar e/ou 0,5/4 bar de cerca de 2,2 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 2,2) ou cerca de 2,0 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 2,0). De preferência, as partículas secas da invenção têm 1/4 bar e/ou 0,5/4 bar de cerca de 1,9 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 1,9), cerca de 1,8 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 1,8), cerca de 1.7 ou menos (por

exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 1,7), cerca de 1,6 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 1,6), cerca de 1,5 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 1,5), cerca de 1,4 ou menos (por exemplo, cerca de 1,0 a cerca de 1,4), cerca de 1,3 ou menos (por exemplo, inferior a 1,3, cerca de 1,0 a cerca de 1,3), cerca de 1,2 ou menos (por exemplo, 1,0 a cerca de 1,2), cerca de 1,1 ou menos (por exemplo, 1,0 a cerca de 1,1 mm) ou as partículas secas da invenção têm 1/4 bar de cerca de 1,0.

Alternativamente ou adicionalmente, a partículas secas respiráveis da invenção podem ter um MMAD de cerca de 10 microns ou menos, como um MMAD de cerca de 0,5 mícron a cerca de 10 microns. De preferência, as partículas secas da invenção têm um MMAD de cerca de 5 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 0,5 mícron a cerca de 5 microns, de preferência cerca de 1 mícron a cerca de 5 microns), cerca de 4 microns ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 4 microns), cerca de 3,8 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 3,8 microns), cerca de 3,5 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 3,5 microns), cerca de 3,2 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 3,2 microns), cerca de 3 microns ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 3,0 microns), cerca de 2,8 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 2,8 microns), cerca de 2,2 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 2,2 microns), cerca de 2,0 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 2,0 mícrons), ou cerca de 1,8 mícrons ou menos (por exemplo, cerca de 1 mícron a cerca de 1,8 mícrons).

Alternativamente ou adicionalmente, os pós secos e partículas secas respiráveis da invenção podem ter um FPF de menos de cerca de 5,6 microns (FPF < 5,6 μm) de pelo

menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, de preferência pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65% ou pelo menos cerca de 70%.

Alternativamente ou adicionalmente, o pó seco e partículas secas da invenção tem um FPF de menos de 5,0 mícrons (FPF_TD < 5,0 μm) de pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 45%, de preferência pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65% ou pelo menos cerca de 70%. Alternativamente ou adicionalmente, o pó seco e partículas secas da invenção tem um FPF inferior a 5,0 microns da dose emitida (FPF_ED < 5,0 μm) de pelo menos cerca de 45%, de preferência pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60 %, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 85%. Alternativamente ou adicionalmente, o pó seco e partículas secas da invenção podem ter um FPF de menos de cerca de 3,4 microns (FPF < 3,4 μm) de pelo menos cerca de 20%, de preferência pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50% ou pelo menos cerca de 55%.

Alternativamente ou adicionalmente, os pós secos e partículas secas respiráveis da invenção têm uma densidade derivada de cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 1,0 g/cm^3. Por exemplo, as partículas pequenas e dispersíveis secas têm uma densidade derivada de cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,9 g/cm^3, cerca de 0,2 g/cm^3 a cerca de 0,9 g/cm^3, cerca de 0,2 g/cm^3 a cerca de 0,9 g/cm^3, cerca

de 0,3 g/cm^3 a cerca de 0,9 g/cm^3, cerca de 0,4 g/cm^3 a cerca de 0,9 g/cm^3, cerca de 0,5 g/cm^3 a cerca de 0,9 g/cm^3, ou cerca de 0,5 g/cm^3 a cerca de 0,8 g/cm^3, maior do que cerca de 0,4 g/cm^3, maior que cerca de 0,5 g/cm^3, maior que cerca de 0,6 g/cm^3, maior que cerca de 0,7 g/cm^3, cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,8 g/cm^3, cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,7 g/cm^3, cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,6 g/cm^3, cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,5 g/cm^3, cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,4 g/cm^3, cerca de 0,1 g/cm^3 a cerca de 0,3 g/cm^3, menos de 0,3 g/cm^3. Em uma modalidade preferida, a densidade derivada é maior do que cerca de 0,4 g/cm^3. Em outra modalidade preferida, a densidade derivada é maior do que cerca de 0,5 g/cm^3. Alternativamente, a densidade derivada é menor do que cerca de 0,4 g/cm^3.

Alternativamente ou adicionalmente, os pós secos e partículas secas respiráveis da invenção podem ter um conteúdo de água ou solvente de menos de cerca de 15% em peso da partícula seca respirável. Por exemplo, a partículas secas respiráveis da invenção podem ter um conteúdo de água ou solvente de menos de cerca de 15% em peso, menos de cerca de 13% em peso, menos de cerca de 11,5%, em peso, menos de cerca de 10% em peso, menos de cerca de 9% em peso, menos de cerca de 8% em peso, menos de cerca de 7% em peso, menos de cerca de 6% em peso, menos de cerca de 5% em peso, menos de cerca de 4% em peso, menos de cerca de 3% em peso, menos de cerca de 2% em peso, menos de cerca de 1% em peso ou ser anidro. As partículas secas respiráveis da invenção podem ter um conteúdo de água ou solvente de menos de cerca de 6% e maior do que cerca de 1%, menos do que cerca de 5,5% e maior do que cerca de 1,5%, menos do que cerca de 5% e maior do que cerca de 2%, cerca de 2%, cerca de 2,5%, cerca de 3%, cerca de 3,5%, cerca de 4%, cerca de 4,5% a cerca de 5%.

Tal como descrito aqui, as partículas secas respiráveis da invenção contêm um ou mais cátions metálicos divalentes (por exemplo, cálcio (Ca^{2+})) como um ingrediente ativo que está geralmente presente na forma de um sal (por exemplo, cristalino e/ou amorfo). Sais de cálcio adequados que podem estar presentes nas partículas secas respiráveis da invenção incluem, por exemplo, cloreto de cálcio, sulfato de cálcio, lactato de cálcio, citrato de cálcio, carbonato de cálcio, acetato de cálcio, fosfato de cálcio, alginito de cálcio, estearato de cálcio, sorbato de cálcio, gluconato de cálcio e outros. Em certos aspectos preferenciais, o pó seco ou partículas secas da invenção não contém fosfato de cálcio, carbonato de cálcio, alginato de cálcio, estearato de cálcio ou gluconato de cálcio. Em um outro aspecto preferido, o pó seco ou partículas secas da invenção incluem citrato de cálcio, lactato de cálcio, cloreto de cálcio, sulfato de cálcio, ou qualquer combinação destes sais. Em um outro aspecto preferido, o pó seco ou partículas secas incluem citrato de cálcio, lactato de cálcio, ou qualquer combinação desses sais. Se desejado, as partículas secas respiráveis da invenção contêm um sal de cátion divalente de metal (por exemplo, um sal de cálcio) e ainda contêm um ou mais sais adicionais, tais como um ou mais dos sais não-tóxicos dos elementos sódio, potássio, magnésio, alumínio, cálcio, silício, escândio, titânio, vanádio, cromo, cobalto, níquel, cobre, manganês, zinco, estanho, prata e similares. De preferência, as partículas secas contêm pelo menos um sal de cálcio e pelo menos um sal de cátion monovalente (por exemplo, um sal de sódio).

Sais de sódio adequados que podem estar presentes nas partículas secas respiráveis da invenção incluem, por exemplo, cloreto de sódio, citrato de sódio, sulfato de

sódio, lactato de sódio, acetato de sódio, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, estearato de sódio, ascorbato de sódio, benzoato de sódio, bifosfato de sódio, fosfato de sódio, bissulfito de sódio, borato de sódio, gluconato de sódio, metassilicato e similares. Em um aspecto preferido, os pós secos e partículas secas incluem cloreto de sódio, citrato de sódio, lactato de sódio, sulfato de sódio, ou qualquer combinação destes sais.

Sais de lítio adequados incluem, por exemplo, cloreto de lítio, brometo de lítio, carbonato de lítio, nitrato de lítio, sulfato de lítio, acetato de lítio, lactato de lítio, citrato de lítio, aspartato de lítio, gluconato de lítio, malato de lítio, ascorbato de lítio, orotato de lítio e succinato de lítio ou combinação dos mesmos.

Sais de potássio adequados incluem, por exemplo, cloreto de potássio, brometo de potássio, iodeto de potássio, bicarbonato de potássio, nitrito de potássio, persulfato de potássio, sulfito de potássio, bissulfito de potássio, fosfato de potássio, acetato de potássio, citrato de potássio, glutamato de potássio, guanilato dipotássico, gluconato de potássio, malato de potássio, ascorbato de potássio, sorbato de potássio, succinato de potássio, tartarato de sódio e potássio e suas combinações.

Sais de metais bivalentes preferidos (por exemplo, sais de cálcio) tem um, de preferência duas ou mais das seguintes características: (i) podem ser transformado em uma partícula seca respirável, (ii) possuem estabilidade físico-química suficiente em forma de pó seco para facilitar a produção de um pó que é dispersível e fisicamente estável durante uma série de condições, inclusive com a exposição à umidade elevada, (iii) submetem-se à dissolução rápida em deposição nos pulmões,

por exemplo, metade da massa do cátion do metal divalente pode ser dissolvida em menos de 30 minutos, menos de 15 minutos, menos de 5 minutos, menos de 2 minutos, menos de 1 minuto ou menos de 30 segundos, e (iv) não possuem propriedades que podem resultar em baixa tolerabilidade ou efeitos adversos, como um calor de solução (DH) exotérmico ou endotérmico significativo. Por exemplo, um DH inferior a cerca de -10 kcal/mol ou superior a cerca de 10 kcal/mol. Em vez disso, um DH preferido é entre cerca de -9 kcal/mol e cerca de 9 kcal/mol, entre cerca de -8 kcal/mol e cerca de 8 kcal/mol, entre cerca de -7 kcal/mol e cerca de 7 kcal/mol, entre cerca de -6 kcal/mol e cerca de 6 kcal/mol, entre cerca de -5 kcal/mol e cerca de 5 kcal/mol, entre cerca de -4 kcal/mol e cerca de 4 kcal/mol, entre cerca de -3 kcal/mol e cerca de 3 kcal/mol, entre cerca de -2 kcal/mol e cerca de 2 kcal/mol, entre cerca de -1 kcal/mol e cerca de 1 kcal/mol ou cerca de 0 kcal/mol

Com relação à taxa de dissolução sobre a deposição do pó ou partículas nos pulmões, uma alternativa para a rápida dissolução das partículas nos pulmões, o sal de metal divalente sofre dissolução sustentada sobre a deposição. O período de dissolução sustentada, em um aspecto, é na escala de tempo de minutos, por exemplo, metade do cátion do sal de metal divalente pode ser liberado da partícula em mais de cerca de 30 minutos ou superior a cerca de 45 minutos. Em outro aspecto, o período de dissolução sustentada é sobre uma escala de tempo de horas, por exemplo, metade do sal de metal divalente pode ser liberado em mais de cerca de 1 hora, maior do que 1,5 horas, maior que cerca de 2 horas, maior do que cerca de 4 horas, maior do que cerca de 8 horas, ou superior a cerca

de 12 horas. Em um outro aspecto, a dissolução é sustentada por um período de um dia ou dois dias.

Sais de cátion de metais divalentes adequados (por exemplo, sais de cálcio) podem ter características de solubilidade desejadas. Em geral, sais de cátion de metais divalentes altamente ou moderadamente solúveis (por exemplo, sais de cálcio) são os preferidos. Por exemplo, sais de cátion de metais divalentes adequados (por exemplo, sais de cálcio) que estão contidos nas partículas secas e pós secos respiráveis podem ter uma solubilidade em água destilada à temperatura ambiente (20 a 30 °C) e 1 bar de pelo menos cerca de 0,4 g/L, pelo menos cerca de 0,85 g/L, pelo menos cerca de 0,90 g/L, pelo menos cerca de 0,95 g/L, pelo menos cerca de 1,0 g/L, pelo menos cerca de 2,0 g/L, pelo menos cerca de 5,0 g/L , pelo menos cerca de 6,0 g/L, pelo menos cerca de 10,0 g/L, pelo menos cerca de 20 g/L, pelo menos cerca de 50 g/L, pelo menos cerca de 90 g/L, pelo menos cerca de 120 g/L, pelo menos cerca de 500 g/L, pelo menos cerca de 700 g/L ou pelo menos cerca de 1000 g/L. Preferivelmente, o sal de cátion de metal divalente tem uma solubilidade maior do que cerca de 0,90 g/L, maior do que cerca de 2,0 g/L ou maior que cerca de 90 g/L.

Partículas secas e pó seco da invenção podem ser preparados, se desejado, que contêm sais de cátion de metais divalentes (por exemplo, sais de cálcio) que não são altamente solúveis em água. Como aqui descritos, tais partículas secas e pó seco podem ser preparados usando uma matéria-prima de um sal diferente, mais solúvel, e permitindo troca aniônica para produzir os sais de cátion de metais divalentes desejados (por exemplo, sal de cálcio) antes ou concomitantemente com a atomização.

O pó e as partículas secos da invenção podem conter uma alta porcentagem de ingrediente ativo (por exemplo, cátion de metal divalente (por exemplo, o cálcio)) na composição, e ser cátion de metal divalente

O pó seco e as partículas da invenção podem conter uma alta porcentagem de ingrediente ativo (por exemplo, cátion de metal divalente (por exemplo, o cálcio)) na composição, e ser cátion de metal divalente denso. As partículas secas podem conter 3% ou mais, 5% ou mais, 10% ou mais, 15% ou mais, 20% ou mais, 25% ou mais, 30% ou mais, 35% ou mais, 40% ou mais, 50% ou mais, 60% ou mais, 70% ou mais, 75% ou mais, 80% ou mais, 85% ou mais, 90% ou mais, ou 95% ou mais de ingrediente ativo.

É vantajoso quando o sal de cátion de metal divalente (por exemplo, sal de cálcio) dissocia para fornecer dois ou mais moles de cátions metálicos bivalentes (por exemplo, Ca^{2+}) por mol de sal. Sais podem ser usados para produzir pós secos e partículas secas respiráveis que são densos em cátion de metal divalente (por exemplo, cálcio). Por exemplo, um mol de citrato de cálcio fornece três moles de Ca^{2+} em dissolução. Também é geralmente preferido que o sal de cátion de metal divalente (por exemplo, sal de cálcio) seja um sal com um baixo peso molecular e/ou contenha ânions de baixo peso molecular. Baixo peso molecular de sais de cátion de metais divalentes, tais como sais de cálcio que contêm íons de cálcio e ânions de baixo peso molecular, são cátions divalente densos (por exemplo, Ca^{2+}), densos em relação aos sais de alto peso molecular e sais que contêm ânions de alto peso molecular. Em geral, é preferível que o sal de cátion de metal divalente (por exemplo, sal de cálcio) tenha um peso molecular de menos de cerca de 1000 g/mol, menos de cerca de 950 g/mol, menos de cerca de 900 g/mol,

menos de cerca de 850 g/mol, menos de cerca de 800 g/mol, menos de cerca de 750 g/mol, menos de cerca de 700 g/mol, menos de cerca de 650 g/mol, menos de cerca de 600 g/mol, menos de cerca de 550 g/mol , menos de cerca de 510 g/mol, menos de cerca de 500 g/mol, menos de cerca de 450 g/mol, menos de cerca de 400 g/mol, menos de cerca de 350 g/mol, menos de cerca de 300 g/mol, menos que cerca de 250 g/mol, menos de cerca de 200 g/mol, menos de cerca de 150 g/mol, menos de cerca de 125 g/mol ou menos de cerca de 100 g/mol. Além disso ou alternativamente, geralmente é preferível que o cátion de metal divalente (por exemplo, de íons de cálcio) contribua com uma parcela substancial de peso do peso total do sal de cátion de metal divalente. Em geral, é preferível que o cátion de metal divalente (por exemplo, de íons de cálcio) contribuia com pelo menos 10% do peso do sal em geral, pelo menos 16%, pelo menos 20%, pelo menos 24,5%, pelo menos 26%, pelo menos 31%, pelo menos 35% ou pelo menos 38% do peso do sal de cátion de metal divalente em geral (por exemplo, sal de cálcio).

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis da invenção podem incluir um sal de cátion de metal divalente adequado (por exemplo, sal de cálcio) que fornece cátions metálicos divalentes (Ca^{2+}), em que a relação de peso do cátion metálico divalente (por exemplo, ion de cálcio) para o peso total do sal é entre cerca de 0,1 a cerca de 0,5. Por exemplo, a relação de peso de cátion de metal divalente (por exemplo, de íons de cálcio) para o peso total do sal é entre cerca de 0,15 a cerca de 0,5, entre cerca de 0,18 a cerca de 0,5, entre cerca de 0,2 a cerca de 5, entre cerca de 0,25 a cerca de 0,5, entre cerca de 0,27 a cerca de 0,5, entre cerca de 0,3 a cerca de 5, entre cerca de 0,35 a cerca de 0,5, entre

cerca de 0,37 a cerca de 0,5 ou entre cerca de 0,4 a cerca de 0,5.

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis adequadas da invenção podem conter um sal de cátion de metal divalente (por exemplo, sal de cálcio), que fornece cátions divalentes (por exemplo, Ca^{2+}) em uma quantidade de pelo menos cerca de 5% em peso das partículas secas respiráveis. Por exemplo, as partículas secas respiráveis da invenção podem incluir um sal de cátion de metal divalente (por exemplo, sal de cálcio), que fornece cátions divalentes (por exemplo, Ca^{2+}) em uma quantidade de pelo menos cerca de 7% em peso, pelo menos cerca de 10% em peso, pelo menos cerca de 11% em peso, pelo menos cerca de 12% em peso, pelo menos cerca de 13% em peso, pelo menos cerca de 14% em peso, pelo menos cerca de 15% em peso, pelo menos cerca de 17% em peso, pelo menos cerca de 20% em peso, pelo menos cerca de 25% em peso, pelo menos cerca de 30% em peso, pelo menos cerca de 35% em peso, pelo menos cerca de 40% em peso, pelo menos cerca de 45% em peso, pelo menos cerca de 50% em peso, pelo menos cerca de 55% em peso, pelo menos cerca de 60% em peso, pelo menos cerca de 65% em peso ou pelo menos cerca de 70% em peso das partículas secas respiráveis.

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter um sal de cátion de metal divalente que fornece cátions metálicos divalentes (por exemplo, Ca^{2+}, Be^{2+}, Mg^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+}, Fe^{2+}) em uma quantidade de pelo menos cerca de 5 % em peso das partículas secas respiráveis e também conter um sal monovalente (por exemplo, sal de sódio, sal de lítio, sal de potássio), que fornece cátions monovalentes (por exemplo, Na^{+}, Li^{+}, K^{+}) em uma quantidade de pelo menos cerca de 3% em peso das partículas secas respiráveis. Por

exemplo, as partículas secas respiráveis da invenção podem incluir um sal de cátion de metal divalente (por exemplo, sal de cálcio), que fornece cátions divalentes (por exemplo, Ca^{2+}) em uma quantidade de pelo menos cerca de 7% em peso, pelo menos cerca de 10% em peso, pelo menos cerca de 11% em peso, pelo menos cerca de 12% em peso, pelo menos cerca de 13% em peso, pelo menos cerca de 14% em peso, pelo menos cerca de 15% em peso, pelo menos cerca de 17% em peso, pelo menos cerca de 20% em peso, pelo menos cerca de 25% em peso, pelo menos cerca de 30% em peso, pelo menos cerca de 35% em peso, pelo menos cerca de 40% em peso, pelo menos cerca de 45% em peso, pelo menos cerca de 50% em peso, pelo menos cerca de 55% em peso, pelo menos cerca de 60% em peso, pelo menos cerca de 65% em peso ou pelo menos cerca de 70% em peso das partículas secas respiráveis, e ainda conter um sal de sódio do sal monovalente que fornece ânion monovalente (Na^{+}) em uma quantidade de pelo menos cerca de 3%, pelo menos cerca de 4%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 6%, pelo menos cerca de 7%, pelo menos cerca de 8%, pelo menos cerca de 9%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 11%, pelo menos cerca de 12%, pelo menos cerca de 14%, pelo menos cerca de 16%, pelo menos cerca de 18%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 22%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 27%, pelo menos cerca de 29%, pelo menos cerca de 32%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50% ou pelo menos cerca de 55% em peso das partículas secas respiráveis.

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis da invenção contêm um sal de cátion de metal divalente e um sal de cátion monovalente, onde o cátion divalente, como um componente de um ou mais sais, está presente em uma quantidade de pelo menos 5 % em peso

de partículas secas, e a relação de peso de cátions divalentes para cátion monovalente é de cerca de 50:1 (ou seja, cerca de 50 a cerca de 1) para cerca de 0,1:1 (ou seja, cerca de 0,1 a cerca de 1). A relação de peso do cátion de metal divalente para o cátion monovalente é baseada na quantidade de cátion de metal divalente e cátion monovalente que estão contidos no sal de cátion de metal divalente e sais monovalentes, respectivamente, que estão contidos na partícula seca. Nos exemplos particulares, a relação de peso do cátion de metal divalente para cátion monovalente é de cerca de 0,2:1, cerca de 0,3:1, cerca de 0,4:1, cerca de 0,5:1, cerca de 0,6:1, cerca de 0,7:1, cerca de 0,8:1, cerca de 0,86:1, cerca de 0,92:1, cerca de 1:1; cerca de 1,3:1, cerca de 2:1, cerca de 5:1, cerca de 10:1, cerca de 15:1, cerca de 20:1, cerca de 25:1, cerca de 30:1, cerca de 35:1, cerca de 40:1, cerca de 45:1 ou cerca de 50:1, cerca de 20:1 a cerca de 0,1:1, cerca de 15:1 a cerca de 0,1:1, cerca de 10:1 a cerca de 0,1:1 ou cerca de 5:1 a cerca de 0,1:1.

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter um sal de cátion de metal divalente e um sal de cátion monovalente, em que o sal de cátion de metal divalente e o sal de cátion monovalente contêm cloreto, citrato, lactato ou sulfato como o contra-íon, e a proporção de cátions metálicos divalentes (por exemplo, Ca, Be, Mg, Sr, Ba, Fe) para cátions monovalentes (por exemplo, Na, Li, K) mol:mol é de cerca de 50:1 (ou seja, cerca de 50 a cerca de 1) a cerca de 0,1:1 (ou seja, cerca de 0,1 a cerca de 1). A razão molar de cátions de metal divalente para cátion monovalente é baseada na quantidade de cátion de metal divalente e cátion monovalente que estão contidos no sal de metal de cátion divalente e sal de cátion monovalente,

respectivamente, que estão contidos na partícula seca. De preferência, cátion de metal divalente, como um componente de um ou mais sais de cátion de metal divalente está presente em uma quantidade de pelo menos 5% em peso da partícula seca respirável. Nos exemplos particulares, cátion de metal divalente e cátion monovalente estão presentes nas partículas secas respiráveis em uma razão molar de cerca de 8,0:1, cerca de 7,5:1, cerca de 7,0:1, cerca de 6,5:1, cerca de 6,0:1, cerca de 5,5:1, cerca de 5,0:1, cerca de 4,5:1, cerca de 4,0:1, cerca de 3,5:1, cerca de 3,0:1, cerca de 2,5:1, cerca de 2,0:1, cerca de 1,5:1, cerca de 1,0:1, cerca de 0,77: 1, cerca de 0,65:1, 0,55:1 cerca, cerca de 0,45:1, 0,35:1 cerca, cerca de 0,25:1 ou cerca de 0,2:1, cerca de 8,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 7,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 6,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 5,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 4,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 3,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 2,0:1 a cerca de 0,55:1 ou cerca de 1,0:1 a cerca de 0,55:1.

Partículas secas respiráveis preferidas contêm pelo menos um sal de cálcio selecionado do grupo consistindo de lactato de cálcio, citrato de cálcio, sulfato de cálcio e cloreto de cálcio, e também contém cloreto de sódio.

Citrato de cálcio, sulfato de cálcio e lactato de cálcio possuem solubilidade em água suficiente para permitir a sua transformação em pós secos respiráveis via atomização e para facilitar a sua dissolução após a deposição nos pulmões ainda possuem uma baixa higroscopicidade, o suficiente para permitir a produção de pó seco com cargas de sal de cálcio que são relativamente fisicamente estáveis quando expostas à umidade normal e elevada. Citrato de cálcio, sulfato de cálcio e lactato de

cálcio também têm um calor de solução significativamente menor do que cloreto de cálcio, que é benéfico para a administração no trato respiratório, e íons sulfato, citrato e lactato são seguros e aceitáveis para a inclusão em composições farmacêuticas.

Assim, além de qualquer combinação das características e propriedades descritas aqui, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter um ou mais sais em uma quantidade total de pelo menos cerca de 51% em peso das partículas secas respiráveis; onde cada um dos um ou mais sais de forma independente consiste de um cátion selecionado do grupo consistindo de cálcio e sódio e um ânion selecionado do grupo consistindo de lactato ($C_3H_5O_3^-$), cloreto (Cl^-), citrato ($C_6H_5O_7^{3-}$) e sulfato (SO_4^{2-}), com a condição de que pelo menos um dos sais é um sal de cálcio. Por exemplo, as partículas secas respiráveis da invenção podem incluir um ou mais dos sais em uma quantidade total de pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 91%, pelo menos cerca de 92% ou pelo menos cerca de 95% em peso das partículas secas respiráveis.

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter um sal de cálcio e um sal de sódio, onde o cátion de cálcio, como um componente de um ou mais sais de cálcio, está presente em uma quantidade de pelo menos 5% em peso da partícula seca, e a relação de peso de íons de cálcio para íons de sódio é de cerca de 50:1 (ou seja, cerca de 50 a cerca de 1) para cerca de 0,1:1 (ou seja, cerca de 0,1 a cerca de 1). A relação de peso de íons de cálcio para íon de sódio é baseada na quantidade de íons de cálcio e íons de sódio que

estão contidos no sal de cálcio e sais de sódio, respectivamente, que estão contidas na partícula seca. Nos exemplos particulares, a relação peso de íons de cálcio para íon de sódio é de cerca de 0,2:1, cerca de 0,3:1, cerca de 0,4:1, cerca de 0,5:1, cerca de 0,6:1, cerca de 0,7:1, cerca de 0,8:1, cerca de 0,86:1, cerca de 0,92:1, cerca de 1:1, cerca de 1,3:1, cerca de 2:1, cerca de 5:1, cerca de 10:1, cerca de 15:1, cerca de 20:1, cerca de 25:1, cerca de 30:1, cerca de 35:1, cerca de 40:1, cerca de 45:1 ou cerca de 50:1, cerca de 20:1 a cerca de 0,1:1, cerca de 15:1 a cerca de 0,1:1, cerca de 10:1 a cerca de 0,1:1 ou cerca de 5:1 a cerca de 0,1:1.

Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter um sal de cálcio e um sal de sódio, em que o sal de cálcio e o sal de sódio contêm cloro, lactato, citrato ou sulfato como o contra-íon, e a relação de cálcio para sódio mol:mol é de cerca de 50:1 (ou seja, cerca de 50 a cerca de 1) para cerca de 0,1:1 (ou seja, cerca de 0,1 a cerca de 1). A razão molar de cálcio para sódio é baseada na quantidade de cálcio e sódio que estão contidos no sal de cálcio e de sódio, respectivamente, que estão contidos na partícula seca. De preferência, cálcio, como um componente de um ou mais sais de cálcio, está presente em uma quanitadade de pelo menos 5% em peso da partícula seca respirável. Nos exemplos particulares, cálcio e sódio estão presentes nas partículas secas respiráveis em uma razão molar de cerca de 8,0:1, cerca de 7,5:1, cerca de 7,0:1, cerca de 6,5:1, cerca de 6,0:1, cerca de 5,5:1, cerca de 5,0:1, cerca de 4,5:1, cerca de 4,0:1, cerca de 3,5:1, cerca de 3,0:1, cerca de 2,5:1, cerca de 2,0:1, cerca de 1,5:1, cerca de 1,0:1, cerca de 0,77:1, cerca de 0,65:1, cerca de 0,55:1, cerca de 0,45:1, cerca de 0,35:1, cerca de 0,25:1 ou cerca de 0,2:1,

cerca de 8,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 7,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 6,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 5,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 4,0:1 a cerca de 0,55: 1, cerca de 3,0:1 a cerca de 0,55:1, cerca de 2,0:1 a cerca de 0,55:1 ou cerca de 1,0:1 a cerca de 0,55:1.

Se desejado, as partículas secas respiráveis aqui descritas podem incluir um veículo ou excipiente fisiologicamente ou farmaceuticamente aceitável. Por exemplo, um excipiente farmaceuticamente aceitável inclui qualquer veículo de carboidrato, açúcar, álcool e aminoácido padrão que são conhecidos na técnica por serem excipientes úteis para terapia de inalação, sozinho ou em qualquer combinação desejada. Estes excipientes são geralmente partículas de fluidez relativamente livre, não engrossam ou polimerizam em contato com a água, são toxicologicamente inócuas quando inaladas na forma de pó disperso e não interagem significativamente com o agente ativo de uma maneira que afeta negativamente a ação fisiológica desejada do sais da invenção. Excipientes de carboidratos que são úteis a esse respeito incluem o mono e polissacarídeos. Monossacarídeos representativos incluem excipientes de carboidratos, tais como dextrose (anidra e hidratad; também conhecida como mono-hidrato de glicose e glicose), galactose, manitol, D-manose, sorbose e similares. Dissacarídeos representativos incluem lactose, maltose, sacarose, trealose e similares. Trissacarídeos representativos incluem rafinose e similares. Outros excipientes de carboidrato incluem maltodextrina e ciclodextrina, tais como 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina pode ser usado como desejado. Álcoois de açúcar representativos incluem manitol, sorbitol e similares.

Excipientes de aminoácido adequados incluem qualquer um dos aminoácidos naturais que formam um pó sob

técnicas de processamento farmacêutico padrão e incluem aminoácidos não-polares (hidrofóbicos) e aminoácidos polares (sem carga, carregados positivamente e negativamente carregados), tais aminoácidos são de grau farmacêutico (GRAS) e são geralmente considerados como seguros pela Food and Drug Administration dos EUA. Exemplos representativos de aminoácidos não-polares incluem alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, triptofano e valina. Exemplos representativos de aminoácidos polares sem carga incluem cistina, glicina, glutamina, serina, treonina e tirosina. Exemplos representativos de aminoácidos polares carregados positivamente incluem histidina, arginina e lisina. Exemplos representativos de aminoácidos carregados negativamente incluem ácido aspártico e ácido glutâmico. Estes aminoácidos estão geralmente disponíveis a partir de fontes comerciais que fornecem produtos de grau farmacêutico, tais como Chemical Company Aldrich, Inc., Milwaukee, Wisconsin ou Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri.

Excipientes de aminoácidos preferidos, como aminoácido leucina hidrofóbico, podem estar presentes nas partículas secas da invenção em uma quantidade de cerca de 50% ou menos em peso de partículas secas respiráveis. Por exemplo, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter o aminoácido leucina em uma quantidade de cerca de 5% a cerca de 30% em peso, cerca de 10% para cerca de 20% em peso, cerca de 5% para cerca de 20% em peso, cerca de 45% ou menos em peso, cerca de 40% ou menos em peso, cerca de 35% ou menos em peso, cerca de 30% ou menos em peso, cerca de 25% ou menos em peso, cerca de 20% ou menos em peso, cerca de 18 % ou menos em peso, cerca de 16% ou menos em peso, cerca de 15% ou menos em peso, cerca de 14% ou

menos em peso, cerca de 13% ou menos em peso, cerca de 12% ou menos em peso, cerca de 11% ou menos, em peso, cerca de 10% ou menos em peso, cerca de 9% ou menos em peso, cerca de 8% ou menos em peso, cerca de 7% ou menos em peso, cerca de 6% ou menos em peso, cerca de 5% ou menos por peso, cerca de 4% ou menos em peso, cerca de 3% ou menos em peso, cerca de 2% ou menos em peso ou cerca de 1% ou menos em peso.

Excipientes de carboidratos preferidos, tais como maltodextrina e manitol, podem estar presentes nas partículas secas da invenção em uma quantidade de cerca de 50% ou menos em peso de partículas secas respiráveis. Por exemplo, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter maltodextrina em uma quantidade de cerca de 45% ou menos em peso, cerca de 40% ou menos em peso, cerca de 35% ou menos em peso, cerca de 30% ou menos em peso, cerca de 25% ou menos em peso, cerca de 20% ou menos em peso, cerca de 18% ou menos em peso, cerca de 16% ou menos em peso, cerca de 15% ou menos em peso, cerca de 14% ou menos em peso, cerca de 13% ou menos em peso, cerca de 12% ou menos em peso, cerca de 11% ou menos em peso, cerca de 10% ou menos em peso, cerca de 9% ou menos em peso, cerca de 8% ou menos em peso, cerca de 7% ou menos em peso, cerca de 6% ou menos em peso, cerca de 5% ou menos em peso, cerca de 4% ou menos em peso, cerca de 3% ou menos em peso, cerca de 2% ou menos em peso ou cerca de 1% ou menos por peso. Em alguns aspectos preferidos, as partículas secas contêm um excipiente selecionado de leucina, maltodextrina, manitol e suas combinações. Em modalidades particulares, o excipiente é leucina, maltodextrina ou manitol.

Em modalidades particulares, as partículas secas respiráveis da invenção podem conter (a) um sal de cálcio selecionado de lactato de cálcio, citrato de cálcio ou

sulfato de cálcio em uma quantidade de pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45% em peso, ou pelo menos cerca de 50% em peso de partículas secas, e (b) um sal de sódio, tais como cloreto de sódio, em uma quantidade de pelo menos cerca de 25% ou pelo menos cerca de 30% em peso de partícula seca, e ter qualquer das propriedades ou características aqui descritas. Se desejado, um excipiente, como a leucina, maltodextina, manitol, ou qualquer combinação dos mesmos, pode estar presente em uma quantidade de cerca de 50% ou menos ou cerca de 20% ou menos em peso da partícula seca. Por exemplo, as partículas secas respiráveis da invenção podem incluir (a) um sal de cálcio em uma quantidade de cerca de 30% a cerca de 65%, cerca de 40% a cerca de 65% ou cerca de 45% a cerca de 65% em peso de partícula seca, (b) um sal de sódio, tais como cloreto de sódio, em uma quantidade de cerca de 25% a cerca de 60% ou cerca de 30% a cerca de 60% em peso de partículas secas, (c) um excipiente, como leucina, maltodextrina, manitol, ou qualquer combinação dos mesmos, em uma quantidade de cerca de 20% ou menos em peso de partículas secas, ou mais preferivelmente cerca de 10% ou menos em peso de partículas secas, e (d) ter qualquer uma das propriedades ou características, tais como 1/4 bar, 0,5/4 bar, VMGD, MMAD, FPF aqui descritas.

Em alguns aspectos, as partículas secas respiráveis compreendem um sal de íons de metal divalente e um sal monovalente e são caracterizadas pelo conteúdo cristalino e amorfo das partículas. Por exemplo, as partículas secas respiráveis podem incluir uma mistura de conteúdo amorfo e cristalino, como uma fase amorfa rica em sal de íon metálico divalente e uma fase cristalina de sal monovalente. Partículas secas respiráveis deste tipo oferecem diversas vantagens. Por exemplo, como aqui

descrito, a fase cristalina (cloreto de sódio cristalino, por exemplo) pode contribuir para a estabilidade da partícula seca no estado seco e para as características de dispersão, enquanto que a fase amorfa (por exemplo, sal de cálcio amorfo) pode facilitar a absorção de água rápida e a dissolução da partícula em deposição no trato respiratório. É particularmente vantajoso quando sais com relativamente alta solubilidade aquosa (como cloreto de sódio) que estão presentes nas partículas secas estão em um estado cristalino e quando sais com relativamente baixa solubilidade aquosa (como citrato de cálcio) estão presentes nas partículas secas em um estado amorfo.

A fase amorfa é também caracterizada por uma alta temperatura de transição vítrea (Tg), tal como uma Tg de pelo menos 100 °C, pelo menos 110 °C, 120 °C, pelo menos 125 °C, pelo menos 130 °C, pelo menos 135 °C, pelo menos 140 °C, entre 120 °C e 200 °C, entre 125 °C e 200 °C, entre 130 °C e 200 °C, entre 120 °C e 190 °C, entre 125 °C e 190 °C, entre 130 °C e 190 °C, entre 120 °C e 180 °C, entre 125 °C e 180 °C ou entre 130 °C e 180 °C.

Em algumas modalidades, as partículas secas respiráveis contêm uma fase amorfa rica em sal de cátion de metal divalente e uma fase cristalina de sal monovalente e a proporção de fase amorfa para a fase cristalina (p:p) é de cerca de 5:95 a cerca de 95:5, cerca de 5:95 a cerca de 10:90, cerca de 10:90 a cerca de 20:80, cerca de 20:80 a cerca de 30:70, cerca de 30:70 a cerca de 40:60, cerca de 40:60 a cerca de 50:50; cerca de 50:50 a cerca de 60:40, cerca de 60:40 a cerca de 70:30, cerca de 70:30 a cerca de 80:20 ou cerca de 90:10 a cerca de 95:5. Em outras modalidades, as partículas secas respiráveis contêm uma fazer amorfa rica em sal de cátion de metal divalente e uma fase cristalina de sal monovalente e a proporção de fase

amorfa para partículas por peso (p:p) é de cerca de 5:95 a cerca de 95:5, cerca de 5:95 a cerca de 10:90, cerca de 10:90 a cerca de 20:80, cerca de 20:80 a cerca de 30:70, cerca de 30:70 a cerca de 40:60, cerca de 40:60 a cerca de 50:50, cerca de 50:50 a cerca de 60:40, cerca de 60:40 a cerca de 70:30, cerca de 70:30 a cerca de 80:20 ou cerca de 90:10 a cerca de 95:5. Em outras modalidades, as partículas secas respiráveis contêm uma fase amorfa rica em sal de cátion de metal divalente e uma fase cristalina de sal monovalente e a relação de fase cristalina para partículas por peso (p:p) é de cerca de 5:95 a cerca de 95:5, cerca de 5:95 a cerca de 10:90, cerca de 10:90 a cerca de 20:80, cerca de 20:80 a cerca de 30:70, cerca de 30:70 a cerca de 40:60, cerca de 40:60 a cerca de 50:50, cerca de 50:50 a cerca de 60:40, cerca de 60:40 a cerca de 70:30, cerca de 70:30 a cerca de 80:20 ou cerca de 90:10 a cerca de 95:5.

Em algumas modalidades, as partículas secas respiráveis compreendem um sal de cálcio, como o citrato de cálcio, sulfato de cálcio, lactato de cálcio, cloreto de cálcio ou uma combinação destes, e um sal de sódio, tais como cloreto de sódio, citrato de sódio, sulfato de sódio, lactato de sódio, ou qualquer combinação destes, onde a partícula seca respirável contém uma fase amorfa rica em sal de cálcio e uma fase cristalina de sal de sódio. Em modalidades particulares, a fase amorfa rica em sal de cálcio inclui citrato de cálcio e pelo menos alguns de cloreto de cálcio, lactato de cálcio e pelo menos alguns de cloreto de cálcio ou sulfato de cálcio e pelo menos alguns de cloreto de cálcio. Em algumas modalidades, as partículas secas respiráveis contêm uma fase amorfa rica em sal de cálcio e uma fase cristalina de sal de sódio e a proporção de fase amorfa para fase cristalina (p:p) é de cerca de 5:95 a cerca de 95:5, a cerca de 5:95 para cerca de 10:90,

cerca de 10:90 a cerca de 20:80, cerca de 20:80 a cerca de 30:70, cerca de 30:70 a cerca de 40:60, cerca de 40:60 a cerca de 50:50, cerca de 50:50 para cerca de 60:40, cerca de 60:40 a cerca de 70:30, cerca de 70:30 a cerca de 80:20 ou cerca de 90:10 a cerca de 95:5. Em outras modalidades, as partículas secas respiráveis contêm uma fase amorfa rica em sal de cálcio e uma fase cristalina de sal de sódio e a proporção de fase amorfa para partículas por peso (p:p) é de cerca de 5:95 a cerca de 95:5, cerca de 5:95 a cerca de 10:90, cerca de 10:90 a cerca de 20:80, cerca de 20:80 a cerca de 30:70, cerca de 30:70 a cerca de 40:60, cerca de 40:60 a cerca de 50:50, cerca de 50:50 para cerca de 60:40, cerca de 60:40 a cerca de 70:30, cerca de 70:30 a cerca de 80:20 ou cerca de 90:10 a cerca de 95:5. Em outras modalidades, as partículas secas respiráveis contêm uma fase amorfa rica em sal de cálcio e uma fase cristalina de sal de sódio e a relação de fase cristalina para partículas por peso (p:p) é de cerca de 5:95 a cerca de 95:5, cerca de 5: 95 para cerca de 10:90, cerca de 10:90 a cerca de 20:80, cerca de 20:80 a cerca de 30:70, cerca de 30:70 a cerca de 40:60, cerca de 40:60 a cerca de 50:50, cerca de 50:50 a cerca de 60:40, cerca de 60:40 a cerca de 70:30, cerca de 70:30 a cerca de 80:20 ou cerca de 90:10 a cerca de 95:5.

De preferência, as partículas secas respiráveis têm 1/4 bar ou 0,5/4 bar de 2 ou menos, como aqui descrito. Por exemplo, 1/4 bar ou 0,5/4 de 1,9 ou menos, 1,8 ou menos, 1,7 ou menos, 1,6 ou menos, 1,5 ou menos, 1,4 ou menos, 1,3 ou menos, 1,2 ou menos, 1,1 ou menos ou cerca de 1.0. Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis têm um MMAD de cerca de 5 mícrons ou menos. Alternativamente ou adicionalmente, as partículas secas respiráveis podem ter um VMGD entre cerca de 0,5 microns e cerca de 5 mícrons ou um VMGD entre cerca de 5

microns e cerca de 20 microns. Alternativamente ou adicionalmente, a partículas secas respiráveis podem ter um calor de solução que não é maior do que cerca de -10 kcal/mol (por exemplo, entre -10 kcal/mol e 10 kcal/mol).

Tal como descrito aqui, as partículas secas respiráveis podem ainda compreender um excipiente, como leucina, maltodextrina ou manitol. O excipiente pode ser cristalino ou amorfo ou estar presente em uma combinação dessas formas. Em algumas modalidades, o excipiente é amorfo ou predominantemente amorfo.

Como descrito aqui, espectros RAMAN de pós secos respiráveis que contenha um excipiente (ou seja, leucina, maltodextrina) não incluem picos atribuídos aos excipientes. Isto indica que os excipientes não foram concentradas na superfície das partículas, e que os excipientes ou são distribuídos uniformemente pela partícula ou não são expostas à superfície da partícula. Excipientes de leucina, em particular, têm sido relatados para melhorar a dispersão quando concentrado na superfície das partículas. Ver, por exemplo, US 2003/0186894. Assim, não parece que a leucina está agindo como um potenciador de dispersão nesta forma. Assim, nas partículas secas respiráveis da invenção que contêm um excipiente (por exemplo, leucina), o excipiente pode ser distribuído dentro da partícula, mas não na superfície da partícula, ou distribuídos em toda a partícula (por exemplo, homogeneamente distribuído). Por exemplo, em algumas modalidades particulares, uma partícula seca respirável da invenção não produz um pico característico indicativo da presença de um excipiente (por exemplo, leucina), sob a espectroscopia RAMAN. Em mais modalidades particulares, um pó seco que contém leucina respirável não produz um pico de

leucina característico (por exemplo, em 1340 cm^{-1}) em espectroscopia RAMAN.

Tal como descrito aqui, alguns pós da invenção têm propriedades de fluxo pobres. No entanto, surpreendentemente, estes pós são altamente dispersíveis. Isso é surpreendente porque as propriedades de fluxo e dispersão são conhecidas para serem negativamente afetadas pela aglomeração ou agregação de partículas. Assim, foi inesperado que as partículas que têm características de fluxo pobres teriam alta dispersão.

Além de quaisquer das características e propriedades descritas aqui, em qualquer combinação, as partículas secas respiráveis podem ter propriedades de fluxo pobre, mas tem boa dispersibilidade. Por exemplo, as partículas secas respiráveis podem ter um Índice de Hausner que é maior que 1,35 (por exemplo, 1,4 ou maior, 1,5 ou maior, 1,6 ou maior, 1,7 ou maior, 1,8 ou maior, 1,9 ou maior, 2,0 ou maior) e também tem 1/4 bar ou 0,5/4 bar que é de 2 ou menos, 1,9 ou menos, 1,8 ou menos, 1,7 ou menos, 1,6 ou menos, 1,5 ou menos, 1,4 ou menos, 1,3 ou menos ou 1,2 menos, 1,1 ou menos ou cerca de 1.0.

Além de quaisquer das características e propriedades descritas aqui, em qualquer combinação, as partículas secas respiráveis podem ter um calor de solução que não é altamente exotérmica. De preferência, o calor de solução é determinado usando o líquido iônico de um fluido pulmonar simulado (por exemplo, como descrito em Moss, O.R. 1979 *Simulants of lung interstitial fluid* Health Phys 36, 447-448; ou em Sun, G. 2001 *Oxidative interactions of synthetic lung epithelial lining fluid with metal-containing particulate matter*. Am J Physiol Lung cell Mol Physiol. 281, L807-L815) em pH 7,4 e 37 °C em um calorímetro isotérmico. Por exemplo, as partículas secas

respiráveis podem ter um calor de solução que é menos exotérmico do que o calor de solução de cloreto de cálcio dihidratadohidrato, por exemplo, tem um calor de solução que é maior do que cerca de -10 kcal/mol, maior do que cerca de -9 kcal/mol, maior do que cerca de -8 kcal/mol, maior do que cerca de -7 kcal/mol, maior do que cerca de -6 kcal/mol, maior do que cerca de -5 kcal/mol, maior do que cerca de -4 kcal/mol, maior que cerca de -3 kcal/mol, maior do que cerca de -2 kcal/mol, maior do que cerca de -1 kcal/mol ou cerca de -10 kcal/mol a cerca de 10 kcal/mol.

Se desejado, a formulação de sal pode incluir um ou mais agentes adicionais, tais como agentes mucoativos ou mucolíticos, tensoativos, antibióticos, antivirais, anti-histamínicos, antitussígenos, broncodilatadores, anti-inflamatórios, corticóides, vacinas, adjuvantes, expectorantes, macromoléculas, agentes terapêuticos que são úteis para a manutenção crônica de CF.

Exemplos de agentes mucoativos ou mucolíticos adequados incluem mucinas MUC5AC e MUC5B, DNA-ase, N-acetilcisteína (NAC), cisteína, nacistelina, dornase alfa, gelsolina, heparina, sulfato de heparina, agonistas P2Y2 (por exemplo, UTP, INS365), solução salina hipertônica e manitol.

Tensoativos adequados incluem L-alfa-fosfatidilcolina dipalmitoil ("DPPC"), difosfatidil glicerol (DPPG), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina (DPPS), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC), 1,2-Distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE), 1-palmitoil-2-oleoilfosfatidilcolina (POPC), álcoois graxos, polioxietileno-9-lauril éter, ácidos graxos de superfície ativa, sorbitano trioleato (Span 85), glicocolato, surfactina, poloxomeros, ésteres de ácidos

graxos de sorbitano, tiloxapol, fosfolipídios e açúcares alquilados.

Se desejado, a formulação de sal pode conter um antibiótico. Por exemplo, formulações de sal para tratamento de pneumonia bacteriana ou IVA podem ainda compreender um antibiótico, como um macrolideo (por exemplo, azitromicina, claritromicina e eritromicina), tetraciclina (por exemplo, doxiciclina, tigeciclina), uma fluoroquinolona (por exemplo, gemifloxacino, levofloxacin, ciprofloxacina e mocifloxacin), uma cefalosporina (por exemplo, ceftriaxona, defotaxime, ceftazidima, cefepime), uma penicilina (por exemplo, amoxicilina, amoxicilina com clavulanato, ampicilina, piperacilina e ticarcilina) opcionalmente, com um inibidor da β-lactamase (por exemplo, sulbactam, tazobactam e ácido clavulânico), tais como ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam e ticarcilina com clavulanato, um aminoglicosídeo (por exemplo, amicacina, arbecacina, gentamicina, canamicina, neomicina, netilmicina, paromomicina, estreptomicina rodostreptomicina, tobramicina e apramicina), um penem ou carbapenem (por exemplo, doripenem, ertapenem, imipenem e meropenem), um monobactâmico (por exemplo, aztreonam), uma oxazolidinona (por exemplo, linezolida), vancomicina, antibiótico de glicopeptídeo (por exemplo, telavancin), antibióticos de micobactéria de tuberculose e similares.

Se desejado, a formulação de sal pode conter um agente para o tratamento de infecções por micobactérias, tais como *Mycobacterium tuberculosis*. Agentes adequados para o tratamento de infecções por micobactérias (por exemplo, *M. tuberculosis*) incluem um aminoglicosídeo (por exemplo, capreomicina, canamicina, estreptomicina), uma fluoroquinolona (por exemplo, ciprofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina), isozianid e análogos de

isozianid (por exemplo, etionamida), aminossalicílico, cicloserina, diarilquinolina, etambutol, pirazinamida, protionamida, rifampicina, etc.

Se desejado, a formulação de sal podem conter um agente antiviral adequado, como oseltamivir, zanamavir, amantidina ou rimantadina, ribavirina, Foscavir ganciclovir, valganciclovir, Cytogam® (Globulina Citomegalovirus Imune), Pleconaril, rupintrivir, palivizumab, motavizumab, citarabina, docosanol, denotivir, cidofovir e aciclovir. A formulação de sal podem conter um agente antigripal adequado, tais como zanamivir, oseltamivir, amantadina ou rimantadina.

Anti-histamínicos adequados incluem clemastina, asalastine, loratadina, fexofenadina e semelhantes.

Antitussígenos adequados incluem benzonatate, benproperine, clobutinal, difenidramina, dextrometorfano, dibunate, fedrilate, glaucine, oxalamine, piperidione, opióides, como codine e similares.

Broncodilatadores adequados incluem agonistas beta$_2$ de curta ação agonistas beta$_2$ de longa ação (LABA), anagonistas muscarínicos de ação prolongada (LAMA), combinações de LABAs e LAMAs, metilxantinas e similares. Agonistas beta$_2$ de curta ação adequados incluem epinefrina albuterol, pirbuterol, levalbuterol, metaproteronol, Maxair e similares. LABAs adequados incluem salmeterol, formoterol e isômeros (por exemplo, arformoterol), clenbuterol, tulobuterol, vilanterol (Revolair™), indacaterol e similares. Exemplos de LAMAs incluem tiotroprium, glicopirrolato, aclidinium, ipratrópio e similares. Exemplos de combinações de LABAs e LAMAs incluem indacaterol com glicopirrolato, indacaterol com tiotrópio, e similares. Exemplos de metilxantina incluem teofilina e similares.

Agentes anti-inflamatórios adequados incluem inibidores de leucotrienos, inibidores de PDE4, outros agentes anti-inflamatórios e similares. Inibidores de leucotrienos adequados incluem montelucaste (inibidores de cistinil leucotrieno), masilukast, zafhieukast (inibidores de leucotrieno D4 e do receptor E4), zileuton (inibidores de 5-lipoxigenase) e similares. Inibidores de PDE4 adequados incluem cilomilast, roflumilaste e similares. Outros agentes anti-inflamatórios incluem omalizumab (imunoglobulina anti IgE), IL-13 e inibidores do receptor IL-13 (como AMG-317, MILR1444A, CAT-354, QAX576, IMA-638, Anrukinzumab, IMA-026, MK- 6105, DOM-0910 e similares), IL-4 e inibidores do receptor IL-4 (como pitrakinra, AER-003, AR-645, APG-201, DOM-0919 e similares) IL-I, como inibidores canacinumab , antagonistas dos receptores CRTh2 como AZD1981 (da AstraZeneca), inibidores de neutrófilos elastase como AZD9668 (da AstraZeneca), inibidor da quinase P38 como losmapimed e similares.

Esteróides adequados incluem corticosteróides, combinações de corticosteróides e LABAs, combinações de corticosteróides e LAMAs e similares. Corticosteróides apropriados incluem budesonida, fluticasona, flunisolida, triamcinolona, beclometasona, mometasona, ciclesonida, dexametasona e similares. Combinações de corticosteróides e LABAs incluem salmeterol com propionato, formoterol com budesonida, formoterol com fluticasona, formoterol com mometasona, indacaterol com mometasona e similares.

Expectorantes adequados incluem guaifenesin, guaiacolculfonate, cloreto de amônio, iodeto de potássio, tiloxapol, pentasulfide antimônio e assim por diante.

Vacinas adequadas, tais como vacinas contra a gripe inaladas por via nasal e similares.

Macromoléculas adequados incluem proteínas e peptídeos grandes, polissacarídeos e oligossacarídeos, e moléculas de ácido nucléico RNA e DNA e seus análogos tendo atividades terapêuticas, profiláticas ou de diagnóstico. Proteínas podem incluir anticorpos como anticorpo monoclonal. Moléculas de ácido nucléico incluem genes, moléculas antissentido, tais como SiRNAs que se ligam ao DNA complementar, RNA, ribossomos, ou para inibir a transcrição ou tradução.

