

CARLA GIORDANI TESTA

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTENDO
MONTELUCASTE PARA ADMINISTRAÇÃO PULMONAR

Rio de Janeiro
2026

CARLA GIORDANI TESTA

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTENDO
MONTELUCASTE PARA ADMINISTRAÇÃO PULMONAR

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia
da Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como requisito parcial à obtenção do título
de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Profª. Drª. Flávia Almada do Carmo

Coorientadores: Profª. Drª. Alice Simon
Prof. Dr. Lucio Mendes
Cabral

Rio de Janeiro
2026

Ficha catalográfica

T342d

Testa, Carla Giordani

Desenvolvimento de formulação contendo montelukaste para administração pulmonar / Carla Giordani Testa. – Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Farmácia, 2026.

125 f. : il. ; 31 cm.

Orientadora: Flávia Almada do Carmo.

Coorientadores: Alice Simon e Lucio Mendes Cabral

Tese (doutorado) — UFRJ/Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2026.

Referências bibliográficas: f. 107-125.

1. Antagonistas de Leucotrienos. 2. Asma/tratamento farmacológico. 3. Inaladores de Pó Seco. 4. Administração por Inalação. 5. Técnicas In Vitro. 6. Tecnologia Farmacêutica - Tese. I. Carmo, Flávia Almada do. II. Simon, Alice. III. Cabral, Lucio Mendes. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. V. Título.

CARLA GIORDANI TESTA

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO CONTENDO MONTELUCASTE
PARA ADMINISTRAÇÃO PULMONAR

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do
Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do
título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2026.

Orientador:

Documento assinado digitalmente
 FLÁVIA ALMADA DO CARMO
Data: 24/02/2026 15:55:56-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª. Drª. Flávia Almada do Carmo, Faculdade de Farmácia, UFRJ.

Coorientadores:

Documento assinado digitalmente
 ALICE SIMON
Data: 27/02/2026 21:16:37-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª. Drª. Alice Simon, Faculdade de Farmácia, UFRJ.

Documento assinado digitalmente
 LUCIO MENDES CABRAL
Data: 02/03/2026 12:12:04-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral, Faculdade de Farmácia, UFRJ.

Revisor:

Documento assinado digitalmente
 ALESSANDRA MENDONÇA TELES DE SOUZA
Data: 02/03/2026 09:41:30-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Alessandra Mendonça Teles de Souza, Faculdade de Farmácia, UFRJ.

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 LUCIANA PEREIRA RANGEL
Data: 26/02/2026 23:34:36-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª. Drª. Luciana Pereira Rangel, Faculdade de Farmácia, UFRJ.

Documento assinado digitalmente
 HELVÉCIO VINÍCIUS ANTUNES ROCHA
Data: 02/03/2026 06:10:26-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha, Fiocruz.

Documento assinado digitalmente
 SAMANTA CARDOZO MOURÃO
Data: 26/02/2026 21:18:43-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª. Drª. Samanta Cardozo Mourão, Faculdade de Farmácia, UFF.

*Dedico este trabalho à minha família, que me
mostra todos os dias que não é preciso estar
perto para estar junto. Amo vocês.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as graças a mim concedidas. Sem Ele nada é possível.

Agradeço a minha família, pai, mãe, Pati e Di, por todo amor, apoio e compreensão, sempre ao meu lado em todos os momentos.

As minhas amigas queridas aqui no Rio de Janeiro, que são minha família longe de casa.

A todo pessoal do Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF/UFRJ) pelos ensinamentos e colaboração inestimável nesse trabalho. Em especial ao Sydney e Priscila, pela ajuda essencial na rotina do Laboratório.

*A Professora Anne Marie Healy da School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Trinity College, Dublin, Irlanda, por disponibilizar seu Laboratório e colaborar nos ensaios de deposição *in vitro* e Sorção dinâmica de vapor.*

Ao Laboratório Farmacêutico da Marinha e, principalmente, ao pessoal do Departamento de Pesquisas em Ciências Farmacêuticas, por todo incentivo e companherismo diário.

De forma muito especial, à Flávia e a Alice, que sempre fizeram de tudo para que esse trabalho se concretizasse. Muito obrigada por todos os ensinamentos, generosidade e paciência nesta caminhada.

A todos que colaboraram para a realização desse trabalho.

*Sempre faço o que não consigo fazer
para aprender o que não sei.*

Pablo Picasso

RESUMO

TESTA, Carla Giordani. **Desenvolvimento de formulação contendo montelucaste para administração pulmonar.** Rio de Janeiro, 2026. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2026.

