

Métodos

Identificação dos fármacos

A identificação dos fármacos foi realizada por eluição, que é a utilização de uma mistura de solventes que promove a separação dos seus componentes. A identificação foi feita através da comparação do tempo de eluição das substâncias em coluna de um sistema HPLC (Prominence; Shimadzu Corp., Kyoto, Japão) com o tempo de eluição dos padrões analíticos. Para a análise foram utilizadas 10 cápsulas da associação fixa formoterol/budesonida 12/400 µg do medicamento teste, assim como 10 cápsulas de formoterol 12 µg e 10 de budesonida 400 µg do medicamento referência.

Peso médio do conteúdo das cápsulas

Para obtenção do peso médio do conteúdo das cápsulas, foram utilizadas 20 cápsulas da associação fixa (teste) e 40 cápsulas do medicamento referência (20 de cada princípio ativo). As cápsulas foram abertas, e o pó foi retirado e pesado em uma balança analítica de precisão (AT 200; Mettler Toledo, Greifensee, Suíça).

Teor dos ativos (doseamento)

O teor dos ativos (doseamento) foi realizado por HPLC (Shimadzu Corp.), com detecção em UV, obedecendo as seguintes etapas:

- extração dos ativos presentes no produto, utilizando-se um solvente adequado
- injeção do solvente com o princípio ativo dissolvido em uma coluna de separação do HPLC
- passagem de uma fase móvel adequada pela coluna de separação
- separação das substâncias injetadas por diferentes afinidades com a coluna
- eluição das substâncias na coluna, com identificação e dosagem dessas através de um detector espectrofotométrico, que verifica a absorbância das substâncias num determinado comprimento de onda
- comparação pelos tempos de retenção entre o padrão e as amostras

Para o formoterol, o tempo de retenção padrão é de 4,6 min aproximadamente. Para a budesonida, são dois sinais dos isômeros, com tempos de retenção aproximados de 18,3 e 19,3 min.

Uniformidade de conteúdo

A uniformidade de conteúdo, que tem como objetivo determinar a variabilidade das substâncias ativas presentes na forma farmacêutica, foi realizada em 10 cápsulas do medicamento teste e em 20 cápsulas do medicamento referência (10 de cada princípio ativo), com quantificação individual de cada cápsula. O líquido de extração foi analisado em HPLC-UV, como no teste de doseamento.⁽⁷⁾

Uniformidade de dose liberada

O teste de uniformidade de dose liberada é realizado em apresentações inalatórias contendo o princípio ativo envasado individualmente ou em doses pré-medidas e para formulações do princípio ativo embaladas em reservatórios ou em doses pré-medidas, sendo que as embalagens são rotuladas para o uso com um determinado dispositivo. A dose-alvo é a média obtida de princípio ativo após um grande número de avaliações de dose liberada, coletadas de vários dispositivos do produto. Em muitos casos, esse valor pode depender da maneira pela qual o ensaio de dose liberada é conduzido.⁽⁶⁾

Para a análise da uniformidade de dose liberada, foram avaliados 10 embalagens e 10 dispositivos respectivos para os medicamentos teste e referência. Utilizou-se *dosage unit sampling apparatus for dry powder inhalers* (DUSA-DPIs; Copley Westech Scientific Ltd., Nottingham, Reino Unido; Figura 1), com placa base, braçadeira grande, suporte e mufa dupla.⁽⁶⁾ Foram realizadas 30 análises para o medicamento teste e 60 análises para o medicamento referência.

Definiu-se para o medicamento teste:

- Início: primeira cápsula da embalagem (primeiro uso do dispositivo), esvaziamento e dispensação das cápsulas intermediárias (2ª a 14ª cápsula)
- Meio: 15ª cápsula (qualquer cápsula da embalagem), esvaziamento e dispensação das cápsulas intermediárias (16ª a 29ª cápsula)
- Fim: 30ª cápsula (qualquer cápsula da embalagem)

Definiu-se para o medicamento referência:

- Início: primeira cápsula da embalagem (primeiro uso do dispositivo), esvaziamento e dispensação das cápsulas intermediárias (2ª a 29ª cápsula)
- Meio: 30ª cápsula (qualquer cápsula da embalagem), esvaziamento e dispensação das cápsulas intermediárias (31ª a 59ª cápsula)
- Fim: 60ª cápsula (qualquer cápsula da embalagem)

Distribuição aerodinâmica de partículas

O sistema eficaz para medir a distribuição aerodinâmica das partículas é o *Andersen cascade impactor* (ACI).⁽⁸⁾ O produto contido no jato inalatório é levado, por meio de vácuo com fluxo controlado, para um conjunto de peneiras que simulam in vitro a via respiratória até o alvéolo pulmonar (Figura 2).