Drogas de macromolécula selecionadas para aplicações sistêmicas: calcitonina, eritropoietina (EPO), Fator IX, Fator Estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF), colônias de granulócitos macrófagos, fator estimulante (GM-CSF), hormônio de crescimento, insulina, Interferon Alfa, Interferon Beta, Interferon Gamma, hormônio liberador de LH (LHRH), FSH, fator neurotrófico ciliar, Hormônio Liberador de Fator de Crescimento (GRF), Fator de crescimento semelhante à insulina, Insulinotropina, antagonista do receptor Interleucina-1, Interleucina-3, IL-4, interleucina-6, fator estimulante da colônia de macrófagos (M-CSF), timosina alfa 1, Inibidor IIb/IIIa, antitripsina alfa-1, anticorpo anti-RSV, palivizumab, motavizumab e ALN-RSV, Gene Regulador da transmembrana da fibrose cística (CFTR), Deoxiribonuclease (DNase), Heparina, Proteína de aumento Bactericida/Permeabilidade (BPI), anti-citomegalovirus (CMV de anticorpos), antagonista do receptor Interleucina-1 e similares.

Agentes terapêuticos selecionads que são úteis para a manutenção crônica de CF incluem antibióticos/antibióticos macrolídeos, broncodilatadores, LABAs inalado e agentes para promover a eliminação de secreções das vias aéreas. Exemplos adequados de

antibióticos/antibióticos macrolídeos incluem tobramicina, azitromicina, ciprofloxacina, colistina e similares. Exemplos adequados de broncodilatadores inalatórios incluem agonistas $beta_2$ de curta ação, tais como salbutamol e similares. Exemplos adequados de LABAs inalados incluem salmeterol, formoterol e similares. Exemplos adequados de agentes para promover a eliminação de secreções das vias aéreas incluem dornase alfa, solução salina hipertônica e similares.

É geralmente preferível que as partículas secas e pós secos respiráveis não contenham sais, excipientes ou outros ingredientes ativos que têm um peso molecular superior a cerca de 1 kilodalton (1000 dalton, Da). Por exemplo, as partículas respiráveis da invenção de preferência não contêm uma proteína, um polipeptídeo, oligopeptídeos, ácidos nucléicos ou um oligonucleotídeo com um peso molecular superior a 1 KDa, maior que cerca de 900 Da, maior do que cerca de 800 Da, maior que cerca de 700 Da ou maior do que cerca de 600 Da.

Devido ao pó seco respirável e partículas secas respiráveis aqui descritos conterem sais, eles podem ser higroscópicos. Assim, é desejável para armazenar ou manter os pós secos respiráveis e partículas secas respiráveis em condições para evitar a hidratação dos pós. Por exemplo, se é desejável para evitar a hidratação, a umidade relativa do ambiente de armazenamento deve ser inferior a 75%, inferior a 60%, inferior a 50%, inferior a 40%, inferior a 30%, inferior a 25%, inferior a 20%, inferior a 15%, inferior a 10% ou inferior a 5% de umidade. O pó seco respirável e as partículas secas respiráveis podem ser embalados (por exemplo, em cápsulas, bolhas, frascos selados) nessas condições.

A invenção também se relaciona com pó seco respirável ou partículas secas respiráveis produzidos através da preparação de uma solução de matéria-prima, emulsão ou suspensão e atomização da matéria-prima de acordo com os métodos descritos aqui. A matéria-prima pode ser preparada usando (a) um sal de cálcio, tais como lactato de cálcio ou cloreto de cálcio, em uma quantidade de pelo menos cerca de 25% em peso (por exemplo, de solutos total utilizado para a preparação da matéria-prima) e (b) um sal de sódio, como citrato de sódio, cloreto de sódio ou sulfato de sódio, em uma quantiadade de pelo menos cerca de 1% em peso (por exemplo, de solutos total utilizado para a preparação da matéria-prima). Se desejado, um ou mais excipientes, tais como leucina pode ser adicionado à matéria-prima na quantidade de cerca de 74% ou menos em peso (por exemplo, de soluto total utilizado para a preparação da matéria-prima). Por exemplo, o sal de cálcio utilizado para a preparação da matéria-prima pode ser em uma quantidade de pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60% ou pelo menos cerca de 70% em peso de soluto total utilizado para a preparação da matéria-prima. O sal de sódio utilizado para a preparação da matéria-prima, por exemplo, pode ser em uma quantidade de pelo menos cerca de 2%, pelo menos cerca de 3%, pelo menos cerca de 4%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 6%, pelo menos cerca de 7%, pelo menos cerca de 8%, pelo menos cerca de 9%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55% ou pelo menos cerca de 65% em peso de soluto total utilizado para a preparação da matéria-prima. O excipiente adicionado à matéria-prima, por exemplo, pode

ser em uma quantidade de cerca de 50% ou menos, cerca de 30% ou menos, cerca de 20% ou menos, cerca de 10% ou menos, cerca de 9% ou menos, cerca de 8% ou menos, cerca de 7% ou menos, cerca de 6% ou menos, cerca de 5% ou menos, cerca de 4% ou menos, cerca de 3% ou menos, cerca de 2% ou menos, cerca de 1% ou menos em peso, de soluto total utilizado para a preparação a matéria-prima.

Em uma modalidade, os pós secos respiráveis ou partículas secas respiráveis da invenção podem ser obtidos através de (1) preparação de uma matéria-prima compreendendo (a) um soluto seco contendo em porcentagem em peso do soluto seco total cerca 10,0% de leucina, cerca de 35,1% de cloreto de cálcio e cerca de 54,9% de citrato de sódio e (a) um ou mais solventes adequados para a dissolução do soluto e a formação da matéria-prima, e (2) secagem da matéria-prima. Em outra modalidade, os pós secos respiráveis ou partículas secas respiráveis da invenção podem ser obtidos através de (1) preparação de uma matéria-prima compreendendo (a) um soluto seco contendo em porcentagem em peso do soluto seco total cerca de 10,0% de leucina, cerca de 58,6% de lactato de cálcio e cerca de 31,4% de cloreto de sódio e (a) um ou mais solventes adequados para a dissolução do soluto e a formação da matéria-prima, e (2) secagem da matéria-prima. Em outra modalidade, os pós secos respiráveis ou partículas secas respiráveis da invenção podem ser obtidos através de (1) preparação de uma matéria-prima compreendendo (a) um soluto seco contendo em porcentagem em peso do soluto seca total cerca de 10,0% de leucina, cerca de 39,6% de cloreto de cálcio e cerca de 50,44% de sulfato de sódio e (b) um ou mais solventes adequados para a dissolução do soluto e a formação da matéria-prima e (2) secagem da matéria-prima. Em outra modalidade, os pós secos respiráveis ou partículas

secas respiráveis da invenção podem ser obtidos por (1) preparação de uma matéria-prima compreendendo (a) um soluto seco contendo em porcentagem em peso do soluto seco total cerca de 10,0% de maltodextrina, cerca de 58,6% de lactato de cálcio e cerca de 31,4% de cloreto de sódio e (a) um ou mais solventes adequados para a dissolução do soluto e a formação da matéria-prima, e (2) secagem da matéria-prima. Como aqui descrito, vários métodos (por exemplo, mistura estática, mistura volumétrica) podem ser usados para misturar os solutos e solventes para preparar matérias-primas, que são conhecidos na técnica. Se desejado, outros métodos adequados de mistura podem ser usados. Por exemplo, componentes adicionais que podem causar ou facilitar a mistura podem ser incluídos na matéria-prima. Por exemplo, dióxido de carbono produz gás ou efervescência e, portanto, pode servir para promover a mistura física do soluto e solventes. Vários sais de carbonato ou bicarbonato podem promover o mesmo efeito que produz o dióxido de carbono e, portanto, podem ser utilizados na preparação das matérias-primas da invenção.

Em modalidades preferidas, os pós secos respiráveis ou partículas secas respiráveis da invenção possuem características de aerosol que permitem a liberação eficaz das partículas secas respiráveis ao sistema respiratório sem o uso de propulsores.

Em uma modalidade, os pós secos respiráveis ou partículas secas respiráveis da invenção podem ser produzidos através de uma reação de troca iônica. Em certas modalidades da invenção, duas soluções saturadas ou sub-saturadas são alimentadas em um misturador estático, a fim de obter uma solução saturada ou supersaturada pós-estático de mistura. De preferência, a solução de pós-mistura é supersaturada. As duas soluções podem ser aquosas ou

orgânicas, mas são de preferência substancialmente aquosas. A solução pós-estática de mistura é então alimentada para dentro da unidade de atomização de um atomizador. Em uma modalidade preferível, a solução pós-estática de mistura é imediatamente alimentada na unidade de atomizador. Alguns exemplos de uma unidade de atomizador incluem um bocal de dois fluidos, um atomizador rotativo ou um bico de pressão. De preferência, a unidade é um bico atomizador de dois fluidos. Em uma modalidade, o bocal de dois fluidos é um bocal de mistura interna, o que significa que o gás colide com a matéria-prima líquida antes de sair para o orifício mais externo. Em outra modalidade, o bocal de dois fluidos é um bico de mistura externa, o que significa que o gás colide com a matéria-prima líquida depois de sair do orifício mais externo.

As partículas secas da invenção podem ser misturadas com um ingrediente ativo ou co-formuladas com um ingrediente ativo para manter a alta dispersibilidade característica das partículas secas e pó seco da invenção.

Em um aspecto, sais de cátions divalentes (por exemplo, cálcio, magnésio) podem ser co-formulados com um agente de cálcio não-ativo, para fazer pequenos pós de alta dispersão ou grandes partículas porosas. Opcionalmente, essas partículas podem incluir um sal monovalente catiônico (por exemplo, sódio, potássio), e também opcionalmente, um excipiente (por exemplo, leucina, maltodextrina, manitol, lactose). Os componentes podem ser misturados (por exemplo, como uma solução mista, estática misturada como duas soluções) juntos em uma única partícula antes da atomização.

Em outro aspecto, as partículas secas da invenção são grandes, porosas e são dispersíveis. O tamanho das partículas secas pode ser expresso em uma variedade de

maneiras. As partículas podem ter VMAD entre 5 a 30 μm, ou entre 5 e 20 μm, com uma densidade derivada de menos de 0,5 g/cm^3, de preferência menos de 0,4 g/cm^3.

Métodos para a preparação de pós secos e partículas secas

As partículas secas e pó seco respiráveis podem ser preparados usando qualquer método adequado. Muitos métodos adequados para a preparação de pós e partículas secos respiráveis são convencionais na técnica, e incluem a evaporação de solvente em emulsão simples e dupla, secagem, moagem (por exemplo, a moagem a jato), extração, mistura de solvente, evaporação do solvente, separação de fases, coacervação simples e complexa, polimerização interfacial, métodos adequados que envolvem o uso de dióxido de carbono supercrítico (CO_2) e outros métodos adequados. Partículas secas respiráveis podem ser feitas usando métodos para a preparar microesferas ou microcápsulas conhecidos na técnica. Estes métodos podem ser empregados em condições que resultam na formação de partículas secas respiráveis com as propriedades aerodinâmicas desejadas (diâmetro, por exemplo, aerodinâmica e diâmetro geométrico). Se desejado, as partículas secas respiráveis com as propriedades desejadas, como tamanho e densidade, podem ser selecionadas utilizando métodos adequados, tais como peneiramento.

As partículas secas respiráveis são preferencialmente atomizadas. Técnicas de atomização adequadas são descritas, por exemplo, por Masters K. em "Spray drying handbook", John Wiley & Sons, New York (1984). Geralmente, durante a atomização, o calor de um gás quente como o ar aquecido ou nitrogênio é usado para evaporar um solvente de gotículas formadas pela atomização de uma alimentação líquida contínua. Se desejado, o atomizador ou outros instrumentos, por exemplo, instrumento

de moagem a jato, usados para preparar as partículas secas, pode incluir um calibrador de partículas em linha geométrica que determina um diâmetro geométrico das partículas secas respiráveis enquanto elas estão sendo produzidas e/ou um calibrador aerodinâmico em linha de partículas, que determina o diâmetro aerodinâmico das partículas secas respiráveis enquanto elas estão sendo produzidas.

Para atomização, soluções, emulsões ou suspensões que contêm os componentes das partículas secas a serem produzidas em um solvente adequado (por exemplo, solvente aquoso, solvente orgânico, mistura aquoso-orgânico ou emulsão) são distribuídas a um vaso de secagem através de um dispositivo de atomização. Por exemplo, um bocal ou um atomizador rotativo pode ser usado para distribuir a solução ou suspensão para o vaso de secagem. Por exemplo, um atomizador rotativo tendo uma roda de 4 ou 24 palhetas pode ser usado. Exemplos de atomizadores adequados que podem ser equipados com um atomizador rotativo ou um bico, incluem, Mobile Minor Spray Dryer ou o Modelo PSD-1, ambos fabricados pela Niro, Inc. (Dinamarca). Condições de atomização reais irão variar dependendo, em parte, da composição da solução ou suspensão de atomização e das taxas de fluxo de material. A pessoa de habilidade comum será capaz de determinar as condições apropriadas com base nas composições da solução, emulsão ou suspensão a ser atomizada, nas propriedades de partícula desejadas e em outros fatores. Em geral, a temperatura de entrada no atomizador é de cerca de 100 °C a cerca de 300 °C, e de preferência é de cerca de 220 °C a cerca de 285 °C. A temperatura de saída do atomizador irá variar dependendo de fatores como a temperatura de alimentação e as propriedades dos materiais que estão sendo secados. Geralmente, a

temperatura de saída é de cerca de 50 °C a cerca de 150 °C, de preferência cerca de 90 °C a cerca de 120 °C, ou cerca de 98 °C a cerca de 108 °C. Se desejado, as partículas secas respiráveis que são produzidas podem ser fracionadas por tamanho volumétrico, por exemplo, usando uma peneira, ou fracionadas por tamanho aerodinâmico, por exemplo, usando um ciclone, e/ou ainda separadas de acordo com a densidade utilizando técnicas conhecidas por aqueles de habilidade na arte.

Para preparar a partículas secas respiráveis da invenção, em geral, uma solução, emulsão ou suspensão que contém os componentes desejados do pó seco (ou seja, uma matéria-prima) é preparada e atomizada em condições adequadas. De preferência, a concentração de sólidos dissolvidos ou suspensos na matéria-prima é pelo menos cerca de 1 g/L, pelo menos cerca de 2 g/L, pelo menos cerca de 5 g/L, pelo menos cerca de 10 g/L, pelo menos cerca de 15 g/L, pelo menos cerca de 20 g/L, pelo menos cerca de 30 g/L, pelo menos cerca de 40 g/L, pelo menos cerca de 50 g/L, pelo menos cerca de 60 g/L, pelo menos cerca de 70 g/L, pelo menos cerca de 80 g/L, pelo menos cerca de 90 g/L ou pelo menos cerca de 100 g/L. A matéria-prima pode ser fornecida através da preparação de uma única solução ou suspensão pela dissolução ou suspensão de componentes adequados (por exemplo, sais, excipientes, outros ingredientes ativos) em um solvente adequado. A emulsão, suspensão ou solventes podem ser preparados usando todos os métodos adequados, tais como mistura volumétrica dos componentes secos e/ou líquidos ou mistura estática dos componentes líquidos para formar uma combinação. Por exemplo, um componente hidrofílico (por exemplo, uma solução aquosa) e um componente hidrofóbico (por exemplo, uma solução orgânica) podem ser combinados usando um

misturador estático para formar uma combinação. A combinação pode ser atomizada para produzir gotículas, que são secas para formar partículas secas respiráveis. De preferência, a etapa de atomização é realizada imediatamente após os componentes serem combinados no misturador estático.

Em um exemplo, partículas secas respiráveis que contêm citrato de cálcio, cloreto de sódio e leucina são preparadas por atomização. A primeira fase é preparada que compreende uma solução aquosa de citrato de sódio e leucina. A segunda fase é preparada que compreende cloreto de cálcio em um solvente apropriado. Soluções de um ou de ambos pode ser aquecida separadamente, conforme necessário, para garantir a solubilidade de seus componentes. A primeira e a segunda fases são então combinadas em um misturador estático para formar uma combinação. A combinação é atomizada para formar partículas secas respiráveis.

As matérias-primas, ou componentes da matéria-prima, podem ser preparados usando qualquer solvente adequado, como um solvente orgânico, um solvente aquoso ou suas misturas. Solventes orgânicos adequados que podem ser empregados incluem, mas não estão limitados a, álcoois, como, por exemplo, etanol, metanol, propanol, isopropanol, butanl e outros. Outros solventes orgânicos incluem, mas não estão limitados a, perfluorocarbonos, diclorometano, clorofórmio, éter, acetato de etila, metil-terc-butil éter e outros. Co-solventes que podem ser empregadas incluem um solvente aquoso e um solvente orgânico, tais como, mas não limitado a, solventes orgânicos, como descrito acima. Solventes aquosos incluem água e soluções tampão.

A matéria-prima ou componentes da matéria-prima podem ter qualquer pH, viscosidade ou outras propriedades

desejadas. Se desejado, um tampão de pH pode ser adicionado ao solvente ou co-solvente ou à mistura formada. Geralmente, o pH da mistura varia de cerca de 3 a cerca de 8.

Partículas secas e pós secos respiráveis podem ser fabricados e então separados, por exemplo, por filtração ou centrifugação, por meio de um ciclone, para fornecer uma amostra de partículas com uma distribuição de tamanho pré-selecionado. Por exemplo, maior do que cerca de 30%, maior do que cerca de 40%, maior do que cerca de 50%, maior do que cerca de 60%, maior do que cerca de 70%, maior do que cerca de 80% ou maior do que cerca de 90% das partículas secas respiráveis em uma amostra pode ter um diâmetro dentro de um intervalo selecionado. O intervalo selecionado dentro do qual uma determinada percentagem de partículas secas respiráveis se encontra pode ser, por exemplo, qualquer uma das faixas de tamanho aqui descritas, tais como entre cerca de 0,1 a cerca de 3 microns VMGD.

O diâmetro das partículas secas respiráveis, por exemplo, seu VMGD, pode ser medido usando um instrumento de detecção de zona elétrica como um Multisizer IIe, (Coulter Electronic, Luton, Beds, Inglaterra), ou um instrumento de difração de raios laser, como um sistema HELOS (Sympatec, Princeton, NJ). Outros instrumentos para medir o diâmetro geométrico da partícula são bem conhecidos na técnica. O diâmetro das partículas secas respiráveis em uma amostra irá variar dependendo de fatores como a composição das partículas e os métodos de síntese. A distribuição de tamanho de partículas secas respiráveis em uma amostra pode ser selecionada para permitir a deposição ideal dentro de locais segmentados dentro do sistema respiratório.

Experimentalmente, o diâmetro aerodinâmico pode ser determinado usando medições de tempo de vôo (TOF). Por

exemplo, um instrumento como o Aerosizer DSP Particle Size Analyzer modelo 3225 (Amherst Process Instrument, Inc., Amherst, MA) pode ser usado para medir o diâmetro aerodinâmico. O Aerosizer mede o tempo necessário para as partículas secas respiráveis individuais passarem entre dois feixes de laser fixo.

O diâmetro aerodinâmico também pode ser determinado experimentalmente diretamente usando métodos de decantação gravitacional convencionais, em que o tempo necessário para uma amostra de partículas secas respiráveis estabeleces uma certa distância é medido. Métodos indiretos para medir o diâmetro aerodinâmico médio de massa incluem os métodos de impacto em cascata Andersen e o impinger de líquido em múltiplos estágios (MSLI). Os métodos e instrumentos para medir o diâmetro aerodinâmico da partícula são bem conhecidos na técnica.

A densidade derivada é uma medida da densidade de massa do invólucro caracterizando uma partícula. A densidade de massa do invólucro de uma partícula de uma forma estatisticamente isotrópica é definida como a massa da partícula dividido pelo volume mínimo do invólucro de esfera dentro do qual pode ser fechado. Características que podem contribuir para a densidade derivada baixa incluem textura da superfície e da estrutura porosa irregulares. A dDensidade derivada pode ser medida por meio de instrumentos conhecidos para aqueles versados na técnica, como o Testador de densidade derivada controlada de microprocessador de plataforma dupla (Vankel, NC), um instrumento GeoPyc™ (Micrometrics Instrument Corp., Norcross, GA) ou Testador de densidade derivada SOTAX modelo TD2 (SOTAX Corp, Horsham, PA). A densidade derivada pode ser determinada usando o método de volumétrica e

densidade derivada USP, Convenção pharmacopia dos Estados Unidos, Rockville, MD, Suplemento 10, 4950-4951, 1999.

A fração de partículas finas pode ser usada como uma maneira de caracterizar o desempenho de aerossol de um pó disperso. A fração de partículas finas descreve a distribuição de tamanho de partículas secas respiráveis no ar. A análise gravimétrica, usando um pêndulo em cascata, é um método de medição da distribuição de tamanho, ou fração de partículas finas, partículas secas respiráveis no ar. O impactador em cascata Andersen (ACI) é um impactor de oito estágios que pode separar aerossóis em nove frações distintas com base no tamanho aerodinâmico. Os cortes de tamanho de cada estágio dependem da vazão na qual o ACI é operado. O ACI é composto de múltiplos estágios que consistem de uma série de injetores (ou seja, uma placa de injeção) e uma superfície de impactação (ou seja, um disco de impactação). Em cada etapa um fluxo de aerossol passa através dos injetores e colide com a superfície. As partículas secas respiráveis no fluxo de aerossol com uma inércia grande o suficiente terão impacto sobre o prato. Partículas secas respiráveis menores que não têm inércia suficiente para o impacto sobre a placa permanecerão no fluxo de aerossol e serão levadas para o próximo estágio. Cada estágio sucessivo do ACI tem uma velocidade de aerosol maior nos injetores para que partículas secas respiráveis menores possam ser coletadas em cada estágio sucessivo.

Se desejado, um ACI de dois estágios quebrados também pode ser usado para medir a fração de partículas finas. Os ACI de dois estágios quebrados é composto de apenas as duas primeiras etapas do ACI de oito estágios e permite a coleta de duas frações em pó separadas. Especificamente, um ACI de dois estágios quebrados é calibrado de modo que a fração de pó que é coletado em uma

estágio é composta de partículas secas respiráveis que tem um diâmetro aerodinâmico menor que 5,6 microns e maior que 3,4 microns. A fração de pó passa o estágio um e se deposita em um filtro de coleta é, portanto, composta de partículas secas respiráveis com diâmetro aerodinâmico menor que 3,4 microns. O fluxo de ar em tal calibração é de aproximadamente 60 L/min.

A FPF (< 5,6) tem sido demonstrada para correlacionar a fração do pó que é capaz se fazer no pulmão do paciente, enquanto a FPF (< 3,4) tem sido demonstrada para correlacionar a fração do pó que atinge o pulmão em profundidade em um paciente. Essas correlações fornecem um indicador quantitativo que pode ser usado para otimização das partículas.

Um ACI pode ser usado para a dose aproximada emitida, o que aqui é chamado dose gravimétrica recuperada e dose analítica recuperada. "Dose gravimétrica recuperada" é definida como a razão entre o pó pesado em todos os filtros de estágio do ACI à dose nominal. "Dose analítica recuperada" é definida como a razão entre o pó recuperado de todas os estágios de lavagem, todos os estágios de filtro e o porto de indução do ACI à dose nominal. O FPF_TD (< 5,0) é a razão entre a quantidade interpolada de pó depósitada abaixo de 5,0 μm no ACI à dose nominal. O FPF_RD (< 5,0) é a razão entre a quantidade interpolada de pó depósitada abaixo de 5,0 μm no ACI, quer dose gravimétrica recuperada quer dose analítica recuperada.

Outra forma de dose emitida aproximada é determinar o quanto de pó deixa seu recipiente, por exemplo, captura ou blister, após a atuação de um inalador de pó seco (DPI). Isso leva em conta a percentagem de sair da cápsula, mas não leva em conta todo o pó depositado no DPI. A dose emitida é a razão entre o peso da cápsula com a

dose antes da ativação do inalador com o peso da cápsula após a ativação do inalador. Esta medida também pode ser chamada de massa de pó emitida da cápsula (CEPM).

Um impactador de líquido de múltiplos estágios (MSLI) é outro dispositivo que pode ser usado para medir a fração de partículas finas. O impactador de líquido de múltiplos estágios opera nos mesmos princípios que o ACI, embora em vez de oito estágios, o MSLI tem cinco. Além disso, cada estágio do MSLI consiste de uma fritadeira de vidro molhada com etanol em vez de uma placa sólida. O estágio molhado é usado para evitar rejeição de partículas e reentrada, o que pode ocorrer ao usar o ACI.

A invenção também se refere a um método para produzir um pó seco respirável compreendendo partículas secas respiráveis que contêm citrato de cálcio ou sulfato de cálcio. O método compreende a) fornecer uma primeira matéria-prima líquida compreendendo uma solução aquosa de cloreto de cálcio, e uma segunda matéria-prima líquida compreendendo uma solução aquosa de sulfato de sódio ou citrato de sódio; b) misturar a primeira matéria-prima líquida e a segunda matéria-prima líquida para produzir uma mistura na qual uma reação de troca aniônica ocorre para produzir uma solução saturada ou supersaturada compreendendo sulfato de cálcio e cloreto de sódio ou citrato de cálcio e cloreto de sódio, e c) secar a solução saturada ou supersaturada produzida em b) para produzir partículas secas respiráveis. A primeira matéria-prima líquida e a segunda matéria-prima líquida podem misturadas em batelada ou de preferência, misturada de forma estática. Em algumas modalidades, a mistura resultante é atomizada, e atomizada dentro de 60 minutos, dentro de 30 minutos, dentro de 15 minutos, dentro de 10 minutos, dentro de 5 minutos, dentro de 4 minutos, dentro de 3 minutos, dentro

de 2 minutos, dentro de 1 minuto, dentro de 45 segundos, dentro de 30 segundos, dentro de 15 segundos, dentro de 5 segundos de mistura, de preferência mistura estática.

A invenção também se refere a um pó seco respirável ou partículas secas respiráveis produzidas usando qualquer um dos métodos descritos aqui.

As partículas secas respiráveis da invenção também podem ser caracterizadas pela estabilidade química dos sais ou dos excipientes que as partículas secas respiráveis compreendem. A estabilidade química dos sais constituintes pode afetar características importantes das partículas respiráveis, incluindo adequados prazo de validade, condições de armazenagem, ambientes aceitáveis para a administração, compatibilidade biológica e eficácia dos sais. A estabilidade química pode ser avaliada através de técnicas bem conhecidas na técnica. Um exemplo de uma técnica que pode ser usada para avaliar a estabilidade química é a cromatografia líquida de alta performance de fase reversa (RP-HPLC). As partículas secas respiráveis da invenção incluem sais que são geralmente estáveis durante um longo período de tempo.

Se desejado, as partículas secas e pós secos respiráveis aqui descritos podem ser processados para aumentar a estabilidade. Uma característica importante de produtos farmacêuticos em pó seco é que eles são estáveis a temperatura e condições diferentes de umidade. Pós instáveis irão absorver a umidade do ambiente e aglomerar, alterando assim a distribuição de tamanho de partícula do pó.

Excipientes, tais como maltodextrina, podem ser usados para criar partículas e pós mais estáveis. A maltodextrina pode agir como um estabilizador de fase amorfa e inibir os componentes da conversão de um estado

amorfo para o estado cristalino. Alternativamente, uma etapa de pós-processamento para ajudar as partículas através do processo de cristalização de uma forma controlada (por exemplo, na câmara de ar em umidade elevada) pode ser empregada com o pó resultante sendo potencialmente tratado posteriormente para restaurar sua dispersibilidade se aglomerados são formados durante o processo de cristalização, tais como as partículas, passando por um ciclone para quebrar os aglomerados. Outra abordagem possível é a de otimizar em torno das condições do processo que levam a fabricação de partículas que são mais cristalinas e, portanto, mais estáveis. Outra abordagem é a utilização de excipientes diferentes, ou diferentes níveis dos excipientes atuais para tentar fabricar formas mais estáveis dos sais.

As partículas secas e pós secos respiráveis aqui descritos são adequados para as terapias de inalação. As partículas secas respiráveis podem ser fabricadas com material, rugosidade de superfície, diâmetro e densidade derivada adequados para liberação localizada a regiões selecionadas do sistema respiratório, tais como o pulmão em profundidade ou vias aéreas superiores ou central. Por exemplo, a densidade maior ou partículas secas respiráveis grandes podem ser usadas para a liberação às vias aéreas superiores, ou uma mistura de diferentes tamanhos de partículas secas respiráveis em uma amostra, desde que com a mesma ou diferente formulação, podem ser administrados para atingir diferentes regiões do pulmão em uma administração.

Para relacionar a dispersão de pó a taxas diferentes de fluxo de inalação, volume e a partir de inaladores de resistências diferentes, a energia necessária para realizar a manobra de inalação pode ser calculada. A

energia de inalação pode ser calculada a partir da equação $E = R^2Q^2V$, onde E é a energia de inalação em Joules, R é a resistência do inalador em $kPa^{1/2}$/LPM, Q é a vazão constante em L/min e V é o volume de ar inalado em L.

Populações de adultos saudáveis são previstos de serem capazes de atingir energias de inalação variando de 2,9 a 22 Joules usando valores da taxa de pico de fluxo inspiratório (PIFR) medido por Clarke et al. (Journal of Aerosol Med, 6(2), p.99-110, 1993) para a vazão Q de duas resistências do inalador de 0,02 e 0,055 $kPa^{1/2}$/LPM, com um volume de inalação de 2 L com base em dois documentos de orientação do FDA para inaladores de pó seco e no trabalho de Tiddens et al. (Journal of Aerosol Med, 19, (4), p.456-465, 2006) que encontraram adultos com uma média de volume inalado de 2,2 L através de uma variedade de DPIs.

Pacientes adultos com DPOC leve, moderada e grave são previstos de serem capazes de atingir energias inalação de 5,1 a 21 Joules, 5,2 a 19 Joules e 2,3 a 18 Joules, respectivamente. Isto é mais uma vez baseado no uso de valores PIFR medidos para a vazão Q na equação para a energia de inalação. O PIFR alcançável para cada grupo é uma função da resistência do inalador através do qual será inalado. O trabalho de Broeders et al. (Eur Respir J, 18, p.780-783, 2001) foi utilizado para prever PIFR alcançável máximo e mínimo através de dois inaladores de pó seco de resistências 0,021 e 0,032 $kPa^{1/2}$/LPM para cada um.

Da mesma forma, os pacientes asmáticos adultos são previstos de serem capazes de atingir energias de inalação de 7,4 a 21 Joules com base nos mesmos pressupostos que a população com DPOC e os dados PIFR de Broeders et al.

Adultos saudáveis, adultos portadores de DPOC e adultos asmáticos, por exemplo, devem ser capazes de

fornecer energia de inalação suficiente para esvaziar e dispersar as formulações pó seco da invenção. Por exemplo, uma dose de 25 mg da Formulação III foi verificada por requerer apenas 0,16 Joules para esvaziar 80% do peso de preenchimento em uma única inalação bem desaglomerada como ilustrado por um Dv50 dentro de 1 micrômetro do que a inalação de energias muito mais elevadas. Todas as populações de doentes adultos acima foram calculadas para serem capazes de atingir mais de 2 Joules, mais do que uma ordem de magnitude maior que a energia de inalação exigida.

Uma vantagem da invenção é a produção de pó que se dispersa bem em uma ampla gama de vazões e são relativamente independentes da vazão. As partículas de pó seco da invenção permitem a utilização de um simples DPI passivo para uma ampla população de pacientes.

Métodos

Os pós secos respiráveis e partículas secas respiráveis da presente invenção são para administração no trato respiratório. Os pós secos e partículas secas da invenção podem ser administrados a um indivíduo que deles necessita para o tratamento de infecções respiratórias (por exemplo, pulmonar) doenças, como asma, hiper-reatividade das vias aéreas, alergia alérgica sazonal, bronquiectasia, bronquite crônica, enfisema, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística e similares, e para o tratamento e/ou prevenção de exacerbações agudas dessas doenças crônicas, tais como as crises causadas por infecções virais (por exemplo, vírus influenza, parainfluenza, vírus sincicial respiratório, rinovírus, adenovírus, metapneumovírus, vírus coxsackie, vírus echo, coronavírus, vírus de herpes, citomegalovírus, etc), infecções bacterianas (por exemplo, *Streptococcus pneumoniae*, que é comumente referido como pneumococo, *Staphylococcus aureus*,

Burkholderis ssp., *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella catarrhalis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Serratia marcescens*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis* e similares), infecções fúngicas (por exemplo, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jiroveci*, *Coccidioides immitis* e similares) ou infecções parasitárias (por exemplo, *Toxoplasma gondii*, *Strongyloides stercoralis* e similares) ou alérgenos e irritantes ambientais (por exemplo, aeroalérgenos, incluindo pólen e pêlo de gato, partículas no ar e similares).

Os pós secos e partículas secas da invenção podem ser administrados a um indivíduo que deles necessita para o tratamento e/ou prevenção e/ou redução do contágio de doenças infecciosas do trato respiratório, como pneumonia (incluindo pneumonia adquirida na comunidade, pneumonia nosocomial (pneumonia adquirida hospitalar, HAP; pneumonia associada à saúde, HCAP), pneumonia associada ao ventilador (VAP), traqueobronquite associada ao ventilador (VAT), bronquite, crupe (por exemplo, crupe pós-entubação e crupe infecciosas), tuberculose, gripe, resfriado comum e infecções virais (por exemplo, vírus influenza, parainfluenza, vírus sincicial respiratório, rinovírus, adenovírus, metapneumovírus, vírus coxsackie, vírus echo, vírus corona, vírus de herpes, citomegalovírus, etc), infecções bacterianas (por exemplo, *Streptococcus pneumoniae*, que é comumente referido como pneumococo, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella catarrhalis*, *Chlamydophila*

pneumoniae, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Serratia marcescens*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bordetella pertussis* e similares), infecções fúngicas (por exemplo, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, *Pneumocystis jiroveci*, *Coccidioides immitis* e similares) ou infecções parasitárias (por exemplo, *Toxoplasma gondii*, *Strongyloides stercoralis*, etc), ou alérgenos e irritantes ambientais (por exemplo, aeroalérgenos, partículas no ar e similares).

As partículas secas e pó seco respiráveis podem ser administrados para alterar as propriedades biofísicas e/ou biológicas da mucosa do trato respiratório (por exemplo, o fluido de revestimento das vias aéreas) e tecido subjacente (por exemplo, epitélio do trato respiratório). Essas propriedades incluem, por exemplo, gelificação na superfície de mucosa, tensão superficial da mucosa, elasticidade da superfície e/ou viscosidade da mucosa, maior elasticidade e/ou viscosidade da mucosa. Sem querer ficar vinculado por uma teoria particular, acredita-se que os benefícios produzidos pelas partículas secas ou pó seco respiráveis e os métodos descritos aqui (por exemplo, benefícios terapêuticos e profiláticos) resultam de um aumento na quantidade de cátion de cálcio (Ca^{2+} fornecido pelos sais de cálcio das partículas secas ou pó seco respiráveis) no trato respiratório (por exemplo, muco pulmonar ou fluido de revestimento das vias aéreas) após a administração das partículas secas ou pó seco respiráveis.

Os pós secos e partículas secas respiráveis podem ser administrados para aumentar a taxa de tolerância mucociliar. A tolerância a micróbios e partículas inaladas é uma função importante das vias aéreas para evitar a infecção respiratória e a exposição ou a absorção sistêmica de agentes potencialmente nocivos. Isto é realizado como

uma função integrada por epiteliais, secretoras de muco e células de resposta imunológica presentes na superfície das vias aéreas. É inclui de forma proeminente os cílios na superfície das células epiteliais das vias aéreas, cuja função é bater sincronicamente para transportar muco sobrejacente líquido da manta proximal (em direção à boca), onde ele sai das vias aéreas e é engolido ou expectorado.

Os pós secos e partículas secas respiráveis podem ser administrados para ajudar em todas estas funções. Aumentando a viscoelasticidade da superfície, os pós secos e partículas secas respiráveis retêm micróbios e partículas na superfície da manta de muco nas vias aéreas, onde eles não ganham exposição sistémica para ao hospedeiro. Pós secos e partículas secas hipertônicos induzem o transporte de água/líquidos para fora das células epiteliais das vias aéreas, tornando o líquido da a camada peri-ciliar menos viscoso e fornecendo batida ciliar mais eficaz na mudança e limpeza da manta de muco sobrejacente. As partículas secas e os pós secos que contêm sais de cálcio como agente farmacologicamente ativo, também causam um aumento na frequência do batimento ciliar e da força ou vigor das contrações ciliares, com consequente aumento na velocidade de liberação do fluxo de muco sobrejacente.

A tolerância mucociliar é medida por uma técnica bem estabelecida, que mede a função e velocidade de tolerância quantitativamente usando uma preparação de radioisótopos inalado, segura (por exemplo, Technitium (^{99m}Tc)) em solução. O radioisótopo é medido quantitativamente por cintilografia externa. Dosagens seriadas durante várias horas permitem a avaliação da velocidade de tolerância e efeito de uma droga contra linha de base/valor de controle.

Em alguns aspectos, a invenção é um método para tratar uma doença pulmonar, como asma, hiper-reatividade das vias aéreas, alergia alérgica sazonal, bronquiectasia, bronquite crônica, enfisema, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística e similares, compreendendo a administração ao trato respiratório de um indivíduo que dela necessita uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis, como aqui descrito.

Em outros aspectos, a invenção é um método para o tratamento ou prevenção de exacerbações agudas de uma doença pulmonar crônica, como asma, hiper-reatividade das vias aéreas, alergia alérgica sazonal, bronquiectasia, bronquite crônica, enfisema, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística fibrose e similares, compreendendo administrar ao trato respiratório de um indivíduo que dela necessita uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis, como aqui descrito.

Em outros aspectos, a invenção é um método para tratar, prevenir e/ou reduzir o contágio de uma doença infecciosa do trato respiratório, compreendendo administração ao trato respiratório de um indivíduo que dela necessita uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis, como aqui descrito.

As partículas secas e pós secos respiráveis podem ser administrados ao trato respiratório de um indivíduo em necessidade do mesmo usando qualquer método adequado, como técnicas de injeção e/ou um dispositivo de inalação, como um inalador de pó seco (DPI) ou inalador de dose calibrada (MDI). Um número de DPIs estão disponíveis, tais como, os inaladores descritos nas patentes US Nos. 4995385 e 4069819, Spinhaler® (Fisons, Loughborough, UK), Rotahalers®, Diskhaler® e Diskus® (GlaxoSmithKline, Research Triangle Technology Park, Carolina do Norte),

FlowCapss® (Hovione, Loures, Portugal), Inhalators® (Boehringer-Ingelheim, Alemanha), Aerolizer® (Novartis, Suíça), e outros conhecidos por aqueles versados na técnica.

Geralmente, os dispositivos de inalação (por exemplo, DPIs) são capazes de liberar uma quantidade máxima de partículas secas ou pó seco em uma única inalação, que está relacionada à capacidade das bolhas, cápsulas (por exemplo, tamanho 000, 00, 0E, 0, 1, 2, 3 e 4, com as respectivas capacidades volumétricas de 1,37 ml, 950 µl, 770 µl, 680 µl, 480 µl, 360 µl, 270 µl e 200 µl) ou outros meios que contêm as partículas secas ou pós secos dentro do inalador. Assim, a liberação de uma dose desejada ou quantidade eficaz pode exigir duas ou mais inalações. De preferência, cada dose que é administrada a um indivíduo que dela necessita contém uma quantidade efetiva de partículas secas ou pó seco respiráveis e é administrada usando não mais que cerca de 4 inalações. Por exemplo, cada dose de partículas secas ou pó seco respiráveis pode ser administrada em uma única inalação ou 2, 3 ou 4 inalações. As partículas secas e pós secos respiráveis são preferivelmente administradas em uma única etapa de respiração ativada através de um DPI de respiração ativada. Quando este tipo de dispositivo é utilizado, a energia de inalação do indivíduo tanto dispersa as partículas secas respiráveis quanto atrai as mesmas para o trato respiratório.

As partículas secas ou pós secos respiráveis podem ser administrados por inalação para uma área desejada dentro do trato respiratório, como desejado. É bem conhecido que partículas com diâmetro aerodinâmico de cerca de 1 mícron a cerca de 3 microns podem ser administradas ao pulmão em profundidade. Diâmetros aerodinâmicos maiores,

por exemplo, de cerca de 3 mícrons a cerca de 5 microns, podem ser administrados às vias aéreas centrais e superior.

Acredita-se que quando alguns pós secos que contêm sais de metais divalentes como ingredientes ativos são administrados, existe a possibilidade de que pelo menos um pouco do pó seco respirável irá se depositar na cavidade oral e produzir uma desagradável sensação de "boca salgada". Prevê-se que essa sensação pode levar os pacientes a não cumprir as instruções terapêuticas ou descontinuar o tratamento. Uma vantagem dos pós secos respiráveis desta invenção é que eles são pequenos e de alta dispersão e, portanto, a deposição na cavidade oral é reduzida e a ocorrência de uma sensação desagradável de boca salgada é reduzida ou evitada.

Para inaladores de pó seco, a deposição na cavidade oral é dominada por impactação inercial e assim caracterizada pelo número de Stokes do aerossol (DeHaan et al. Journal of Aerosol Science, 35 (3), 309-331, 2003). Para a geometria inalador equivalente, o padrão respiratório e a geometria da cavidade oral, o número de Stokes, e assim a deposição de cavidade oral, é afetado principalmente pelo tamanho aerodinâmico do pó inalado. Assim, fatores que contribuem para a deposição oral de um pó incluem a distribuição de tamanho das partículas individuais e a dispersão do pó. Se o MMAD das partículas individuais é muito grande, por exemplo, acima de 5 um, então um aumento da percentagem de pó irá se depositar na cavidade oral. Da mesma forma, se um pó tem dispersibilidade pobre, é uma indicação de que as partículas vão deixar o inalador de pó seco e entrar na cavidade oral como aglomerados. O pó aglomerado irá atuar aerodinamicamente como uma partícula individual tão grande quanto o aglomerado, portanto, mesmo que as partículas

individuais sejam pequenas (por exemplo, MMAD de 5 mícrons ou menos), a distribuição do tamanho do pó inalado pode ter uma MMAD superior a 5 μm , levando a maior deposição na cavidade oral.

Portanto, é desejável ter um pó em que as partículas são pequenas (por exemplo, MMAD de 5 mícrons ou menos, por exemplo, entre 1 a 5 microns), e são altamente dispersíveis (por exemplo, 1/4 bar ou, alternativamente, 0,5/4 bar de 2,0, e de preferência menos de 1,5). Mais preferivelmente, o pó seco respirável é composto por partículas secas respiráveis com um MMAD entre 1 e 4 microns ou 1 e 3 microns, e tem 1/4 bar inferior a 1,4, ou inferior a 1,3, e mais preferivelmente inferior a 1,2.

O diâmetro geométrico absoluto das partículas medido a 1 bar utilizando o sistema de HELOS não é crítico, desde que a densidade da partícula envolvente seja suficiente tal que a MMAD esteja em um dos intervalos listados acima, onde MMAD é VMGD vezes a raiz quadrada da densidade envolvente (MMAD = VMGD * $^{2}\sqrt{}$(densidade envolvente)). Se for desejado para fornecer uma dose unitária elevada de sal utilizando um volume fixo de recipiente de dosagem, então, as partículas de maior densidade envolvente são desejadas. Densidade envolvente alta permite mais massa de pó para ser contida dentro do recipiente fixo do volume de dosagem. Densidades envolventes preferíveis são maiores do que 0,1 g/cm^3, superior a 0,25 g/ cm^3, maior que 0,4 g/ cm^3, maior que 0,5 g/ cm^3 e superior a 0,6 g/ cm^3.

Os pós secos e partículas secas respiráveis da invenção podem ser empregados em composições adequadas para administração de medicamentos através do sistema respiratório. Por exemplo, tais composições podem incluir misturas de partículas secas respiráveis da invenção e uma

ou mais outras partículas ou pó secos, tais como partículas ou pó secos que contém um outro agente ativo, ou que sejam constituídos ou consistem essencialmente de um ou mais excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

Pós secos e partículas secas respiráveis adequados para uso nos métodos da invenção podem viajar através das vias aéreas superiores (isto é, da orofaringe e laringe), das vias aéreas inferiores, que incluem a traquéia seguido por bifurcações nos brônquios e bronquíolos, e através dos bronquíolos terminais que por sua vez dividem-se em bronquíolos respiratórios levando então à zona respiratória final, dos alvéolos do pulmão ou em profundidade. Em uma modalidade da invenção, a maioria da massa dos pós ou partículas secos respiráveis se depositam no pulmão em profundidade. Em uma outra modalidade da invenção, a liberação é principalmente para as vias aéreas centrais. Em outra modalidade, a liberação é para as vias aéreas superiores.

As partículas secas ou pó seco respiráveis da invenção podem ser liberados por inalação em várias partes do ciclo respiratório (por exemplo, fluxo laminar no meio da respiração). Uma vantagem da alta dispersibilidade do pó seco e partículas secas da invenção é a capacidade de direcionar a deposição no trato respiratório. Por exemplo, a liberação de respiração controlada de soluções de nebulização é um desenvolvimento recente na administração de aerossol líquido (Dalby et al. Inhalation Aerosois, editado por Hickey 2007, p. 437). Neste caso, as gotas de nebulização são liberadas somente durante certas partes do ciclo respiratório. Para liberação no pulmão em profundidade, as gotas são lançadas no início do ciclo de inalação, enquanto que para a deposição das vias aéreas centrais, eles são liberados mais tarde na inalação.

Os pós de alta dispersão desta invenção proporcionam vantagens para apontar o momento da liberação da droga no ciclo de respiração e também localização no pulmão humano. Devido ao pó seco respirável da invenção poder ser disperso rapidamente, como dentro de uma fração de uma manobra de inspiração típica, o momento da dispersão do pó pode ser controlado para administrar um aerossol em horários específicos de inalação.

Com um pó de alta dispersão, a dose completa de aerosol pode ser dispersa na parte inicial da inalação. Enquanto a vazão de inalação do paciente sobe até a taxa de pico de fluxo inspiratório, um pó de alta dispersão começara a dispersar já no início da subida e poderia dispersar completamente a dose na primeira parte da inalação. Uma vez que o ar que é inalado no início da inalação mais profunda irá ventilar os pulmões, a dispersão de mais aerossóis na primeira parte da inalação é preferível para deposição pulmonar em profundidade. Da mesma forma, para a deposição central, dispersão do aerossol em uma alta concentração no ar que ventile as vias aéreas centrais pode ser alcançada pela dispersão rápida da dose perto da metade para o final da inalação. Isso pode ser feito por uma série de meios mecânicos e outros, tais como um interruptor operado por tempo, pressão ou vazão que desvia o ar inalado do paciente para o pó a ser distribuído somente após as condições do interruptor serem atendidas.

A dosagem de aerossol, formulações e sistemas de distribuição podem ser selecionados para uma determinada aplicação terapêutica, como descrito, por exemplo, em Gonda, I. "*Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract*", em Critical Reviwes in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6: 273-313 (1990), e em Moren, "*Aerosols Dosage Forms and*

Formulations" em Aerosols in Medicin, Principles, Diagnosis and Therapy, Moren, et al, Eds., Esevier, Amsterdam (1985).

Tal como descrito aqui, acredita-se que os efeitos terapêuticos e profiláticos das partículas secas e pós secos respiráveis são o resultado de uma maior quantidade de cálcio no trato respiratório (por exemplo, pulmão) após a administração de partículas secas e pós secos respiráveis. Assim, uma vez que a quantidade de cálcio fornecida pode variar dependendo do sal específico selecionado, a dosagem pode ser baseada na quantidade desejada de cálcio para ser liberada ao pulmão. Por exemplo, um mol de cloreto de cálcio ($CaCl_2$) dissocia para fornecer um mol de Ca^{2+}, mas um mol de citrato de cálcio pode fornecer três moles de Ca^{2+}.

Geralmente, uma quantidade eficaz de uma formulação farmacêutica vai liberar uma dose de cerca de 0,001 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, aproximadamente 0,002 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,005 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 60 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 50 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 40 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 30 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 20 mg de Ca^{+2}/kg de peso

corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,02 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,03 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,04 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,05 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,2 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,18 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,001 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,005 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,01 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,02 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose.

Em algumas modalidades a quantidade de cálcio liberada ao trato respiratório (por exemplo, pulmões, vias aéreas respiratórias) é cerca de 0,001 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso

corporal/dose, cerca de 0,002 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,005 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 60 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 50 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 40 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 30 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 20 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,02 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,03 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,04 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,05 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, o corpo de cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso

corporal/dose para cerca de 1 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,2 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,18 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,001 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,005 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,01 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,02 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose.

Em outras modalidades a quantidade de cálcio liberada ao trato respiratório superior (por exemplo, cavidade nasal) é de cerca de 0,001 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,002 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,005 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 60 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 50 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 40 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 30 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 20 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso

corporal/dose para cerca de 10 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,01 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,02 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,03 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,04 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,05 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 2 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,1 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,2 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,5 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,18 mg Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose para cerca de 0,01 mg de Ca^{+2}/kg de peso corporal/dose.

Além disso, quando as partículas secas e pós secos respiráveis incluem um sal de sódio, as partículas secas e pós secos respiráveis podem ser administrados em quantidade suficiente para fornecer uma dose de cerca de 0,001 mg de Na^{+}/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg de Na^{+}/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,01 mg de Na^{+}/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg de Na^{+}/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,1 mg de Na^{+}/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg de Na^{+}/kg de peso

corporal/dose, ou cerca de 1,0 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,001 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,01 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,1 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,2 a 0,8 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose, cerca de 0,3 a cerca de 0,7 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,4 a cerca de 0,6 mg de Na^+/kg de peso corporal/dose.

Em algumas modalidades a quantidade de sódio liberada ao trato respiratório (por exemplo, pulmões, vias aéreas respiratórias) é cerca de 0,001 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,01 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,1 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,001 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,01 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,1 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,2 a cerca de 0,8 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,3 a cerca de 0,7 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,4 a cerca de 0,6 mg/kg de peso corporal/dose.

Em outras modalidades a quantidade de sódio liberada ao trato respiratório superior (por exemplo, a cavidade nasal) é cerca de 0,001 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose,

ou cerca de 0,01 mg/kg peso/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,1 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,001 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,01 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,1 mg/kg de peso corporal/dose para cerca de 1 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,2 a cerca de 0,8 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,3 a cerca de 0,7 mg/kg de peso corporal/dose, ou cerca de 0,4 a cerca de 0,6 mg/kg de peso corporal/dose.

Intervalos apropriados entre as doses que proporcionam o efeito terapêutico desejado podem ser determinados com base na gravidade da doença (por exemplo, infecção), bem-estar geral do indivíduo e da tolerância do indivíduo às partículas secas e pó seco respiráveis e outras considerações. Com base nessas e outras considerações, um médico pode determinar intervalos apropriados entre as doses. Geralmente, as partículas secas e pós secos respiráveis são administrados uma, duas ou três vezes por dia, conforme necessário.

Se desejado ou indicado, as partículas secas e pós secos respiráveis aqui descritos podem ser administrados com um ou mais outros agentes terapêuticos. Os outros agentes terapêuticos podem ser administrados por qualquer via adequada, como por via oral, parenteral (por exemplo, injeção intravenosa, intra-arterial, intramuscular ou subcutânea), por via tópica, por inalação (por exemplo, inalação intrabrônquica, intranasal ou oral, gotas intranasais), retal , vaginal e similares. As partículas secas e pós secos respiráveis podem ser administrados

antes, substancialmente simultaneamente ou após a administração do outro agente terapêutico. De preferência, as partículas secas e pós secos respiráveis e o outro agente terapêutico são administrados de modo a proporcionar sobreposição substancial de suas atividades farmacológicas.

Outra vantagem proporcionada pelo pó seco respirável e partículas secas respiráveis aqui descritos, é que a eficiência de dosagem pode ser aumentada como resultado do crescimento higroscópico das partículas dentro dos pulmões, devido ao aumento da umidade das partículas. A propensão das composições elevadas de sal, parcialmente amorfas da invenção para absorver água à umidade elevada também pode ser vantajoso em relação aos seus perfis de deposição *in vivo*. Devido à sua rápida absorção de água em umidade elevada, essas formulações em pó podem sofrer crescimento higroscópico devido à absorbância de água do ar úmido no trato respiratório conforme eles se encaminham para os pulmões. Isso pode resultar em um aumento nos seus diâmetros aerodinâmicos efetivo durante o trânsito para os pulmões, o que irá facilitar ainda mais a sua deposição nas vias aéreas.

EXEMPLIFICAÇÃO

Materiais usados nos exemplos a seguir e suas fontes estão listados abaixo. Di-cloreto de cálcio, lactato de cálcio pentahidratado, cloreto de sódio, L-leucina, maltodextrina, manitol, lactose e trealose foram obtidos da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO) ou Spectrum Chemicals (Gardena, CA); sulfato de sódio de EMD Chemicals (Gibbstown, NJ), Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO) ou Spectrum Chemicals (Gardena, CA) e citrato de sódio dihidratado da JT Baker (Phillipsburg, NJ), Mallinckrodt Baker (Phillipsburg, NJ) ou Spectrum Chemiclas (Gardena,

CA). Água ultrapura foi de um sistema de purificação de água (Millipore Corp, Billerica, MA).