A asma é uma doença inflamatória crônica caracterizada pela obstrução do fluxo de ar das vias respiratórias, causando sintomas como falta de ar, tosse e aperto no peito. O montelucaste (MTK) é um antagonista dos receptores de leucotrienos amplamente utilizado no tratamento da doença, sendo atualmente comercializado como sal sódico em formulações orais. Entretanto, sua administração por via oral apresenta farmacocinética variável, associada a moderada biodisponibilidade, metabolismo de primeira passagem significativo e ampla distribuição periférica. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar, *in vitro*, formulações para inaladores de pó seco (DPI) contendo MTK, visando à administração pulmonar direta e à potencial redução de dose e efeitos adversos sistêmicos. As micropartículas foram produzidas por *spray drying* a partir de soluções etanol/água contendo MTK, com ou sem L-leucina, associada a diferentes concentrações de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD). As partículas DPI desenvolvidas apresentaram propriedades compatíveis com a administração pulmonar, exibindo morfologia predominantemente esférica, baixa rugosidade superficial, diâmetros geométricos inferiores a 5 μm , teor de umidade residual adequado e densidades inferiores a 0,4 g/cm³, características que favorecem a dispersibilidade e o desempenho aerodinâmico. Os estudos *in vitro* demonstraram que todas as formulações apresentaram diâmetro aerodinâmico médio de massa (MMAD) entre 2,23 μm e 4,21 μm , dentro da faixa considerada ideal (1–5 μm) para deposição no trato respiratório inferior. Destaca-se que as formulações com menor concentração de MTK exibiram maiores frações de partículas finas e doses emitidas superiores a 70%, indicando melhor eficiência de aerossolização. Além disso, observou-se um incremento na taxa de dissolução em fluido pulmonar simulado em comparação ao fármaco isolado. A avaliação de citotoxicidade evidenciou baixa toxicidade do MTK e das formulações em células pulmonares Calu-3, embora a linhagem de macrófagos J774A.1 tenha demonstrado maior sensibilidade em concentrações superiores a 42 mM. Em conjunto, os resultados indicam que sistemas baseados na associação MTK:HP β CD, combinados à L-leucina, configuram uma estratégia promissora para o direcionamento pulmonar do MTK e para o tratamento local da asma.

Palavras-chave: asma, montelucaste, administração inalatória, pó seco para inalação.

ABSTRACT

TESTA, Carla Giordani. **Development of montelukast-containing formulation for pulmonary administration.** Rio de Janeiro, 2026. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2026.

Asthma is a chronic inflammatory disease characterized by airway obstruction, leading to symptoms such as shortness of breath, cough, and chest tightness. Montelukast (MTK), a leukotriene receptor antagonist, is widely used in the treatment of this condition and is currently marketed as the sodium salt in oral formulations. However, its oral administration is associated with variable pharmacokinetics, moderate bioavailability, significant first-pass metabolism, and extensive peripheral distribution. In this context, the present study aimed to develop and characterize, *in vitro*, dry powder inhalation (DPI) formulations containing MTK, targeting direct pulmonary delivery with the potential to reduce the administered dose and systemic adverse effects.

Microparticles were produced by spray drying from ethanol/water solutions containing MTK, with or without L-leucine, combined with different concentrations of hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD). The developed DPI particles exhibited properties suitable for pulmonary administration, including predominantly spherical morphology, low surface roughness, geometric diameters below 5 μm , adequate residual moisture content, and densities lower than 0.4 g/cm³, all of which favor dispersibility and aerodynamic performance.

In vitro studies demonstrated that all formulations presented mass median aerodynamic diameters (MMAD) ranging from 2.23 μm to 4.21 μm , within the range considered ideal (1–5 μm) for deposition in the lower respiratory tract. Notably, formulations containing lower MTK concentrations exhibited higher fine particle fractions and emitted doses above 70%, indicating improved aerosolization efficiency. Furthermore, an increased dissolution rate in simulated lung fluid was observed compared to the isolated drug. Cytotoxicity evaluation revealed low toxicity of MTK and the developed formulations in Calu-3 pulmonary cells, although the J774A.1 macrophage cell line showed greater sensitivity at concentrations above 42 mM.

Overall, the results indicate that MTK:HP β CD-based systems, combined with L-leucine, represent a promising strategy for pulmonary targeting of MTK and for the local treatment of asthma.