O modelo de ACI utilizado foi o 8301-60 (Copley Scientific Ltd., Nottingham, Reino Unido), separando a amostra em frações com base em diferenças de inércia em função da densidade das partículas, forma e velocidade. O aparato inclui uma série de estágios (peneiras), com diferentes números de perfurações de diâmetros conhecidos, que vão diminuindo com o número do estágio. Em cada estágio, partículas com inércia insuficiente para acompanhar o fluxo de ar ficam depositadas no estágio anterior, enquanto o restante das partículas continua nos próximos estágios. Essas são arrastadas pela corrente de ar, através de um fluxo constante produzido pela bomba de vácuo, significando que partículas menores alcançam inércia suficiente para sua deposição nas peneiras mais finas.

Detalhes operacionais para a obtenção dos resultados

O sistema utilizado foi qualificado em 09/06/2006, com validade de dois anos. O revestimento das placas/peneiras foi realizado com uma solução de óleo de silicone em hexano, na concentração de 1%. O bocal é feito de material de silicone, em moldes compatíveis com os dispositivos dos medicamentos analisados (teste e referência). O posicionamento das placas e peneiras é padrão, de acordo com o modelo do aparato.

Todo o sistema foi calibrado com cápsulas vazias de cada medicamento. O volume de aspiração foi corrigido utilizando-se a seguinte equação:

$$DCE' = DCP \times (28,3/Q)^{0,5} \quad (1)$$

onde Q é o fluxo obtido na análise em L/min, DCE' é o diâmetro de corte efetivo no fluxo Q obtido na análise, e DCP é o diâmetro de corte padrão para o fluxo de 28,3 L/min.

O valor de Q utilizado na equação acima para os medicamentos teste e referência foi de, respectivamente, 94 L/min e 99 L/min.

As frações e as doses de partículas finas foram calculadas a partir das massas obtidas em cada estágio por dose liberada e após a correção dos diâmetros de corte das peneiras, em função do fluxo Q utilizado nas análises. Esse fluxo padrão foi ajustado para 90 L/min. A correção dos diâmetros das peneiras para cada estágio do ACI é dependente do fluxo utilizado nos ensaios.

Os resultados foram expressos como partículas finas por dose (PFD) e fração de partículas finas (FPF), obtidos pelas seguintes fórmulas:

$$PFD = \sum m \div n \quad (2)$$

onde $\sum m$ é a soma das massas dos estágios 1 a 7, e n é o número de jatos inalatórios utilizados (n = 10 no presente estudo).

$$FPF = (PFD \div UDL) \times 100 \quad (3)$$

onde UDL é a uniformidade da dose liberada em µg.

Os cálculos foram realizados pelo *Copley Inhaler Testing Data Analysis Software* (CITDAS), versão 3.10 (Copley Scientific Ltd.).

Teor de água

Utilizou-se um sistema de Karl Fischer (787 KF Titrino; Metrohm AG, Herisau, Suíça) e balança (AEU Libror 210; Shimadzu Corp.) para a determinação do teor de umidade. Foram analisadas cinco cápsulas do medicamento teste e cinco cápsulas para cada princípio ativo do medicamento referência.

Variabilidade dos volumes

Para avaliar o medicamento teste em condições de inspiração a baixos volumes (simulando paciente com dificuldade respiratória), foi proposto um ensaio de distribuição aerodinâmica de partículas com um sistema *multi-stage liquid impinger* (Astra Draco MSLI; Erweka, Heusenstamm, Alemanha), verificando a influência da aspiração na distribuição de partículas in vitro. Utilizaram-se cápsulas do medicamento teste (formoterol/budesonida 12/400 µg) do lote nº 1005968; fabricado em setembro de 2010 e com vencimento em março de 2012. O ensaio foi realizado entre 20 de outubro e 17 de novembro de 2010.

O sistema MSLI permite medir o tamanho de partículas quando submetidas à aerodispersão. Esse sistema possui quatro estágios de impacto, cada um contendo um pequeno volume de líquido utilizado para reduzir possíveis oscilações da partícula quando de sua reentrada no próximo estágio. No último estágio é adicionado um filtro. Os diâmetros de corte teóricos esperados (em µm) quando o fluxo utilizado é de 60 L/min nos quatro estágios e no filtro são, respectivamente, 13,0, 6,8, 3,1, 1,7 e < 1,7 µm.

A amostra foi obtida utilizando cinco acionamentos do controlador de fluxo para cada unidade, em dois volumes inspiratórios, com recuperação no sistema MSLI em diluente e fluxo apropriados. Esses volumes foram suficientes para promover o esvaziamento completo da cápsula, conforme orientação da bula do medicamento. Os tempos utilizados para estabelecer o volume inspiratório de 1 L e de 4 L foram previamente calculados (0,7 s e 2,7 s, respectivamente).