Métodos:

Diâmetro Geométrico ou Volumétrico. Diâmetro mediano volumétrico (x50), que também pode ser referido como diâmetro mediano volumétrico geométrico (VMGD), foi determinado utilizando uma técnica de difração a laser. O equipamento consistiu de um difratômetro HELOS e um dispersor de pó seco RODOS (Sympatec, Inc., Princeton, NJ). O dispersor RODOS aplica uma força de cisalhamento a uma amostra de partículas, controlada pelo regulador de pressão (geralmente fixada em 1,0 bar com pressão no anel de orifício fixado em 7 mbar) da entrada de ar comprimido seco. As configurações de pressão podem ser variadas para variar a quantidade de energia utilizada para dispersar o pó. Por exemplo, o regulador de pressão pode variar de 0,2 bar a 4,0 bar; e a pressão do anel de orifício pode ser variada de 5,00 mbar a 115,00 mbar. A amostra em pó é dispensada de uma micro espátula no funil RODOS. As partículas dispersas viajam através de um feixe de laser, onde o padrão de luz resultante difratado produzido é coletado, geralmente usando uma lente R2, por uma série de detectores. O padrão de difração em conjunto é então traduzido em uma distribuição de tamanhos baseados em volume de partículas usando o modelo de difração de Fraunhofer, baseado em que partículas menores desviam a luz em ângulos maiores. Usando este método, o desvio padrão geométrico (GSD) para o diâmetro geométrico médio volumétrico também foi determinado.

Fração de partículas finas. As propriedades aerodinâmicas dos pós dispersos de um dispositivo inalador foram avaliadas com um Impactador em cascata Andersen Mk-II 1 ACFM (Copley Scientific Limited, Nottingham, UK). O

instrumento foi executado em condições ambientais controladas de 18 a 25 °C e umidade relativa (UR) entre 20 e 40%. O aparelho é composto de oito estágios que separam as partículas de aerossol com base em impactação inercial. Em cada estágio, o fluxo de aerossol passa através de um conjunto de bocais e colide com uma placa de impactação correspondente. Partículas tendo inércia suficientemente pequena continuarão com o fluxo de aerossol para o próximo estágio, enquanto as partículas restantes terão impacto sobre o prato. Em cada etapa sucessiva, o aerossol passa através de bicos com maior velocidade e partículas aerodinamicamente menores são recolhidas na placa. Após o aerosol passar da fase final, um filtro recolhe as menores partículas que permanecem. Análise gravimétricos e/ou químicas podem ser realizadas para determinar a distribuição de tamanho de partícula. O impactor em cascata de chaminé curta também é utilizado para permitir ao tempo de trabalho reduzido avaliar dois pontos de corte de tamanhos de partícula aerodinâmica. Com este impactor em cascata em colapso, os estágios são eliminados, exceto aqueles necessários para estabelecer as frações de partículas finas e grossas.

As técnicas de impactação utilizadas permitiram a coleta de duas ou oito frações de pó separadas. As cápsulas (HPMC, tamanho 3; Shionogi Qualicaps, Madrid, Espanha) foram, aproximadamente, cheias com pó até a metade e colocadas em um dispositivo inalador de pó seco manual ativado por respiração (DPI), a alta resistência RS-01 DPI (Plastiape , Osnago, Itália). A cápsula foi perfurada e o pó foi puxado através do impactor em cascata operado a uma vazão de 60,0 L/min por 2,0 s. Nesta vazão, os diâmetros de ponto de corte calibrados para os oito estágios são 8,6, 6,5, 4,4, 3,3, 2,0, 1,1, 0,5 e 0,3 microns e para os dois

estágios utilizados com o pêndulo de cascata de chaminé curta, os diâmetros de corte são 5,6 microns e 3,4 microns. As frações foram recolhidas pela colocação de filtros nos aparelhos e determinação da quantidade de pó que invediram por meio de medições gravimétricas ou medições químicas em um HPLC, como registrado nas tabelas. A fração de partículas finas da dose total de pó (FPF TD) menor ou igual a um diâmetro aerodinâmico de ponto de corte eficaz foi calculada dividindo-se a massa em pó recuperado da fase desejada do pêndulo, pela massa de partículas totais na cápsula. Os resultados são apresentados como a fração de partículas finas com menos de 5,6 mícrons (FPF < 5,6 microns) e da fração de partículas finas com menos de 3,4 mícrons (FPF < 3,4 microns). A fração de partículas finas pode, alternativamente, ser calculada em relação à dose recuperada ou emitida de pó, dividindo a massa de pó recuperado da fase desejada do pêndulo, pela massa de pó total recuperado.

Diâmetro aerodinâmico. Diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi determinado utilizando as informações obtidas no Impactador em cascata Andersen. A massa acumulada sob o estágio do ponto de corte de diâmetros é calculada para cada etapa e normalizada pela dose recuperada de pó. O MMAD do pó é então calculado por interpolação linear do estágio do ponto de corte de diâmetros que suporta o percentual de 50.

Dose emitida. Uma medida das propriedades de emissão dos pós foi determinada utilizando as informações obtidas a partir dos ensaios no Impactador em cascata Andersen. O peso da cápsula cheia foi registrado no início da corrida e o peso da cápsula final foi registrado após a conclusão da corrida. A diferença de peso representa a quantidade de pó emitido a partir da cápsula (CEPM ou massa

de pó emitido da cápsula). A dose emitida foi calculada dividindo a quantidade de pó emitido a partir da cápsula pela massa total inicial de partículas na cápsula.

Densidade derivada. Dois métodos foram utilizados para medir a densidade derivada. (1) Um método modificado exigindo menor quantidade de pó foi inicialmente utilizado, seguindo USP <616> com a substituição de um tubo de microcentrífuga de 1,5 cm^3 (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) para conter o pó. (2) USP <616> foi usado, utilizando uma proveta graduada de 100 cm^3. Instrumentos para medir a densidade derivada, conhecido por aqueles versados na técnica, incluem mas não estão limitados a, Testador de desnsidade derivada controlado por micropocessador de platafroma dupla(Vankel, Cary, NC) ou um instrumento GeoPyc (micrométricas Instrument Corp, Norcross, GA). Densidade derivada é uma medida padrão da densidade de massa envolvida. A densidade de massa envolvida de uma partícula isotrópica é definido como a massa da partícula dividido pelo volume mínimo esférico envolvido dentro do qual pode ser fechada.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). MEV foi realizada utilizando uma microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 200 (Hillsboro, Oregon) equipado com um detector Thornley Everhart (ET). As imagens foram coletadas e analisadas utilizandoum software XTM (v. 2.01) e XT Docu (v. 3.2), respectivamente. A ampliação foi verificada usando um padrão NIST. Cada amostra foi preparada para análise, colocando uma pequena quantidade em uma guia de carbono adesiva suportada em uma montagem de alumínio. Cada amostra foi então revestida por pulverização catódica com Au/Pd usando uma máquina de revestimento por auto pulverização catódica Cressington 108 em aproximadamente 20 mA e 0,13 mbar (Ar) por 75 segundos. Os

parâmetros de aquisição de dados são exibidos na barra de informações na parte inferior de cada imagem. A ampliação informada sobre cada imagem foi calculada sobre a aquisição de dados inicial. A barra de escala relatada na parte inferior de cada imagem é precisa sobre o redimensionamento e deve ser usada ao fazer determinações de tamanho.

Preparação de matéria-prima líquida para a atomização. Atomização de partículas homogêneas exige que os ingredientes de interesse sejam solubilizados em solução ou em suspensão em uma suspensão uniforme e estável. Certos sais de cálcio, tais como cloreto de cálcio, acetato de cálcio e lactato de cálcio, são suficientemente solúveis em água para preparar soluções de atomização adequadas. No entanto, outros sais de cálcio, tais como sulfato de cálcio, citrato de cálcio e carbonato de cálcio, têm uma baixa solubilidade em água. A solubilidade em água de sais de cálcio exemplares são apresentados na Tabela 1. Como resultado dessas solubilidades baixas, a formulação de trabalho de desenvolvimento de matérias-primas foi necessária preparar soluções ou suspensões que poderiam ser atomizadas. Estas soluções ou suspensões incluiam combinações de sais em um solvente apropriado, normalmente água, mas também etanol e água de misturas ou outros solventes, como descrito anteriormente no relatório descritivo.

Tabela 1. Solubilidade sais de cálcio em Água

Solubilidade de sais de cálcio em água (a 20 a 30 °C, 1 bar)	
Sal	**Solubilidade em água (g/L)**
Cloreto de cálcio	1368[1, 2]
Acetato de cálcio	347[1]
Lactato de cálcio	105[1]
Gluconato de cálcio	33,23[3]

Sulfato de cálcio	2,98[1]
Citrato de cálcio	0,96[1]
Fosfato de cálcio tribásico	0,2[1]
Carbonato de cálcio	Prat. Insol.[2]
Estearato de cálcio	Prat. Insol.[2]
Alginato de cálcio	Não aplicável
Carbonato de sódio	505[1]
Cloreto de sódio	360[1]
Citrato de sódio	910[1]
Sulfato de sódio	194[1]

[1] Perry, Robert H., Don W. Green, e James O. Maloney. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. 7ª ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1997. Print

[2] solubilidade a 60 °C

[3] O'Neil, Maryadele J. *The Merck Index: na Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. 14ª ed. Whitehouse Station, N.J.: Merck, 2006. Print

Como mencionado anteriormente, cloreto de cálcio tem alta solubilidade em água. Sais de sódio, tais como o sulfato de sódio, citrato de sódio e carbonatode sódio, também são muito solúveis em água. Como será discutido mais adiante nos exemplos a seguir, cloreto de cálcio e sais de sódio ("materiais de partida") são combinados em solução ou suspensão para obter sais de cálcio estáveis em forma de pó seco final. Ao combinar o cloreto de cálcio e de sódio em solução, o cálcio e o ânion proveniente do sal de sódio podem reagir em uma reação de precipitação para produzir o sal de cálcio desejado (ou seja, $CaCl_2 + 2NaXX \rightarrow CaXX + 2NaCl$). Neste caso, a concentração de sólidos máxima que manteve uma solução clara ou uma suspensão estável foi usada para a atomização. Alguns sais de cálcio foram solúveis o suficiente para serem dissolvidos em água e, em seguida, atomizados sozinhos. O mesmo conceito pode ser aplicado para, por exemplo, sais de magnésio, utilizando

cloreto de magnésio, sais de potássio através de cloreto de potássio e sais de sódio.

Os materiais de partida podem ser fornecidos em quantidades molar onde a reação de precipitação total pode prosseguir até a conclusão, denominado "reação à conclusão". O percentual em peso de íons de cálcio em sais de cálcio exemplar é ainda listado na Tabela 2.

Tabela 2. Percentual em peso de Ca^{2+} em moléculas de sal

Percentual em peso de íon cálcio em molécula de sal			
Sal	**Fórmula**	**Peso molecular**	**Percentual em peso de Ca^{2+} na molécula**
Carbonato de cálcio	$CaCO_3$	100,09	40,0
Cloreto de cálcio	$CaCl_2$	110,98	36,0
Fosfato de cálcio dibásico	$CaHPO_4$	136,06	29,4
Sulfato de cálcio	$CaSO_4$	136,14	29,4
Acetato de cálcio	$Ca(C_2H_3O_2)_2$	158,17	25,3
Citrato de cálcio	$Ca_3(C_6H_5O_7)_2$	498,46	24,1
Lactato de cálcio	$Ca(C_3H_5O_3)_2$	218,218	18,3
Sorbato de cálcio	$CaC_{12}H_{14}O_4$	262,33	15,2
Gluconato de cálcio	$CaC_{12}H_{22}O_{14}$	430,373	9,3
Estearato de cálcio	$CaC_{36}H_{70}O_4$	607,02	6,6
Alginato de	$[Ca(C_6H_7O_6)_2]_n$	NA	NA

cálcio			

[00567] Alternativamente, cloreto de cálcio em excesso pode ser adicionado a uma reação incompleta, ou "reação não à conclusão" onde uma determinada quantidade de cloreto de cálcio está presente no pó final. Enquanto o cloreto de cálcio é higroscópico, a sua alta solubilidade em água pode ser benéfica por ter em pequenas quantidade no produto final para aumentar a solubilidade do produto final, para ser capaz de adequar o perfil de dissolução, e aumentar a proporção relativa de íons cálcio a sódio ou outros cátions presentes na formulação. Para facilidade de desenvolvimento da formulação, os índices molares exigidos de cloreto de cálcio e de sódio foram convertidos para índices de massa de cloreto de cálcio e de sódio. Um exemplo é de citrato de cálcio (ou seja, cloreto de cálcio + citrato de sódio), onde a reação de precipitação continua a seguindo a seguinte forma:

$$3\ CaCl_2 + 2Na_3C_6H_5O_7 \rightarrow Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 6NaCl$$

Esta reação resulta em uma razão molar de Ca:íons de Na de 1:2. Para a reação avançar até a conclusão, 3 mols de cloreto de cálcio e 2 moles de citrato de sódio são necessários. Para converter a massa em gramas e uma relação de peso, os moles de sais são multiplicados pelo peso molecular dos sais em gramas por mol:

Para o cloreto de cálcio: 3 moles de $CaCl_2$ x 111 g/mol = 333 g de $CaCl_2$

Para o citrato de sódio: 2 moles $Na_3C_6H_5O_7$ x 258 g/mol = 516 g $Na_3C_6H_5O_7$

Portanto, a proporção de peso de $CaCl_2$:$Na_3C_6H_5O_7$ de 1:1,55 ou 39:61 é necessária para uma reação completa. Essas proporções foram solubilizadas e atomizadas para produzir formulações de "sal puro". Além disso, pós secos foram produzidos com um excipiente adicional, tal como

leucina ou lactose. A relação de cálcio para o sal de sódio permaneceu a mesma, de modo a produzir uma "reação à conclusão". Por exemplo, para uma formulação de 50% (p/p) de leucina, o restante é composto de sais, tais como citrato de cálcio (ou seja, $CaCl_2$:$Na_3C_6H_5O_7$) onde a relação em peso de $CaCl_2$:$Na_3C_6H_5O_7$ de 39:61 é mantida. Assim, para que a reação: 50% (p/p) de leucina, 19,5% (p/p) de $CaCl_2$ e 30,5% (p/p) de $Na_3C_6H_5O_7$ será adicionado. Para um processo de atomização, os sais e outros excipientes serão dissolvidos ou suspensos em um solvente (ou seja, água). A concentração de sólidos (p/v) pode ser escolhida de acordo com a solubilidade dos diferentes componentes. Para a formulação de citrato, uma concentração de 5 mg/mL foi apropriada, dada a limitada solubilidade do citrato de cálcio: 0,95 mg/mL. Portanto, 5 g de sólidos (ou seja, 2,5 g de leucina, 0,975 g de cloreto de cálcio e 1,525 g de citrato de sódio) foram dissolvidos em 1 L de água ultrapura.

Além disso, ao preparar soluções de atomização, o peso da água do material hidratado de partida deve ser contabilizado. Os índices utilizados para formulações foram com base no peso molecular dos sais anidro. Para certos sais, formas hidratadas são mais facilmente disponíveis do que a forma anidra. Para isso foi necessário um ajuste nas relações inicialmente calculadas, usando um multiplicador para correlacionar o peso molecular do sal anidro com o peso molecular do hidrato. Um exemplo deste cálculo está indicado abaixo.

Para o exemplo acima, o peso molecular do cloreto de cálcio anidro é 110,98 g/mol e o peso molecular do dihidrato é 147,01 g/mol. O peso molecular de citrato de sódio anidro é 258,07 g/mol e o peso molecular do dihidrato é 294,10 g/mol.

O multiplicador é análogo à relação entre o peso molecular do dihidrato para anidro, por exemplo, 1,32 para o cloreto de cálcio e 1,14 para citrato de sódio. Portanto, o ajuste para as formas dihidrato resulta em: 2,5 g de leucina, 1,287 g (ou seja, 0,975 g x 1,32) de cloreto de cálcio hidratado e 1,738 g (ou seja, 1,525 g x 1,14) de citrato de sódio foram dissolvidos e atomizados.

Atomização usando atomizador Niro. Pós secos foram produzidos por atomização utilizando um atomizador Niro móvel Minor (GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD) com a coleta do pó en um ciclone, um filtro de produto ou ambos. A atomização da alimentação líquida foi realizada utilizando uma co-corrente de dois bicos de fluido Niro (GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD) ou um Spraying Systems (Carol Stream, IL) de dois bico de fluido com tampa de gás e líquido 67.147 cap 2850SS, embora outras configurações de dois bicos de fluido também são possíveis. Técnicas de atomização adicionais incluem atomização rotativa ou um bico de pressão. A alimentação líquida foi alimentada usando bombas de engrenagem (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL) diretamente nos dois bicos de fluido ou em um misturador estático (Charles Ross & Son Company, Hauppauge, NY), imediatamente antes da sua introdução nos dois bicos. Uma técnica de alimentação de líquido adicional inclui a alimentação de um recipiente pressurizado. Azoto ou ar pode ser usado como gás de secagem, desde que a umidade do ar seja pelo menos parcialmente removida antes de seu uso. Nitrogênio ou ar pressurizado pode ser usado como a alimentação de gás de atomização para os dois bocais de fluido. A temperatura de entrada de gás do processo pode variar de 100 °C a 300 °C e a temperatura de saída de 50 °C a 120 °C, com uma taxa de matérias-primas líquidas de 20 mL/min a 100 mL/min. O gás

de abastecimento do atomizador de dois bicos pode variar dependendo da seleção do fluido e para o Niro a co-corrente de dois bicos de fluido pode variar de 8 kg/h a 15 kg/h e ter um conjunto de pressões que varia de 0,5 bar para 2,0 bar ou para Spraying Systems de dois bicos de fluido com uma tampa de gás e 67.147 tampa de fluido 2850SS pode variar de 40 a 100 g/minuto. O consumo de gás de atomização pode ser configurado para atingir um certo gás em relação à massa líquida, o que afeta diretamente o tamanho das gotas criadas. A pressão no interior do tambor de atomização pode variar de +3 "WC a -6 "WC. Pós atomizados podem ser coletados em um recipiente na saída do ciclone, em um cartucho ou filtro de câmara, ou de ambos os ciclones e um cartucho de filtro ou filtro de mangas.

Atomização usando Atomizador Büchi. Pós secos foram preparados por atomização em um Atomizador Büchi B-290 Mini (BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Suíça), com coleta de pó a partir de ciclone de desempenho padrão ou de alto desempenho. O sistema utilizou o desumidificador Büchi B-296 para assegurar uma temperatura e umidade do ar estáveis usadas para pulverização seca. Além disso, quando a umidade relativa do ar na sala ultrapassou 30% RH, um desumidificador externo LG (modelo 49007903, LG Electronics, Englewood Cliffs, NJ) foi executado constantemente. A atomização da alimentação líquida utilizou um bocal Büchi de dois fluidos, com um diâmetro de 1,5 mm. A temperatura de entrada do gás de processo pode variar de 100 °C a 220 °C e a temperatura de saída de 80 °C a 120 °C, com uma vazão de matérias-primas líquidas de 3 mL/min a 10 mL/min. O gás da atomização de dois fluidos varia de 25 mm a 45 mm (300 LPH a 530 LPH) e a taxa de aspiração de 70% para 100% (28 m^3/h a 38 m^3/h).

A Tabela 3 fornece formulações de matéria-prima utilizadas na preparação de alguns pós secos aqui descritos.

Tabela 3: Formulações de matéria-prima

Formulação	**Composição (p/p)**
I	10,0% de leucina, 35,1% de cloreto de cálcio, 54,9% de citrato de sódio
II	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio
III	10,0% de leucina, 39,6% de cloreto de cálcio, 50,4% de sulfato de sódio
XIV	10,0% de maltodextrina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio

A Tabela 4 fornece composições de pó seco final esperadas. Estas composições são baseadas na expectativa de que a reação de troca iônica descrita acima vai até o final das Formulações I e III. Sem querer se comprometer com qualquer teoria particular, a evaporação da gota que ocorre durante a atomização é esperada para guiar o sal menos solúvel para precipitar primeiro, que é o citrato de cálcio e o sulfato de cálcio nas formulações I e III, respectivamente.

Tabela 4: Produtos de pó seco de atomização

Formulação	**Composição (p/p)**
I	10,0% de leucina, 52,8% de citrato de cálcio, 37,2% de cloreto de sódio
II	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio
III	10,0% de leucina, 48,4% de sulfato de cálcio, 41,6% de cloreto de sódio
XIV	10,0% de maltodextrina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio

Descrição do Placebo:

Uma formulação de placebo compreendendo 100 por cento em peso de leucina foi produzida por atomização. Uma fase aquosa foi preparada por um processo em batelada, dissolvendo leucina em água ultrapura, com agitação constante até os materiais serem completamente dissolvidos na água em temperatura ambiente. Para um processo estático de mistura, a água ultrapura foi dividida ao meio e metade do total necessário de leucina foi dissolvida em cada volume de água. As soluções foram então atomizadas usando um atomizador Niro ou Büchi. Para a formulação de placebo, dois lotes (A e B) de matérias-primas foram preparados e atomizados. A concentração de sólidos totais do lote A foi 15 g/L e do Lote B foi de 5 g/L. As condições do processo utilizado para a atomização do lote A (Placebo-A) no atomizador Niro Mobile Minor foram semelhantes às condições utilizadas para atomizar a formulação seca I-A no Exemplo 1. As condições do processo utilizado para atomizar o Lote B (Placebo-B) foram semelhantes às condições utilizadas para pulverizar a formulação seca I-C no Exemplo 1, com a condição de que a temperatura de saída foi cerca de 82 °C para a formulação Placebo-B. As informações complementares sobre as condições do processo e as propriedades de pós e/ou partículas da formulação Placebo-A e Placebo-B preparados neste exemplo são fornecidos nas tabelas ou gráficos mostrados nas Figuras 1A a 1F e 2 a 4.

EXEMPLO 1

Este exemplo descreve a preparação de pós secos utilizando matéria-prima da Formulação I: 10,0 por cento em peso leucina, 35,1 por cento em peso de cloreto de cálcio e 54,9 por cento em peso de citrato de sódio.

Uma fase aquosa foi preparada para um processo em batelada, dissolvendo leucina em água ultrapura, em seguida, citrato de sódio e, finalmente, cloreto de cálcio

dihidratado. A solução ou suspensão foi mantida agitada durante todo o processo até que os materiais foram completamente dissolvidos na água em temperatura ambiente. Para um processo estático de mistura, o sal de sódio e o sal de cálcio foram mantidos em soluções distintas. A água ultrapura foi dividida ao meio e metade do total necessário de leucina foi dissolvida em cada volume de água. O citrato de sódio dihidratado foi dissolvido em uma fase aquosa e o cloreto de cálcio dihidratado dissolvido na segunda fase aquosa. As soluções ou suspensões foram mantidas agitadas durante todo o processo até que os materiais foram completamente dissolvidos na água em temperatura ambiente. As soluções ou suspensões foram, então, atomizadas usando um atomizador Niro ou um atomizador Büchi. Para cada formulação, três lotes (A, B e C) de matérias-primas foram preparados e atomizados. Detalhes das preparações de matéria-prima líquida para cada um dos três lotes são apresentados na Tabela 5, onde a concentração de sólidos totais é registrada como o total dos pesos de material dissolvido anidro. Partículas do lote A foram preparadas utilizando matéria-prima do lote A em um atomizador Niro. Partículas dos lotes B e C foram preparadas utilizando matérias-primas correspondentes em um atomizador Büchi.

Tabela 5. Resumo das preparações de matérias-primas líquidas de quatro lotes de partículas para a Formulação I

Formulação	I-A	I-B	I-C	I-D
Mistura de matéria-prima líquida	Mistura estática	Mistura em batelada	Mistura em batelada	Mistura estática
Concentração de sólidos totais	10 g/L	5 g/L	5 g/L	15 g/L
Sólidos totais	380 g	6,25 g	10,50 g	570 g
Volume total de água	38,0 L	1,25 L	2,1 L	38 L
Quantidade de	1,00 g	0,50 g	1,05 g	1,5 g

leucina em 1 L				
Quantidade de citrato de sódio dihidratado em 1 L	6,26 g	3,13 g	3,13 g	9,39 g
Quantidade de cloreto de cálcio dihidratado em 1 L	4,65 g	2,32 g	2,32 g	6,98

Pós secos do lote A (I-A) foram produzidos por atomização no atomizador Niro Mobeile Minor (GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD) com a coleta de pó de um filtro de cartucho de produto. A atomização da matéria-prima líquida utilizou um bico de dois fluidos em co-corrente Niro (GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD) com inserção de 1,0 mm. A matéria-prima líquida foi alimentada usando bombas de engrenagem (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL) em um misturador estático (Charles Ross & Sons Company, Hauppauge, NY), imediatamente antes da sua introdução no bico de dois fluidos. Nitrogênio foi usado como gás de secagem. A temperatura de entrada de gás de processo foi ajustada para 282 °C, com a leitura da temperatura de saída de cerca de 98 °C. O gás de abastecimento do atomizador de dois fluidos foi fixado em uma vazão de 14,5 kg/h e uma pressão de 2 psi, a vazão de gás de processo foi fixada em 85 kg/h e uma pressão de 25 psi e a pressão no interior do tambor de secagem estava em -2 "WC. A vazão da matéria-prima líquida total foi de 70 mL/min, com cada fluxo que está sendo alimentado a 35 mL/min. Os pós atomizados foram coletados a partir de um filtro de cartucho de coleta de produtos.

Pós secos dos Lote B (I-B) e Lote C (I-C) foram preparados por atomização em um atomizador Büchi B-290 Mini (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suíça) com um bico de dois fluidos Büchi de 1,5 mm diâmetro e coleta de pó a partir de

um ciclone de alto desempenho. O sistema utilizou um desumidificador Büchi B-296 para assegurar uma temperatura e umidade do ar estáveis usado para atomização. A temperatura de entrada do gás de processo foi definida em 220 °C, com uma vazão de matérias-primas líquidas de 6,7 mL/min para a formulação I-B e 7 mL/min para a formulação I-C. A temperatura de saída foi cerca de 108 °C para a formulação I-B e cerca de 95 °C para a formulação I-C. O gás de atomização de dois fluidos foi de 40 mm e a taxa de aspiração de 90%.

Pós secos do lote D (I-D) foram produzidos por atomização no atomizador Niro Mobile Minor (GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD) com a coleta de pó a partir de uma membrana de filtro de produto. A atomização da matéria-prima líquida utilizou um bico de dois fluidos de Spraying Systems (Carol Stream, IL) com um gás cap 67147 e fluido cap 2850SS. A matéria-prima líquida foi alimentada usando bombas de engrenagem (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL) em um misturador estático (Charles Ross & Sons Company, Hauppauge, NY), imediatamente antes da sua introdução no bico de dois fluidos. Nitrogênio foi usado como gás de secagem. A temperatura de entrada de gás de processo foi ajustada para cerca de 265 °C, com a leitura de temperatura de saída de cerca de 99 °C. O gás de abastecimento do atomizador de dois fluidos foi fixado em uma vazão de 80 g/min, a vazão de gás de processo foi fixada em 80 kg/h e a pressão no interior do tambor de secagem foi de -2 "WC. A vazão da matéria-prima líquida total foi de 66 mL/min, com cada fluxo que está sendo alimentado em 33 mL/min. Os pós secos atomizados foram coletados a partir de uma membrana de filtro de coleta de produtos.

Algumas das propriedades físicas das partículas obtidas em quatro lotes separados (Formulação I-A, I-B, I-C e I-D) estão resumidas na Tabela 6. Além dos dados fornecidos na tabela 5, mais dados relacionados aos pós secos preparados a partir da formulação de matéria-prima I-A são resumidos como segue. A fração de partículas finas (FPF) como medido por um Impactador em cascata de 8 estágios completos Andersen com análise gravimétrica estava em média em 56,2% para a FPF inferior a 5,6 microns e 41,7% para FPF menor que 3,4 microns. O diâmetro aerodinâmico também foi medido com um ACI de estágio completo com análise gravimétrica. O valor médio para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi 2,72 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser no equipamento de dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o diâmetro mediano volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foi 2,57 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento relativamente independente da vazão, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,19. O valor para 1/4 bar para estas partículas foi 1,17.

Propriedades adicionais dos pós secos preparados a partir de matéria-prima da formulação I-D estão resumidos a seguir. A fração de partículas finas (FPF) como medida por um Impactador em cascata de 8 estágios completos Andersen com análise gravimétrica foi em média 58,8% para FPF inferiores a 5,6 microns e 46,7% para FPF inferiores a 3,4 microns. O diâmetro aerodinâmico também foi medido com um ACI de estágio completo com análise gravimétrica. O valor médio para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi de 2,38 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser sobre o equipamento de dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o

diâmetro mediano volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foi de 2,45 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento de vazão relativamente independente, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,12. O valor para 1/4 bar para estas partículas era de 1,09.

Tabela 6: Resumo de dados de ACI-2 para os quatro lotes de partículas para formulação I

Formulação	I-A	I-B	I-C	I-D
FPF menor que 5,6 µm em ACI-2 (%)	6,16	49,2	64,8	67,2
FPF menor que 3,4 µm em ACI-2 (%)	45,7	33,3	52,1	54,8

Informações adicionais relativas às propriedades de pó e/ou partículas da formulação I-A preparados neste exemplo são fornecidos nas tabelas ou gráficos mostrados nas Figuras 1A a 1F e 2 a 4. Na Figura ID, GSD se refere ao desvio padrão geométrico. Na Figura IF, Dv50 refere-se ao diâmetro médio geométrico volumétrico (VMGD) medido por um instrumento Spraytec; V se refere ao volume. SEM foi realizado como descrito acima (Fig. 5A).

EXEMPLO 2

Este exemplo descreve a preparação de pós secos utilizando matéria-prima da formulação II: 10,0 por cento em peso de leucina, 58,6 por cento em peso de lactato de cálcio e 31,4 por cento em peso de cloreto de sódio.

Uma fase aquosa foi preparada para um processo em batelada, dissolvendo leucina em água ultrapura, em seguida, cloreto de sódio e, finalmente, lactato de cálcio pentahidratado. A solução foi mantida agitada durante todo o processo até que os materiais foram completamente dissolvidos na água em temperatura ambiente. Para a formulação de lactato de cálcio, quatro lotes (A, B, C e D) de matéria-prima foram preparados e atomizados. Detalhes sobre as preparações de matéria-prima líquida para cada um

dos quatro lotes são apresentados na Tabela 7, onde a concentração de sólidos totais é relatada como o total dos pesos de material dissolvido anidro. Partículas dos lotes A e D foram preparadas com matéria-primas dos lotes A e D, respectivamente, em um atomizador Niro. As condições de processo usadas para atomização do lote A (II-A) foram semelhantes às condições usados para atomizar a formulação I-A no Exemplo 1 e para o lote D (II-D) foram semelhantes às condições usadas para atomizar a formulação I-D no Exemplo 1. As partículas dos lotes B e C foram preparadas utilizando matérias-primas correspondentes em um atomizador Büchi Mini com condições de processo similares às utilizadas para atomizar as formulações I-B e I-C no Exemplo 1, com exceção das condições de processo a seguir. A vazão de matéria-prima líquida foi fixada em 5,2 mL/min para a formulação II-B e 6 mL/min para a formulação II-C. A temperatura de saída foi cerca de 91 °C a 109 °C para a formulação IIB e cerca de 100 °C para a formulação II-C.

Tabela 7. Resumo das preparações de matérias-primas líquidas de quatro lotes de partículas para a formulação II

Formulação	II-A	II-B	II-C	II-D
Mistura de matéria-prima líquida	Mistura estática	Mistura em batelada	Mistura em batelada	Mistura estática
Concentração de sólidos totais	10 g/L	5 g/L	5 g/L	15 g/L
Sólidos totais	400 g	10,0 g	9,20 g	570 g
Volume total de água	40,0 L	2,00 L	1,84 L	38 L
Quantidade de leucina em 1 L	1,00 g	0,50 g	0,50 g	1,5 g
Quantidade de cloreto de sódio em 1 L	3,14 g	1,57 g	1,57 g	4,71 g
Quantidade de lactato	8,28 g	4,13 g	4,13 g	12,42 g

de cálcio pentahidratado em 1 L				

Algumas das propriedades físicas das partículas obtidas em quatro lotes separados (formulação II-, II-B, II-C e II-D) estão resumidas na Tabela 8. Além dos dados fornecidos na Tabela 8, mais dados sobre as partículas secas preparados da formulação II-A de matéria-prima são resumidos como segue. A fração de partículas finas (FPF) como medida por um Impactador em cascata de 8 estágios completos Andersen com análise gravimétrica foi em média 55,3% para FPF inferiores a 5,6 microns e 39,7% para FPF inferiores a 3,4 microns. O diâmetro aerodinâmico também foi medido com um ACI de estágio completo com análise gravimétrica. O valor médio para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi de 2,89 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser sobre o equipamento de dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o diâmetro mediano volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foi de 1,51 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento de vazão relativamente independente, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,12. O valor de 1/4 bar para estas partículas foi de 1,08.

Propriedades adicionais de pós secos preparados da matéria-prima da formulação II-D estão resumidos a seguir. A fração de partículas finas (FPF) como medida por um Impactador em cascata de 8 estágios completos Andersen com análise gravimétrica foi em média 62,2% para FPF inferior a 5,6 microns e 45,3% para FPF inferior a 3,4 microns. O diâmetro aerodinâmico também foi medido com um ACI de estágio completo com análise gravimétrica. O valor médio para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi 2,72 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser sobre o equipamento de

dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o diâmetro mediano volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foi de 1,47 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento de vazão relativamente independente, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,08. O valor de 1/4 bar para estas partículas foi de 1,03.

Tabela 8. Resumo de dados de ACI-2 para os quatro lotes de partículas para a formulação II

Formulação	II-A	II-B	II-C	II-D
FPF menor que 5,6 µm em ACI-2 (%)	6,35	55,4	56,5	71,4
FPF menor que 3,4 µm em ACI-2 (%)	43,4	35,5	34,7	49,7

Informações adicionais relativas às propriedades dos pós e/ou partículas da formulação II preparados neste exemplo são fornecidos nas tabelas ou gráficos mostrados nas Figuras 1A a 1F e 2 a 4. SEM foi realizado como descrito acima (Fig. 5B).

EXEMPLO 3

Este exemplo descreve a preparação de pós secos utilizando matéria-prima da Formulação III: 10 por cento em peso de leucina, 39,6 por cento em peso de cloreto de cálcio e 50,4 por cento em peso de sulfato de sódio.

Uma fase aquosa foi preparada para um processo em batelada, dissolvendo leucina em água ultrapura, em seguida, sulfato de sódio e, finalmente, cloreto de cálcio dihidratado. A solução ou suspensão foi mantida agitada durante todo o processo até que os materiais foram completamente dissolvidos na água em temperatura ambiente. Para um processo estático de mistura, o sal de sódio e o sal de cálcio foram mantidos em soluções distintas. A água ultrapura foi dividida ao meio e metade do total necessário de leucina foi dissolvida em cada volume de água. O sulfato de sódio foi dissolvido em uma fase aquosa e o cloreto de cálcio dihidratado dissolvido na segunda fase aquosa. As soluções ou

suspensões foram mantidas agitadas durante todo o processo até que os materiais foram completamente dissolvidos na água em temperatura ambiente. As soluções ou suspensões foram, então, atomizadas usando um atomizador Niro ou Büchi. Para cada formulação, quatro lotes (A, B, C e D) de matéria-prima foram preparados e atomizados. Detalhes sobre as preparações de matéria-prima líquida para cada um dos quatro lotes são apresentados na Tabela 9, onde a concentração de sólidos totais é relatada como o total dos pesos de material dissolvido anidro. Partículas dos lotes A e D foram preparadas com matéria-prima dos lotes A e D, respectivamente, em um atomizador Niro. As partículas dos lotes B e C foram preparadas utilizando matérias-primas correspondentes em um atomizador Büchi. As condições do processo utilizado para atomizar o lote A foram (III-A), semelhante às condições utilizadas para atomizar a formulação I-A no Exemplo 1 e as condições do processo utilizado para atomizar o lote D (III-D) foram semelhantes às condições utilizadas para atomizar a formulação I-D no Exemplo 1. As partículas dos lotes B e C foram preparadas utilizando matérias-primas correspondentes em um atomizador Büchi Mini com condições de processo similares às utilizadas para atomizar as formulações I-B e I-C no Exemplo 1, com exceção das condições de processo a seguir. A vazão de matéria-prima líquida foi fixada em 8,3 mL/min para a formulação III-B e 7 mL/min para a formulação III-C. A temperatura de saída foi cerca de 83 °C para a formulação III-B e cerca de 92 °C para a formulação III-C. O aspirador foi fixado em 80% para Formulação III-B.

Tabela 9. Resumo das preparações de matérias-primas líquidas de quatro lotes de partículas para a formulação III

Formulação	III-A	III-B	III-C	III-D
Mistura de matéria-prima líquida	Mistura estática	Mistura em	Mistura em	Mistura estática

		batelada	batelada	
Concentração de sólidos totais	10 g/L	5 g/L	5 g/L	15 g/L
Sólidos totais	400 g	2,5 g	9,5 g	185 g
Volume total de água	40,0 L	0,5 L	1,9 L	378 L
Quantidade de leucina em 1 L	1,00 g	0,50 g	0,50 g	0,5 g
Quantidade de sulfato de sódio em 1 L	5,04 g	2,52 g	2,52 g	2,52 g
Quantidade de cloreto de cálcio dihidratado em 1 L	5,25 g	2,61 g	2,61 g	2,61 g

As propriedades físicas das partículas obtidas em quatro lotes separados (formulação III-A, III-B, III-C e III-D) estão resumidas na Tabela 10. Além dos dados fornecidos na Tabela 10, mais dados sobre os pós secos preparados a partir de matéria-prima da formulação III-A são resumidos como segue. A fração de partículas finas (FPF) como medida por um Impactador em cascata de 8 estágios completos Andersen com análise gravimétrica foi em média 68,7% para FPF inferior a 5,6 microns e 51,5% para FPF inferior a 3,4 microns. O diâmetro aerodinâmico também foi medido com um ACI de estágio completo com análise gravimétrica. O valor médio para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi de 2,59 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser sobre o equipamento de dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o diâmetro mediano volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foi de 2,50 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento de vazão relativamente independente, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,47. O valor de 1/4 bar para estas partículas foi de 1,42.

Propriedades adicionais do pó seco preparado pela matéria-prima de formulação III-D estão resumidos a seguir. A fração de partículas finas (FPF) como medido por um Impactador em cascata de 8 estágios completos Andersen com análise gravimétrica foi em média 77,9% para a FPF inferior a 5,6 microns e 68,3% para FPF inferior a 3,4 microns. O diâmetro aerodinâmico também foi medido com um ACI de estágio completo com análise gravimétrica. O valor médio para o diâmetro aerodinâmico médio mássico (MMAD) foi de 2,17 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser sobre o equipamento de dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o diâmetro médio volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foi de 1,90 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento de vazão relativamente independente, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,17. O valor de 1/4 bar para estas partículas foi de 1,63.

Tabela 10. Resumo de dados de ACI-2 para os quatro lotes de partículas da Formulação III

Formulação	III-A	III-B	III-C	III-D
FPF menor que 5,6 µm em ACI-2 (%)	82,7	62,0	69,0	82,8
FPF menor que 3,4 µm em ACI-2 (%)	60,1	47,4	53,2	70,9

Informações adicionais relativas às propriedades dos pós e/ou partículas da formulação III preparados neste Exemplo são fornecidas nas tabelas ou gráficos mostrados nas Figuras 1A a 1F e 2 a 4. SEM foi realizado como descrito acima (Figura 5C).

EXEMPLO 4

Este exemplo descreve a emissão de dose de pó de lotes de formulação I-B, II-B e III-B de inalador de pó seco em condições ambientais e elevadas.

Método: pós atomizados das três formulações diferentes (I-B, II-B e III-B) foram acondicionados em cápsulas de tamanho 2 HPMC (Quali-V, Qualicaps, Whitsett, NC) para cerca de metade (13 a 30 mg dependendo do pó). As cápsulas foram perfuradas antes de serem carregadas em um dos quatro DPIs de cápsula, a fim de garantir adequada abertura de buraco na cápsula. As cápsulas foram colocadas horizontalmente nos inaladores que foram, então, conectados à câmara de costumização. Cada inalador de pó seco tinha um transdutor de pressão conectado a ele para monitorar a vazão através do inalador durante o teste. Quando o teste foi iniciado, um fluxo de ar de 45 L/min foi puxado através de cada um dos inaladores para três rajadas curtas de 0,3 segundos cada, separados por um minuto. Durante cada rajada, o ar aspirado através do inalador fez com que a cápsula girasse e emitisse o pó em uma das 4 sub-câmaras que tinha uma linha de três poços de cultura de tecidos que formam o piso da sub-câmara. A nuvem de aerossol foi deixado em repouso por um minuto antes da rajada da rajada subsequente para um total de 3 rajadas e um volume de ar total de 0,68 L sendo puxado através do inalador. A duração e a taxa de fluxo de ar total foi controlada com um controlador de fluxo (TPK-2000, MSP Corporation, Shoreview, MN) e gravada com um medidor de fluxo de massa de ar (modelo #3063, TSI Inc., Shoreview, MN). As taxas do inalador de ar foram monitoradas com sensores de pressão (modelo #ASCX01DN, Honeywell International Inc., Morristown, NJ), que tinham sido previamente calibrados e cujo sinal foi convertido para taxa de fluxo através de um código Lab-view personalizado. Em um caso, a câmara de costumização foi colocada na bancada do laboratório em condições ambientais, enquanto que em outros 2 casos, foi colocada em uma câmara de estabilidade (Darwin Chambers

Company, St. Louis, MO) ajustada a 37 °C e 90% RH. Para o primeiro caso na câmara de estabilidade, as cápsulas foram perfuradas e carregadas em inaladores em condições ambientais, a porta do câmara foi aberta, os inaladores fixados e a taxa de fluxo foi acionada ~30 segundos após as cápsulas entrarem na câmara. No segundo caso, as cápsulas foram inicialmente colocadas sem perfuração na câmara de estabilidade por três minutos, e depois removidas da câmara, perfuradas e carregadas em condições ambientais, o inalador foi fixado à câmara e acionado dentro de 30 segundos da segunda entrada para a câmara. Após cada teste, as cápsulas foram retiradas dos inaladores e pesadas e usadas para calcular a porcentagem de pó emitido a partir da cápsula. Para cada um dos três conjuntos de condições, duas placas de tecido de cultura de 12 poços (cada placa requereu 4 cápsulas em 4 inaladores liberando pó para 3 poços cada) foram expostas ao pó para cada uma das formulações de pó testadas, dando um total de 8 emissões de cápsula para cada pó em cada ajuste de temperatura e umidade.

Como mostrado na Tabela 11 abaixo, para todos os três lotes em pó (I-B, II-B e III-B) a quantidade média de pó emitido a partir da cápsula é maior que 99% com base na mudança de peso da cápsula.

Tabela 11. Percentagem de dose emitida

Lote de pó	% de dose emitida
I-B	99,45
II-B	100,0
III-B	99,38

EXEMPLO 5

Este exemplo descreve as propriedades de dispersão e propriedades de densidade das formulações IA, II-A, III-A e formulação de leucina

para o placebo conforme resumido na Tabela 12. Todos os dados encontrados na Tabela 12 também podem ser encontrados nas Figuras 1A a 1E. Como evidenciado pelos resultados apresentados na Tabela 12, todas as formulações são altamente dispersíveis, o que significa que seus tamanhos de volume medido são relativamente independentes da pressão por HELOS/RODOS. Como mostrado na Tabela 12, a proporção dos tamanhos de volume médio obtida em baixas pressões de dispersão (0,5 bar ou 1,0 bar) e a uma alta pressão de dispersão (4,0 bar) pode ser usada como um indicador de dispersão. Estes valores são referidos como a proporção 0,5 bar/4,0 bar ou a proporção de 1,0 bar/4,0 bar.

A densidade derivada foi determinada por USP<616> modificado usando um método de tubo de microcentrífuga de 1,5 cm^3 e o valor médio para a densidade derivada em 1.000 derivadas foram 0,29, 0,69, 0,34, e 0,04 g/cm^3, respectivamente. O MMAD, medido por um Impactador em cascata Andersen (ACI) de estágio completo (oito estágios), foram 2,72, 2,89, 2,59, 4,29 um, respectivamente. A FPF abaixo dos 3,4 um, como medido em um ACI de estágio completo, eram 41,7%, 39,7%, 51,5% e 17,4%, respectivamente, e abaixo de 5,6 um eram 56,2%, 55,3%, 68,7% e 32,5%, respectivamente. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser e os valores médios para o diâmetro médio volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar foram 2,57 microns, 1,51 microns, 2,50 microns e 6,47 microns, respectivamente. Valores para os valores de pressão de 0,5 bar, 2,0 bar e 4,0 bar podem ser observados na Tabela 12. Além disso, o pó exibiu comportamento

de vazão relativamente independente, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, como mostrado na Tabela 12. Os valores são 1,19, 1,12, 1,47 e 1,62, respectivamente. A tabela também inclui valores para a razão de 1,0 bar para 4,0 bar, por causa da comparação com outras técnicas, já que esta é uma outra medida de dependência da vazão.

Tabela 12. Propriedades de dispersão e densidade das formulações I-A, II-A e III-A

Formulação	Densidade	ACI-8, gravimétrico			Tec. Atom.	HELOS/RODOS			
	Densidade derivada (g/cm^3)	MMAD (um)	FPF_TD < 3,4 um	FPF_TD < 5,6 um	Dv50 (um)	Pressão do regulador (bar)	X50 (µm)	0,5 bar/ 4 bar	1 bar/ 4 bar
	Ave	Ave	Ave	Ave	Ave		Ave		
Formulação I-A	0,29	2,72	41,7%	56,2%	3,07	0,5	2,62	1,19	1,17
						1,0	2,57		
						2,0	2,49		
						4,0	2,20		
Formulação II-A	0,69	2,89	39,7%	55,3%	1,78	0,5	1,57	1,12	1,08
						1,0	1,51		
						2,0	1,47		
						4,0	1,40		
Formulação III-A	0,34	2,59	51,5%	68,7%	3,05	0,5	2,59	1,47	1,42
						1,0	2,50		
						2,0	2,17		
						4,0	1,76		
Placedo (100% de leucina)	0,04	4,29	17,4%	32,5%	21,77	0,5	7,68	1,62	1,37
						1,0	6,47		
						2,0	5,69		
						4,0	4,74		

EXEMPLO 6

Este exemplo descreve a preparação de pós secos utilizando matéria-prima das formulações 6,1 a 6,9 conforme listado na Tabela 13 abaixo.

Tabela 13: Formulações de matéria-prima 6,1 a 6,9

Formulação	% de composição e peso (p/p)
6,1	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio
6,2	50,0% de leucina, 48,4% de lactato de cálcio, 1,6% de cloreto de sódio
6,3	10,0% de leucina, 66,6% de lactato de cálcio, 23,4% de cloreto de sódio
6,4	10,0% de leucina, 35,1% de cloreto de cálcio, 54,9% de citrato de sódio
6,5	67,1% de leucina, 30,0% de cloreto de cálcio, 2,9% de citrato de sódio
6,6	39,0% de clorteo de cálcio, 61,0% de citrato de sódio
6,7	10,0% de leucina, 39,6% de cloreto de cálcio, 50,4% de sulfato de sódio
6,8	67,6% de leucina, 30,0% de cloreto de cálcio, 2,4% de sulfato de sódio
6,9	44,0% de cloreto de cálcio, 56,0% de sulfato de sódio

O modo geral de preparação dos pós secos neste exemplo é semelhante ao que foi descrito para o pó nos exemplos acima, com a condição de que todos os pós secos neste exemplo foram atomizados usando um atomizador Büchi B-290 com ciclone de alto desempenho. As formulações 6.1, 6,4 e 6,7, neste exemplo, correspondem às formulações II-B, IB e III-B nos exemplos acima, respectivamente.

As propriedades físicas dos pós e/ou partículas obtidos neste exemplo estão resumidos nas Tabelas mostradas nas Figuras 6A e 6B. As formulações 6,1 a 6,9 na Tabela 13

correspondem às formulações 6,1 a 6,9 nas Figuras 6A e 6B, respectivamente. Na Figura 6A, x50 e DV50 se referem ao diâmetro médio volumétrico ou diâmetro de volume médio geométrico (VMGD) e GSD se refere ao desvio padrão geométrico. Na Figura 6B, % de rendimento refere-se a porcentagem do peso do produto recolhido na jarra de coleta fixada ao ciclone de alto desempenho dividida pelo peso dos solutos na matéria-prima. Todas as outras siglas são descritas em outras partes do pedido.

EXEMPLO 7

Este exemplo descreve a emissão de dose de pós preparados pelas formulações 6,1 a 6,9 de matéria-prima a partir de um inalador de pó seco nas condições ambientes e elevadas. Alguns desses dados também são apresentados acima, no Exemplo 4.

Método: pós atomizados de nove formulações de matéria-prima 6,1 a 6,9 foram preenchidos separadamente em cápsulas de tamanho 2 HPMC (Quali-V, Qualicaps, Whitsett, NC) para cerca metade (13 a 30 mg, dependendo do pó). As cápsulas foram perfuradas antes de serem carregadas em uma das quatro cápsula com base em DPIs, a fim de garantir adequada abertura do buraco na cápsula. As cápsulas foram colocadas horizontalmente nos inaladores que foram, então, conectados à câmara de costumização. Cada inalador de pó seco tinha um transdutor de pressão conectado a ele para monitorar a vazão através do inalador durante o teste. Quando o teste foi iniciado, um fluxo de ar de 45 L/min foi puxado através de cada um dos inaladores por três rajadas curtas de 0,3 segundos cada, separados por um minuto. Durante cada rajada, o ar aspirado através do inalador fez com que a cápsula girasse e emitisse o pó em uma das 4 sub-câmaras que tinha uma linha de três poços de cultura de tecidos que formam o piso da sub-câmara. A nuvem de

aerossol foi deixada em repouso por um minuto antes da rajada subsequente para um total de 3 rajadas e um volume de ar total de 0,68 L sendo puxado através do inalador. A duração e a taxa de fluxo de ar total foi controlada com um controlador de fluxo (TPK-2000, MSP Corporation, Shoreview, MN) e registrada com um medidor de fluxo de massa de ar (modelo #3063, TSI Inc., Shoreview, MN). As taxas do inalador de ar foram monitoradas com sensores de pressão (modelo #ASCX01DN, Honeywell International Inc., Morristown, NJ), que tinham sido previamente calibrados e cujo sinal foi convertido para taxa de fluxo através de um código Lab-view personalizado. Em um caso, a câmara de costumização foi colocada na bancada do laboratório em condições ambientais, enquanto que em outros 2 casos, foi colocada em uma câmara de estabilidade (Darwin Chambers Company, St. Louis, MO) ajustada a 37 °C e 90% RH. Para o primeiro caso na câmara de estabilidade, as cápsulas foram perfuradas e carregadas em inaladores em condições ambientais, a porta do câmara foi aberta, os inaladores fixados e a taxa de fluxo foi acionada ~30 segundos após as cápsulas entrarem na câmara. No segundo caso, as cápsulas foram inicialmente colocados sem perfuração na câmara de estabilidade por três minutos, e depois removidas da câmara, perfuradas e carregadas em condições ambientais, fixadas na câmara e acionadas dentro de 30 segundos da segunda entrada na câmara. Após cada teste, as cápsulas foram retiradas do inaladores e pesadas e usadas para calcular a porcentagem de pó emitido a partir da cápsula. Para cada um dos três conjuntos de condições, duas placas de tecido de cultura de 12 poços (cada placa requereu 4 cápsulas em 4 inaladores liberando pó para 3 poços cada) foram expostas ao pó para cada uma das formulações em pó

testada, dando um total de 8 emissões de cápsula para cada pó em cada ajuste de temperatura e umidade.

Como mostrado na Tabela 14 abaixo, para todos os nove lotes de pó (matéria-prima obtida utilizando as formulações 6,1 a 6,9) a quantidade média de pó emitido a partir da cápsula é superior a 98% com base na mudança de peso da cápsula.

Tabela 14. Porcentagem da dose emitida

Formulação	Dose emitida (%)
6,1	100,00%
6,2	98,89%
6,3	99,85%
6,4	99,45%
6,5	99,68%
6,6	100,00%
6,7	99,38%
6,8	98,05%
6,9	100,00%

EXEMPLO 8

Este exemplo descreve os resultados de um estudo de estabilidade de curto prazo que foi conduzido para os pós secos preparados das formulações de matérias-primas 6.1, 6.4 e 6.7.

Uma característica importante de produtos farmacêuticos em pó seco é a estabilidade a diferentes temperaturas e umidade. Uma propriedade que pode levar a um pó instável é a tendência do pó para absorver umidade do ambiente, que então provavelmente conduzirá a aglomeração das partículas, alterando assim o tamanho aparente das partículas do pó em condições de dispersão similares. Pós atomizados foram mantidos em uma série de condições para um período de uma semana a três meses ou mais e periodicamente testados para distribuição de tamanho de partícula.