Keywords: asthma; montelukast; inhaled administration; dry powder inhaler.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do MTK. Adaptado de USP-NF (2025).....	17
Figura 2. Epitélio pulmonar. Adaptado de PATTON; BYRON (2007).....	22
Figura 3. Principais mecanismos de deposição das partículas no trato respiratório. Adaptado de Demoly et al. (2014).....	24
Figura 4. Representação esquemática do equipamento de secagem por pulverização (spray dryer). Adaptado de Chen et al. (2025).	29
Figura 5. Curva de calibração referente a quantificação das amostras de solubilidade de MTK (A) e um cromatograma HPLC representativo (B).....	66
Figura 6. Resultados de solubilidade em equilíbrio do MTK sódico em água em diferentes valores de pH, em tampão fosfato de potássio (Tp K), tampão fosfato de sódio (Tp Na), tampão acetato de sódio (Tp acet) e FPS.	66
Figura 7. Perfil de solubilidade de fase do MTK com HP β CD em fluido pulmonar simulado.	69
Figura 8. Difratoformas DRX do MTK, excipientes L-leucina e HP β CD, das misturas físicas (MF-1 e MF-2), MTK puro processado por SD (MTK-a) e das formulações DPI (F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b).....	73
Figura 9. Análise de DSC do MTK. (A) Aquecimento a taxa de 10 °C/min até 150 °C; a amostra foi rapidamente resfriada em nitrogênio líquido e submetida a novo aquecimento a 5 °C/min até 300 °C (B) para determinação da Tg pelo método melt quench. (C) Termograma do MTK como recebido submetido a aquecimento a 10 °C/min.	76
Figura 10. Curvas de DSC do MTK, dos excipientes L-leucina e HP β CD, das misturas físicas (MF-1 e MF-2), MTK puro processado por SD (MTK-a) e das formulações DPI (F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b).....	77
Figura 11. Curva de TGA das formulações DPI (F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b).....	80
Figura 12. MEV do MTK puro como fornecido pelo fabricante (A) (Mag 5.00K x) e formulação MTK-a após processo de SD (B) (Mag 30.00K x).....	80
Figura 13. MEV das formulações DPI de MTK: F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b, nas magnificações de 5K x e 15K x.	82
Figura 14. Microscopias das formulações F3-a e F4-a na magnificação de 30K x. ..	85
Figura 15. Microscopia da formulação F5-b (magnificação 30K x).....	85
Figura 16. Isotermas DVS das formulações DPI de MTK.	88
Figura 17. Isotermas DVS das formulações SD de MTK em função da concentração	

crescente de L-leucina.	90
Figura 18. Comparação entre as isotermas DVS das formulações F1 (F1-a e F1-b) e F2 (F2-a e F2-b).	90
Figura 19. DRX das formulações DPI de MTK após estudos DVS.	91
Figura 20. Deposição <i>in vitro</i> das formulações de MTK.	94
Figura 21. Perfis de dissolução das formulações DPI de MTK em FPS pH 7.4.	97
Figura 22. Determinação do efeito citotóxico <i>in vitro</i> das formulações F1-b e F2-b em células Calu-3 (A e B) e células J774A.1 (C e D) em concentrações de 5 a 60 μ M. DMEM-20% SFB e DMEM-10% SFB com 1% DMSO (veículo) foram utilizados como controle negativo e DMSO puro foi utilizado como controle positivo; n=6. Resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão (DP). (* p < 0.05; ** p = 0.0074; *** p < 0.0006; **** p < 0.0001).	101
Figura 23. Determinação <i>in vitro</i> do efeito citotóxico de MTK, HP β CD e L-leucina em células Calu-3 (A, B e C) e células J774A.1 (D, E e F) em várias concentrações. DMEM-20% SFB e DMEM-10% SFB com 1% DMSO (veículo) foram utilizados como controle negativo, enquanto DMSO puro serviu como controle positivo; n=6. Resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão (DP). (* p < 0.05; ** p = 0.0074; *** p < 0.0006; **** p < 0.0001).	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulações inaláveis de MTK: métodos de produção, composição das formulações, dispositivos e principais achados	41
Tabela 2. Formulações e parâmetros de processo	57
Tabela 3. Resultados de rendimento (%), diâmetro geométrico (μm) umidade residual (%), teor (%), densidades (g/cm^3) e parâmetros de fluidez das formulações	72
Tabela 4. Características aerodinâmicas das formulações de MTK	93
Tabela 5. Resultados de teor do MTK nas formulações DPI após 60 dias de armazenamento em dessecador em temperatura ambiente (média $\pm$ DP; n=3)	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α-CD	Alfa-ciclodextrina
ACI	Do inglês, <i>Andersen Cascade Impactor</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
β-CD	Beta-ciclodextrina
Calu-3	Linhagem celular de adenocarcinoma de pulmão
CD	Ciclodextrina
CFC	Clorofluorcarbono
CI	Corticosteroides inalatórios
CLAE	Cromatografia a líquido de alta eficiência
CysLT1	Receptor de leucotrieno cisteínico do tipo 1
DAD	Detector de arranjo de diodos
d_a	Densidade aparente
d_c	Densidade compactada
Dg	Diâmetro geométrico
DIMEB	Dimetil-metil-beta-ciclodextrina
DMEM	Meio de Eagle modificado de Dulbecco (do inglês, <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio padrão
DPI	Inaladores de pó seco (do inglês, <i>Dry powder inhaler</i>)
DSC	Calorimetria exploratória diferencial (do inglês, <i>differential scanning calorimetry</i>)
DVS	Sorção de vapor dinâmica (do inglês, <i>dynamic vapour sorption</i>)
EC	Eficácia de complexação
ED	Dose emitida recuperada (do inglês, <i>emitted dose recovered</i>)
EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético (do inglês, <i>ethylenediamine tetraacetic acid</i>)
EMA	<i>European Medicine Agency</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPF	Fração de partículas finas

FPS	Fluido pulmonar simulado
γ-CD	Gama ciclodextrina
GRAS	Geralmente reconhecido como seguro (do inglês, <i>generally recognized as safe</i>)
GSD	Desvio padrão geométrico (do inglês, <i>geometric standard deviation</i>)
HBCD	Ciclodextrina altamente ramificada (do inglês, <i>highly branched cyclodextrin</i>)
HFA	Hidrofluoralcano
HPβCD	2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina
IC	Índice de Carr
IFA	Insumo farmacêutico ativo
LABA	Agonistas β 2-adrenérgicos de longa duração
LPP	Partículas porosas de grande porte (do inglês, <i>large porous particles</i>)
LTC4	Leucotrieno cisteínico C4
LTD4	Leucotrieno cisteínico D4
LTE4	Leucotrieno cisteínico E4
MCC	Depuração mucociliar (do inglês, <i>mucociliary clearance</i>)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MTK	Montelukaste
MMAD	Diâmetro aerodinâmico médio de massa (do inglês, <i>mass median aerodynamic diameter</i>)
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio
NLC	Carreador lipídico nanoestruturado (do inglês, <i>nanstructured lipid carrier</i>)
NGI	Do inglês, <i>Next generation impactor</i>
Pao	Pressão máxima de abertura das vias aéreas
PBS	Tampão fosfato salino (do inglês, <i>phosphate buffered saline</i>)
PDRX	Difração de raios X em pó (do inglês, <i>powder x-ray diffraction</i>)
PEG	Polietilenoglicol
Pe	Número de Peclet
pMDI	Inaladores dosimetrados pressurizados (do inglês, <i>pressurized metered-dosed inhaler</i>)
PVDF	Fluoreto de polivinilideno

RH	Razão de Hausner
SABA	Agonistas β 2-adrenérgicos de curta duração
SD	Secagem por pulverização (do inglês, <i>spray drying</i>)
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SLN	Nanopartícula lipídica sólida (do inglês, <i>solid lipid nanoparticle</i>)
SFB	Soro fetal bovino
T_g	Temperatura de transição vítrea
TG	Termogravimetria
Tp	Tampão
UR	Umidade relativa
USP	Farmacopéia Americana (do inglês, <i>United States Pharmacopeia</i>)
V₀	Volume aparente

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1. Sistema respiratório	21
2.2. Mecanismos de deposição pulmonar	23
2.3. Dispositivos inalatórios	25
2.3.1. Nebulizadores	25
2.3.2. Inaladores dosimetrados pressurizados	26
2.3.3. Inaladores tipo pó seco	27
2.3.3.1. Spray drying	28
2.3.3.2. Excipientes	31
2.3.3.2.1. Açúcares	31
2.3.3.2.2. Polímeros	33
2.3.3.2.3. Ciclodextrinas	35
2.3.3.2.4. L-leucina	38
2.3.3.3. Partículas inaláveis de MTK	40
2.3.3.3.1. Sistemas microparticulados	40
2.3.3.3.2. Sistemas nanoparticulados	48
2.4. Avaliação in vitro de formulações DPI	50
3. OBJETIVOS	52
3.1. Objetivo geral	52
3.2. Objetivos específicos	52
4. MATERIAL E MÉTODOS	53
4.1. Material	53
4.2. Métodos	53
4.2.1. Quantificação do MTK por cromatografia a líquido de alta eficiência	53
4.2.2. Estudo de solubilidade	54
4.2.3. Estudo de eficácia de complexação	55
4.2.4. Obtenção das partículas DPI	56
4.2.5. Caracterização das formulações	58
4.2.5.1. Difração de raios X em pó (PDRX)	58
4.2.5.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	58
4.2.5.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	59
4.2.5.4. Umidade residual	59

4.2.5.5. Densidade aparente e compactada.....	59
4.2.5.6. Avaliação das propriedades de fluxo.....	60
4.2.5.7. Sorção dinâmica de vapor.....	60
4.2.5.8. Avaliação do desempenho aerodinâmico <i>in vitro</i>	61
4.2.5.9. Dissolução.....	62
4.2.5.10. Citotoxicidade.....	62
4.2.6. Estabilidade	65
4.2.6. Análise estatística.....	65
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.1. Solubilidade em equilíbrio.....	66
5.2. Perfil de solubilidade de fase.....	68
5.3. Preparo dos pós DPI por SD.....	69
5.4. Difração de raios X em pó.....	73
5.5. Calorimetria exploratória diferencial.....	75
5.6. Termogravimetria.....	78
5.7. Microscopia eletrônica de varredura.....	80
5.8. Densidade.....	86
5.9. Fluidez.....	87
5.10. Sorção dinâmica de vapor.....	87
5.11. Desempenho aerodinâmico <i>in vitro</i>	92
5.12. Dissolução.....	96
5.13. Citotoxicidade.....	98
5.14. Estabilidade	103
6. CONCLUSÃO.....	104
7. PERSPECTIVAS.....	104
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105

1 INTRODUÇÃO

A asma é uma importante doença inflamatória crônica das vias respiratórias, que afeta aproximadamente 300 milhões de pessoas em todo mundo (Gina, 2025). O número de casos tem aumentado em diversos países, representando elevados custos, principalmente em função de seu caráter debilitante (Yuan et al., 2025). A doença é caracterizada pela inflamação e hiperresponsividade das vias aéreas, resultando em broncoconstrição, edema da parede e hipersecreção de muco. Esses mecanismos fisiopatológicos manifestam-se clinicamente por sintomas como dispneia, tosse persistente, sibilância e sensação de aperto no peito (Boboltz; Kumar; Duncan, 2023). Os sintomas podem ser desencadeados por diversos fatores, incluindo infecções virais, exposição a alérgenos, agentes ocupacionais, uso de medicamentos, exercício físico, estresse e poluentes atmosféricos (Chipps et al., 2023).