Condições de armazenamento incluíram cápsulas fechadas em frascos a 25 °C e 60% RH, cápsulas fechadas em frascos a 40 °C e 75% RH, cápsulas fechadas em temperatura ambiente e 40% RH, cápsulas abertas a 30 °C e 65% UR e cápsulas abertas a 30 °C e 75% RH. Cápsulas de tamanho de 3 HPMC (Quali-V, Qualicaps, Whitsett, NC) foram cheias até a metade de cada pó seco. Uma amostra foi analisada imediatamente com Spraytec (Malvern Instruments Inc., Westborough, MA), um sistema de dimensionamento de partícula atomizad por difração a laser, onde pós secos podem ser dispersos de um inalador usando a configuração de células do inalador. Cerca de 16 cápsulas foram preenchidas com pó de cada preparação utilizando soluções de matéria-prima 6,1, 6,4 e 6.7. As cápsulas foram mantidas em laboratório em condições controladas de umidade e temperatura (~23 a 28% de umidade relativa), e também no laboratório externo à temperatura e umidade relativa variando (~40 a 75% RH). As cápsulas mantidas em condições de armazenamento de 25 °C e 60% RH, 40 °C e 75% de umidade relativa, 30 °C e 65% RH e 30 °C e 75% de umidade relativa foram mantidas em câmaras de estabilidade (Darwin Chambers Company, St. Louis, MO) ajustadas naquelas condições. Em momentos específicos (variando de 30 min a 3 meses), 1 a 3 cápsulas de cada condição foram testadas com Spraytec para distribuição geométrica de tamanho de partícula e com ACI-2 para propriedades de tamanho de partícula.

Geralmente, os pós que estavam em cápsulas fechadas em frascos permaneceram estáveis por um longo período de tempo, mais de três meses. Pós em cápsulas que foram abertas sem frascos mostraram aglomeração após a exposição a condições de maior umidade. Os dados de estabilidade estão resumidos na Tabela 15 abaixo.

Tabela 15. Dados de Estabilidade de curto prazo

Formulação	Contra-íon	Excipiente	Cápsulas fechadas em frascos		Cápsulas fechadas sem frascos		Cápsulas abertas sem frascos			
			25 °C/ 60% RH	40 °C/ 75% RH	Spraytec 40% RH	ACI-2 40% RH	Spraytec 30 °C/ 65% RH	ACI-2 30 °C/ 65% RH	Spraytec 30 °C/ 75% RH	ACI-2 30 °C/ 75% RH
6,1	Lactato	10% de leucina	> 3 meses	0,5 a 1 mês	> 8 dias	4 a 6 dias	> 30 min	> 30 min	> 30 min	> 30 min
6,4	Citrato	10% de leucina	> 3 meses	1 a 3 meses	> 7 dias	N/A	> 30 min	> 30 min	> 30 min	> 30 min
6,7	Sulfato	10% de leucina	> 3 meses	1 a 3 meses	2 a 7 dias	N/A	> 30 min	> 30 min	> 30 min	> 30 min

EXEMPLO 9

Este exemplo descreve um ensaio de passagem bacteriana realizado com pós secos preparados usando as formulações de matéria-prima A a E.

Método: Para testar o efeito das formulações em aerossol de pó seco sobre o movimento de bactérias através do muco, um modelo de passagem foi usado. Neste modelo, 200 mL de alginato de sódio 4% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) foi adicionado à superfície apical de 12 milímetros da membrana Costar Transwell (Corning, Lowell, MA; tamanho dos poros 3,0 µm) e, posteriormente, expostos para secar as formulações em pó. Os pós secos foram colocados por aerossol para dentro da câmara através de um insuflador de pó seco (Penn-Century, Inc., Philadelphia, PA) e deixados em repouso por gravidade ao longo de um período de 5 minutos. Após essa exposição, 10 µL de *Klebsiella pneumoniae* (~10^7 CFU/mL em solução salina) foi adicionado à superfície apical da mimética. Em vários pontos do tempo após a adição das bactérias, as alíquotas do tampão basolateral foram registradas e o número de bactérias em cada alíquota foi determinado pela diluição em série e plaqueamento em placas de ágar de sangue. Um esquema deste método é mostrado na Figura 7. A concentração de sal que foi liberada a cada Transwell foi quantificada por HPLC. Para este fim, poços vazios da placa de cultura de células de 12 poços que estavam ao lado de cada Transwell e foram expostos à mesma dose da formulação foram lavadas com água estéril e diluídas 1:1 com ácido acético para solubilizar os sais de cálcio em cada pó.

O efeito dos pós contendo cálcio no movimento de *K. pneumoniae* através do muco de sódio alginato mimético foi testado. Formulações de pó seco compreendendo sais de cálcio com perfis de solubilidade diferentes, juntamente

com leucina e cloreto de sódio, foram selecionadas para a atividade. A Tabela 16 (abaixo) lista as formulações de matéria-prima do pó que foram testadas. Uma carga de 50,0% (p/p) de leucina na composição foi necessária, ao contrário da carga de leucina de 10,0% (p/p) nas formulações descritas nos exemplos acima, devido a limitações de dosagem e detecção do modelo de passagem. A relação molar de cálcio e sódio foi escolhida para cada formulação para atingir uma razão molar de 1:1, apesar de não precisar ir muito baixo sobre o peso relativo de qualquer sal em particular. Portanto, lactato, citrato e acetato das formulações utilizadas não estavam em razão molar de 1:1, para manter o peso do cloreto de sódio e do cloreto de cálcio nas formulações, respectivamente, acima de cerca de 10% em peso.

Tabela 16: Formulações de matéria-prima

Formulação	**Composição (p/p)**	**Razão molar Ca:Na**
A	50,0% de leucina, 22,0% de cloreto de cálcio, 28,0% de sulfato de sódio	1,0:2,0
B	50,0% de leucina, 25,5% de cloreto de cálcio, 24,5% de carbonato de sódio	1,0:2,0
C	50,0% de leucina, 19,5% de cloreto de cálcio, 30,5% de citrato de sódio	1,0:2,0
D	50,0% de leucina, 37,0% de lactato de cpalcio, 13,0% de cloreto de sódio	1,0:1,3
E	50,0% de leucina, 33,75% de acetato de cálcio, 16,25% de cloreto de sódio	1,0:1,8

Os resultados para este teste são mostrados nas Figuras 8A e 8B. As duas figuras diferentes representam dois diferentes conjuntos de experimentos, executados nas mesmas condições. Os dados de controle de leucina e sulfato permitem a comparação relativa entre os dois conjuntos de experimentos. Os pós contendo os ânions sulfato, lactato e

acetato, ou seja, os pós secos preparados a partir de matéria-prima das formulações A, D e E, respectivamente, reduziram o movimento das bactérias em todo o mimético, enquanto que os pós contendo ânions carbonato e citrato, ou seja, pós secos preparados a partir de matéria-prima das formulações B e C, não apresentaram efeito. Esses resultados correlacionados com a solubilidade conhecida dos sais de cálcio na água, sugerem que a possível falha de sais de carbonato e citrato de inibir o movimento de *K. pneumoniae* pode estar relacionado com a solubilidade desses pós na superfície do alginato de sódio mimético. Esta conclusão também é baseada na suposição plausível que a reação de troca iônica descrita anteriormente vai até o final durante a atomização, e que a forma do sal de cálcio nas formulações de A a E é sulfato de cálcio, carbonato de cálcio, citrato de cálcio, lactato de cálcio e acetato de cálcio, respectivamente. A solubilidade destes sais a partir do menos solúvel ao mais solúvel: carbonato de cálcio < citrato de cálcio < sulfato de cálcio < lactato de cálcio < acetato de cálcio. (Ver Tabela 1 acima.)

EXEMPLO 10

Este exemplo descreve o desempenho dos pós secos na redução da replicação viral, utilizando um modelo de replicação viral.

Neste exemplo, uma série de estudos de resposta a dose com pó preparado a partir de diferentes formulações de matéria-prima composta por diferentes sais de cálcio é descrito. Os pós secos foram feitos com leucina, um sal de cálcio (cloreto ou lactato) e de sódio (cloreto, sulfato, citrato ou carbonato). As formulações de matérias-prima listadas 10-1, 10-2 e 10-3 foram atomizadas em um atomizador Büchi mini B-290. O sistema utilizou um desumidificador BÜchi B-296 para assegurar uma temperatura

e umidade do ar estáveis usado para atomização. A formulação de matéria-prima 10-4 foi atomizada em um atomizador Niro Mobile Minor em um ciclo aberto com nitrogênio.

Quatro matérias-primas líquidas foram preparadas com os seguintes componentes e proporções (porcentagem em peso), conforme listado na Tabela 17.

Tabela 17: Formulações de matéria-prima

Formulação	**Composição da matéria-prima (p/p)**	**Número do lote**	**Razão molar Ca:Na**
10-1	50,0% de leucina, 37,0% de lactato de cálcio, 13,0% de cloreto de sódio	45.6.1	1,0:1,3
10-2	50,0% de leucina, 22,0% de cloreto de cálcio, 28,0% de sulfato de sódio	27.155.1	1,0:2,0
10-3	50,0% de leucina, 19,5% de cloreto de cálcio, 30,5% de citrato de sódio	27.156.1	1,0:2,0
10-4	50,0% de leucina, 25,5% de cloreto de cálcio, 24,5% de carbonato de sódio	26.019.1	1,0:2,0

Uma carga de 50,0% (p/p) de leucina na composição foi necessário, ao contrário da carga de leucina de 10,0% (p/p) nas formulações descritas nos exemplos acima, devido a limitações de dosagem e detecção viral no modelo de replicação. A razão molar de cálcio e sódio foi escolhida para cada formulação para atingir uma razão molar de 1:1, apesar de não precisar ir muito baixo do peso relativo de qualquer sal em particular. Portanto, as formulações de lactato e citrato utilizadas não estavam em razão molar de 1:1, para manter o peso do cloreto de sódio e do cloreto de cálcio nas formulações, respectivamente, acima de cerca de 10% em peso.

As Formulações 10-1, 10-2 e 10-3 foram atomizadas com concentrações de sólidos de matéria-prima de 5 g/L, enquanto a quantidade exata de sais e excipiente dissolvido em água ultrapura e seu volume específico foram variadas. Foram utilizadas as seguintes configurações de processo: temperatura de entrada de 220 °C, taxa de fluxo de líquido em condições ambientais de aproximadamente 10 mL/min, em 23,2 a 24,6 °C e 19-21% RH, e ar desumidificador em 3 a 5 °C e 30% RH. A taxa de temperatura de saída do ciclone, e aspirador foram variadas. A formulação 10-1 foi atomizada usando um ciclone de alta performance com o aspirador de 80% e uma temperatura de saída de 93 °C. As formulações de pó seco 10-2 e 10-3 foram feitas com o ciclone regular, um aspirador a 100% e uma temperatura de saída de 111 a 115 °C. A formulação 10-4 foi atomizada com uma concentração de sólidos de 2,7 g/L e as seguintes configurações de processo: temperatura de entrada de 140 °C, temperatura de saída de 75 °C, vazão de matérias-primas líquidas de 30 mL/min, vazão de gás de processo de 100 kg/h, vazão de gás do atomizador de 20 g/min e uma pressão da câmara de atomização em tambor de -2 "WC.

Um modelo de cultura de células de infecção por influenza foi usado para estudar os efeitos das formulações 1 a 4. Células Calu-3 (American Type Culture Collection, Manasas, VA) foram cultivadas em membranas permeáveis (Transwells 12 mm; tamanho dos poros 0,4 µm, Corning Lowell, MA) até confluentes (a membrana foi totalmente coberta com células) e culturas de interface ar-líquido (ALI) foram estabelecidas ao remover o meio apical e cultura em 37 °C/5% de CO_2. As células foram cultivadas por > 2 semanas em ALI antes de cada experimento. Antes de cada experimento a superfície apical de cada Transwell foi lavada 3X com PBS (Hyclone, Logan, UT). As células Calu-3

foram expostas ao pó seco utilizando uma câmara de sedimentação de pó seco em particular. Para expor as células a doses equivalentes de cálcio, as cápsulas foram preenchidas com diferentes quantidades de cada pó. Os pesos de preenchimento alto, médio e baixo foram calculados com base na correspondência à quantidade de cálcio liberada por cada pó (4,23 mg, 1,06 mg e 0,35 mg). Para cada condição de pó seco testada, duas cápsulas foram pesadas como vazio, cheio e após a exposição, a fim de determinar a dose emitida do pó. A Tabela 18 (abaixo) mostra os pesos de preenchimento da cápsula antes e após a exposição e a concentração de cálcio liberada às células, conforme determinado por medições de HPLC. Imediatamente após a exposição, o meio basolateral (meio no lado inferior da Transwell) foi substituído por um meio fresco. Poços triplicados foram expostos ao pó seco de cada formulação de matéria-prima em cada teste. Uma segunda placa de cultura de células foi exposta ao mesmo pó seco das formulações de matéria-prima para quantificar a liberação de sal total ou cálcio para as células. Uma hora após a exposição, as células foram infectadas com 10 µL de Influenza A/WSN/33/1 (H1N1) ou Influenza A/Panama/2007/99 (H3N2) em uma multiplicidade de infecções de 0,1 a 0,01 (0,1 a 0,01 vírions por célula). Quatro horas após o tratamento com aerossóis, as superfícies apicais foram lavadas para remover o excesso de pó seco e solto vírus e as células foram cultivadas por uma 20 h adicionais em 37 °C, mais 5% de CO_2. Vinte e quatro horas após o tratamento com aerossol, o vírus liberado para a superfície apical das células infectadas foi coletado na cultura do meio ou PBS e a concentração do vírus na lavagem apical foi quantificada por ensaio de $TCID_{50}$ (50% de Dose de Cultura de Tecidos Infecciosos). O ensaio de $TCID_{50}$ é um ensaio de diluição

padrão de ponto final que é usado para quantificar o quanto de um vírus está presente em uma amostra.

Tabela 18. Pó seco elaborado a partir de formulações de matérias-prima 10-1 a 10-4, testado para avaliar seu efeito sobre a infecção por Influenza A/WSN/33/1 em um modelo de cultura celular. Formulações de pó seco foram testadas para avaliar seu efeito sobre a infecção por Influenza A/WSN/33/1 em um modelo de cultura celular. Para liberar uma quantidade equivalente de íons cálcio (Ca^{+2}), o peso desejado de preenchimento foi calculado para cada formulação de pó seco. Cápsulas Qualicap foram pesadas vazios, preenchidas e após a exposição para determinar a dose emitida. Poços triplicados foram expostos a cada cápsula e depois os poços foram lavados. Análise de HPLC destas amostras determinou a quantidade de Ca^{+2} libarada às células. * significa o uso de duas cápsulas para atingir o peso de preenchimento desejado. [a] significa um n = 3, [b] significa n = 1

Formulação de matéria-prima (para pós secos)	Preenchimento pretendido (mg)	Cápsula vazia (mg)	Cápsula cheia (mg)	Cápsula após exposição (mg)	Concentração de íon cálcio determinada por HPLC ($\mu g/cm^2$)
10-2 (50,0% de leucina, 22,0% de cloreto de cálcio, 28,0% de sulfato de sódio)	53,18	31,7	83,0	31,9	20,5 ± 0,7[a]
	13,29	32,5	45,9	33,9	5,8[b]
	4,43	33,3	38,4	33,9	2,8[b]
10-1	62,17	64,972,	99,649,	64,994,	50,9 ± 1,1[a]

(50,0% de leucina, 37,0% de lactato de cálcio, 13,0% de cloreto de sódio)		63,122*	98,881*	63,679*	
	15,54	63,525	81,926	68,141	12,7 ± 1,7[a]
	5,18	62,453	67,796	62,49	4,0[b]
10-3 (50,0% de leucina, 19,5% de cloreto de cálcio, 30,5% de citrato de sódio)	60,0	123,6	123,6	81,994	20,5 ± 5,7[a]
	14,99	78,5	78,5	65,388	7,6 ± 0,9[a]
	5,00	70,3	70,3	63,829	3,6 ± 1,5[a]
10-4 (50,0% de leucina, 25,5% de cloreto de cálcio, 24,5% de carbonato de sódio)	45,88	64,6	104,7	66.685	28,1 ± 7,3[a]
	11,47	61,5	72,0	63,186	8,1 ± 2,6[a]
	3,82	61,8	62,6	63,341	5,62 ± 2,7[a]

EXEMPLO 10A

Os pós secos, preparados a partir das formulações de matérias-prima 10-1 a 10-4, reduziram a infecção por Influenza A/WSN/33/1 (H1N1) de uma forma dependente da dose.

Para testar o efeito das formulações de pó seco sobre a infecção da gripe em um modelo de cultura celular, células Calu-3 foram expostas a quatro diferentes formulações de pó seco cada uma composta por 50% de leucina, um sal de cálcio e cloreto de sódio. A infecção viral foi avaliada pela quantificação da quantidade de replicação viral durante um período de 24h. Os pós específicos testados estão apresentados na Tabela 18 (acima), e incluem sais carbonato, lactato, sulfato e citrato. Em uma tentativa de expor as células a quantidades equivalentes de cálcio de cada um dos quatro pós contendo cálcio, cápsulas foram preenchidas para apropriar pesos de preenchimento antes da dosagem. Células expostas a nenhuma formulação (Ar) foram utilizadas como controle de células.

Como visto na Figura 9, cada pó apresentou uma redução em resposta a dose da infecção por influenza, no entanto, a magnitude do efeito foi diferente entre os quatro pós testados. Em concentrações de cálcio baixas, o lactato de cálcio foi mais eficaz, sugerindo que era o mais potente dos pós testados. Em concentrações mais elevadas de cálcio, pós de lactato de cálcio e citrato de cálcio apresentaram eficácia similar. Testes adicionais do pó de citrato de cálcio em concentrações ainda maiores podem demonstrar que é o pó mais eficaz. O pó de sulfato de cálcio apresentou um efeito intermediário e foi comparável ao citrato de cálcio em concentrações diversas. O carbonato de cálcio teve apenas um efeito mínimo sobre a replicação viral, mesmo na concentração mais elevada (menos de 10 vezes). Note-se que o carbonato de cálcio é o menos solúvel dos pós testados.

Conforme mostrado na Figura 9, os pós secos preparados para isto reduz a infecção por Influenza de forma dependente da dose. Células Calu-3 expostas a nenhuma formulação foram utilizados

como controle e comparadas com células Calu-3 expostas a formulações em pó seco em diferentes pesos de preenchimento. A concentração do vírus liberado pelas células expostas a cada formulação de aerossol foi quantificada. Barras representam a média e desvio padrão de poços triplicados para cada condição. Os dados foram analisados estatisticamente por meio de ANOVA e comparações múltiplas pós-teste de Tukey.

EXEMPLO 10B

Pós secos preparados a partir das formulações de matéria-prima 10-1 a 10-4 na Tabela 19, reduziram infecção por Influenza A/Panama/2007/99 (H3N2) de uma forma dependente da dose.

Para estender esses estudos, os mesmo pós foram testados com uma segunda cepa de influenza [Influenza A/Panama/2007/99 (H3N2)]. Exemplo semelhante ao 10A, células Calu-3 foram expostas a quatro diferentes formulações de pó seco cada uma composta por 50% leucina, um sal de cálcio e cloreto de sódio. A infecção viral foi avaliada pela quantificação da quantidade de replicação viral durante um período de 24h. Os pós específicos testados estão apresentados na Tabela 19 (abaixo) e incluem sais carbonato, lactato, sulfato e citrato. Em uma tentativa de expor as células a quantidades equivalentes de cálcio de cada um dos quatro pós contendo cálcio, cápsulas foram preenchidas para apropriar pesos de preenchimento antes da dosagem. Células expostas a nenhuma formulação (Ar) foram utilizadas como controle de células.

Como visto na Figura 10, utilizando esta cepa, eficácia semelhante foi observada para cada pó: lactato de cálcio foi o mais eficaz, citrato de cálcio e sulfato de cálcio apresentaram eficácia intermediária e o pó de carbonato de cálcio foi minimamente eficaz. Esses dados apóiam a atividade ampla de pós secos de Ca:Na contra múltiplas cepas de influenzas.

Tabela 19. Pós secos, preparados a partir das formulações de matéria-prima 10-1 a 10-4, testados para avaliar seu efeito sobre a infecção por Influenza A/Panama/99/2007 (H3N2) em um modelo de cultura celular. Para liberar quantidade equivalente de Ca^{+2}, o peso de preenchimento desejado foi calculado para cada formulação de pó seco. cápsulas Qualicap foram pesados vazias, preenchidas e após a exposição para determinar a dose emitida. Poços triplicados foram expostos a cada cápsula e depois os poços foram lavados. A análise de HPLC destas amostras determinou a quantidade de Ca^{+2} liberada às células.

Formulação de matéria-prima (para pós secos)	Preenchimento desejado(mg)	Cápsula vazia (mg)	Cápsula cheia (mg)	Cápsula após exposição (mg)	Concentração de íon cálcio determinada por HPLC ($\mu g/cm^2 \pm$ SD)
10-2 (50,0% de leucina, 22,0% de cloreto de cálcio, 28,0% de sulfato de sódio)	53,18	61,358	121,417	62,591	40,8 ± 5,0
	13,29	60,602	76,804	62,167	10,5 ± 2,3
	4,43	65,102	70,789	65,670	2,9 ± 0,6
10-1	62,17	64,037	125,465	67,043	33,8 ± 3,5

(50,0% de leucina, 37,0% de lactato de cálcio, 13,0% de cloreto de sódio)	15,54	65,358	82,474	65,632	9,7 ± 1,4
	5,18	66,046	72,455	66,324	3,4 ± 0,9
10-3 (50,0% de leucina, 19,5% de cloreto de cálcio, 30,5% de citrato de sódio)	60,0	62,581	108,035	63,841	29,5 ± 10,1
	14,99	63,393	75,770	64,085	8,1 ± 1,4
	5,00	65,910	70,062	66,204	4,1 ± 0,8
10-4 (50,0% de leucina, 25,5% de cloreto de cálcio, 24,5% de carbonato de sódio)	45,88	64,506	115,876	65,004	30,4 ± 11,9
	11,47	64,319	77,627	65,080	11,1 ± 4,3
	3,82	66,495	71,398	66,698	2,4 ± 1,0

Conforme mostrado na Figura 10, o pó seco preparado para este Exemplo reduziu a infecção por Influenza A/Panama/99/2007 (H3N2) de uma forma dependente da dose. Células Calu-3 expostas a nenhuma formulação (0 µg de Ca^{2+}/cm^2) foram utilizadas como controle e comparadas com células Calu-3 expostas a formulações de pó seco em diferentes pesos de preenchimento e, portanto, diferentes concentrações de cálcio. A concentração de cálcio liberada a células em cada experimento para cada peso de preenchimento foi determinada utilizando medições de HPLC de cálcio em lavagens de pratos vazios expostos a cada condição. A concentração do vírus liberado pelas células expostas a cada 24 horas após a administração da formulação de aerossol foi quantificada pelo ensaio de $TCID_{50}$. Cada ponto de dados representa a média e desvio padrão de poços triplicados para cada condição.

EXEMPLO 11 Modelo Influenza *in vivo*

Este exemplo demonstra que as formulações de pó seco compostas de sais de cálcio e cloreto de sódio reduzem a severidade da infecção por influenza em furões. As formulações testadas são apresentadas na Tabela 20. Furões de controle foram expostos a um pó composto de 100% de leucina nas mesmas condições de exposição. Nos estudos *in vitro* preliminares, este pó de controle não teve efeito sobre a replicação viral. Pós de cálcio e controle (formulação I lote: 26-190-F, Formulação III lote: 65-009-F, Formulação II lote: 65-003-F e Leucina lote: 65-017-F) foram feitos em aerossol com um dispersor de partículas sólidas Palas Rotating Brush Generator 1000 (RBG, Palas GmbH, Karlsruhe, Alemanha). Furões (n = 8 por grupo) foram expostos a ~0,2 mg de Ca/kg e a gravidade da infecção foi avaliada ao longo do tempo. Cada formulação foi dispersa em um sistema de exposição de apenas um nariz 1 hora antes da

infecção, quatro horas após a infecção e, em seguida, BID durante 4 dias (dl-4). O estudo foi encerrado no dia 10. A temperatura corporal foi determinada duas vezes por dia começando no dia 0 do estudo. Os furões infectados com a gripe normalmente mostram aumentos na temperatura do corpo dentro de 2 dias de infecção, queda de peso corporal ao longo do estudo e apresentam sinais clínicos de infecção, tais como letargia e espirros. Essas mudanças coincidem com um aumento nas calas de titulação de gripe viral da cavidade nasal e aumento da inflamação nasal.

Tabela 20. Formulações testadas para eficácia em furões

Formulação	Composição
Formulação I	10,0% de leucina, 35,1% de cloreto de cálcio, 54,9% de citrato de sódio (ativo com 12,7% de íons cálcio)
Formulação II	10,0% de leucina, 39,6% de cloreto de cálcio, 50,4% de sulfato de sódio (ativo com 14,3% de íon cálcio)
Formulação III	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio (ativo com 10,8% de íons cálcio)

No dia do estudo -4, os furões foram implantados com um microchip subcutâneo no flanco direito traseiro e outro no ombro para redundância. O chip transponder (IPTT-300 Transponder de Identificação e Temperatura Programáveis Implantáveis; Bio Medic Data Systems, Inc, Seaford, Delaware 19973) permite a identificação do furão e fornece dados da temperatura corporal subcutânea durante todo o estudo através de um lápis ótico leitor eletrônico de proximidade BMDS (WRS-6007; Biomedic Data Systems Inc, Seaford, Delaware). A temperatura corporal subcutânea tomada no dias -3 a -1 foram usadas como temperaturas de referência e usadas para calcular a mudança de base para

cada animal ao longo do estudo. O tratamento com uma formulação de pó seco composta de leucina (excipiente), lactato de cálcio (Formulação III) e NaCl teve um impacto significativo sobre o aumento da temperatura corporal (Figs. 10C e 10D). A mudança média de temperatura corporal neste grupo permaneceu igual ou inferior as medidas de base para o curso do estudo e a área sob a curva (AUC) medida foi aproximadamente 5 vezes menor do que o controle. Os dois outros pós testados exibiram eficácia menos pronunciada que foi limitada a diferenças em relação ao controle em dias específicos do estudo. Em particular, tanto o citrato de cálcio quanto sulfato de cálcio de grupos tratados tiveram menor temperatura corporal do que os animais do grupo controle no 3° dia do estudo (Figs. 11A e 11B, respectivamente) e do grupo de sulfato de cálcio tiveram temperaturas corporais mais baixas ao longo dos últimos três dias de estudo.

EXEMPLO 12

Este exemplo demonstra que as formulações de pó seco compostas de diferentes excipientes reduzem a infecção por gripe, mas em doses mais elevadas do que as formulações compostas de leucina.

Para avaliar o impacto do excipiente sobre a eficácia *in vitro*, foram testada duas formulações de pó seco (Tabela 21) que variou em excipiente e comparada sua eficácia para a formulação III (que contém leucina), utilizando o modelo de replicação de influenza. Estas formulações continham a mesma concentração de lactato de cálcio e cloreto de sódio e a mesma porcentagem em peso de excipiente (10%).

Tabela 21: Formulações utilizadas para avaliar a eficácia contra múltiplos vírus da gripe e para testar diferentes excipientes

Lote N°	Formulação	Composição	Razão molar Ca:Na	Produção
26-190-F	Formulação I	10,0% de leucina, 35,1% de cloreto de cálcio, 54,9% de citrato de sódio (ativo com 12,7% de íons cálcio)	1:2	Niro
65-003-F	Formulação II	10,0% de leucina, 39,6% de cloreto de cálcio, 50,4% de sulfato de sódio (activo com 14,3% de íons cálcio)	1:2	Niro
65-009-F	Formulação III	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio (ativo com 10,8% de íons cálcio)	1:2	Niro
45.137.2	N/A	10,0% de manitol, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio (ativo com 10,8% de íons cálcio)	1:2	Büchi
45.137.3	Formulação XIV	10,0% de maltodextrin, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio (ativo com 10,8% de íons cálcio)	1:2	Büchi

Células Calu-3 expostas a nenhuma formulação foram utilizadas como controle e comparadas com células Calu-3 expostas ao pó composto de lactato de cálcio e cloreto de sódio com diferentes excipientes. Três diferentes pesos de preenchimento dos pós de manitol e maltodextrina foram utilizados para cobrir uma faixa de dose entre 10 a 30 µg Ca^{2+}/cm^2. A concentração do vírus liberado pelas células expostas a cada formulação de aerossol foi quantificada (FIG. 12). Cada ponto de dados representa a média e desvio padrão de poços duplicados para

cada concentração. Os dados foram analisados por ANOVA e pós-teste de comparações múltiplas de Tukey. Os dados para a dose baixa de cada pó são representativos de dois experimentos independentes.

Ambas as formulações contendo manitol e maltodextrina reduziram a infecção por influenza, de maneira em resposta à dose, no entanto, elas foram significativamente menos potentes do que o pó contendo leucina.Na dose de 14,8 µg de Ca^{2+}/cm^2, o pó contendo leucina reduziu a infecção por influenza em 2,9 ± 0,2 log_{10} $TCID_{50}$/mL, enquanto o pó de manitol, numa dose comparável (12,2 µg de Ca^{2+}/cm^2), reduziu a infecção por 0,85 ± 0,0 log_{10} $TCID_{50}$/mL e o pó de maltodextrina (11,9 µg de Ca^{2+}/cm^2) não teve efeito sobre a replicação (Figura 12). Mesmo em doses mais elevadas (> 27 µg de Ca^{2+}/cm^2), a redução máxima de manitol (1,9 ± 0,50 log_{10} $TCID_{50}$/mL) e maltodextrina (2,2 ± 0,14 log_{10} $TCID_{50}$/mL) foi menor do que o pó de leucina. Note-se que no teste anterior, utilizando pó de composto de leucina 100%, não foi observado nenhum efeito do excipiente sozinho na replicação viral. Estes dados sugerem que a natureza do excipiente pode influenciar a eficácia de formulações contendo cálcio.

Exemplo 13

Este exemplo demonstra a eficácia de formulações de pó seco compreendendo sal de cálcio, lactato de cálcio, sulfato de cálcio ou pós de citrato de cálcio em relação ao tratamento da gripe ou vírus Parainfluenza ou Rhinovirus.

A formulação I, a formulação II e a formulação III de pó foram produzidas por atomização utilizando um atomizador Minor Mobile (Niro, GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD). Todas as soluções tinham uma concentração de sólidos de 10 g/L e foram preparadas com os componentes listados na Tabela 22. Leucina e sal de cálcio foram dissolvidos em água DI, leucina e sal e sódio foram separadamente dissolvidos em água DI com as duas soluções mantidas em vasos separados. A atomização da matéria-prima líquida foi realizada utilizando um bico de dois fluidos em co-corrente (Niro,

GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD). A matéria-prima líquida foi alimentada usando bombas de engrenagem (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL) em um misturador estático (Charles Ross & Sons Company, Hauppauge, NY), imediatamente antes da sua introdução no bico de dois fluidos. Nitrogênio foi usado como gás de secagem e ar comprimido seco como a alimentação de gás de atomização para o bico de dois fluidos. A temperatura de entrada do gás de processo era de 282 °C e a temperatura de saída foi de 98 °C com uma taxa de matérias-primas líquidas de 70 mL/min. O gás de abastecimento do atomizador de dois fluidos foi de aproximadamente 14,5 kg/h. A pressão dentro da câmara de secagem foi de -2 "WC. O produto atomizado foi coletado em um recipiente a partir de um dispositivo de filtro.

Tabela 22: Formulações utilizadas para avaliar a eficácia contra diferentes vírus respiratórios

Lote N°	**Formulação**	**Composição**	**Razão molar Ca:Na**	**Produção**
26-190-F	Formulação I	10,0% de leucina, 35,1% de cloreto de cálcio, 54,9% de citrato de sódio(ativo com 12,7% de íons cálcio)	1:2	Niro
65-003-F	Formulação III	10,0% de leucina, 39,6% de cloreto de cálcio, 50,4% de sulfato de sódio (ativo com 14,3% de íons cálcio)	1:2	Niro
65-009-F	Formulação II	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio (ativo com 10,8% de íons cálcio)	1:2	Niro

Um modelo de cultura de células de infecção por Influenza A/Panama/2007/99, parainfluenza humana tipo 3 (hPIV3) ou Rhinovirus (RVI 6) foi utilizado para avaliar a eficácia de formulações de pó seco. Este modelo foi descrito em detalhes anteriormente (ver, Exemplo 10) e utiliza células Calu-3 cultivadas em interface ar-líquido como um modelo de infecção da gripe das células epiteliais das vias aéreas. As células Calu-3 foram expostas ao pó seco utilizando uma câmara de sedimentação de pó seco. A quantidade de íons cálcio (Ca^{2+}) liberada a cada poço foi determinada por HPLC usando pó seco recuperado de um poço vazio na placa de cultura de células. A concentração de cálcio depositado em cada estudo é mostrada na Tabela 23.

Tabela 23: deposição de cálcio

	Formulação I (µg de Ca/cm²)			**Formulação III (µg de Ca/cm²)**			**Formulação II (µg de Ca/cm²)**		
	baixo	médio	alto	baixo	médio	alto	baixo	médio	alto
Influenza	12,74	17,12	28,85	11,37	15,84	27,73	10,93	16,01	26,61
Para-influenza	10,58	16,19	25,04	12,26	15,71	25,32	11,03	16,81	26,33
Rhinovirus	11,63	16,25	24,11	10,86	15,01	23,89	11,49	15,22	24,69

Uma hora após a exposição, as células foram infectadas com 10 µL de Influenza A/Panama/99/2007 em uma multiplicidade de infecção de 0,1 a 0,01 (0,1 a 0,01 vírions por célula), parainfluenza humano tipo 3 (hPIV3) em uma multiplicidade de infecção de 0,1 a 0,01 (0,1 a 0,01 vírions por célula) ou 10 µL do rinovírus (RVI 6) em uma multiplicidade de infecção de 0,1 a 0,01 (0,1 a 0,01 vírions por célula). Quatro horas após o tratamento com pó seco, as superfícies apicais foram lavadas para remover o excesso de formulação e vírus solto, e as células foram cultivadas por mais 20 horas a 37 °C, mais 5% de CO_2. No dia seguinte (24 horas após a infecção) o vírus liberado na superfície apical das células infectadas foi coletado em

meio de cultura e a concentração do vírus na lavagem apical foi quantificada por ensaio de $TCID_{50}$ (50% de Dose Infecciosa de Cultura de Tecido). O ensaio de $TCID_{50}$ é um ensaio de diluição padrão de ponto final que é usado para quantificar o quanto de um determinado vírus está presente em uma amostra. Para cada um dos três pós, células Calu-3 foram expostas a três diferentes doses de Ca^{2+} e a replicação de cada vírus foi avaliada.

Influenza

No modelo de gripe, todos os três pós reduziram significativamente o título viral para níveis comparáveis com a maior dose testada: formulação I, formulação III e formulação II título viral reduzido até 3,25, 3,80 e 3,95 log_{10} $TCID_{50}$/mL, respectivamente (Figura 13A). É importante notar que, enquanto na maior dose testada estes pós exibiram atividade semelhante contra a gripe, em doses menores os dados sugerem que o pó foi mais eficaz na Formulação II (composto de leucina, lactato de cálcio e cloreto de sódio). A formulação II reduziu títulos virais a 3,70 e 3,75 log_{10} $TCID_{50}$/mL em doses baixas e médias, enquanto que baixas doses de formulação I e formulação III reduziram o título viral a 2,50 e 2,95 log_{10} $TCID_{50}$/mL, e doses médias de formulação I e formulação III reduziram os títulos virais a 2,65 e 3,30 log_{10} $TCID_{50}$/mL, respectivamente.

Parainfluenza

Formulação I, formulação II e formulação III foram testadas ao longo de um intervalo de doses semelhantes contra Parainfluenza. O título Parainfluenza nas culturas de células tratadas com formulação III era comparável ao das células de controle (Figura 13B), em doses de cálcio semelhantes às utilizadas no experimento de influenza, indicando que a formulação com base de sulfato

de cálcio pode apresentar atividade somente contra patógenos específicos. Em contraste, o tratamento com formulação I e formulação II resultou em uma redução dependente da dose na infecção por Parainfluenza. Em altas doses, a formulação I e a formulação II reduziu a infecção a 2,70 e 4,10 log_{10} $TCID_{50}$/mL, respectivamente, em comparação com as células de controle. Da mesma forma, a formulação II apresentou maior eficácia do que a formulação I na dose média testada, no entanto, nenhuma formulação reduziu a infecção com a menor dose testada (Figura 12B; Tabela 25). Coletivamente, estes dados demonstram que as formulações de pó seco à base de cálcio efetivamente reduziram a infectividade por Parainfluenza. Estes efeitos são específicos para determinados sais de cálcio e os intervalos de dose eficazes diferem significativamente da observada para a gripe.

Rhinovirus

Influenza e Parainfluenza são os vírus envelopados. Para testar a atividade de amplo espectro de cálcio nas formulações de pó seco e estender esses resultados aos vírus não envelopados, o mesmo pó foi testado contra Rhinovirus. As três formulações reduziram Rhinovirus, em certa medida, com o pó da Formulação II demonstrando a maior atividade (FIG. 13C). O tratamento com formulação II resultou em uma significativa redução viral de 2,80 log_{10} $TCID_{50}$/mL na maior dose testada. Doses baixas e médias deste pó reduziram o título a 1,15 e 2,10 log_{10} $TCID_{50}$/mL, respectivamente, em comparação às células de controle. O tratamento com formulação I e formulação III também reduziu a infecção por Rhinovirus, embora em menor grau do que a formulação II. Na mais alta dose testada, a formulação I reduziu a infecção a 1,70 log_{10} $TCID_{50}$/mL e a formulação III reduziu a infecção a 1,60 log_{10} $TCID_{50}$/mL.

Juntos, esses resultados indicam que as formulações de pó seco à base de cálcio podem ser amplamente aplicadas a diversas infecções virais.

Os dados acima sugerem que, ao aumentar a dose aplicada de formulações de pó seco de cálcio apresentam mais atividade do que foi anteriormente observado em doses mais baixas. A infecção por influenza foi reduzida em todos os três pós testados, embora a formulação à base de lactato de cálcio (formulação II) apresentou maior potência do que formulações de sulfato de cálcio (formulação III) e citrato de cálcio (formulação III). Além disso, em todas as três cepas virais, o tratamento com a formulação II resultou na maior redução no título viral. Em altas doses a formulação I efetivamente reduziu o título viral em todas as três cepas virais, mas o efeito foi muito mais pronunciado com influenza e parainfluenza, sugerindo uma diferença no mecanismo que pode estar relacionado à especificidade da cepa viral. O tratamento com a formulação III foi ativo contra parainfluenza, mas apresentaram melhor atividade contra influenza e Rhinovirus, sugerindo que os contraíons cálcio específicos podem ter algum papel na atividade ótima da formulação.

EXEMPLO 14. Pó seco de lactato de cálcio, cloreto de sódio, maltodextrina

Este exemplo descreve a preparação de pós secos utilizando matéria-prima de Formulação XIV: 10,0 por cento em peso de maltodextrina, 58,6 por cento em peso de lactato de cálcio e 31,4 por cento em peso de cloreto de sódio.

Uma fase aquosa foi preparada para um processo em batelada, dissolvendo maltodextrina em água ultrapura, então, lactato de cálcio pentahidratado e, finalmente, cloreto de sódio. A solução foi mantida agitada durante todo o processo até que os materiais foram completamente dissolvidos na água em temperatura

ambiente. Para a formulação de lactato de cálcio e maltodextrina, três lotes (A, B e C) de matérias-primas foram preparados e atomizados. Detalhes sobre as preparações de matéria-prima líquida para cada um dos três lotes são apresentados na Tabela 24, onde a concentração de sólidos totais é relatada como o total dos pesos de material dissolvido anidro. As soluções ou suspensões foram, então, atomizadas usando um atomizador Büchi. Para cada formulação, três lotes (A, B e C) de matérias-primas foram preparadas e atomizadas. As partículas dos lotes A, B e C foram preparadas utilizando matérias-primas correspondentes em um atomizador Büchi Mini com condições de processo similares às utilizadas para atomização das formulações IB e IC no Exemplo 1, com exceção das condições de processo a seguir. A taxa de fluxo de líquido de matéria-prima foi fixada em 5,2 mL/min para a formulação XIV-A e a formulação XIV-B e 5,6 mL/min para a formulação XIV-C. A temperatura de saída foi cerca de 90 °C a 98 °C para a formulação XIV-A, cerca de 100 °C para a formulação XIV-B e cerca de 100 °C a 106 °C para a formulação XIV-C.

Tabela 24. Resumo das preparações de matérias-primas líquidas de três lotes de partículas para a formulação XIV.

Formulação	XIV-A	XIV-B	XIV-C
Mistura de matéria-prima líquida	Mistura em batelada	Mistura em batelada	Mistura em batelada
Concentração de sólidos totais	5 g/L	5 g/L	5 g/L
Sólidos totais	5 g	5 g	20 g
Volume total de água	1,0 L	1,0 L	4,0 L
Quantidade de leucina em 1 L	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Quantidade de cloreto de sódio em 1 L	1,55 g	1,55 g	1,55 g
Quantidade de lactato de cálcio pentahidratado em 1 L	4,13 g	4,13 g	4,13 g

Algumas das propriedades físicas das partículas obtidas em três lotes distintos (formulação XIV-A, XIV-B e XIV-C) estão resumidas na Tabela 25. Além dos dados fornecidos na Tabela 25, mais dados sobre as partículas secas preparadas pela formulação matéria-prima XIV-A são resumidos como segue. A fração de partículas finas (FPF) como medida por um Impactador em cascada de dois estágios quebrados Andersen com análise gravimétrica foi em média 71,3% para FPF inferior a 5,6 microns e 47,5% para FPF inferior a 3,4 microns. O tamanho do volume foi determinado por difração de raios laser sobre o equipamento de dimensionamento HELOS/RODOS e o valor médio para o diâmetro médio volumétrico (x50) a uma pressão de 1 bar era de 1,40 microns. Além disso, o pó exibiu comportamento independente da vazão, como pode ser visto a partir da razão entre x50 medido em 0,5 bar para x50 medido a 4,0 bar, que foi de 1,04. O valor de 1/4 bar para estas partículas foi de 1,00, demonstrando que as partículas eram muito dispersas.

Tabela 25. Resumo dos dados de ACI-2 para os três lotes de partículas para a formulação XIV

Formulação	XIV-A	XIV-B	XIV-C
FPF menor do que 5,6 µm em ACI-2 (%)	71,3	66,6	68,2
FPF menor do que 3,4 µm em ACI-2 (%)	47,5	44,8	48,7

Informações adicionais relativas às propriedades dos pó e/ou partículas da formulação XIV preparados neste exemplo são fornecidas nas tabelas ou gráficos mostrados nas Figuras 1A a 1F.

EXEMPLO 15: DISPERSIBILIDADE

Este exemplo demonstra a capacidade de dispersão de formulações de pó seco que compreendem pós de lactato de cálcio, sulfato de cálcio ou citrato de cálcio, quando liberadas a partir de diferentes inaladores de pó seco sobre uma série de manobras de inalação e em relação a um

medicamento tradicional micronizado da mesma forma dispersa.

A capacidade de dispersão de pó de várias formulações foi investigada através da medição do tamanho de partícula geométrica e a porcentagem de pó emitido a partir de cápsulas de inalação quando inalado em inaladores de pó seco com taxas de fluxo representativas da utilização do paciente. A distribuição de tamanho de partículas e a alteração de peso das cápsulas cheias foram medidas para as múltiplas formulações de pó em função da vazão, volume de inalação e peso de preenchimento em 2 inaladores de pó seco passivos.

As formulações de pó foram acondicionados em cápsulas de tamanho 3 HPMC (Capsugel V-Caps) manualmente com o peso de preenchimento medido gravimetricamente em uma balança analítica (Mettler Tolerdo XS205). Os pesos de preenchimento de 25 e 35 mg foram preenchidos para a formulação I (lote nº 26-190-F), 25, 60 e 75 mg para a formulação II (Lot nº 69-191-1), 25 e 40 mg para a formulação III (Lot nº 65-009-F), 10 mg para um pó atomizado de leucina (lote nº 65-017-F) e 25 mg de sulfato de salbutamol micronizado (Cirrus lote nº 073-001-02-039A). Duas cápsulas com base em inaladores de pó seco passivos (RS-01 Modelo 7, Plastiape SpA de baixa resistência e RS-01 Modelo 7, Plastiape SpA de alta resistência) foram utilizados que havia resistências específicas de 0,020 e 0,036 kPa1/2/LPM que abrangem a gama típica de resistência a pó seco do inalador. A taxa de fluxo e o volume inalado foram definidos através de uma válvula solenóide controlada por temporizador com válvula de controle de fluxo (TPK2000, Copley Scientific). As cápsulas foram colocadas no inalador de pó seco apropriado, perfuradas e o inalador selado para a entrada do dimensionador de partículas de difração a

laser (Spraytec, Malvern). A taxa de fluxo constante de ar através do sistema foi iniciada usando o TPK2000 e a distribuição de tamanho de partículas foi medida através do Spraytec em 1 kHz para as durações de pelo menos 2 segundos e até a duração de inalação total. Parâmetros de distribuição de tamanho de partículas calculados incluiram o diâmetro médio volumétrico (DV50) e o desvio padrão geométrico (DPG) e a fração de partículas finas (FPF) de partículas inferiores a 5 micrômetros de diâmetro. Ao término da duração da inalação, o inalador de pó seco foi aberto, a cápsula removida e novamente pesada para calcular a massa de pó que havia sido emitido a partir da cápsula durante a duração da inalação. Em cada condição de teste, 5 cápsulas de repetição foram medidas e os resultados do DV50, FPF e da massa em pó emitido da cápsula (CEPM) foram em claculados.

Para relacionar a dispersão de pó em diferentes taxas de vazão, volumes e resistências de inaladores diferentes, a energia necessária para realizar a manobra de inalação foi calculada e o tamanho das partículas e dados de emissão de dose foram plotados contra a energia de inalação. Inalação de energia foi calculada como $E = R^2Q^2V$, onde E é a energia de inalação em Joules, R é a resistência do inalador em kPa1/2/LPM, Q é a taxa de fluxo constante em L/min e V é o volume de ar inalado em L.

A FIG. 14 mostra a dose emitida a partir de uma cápsula de pó da Formulação II em 3 pesos de preenchimento diferentes da cápsula, usando tanto a alta resistência quanto a baixa resistência RS-01 dos inaladores de pó seco. Em cada massa de preenchimento, inalações constantes variaram de uma condição de máxima energia de 9,2 Joules, que foi equivalente a uma taxa de fluxo de 60 L/min através do inalador de alta resistência (R = 0,036 kPa1/2/LPM) com um volume

total de 2 L para baixa energia com volume reduzido a 1 L, reduziu as taxas de fluxo de até 15 L/min e resistência do inalador até R = 0,020 kPa1/2/LPM. Como pode ser visto a partir da FIG. 14, toda a massa de pó preenchido na cápsula esvazia para fora da cápsula em uma única inalação para todos os três pesos de preenchimento de 25, 60 e 75 mg da formulação II com a condição de maior energia testada. Para o peso 25 mg de preenchimento, maior que 80% do peso de preenchimento esvaziou, em média, para todas as condições abaixo da inalação de 0,16 Joules. A 60 mg, a emissão de dose da cápsula cai abaixo de 80% do peso de preenchimento a 0,36 Joules. Com um peso de preenchimento de cápsula de 75 mg, a emissão de dose cápsula cai abaixo de 80% do peso de preenchimento em 1,2 Joules.

Também mostrado na FIG. 14 são dois pesos de preenchimento de 25 mg e 40 mg de uma formulação de medicamentos micronizados de sulfato de salbutamol, que foi moído a jato para um tamanho médio de partícula de 1,8 micrômetros, preenchido manualmente em tamanho 3 cápsulas e dispersas na alta resistência RS-01 do inalador. Como pode ser visto tanto para os pesos de preenchimento de 25 e 40 mg, a uma energia de 9,2 Joules inalação (inalação constante de 60 L/min para 2L) o CEPM médio é acima de 80% do peso de preenchimento da cápsula (93% para o peso de preenchimento de 25mg e 84% para o peso de preenchimentode 40mg). No entanto, em todas as energias menores medidas, o CEPM cai para abaixo 10 mg (< 30% do peso de preenchimento da cápsula) para ambos os pesos de preenchimento e monotonicamente diminui com a diminuição da energia inalação.

A FIG. 15 mostra a distribuição granulométrica dos pós da Formulação II que são emitidos a partir dos inaladores caracterizada pelo diâmetro médio volumétrico (DV50) e plotada contra a inalação de energia aplicada. Valores consistentes de DV50 nos valores de energia que diminuem indicam que o pó é bem disperso, já que a energia adicional não resulta em desaglomeração adicional do pó emitido. Os valores de DV50 são consistentes para todos os três

pesos de preenchimento de 75, 60 e 25 mg de todos os valores de alta energia, com o DV50 permanecendo inferior a 2 micrômetros até 0,51 Joules para todos os três pesos de preenchimento (FIG. 16). Tendo em conta que na dose de 60 e 75 mg de pesos e preenchimento, as inalações no intervalo de 0,5 a 1,2 Joule não emitem totalmente o pó da cápsula (FIG. 14), fica claro que o pó que foi emitido ainda estava totalmente disperso pelo DPI (FIG. 15). Neste intervalo, o DV50 não é significativamente aumentado em tamanho, o que seria esperado se o pó contido emitisse uma grande quantidade de aglomerados e não fosse bem disperso.

Também mostrado em vermelho na FIG. 15 são os pesos de preenchimento de 25 mg e 40 mg de uma formulação de medicamentos micronizados de sulfato de salbutamol, que foi moído a jato para um tamanho médio de partícula de 1,8 micrômetros, preenchido manualmente em tamanho de 3 cápsulas e dispersa na alta resistência RS-01 do inalador. Como pode ser visto tanto para os pesos de preenchimento de 25 e 40 mg, a uma energia de 9,2 Joules de inalação (inalação constante de 60 L/min para 2 L), o DV50 médio é inferior a 2 micrômetros (1,8 e 1,6 mM, respectivamente) para ambos os pesos de preenchimento, demonstrando boa dispersão e relativamente poucos aglomerados. No entanto, em todas as energias menor medidas, o DV50 aumenta para mais de 2 micrômetros (3,9 e 3,1 mM, respectivamente) e continua a aumentar monotonicamente com a diminuição da energia de inalação, demonstrando aglomeração e pobre dispersão das partículas primárias.

Pós adicionais foram testados em todas as condições de teste e CEPM média e Dv50 foram determinados (Tabela 26). Estes resultados demonstram a capacidade das formulações de pó para serem totalmente esvaziadas e desaglomeradas em energias de inalação abaixo de aproximadamente 0,5 Joules.

Tabela 26. CEPM média, Dv(50) e FPF em função da massa de preenchimento, vazão e duração para as formulações I a III e placebo.