O tratamento da asma envolve manter o controle dos sintomas e prevenir a sua progressão, evitando a ocorrência de exacerbações, instabilidade clínica, perda acelerada da função pulmonar e efeitos adversos associados à terapia (Gina, 2025; Martinez-Tenopala et al., 2026). Os agentes terapêuticos têm como alvo a broncoconstrição e a inflamação. Assim, a primeira linha no manejo da asma inclui os corticosteroides inalatórios (CI) e os agonistas β_2 -adrenérgicos. Os CI são considerados o padrão-ouro no tratamento da doença, uma vez que são capazes de suprimir múltiplos processos inflamatórios simultaneamente (Singh; Shah; Singh, 2016). Apesar de sua elevada eficácia anti-inflamatória, os CI apresentam ação não específica e estão associados a efeitos adversos relevantes, especialmente em tratamentos de longo prazo, tais como retardo do crescimento em crianças, osteoporose, redução da massa óssea, catarata, glaucoma, supressão adrenal e doenças orofaríngeas (Heffler et al., 2018). Quando o uso isolado de CI não é suficiente para manter o controle dos sintomas, estes podem ser associados a agonistas β_2 -adrenérgicos de longa duração (LABA) (Bateman et al., 2019). Por outro lado, durante exacerbações agudas da asma, agonistas β_2 -adrenérgicos de curta duração (SABA), como o salbutamol, são utilizados para promover o rápido relaxamento da musculatura lisa das vias aéreas (Kittana et al., 2016).

Os antagonistas dos receptores de leucotrienos, como o montelucaste (MTK), zafirlucaste, ritolucaste e verlucaste, são utilizados como terapias adjuvantes de

segunda linha em pacientes com asma não controlada (Sood et al., 2024). Os leucotrienos cisteínicos (LTC_4 , LTD_4 e LTE_4) são moléculas inflamatórias potentes que desempenham papel central na fisiopatologia da asma ao se ligarem aos receptores de leucotrienos, principalmente receptores de leucotrienos cisteínicos tipo 1 (CysLT_1), desencadeando broncoconstrição, hipersecreção de muco, aumento da permeabilidade vascular e recrutamento de eosinófilos. Esses receptores apresentam elevada expressão na musculatura lisa das vias aéreas e em células inflamatórias, incluindo eosinófilos, linfócitos e macrófagos e estão extensamente distribuídos nos tecidos brônquicos e alveolares de pacientes com asma (Figuerola et al., 2001; Organon, 2025; Yamamoto et al., 2019).

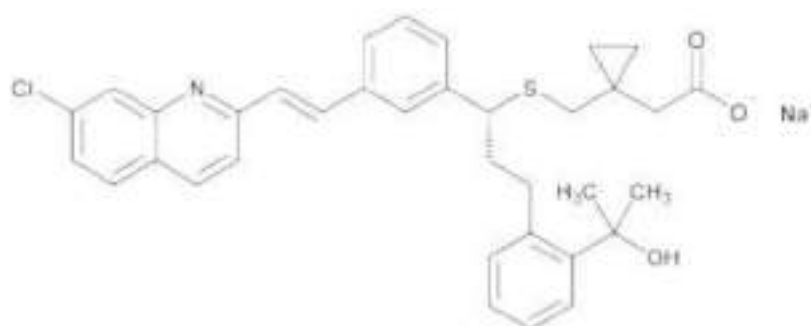


Figura 1. Fórmula estrutural do MTK. Adaptado de USP-NF (2025).

O MTK (Figura 1) é indicado para pacientes adultos e pediátricos a partir de dois anos de idade, com eficácia comprovada na profilaxia e no tratamento crônico da asma, incluindo a prevenção de sintomas diurnos e noturnos, a broncoconstrição induzida por exercício, a melhora da função pulmonar e o manejo de pacientes com asma sensível à aspirina, além do alívio de sintomas de rinite alérgica. Pode ser utilizado em monoterapia ou em associação a outros fármacos, especialmente CI, apresentando efeito aditivo no controle da asma ou possibilitando a redução da dose de corticosteroides necessária para manter a estabilidade clínica (Organon, 2025).

O MTK possui fórmula molecular $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{ClNO}_3\text{S}$ e massa molar de 586,18 g/mol, sendo um composto ácido altamente lipofílico com $\log P$ estimado em 8,79 (ADMETTM predictor) (Okumu; DiMasos; Löbenberg, 2008). Apresenta solubilidade dependente de pH devido a dois grupos ionizáveis ($\text{pK}_{a1} = 2,7$ e $\text{pK}_{a2} = 5,8$) (Thibert et al., 1996). Em condições ácidas, tanto o grupamento quinolínico quanto o ácido carboxílico permanecem protonados, resultando em baixa solubilidade aquosa devido

à natureza predominantemente hidrofóbica do fármaco. Na região zwitteriônica (entre pH 2,7 e 5,8), o grupo ácido carboxílico se desprotona enquanto o anel quinolínico permanece protonado, formando espécies zwitteriônicas com solubilidade mínima. Acima do pH neutro (pH > 5,8), o MTK torna-se completamente desprotonado e carregado negativamente, aumentando sua solubilidade aquosa (Thibert et al., 1996). Na prática, o ácido livre do MTK é considerado pouco solúvel, com valores reportados de 0,2–0,5 µg/mL em água a 25 °C (Thibert et al., 1996).

Pela combinação de baixa solubilidade e alta permeabilidade (5×10^{-6} cm/s) (Varma et al., 2017), o MTK classifica-se como fármaco classe II no Sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) (Sawatdee et al., 2020). Considerando que o SCB se restringe ao trato gastrointestinal, foi proposta uma extensão voltada à via pulmonar, que leva em consideração aspectos específicos da fisiologia dos pulmões, bem como a deposição de partículas e os processos subsequentes de dissolução e absorção (Eixarch et al., 2010). Entretanto, sua aplicação ainda é restrita devido a limitações metodológicas, principalmente relacionadas à ausência de métodos preditivos e padronizados para a caracterização de produtos inaláveis (Forbes et al., 2025).

Para substâncias pouco solúveis, formulações farmacêuticas frequentemente utilizam formas salinas ou sistemas avançados de liberação para aprimorar a biodisponibilidade. No caso do MTK, seu sal sódico, a forma comercialmente disponível do insumo farmacêutico ativo (IFA), apresenta aumento significativo na solubilidade (100–1000 µg/mL) (Barbosa; Almeida Paz; Braga, 2016). O MTK sódico apresenta-se como pó branco a amarelado, higroscópico, oticamente ativo e solúvel em álcool, água e cloreto de metileno (USP, 2025). O IFA frequentemente apresenta natureza amorfa (Park et al., 2022).

Atualmente, o MTK é comercializado na forma de grânulos e comprimidos mastigáveis ou revestidos para tratamento da doença pela via oral. A dose diária recomendada é de 10 mg ao dia para adultos e 5 mg para pacientes pediátricos de 6 a 14 anos. No entanto, o MTK apresenta considerável variabilidade farmacocinética (Kittana et al., 2016; Mougey et al., 2009), caracterizada por uma biodisponibilidade oral moderada (60-70%) e associada a significativo metabolismo de primeira passagem, curto tempo de meia-vida e extensa distribuição em compartimentos periféricos (Mougey et al., 2009; Patel; Rashid; Ahsan, 2017), além de efeitos adversos significativos, incluindo eventos psiquiátricos (pesadelos, laterações

comportamentais e pensamentos suicidas) (Organon, 2025).

A análise do banco de dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) evidencia que o mercado brasileiro de MTK é fortemente concentrado em formas farmacêuticas sólidas orais, especialmente comprimidos revestidos e mastigáveis, que representam, aproximadamente 93%, dos registros ativos. O medicamento de referência associado a essas apresentações é o Singulair®, a partir do qual se observa ampla disseminação de medicamentos genéricos e similares. Em contraste, uma forma farmacêutica alternativa, como granulado oral, apresenta participação reduzida e é direcionada principalmente ao público pediátrico.

Quadro 1. Produtos MTK registrados no Brasil.

Forma farmacêutica	Dose	Medicamento referência	Nº de registros ativos
Granulado oral	4 mg	Montelair® (Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A.)	5
Comprimidos mastigáveis	4 mg	Singulair® (Organon Farmacêutica Ltda)	17
	5 mg		17
Comprimidos revestidos	10 mg		19

A administração pela via inalatória permite o direcionamento de fármacos para os pulmões tanto para ação local quanto sistêmica, por uma via não invasiva (Ambrus et al., 2018). A natureza do efeito é determinada pela velocidade e extensão da absorção pulmonar, bem como do tempo de residência do fármaco nos pulmões e dos mecanismos de depuração envolvidos (Hastedt et al., 2016). No caso de fármacos de ação local, é fundamental maximizar as concentrações pulmonares livres, enquanto se minimiza a exposição sistêmica, a fim de otimizar a eficácia terapêutica e a segurança. Nesse contexto, a via inalatória representa uma estratégia particularmente adequada para a administração de fármacos de baixa biodisponibilidade sistêmica, como o MTK. A administração pulmonar possibilita início de ação rápido no controle das doenças respiratórias (Zhang et al., 2025), além de evitar o metabolismo hepático de primeira passagem e reduzir a ocorrência de efeitos adversos sistêmicos (ElKasabgy; Adel; Elmeligy, 2020; Floroiu et al., 2024). Comparativamente à via oral, a administração inalatória pode ainda permitir redução de dose (Suzuki et al., 2018).