Pó	DPI	Peso de preenchimento ht (mg)	Taxa de fluxo (LPM)	Duração (s)	Energia de inalação E = R^2Q^2V (Joules)	CEPM médio (mg)	Dv(50) médio (µm)	FPF média % < 5 µm
Formulação I	RS.01.HR	25	15	4	0,29	15,84	4,77	52,09
Formulação I	RS.01.HR	25	20	3	0,51	22,88	3,46	65,79
Formulação I	RS.01.HR	25	30	2	1,15	24,75	2,94	72,88
Formulação I	RS.01.HR	25	60	2	9,18	24,72	2,93	73,39
Formulação I	RS.01.LR	25	15	4	0,09	4,30	7,29	31,97
Formulação I	RS.01.LR	25	20	3	0,16	8,05	5,10	48,98
Formulação I	RS.01.LR	25	30	2	0,36	19,94	3,28	71,09
Formulação I	RS.01.LR	25	60	2	2,85	24,75	2,51	80,26
Formulação I	RS.01.HR	35	30	2	1,15	33,77	2,17	83,17
Formulação I	RS.01.HR	35	60	2	9,18	34,73	2,33	81,42
Formulação I	RS.01.LR	35	30	2	0,36	13,07	3,16	73,22
Formulação I	RS.01.LR	35	60	2	2,85	34,57	2,34	83,15
Placebo	RS.01.HR	10	15	4	0,29	3,87	25,71	6,22
Placebo	RS.01.HR	10	20	3	0,51	8,79	22,80	8,64
Placebo	RS.01.HR	10	30	2	1,15	9,42	22,95	11,83
Placebo	RS.01.HR	10	60	2	9,18	9,78	21,45	12,52
Placebo	RS.01.LR	10	15	4	0,09	1,87	40,36	3,17
Placebo	RS.01.LR	10	20	3	0,16	3,08	28,16	5,20

Placebo	RS.01.LR	10	30	2	0,36	7,01	18,62	9,39
Placebo	RS.01.LR	10	60	2	2,85	9,82	15,26	16,41
Formulação III	RS.01.HR	25	15	4	0,29	24,87	3,26	68,77
Formulação III	RS.01.HR	25	20	3	0,51	25,48	3,06	72,61
Formulação III	RS.01.HR	25	30	2	1,15	25,05	2,90	74,06
Formulação III	RS.01.HR	25	60	2	9,18	25,28	2,92	71,87
Formulação III	RS.01.LR	25	15	4	0,09	18,97	5,59	43,81
Formulação III	RS.01.LR	25	20	3	0,16	24,95	3,45	68,14
Formulação III	RS.01.LR	25	30	2	0,36	25,08	2,72	76,82
Formulação III	RS.01.LR	25	60	2	2,85	24,88	2,66	75,76
Formulação III	RS.01.HR	40	30	2	1,15	39,55	2,76	74,92
Formulação III	RS.01.HR	40	60	2	9,18	40,13	3,14	67,35
Formulação III	RS.01.LR	40	30	2	0,36	39,74	2,89	75,51
Formulação III	RS.01.LR	40	60	2	2,85	39,85	2,65	77,00
Formulação II	RS.01.HR	25	15	4	0,29	24,45	3,56	63,96
Formulação II	RS.01.HR	25	17,5	3,4	0,39	21,43	2,34	80,07
Formulação II	RS.01.HR	25	20	3	0,51	23,55	2,15	82,08
Formulação II	RS.01.HR	25	25	2,4	0,80	24,42	1,39	90,70
Formulação II	RS.01.HR	25	30	2	1,15	24,88	1,28	88,29
Formulação II	RS.01.HR	25	60	2	9,18	25,07	1,59	85,28
Formulação II	RS.01.LR	25	15	4	0,09	7,47	7,46	32,20
Formulação II	RS.01.LR	25	20	3	0,16	20,39	4,29	57,09
Formulação II	RS.01.LR	25	30	2	0,36	24,23	2,52	78,85
Formulação II	RS.01.LR	25	60	2	2,85	24,81	1,61	89,78

Formulação II	RS.01.HR	60	25	2,4	0,80	52,42	0,99	90,45
Formulação II	RS.01.HR	60	30	2	1,15	56,50	0,78	92,70
Formulação II	RS.01.HR	60	60	2	9,18	59,42	1,19	90,64
Formulação II	RS.01.LR	60	30	2	0,36	26,62	2,48	80,08
Formulação II	RS.01.LR	60	60	2	2,85	59,51	1,19	90,64
Formulação II	RS.01.HR	75	25	2,4	0,80	47,63	1,36	89,83
Formulação II	RS.01.HR	75	30	2	1,15	51,84	1,07	92,59
Formulação II	RS.01.HR	75	60	2	9,18	74,90	1,41	85,20
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.HR	25	15	4	0,29	3,12	16,76	13,00
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.HR	25	20	3	0,51	5,00	8,40	32,10
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.HR	25	30	2	1,15	7,08	3,86	59,44
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.LR	25	60	2	2,85	15,28	2,57	75,01
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.HR	25	60	2	9,18	23,18	1,77	81,65
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.HR	40	15	4	0,29	2,43	17,63	10,73
Albuterol micronizado 073-001-02-039ª	RS.01.HR	40	20	3	0,51	4,97	6,34	42,24
Albuterol micronizado	RS.01.HR	40	30	2	1,15	8,55	3,13	67,18

073-001-02-039A								
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.LR	40	60	2	2,85	18,88	2,62	73,98
Albuterol micronizado 073-001-02-039A	RS.01.HR	40	60	2	9,18	33,40	1,60	84,30

EXEMPLO 16: ANÁLISE DE PARTÍCULAS EM ESTADO SÓLIDO

A. Difração do pó em Raio X

As formulações I, II, III e XIV foram analisadas quanto ao teor da forma amorfa/cristalina e da forma polimórfica de alta resolução usando difração de pó em raios-X (XRPD) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). Para XRPD, a identificação das fases foi realizada para identificar eventuais fases cristalinas observadas em cada padrão XRPD. Os padrões XRPD foram coletados utilizando um difratômetro PANalytical X'Pert Pro (Almelo, Holanda). O espécime foi analisado utilizando radiação Cu produzida usando uma fonte de foco fino longo Optix. Um espelho de multicamadas elipticamente graduado foi utilizado para o foco dos raios-X Cu Kα da fonte através do espécime e para o detector. O espécime foi imprensado entre filmes espessos de 3 mícrons, analisados na geometria de transmissão e girados para otimizar as estatísticas de orientação. Um feixe de parada foi utilizado, juntamente com a purga de hélio, em alguns casos, para minimizar o fundo gerado pela dispersão do ar. Fendas Soller foram usadas para o incidente e feixes difratados para minimizar a divergência axial. Padrões de difração foram coletados usando um detector de varredura sensível à posição (X'Celerator) localizado a 240 mm da amostra. Os parâmetros de aquisição de dados de cada padrão de difração são exibidos acima da imagem de cada padrão no apêndice C. Antes da análise, uma amostra de silício (material de referência NIST padrão 640c) foi analisada para verificar a posição do pico 111 de silício. Padrões calculados para os componentes do potencial cristalino (incluindo as formas anidra e hidratada) foram produzidos a partir tanto da base de dados estruturais de Cambridge quanto do banco de dados do Centro Internacional de Dados de Difração (ICDD) e

comparados com os padrões experimentais. Os componentes cristalinos foram qualitativamente determinados. XRPD também foi realizado nos pós que foram condicionados a 75% de umidade relativa por um período de três a quatro horas em um dinâmico sistema de sorção de vapor, a fim de avaliar a propensão para a recristalização dos pós em curto prazo de exposição à umidade elevada.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi realizada utilizando um calorímetro diferencial de varredura Q2000 TA Instruments (New Castle, DE). A amostra foi colocada em um molde de DSC de alumínio e o peso devidamente registrado. A aquisição de dados e parâmetros de processamento são exibidos em cada termograma. Índio metálico foi usado como padrão de calibração. A temperatura de transição vítrea (Tg) é registrada a partir do ponto de inflexão da transição /ou/ à meia altura da transição. Experimentos DSC modo padrão foram inicialmente conduzidos sobre os pós de interesse para avaliar o comportamento térmico global dos pós. Experimentos DSC modo cíclico também foram realizados para tentar identificar a ocorrência de transições vítreas que ocorrem nestes pós em regiões de temperatura de interesse identificadas nos termogramas DSC padrão.

Surpreendentemente, pós contendo altos dais de cálcio e sódio foram produzidos, que possuíam uma mistura de conteúdo amorfo e cristalino que possuíam propriedades otimizadas com relação à sua dispersão e estabilidade no estado seco e sua dissolução e propriedades de absorção de água no estado hidratado. Como mostrado nas FIG. 16 e 17, o pó da formulação I foi observada através XRPD, consistindo de uma combinação de cloreto de sódio cristalino e citrato de cálcio pouco cristalino ou amorfo e, potencialmente, uma fase rica em cloreto de cálcio (como evidenciado pela falta

de observância de quaisquer picos característicos para qualquer formas de sal de cálcio neste pó, bem como a ausência de picos característicos de leucina). Como mostrado na FIG. 18, uma temperatura de transição vítrea de aproximadamente 167 °C foi observada via DSC cíclico para a fase rica em cálcio amorfa, indicando que esta fase amorfa deve ser relativamente estável à conversão cristalina nas condições normais (25 °C, 30% HR). A presença de cloreto de sódio cristalino neste pó no estado seco, pode aumentar a dispersão e estabilidade de pó. A presença do sal de cálcio de uma forma pouco cristalina ou amorfa no pó da formulação I também pode facilitar a rápida absorção de água e propriedades de dissolução da formulação I sobre a deposição nos pulmões (ou seja, cloreto de sódio cristalino é facilmente solúvel, enquanto que o citrato de cálcio é pouco solúvel).

Resultados semelhantes foram observados para os pós da formulação II e Formulação XIV. Como mostrado nas Figs. 19 e 20, o pó da formulação II foi observada através XRPD consistindo de uma combinação de cloreto de sódio cristalino e lactato de cálcio pouco cristalino ou amorfo e, potencialmente, uma fase rica em cloreto de cálcio (como evidenciado pela falta de observância de quaisquer picos característicos para qualquer formas de sal de cálcio neste pó, bem como a ausência de picos característicos de leucina). Como mostrado na FIG. 21, uma temperatura de transição vítrea de aproximadamente 144 °C foi observada via DSC cíclico para a fase rica em cálcio amorfa, indicando que esta fase amorfa deve ser relativamente estável à conversão cristalina nas condições normais (25 °C, 30% HR). Resultados quase idênticos foram observados para o pó da formulação XIV que continha 10% de maltodextrina versus 10% de leucina (ver Figs. 22 e 23)

para dados de XRPD bem como FIG. 24, que mostra uma temperatura de transição vítrea de cerca de 134 °C.

Em contraste, a formulação III exibiu a presença de algum grau de conteúdo de de sal de cálcio cristalino (sulfato de cálcio), além de cloreto de sódio cristalino (ver Figs. 25A e 25B). No entanto, esse pó ainda possuía um grau significativo de conteúdo de fase rica em cálcio amorfa, como evidenciado pela presença de uma temperatura de transição vítrea de aproximadamente 159 °C via DSC (ver FIG. 26).

B. Mapeamento RAMAN de superfície

Experimentos de Mapeamento RAMAN de Superfície foram realizados em amostras das formulações de I a III e XIV, a fim de determinar a natureza da composição química na superfície das partículas compreendendo essas formulações. Espectros de mapa RAMAN foram adquiridos em um Renishaw inVia Ramascope (Gloucestershire, UK), equipado com um microscópio Leica DM LM (Wetzlar, Alemanha). O instrumento foi calibrado com um padrão de disco de silício. As amostras foram preparadas para análise em uma lâmina de microscópio com revestimento de alumínio. O comprimento de onda de excitação foi 785 nm usando uma fonte de laser de diodo próximo ao infravermelho de alta potência. A coleta de dados para a formulação I, formulação III e formulação XIV foi um exame estático com um tempo de exposição de 30 segundos e 10 acumulações. A coleta de dados para a formulação II foi uma verificação detalhada com um tempo de exposição de 60 segundos e 1 acumulação. A câmera Philips ToUcam Pro II (modelo PCVC 840K) (Amsterdam, Holanda) foi utilizada para aquisição de imagens com uma objetiva de 50x. O software Renishaw WIRE 3.1 (pacote de serviços 9) (Gloucestershire,. UK) foi utilizado para a coleta e processamento de dados.

Os espectros Raman foram adquiridos por seis partículas da amostra da formulação I, e são mostrados na FIG 27A sobrepostos. Arquivos de espectros 389575-1 e 389575-6 são caracterizados pela presença de picos fracos em cerca de 1450, 965 e 850 cm-1. Estes picos são perceptíveis apenas como características muito fraco no arquivo de espectros 389.575-6, e não são detectados nos demais arquivos de dados espectrais. Na FIG 27B, o espectro 389575-6 é subtraída no fundo e revestido com os espectros RAMAN do citrato de cálcio tetrahidratado, citrato de sódio e leucina. O espectro da amostra apresenta picos em aproximadamente 1450 e 850 cm-1 que são comuns a ambos, leucina e os sais de citrato. O espectro da amostra apresenta um pico adicional em cerca de 965 cm-1, que é consistente com o pico de intensidade relativamente forte no espectro dos sais de citrato (ou seja, citrato de cálcio tetrahidratado e citrato de sódio). O pico característico de leucina de 1.340 centímetros-1 não é observado nos espectros da amostra.

Os espectros RAMAN foram adquiridos por oito partículas da amostra da formulação III, e são mostrados na FIG 27C sobrepostos. Todos os espectros de partículas são caracterizadas pela presença de um pico em cerca de 1060 cm-1. Um pico adicional em aproximadamente 670 cm-1 observa-se no arquivo de espectros 388369-4. O pico de 670 cm-1 também é observável em arquivos de dados espectrais 388.369-1, 3 e 8 após a subtração de fundo (não mostrado). Na Figura 27D, o espectro 388369-4 é subtraído no fundo e revestido com os espectros RAMAN de sulfato de cálcio, sulfato de cálcio hidratado, sulfato de sódio anidro e leucina. O espectro da amostra de fundo subtraído revela um possível terceiro pico próximo a 520 cm-1. Os picos em 1060 e 670 cm-1 estão presentes em posições

semelhantes aos picos característicos dos íons sulfato exibidos, mas não se sobrepõem com precisão. As frequências dos picos em 1060 e 670 cm-1 no espectro da amostra são consistentes com os modos de alongamento e flexão, respectivamente, de um grupo de íon sulfato funcional. Picos atribuíveis a leucina não são detectados nos espectros das partículas.

Os espectros RAMAN foram adquiridos por doze partículas da amostra da formulação II, e são mostrados na FIG 27E sobrepostos. Todos os espectros de partículas são caracterizadas pela presença de picos em aproximadamente 1045 e 860 cm-1. Picos adicionais podem ser observados em vários espectros em aproximadamente 1450, 1435, 1125, 1095, 930 e 775 cm-1, que geralmente se correlacionam relativamente em intensidade com o pico forte em 1045 cm-1. Na FIG. 27F, os espectros 389576-7 e 389576-12 são subtraídos no fundo e revestidos com os espectros RAMAN de lactato de cálcio pentahidratado e leucina. A boa correspondência é observada entre os espectros da amostra e o espectro lactato de cálcio pentahidratado. No entanto, o espectro da amostra exibe picos fracos adicionais em aproximadamente 1345, 1170, 960, 830, e 760 cm-1 que estão ausentes no espectro do lactato de cálcio pentahidratado. Picos similares estão presentes no espectro de referência de leucina, embora com intensidades relativas e frequências um pouco diferentes.

Os espectros RAMAN foram adquiridos por doze partículas da amostra da formulação XIV, e são mostrados na FIG 27G sobrepostos. Todos os espectros de partículas são caracterizadas pela presença de um pico em cerca de 1045 cm-1. Todos os espectros de partículas, exceto arquivo 389577-2 também exibem um pico em aproximadamente 860 cm-1. Picos adicionais podem ser observados em vários espectros

em aproximadamente 1450, 1435, 1125, 1095, 930 e 775 cm-1, que geralmente se correlacionam relativamente em intensidade com o pico forte em 1045 cm-1. Na FIG. 27H, o espectro 389577-9 é subtraído no fundo e revestido com os espectros RAMAN do lactato de cálcio pentahidratado. A boa correspondência é observada entre os espectros da amostra e lactato de cálcio pentahidratado. Picos atribuídos a maltodextrina (não apresentado) não são observados nos espectros da amostra.

Assim, a análise de mapeamento RAMAN de superfície indica que a composição da superfície de cada uma das formulações I ate XIV é dominada pela presença de vários sais de cálcio (citrato de cálcio para a formulação I, sulfato de cálcio para a formulação III e lactato de cálcio para as formulações II e XIV). Para o caso das formulações I a III, isto é, em contraste com o relato de uso de leucina como um agente de dispersão de reforço que aumenta a capacidade de dispersão do pó para ser emitido via aerossol sendo concentrada na superfície das partículas compreendendo o pó. Para as formulações divulgadas neste documento, não parece que a leucina está agindo como um potenciador de dispersão desta forma, como também evidenciado pelos resultados semelhantes visto para as formulações II (formulação de leucina contendo lactato de cálcio) e XIV (formulação de maltodextrina contendo lactato de cálcio) em relação ao conteúdo de superfície e de dispersão.

EXEMPLO 17: REAÇÃO DE TROCA IÔNICA PARA ATOMIZAÇÃO DE SULFATO DE CÁLCIO E CITRATO DE CÁLCIO SUPERSATURADOS

Matérias-primas saturadas ou supersaturadas de sulfato de cálcio aquoso ou citrato de cálcio foram preparadas para atomização utilizando cloreto de cálcio e sulfato de sódio ou cloreto de cálcio ou citrato de cálcio

como matérias-primas. Uma gama de concentrações de sólidos totais de 5 a 30 g/L foram preparadas tanto por (i) pré-mistura de ambos os sais em água e (ii) manutenção do sal de sódio e de cálcio em soluções aquosas distintas, com mistura estática em linha imediatamente antes da atomização. Todas as matérias-primas líquidas preparadas continham quantidades de sulfato de cálcio saturado ou supersaturado, (onde o limite de solubilidade do sulfato de cálcio na água é 2,98 g/L) e quantidades de citrato de cálcio saturado ou supersaturado (onde o limite de solubilidade do citrato de cálcio na água é 0,96 g/L). Considerando-se que a reação de precipitação do cloreto de cálcio e sulfato de sódio procede para conclusão ($CaCl_2$ + Na_2SO_4 → $CaSO_4$ + 2 NaCl), as concentrações correspondentes finais de sulfato de cálcio estão listadas na Tabela 24. Resultados semelhantes para a reação de precipitação do cloreto de cálcio e citrato de sódio (3 $CaCl_2$ + 2 $Na_3C_6H_5O_7$ → $Ca_3(C_6H_5O_7)_2$ + 6 NaCl) também são mostrados na Tabela 28.

Tabela 28: Concentrações de sólidos totais de de matéria-prima líquida e concentrações finais de sulfato de cálcio e citrato de cálcio, onde o limite de solubilidade aquosa do sulfato de cálcio é 2,98 g/L e do citrato de cálcio é 0,96 g/L

Concentração de sólidos totais (g/L)	Concentração final de sulfato de cálcio (g/L)	Concentração final de citrato de cálcio (g/L)
5	2,7	2,9
10	5,4	5,9
15	8,1	8,8
20	10,8	11,7
30	16,1	17,6

Formulações de 44 por cento em peso de cloreto de cálcio e 56 por cento em peso de sulfato de sódio foram

produzidas por atomização utilizando um atomizador Minor Mobile (Niro, GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD). As matérias-primas líquidas foram preparadas em um intervalo de concentração de sólidos 5 a 30 g/L. Para as matérias-primas pré-misturadas, sal de sódio, em seguida, sal de cálcio foi dissolvido em água DI, com agitação constante em uma placa de agitação magnética. Quanto às matérias-primas misturados de forma estática, sal de cálcio foi dissolvido em água DI, e sal de sódio foi dissolvido em água DI separadamente com as duas soluções mantidas em vasos separados, com agitação constante. A atomização da matéria-prima líquida foi realizada utilizando um bico dois fluidos em co-corrente (Niro, GEA Process Engineering Inc., Columbia, MD). A matéria-prima líquida foi alimentada usando bombas de engrenagem (Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL) quer diretamente para o bocal de dois fluidos para matérias-primas pré-misturadas ou em um misturador estático (Charles Ross & Son Company, Hauppauge, NY) imediatamente antes da sua introdução no bico de dois fluidos para matérias-primas compostas de forma estática. Nitrogênio foi usado como gás de secagem e ar comprimido seco como a alimentação de gás de atomização para o bico de dois fluidos. A temperatura de entrada de gás de processo foi de 240 a 250 °C e a temperatura de saída foi 94 a 988 °C com uma taxa de matérias-primas líquidas de 50 a 70 mL/min. O gás de abastecimento do atomizador de dois fluidos foi de aproximadamente 11 kg/h. A pressão dentro da câmara de secagem foi de -2 "WC. Os produtos atomizados foram coletados a partir de um ciclone e analisados para tamanho de partícula de volume por difração a laser usando um aparelho HELOS como anexo RODOS e para propriedades de aerossóis usando um ACI de dois estágios quebrados.

As matérias-primas pré-misturadas foram avaliadas para a estabilidade da solução e clareza. Em uma concentração de sólidos totais de 5 g/L, onde a concentração final de sulfato de cálcio seria ligeiramente acima do limite de solubilidade do sulfato de cálcio, a solução ficou clara durante a duração de 30 minutos de atomização da mistura. Como a concentração de sólidos totais aumentou e a concentração final de sulfato de cálcio excedeu em muito o limite de solubilidade, a matéria-priam tornou-se turva e a precipitação foi evidente. Em 10 g/L o líquido ficou ligeiramente turvo, em 20 g/L o líquido ficou claro por aproximadamente 5 a 10 minutos antes de se tornar cada vez mais turvo ao longo de 10 minutos e em 30 g/L o líquido era claro por cerca de 2 minutos após a mistura, com precipitação visível que aparece após cerca de 5 minutos.

As matérias-primas líquidas pré-misturadas e misturadas de forma estática foram atomizadas e o pó seco resultante coletado do ciclone. Os resultados de HELOS com RODOS são mostrados na FIG. 28, com distribuições de partículas representando tamanho mostrado na FIG. 29. Apesar de um aumento no tamanho das partículas ser esperado com o aumento da matéria-prima e concentrações de sólidos (como visto nas matérias-primas misturadas de forma estática), o aumento de tamanho significativo de partículas e a ampliação da distribuição de tamanho de partículas das matérias-primas pré-misturadas é indesejável.

Os resultados de caracterização de aerossóis do pós secos usando a ACI quebrado são mostrados na FIG. 30.

As soluções instáveis com precipitação contínua podem afetar negativamente a formação de partículas reproduzíveis durante a atomização e também resultar em uma ampla distribuição de tamanho de partícula. As soluções

claras supersaturada evidente em 2 a 10 minutos para a alta concentração de sólidos sugerem que as soluções podem ser misturadas de forma estático para alcançar um maior rendimento de atomização enquanto produzindo reproducibilidade em uma distribuição de tamanho de partícula estreita.

Resultados semelhantes foram exemplificados para citrato de cálcio, como demonstrado no Exemplo 1 para a formulação compreendendo 10,0 por cento em peso de leucina, 35,1 por cento em peso de cloreto de cálcio e 54,9 por cento em peso de citrato de sódio (formulação I-A). A reação de precipitação irá resultar em uma formulação que compreende 10,0 por cento em peso de leucina, 52,8 por cento em peso de citrato de cálcio e 37,2 por cento em peso de cloreto de sódio. Em uma concentração de sólidos totais de 10 g/L, a concentração final de citrato de cálcio seria 5,3 g/L, o que excede o limite de solubilidade do citrato de cálcio na água de 0,96 g/L. Como pode ser visto a partir das propriedades do pó atomizado (Figuras 1A a 1E e 2 a 4), esta solução supersaturada resultou em partículas respiráveis com distribuição de tamanho estreito.

EXEMPLO 18

Partículas dispersível pequenas foram feitas a partir de formulações contendo cálcio com e sem leucina, bem como formulações contendo só magnésio e sódio.

Os pós foram atomizados em Büchi B-290 usando ciclone de alto desempenho com uma taxa de alimentação de ar de 30 mm de ar, aspiração a uma taxa de 90% e vaso de coleta de vidro pequeno. A temperatura de entrada foi 220 °C e a temperatura de saída foi entre 96 e 102 °C. A concentração de sólidos foi de 5 g/L e todos foram misturados em água DI através da dissolução completa de um

componente de cada vez, antes de adicionar o seguinte na ordem em que são listados.

18-1) 10,0% de lactose, 30,6% de cloreto de magnésio, 59,4% de citrato de sódio, razão Ca:Na = 1:2

18-2) 63,4% de lactato de magnésio, 36,6% de cloreto de sódio, razão Ca:Na = 1:2

18-3) 10,0% de leucina, 58,4% de lactato de magnésio, 31,6% de cloreto de sódio, razão Ca:Na = 1:2

18-4) 50,0% de leucina, 50% de lactato de cálcio

18-5) 10% de leucina, 90% de cloreto de sódio

18-6) 60% de leucina, 40% de cloreto de sódio

18-7) 10,0% de albuterol, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio

18-8) 90,0% de albuterol, 5,9% de lactato de cálcio, 3,1% de cloreto de sódio

Resultados de caracterização para estes pós são apresentados na Tabela 29 abaixo. Todos os oito pós exibiram boa dispersibilidade com relação a x50 razão 0,5/4 e 1/4. FPF’s < 5,6 microns variou de um mínimo de 18,7% para 75,6%.

Tabela 29. Formulações baseadas em sódio, cálcio e magnésio variados

Lote	Formulação	Método	X50 (µm) a 1 bar	GSD a 1 bar	1/4 bar	0,5/4 bar	FPF_TD < 3,4 um %	FPF_TD < 5,6 um %	% de massa cole-tada	Rendimento %
68.124.1	Lact:MgCl2:Na3Cit 10:30,6:59,4	Buchi HP	2,9	2,3	1,1	1,1	18,1%	37,8%	55,7%	88,9%
68.129.1	Leucina:MgLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	2,7	2,4	0,8	1,1	14,5%	32,3%	53,0%	80,0%
68.129.2	MgLact:NaCl 63,4:36,6	Buchi HP	3,3	2,1	1,0	1,0	16,5%	39,3%	59,8%	78,0%
68.125.1	Leu:CaLact 50:50	Buchi HP	3,5	2,2	1,1	1,1	19,2%	38,5%	60,4%	76,0%
68.124.2	Leu:NaCl 10:90	Buchi HP	1,1	1,7	1,0	1,2	53,0%	71,0%	78,6%	67,9%
68.124.3	Leu:NaCl 60:40	Buchi HP	1,4	2,2	1,1	1,2	49,7%	75,6%	85,2%	54,3%
68.125.2	Albuterol:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	2,8	2,3	0,9	1,0	16,0%	38,6%	60,2%	81,5%
68.125.3	Albuterol:CaLAct:NaCl 90:5,9:3,1	Buchi HP	3,5	2,3	1,0	1,1	8,9%	18,7%	29,1%	40,5%

Várias formulações exemplares livres de cálcio adicionais foram produzidas utilizando vários sistemas de atomização (Buchi, Labplant e sistemas baseados em Niro) seguindo procedimentos similares aos descritos acima. Os resultados de caracterização selecionados para os pós resultantes são apresentados na Tabela 30 (células com valores em branco indicam que não há valor medido para o pó).

Tabela 30. Formulações livres de cálcio de pós dispersíveis pequenos

Lote	Formulação	Método	X50 (µm) a 1 bar	GSD a 1 bar	1/4 bar	0,5/4 bar	% de água	FPF_TD < 3,4 um %	FPF_TD < 5,6 um %	% de massa coletada	Rendimento %
NaCl											
2.62.2	NaCl 100	Labplant	2,9	1,4		0,5%					
27.115.4	NaCl 100	Niro	4,5	1,9	1,4		0,6%	5,2%	22,0%	43,1%	61,3%
Sais de Magnésio											
27.33.2	MgCl2 + NaCl	Labplant	4,3	1,9	1,2		29,9%	2,3%	5,7%	14,0%	17,9%
27.15.4	MgCl2:Na2CO3 47:53	Labplant	2,3	1,4	1,1		87,4%				17,6%
68.124.1	Lactose:MaCl2:Na3Cit 10:30,6:59,4	Buchi HP	2,9	2,3	1,1	1,1		18,1%	37,8%	55,7%	88,9%
68.129.1	Leucina:MgLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	2,7	2,4	0,8	1,1		14,5%	32,3%	53,0%	80,0%
68.129.2	MgLact:NaCl 63,4:36,6	Buchi HP	3,3	2,1	1,0	1,0		16,5%	39,3%	59,8%	78,0%
Leucina											
26.155.1	Leucina 100	Buchi HP	4,1	2,3	1,1			33,6%	58,5%	71,8%	56,7%

Além disso, vários exemplos adicionais de composições contendo um ou outro não excipientes ou excipientes livres de leucina também foram produzidos utilizando vários sistemas de atomização (Buchi, Labplant e sistemas baseados em Niro) seguindo procedimentos similares aos descritos acima. Os resultados da caracterização selecionados para os pós resultantes são apresentados na Tabela 31 (células com valores em branco indicam que não há valor medido para o pó).

Tabela 31. Formulações de sal livres de leucina de pós dispersíveis pequenos

Lote	Formulação	Método	X50 (µm) a 1 bar	GSD a 1 bar	1/4 bar	0,5/4 bar	% de água	FPF_TD < 3,4 um %	FPF_TD < 5,6 um %	% de massa coletada	Rendimento %
Excipientes com lactato											
45.132.1	Leu:mdextrin:CaLact:NaCl 5:5:58,6:31,4	Buchi HP	1,5	1,9	1,0	1,0		31,8%	53,7%	62,9%	65,6%
45.137.1	Lact:CaLAct:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	2,7	2,0	1,0	1,0	8%	24,9%	48,1%	63,4%	81,4%
45.137.2	Manitol:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,5				6%	43,6%	66,6%	73,1%	68,6%
45.189.2	Manitol:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,2	1,8	1,0	1,0	5%	44,8%	66,0%	71,6%	
45.137.3	Mdextrin:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,4	1,9	1,0	1,0	6%	47,5%	71,3%	77,6%	77,7%
45.189.3	Mdextrin:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,3	1,8	1,0	1,0	7%	44,8%	66,6%	73,2%	
45.137.4	Trehalose:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,4	1,9	1,0	1,0	4%	51,3%	72,8%	78,2%	77,2%
Citrato de cálcio											
2.26.3	CaCl2:Na3Cit 39:61	Labplant	3,3	1,2	1,0		11,0%				22,8%

26.048.2	CaCl2:Na3Cit2 39:61	Niro	7,0	2,1	1,2			7,9%	22,0%	46,1%	61,0%
27.03.1	CaCl2:Na3Cit 39:61	Labplant	3,6	1,4	1,1		9,0%				25,1%
26.013.3	CaCl2:Na3Cit 49:51 Não completo	Niro	3,6	2,0	1,1			12,7%	31,0%	45,9%	43,9%
27.183.4	Ca(OH)2:ácido Cit:NaCl 35:61:3,5	Buchi	2,6	1,8	1,0			9,3%	17,7%	21,5%	23,1%
Sulfato de Cálcio											
2.26.4	CaCl2:Na2SO4 44:56	Labplant	3,7	1,7	1,4		5,1%				12,1%
26.060.1	CaCl2:Na2SO4 44:56	Niro	3,0	2,0	1,3			15,3%	40,2%	62,9%	60,8%
26.060.3	CaCl2:Na2SO4 44:56 Mistura estática	Niro	2,6	1,6	1,2			17,0%	42,5%	58,6%	31,4%
26.069.1	CaCl2:NaSO2 44:56 5 g/L	Niro	2,9	1,6	1,4			11,1%	38,5%	59,1%	25,2%
26.069.2	CaCl2:NaSO2 44:56 10 g/L	Niro	3,5	1,8	1,5			7,6%	27,7%	61,1%	45,6%
26.069.3	CaCl2:NaSO2 44:56 20 g/L	Niro	4,0	2,1	1,4			6,9%	25,3%	62,6%	37,3%

26.124.1	CaCl2:Na2SO4 44:56 5 g/L	Niro	2,9	1,5	1,5		6,5%	11,0%	34,5%	53,4%	22,0%
26.124.2	CaCl2:Na2SO4 44:56 10 g/L	Niro	3,2	1,5	1,7		7,1%	9,9%	28,9%	45,1%	35,0%
27.114.5	CaCl2:Na2SO4 44:56	Niro	4,1	1,8	1,6		6,8%	5,8%	22,6%	50,2%	52,5%
27.154.1	CaCl2:Na2SO4 44:56	Buchi	3,1	1,9	1,3			14,0%	31,6%	55,1%	50,3%
27.114.6	CaCl2:Na2SO4:Rhod B 44:56:1	Niro	3,9	1,9	1,0		7,2%	7,4%	25,5%	52,4%	44,2%
27.114.1	Lact:CaCl2:Na2SO4 90:4,4:5,6	Niro	3,9	2,5	1,2		17,9%	12,0%	28,5%	24,5%	13,3%
27.114.2	Lact:CaCl2:Na2SO4 50:22:28	Niro	4,5	2,0	1,1		12,6%	10,2%	29,1%	44,5%	58,0%
27.115.3	CaSO4 100	Niro	3,8	1,7	1,2		14,0%	15,8%	38,2%	57,0%	47,5%
27.185.2	Ca(OH)2:ácido sulf:NaCl 41,3:54,6:4,1	Buchi	2,5	1,8	1,3			17,5%	45,2%	65,2%	44,1%
27.185.3	Ca(OH)2:ácido sulf 43:57	Buchi	2,9	2,3	1,1			15,3%	38,9%	59,4%	16,1%
27.183.1	CaLact:NaCl 96,8:3,2	Buchi	3,1	2,0	1,1			22,4%	50,9%	69,5%	35,0%
27.115.2	CaCl2:Na2CO3 51:49	Niro	3,9	2,1	1,4		1,7%	8,4%	22,4%	38,9%	27,3%
27.184.3	CaGluc:NaCL 98,3:1,7	Buchi	2,9	2,0	1,0			13,5%	26,7%	48,3%	47,6%

27.15.2	MgCl2:Na3Cit 36:64	Labplant	3,1	1,4	1,0		13,2%				28,6%
27.33.3	MgCl2:Na3Cit 36:64	Labplant	4,0	2,2	1,2		15,7%	21,4%	53,7%	68,2%	26,2%
27.15.3	MgCl2:Na2SO4 40:60	Labplant	3,9	2,3	1,3		11,1%				31,8%
27.33.9	MgCl2:Na2CO3 47:53	Labplant	2,7	3,7	1,4		7,9%	21,0%	46,0%	58,3%	18,8%
27.15.4	MgCl2:Na2CO3 47:53	Labplant	2,3	1,4	1,4		87,4%				17,6%
68,12461	Lact:MeCl2:Na2Cit 10:30,6:59,4	Buchi HP						18,1%	37,8%	55,7%	88,9%
68.129.2	MgLact:NaCl 63,4:36,6	Buchi HP						16,5%	39,3%	59,8%	78,0%

A Tabela 32 contém dados de caracterização de composições adicionais de pó dispersível e pequeno contendo leucina e cálcio feitas usando um sistema de atomização Buchi ou Niro por procedimentos semelhantes aos descritos acima (células com valores em branco indicam que não há valor medido para o pó).

Tabela 32. Formulações contendo leucina e cálcio de particulas dispersíveis pequenas

Lote	Formulação	Método	X50 (µm) a 1 bar	GSD a 1 bar	1/4 bar	0,5/4 bar	% de água	FPF_TD < 3,4 um %	FPF_TD < 5,6 um %	% de massa coletada	Rendimento %	Densidade derivada (gcm³)
Cloreto												
26.010.2	Leu:CaCl2:NaCl 50:29,5:20,5	Niro	4,8	2,2	1,1			15,8%	35,9%	50,8%	64,1%	
26.041.3	Leu:CaCl2:NaCl 50:29,5:20,5	Niro	4,9	2,4				14,7%	28,0%	43,0%	50,2%	
Citrato												
26.013.1	Leu:CaCl2:Na3Cit2 50:19,5:30,5	Niro	4,2	2,1	1,6			16,8%	35,2%	53,8%	56,1%	
26.013.2	Leu:CaCl2:Na3Cit2 10:35,1:54,9	Niro	4,8	1,8	1,3			20,8%	39,6%	52,2%	57,5%	
26-190-F	Leucina:CaCl2:Na3Cit2 10,0:35,1:54,9	Niro	2,6	1,9	1,2	1,2		45,7%	61,6%	66,3%	74,8%	0,29
Sulfato												
26.013.4	Leu:CaCl2:Na2SO4 10:39,6:50,4	Niro	3,7	2,0	1,4			19,6%	39,4%	60,9%	73,1%	
26.060.2	Leu;CaCl2:Na2SO4 10:39,6: 50,4	Niro	2,9	1,9	1,2			16,2%	35,2%	53,2%	46,5%	0,18
26.060.4	Leu:CaCl2:Na2SO4 10:39,6:50,4	Niro	2,9	1,7	1,3			18,8%	45,1%	64,4%	49,9%	0,17
27.154.2	Leu:CaCl2:Na2SO4	Buchi	3,8	1,9	1,1			17,2%	37,5%	55,5%	56,1%	0,30

	10:39,6:50,4											
65-009-F	Leucina:CaCl2:Na2SO4 10,0:39,6:50,4	Niro	2,5	2,2	1,4	1,5		60,1%	82,7%	88,6%	74,2%	0,34
26.053.1	Leucina:CaCl2:Na2SO4 50:22:28	Niro	4,2	2,0	1,5		3,3%	23,0%	39,6%	52,0%	59,6%	
27.114.4	Leu:CaCl2:Na2SO4 50:22:28	Niro	4,7	1,8	1,9		3,8%	21,2%	44,6%	59,6%	59,6%	
27.155.1	Leu:CaCl2:Na2SO4 50:22:28	Buchi	3,7	1,9	1,2			15,7%	42,9%	68,8%	47,6%	0,35
Sulfato de cálcio												
26.019.4	Leu:CaSO4 50:50	Niro	4,1	2,1	1,4			11,9%	28,0%	56,0%	101,8%	
Carbonato												
26.019.1	Leu:CaCl2:NaCO3 50:25,5:24,5	Niro	3,4	1,9	1,7			9,6%	22,2%	35,9%	46,3%	
26.019.2	Leu:CaCl2:NaCO3 10:45,9:44,1	Niro	2,7	1,8	1,4			10,6%	23,8%	37,5%	51,0%	
Lactato												
26.041.4	Leu:CaLact:NaCl	Niro	5,0	1,9				9,7%	25,9%	46,6%	56,5%	
27.183.2	Leu:CaLact:NaCl 50:48,4:1,6	Buchi	3,7	1,8	1,1			24,9%	48,9%	62,7%	34,1%	
27.185.1	Leu:CaLact:NaCl 10:66,6:23,4	Buchi	3,0	1,9	1,0			26,1%	53,7%	70,0%	44,8%	
45.19.1	Leu:CaLact:NaCl 10:66,6:23,4	Buchi HP	3,4	2,3	0,9		5,2%	12,8%	29,1%	50,3%	75,6%	0,74
45.76.1	Leu:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	3,8	2,1	1,0		5,0%	8,6%	20,9%	36,6%	78,5%	

45.78.1	Leu:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,5	1,9	1,1		4,8%	30,6%	53,4%	62,9%	60,8%	
45.80.1	Leu:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,5	1,9	1,1		4,4%	30,3%	53,5%	63,8%	71,0%	
45.81.1	Leu:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	2,4	2,8	1,3		7,2%	19,3%	34,1%	44,3%	64,6%	
68.70.1	Leu:CaLact:NaCl 10:58,6:31,4	Buchi HP	1,5	1,9	1,0			42,8%	63,2%	67,8%	73,9%	
65-003-F	Leucina:CaLact:NaCl 10,0:58,6:31,4	Niro	1,5	2,5	1,1	1,1		43,4%	63,5%	69,7%	62,9%	0,69
Gluconato												
27.184.1	Leu:CaGluc:NaCl	Buchi	3,4	2,1	1,0			35,0%	61,4%	76,3%	51,9%	
27.184.4	Leu:CaGluc:NaCl 50:42,35:7,65	Buchi	3,5	2,0	1,2			34,1%	60,7%	71,5%	46,3%	
27.184.2	Leu:CaGluc:NaCl 10:88,5:1,5	Buchi	2,7	2,0	1,0			24,9%	52,2%	64,2%	51,0%	

EXEMPLO 19

Cloreto de cálcio puro foi atomizado no sistema de atomização Labplant com uma temperatura de 180 °C. A matéria-prima líquida consistiu de 20 g / L de concentração de sólidos de cloreto de cálcio dihidratado em água DI. Água condensada no vaso de coleta como cloreto de cálcio desumidificado e nenhum pó poderia ser recolhido. Cloreto de cálcio puro foi considerado muito higroscópico para a atomização de uma solução aquosa com alto teor de água nos gases de escape de secagem. A matéria-prima líquida foi então alterada para 70% de etanol para reduzir a umidade no gás de exaustão, mantendo a concentração de sólidos de 20 g/L, a temperatura de entrada de 200 °C e temperatura de saída de 69 °C. Água ainda condensada no recipiente de coleta e o pó pareceu molhado. Concluiu-se que o cloreto de cálcio é muito higroscópico para ser atomizado, sem mistura com outros sais ou com um excipiente para reduzir o teor de cloreto de cálcio no pó final.

Cloreto de magnésio uro foi atomizado no sistema Labplant com uma temperatura de entrada de 195 °C e temperatura de saída de 68 °C. A matéria-prima líquida consistiu de 20 g / L de concentração de sólidos de cloreto de magnésio hexahidratado em água DI. O pó seco no recipiente de coleta parecia molhado e do tamanho da partícula mediana medida no sistema HELOS/RODOS foi de 21 microns. A matéria-prima líquida foi então alterada para 70% de etanol para reduzir a umidade no gás de exaustão de secagem, mantendo a concentração de sólidos de 50 g/L, a temperatura de entrada de 200 °C e a temperatura de saída de 74 °C. Este pó de cloreto de magnésio não pareceu molhado e tinha um tamanho de partícula médio de volume de 4 microns, mas o pó pareceu granular e teve uma fração de partículas finas menor que 5,6 microns de 19%, indicando que o pó não era suficientemente respirável.

EXEMPLO 20: PARTÍCULAS POROSAS GRANDES

Tabela 33. Formulações de partículas porosas grandes

Formulação	Método	X50 (µm) a 1 bar	GSD a 1 bar	1/4 bar	0,5/4 bar	Spraytec dV50 (µm)	Spraytec GSD	% de água	FPF_TD < 3,4 um %	FPF_TD < 5,6 um %	% de massa coletada	Rendimento %	Densidade derivada (gcm³)
Leucina:CaCl2:NaCl 50:29,5:20,5	Niro	25,9	5,8						18,2%	29,0%	48,6%	43,2%	
Leucina:CaCl2:NaCl 50:29,5:20,5	Niro	12,2	6,3									35,4%	
Leu:CaCl2:Na2SO4 90:4,4:5,6	Niro	10,0	2,4					1,8%	5,0%	16,5%	34,7%	84,8%	
Leu:CaLact:NaCl 10:66,6:23,4	Buchi HP					22,4	4,4		4,9%	7,3%	13,1%	72,0%	
Leu:CaCl2:Na2SO4 67,6:30:2,4	Buchi HP					21,2	3,0		13,2%	25,2%	47,7%	n/a	0,22

EXEMPLO 21: ESTABILIDADE

Pós secos foram testados para estabilidade em uso sob condições extremas de temperatura e umidade (ICH, Climatic Zone XIV), definida como 30 °C e 75% RH. Aproximadamente 25 mg da formulação I, formulação II e formulação III foram acondicionadas em cápsulas. As cápsulas foram deixadas abertas e, em seguida, foram colocadas em uma câmara de estabilidade nas condições definidas para 15 e 30 minutos. As cápsulas foram removidas no momento adequado, fechada e testada para aPSD usando um ACI de 2 estágios quebrados e para gPSD usando o Spraytec Malvern. Ambos os testes foram realizados em 60 LPM por 2 segundos. Cada ponto no tempo foi repetido n = 2. Os resultados foram comparados com dados aPSD/gPSD a partir do pó à temperatura ambiente e 25-30% RH.

Todas as formulações (formulação I, formulação II e formulação III) apresentaram menos de +/- 5% de alteração da fração de partículas finas da dose total (FPFTD) inferior a 5,6 microns em condições normais (22 °C, 25 a 30% RH), após uma exposição de 30 minutos a condições extremas de temperatura e umidade (30 °C, 75% RH). Para gPSD, a formulação I mostrou um aumento de aproximadamente 30% após 30 minutos, enquanto a formulação III permaneceu praticamente estável e a formulação II teve uma diminuição no DV50 de aproximadamente 15% após 30 minutos.

Embora as mudanças insignificantes nas propriedades de aerossóis das três formulações fossem vistas com a exposição a 30 °C, 75% de umidade relativa por 30 minutos, as mudanças no tamanho das partículas geométricas foram mais evidentes (FIG. 31A e 31B). O tamanho da partícula da formulação I (citrato de cálcio) aumentou aproximadamente 30%, enquanto o tamanho de partícula da formulação II (lactato de cálcio) diminuiu

cerca de 15%. O tamanho de partícula da formulação II (sulfato de cálcio) diminuiu, mas não significativamente.

Formulações adicionais testadas foram um pó de cloreto de cálcio (38,4% leucina, 30,0% de cloreto de cálcio, 31,6% de cloreto de sódio) e um pó de lactato de cálcio usando diferentes excipientes (lactose, manitol, maltodextrina) correspondente à formulação II (10,0% de excipiente, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio).

Depois de uma exposição de 30 minutos a condições extremas de temperatura e umidade (30 °C, 75% RH), as formulaçãoes de maltodextrina (formulação XIV) e manitol mostraram uma variação global de menos de +/- 10% de alteração da fração de partículas finas da dose total menor que 5,6 microns em condições normais (22 °C, 25 a 30% RH). A formulação de pó de cloreto de cálcio e lactose pareceu afetada com uma diminuição de mais de 50% e um aumento de aproximadamente 20%, respectivamente, em fração de partículas finas da dose total menor que 5,6 microns (FIG. 31C). Para gPSD, os resultados foram opostos, onde a formulação de pó de cloreto de cálcio e lactose mostrou uma variação global de menos de +/- 10% de alteração em Dv50 após 30 minutos, enquanto a formulação de manitol teve um aumento na Dv50 de 30% a 60% durante o teste (FIG. 32D). A formulação de maltodextrina não foi testada para a mudança na Dv50.

EXEMPLO 22: Estabilidade a curto prazo na temperatura ambiente e 30% e 40% RH

Pós atomizados foram mantidos à temperatura ambiente em aproximadamente 30% e 40% de RH por um período de uma semana e periodicamente testados para distribuição de tamanho de partícula. Cápsulas de tamanho 3 HPMC (Quali-V, Qualicaps, Whitsett, NC) foram cheias até a metade de

cada pó seco. Uma amostra foi analisada imediatamente em Spraytec (Malvern Instruments Inc., Westborough, MA), um sistema de dimensionamento de partículas pulverizadas de difração a laser, onde pós secos podem ser dispersos de um inalador usando a configuração de células do inalador. Cerca de 16 cápsulas foram preenchidas com cada pó. Metade das cápsulas foi mantida em laboratório em condições controladas de umidade e temperatura (~23 a 28% RH), enquanto a outra metade foi mantida fora do laboratório variando a temperatura e a umidade relativa (~38 a 40% RH). Em momentos específicos (t = 1 h, 2 h, 4 h, 24 h, 48 h, uma semana), uma cápsula da sala de ambiente controlado e uma de fora do laboratório foram testadas em Spraytec para o volume de distribuição de tamanho de partícula.

Os resultados para uma seleção de formulações contendo 50% de leucina e uma combinação de cloreto de cálcio e do sal de sódio indicado são mostrados nas FIG. 32 e FIG. 33. As formulações contendo cloreto de cálcio e cloreto de sódio mostraram aglomeração significativa após a exposição a condições de maior umidade. A formulação de acetato teve resultados variáveis nos momentos iniciais. As formulações de sulfato, citrato e carbonato demonstraram boa estabilidade relativa ao longo do período de teste.

As formulações de pó seco contendo cloreto de cálcio e cloreto de sódio não foram estáveis quando mantidas em temperatura ambiente e 40% RH após uma hora de exposição, enquanto a formulação de acetato também mostrou resultados variáveis no tamanho das partículas. Os pós de sulfato e lactato aumentaram ligeiramente em tamanho, enquanto os pós de carbonato e citrato diminuiram ligeiramente em tamanho. As formulações contendo só cloreto e aquelas contendo acetato não foram consideradas devidamente estáveis para um estudo mais aprofundado.

EXEMPLO 21: Estabilidade a curto prazo na temperatura ambiente e 30% e 40% RH

Pós atomizados foram mantidos à temperatura ambiente em aproximadamente 30% e 40% de RH por um período de uma semana e periodicamente testados para distribuição de tamanho de partícula. Cápsulas de tamanho 3 HPMC (Quali-V, Qualicaps, Whitsett, NC) foram cheias até a metade de cada pó seco. Uma amostra foi analisada imediatamente em Spraytec (Malvern Instruments Inc., Westborough, MA), um sistema de dimensionamento de partículas pulverizadas de difração a laser, onde pós secos podem ser dispersos de um inalador usando a configuração de células do inalador. Cerca de 16 cápsulas foram preenchidss com cada pó. Metade das cápsulas foi mantida em laboratório em condições controladas de umidade e temperatura (~23 a 28% RH), enquanto a outra metade foi mantida fora do laboratório variando temperatura e umidade relativa (~38 a 40% UR). Em momentos específicos (t = 1 h, 2 h, 4 h, 24 h, 48 h, uma semana), uma cápsula da sala de ambiente controlado e uma de fora do laboratório foram testadas em Spraytec para o volume de distribuição de tamanho de partícula.

Os esultados para uma seleção de formulações contendo 50% de leucina e uma combinação de cloreto de cálcio e do sal de sódio indicado são mostrados nas FIG. 32 e FIG. 33 (cloreto retirado). As formulações contendo cloreto de cálcio e cloreto de sódio mostraram aglomeração significativa após a exposição a condições de maior umidade. A formulação de acetato teve resultados variáveis nos momentos iniciais. As formulações de sulfato, citrato e carbonato demonstraram relativa estabilidade ao longo do período de teste.

As formulações de pó seco contendo cloreto de cálcio e cloreto de sódio não foram estáveis quando

mantidas em temperatura ambiente e 40% RH após uma hora de exposição, enquanto a formulação de acetato também mostrou resultados variáveis no tamanho das partículas. As formulações de sulfato e lactato aumentaram ligeiramente em tamanho, enquanto carbonato e citrato diminuiram ligeiramente em tamanho. As formulações contendo só cloreto e aquelas contendo acetato não foram consideradas devidamente estáveis para um estudo mais aprofundado.

Exemplo 22 propriedades de fluxo

A fluidez das formulações I, II, III e XIV de pó também foi avaliada através de métodos convencionais na técnica para a caracterização da fluidez do pó. O Índice de Fluidez para cada pó foi determinado usando um instrumento de teste de Fluidez de pó Flodex (Hanson Research Corp, modelo 21-101-000). Para qualquer execução dada, toda a amostra foi carregada usando um funil de aço inoxidável visando o centro do buraco alçapão no cilindro. Cuidado foi tomado para não perturbar a coluna de pó no cilindro. Depois de esperar ~30 s para a formação potencial de flóculo, a porta do alçapão foi lançada ao mesmo tempo fazendo pouca possível vibração no aparelho. O teste foi considerado um passe se o pó caiu pelo alçapão para que o buraco fosse visível olhando para baixo através do cilindro de cima e o resíduo no cilindro formou um cone invertido, se o buraco não estava visível ou o pó caiu em linha reta através do buraco sem deixar um resíduo em forma de cone, o teste falhou. Discos de fluxo suficiente foram testados para encontrar o buraco de tamanho mínimo que o pó passaria, produzindo um teste positivo. A vazão mínima de tamanho do disco foi testada mais duas vezes para obter três testes positivos de 3 tentativas. O índice de fluidez (FI) é registrado como este diâmetro do furo mínimo medido.

As densidades aparente e derivada foram determinadas utilizando um testador de densidade Toque SOTAX modelo TD2. Para qualquer execução dada, toda a amostra foi apresentada a um cilindro tarado graduado de 100 ml usando um funil de aço inoxidável. A massa de pó e o volume inicial (V_0) foram registrados e o cilindro foi anexado à bigorna e executado de acordo com o método USP 1. Para a primeira passagem, o cilindro foi aproveitado usando uma contagem de derivada 1 (500 toques) e o volume resultante V_a foi gravado. Para a segunda passagem, a contagem de derivada 2 foi usada (750 toques), resultando no novo volume V_{b1}. Se V_{B1} > 98% do V_a, o teste foi completo, caso contrário a contagem de derivada 3 foi usada (1250 toques) iterativamente até V_{bn} > 98% de V_{bn-1}. Os cálculos foram feitos para determinar a densidade aparente de pó (d_B), densidade derivada (d_T), Razão de Hausner (H) e Índice de compressibilidade (C), os dois últimos dos quais são as medidas padrão da fluidez do pó. "H" é a densidade derivada dividido pela densidade aparente, e "C" é 100 * (1-(densidade aparente dividida pela densidade dderivada)). A medição da densidade do esqueleto foi realizada por Serviços Micromériticos Analíticos II usando um AccuPyc 1340 que usou uma técnica de deslocamento de gás hélio para determinar o volume dos pós. O instrumento de medição do volume de cada amostra excluídos os vazios intersticiais do pó a granel e qualquer porosidade aberta nas partículas individuais a que o gás teve acesso. A porosidade interna (fechado) foi ainda incluída no volume. A densidade foi calculada usando este volume medido e o peso da amostra foi determinada utilizando uma balança. Para cada amostra, o volume foi medido 10 vezes e a densidade do esqueleto (d_S) foi relatada como a média dos 10 cálculos de densidade com desvio padrão.

Os resultados para estes testes de densidade e fluidez são mostrados nas Tabelas 34 e 35. Todos os quatro pós testados possuem razões de Hausner e índices de compressibilidade que são descritos na técnica como sendo característica dos pós com propriedades de fluxo extremamente pobres (ver, por exemplo, USP <1174>). É, portanto, de estranhar que estes pós sejam altamente dispersíveis e possuem propriedades de aerosolização boas como aqui descritas.

Tabela 34. Densidades aparente e derivada e propriedade de fluxo dos pós de formulação I a III e XIV

Amostra	FI (mm)	d_B (g/mL)	D_T (g/mL)	H	C
Formulação I	26	0,193	0,341	1,77	43,4%
Formulação II	22	0,313	0,722	2,31	56,7%
Formulação III	18	0,177	0,388	2,19	54,3%
Formulação XIV	> 34	0,429	0,751	1,75	42,9%

Tabela 35. Medições de densidade do esqueleto de pós da formulação I a III e XIV

Amostra	d_{S1} ± σ (g/mL)	d_{S2} ± σ (g/mL)
Formulação I	1,7321 ± 0,0014	1,7384 ± 0,0042
Formulação II	1,6061 ± 0,0007	1,6074 ± 0,0004
Formulação III	2,1243 ± 0,0011	2,1244 ± 0,0018
Formulação XIV	1,6759 ± 0,0005	1,6757 ± 0,0005

USP <1174> mencionado anteriormente nota que pós secos com uma relação maior que 1,35 Hausner são pobres em fluxo de pó. Propriedades de fluxo e dispersão são negativamente afetadas pela aglomeração ou agregação de partículas. Portanto, é inesperado que pós com Razões de Hausner de 1,75 a 2,31 seriam altamente dispersíveis.

EXEMPLO 23: Teor de Água e Higroscopicidade

O conteúdo de água do pó da formulação I, II, III e XIV foi determinado através de ambas a análise termogravimétrica (TGA) e a análise de Karl Fischer. A

análise termogravimétrica (TGA) foi realizada utilizando um analisador termogravimétrico TA Instruments Q5000 IR (New Castle, DE). A amostra foi colocada em um prato de amostra de alumínio e inserido no forno TG. A aquisição de dados e parâmetros de processamento são exibidos em cada termograma. Níquel e Alumel™ foram utilizados como padrões de calibração. Para TGA, o teor de água foi determinado a partir da perda de massa das amostras após aquecimento a uma temperatura de 150 °C (por TGA, uma vez que o solvente atomizado utilizado foi de 100% de água, assumiu-se que a água só estava presente como um volátil componente nesses pós). Um termograma de TGA representativo para o pó da formulação I é mostrado na Figura 34 análise coulométrica de Karl Fischer (KF) para determinação de água foi realizada utilizando uma titulador de KF Mettler Toledo DL39 (Greifensee, Suíça). A amostra foi colocada no vaso de titulação de KF contendo Hydranal - Coulomat AD e misturados por 10 segundos para a dissolução. A amostra foi então titulado por meio de um eletrodo gerador que produz a oxidação eletroquímica de iodo por: $2\ I^- \Rightarrow I_2 + 2e$. Geralmente, uma corrida telemetria e duas repetições foram obtidas para garantir a reprodutibilidade. Dados de resumo de conteúdos de água no pó com estes métodos são mostrados na Tabela 36

Tabela 36. Dados sobre conteúdo de água para as Formulações I, II, III e XIV via TGA e Karl Fischer

Pó	Conteúdo de água via TGA	Conteúdo de água via Karl Fischer
Formulação I	4,9%	3,9%
Formulação II	2,0%	2,0%
Formulação III	5,1%	4,6%
Formulação XIV	2,2%	2,1%

O experimento de modo de etapa de sorção de vapor dinâmica (DVS) foi realizado para comparar o potencial de captação de água e a higroscopicidade dos pós da formulação I, II, III e XIV versus a matéria-prima de cloreto de cálcio dihidratado, bem como o pó de controle de cloreto de cálcio:cloreto de sódio, 1:2, feito através de atomização de uma formulação contendo 38,4% de leucina, 30% de $CaCl_2$ e 31,6% de NaCl (determinou-se que 30% em peso foi o mais alto nível de carga de cloreto de cálcio que pode ser incorporado com sucesso em um pó atomizado, sem submeter a desumidificação do veículo de coleta imediatamente após a atomização). Com relação às condições operacionais de DVS, os pós foram inicialmente equilibrados em 0% de umidade relativa, em seguida, expostos a 30% RH por 1 hora, seguida da exposição a 75% RH por 4 horas. A % de massa de absorção de água para cada um dos pós é mostrada na Tabela 37. Como pode ser visto na Tabela 37, tanto a matéria-prima de cloreto de cálcio dihidratado e o pó de controle foram extremamente higroscópicos, ocupando cerca de 14 a 15% de água após a exposição a 30% RH por 1 hora e ocupando bem mais de 100% de sua massa em água após exposição a 75% RH. Em contraste, o pó da formulação I, II, III e XIV chegou a menos de 2,5% de água após a exposição a 30% RH por 1 hora e de 14% para 33% de água após a exposição a 75% RH por 4 horas.

Tabela 37. % de alteração em massa devido à absorção de água após (i) 30% de RH mantida por 1 hora e (ii) 75% de RH mantida 4 horas por DVS.

Pó	% de alteração em massa devido à absorção de água após 30% de RH por 1 h	% de alteração em massa devido à absorção de água após 75% de RH por 4 h
$CaCl_2$ * 2 H_2O (matéria-prima)	13,7	146
$CaCl_2$-controle	15,3	124
Formulação I	1,68	14,7
Formulação II	1,27	28,3
Formulação III	2,45	20,8
Formulação XIV	1,36	32,8

EXEMPLO 24: CALOR DE SOLUÇÃO

Calores de solução foram obtidos após a dissolução de amostras de formulações de I a III em tampão HBSS em comparação com (i) um controle de pó composto de 30% de cloreto de cálcio, 31,6% de cloreto de sódio e 38,4% de leucina, (ii) cloreto de cálcio dihidratado bruto e (iii) matéria-prima de leucina. Como mostrado na Tabela 38, as massas do pó da Formulação I (PUR111), II (PUR113) e III (PUR112) contendo moles equivalente de íons cálcio foram testadas para as amostras que contêm cálcio. Os resultados são mostrados na Figura 35. Como pode ser visto a partir dos dados mostrados na Figura 35, as formulações I a III resultaram em diminuição significativa de calores de solução, em comparação com as matérias-prima de cloreto de cálcio dihidratado e o pó de cálcio de controle. Cloreto de cálcio dihidratado é conhecido por possuir um grande calor de solução exotérmico e por liberar uma quantidade significativa de calor quando em contato com a água. Sob certas circunstâncias, como quando uma grande quantidade de cloreto de cálcio dihidratado, ou outros sais que têm um grande calor de solução exotérmico, são rapidamente dissolvidos, uma grande quantidade de calor é liberada que pode causar queimaduras. Assim, há preocupações de

segurança associadas com o contato com superfícies mucosas com cloreto de cálcio dihidratado. Estas preocupações de segurança podem ser aliviadas pela pós-produção, tais como as formulações I a III que não têm grandes calores de solução exotérmicos e, portanto, reduziram o potencial de efeitos indesejáveis exotérmicas.

Tabela 38. Dados de calor de solução para as formulações I a III, um pó de controle contendo cloreto de cálcio, matérias-primas de cloreto de cálcio dihidratado e matérias-primas de leucina

Pó	Leucina		CaCl2.2H20		CaCl2-controle		PUR111		PUR112		PUR113	
Lote n°	65-017-F (-4)		Espectro		68-113-1		26-190-F		65-009-F		65-003-F	
	Avg.	St.dev.	Avg.	St.dev.	Avg.	St.dev.	Avg.	St.dev.	Avg.	St.dev.	Avg.	St.dev.
g	0,032	0,000	0,036	0,001	0,090	0,001	0,077	0,000	0,068	0,000	0,090	0,00
mmol*	0,244	0,001	0,242	0,000	0,242	0,000	0,242	0,000	0,243	0,000	0,242	0,00
ΔT (°)	0,003	0,002	0,024	0,001	0,023	0,003	0,014	0,002	0,012	0,003	0,009	0,00
Q (cal)	0,37	0,20	2,93	0,12	2,8	0,3	1,7	0,2	1,5	0,4	1,0	0
ΔH (kcal/mol)*	-1,5	0,8	-12,1	0,4	-11,7	1,4	-6,9	1,0	-6,2	1,6	-4,3	1
ΔH (kJ/mol)*	-6	4	-50,6	1,6	-49	6	-29	4	-26	7	-18	

* mol de Ca para todos os pós exceto leucina, que é em mol de Leu

EXEMPLO 25 Modelo de Pneumonia *in vivo*

As bactérias foram preparados por culturas que crescem em placas de sangue de agar triptona de soja (TSA) durante a noite a 37 °C, mais 5% de CO_2. As colônias únicas foram ressuspensas para um OD_{600} ~ 0,3 em PBS estéril e posteriormente diluído em PBS estéril 1:4 (~ $2x10^7$ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL). Camundongos foram infectados com 50 µL de suspensão bacteriana (~ $1x10^6$ CFU) por instilação endotraqueal, enquanto sob anestesia.

Camundongos C57BL6 foram expostos a formulações líquidas de aerossol em sistema de exposição de corpo inteiro usando um nebulizador de alta saída ou nebulizador Pari LC Sprint conectado a uma gaiola de câmara de torta que, individualmente, tem capacidade para até 11 animais. Os camundongos foram tratados com as formulações de pó seco (Tabela 39) 2h antes da infecção com *S. pneumoniae*. Como controle, os animais foram expostos a uma quantidade similar de pó de 100% de leucina. Vinte e quatro horas após a infecção os ratos foram sacrificados por injeção pentobarbital e os pulmões foram coletados e homogeneizados em PBS estéril. As amostras de pulmão homogeneizado foram serialmente diluídas em PBS estéril e semeadas em placas de sangue de ágar TSA. CFU foram enumeradas no dia seguinte.

Comparado aos animais de controle, animais tratados com pó seco de cálcio apresentaram redução títulos bacterianos 24 horas após a infecção. Especificamente, os animais tratados com uma formulação composta por sulfato de cálcio e cloreto de sódio (formulação III) apresentaram cinco vezes menor títulos de bactérias, animais tratados com uma formulação composta de citrato de cálcio e cloreto de sódio (formulação I) apresentaram 10,4 vezes menor títulos bacterianos e animais tratados com uma formulação composta de lactato de cálcio e cloreto de sódio

(formulação II) apresentaram 5,9 vezes menor títulos bacterianos (FIG. 36).

Tabela 39. Formulações usadas para avaliar a eficácia

Formulação	**Composição**	**Razão molar Ca:Na**
Formulação I	10,0% de leucina, 35,1% de cloreto de cálcio, 54,9% de citrato de sódio (ativo com 12,7% de íons cálcio)	1:2
Formulação III	10,0% de leucina, 39,6% de cloreto de cálcio, 50,4% de sulfato de sódio (ativo com 14,3% de íon cálcio)	1:2
Formulação II	10,0% de leucina, 58,6% de lactato de cálcio, 31,4% de cloreto de sódio (ativo com 10,8% de íons cálcio)	1:2

Os dados apresentados demonstram que pós secos contendo sais de cátions de metal divalente que são altamente dispersíveis podem ser fabricados e usados para tratar infecções bacterianas e virais.

Exemplo 26 - 3 meses de estudo de estabilidade em condições refrigerada, padrão e acelerada

Um estudo de estabilidade física de três meses foi realizado utilizando amostras representativas de formulações de I a III cheias em cápsulas tamanho 3 HPMC (Shionogi Qualicaps, Madrid, Espanha) e colocadas nas seguintes condições (i) 2 a 8 °C de armazenamento refrigerado, (ii) 25 °C/60% RH, cápsulas armazenadas sob dessecante e (iii) 40 °C/75% RH, cápsulas armazenadas sob dessecante. FPF < 5,6 e 3,4, assim como DV50 (Spraytec) e conteúdo de água (Karl Fischer) foram monitorados depois de um ponto no tempo de 3 meses. Como mostrado na Tabela 40, cada um das formulações de I a III exibiu boa estabilidade no que diz respeito às propriedades físicas avaliadas em cada uma dessas condições.

Tabela 40. Resultados do estudo de 3 meses de estabilidade das formulações I a III.

		Formulação I (citrato)				Formulação II (lactato)				Formulação III (sulfato)			
Condição (°C/%RH)	Tempo (mo)	FPF < 3,4 um	FPF < 5,6 um	Spraytec (um)	H2O	FPF < 3,4 um	FPF < 5,6 um	Spraytec (um)	H2O	FPF < 3,4 um	FPF < 5,6 um	Spraytec (um)	H2O
Tempo zero	0	50%	63%	3,1	6%	42%	61%	1,8	4%	55%	73%	3,1	5%
25 °C/60% RH (cápsulas + dissecante)	1	47%	68%	1,5	7%	42%	60%	2,0	4%	56%	74%	3,6	6%
	3	45%	68%	3,5	7%	42%	61%	1,2	4%	57%	73%	2,4	6%
40 °C/75% RH (cápsulas + dissecante)	0,5	43%	66%	5,3	8%	39%	58%	1,8	6%	51%	67%	2,9	6%
	1	43%	65%	2,0	7%	40%	58%	3,0	4%	56%	70%	3,9	5%
	3	46%	68%	3,3	7%	47%	61%	1,5	4%	45%	64%	2,5	5%
2 a 8 °c	3	46%	60%	2,4	5%	43%	63%	1,3	2%	56%	76%	2,3	5%

O conteúdo de cada uma das patentes, pedidos de patentes, publicações de patentes e artigos publicados citados neste relatório é aqui incorporado por referência em sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Pó seco respirável **caracterizado** por compreender partículas secas respiráveis que compreendem um sal de cátion de metal divalente, em que o sal de cátion de metal divalente fornece cátion de metal divalente em uma quantidade igual ou maior que 5% e menor que 100% em peso de partícula seca, e em que as partículas secas respiráveis que compreendem um sal de cátion de metal divalente têm um diâmetro geométrico médio volumetrico (VMGD) de 5 micra ou menos, uma densidade aparente maior do que 0,4 g/cm^3, e uma relação de dispersão 1/4 bar de menos de 1,5, medida por difração a laser (sistema RODOS/HELOS), em que o sal de cátion de metal divalente é um sal de cálcio ou um sal de magnésio, e em que as partículas secas compreendem ainda pelo menos um dentre um sal monovalente, um agente terapeuticamente ativo ou um excipiente farmaceuticamente aceitável.

2. Pó seco respirável, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelas partículas secas respiráveis que compreendem um sal de cátion de metal divalente terem ainda uma massa de pó emitida da cápsula (CEPM) de 80% ou mais quando emitida a partir de um inalador passivo de pó seco que tem uma resistência de 0,036 kPa$^{1/2}$/litros por minuto (LPM) sob as seguintes condições: uma energia de inalação de 1,15 Joules em uma vazão de 30 LPM utilizando uma cápsula de tamanho 3 que contém uma massa total de 25 mg, a massa total consistindo nas partículas secas respiráveis que compreendem um sal de cátion de metal divalente, e em que o VMGD das partículas secas emitidas a partir do inalador é 5 micra ou menos.

3. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2, **caracterizado** por ter uma

fração de partículas finas (FPF) de menos de 5,6 micra (FPF < 5,6 micra) de 45% ou mais.

4. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2, **caracterizado** por ter uma fração de partículas finas (FPF) de menos de 3,4 micra (FPF < 3,4 micra) de 30% ou mais.

5. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2, **caracterizado** por ter uma fração de partículas finas (FPF) de menos de 5,0 micra (FPF < 5,0 micra) de 45% ou mais.

6. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** por ter um diâmetro aerodinâmico médio de massa (MMAD) de 5 micra ou menos.

7. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado** pelo sal de cátion de metal divalente ter uma solubilidade de > 0,5 g/L em água.

8. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizado** pelas partículas secas respiráveis não conterem fosfato de cálcio.

9. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pela razão de peso molecular de cátion de metal divalente para sal de cátion de metal divalente ser maior do que 0,1.

10. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** por compreender um excipiente farmaceuticamente aceitável.

11. Pó seco respirável, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo excipiente farmaceuticamente aceitável estar presente em uma quantidade de < 50% em peso e compreender leucina.

12. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma dasd reivindicações 1 a 10, **caracterizado** pelo excipiente farmaceuticamente aceitável estar presente em uma quantidade de < 50% em peso e compreender maltodextrina ou manitol.

13. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** por ser para tratar uma doença respiratória.

14. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** por ser para tratar ou prevenir uma exacerbação aguda de uma doença respiratória.

15. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** por ser para tratar ou prevenir uma doença infecciosa do trato respiratório.

16. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** por compreender adicionalmente um sal monovalente.

17. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** por compreender adicionalmente um sal de sódio.

18. Pó seco respirável, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizado** por ter um 0,5/4 bar de 1,5 ou menos.

FIG. 1A

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA I, II, III E XIV
TABELA DE PROPRIEDADES

FORMULAÇÃO	LOTE	ATOMIZADOR	CONC. SÓLIDOS (g/L)	MIST. ESTÁTICA DE MATÉRIA-PRIMA LÍQUIDA	TEMP. ENTRADA (°C)	TEMP. SAÍDA (°C)	GÁS DO ATOMIZADOR (kg/hr)	GÁS DO PROCESSO (kg/hr)	MATÉRIA-PRIMA LÍQUIDA (mL/min)	COLETA DO PRODUTO	REND. (%)
I (CITRATO) LEUCINA: *CaCl2: Na3Cit 10.0: 35.1: 54.9*	I-A	Niro	10	SIM	282	98	14.5 PRESSÃO DO AR (mm)	85 ASPIRADOR	70	CARTUCHO FILTRANTE	75%
	I-B	Büchi	5	NÃO	220	108	40	90%	6.7	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	83%
	I-C	Büchi	5	NÃO	220	95	40	90%	7	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	81%
II (LACTATO) LEUCINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*	II-A	Niro	10	SIM	282	98	14.5 PRESSÃO DO AR (mm)	85 ASPIRADOR	70	CARTUCHO FILTRANTE	63%
	II-B	Büchi	5	NÃO	220	91-109	40	90%	5.2	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	73%
	II-C	Büchi	5	NÃO	220	100	40	90%	6	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	69%
III (SULFATO) LEUCINA: *CaCl2: Na2SO4 10.0: 39.6: 50.4*	III-A	Niro	10	SIM	282	98	14.5 PRESSÃO DO AR (mm)	85 ASPIRADOR	70	CARTUCHO FILTRANTE	74%
	III-B	Büchi	5	NÃO	220	83	30	80%	9.3	CICLONA (ALTA PERFORMANCE)	73%
	III-C	Büchi	5	NÃO	220	92	40	90%	7	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	76%
Placebo LEUCINA *100*	Placebo-A	Niro	15	SIM	282	98	14.5 PRESSÃO DO AR (mm)	85 ASPIRADOR	70	CARTUCHO FILTRANTE	63%
	Placebo-B	Büchi	5	NÃO	220	82	40	90%	7	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	66%

FIG. 1A (CONTINUAÇÃO)

XIV (LACTATO COM MALTODEXTRINA) MALTODEXTRINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*							PRESSÃO DO AR (mm)	ASPIRADOR			
	XIV-A	Büchi	5	NÃO	220	90-98	40	90%	5.2	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	72%
	XIV-B	Büchi	5	NÃO	220	100	40	90%	5.2	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	77%
	XIV-C	Büchi	5	NÃO	220	100-106	40	90%	5.6	CICLONE (ALTA PERFORMANCE)	78%

FIG. 1B

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA I, II, III E XIV
TABELA DE PROPRIEDADES (CONT.)
HPLC

FORMULAÇÃO	LOTE	CONTEÚDO DE Ca^{2+} (%)			CONTEÚDO DE Na^{+} (%)	DENSIDADE DERIVADA (g/cm3)	DENSIDADE APARENTE (g/cm3)	CONTEÚDO DE ÁGUA (%) Karl Fischer	
		TEÓRICO	MÉDIA	DESVIO P.	TEÓRICO	MÉDIA	MÉDIA	MÉDIA	DESVIO P.
I (CITRATO) LEUCINA: *CaCl2: Na3Cit 10.0: 35.1: 54.9*	I-A	12.7	12.5	0.1	14.7	0.34	0.19		
	I-B								
	I-C								
II (LACTATO) LEUCINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*	II-A	10.8	11.3	0.1	12.3	0.72	0.31		
	II-B							6.6%	
	II-C								
III (SULFATO) LEUCINA: *CaCl2: Na2SO4 10.0: 39.6: 50.4*	III-A	14.3	13.6	0.2	16.4	0.39	0.18		
	III-B								
	III-C								
Placebo *Leucine 100*	Placebo-A	0.0	0.0	0.0	0.0	0.04	0.034		
	Placebo-B								

FIG. 1B (CONTINUAÇÃO)

XIV (LACTATO COM MALTODEXTRINA) MALTODEXTRINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*									
	XIV-A	14.3			16.4	0.75	0.43	6.0%	
	XIV-B	14.3			16.4			6.7%	0.43
	XIV-C	14.3	10.74	0.02	16.4			2.8%	0.02

FIG. 1C

Feedstock Formulations I, II, III, & XIV
Table of Properties (cont.) ACI-2, Gravimetric

Formulation	Lot	FPF_TD <3.4 um		FPF_TD <5.6 um		% Mass collected	
		Ave	StDev	Ave	StDev	Ave	StDev
I (Citrate) *Leucine: CaCl2: Na3Cit 10.0: 35.1: 54.9*	I-A	45.7%	0.9%	61.6%	1.3%	66.3%	1.3%
	I-B	33.3%		49.2%		61.2%	
	I-C	52.1%		64.8%		67.7%	
II (Lactate) *Leucine: CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*	II-A	43.4%	1.4%	63.5%	1.8%	69.7%	1.8%
	II-B	35.5%		55.4%		61.1%	
	II-C	34.7%		56.5%		65.1%	
III (Sulfate) *Leucine: CaCl2: Na2SO4 10.0: 39.6: 50.4*	III-A	60.1%	2.8%	82.7%	3.2%	88.6%	3.3%
	III-B	47.4%		62.0%		72.3%	
	III-C	53.2%		69.0%		74.4%	
Placebo *Leucine 100*	Placebo-A	28.8%	2.3%	52.9%	3.2%	65.1%	3.4%
	Placebo-B	52.6%		74.4%		80.9%	
XIV (Lactate with maltodextrin) *Maltodextrin: CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*							
	XIV-A	47.5%	7.2%	71.3%	4.9%	77.6%	2.3%
	XIV-B	44.8%	1.2%	66.6%	0.7%	73.2%	0.2%
	XIV-C	47.7%	0.5%	68.2%	0.6%	72.0%	0.8%

FIG. 1D

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA I, II, III E XIV
TABELA DE PROPRIEDADES (CONT.)
ACI-8, GRAVIMÉTRICO

FORMULAÇÃO	LOTE	MMAD (um)		GSD		FPF_TD <3.4um		FPF_TD <5.6um		FPF_TD <5.0um (%)		RECUP. GRAV.	FPF_RD <5.0um (%)	
		MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.		MÉDIA	DESVIO P.
I (CITRATO) LEUCINA: *CaCl2: Na3Cit 10.0: 35.1: 54.9*	I-A	2.72	0.06	2.09	0.01	41.7%	1.6%	56.2%	1.6%	53.9%	1.8%	65.0%	82.9%	1.2%
	I-B													
	I-C													
II (LACTATO) LEUCINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*	II-A	2.89	0.05	2.04	0.01	39.7%	2.0%	55.3%	9.9%	52.4%	0.9%	64.9%	80.8%	0.8%
	II-B													
	II-C													
III (SULFATO) LEUCINA: *CaCl2: Na2SO4 10.0: 39.6: 50.4*	III-A	2.59	0.08	2.98	0.10	51.5%	1.6%	68.7%	7.7%	65.8%	0.8%	49.6%	83.4%	1.0%
	III-B													
	III-C													
Placebo LEUCINA *100*	Placebo-A	4.29	0.12	1.84	0.02	17.4%	1.6%	32.5%	2.2%	29.1%	2.4%	49.6%	58.7%	1.5%
	Placebo-B													

FIG. 1E

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA I, II, III E XIV
TABELA DE PROPRIEDADES (CONT.)
ACI-8, QUÍMICO

FORMULAÇÃO	LOTE	MMAD (um)		GSD		FPF_TD <5.0um (%)		RECUP. ANAL.	FPF_RD <5.0um (%)	
		MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.		MÉDIA	DESVIO P.
I (CITRATO) LEUCINA: *CaCl2: Na3Cit 10.0: 35.1: 54.9*	I-A	3.37	0.02	2.76	0.02	51.9%	2.0%	79.5%	65.3%	1.2%
	I-B									
	I-C									
II (LACTATO) LEUCINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*	II-A	3.57	0.13	2.61	0.05	53.1%	1.9%	84.2%	63.1%	1.8%
	II-B									
	II-C									
III (SULFATO) LEUCINA: *CaCl2: Na2SO4 10.0: 39.6: 50.4*	III-A	2.79	0.14	3.33	0.19	54.9%	2.7%	72.4%	75.9%	1.6%
	III-B									
	III-C									

FIG. 1F

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA I, II, III E XIV
TABELA DE PROPRIEDADES (CONT.)
SPRAYTEC

HELOS/RODOS

FORMULAÇÃO	LOTE	Dv50 (um)		GSD		V < 5.0um (%)		Bar	x50/dg (um)		GSD		1/4 bar	0.5/4 bar
		MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.		MÉDIA	DESVIO P.	MÉDIA	DESVIO P.		
I (CITRATO) LEUCINA: *CaCl2: Na3Cit 10.0: 35.1: 54.9*	I-A	3.07	0.29	3.19	0.28	69.80	4.74	0.5 bar	2.62	0.04	1.93	0.02	1.17	1.19
								1.0 bar	2.57	0.04	1.88	0.03		
								2.0 bar	2.49	0.03	1.84	0.00		
								4.0 bar	2.20	0.03	1.82	0.04		
	I-B	6.97		3.29		40.46		1.0 bar	2.88		2.11		1.21	
	I-C	3.02		3.71		72.91								
II (LACTATO) LEUCINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*	II-A	1.78	0.23	3.57	0.18	83.13	1.39	0.5 bar	1.57	0.02	2.51	0.02	1.08	1.12
								1.0 bar	1.51	0.02	2.51	0.02		
								2.0 bar	1.47	0.02	2.53	0.01		
								4.0 bar	1.40	0.03	2.51	0.03		
	II-B	2.85		3.16		69.51		1.0 bar	2.04		2.17		1.09	
	II-C	1.86		3.61		85.33								
III (SULFATO) LEUCINA: *CaCl2: Na2SO4 10.0: 39.6: 50.4*	III-A	3.05	0.10	3.73	0.18	67.62	0.94	0.5 bar	2.59	0.14	2.32	0.40	1.42	1.47
								1.0 bar	2.50	0.10	2.24	0.36		
								2.0 bar	2.17	0.07	2.08	0.17		
								4.0 bar	1.76	0.06	1.86	0.08		
	III-B	4.61		3.27				1.0 bar	3.26		2.13		1.02	
	III-C	2.93		3.23		68.12								

FIG. 1F (CONTINUAÇÃO)

Placebo LEUCINA *100*	Placebo-A	21.77	3.66	3.25	0.05	12.07	1.60	0.5 bar	7.68	0.34	2.09	0.07	1.37	1.62
								1.0 bar	6.47	0.17	2.07	0.05		
								2.0 bar	5.69	0.11	2.09	0.04		
								4.0 bar	4.74	0.20	2.10	0.03		
	Placebo-B	7.52		3.41		37.21								
XIV (LACTATO COM MALTODEXTRINA) MALTODEXTRINA: *CaLact: NaCl 10.0: 58.6: 31.4*														
	XIV-A	1.59	0.25	2.90	0.11	87.16	1.23	0.5 bar	1.45		1.88		1.00	1.04
								1.0 bar	1.40	0.01	1.87	0.01		
								2.0 bar	1.42	0.02	1.88	0.01		
								4.0 bar	1.39	0.01	1.87	0.01		
	XIV-B	1.60	0.25	2.29	0.15	90.18	4.81	0.5 bar	1.31		1.85		1.02	1.04
								1.0 bar	1.28		1.84			
								2.0 bar	1.28		1.84			
								4.0 bar	1.26		1.83			
	XIV-C	1.69	0.07	2.69	0.22	88.88	0.75	0.5 bar	1.30		1.84		0.98	1.02
								1.0 bar	1.24		1.81			
								2.0 bar	1.25		1.82			
								4.0 bar	1.27		1.83			

FIG. 2

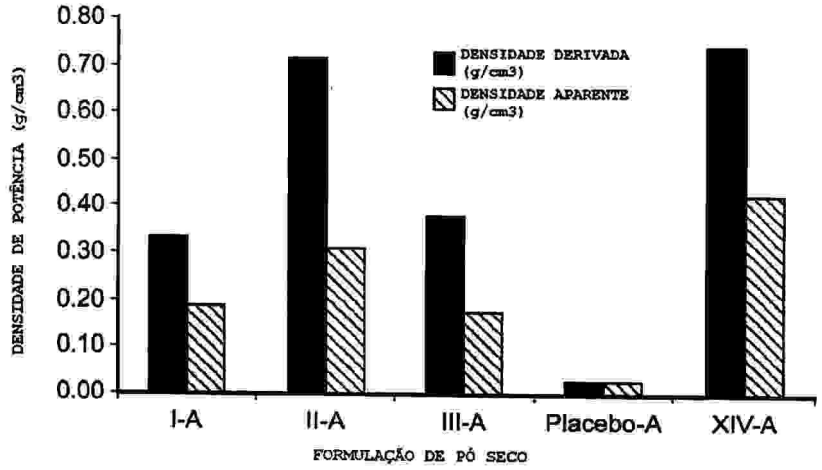

0.80
0.70
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00
DENSIDADE DE POTÊNCIA (g/cm3)
DENSIDADE DERIVADA (g/cm3)
DENSIDADE APARENTE (g/cm3)
I-A
II-A
III-A
Placebo-A
XIV-A
FORMULAÇÃO DE PÓ SECO

FIG. 3

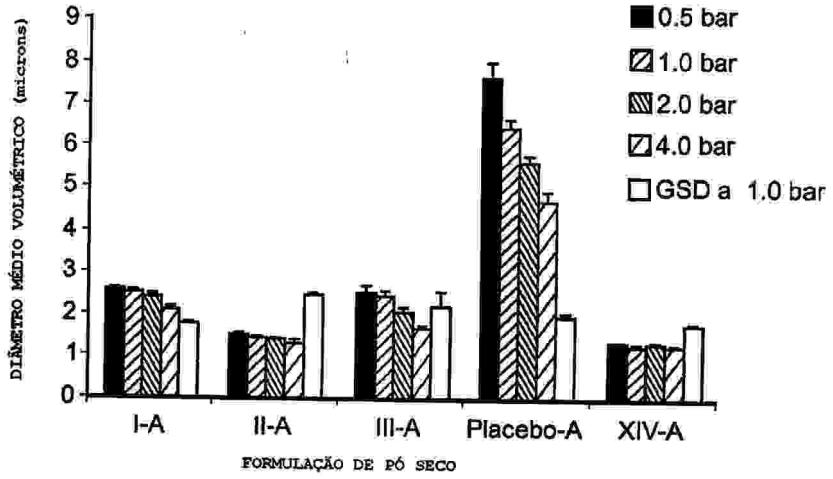

9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
DIÂMETRO MÉDIO VOLUMÉTRICO (microns)
0.5 bar
1.0 bar
2.0 bar
4.0 bar
GSD a 1.0 bar
I-A
II-A
III-A
Placebo-A
XIV-A
FORMULAÇÃO DE PÓ SECO

FIG. 4

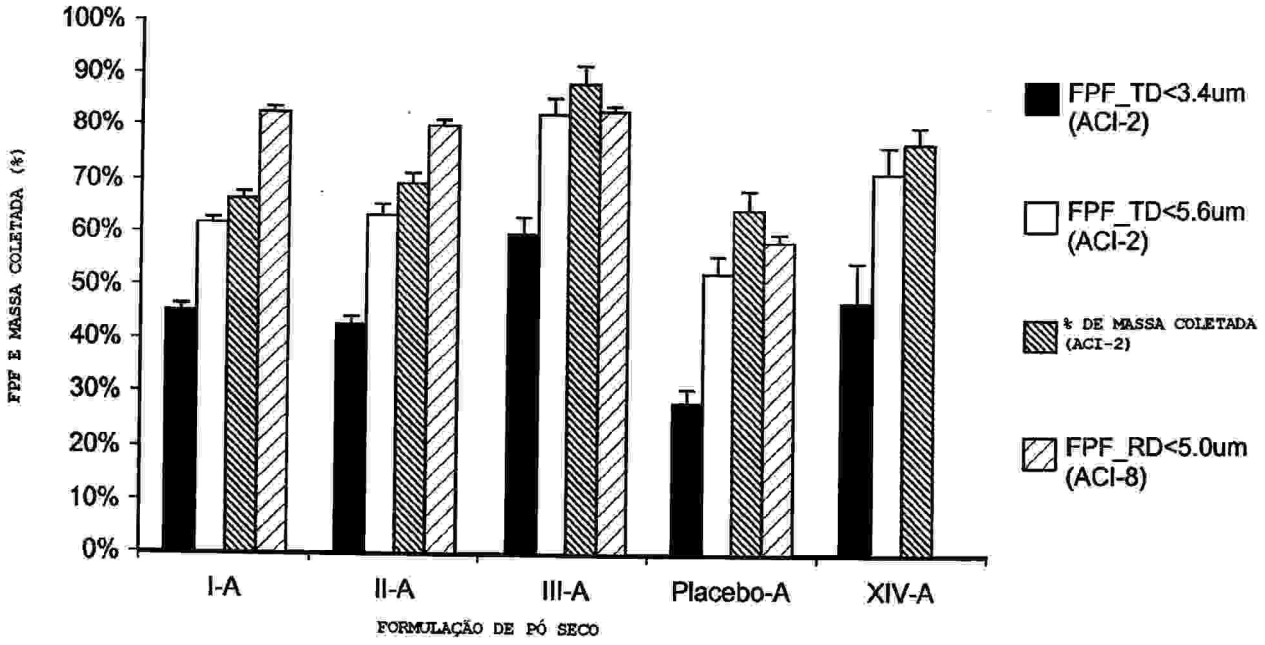

100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
FPF E MASSA COLETADA (%)
I-A
II-A
III-A
Placebo-A
XIV-A
FORMULAÇÃO DE PÓ SECO
FPF_TD<3.4um (ACI-2)
FPF_TD<5.6um (ACI-2)
% DE MASSA COLETADA (ACI-2)
FPF_RD<5.0um (ACI-8)

FIG. 5A

IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA FORMULAÇÃO I

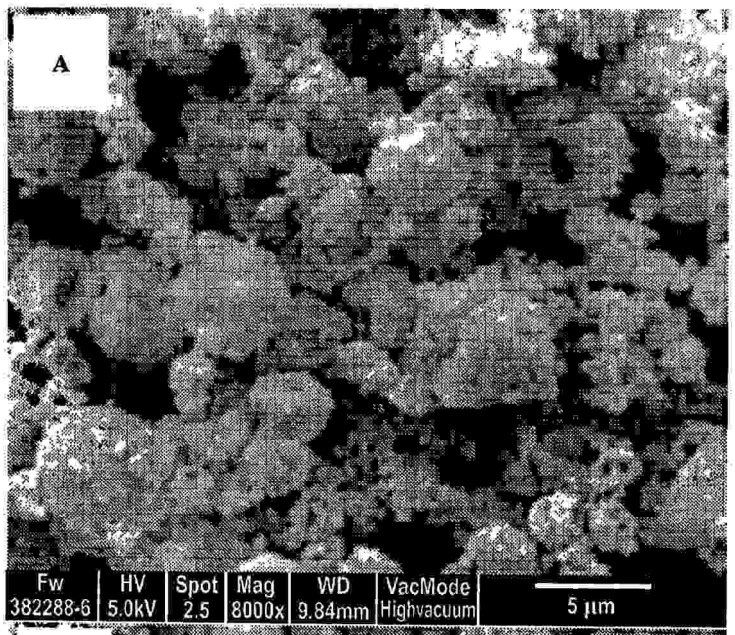


FIG. 5B

IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA FORMULAÇÃO II

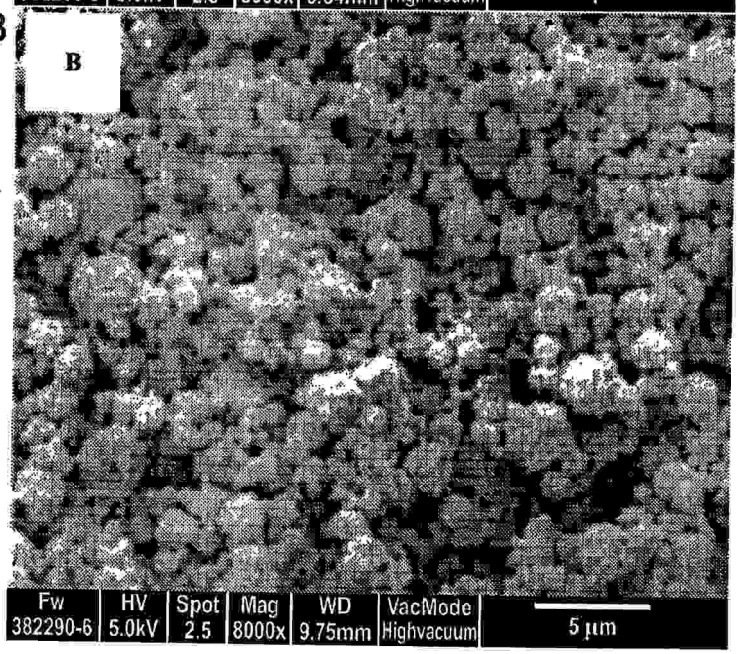


FIG. 5C

IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA FORMULAÇÃO III

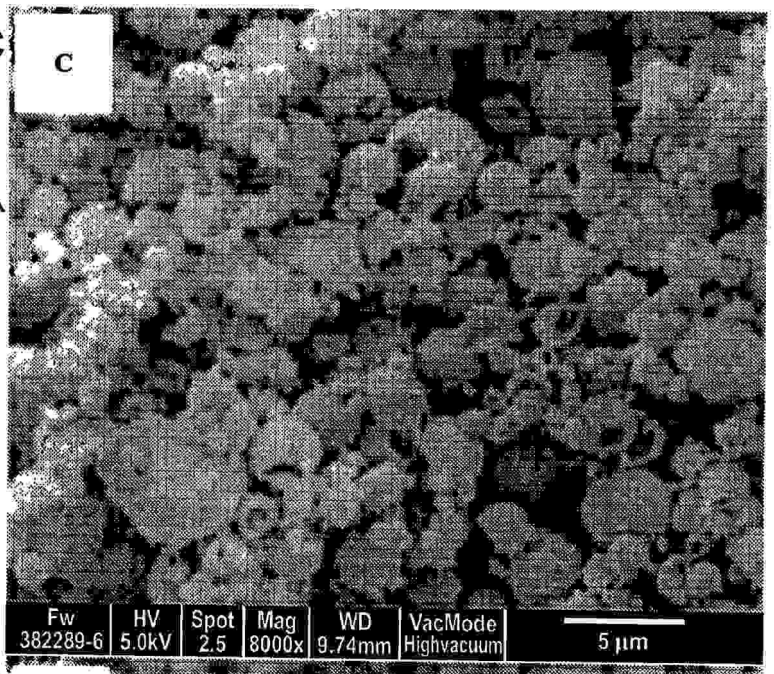


FIG. 5D

IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA FORMULAÇÃO XIV

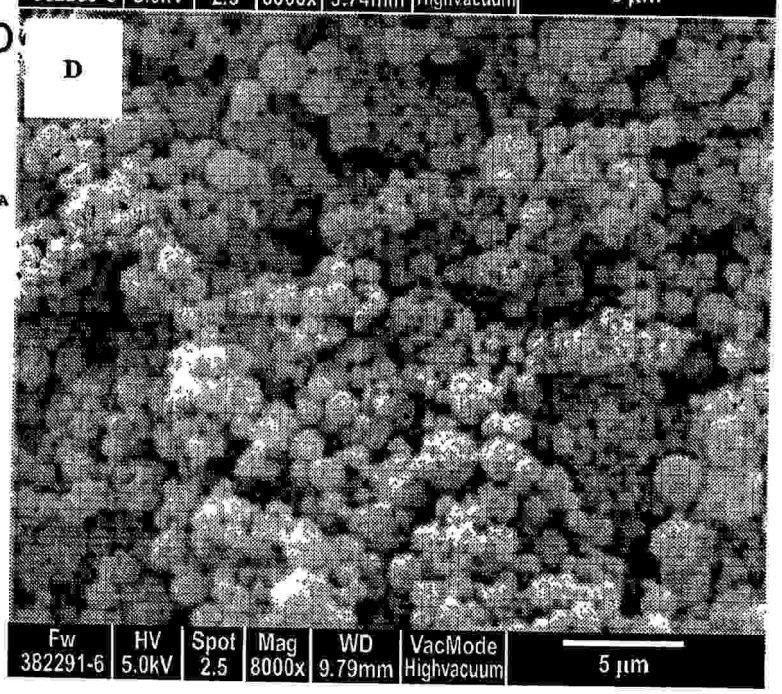


FIG. 6A

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA 1 A 9
TABELA DE PROPRIEDADES

FORMULAÇÃO	CONTRA-ÍON	EXCIPIENTE	FORMULAÇÃO	RAZÃO	Ca2+ %	Na %	RAZÃO Ca:Na	x50(µm) A 1 bar	GSD A 1 bar	1/4 bar
1 (II-B)	LACTATO	10% DE LEUCINA	**leu:CaLact:NaCl**	**10: 58.6: 31.4**	**10.8%**	**12.3%**	**1:2**	**2.04**	**2.17**	**1.09**
2	LACTATO	50% DE LEUCINA	leu:CaLact:NaCl	50: 48.4: 1.6	8.9%	0.6%	8:1			
3	LACTATO	10% DE LEUCINA	leu:CaLact:NaCl	10: 66.6: 23.4	12.2%	9.2%	1:1.3	3.39	2.25	0.95
4(I-B)	CITRATO	10% DE LEUCINA	**leu:CaCl2:Na3Cit**	**10: 35.1: 54.9**	**12.7%**	**14.7%**	**1:2**	**2.88**	**2.11**	**1.21**
5	CITRATO	67% DE LEUCINA	leu:CaCl2:Na3Cit	67.1: 30: 2.9	10.8%	0.8%	8:1			
6	CITRATO	NENHUM	CaCl2:Na3Cit	39:61	16.3%	0.4%	1:2			
7 (III-B)	SULFATO	10% DE LEUCINA	**leu:CaCl2:Na2SO4**	**10: 39.6: 50.4**	**14.3%**	**8.2%**	**1:2**	**3.26**	**2.13**	**1.02**
8	SULFATO	68% DE LEUCINA	leu:CaCl2:Na2SO4	67.6: 30: 2.4	10.8%	0.4%	8:1			
9	SULFATO	NENHUM	CaCl2:Na2SO4	44: 56	15.9%	9.1%	1:2			

FORMULAÇÃO	Spraytec dV50 (µm)	Spraytec GSD	% DE ÁGUA
1 (II-B)	**2.85**	**3.16**	**6.58%**
2	6.14	2.71	
3	4.82	3.10	5.21%
4(I-B)	**6.97**	**3.29**	
5	8.39	3.08	
6	6.38	3.41	7.21%
7 (III-B)	**4.61**	**3.27**	
8	21.23	3.01	
9	8.20	3.55	6.53%

FIG. 6B

FORMULAÇÕES DE MATÉRIA-PRIMA 1 A 9
TABELA DE PROPRIEDADES

FORMULAÇÃO	PESO DO PÓ µm	% DE DOSE EMITIDA	FPF_TD <3.4 um %	FPF_TD <5.6 um %	% DE MASSA COLETADA	REND. %	DENSID. DERIV. (g/cm3)
1 (II-B)	**25.86**	**100.00%**	**35.55%**	**55.42%**	**61.12%**	**73.26%**	**0.89**
2	15.10	98.86%	24.93%	48.92%	62.69%	34.06%	0.46
3	30.03	99.85%	18.00%	37.52%	58.12%	85.11%	0.74
4(I-B)	**25.84**	**99.45%**	**33.25%**	**49.17%**	**61.16%**	**82.72%**	**0.26**
5	25.16	99.68%	11.47%	27.47%	47.73%	n/a	0.42
6	25.34	100.00%	9.47%	20.19%	36.09%	83.53%	0.32
7 (III-B)	**23.15**	**99.38%**	**47.37%**	**62.00%**	**72.27%**	**72.57%**	**0.42**
8	25.10	98.05%	13.15%	25.24%	47.68%	n/a	0.22
9	25.32	100.00%	8.62%	19.42%	38.54%	54.91%	0.49

FIG. 7

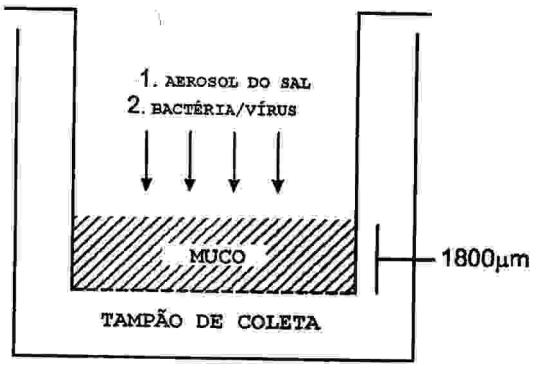


FIG. 8A

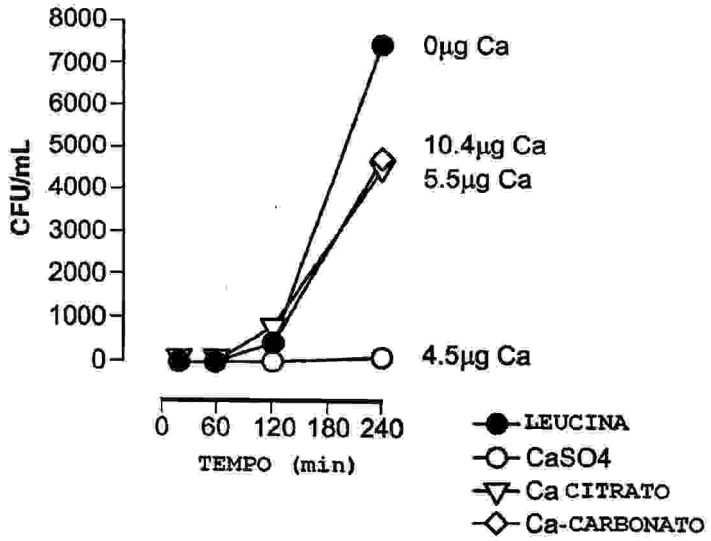

8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
CFU/mL
0µg Ca
10.4µg Ca
5.5µg Ca
4.5µg Ca
0 60 120 180 240
TEMPO (min)
LEUCINA
CaSO4
Ca CITRATO
Ca-CARBONATO

FIG. 8B

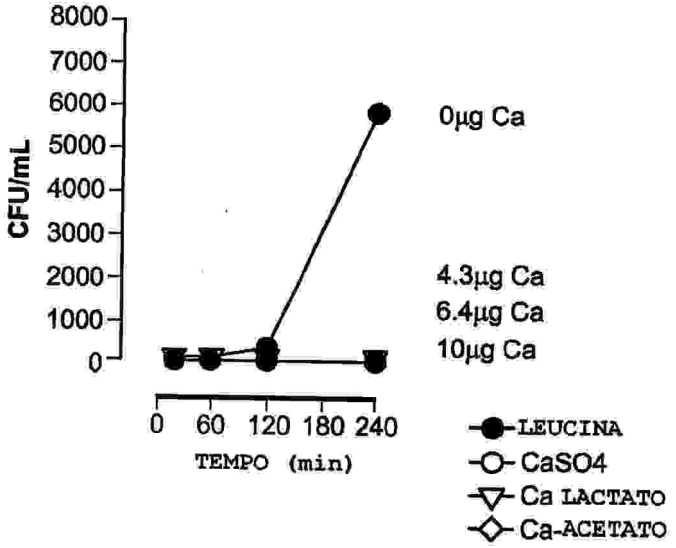

8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
CFU/mL
0µg Ca
4.3µg Ca
6.4µg Ca
10µg Ca
0 60 120 180 240
TEMPO (min)
LEUCINA
CaSO4
Ca LACTATO
Ca-ACETATO

FIG. 9

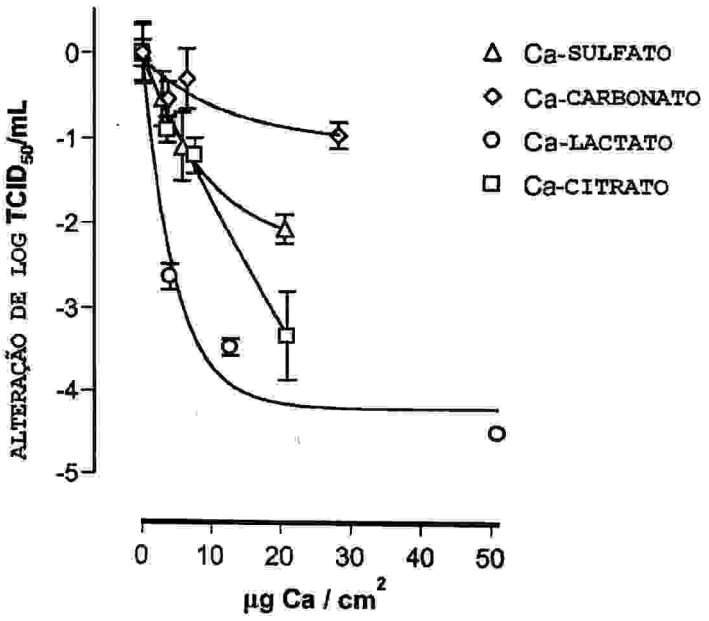

ALTERAÇÃO DE LOG TCID50/mL
0
-1
-2
-3
-4
-5
0
10
20
30
40
50
µg Ca / cm2
Ca-SULFATO
Ca-CARBONATO
Ca-LACTATO
Ca-CITRATO

FIG. 10

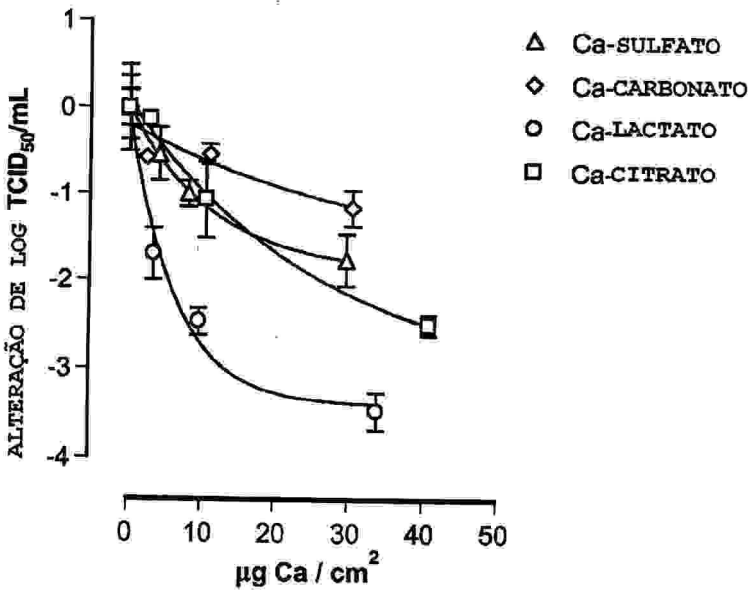

ALTERAÇÃO DE LOG TCID50/mL
1
0
-1
-2
-3
-4
0
10
20
30
40
50
µg Ca / cm2
Ca-SULFATO
Ca-CARBONATO
Ca-LACTATO
Ca-CITRATO

FIG. 11A

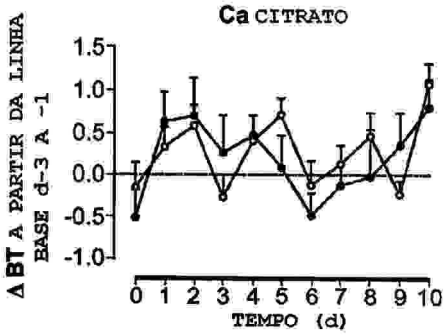


FIG. 11B

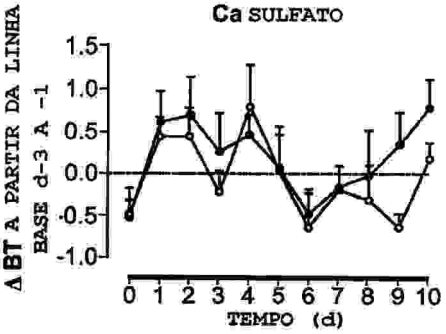


FIG. 11C

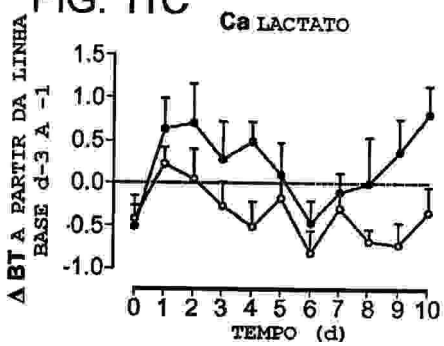


FIG. 11D

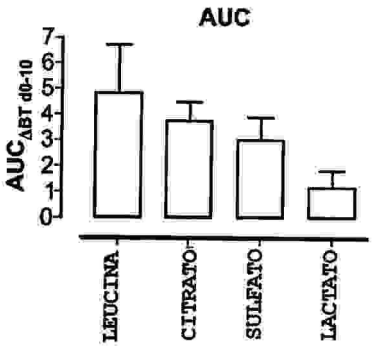


FIG. 12

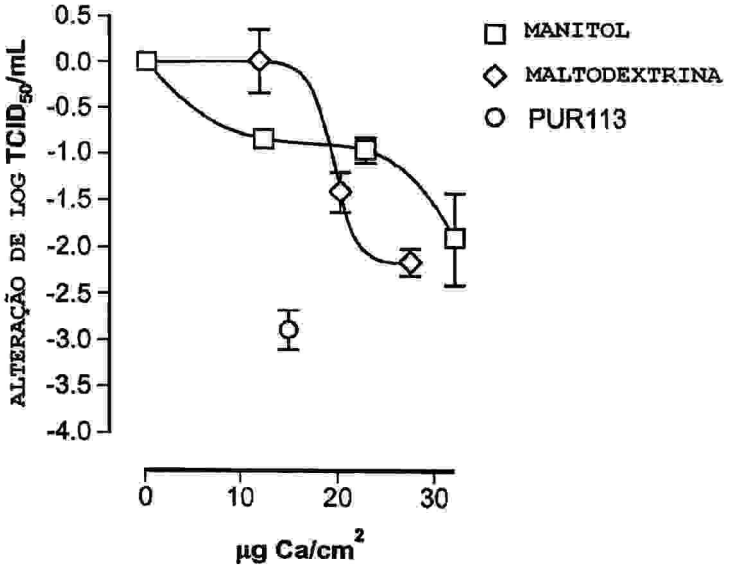

ALTERAÇÃO DE LOG TCID50/mL
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-3.5
-4.0
0
10
20
30
µg Ca/cm2
MANITOL
MALTODEXTRINA
PUR113