Estudos farmacodinâmicos demonstraram que o MTK administrado por via inalatória apresenta eficácia terapêutica comparável à via oral, mesmo em doses aproximadamente dez vezes menores (Abdel-Gawad et al., 2020).

Apesar de o MTK representar um candidato promissor para administração inalatória, até o momento não há produtos comercializados, e apenas um número limitado de estudos avaliou sua eficácia e segurança por essa via. Em estudo conduzido por Patel e colaboradores (2017), a biodisponibilidade do MTK administrado por via intratraqueal em ratos foi superior a 80%, enquanto a via oral apresentou cerca de 25%, resultando em aumento aproximado de três vezes na área sob a curva (ASC_{0-12}) para a formulação inalada. Além disso, a administração pulmonar promoveu maior concentração plasmática máxima e meia-vida de eliminação mais prolongada em relação à via oral, com parâmetros próximos aos observados após administração intravenosa. Esses achados indicam que a via inalatória contorna o metabolismo de primeira passagem hepática, permitindo potencial redução de dose e possível ampliação do intervalo entre administrações (Patel; Rashid; Ahsan, 2017).

No contexto clínico, um ensaio de fase I demonstrou que pacientes com asma crônica que receberam MTK como pó seco para inalação (25–1000 µg/dose) apresentaram broncodilatação rápida e sustentada em comparação ao placebo (Philip et al., 2010). O início de ação foi dependente da dose, ocorrendo em aproximadamente 2 horas para a menor dose eficaz (100 µg) e em 20 minutos para a dose de 1000 µg, com duração do efeito de até 24 horas e tolerabilidade semelhante à do placebo, indicando eficácia e segurança local da administração do fármaco pela via inalatória.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Sistema respiratório

A compreensão da complexidade estrutural sistema respiratório humano é essencial para reconhecer seu ambiente singular e altamente eficiente tanto para a administração local quanto sistêmica de fármacos, oferecendo vantagens relevantes em relação às vias oral e intravenosa. Os pulmões apresentam uma grande área superficial: com cerca de 300-400 milhões de células epiteliais que proporcionam uma área estimada de até 100 m², principalmente na região alveolar (Wang et al., 2024). Além da extensa vascularização e elevado suprimento sanguíneo, o tecido pulmonar também apresenta menor atividade enzimática quando comparado ao trato gastrointestinal e ao fígado, o que o torna um sítio favorável para a administração de medicamentos (Wang et al., 2024).

No caso específico do MTK, o fármaco é amplamente metabolizado no fígado, sendo apenas uma pequena fração da dose administrada por via oral excretada inalterada pela bile (Barbosa; Almeida Paz; Braga, 2016; Cheng, 1996). Dados experimentais demonstram que aproximadamente 48% do MTK foi metabolizado após 3 horas de incubação com frações S9 de fígado de rato, enquanto apenas cerca de 12% do fármaco sofreu metabolização em homogenatos pulmonares nas mesmas condições. Essa diferença na capacidade metabólica é atribuída principalmente à expressão significativamente reduzida de enzimas do citocromo P450 nos pulmões, em especial das isoformas CYP3A4 e da subfamília CYP2C (Patel, Rashid, Ahsan, 2017).

O epitélio das vias aéreas constitui a principal barreira à absorção sistêmica e possui características estruturais diferentes ao longo do trato respiratório (Ganesan; Comstock; Sajjan, 2013) (Figura 2).