FIG. 13A

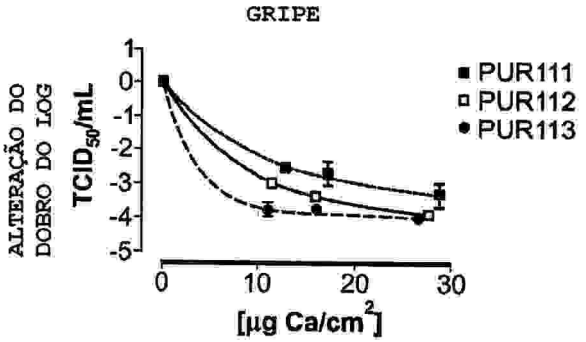


FIG. 13B

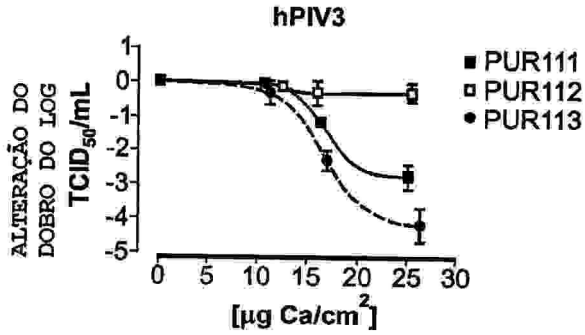


FIG. 13C

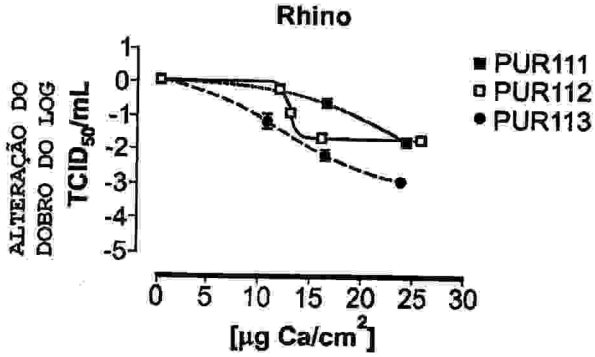


FIG. 14

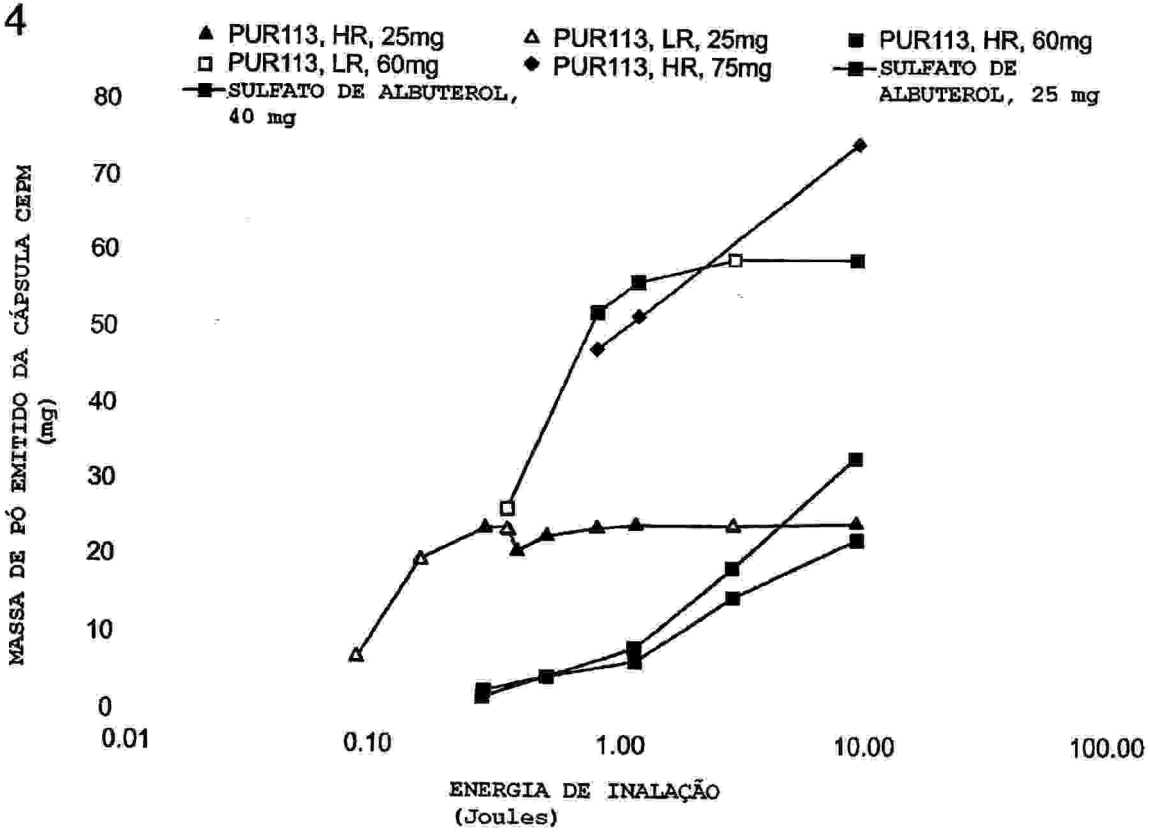
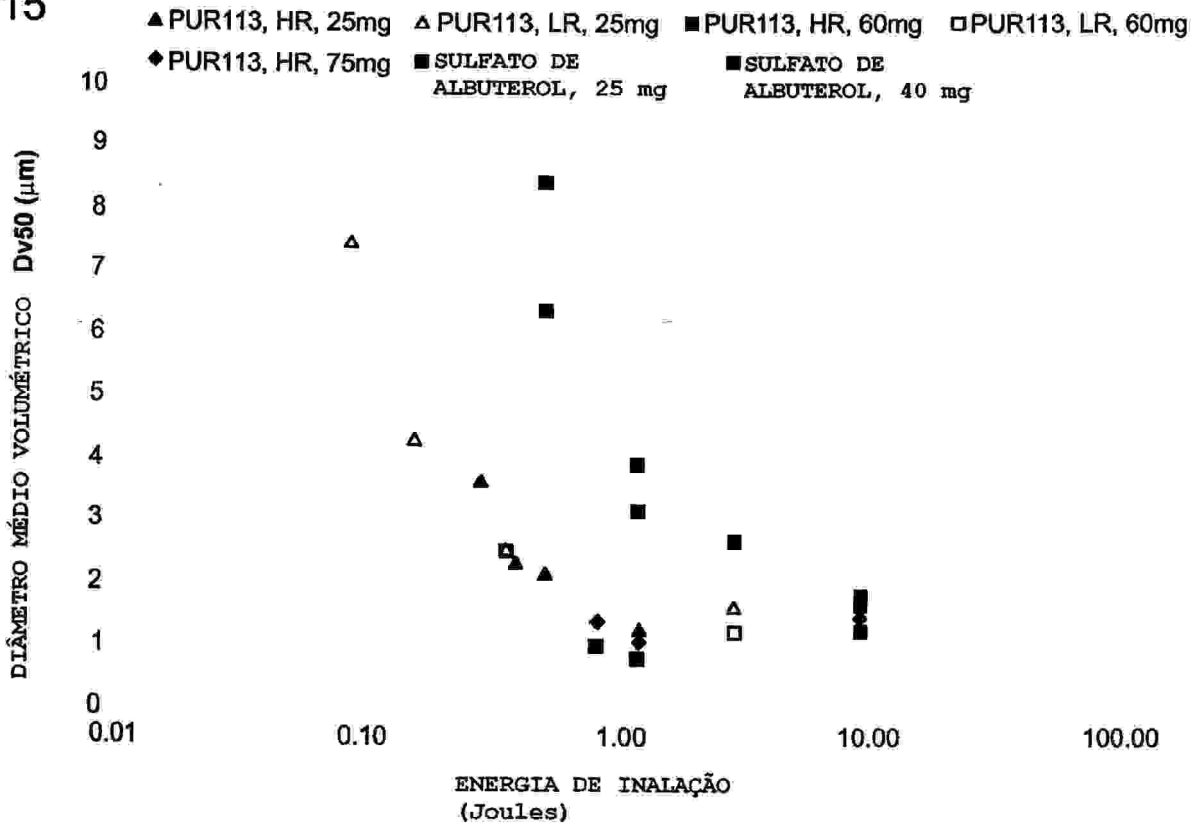

PUR113, HR, 25mg
PUR113, LR, 25mg
PUR113, HR, 60mg
PUR113, LR, 60mg
PUR113, HR, 75mg
SULFATO DE ALBUTEROL, 40 mg
SULFATO DE ALBUTEROL, 25 mg
MASSA DE PÓ EMITIDO DA CÁPSULA CEPM (mg)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.10
1.00
10.00
100.00
ENERGIA DE INALAÇÃO (Joules)

FIG. 15


▲PUR113, HR, 25mg
△PUR113, LR, 25mg
■PUR113, HR, 60mg
□PUR113, LR, 60mg
◆PUR113, HR, 75mg
■SULFATO DE ALBUTEROL, 25 mg
■SULFATO DE ALBUTEROL, 40 mg
DIÂMETRO MÉDIO VOLUMÉTRICO Dv50 (µm)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
0.01
0.10
1.00
10.00
100.00
ENERGIA DE INALAÇÃO (Joules)

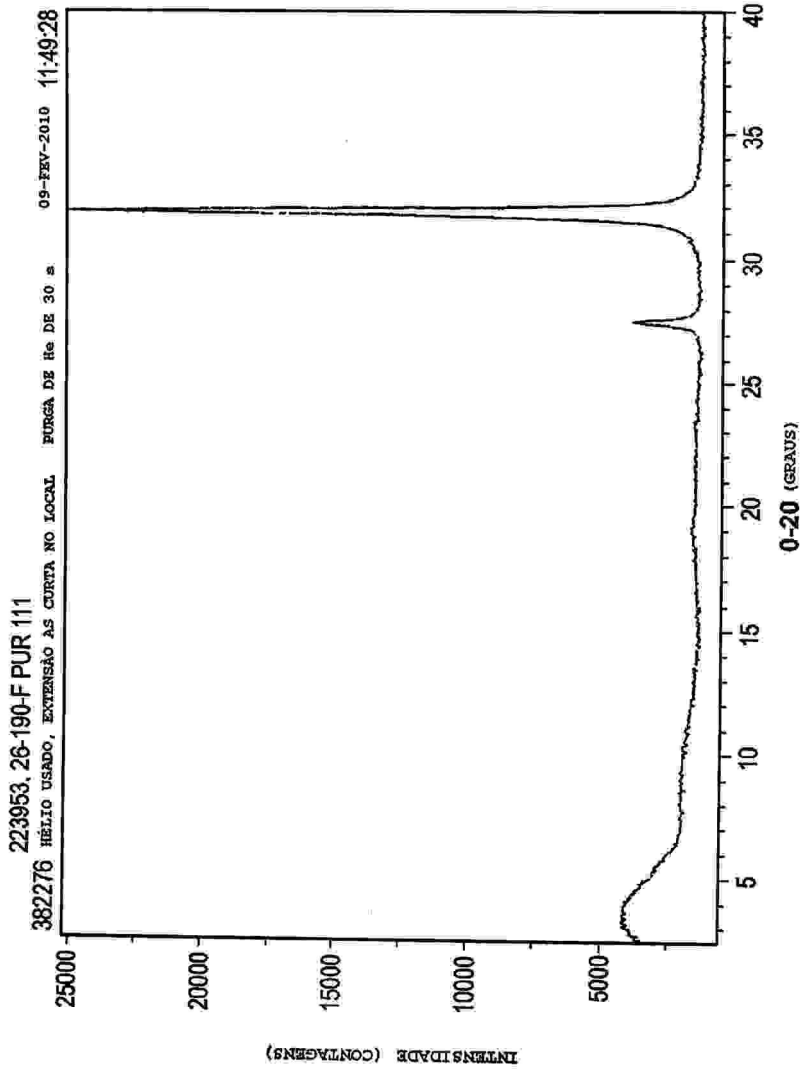

223953, 26-190-F PUR 111
382276 HÉLIO USADO, EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL FURGA DE He DE 30 s 09-FEV-2010 11:49:28
25000
20000
15000
10000
5000
INTENSIDADE (CONTAGENS)
5
10
15
20
25
30
35
40
0-2θ (GRAUS)

FIG. 16

FIG. 17

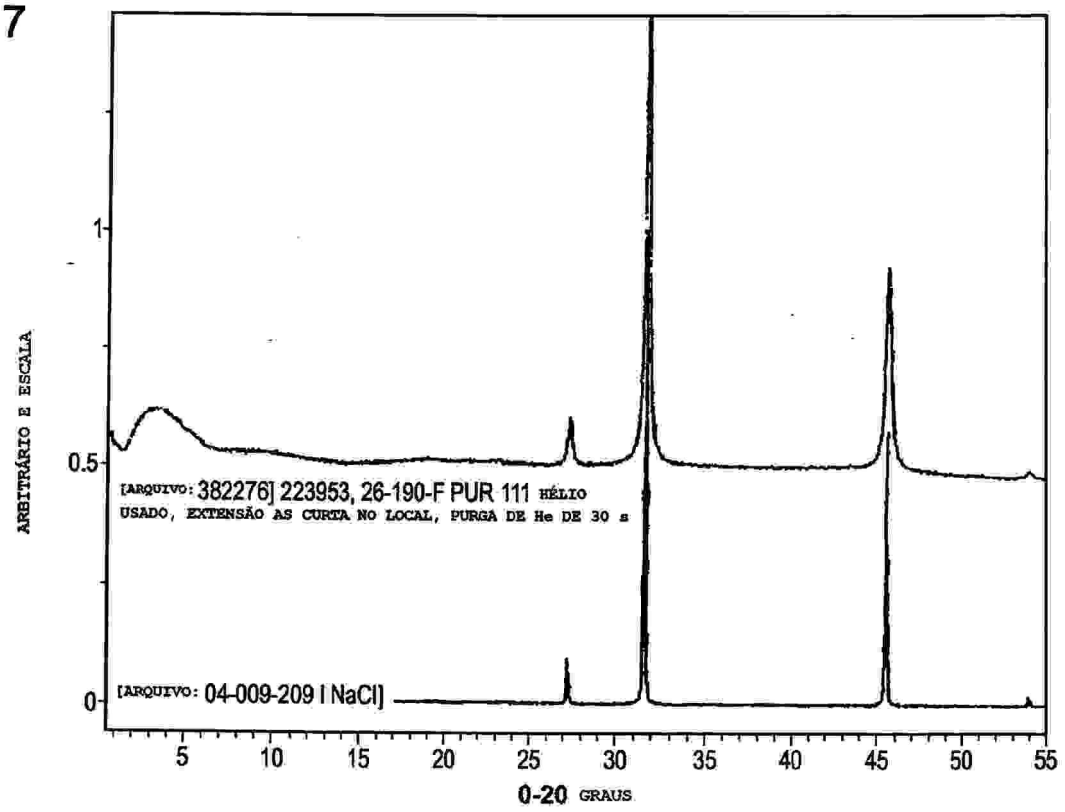

ARBITRÁRIO E ESCALA
1
0.5
0
[ARQUIVO: 382276] 223953, 26-190-F PUR 111 HÉLIO
USADO, EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL, PURGA DE He DE 30 s
[ARQUIVO: 04-009-209 I NaCl]
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0-20 GRAUS

FIG. 18

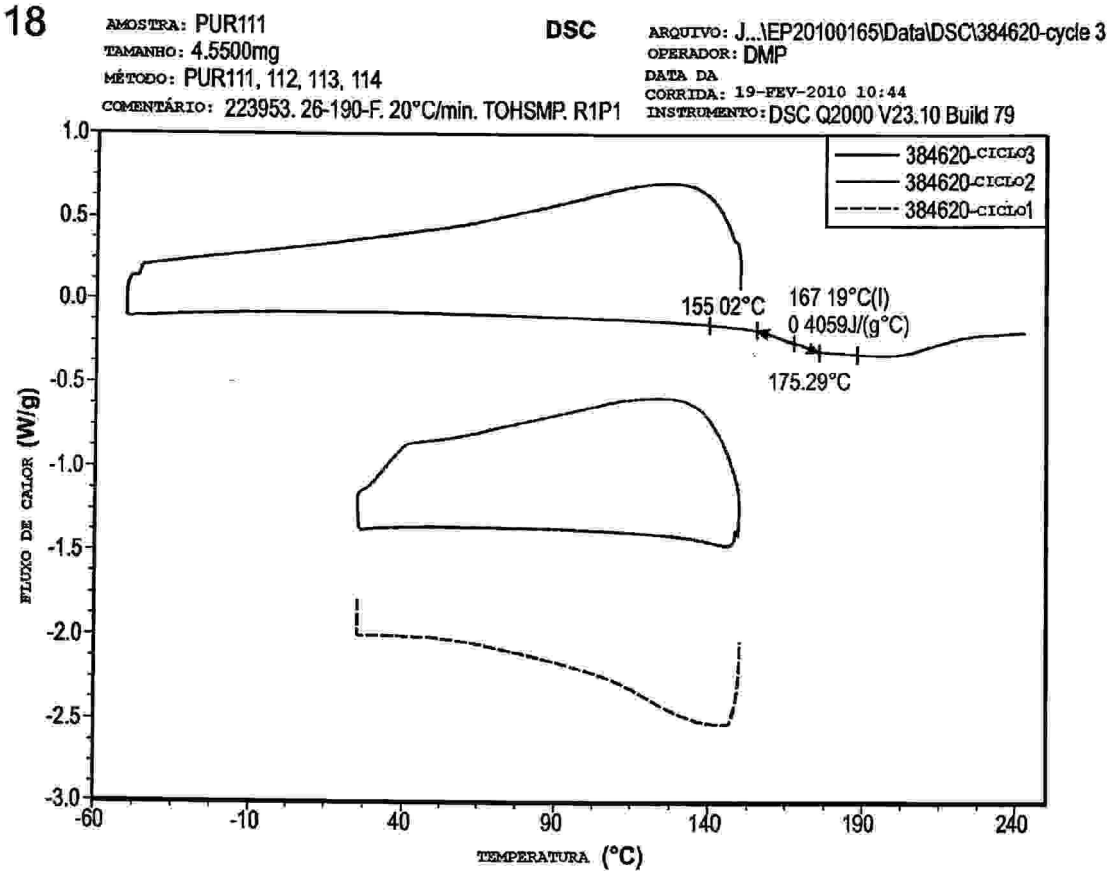
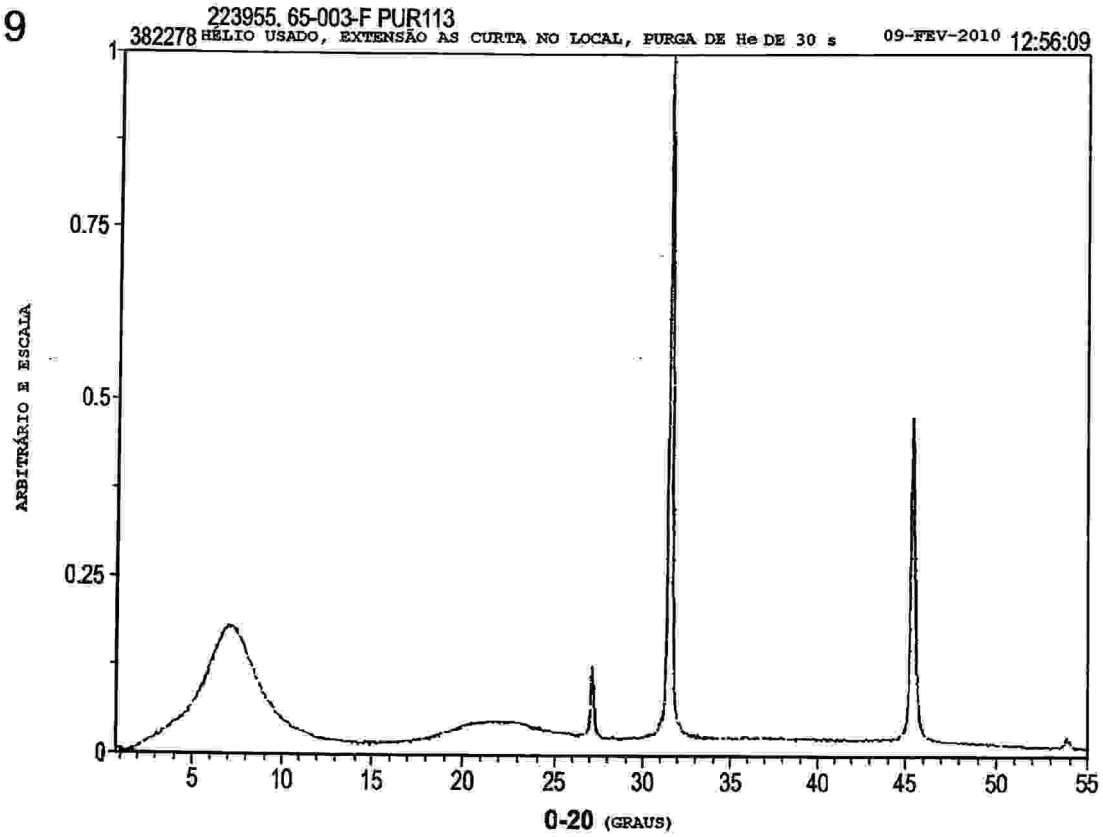

AMOSTRA: PUR111
TAMANHO: 4.5500mg
MÉTODO: PUR111, 112, 113, 114
COMENTÁRIO: 223953. 26-190-F. 20°C/min. TOHSMP. R1P1
DSC
ARQUIVO: J...\EP20100165\Data\DSC\384620-cycle 3
OPERADOR: DMP
DATA DA CORRIDA: 19-FEV-2010 10:44
INSTRUMENTO: DSC Q2000 V23.10 Build 79
384620-CICLO3
384620-CICLO2
384620-CICLO1
155 02°C
167 19°C(I)
0 4059J/(g°C)
175.29°C
FLUXO DE CALOR (W/g)
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-60
-10
40
90
140
190
240
TEMPERATURA (°C)

FIG. 19


223955. 65-003-F PUR113
382278 HÉLIO USADO, EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL, PURGA DE He DE 30 s
09-FEV-2010 12:56:09
ARBITRÁRIO E ESCALA
1
0.75
0.5
0.25
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0-20 (GRAUS)

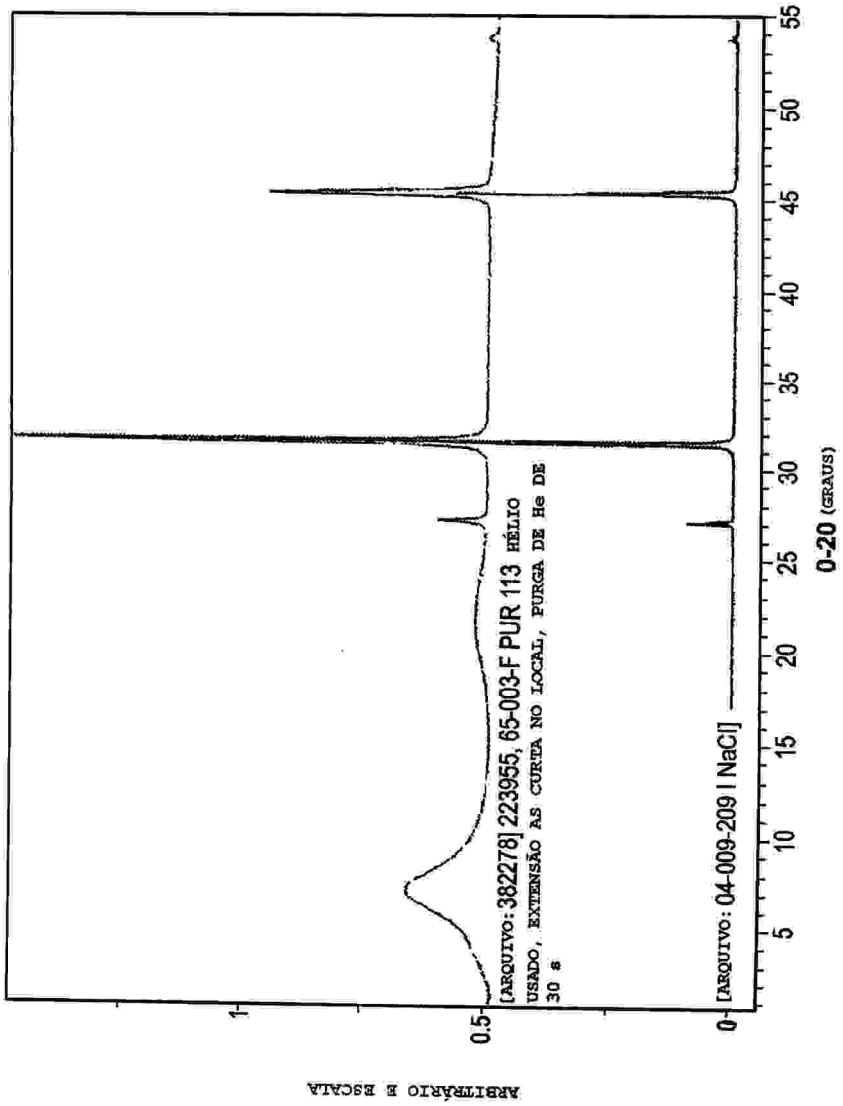

[ARQUIVO: 382278] 223955, 65-003-F PUR 113 HÉLIO USADO, EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL, PURGA DE He DE 30 s
[ARQUIVO: 04-009-209 I NaCl]
0-20 (GRAUS)
ARBITRÁRIO E ESCALA
0
0.5
1
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

FIG. 20

FIG. 21

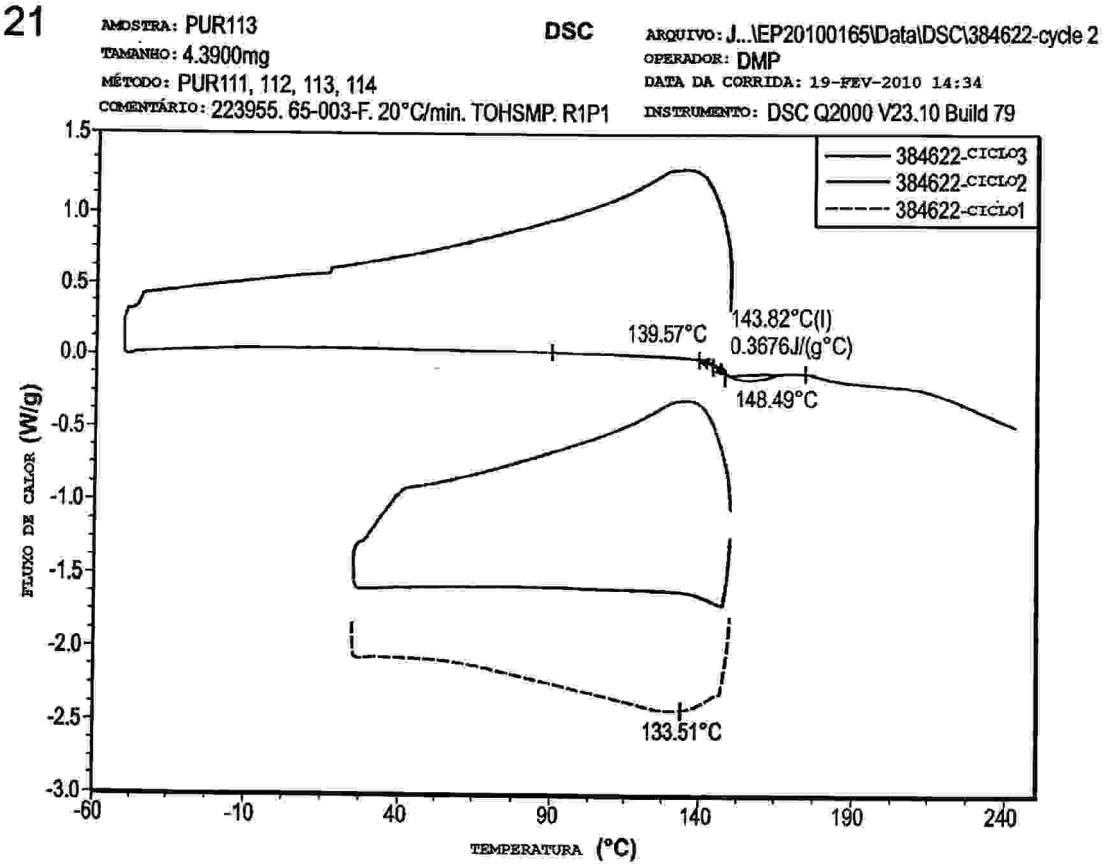

AMOSTRA: PUR113
TAMANHO: 4.3900mg
MÉTODO: PUR111, 112, 113, 114
COMENTÁRIO: 223955. 65-003-F. 20°C/min. TOHSMP. R1P1
DSC
ARQUIVO: J...\EP20100165\Data\DSC\384622-cycle 2
OPERADOR: DMP
DATA DA CORRIDA: 19-FEV-2010 14:34
INSTRUMENTO: DSC Q2000 V23.10 Build 79
384622-CICLO3
384622-CICLO2
384622-CICLO1
139.57°C
143.82°C(I)
0.3676J/(g°C)
148.49°C
133.51°C
FLUXO DE CALOR (W/g)
TEMPERATURA (°C)
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-60
-10
40
90
140
190
240

FIG. 22

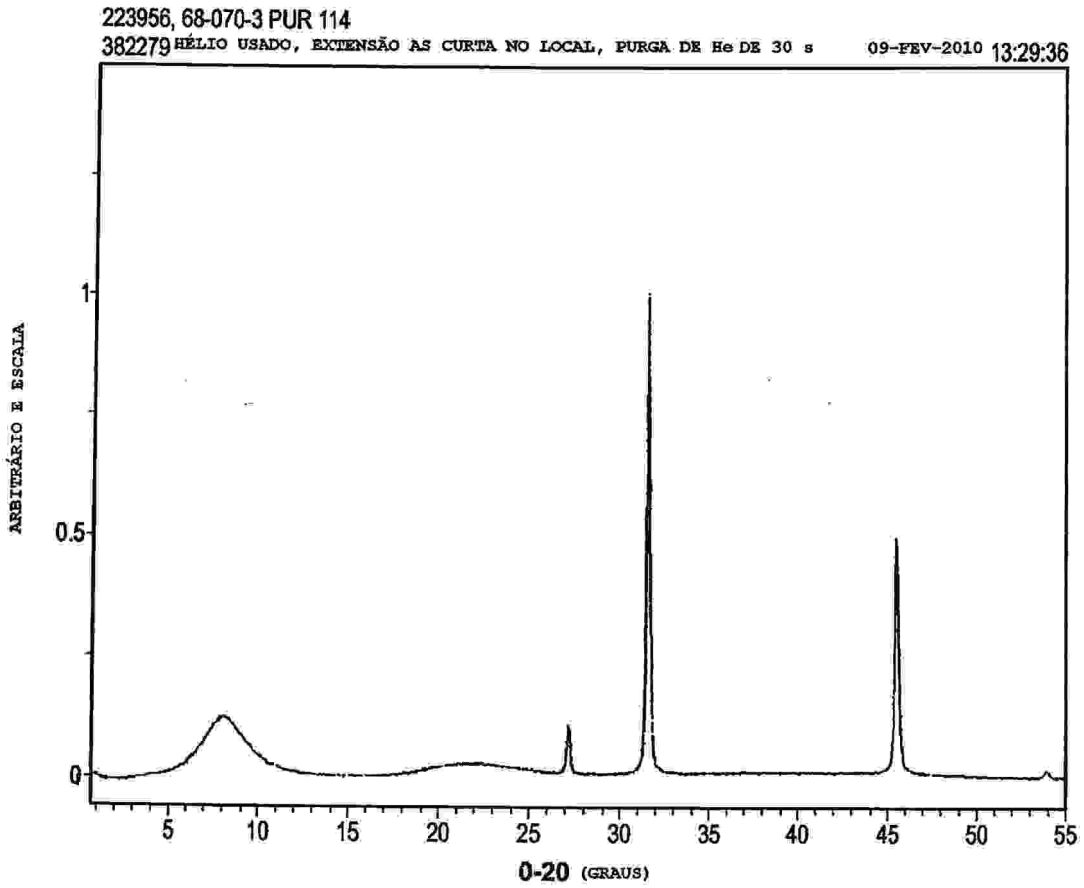

223956, 68-070-3 PUR 114
382279 HÉLIO USADO, EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL, PURGA DE He DE 30 s
09-FEV-2010 13:29:36
ARBITRÁRIO E ESCALA
1
0.5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0-20 (GRAUS)

FIG. 23

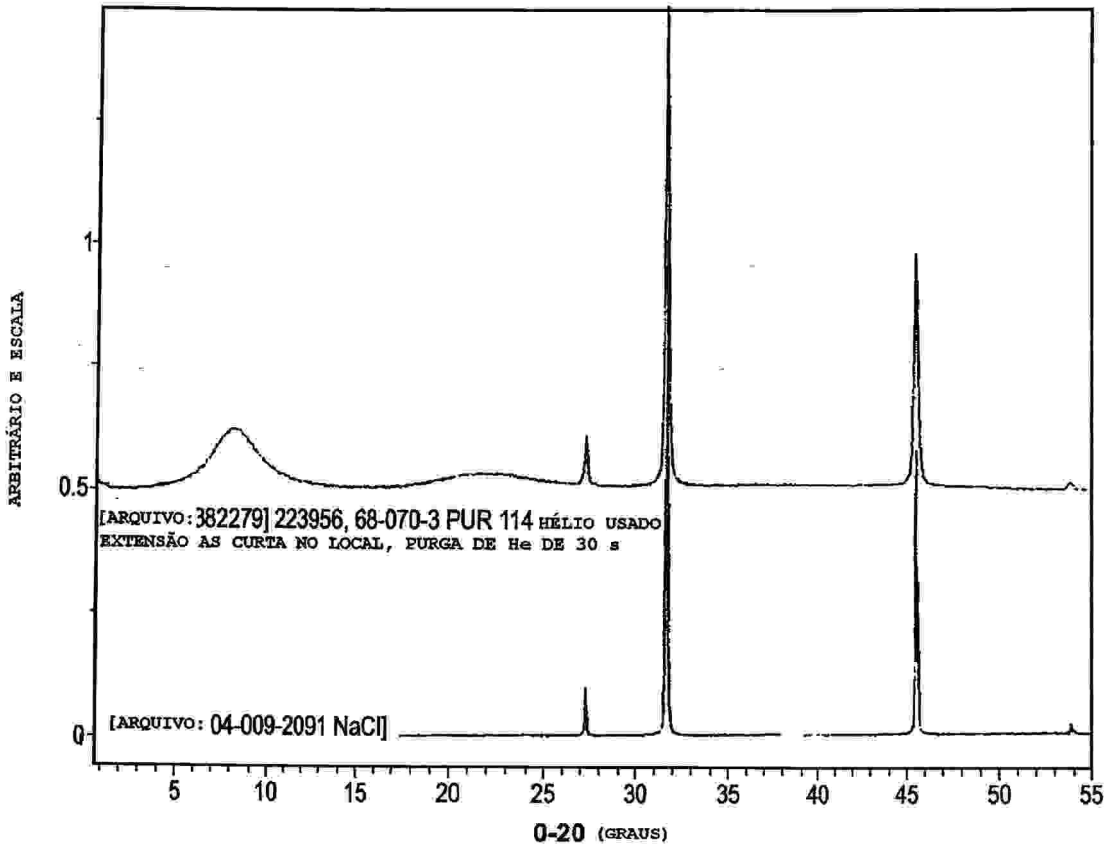

ARBITRÁRIO E ESCALA
1
0.5
0
[ARQUIVO:382279] 223956, 68-070-3 PUR 114 HÉLIO USADO
EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL, PURGA DE He DE 30 s
[ARQUIVO: 04-009-2091 NaCl]
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0-20 (GRAUS)

FIG. 24

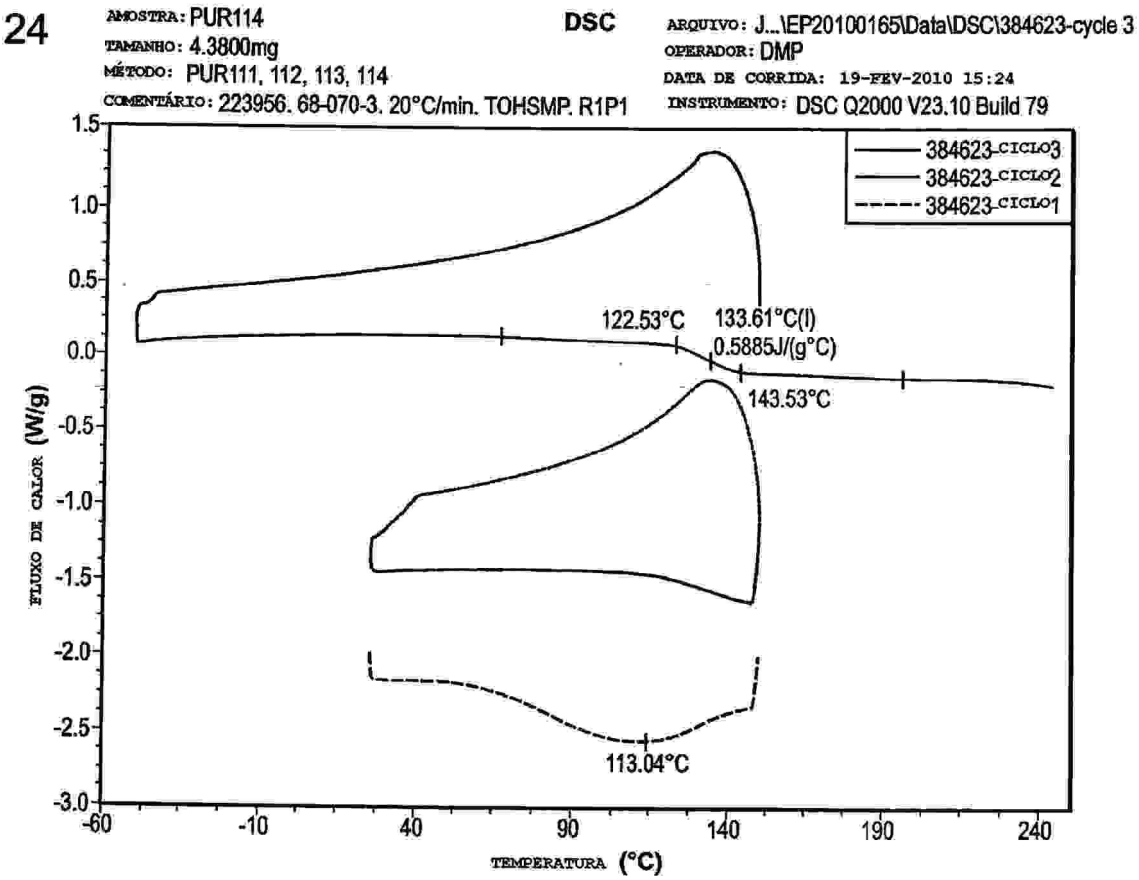

AMOSTRA: PUR114
TAMANHO: 4.3800mg
MÉTODO: PUR111, 112, 113, 114
COMENTÁRIO: 223956. 68-070-3. 20°C/min. TOHSMP. R1P1
DSC
ARQUIVO: J...\EP20100165\Data\DSC\384623-cycle 3
OPERADOR: DMP
DATA DE CORRIDA: 19-FEV-2010 15:24
INSTRUMENTO: DSC Q2000 V23.10 Build 79
384623-CICLO3
384623-CICLO2
384623-CICLO1
122.53°C
133.61°C(I)
0.5885J/(g°C)
143.53°C
113.04°C
FLUXO DE CALOR (W/g)
TEMPERATURA (°C)
1.5
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
-60
-10
40
90
140
190
240

FIG. 25A

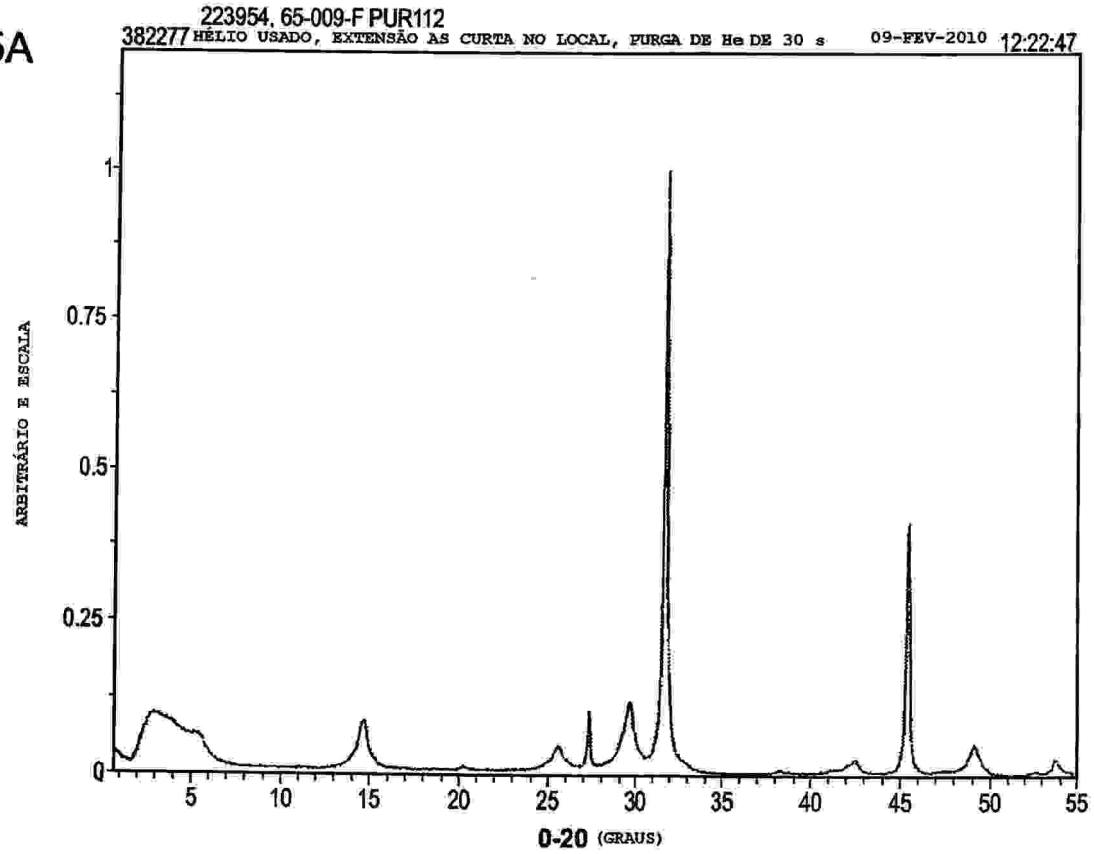

223954, 65-009-F PUR112
382277 HÉLIO USADO, EXTENSÃO AS CURTA NO LOCAL, PURGA DE He DE 30 s
09-FEV-2010 12:22:47
ARBITRÁRIO E ESCALA
1
0.75
0.5
0.25
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0-20 (GRAUS)

FIG. 25B

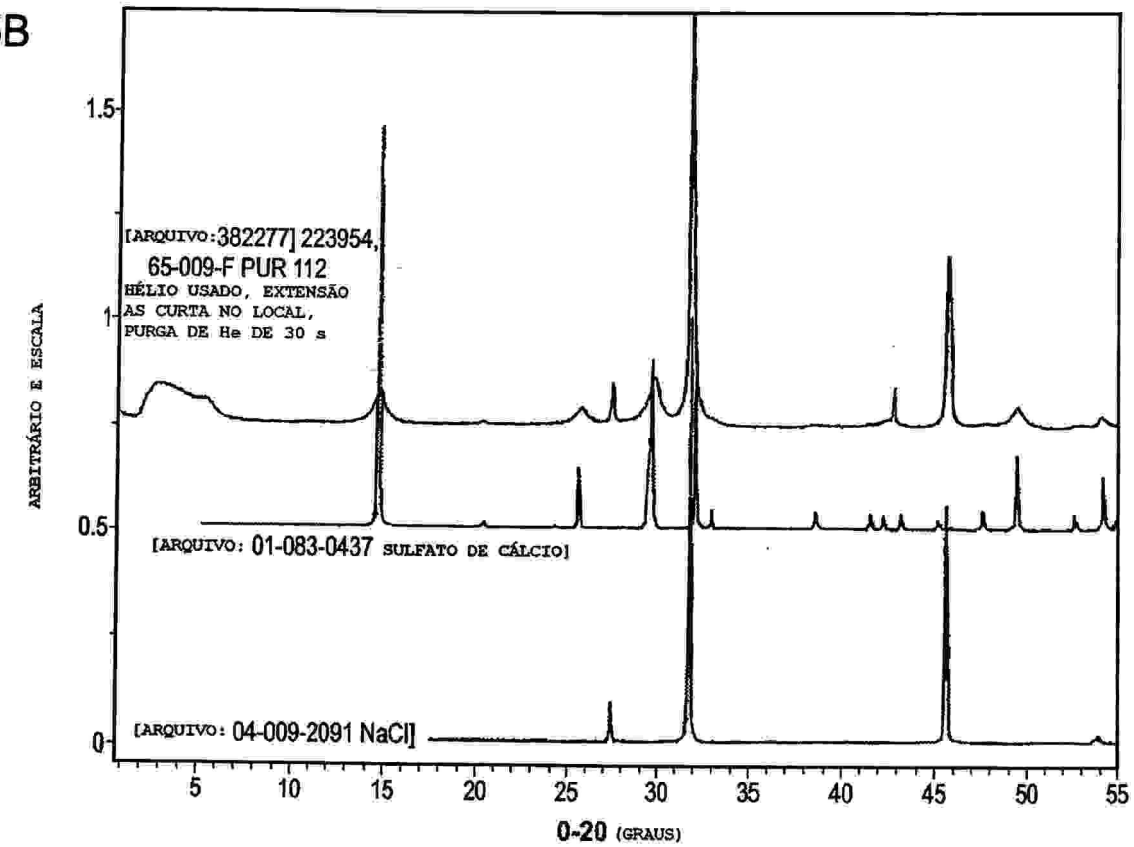

[ARQUIVO:382277] 223954,
65-009-F PUR 112
HÉLIO USADO, EXTENSÃO
AS CURTA NO LOCAL,
PURGA DE He DE 30 s
[ARQUIVO: 01-083-0437 SULFATO DE CÁLCIO]
[ARQUIVO: 04-009-2091 NaCl]
ARBITRÁRIO E ESCALA
1.5
1
0.5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
0-20 (GRAUS)

FIG. 26

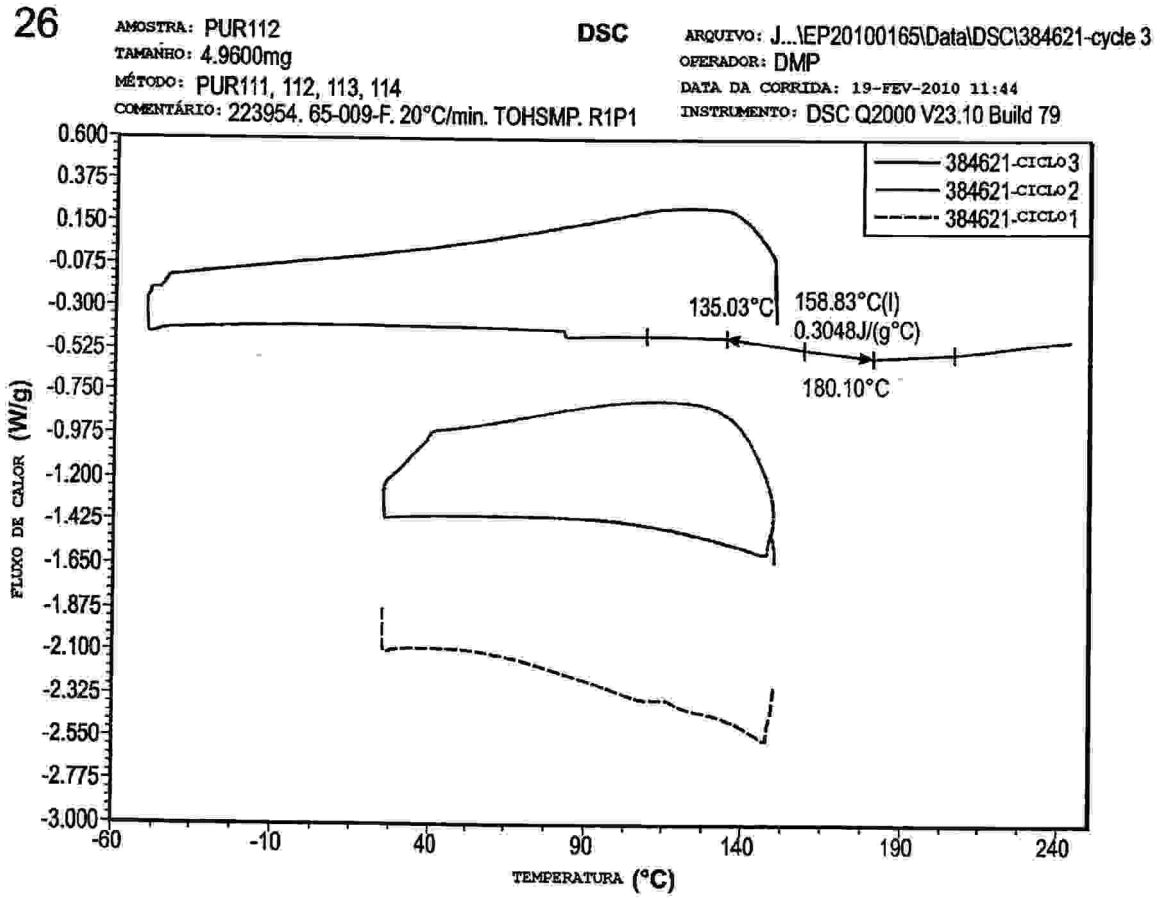

AMOSTRA: PUR112
TAMANHO: 4.9600mg
MÉTODO: PUR111, 112, 113, 114
COMENTÁRIO: 223954. 65-009-F. 20°C/min. TOHSMP. R1P1
DSC
ARQUIVO: J...\EP20100165\Data\DSC\384621-cycle 3
OPERADOR: DMP
DATA DA CORRIDA: 19-FEV-2010 11:44
INSTRUMENTO: DSC Q2000 V23.10 Build 79
384621-CICLO3
384621-CICLO2
384621-CICLO1
135.03°C
158.83°C(I)
0.3048J/(g°C)
180.10°C
FLUXO DE CALOR (W/g)
0.600
0.375
0.150
-0.075
-0.300
-0.525
-0.750
-0.975
-1.200
-1.425
-1.650
-1.875
-2.100
-2.325
-2.550
-2.775
-3.000
-60
-10
40
90
140
190
240
TEMPERATURA (°C)

FIG. 27A

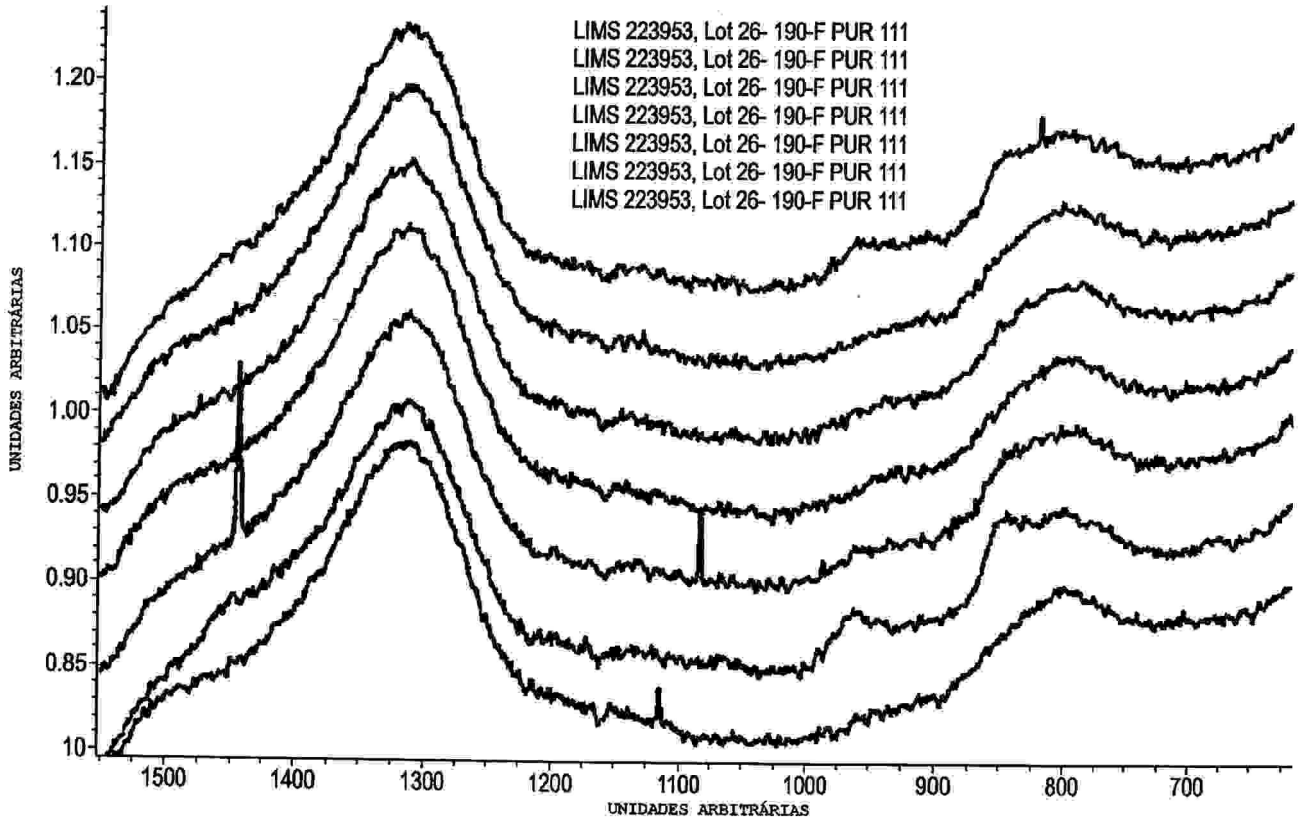

LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
LIMS 223953, Lot 26- 190-F PUR 111
UNIDADES ARBITRÁRIAS
1.20
1.15
1.10
1.05
1.00
0.95
0.90
0.85
10
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27B

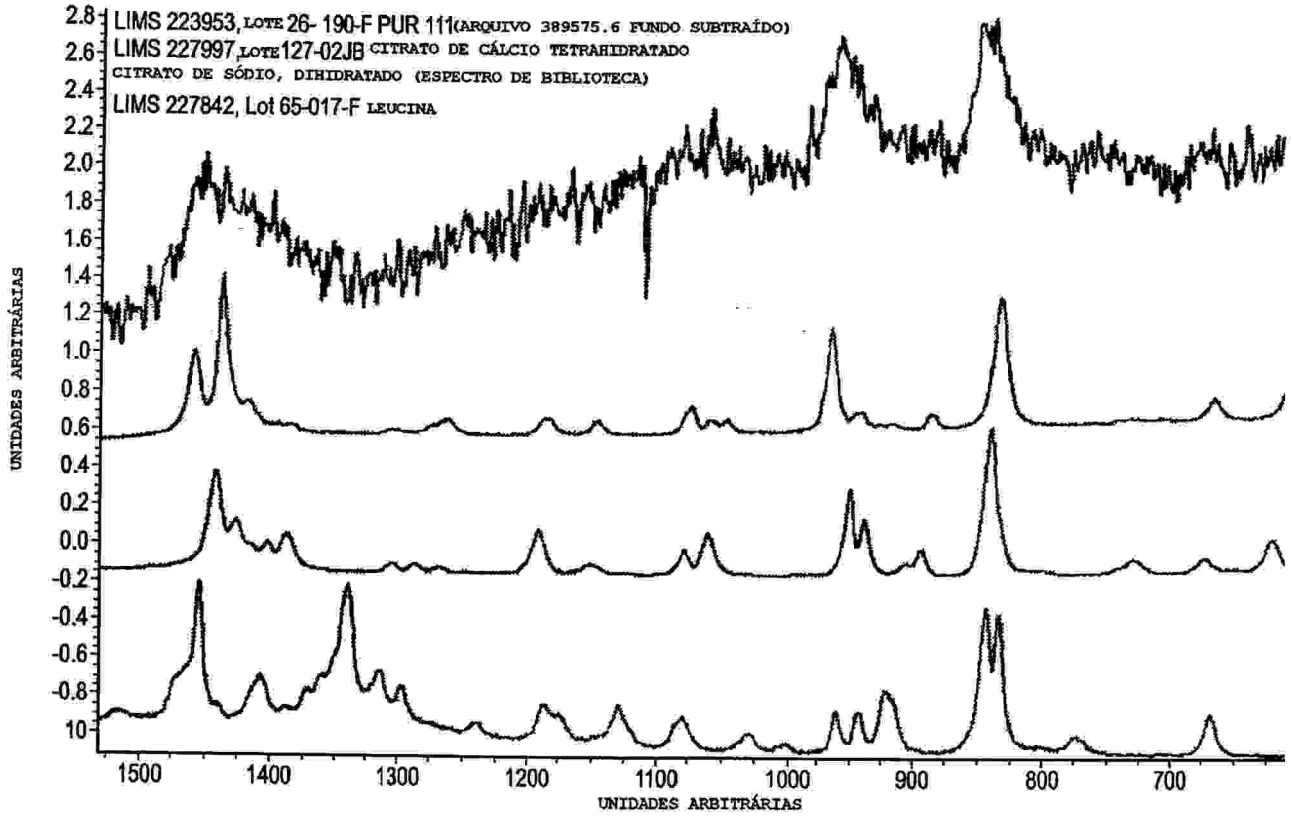

LIMS 223953, LOTE 26- 190-F PUR 111(ARQUIVO 389575.6 FUNDO SUBTRAÍDO)
LIMS 227997, LOTE 127-02JB CITRATO DE CÁLCIO TETRAHIDRATADO
CITRATO DE SÓDIO, DIHIDRATADO (ESPECTRO DE BIBLIOTECA)
LIMS 227842, Lot 65-017-F LEUCINA
UNIDADES ARBITRÁRIAS
2.8
2.6
2.4
2.2
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
-0.4
-0.6
-0.8
10
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27C

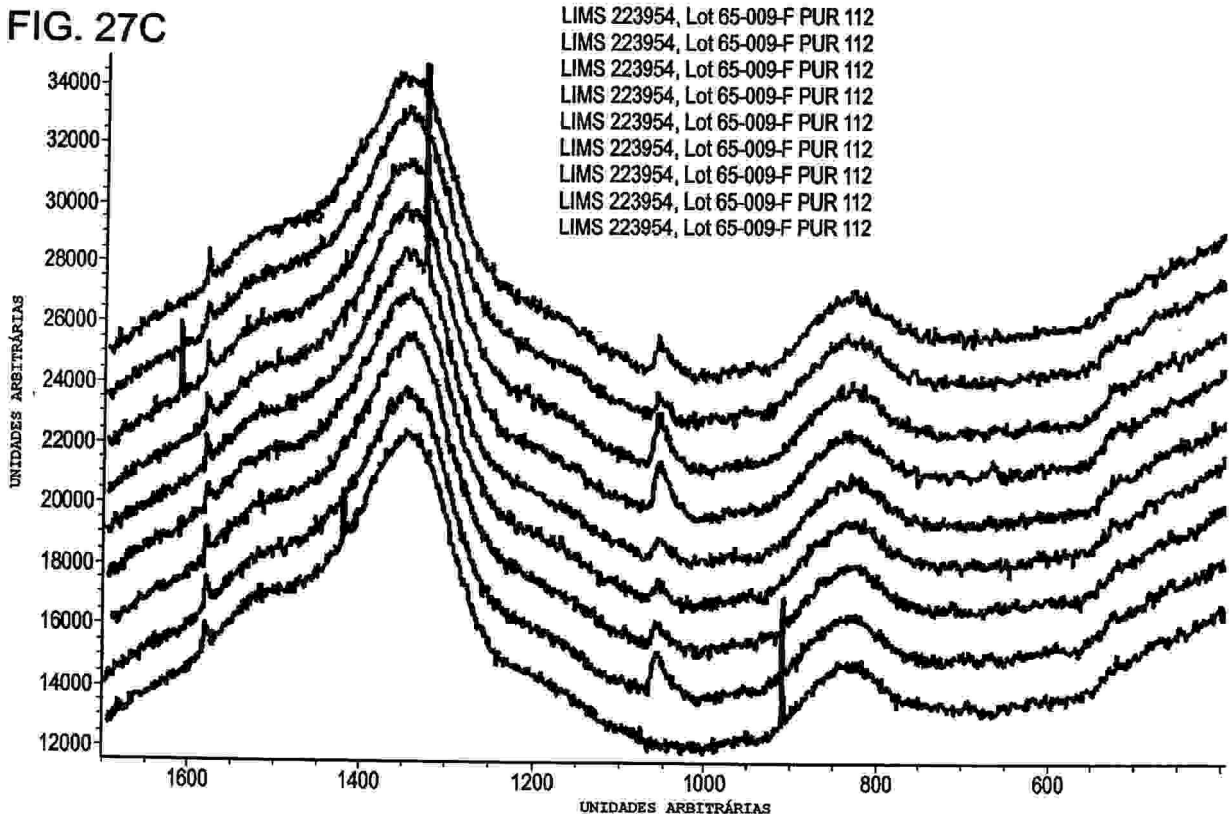

LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
LIMS 223954, Lot 65-009-F PUR 112
34000
32000
30000
28000
26000
24000
22000
20000
18000
16000
14000
12000
UNIDADES ARBITRÁRIAS
1600
1400
1200
1000
800
600
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27D

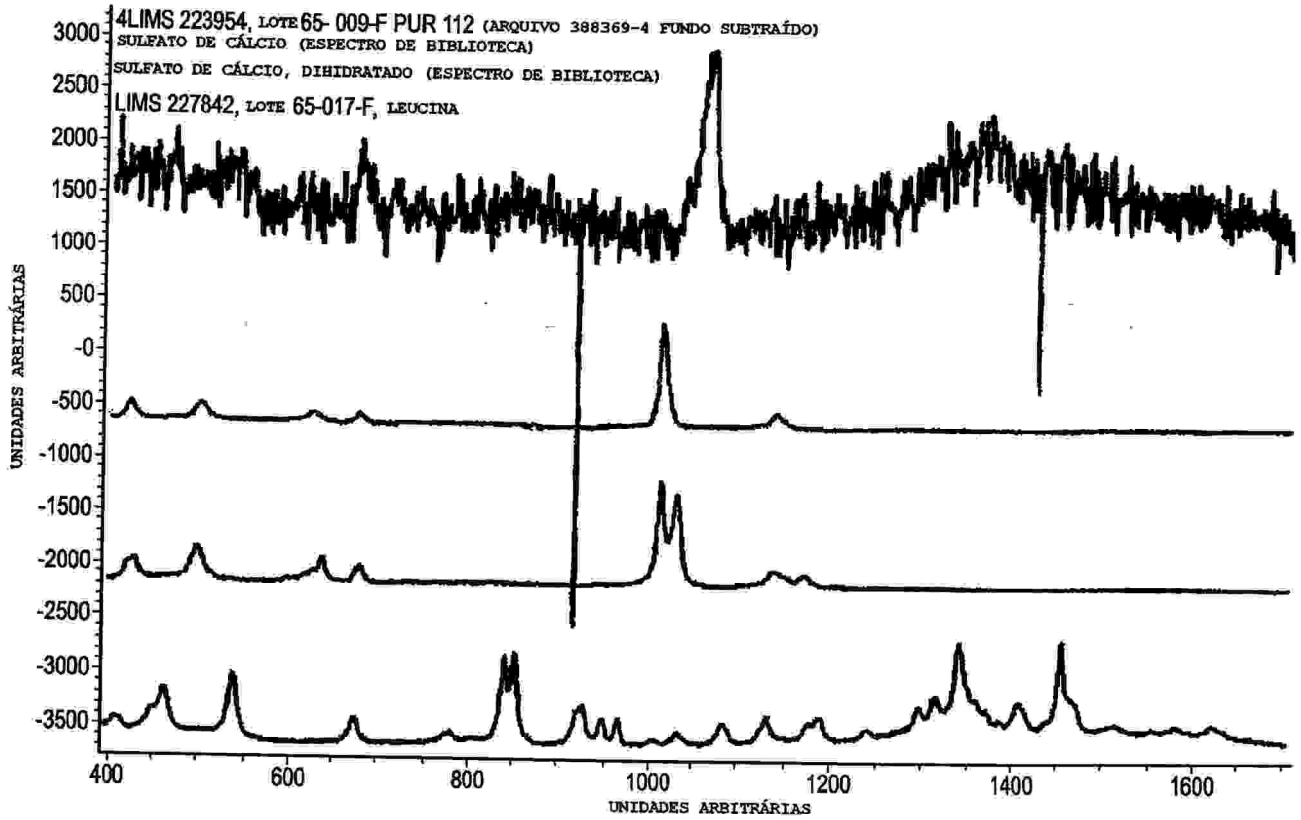

4LIMS 223954, LOTE 65- 009-F PUR 112 (ARQUIVO 388369-4 FUNDO SUBTRAÍDO)
SULFATO DE CÁLCIO (ESPECTRO DE BIBLIOTECA)
SULFATO DE CÁLCIO, DIHIDRATADO (ESPECTRO DE BIBLIOTECA)
LIMS 227842, LOTE 65-017-F, LEUCINA
UNIDADES ARBITRÁRIAS
3000
2500
2000
1500
1000
500
-0
-500
-1000
-1500
-2000
-2500
-3000
-3500
400
600
800
1000
1200
1400
1600
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27E

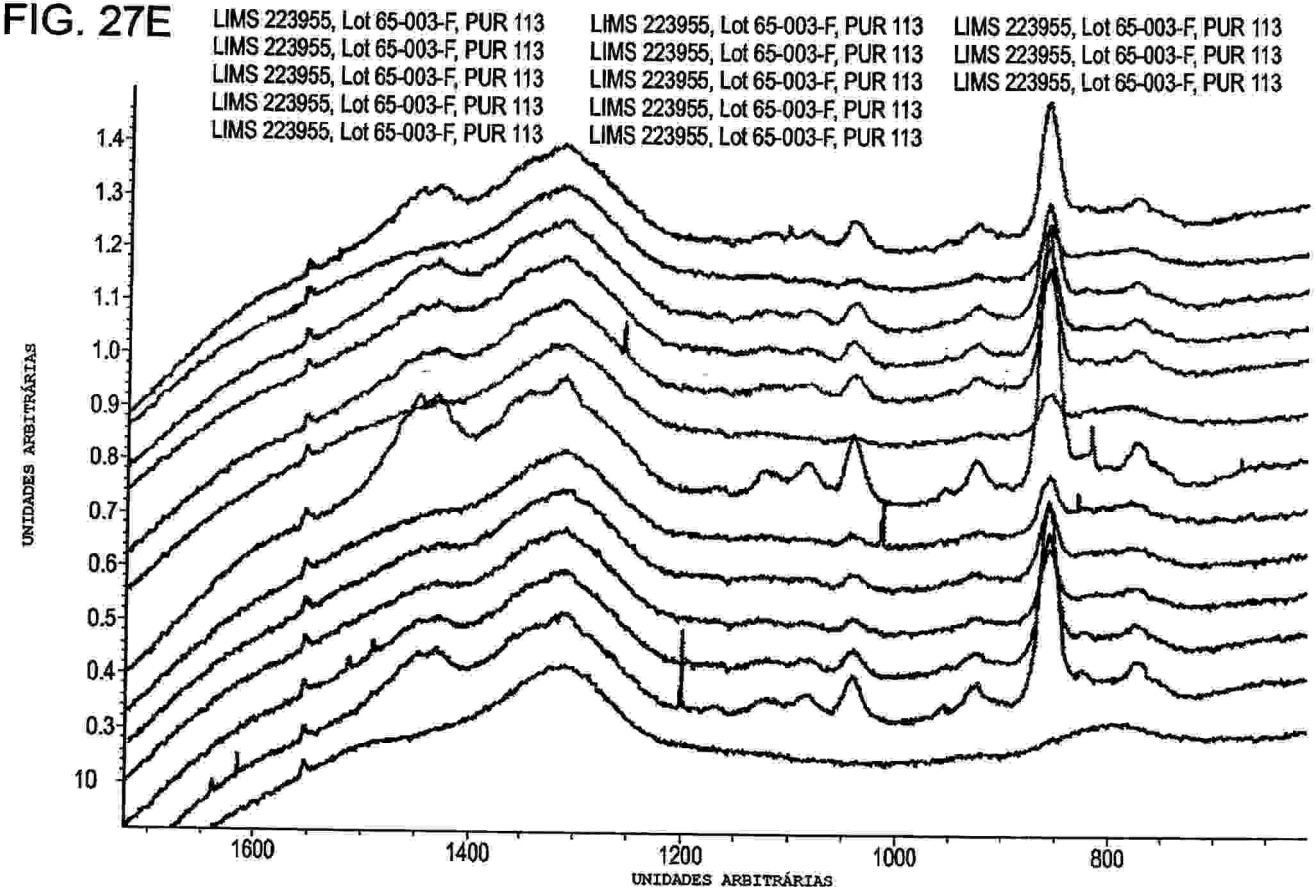

LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
LIMS 223955, Lot 65-003-F, PUR 113
UNIDADES ARBITRÁRIAS
1.4
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
10
1600
1400
1200
1000
800
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27F

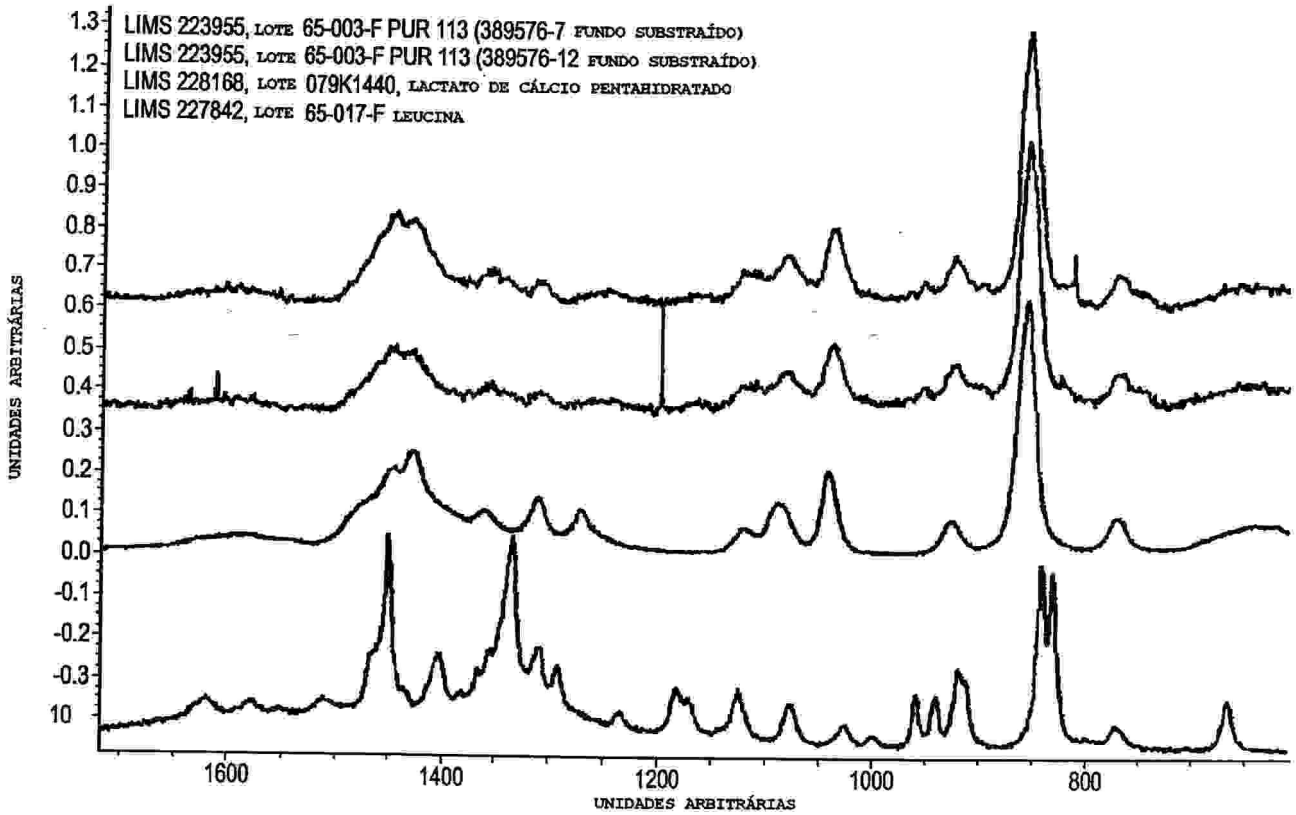

LIMS 223955, LOTE 65-003-F PUR 113 (389576-7 FUNDO SUBSTRAÍDO)
LIMS 223955, LOTE 65-003-F PUR 113 (389576-12 FUNDO SUBSTRAÍDO)
LIMS 228168, LOTE 079K1440, LACTATO DE CÁLCIO PENTAHIDRATADO
LIMS 227842, LOTE 65-017-F LEUCINA
UNIDADES ARBITRÁRIAS
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
10
1600
1400
1200
1000
800
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27G

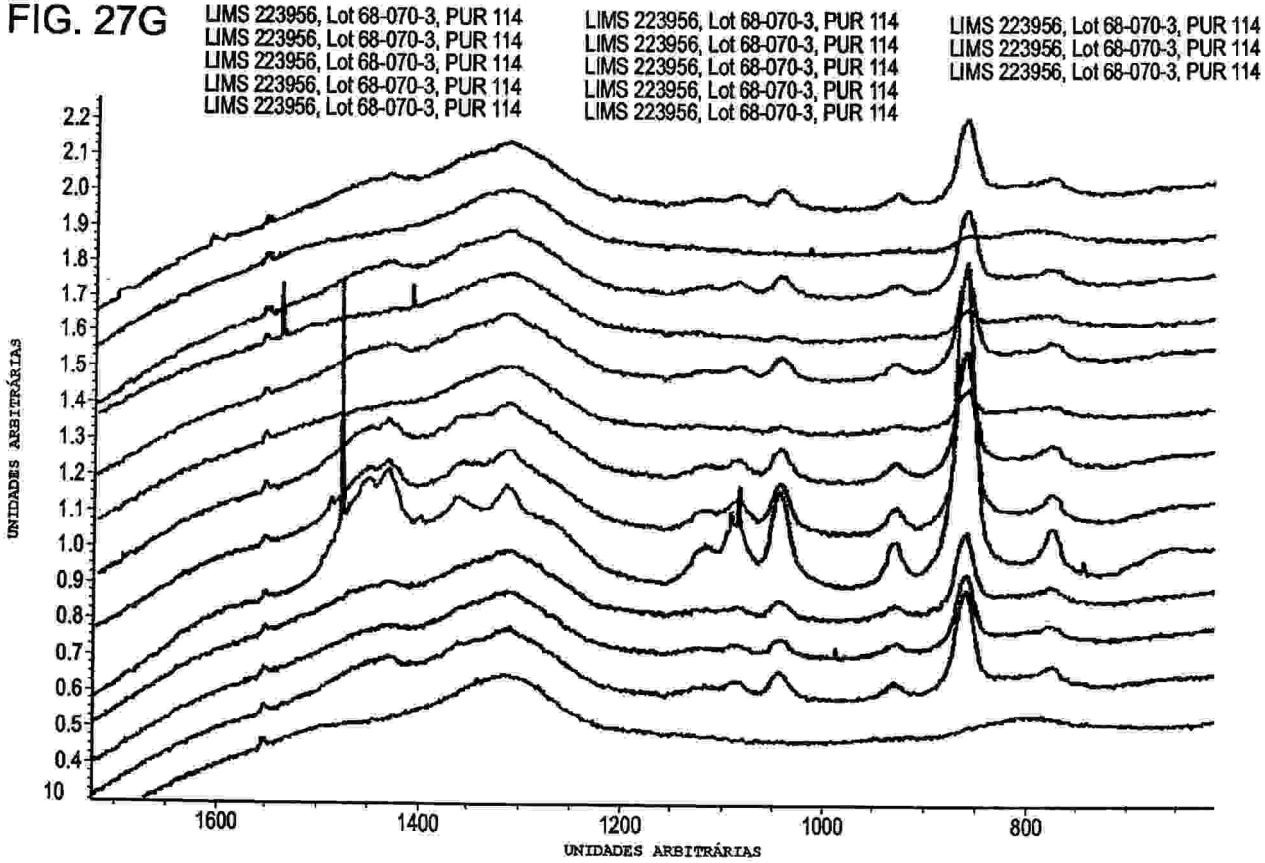
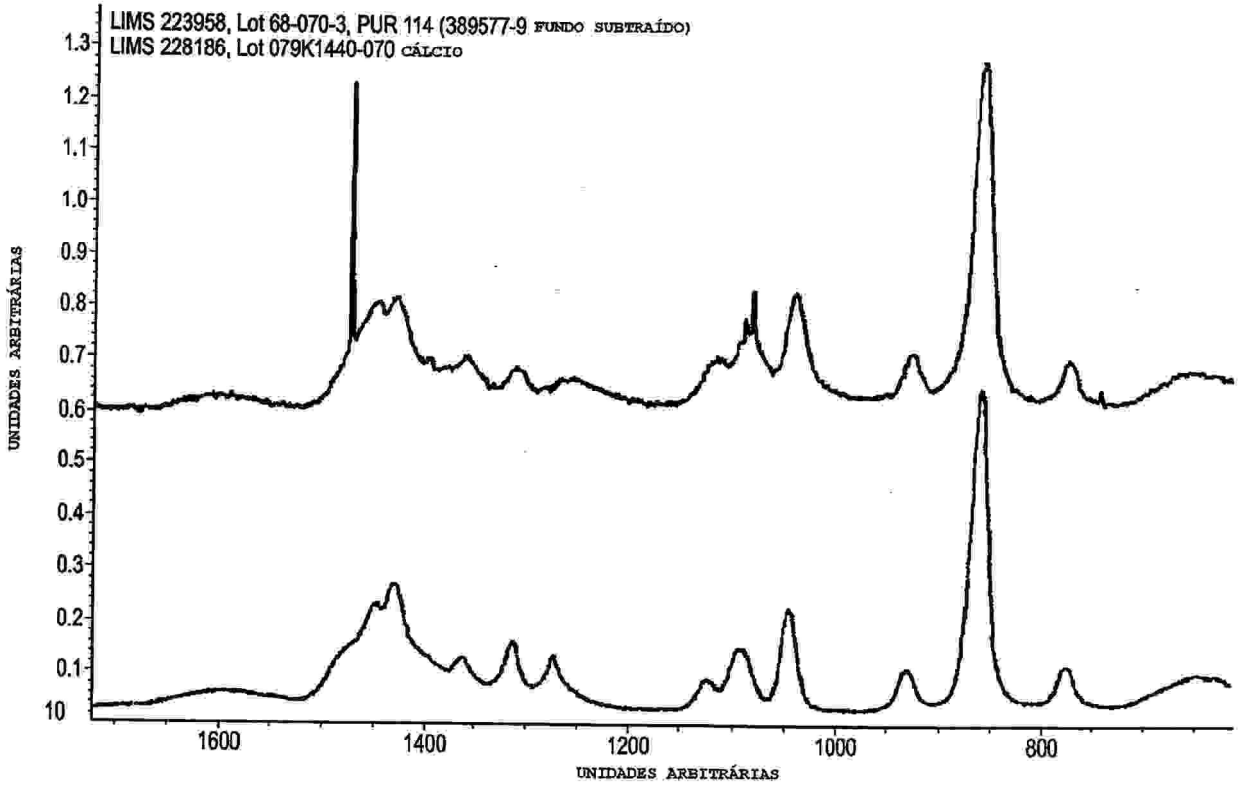

LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
LIMS 223956, Lot 68-070-3, PUR 114
UNIDADES ARBITRÁRIAS
2.2
2.1
2.0
1.9
1.8
1.7
1.6
1.5
1.4
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
10
1600
1400
1200
1000
800
UNIDADES ARBITRÁRIAS

FIG. 27H


LIMS 223958, Lot 68-070-3, PUR 114 (389577-9 FUNDO SUBTRAÍDO)
LIMS 228186, Lot 079K1440-070 CÁLCIO
UNIDADES ARBITRÁRIAS
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
10
1600
1400
1200
1000
800
UNIDADES ARBITRÁRIAS

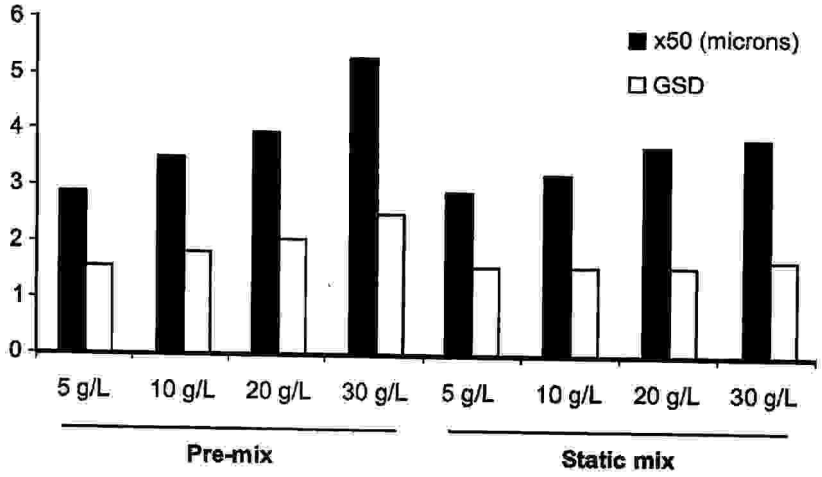

6
5
4
3
2
1
0
x50 (microns)
GSD
5 g/L
10 g/L
20 g/L
30 g/L
5 g/L
10 g/L
20 g/L
30 g/L
Pre-mix
Static mix

FIG. 28

FIG. 29

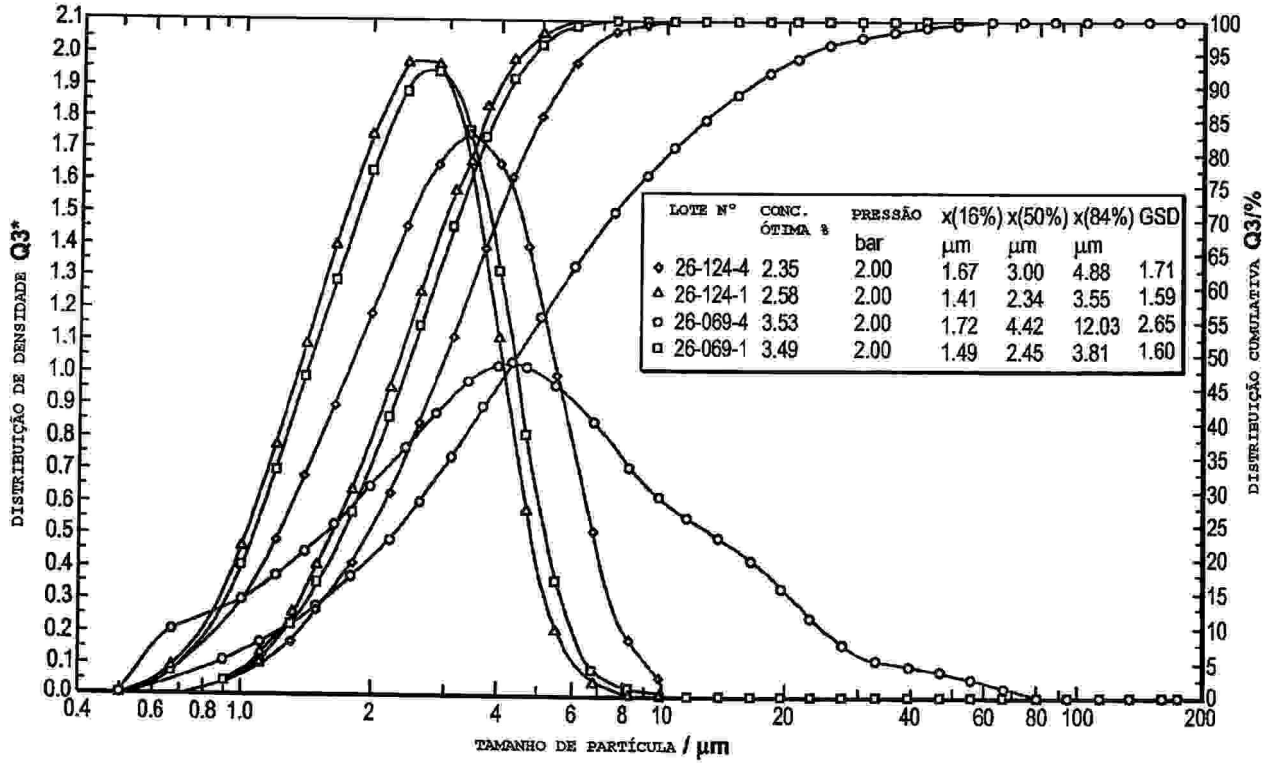

DISTRIBUIÇÃO DE DENSIDADE Q3*
DISTRIBUIÇÃO CUMULATIVA Q3/%
TAMANHO DE PARTÍCULA / µm
LOTE Nº | CONC. ÓTIMA % | PRESSÃO bar | x(16%) µm | x(50%) µm | x(84%) µm | GSD
26-124-4 | 2.35 | 2.00 | 1.67 | 3.00 | 4.88 | 1.71
26-124-1 | 2.58 | 2.00 | 1.41 | 2.34 | 3.55 | 1.59
26-069-4 | 3.53 | 2.00 | 1.72 | 4.42 | 12.03 | 2.65
26-069-1 | 3.49 | 2.00 | 1.49 | 2.45 | 3.81 | 1.60

FIG. 30

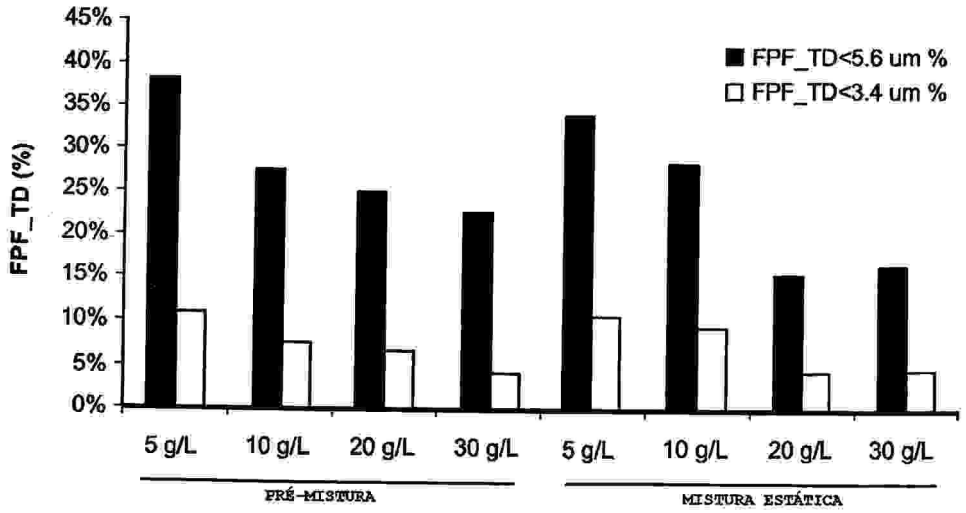

45%
40%
35%
30%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
FPF_TD (%)
FPF_TD<5.6 um %
FPF_TD<3.4 um %
5 g/L
10 g/L
20 g/L
30 g/L
5 g/L
10 g/L
20 g/L
30 g/L
PRÉ-MISTURA
MISTURA ESTÁTICA

FIG. 31A

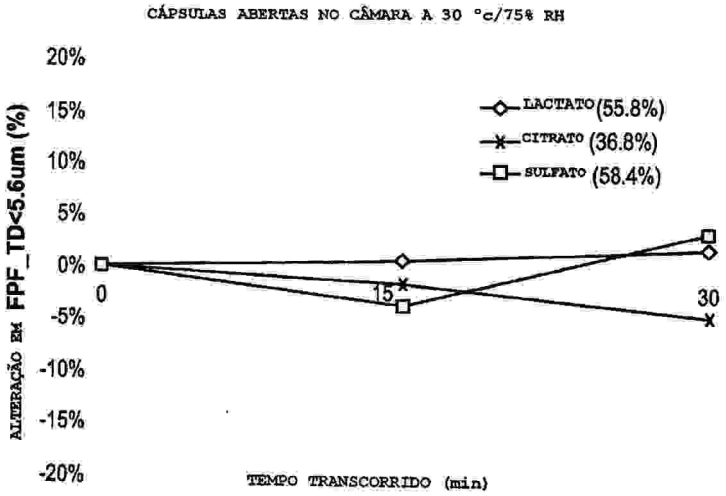


FIG. 31B

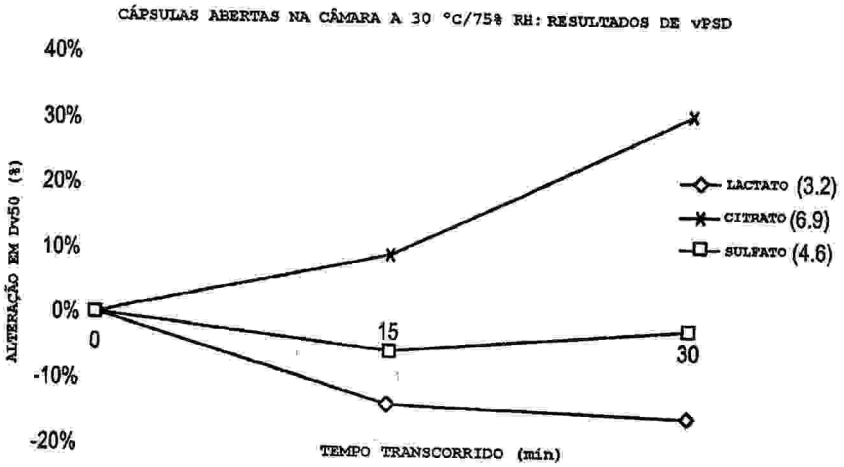


FIG. 31C

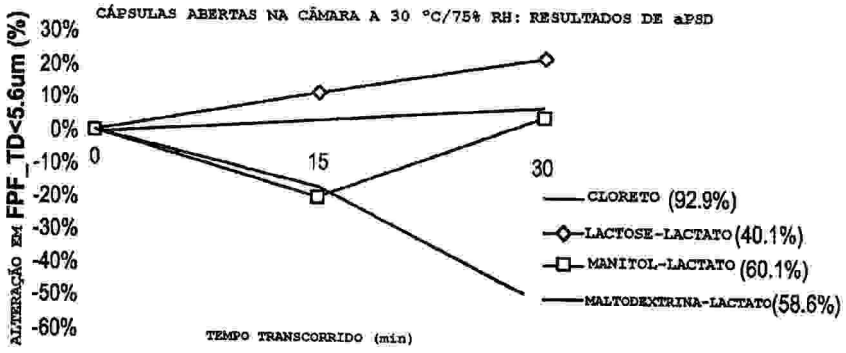
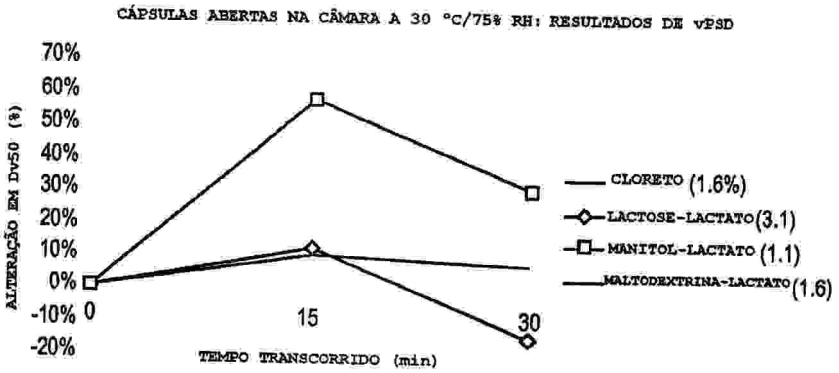


FIG. 31D



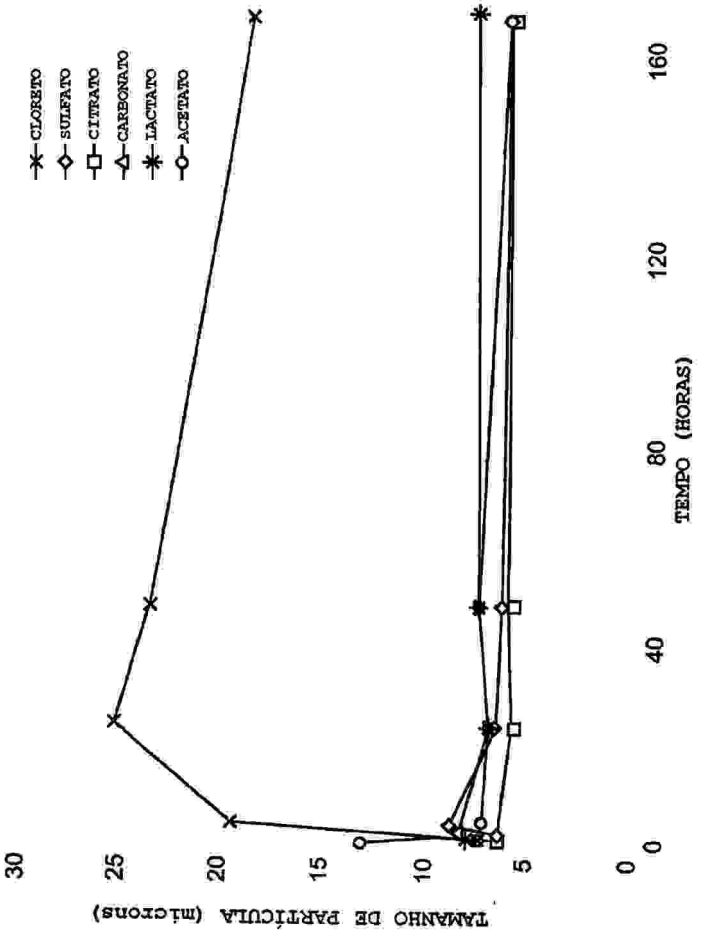

CLORETO
SULFATO
CITRATO
CARBONATO
LACTATO
ACETATO
TAMANHO DE PARTÍCULA (microns)
30
25
20
15
10
5
0
0
40
80
120
160
TEMPO (HORAS)

FIG. 32

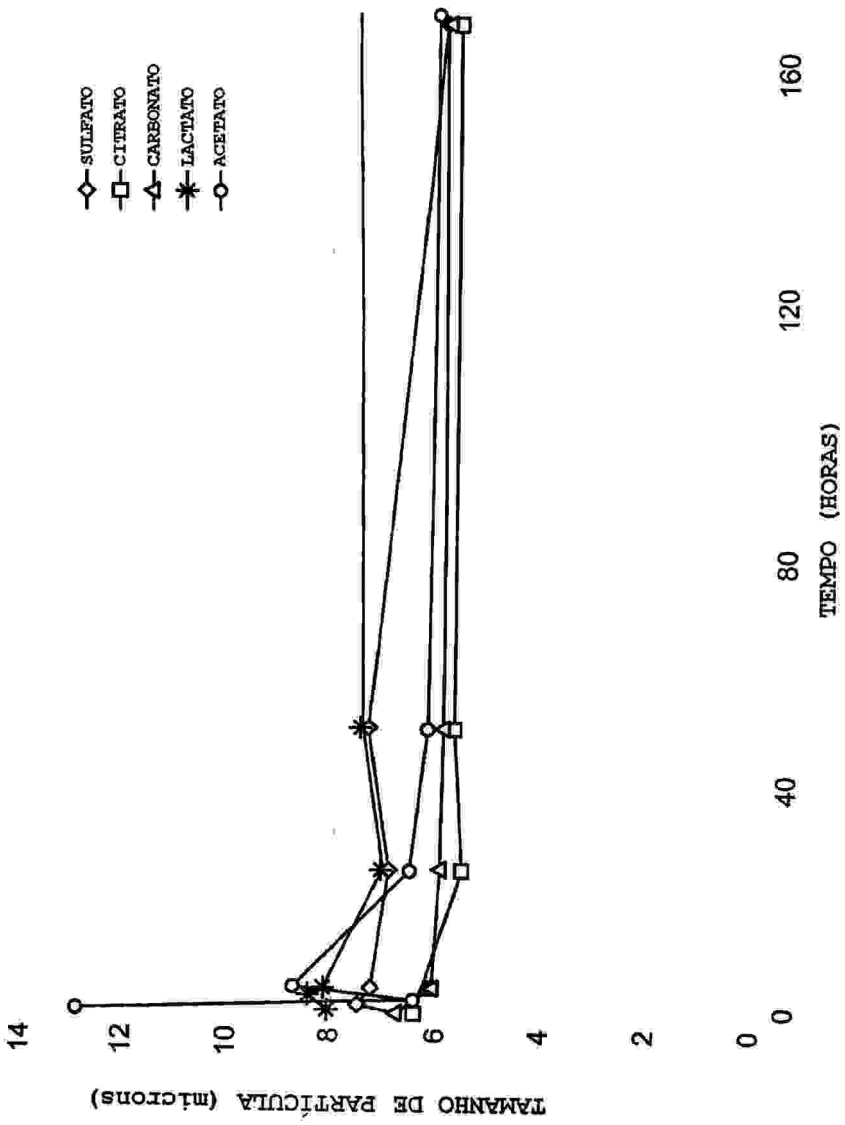

SULFATO
CITRATO
CARBONATO
LACTATO
ACETATO
TAMANHO DE PARTÍCULA (microns)
14
12
10
8
6
4
2
0
0
40
80
120
160
TEMPO (HORAS)

FIG. 33

FIG. 34

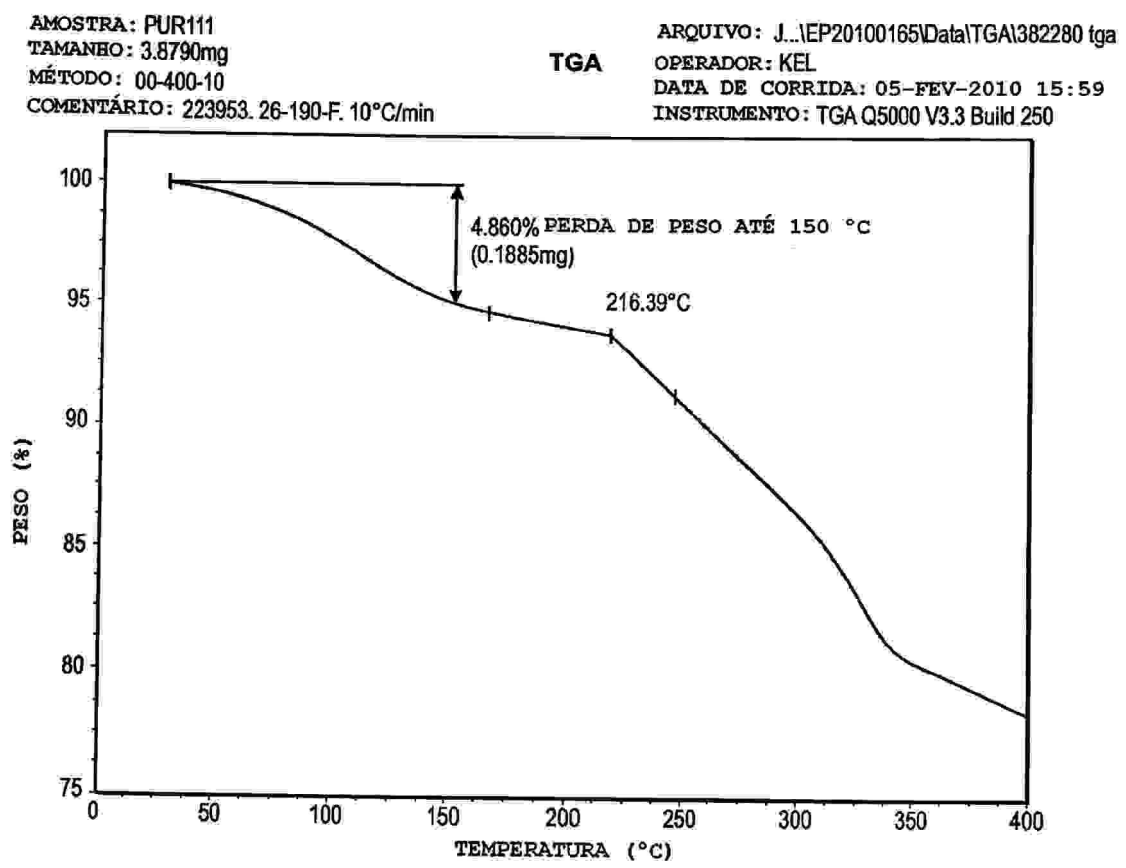

AMOSTRA: PUR111
TAMANHO: 3.8790mg
MÉTODO: 00-400-10
COMENTÁRIO: 223953. 26-190-F. 10°C/min
TGA
ARQUIVO: J...\EP20100165\Data\TGA\382280 tga
OPERADOR: KEL
DATA DE CORRIDA: 05-FEV-2010 15:59
INSTRUMENTO: TGA Q5000 V3.3 Build 250
4.860% PERDA DE PESO ATÉ 150 °C
(0.1885mg)
216.39°C
PESO (%)
100
95
90
85
80
75
0
50
100
150
200
250
300
350
400
TEMPERATURA (°C)

FIG. 35

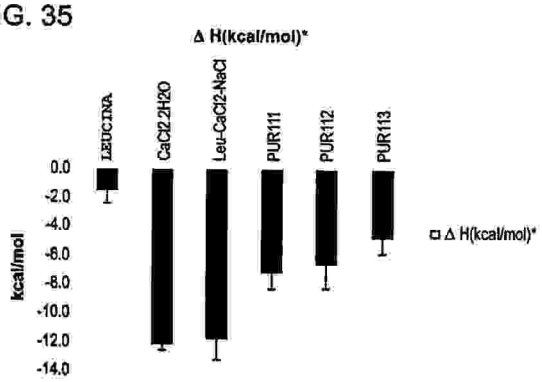

Δ H(kcal/mol)*
LEUCINA
CaCl2.2H2O
Leu-CaCl2-NaCl
PUR111
PUR112
PUR113
kcal/mol
0.0
-2.0
-4.0
-6.0
-8.0
-10.0
-12.0
-14.0
Δ H(kcal/mol)*

FIG. 36

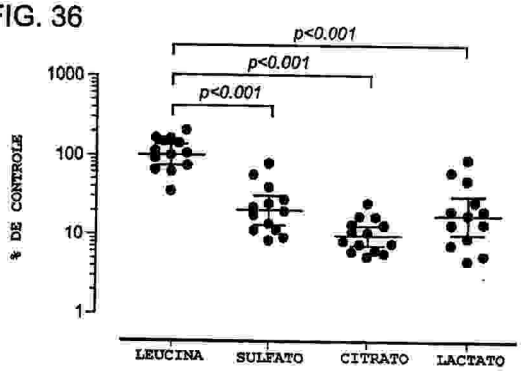

p<0.001
p<0.001
p<0.001
% DE CONTROLE
1000
100
10
1
LEUCINA
SULFATO
CITRATO
LACTATO

FIG. 37

FORMULAÇÕES DE PÓ — TABELA 27

FORMULAÇÃO Nº	COMPOSIÇÃO DA FORMULAÇÃO					
	EXCIPIENTE	EXCIPIENTE (% EM PESO)	SAL DE CÁLCIO	SAL DE CÁLCIO (% EM PESO)	SAL DE SÓDIO	SAL DE SÓDIO (% EM PESO)
1	LEUCINA	50.0	CLORETO DE CÁLCIO	29.5	CLORETO DE SÓDIO	20.5
2	LEUCINA	50.0	ACETATO DE CÁLCIO	33.8	CLORETO DE SÓDIO	16.2
3	LEUCINA	50.0	LACTATO DE CÁLCIO	37.0	CLORETO DE SÓDIO	13.0
4	LEUCINA	50.0	CLORETO DE CÁLCIO	22.0	SULFATO DE SÓDIO	28.0
5	LEUCINA	50.0	CLORETO DE CÁLCIO	19.5	CITRATO DE SÓDIO	30.5
6	LEUCINA	10.0	LACTATO DE CÁLCIO	66.6	CLORETO DE SÓDIO	23.4
7	LEUCINA	10.0	CLORETO DE CÁLCIO	39.6	SULFATO DE SÓDIO	50.4
8	LEUCINA	10.0	CLORETO DE CÁLCIO	35.1	CITRATO DE SÓDIO	54.9
9	n.a.	n.a.	LACTATO DE CÁLCIO	74.0	CLORETO DE SÓDIO	26.0
10	n.a.	n.a.	CLORETO DE CÁLCIO	44.0	SULFATO DE SÓDIO	56.0
11	n.a.	n.a.	CLORETO DE CÁLCIO	39.0	CITRATO DE SÓDIO	61.0
12	LEUCINA	10.0	LACTATO DE CÁLCIO	58.6	CLORETO DE SÓDIO	31.4
13	MALTODEXTRINA	10.0	LACTATO DE CÁLCIO	58.6	CLORETO DE SÓDIO	31.4
14	MANITOL	10.0	LACTATO DE CÁLCIO	58.6	CLORETO DE SÓDIO	31.4
15	LACTOSE	10.0	LACTATO DE CÁLCIO	58.6	CLORETO DE SÓDIO	31.4
16	MEIA LEUCINA E MEIA MALTODEXTRINA (BASE EM PESO)	10.0	LACTATO DE CÁLCIO	58.6	CLORETO DE SÓDIO	31.4
17	MEIA LEUCINA E MEIA MALTODEXTRINA (BASE EM PESO)	20.0	LACTATO DE CÁLCIO	52.1	CLORETO DE SÓDIO	27.9
18	LEUCINA	20.0	LACTATO DE CÁLCIO	52.1	CLORETO DE SÓDIO	27.9
19	LEUCINA	12.0	LACTATO DE CÁLCIO	57.3	CLORETO DE SÓDIO	30.7
20	LEUCINA	8.0	LACTATO DE CÁLCIO	59.9	CLORETO DE SÓDIO	32.1

n.a. NÃO APLICÁVEL