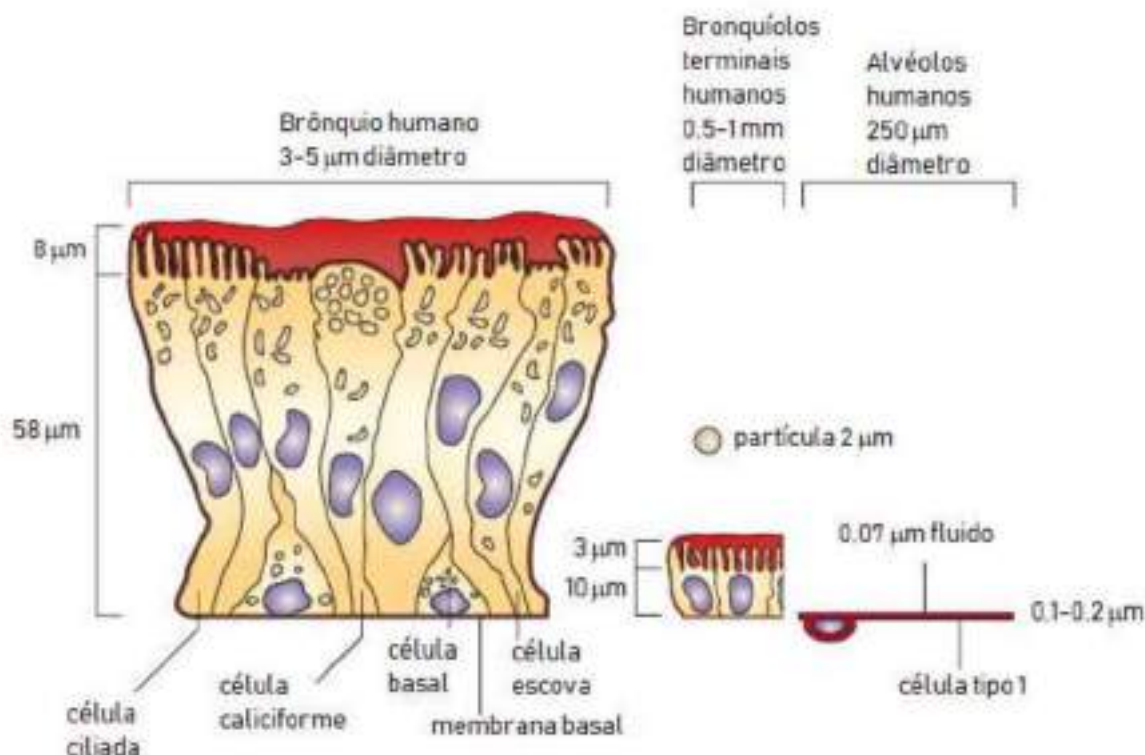


Figura 2. Epitélio pulmonar. Adaptado de PATTON; BYRON (2007).

Na região brônquica, o epitélio apresenta-se como uma camada colunar pseudoestratificada (50-60 µm), constituído por células basais, caliciformes e ciliadas. O fluido de revestimento pulmonar, presente em volume limitado (10 a 30 mL), é constituído por duas camadas distintas: uma camada sol periciliar e uma camada superior de gel mucoso, rica em glicoproteínas (mucinas), proteínas, lipídios, sais inorgânicos e água (Guo et al., 2021). A camada de gel mucoso, com espessura aproximada de 8 a 15 µm, atua como barreira física e química, restringindo a difusão de substâncias inaladas (Patton; Byron, 2007). Em conjunto, o epitélio ciliado das vias aéreas e o muco sobrejacente formam o sistema de depuração mucociliar (*mucociliary clearance*, MCC), também conhecido como “escada mucociliar”, um importante mecanismo de defesa inato. Nesse sistema, o muco aprisiona partículas e patógenos inalados, que são subsequentemente transportados para fora dos pulmões pelo batimento coordenado dos cílios epiteliais (Huck et al., 2022). Fármacos solúveis que se dissolvem mais rapidamente do que são removidos pelo MCC apresentam maior propensão à absorção pulmonar e à entrada na circulação sistêmica. Em contrapartida, partículas de fármacos de dissolução lenta depositadas nas vias aéreas condutoras são removidas pelo mecanismo de depuração mucociliar, sendo

transportadas das regiões centrais dos pulmões em direção à faringe, onde podem ser deglutidas. Partículas insolúveis com diâmetro geométrico superior a 6 μm são preferencialmente eliminadas por esse mecanismo (Wang et al, 2014).

Na região dos alvéolos, porém, o epitélio absorvente torna-se mais fino, podendo chegar a uma espessura de 0,1 μm . Esse epitélio é formado por dois tipos celulares: as células epiteliais alveolares tipo 1, que são mais largas e finas e correspondem a 90% da superfície alveolar, e as células tipo 2, capazes de gerar células tipo 1 e responsáveis pela síntese e secreção de surfactantes pulmonares, que formam o filme na interface líquido-ar (Liu et al., 2020). À medida que as vias aéreas se estreitam, o fluido de revestimento pulmonar torna-se progressivamente mais fino. Na região alveolar, a camada de muco está ausente, sendo substituída por um filme de surfactante composto por fosfolipídios, colesterol e proteínas (Guo et al., 2021), o qual, além de permitir a troca gasosa eficiente, favorece a difusão e a absorção de fármacos inalados para a circulação sistêmica (Labiris; Dolovich, 2003).

A depuração de partículas também pode ocorrer nos alvéolos, onde partículas insolúveis depositadas são fagocitadas por macrófagos alveolares, que constituem o principal mecanismo de depuração não absorptiva nas regiões periféricas não ciliadas (Borghardt; Kloft; Sharma, 2018). Esses macrófagos reconhecem e eliminam preferencialmente partículas com diâmetro entre 1 e 5 μm , faixa que inclui a maioria dos microrganismos patogênicos e partículas ambientais potencialmente nocivas ao sistema respiratório.

2.2. Mecanismos de deposição pulmonar

Após a deposição pulmonar, a biodisponibilidade do fármaco é influenciada por sua solubilidade, pela taxa de dissolução no fluido de revestimento pulmonar e pela permeabilidade através do epitélio pulmonar (Floroiu et al., 2024). Entretanto, o alcance da superfície epitelial depende do comportamento aerodinâmico das partículas inaladas ao longo das vias aéreas. O destino de um fármaco inalado é determinado por dois atributos fundamentais do produto: a massa efetivamente entregue e sua distribuição regional nos pulmões. Assim, a compreensão dos mecanismos que governam a deposição de aerossóis farmacêuticos no trato respiratório é essencial para a otimização da terapia inalatória e para o aumento da eficácia no tratamento de doenças pulmonares.

Três mecanismos fundamentais governam o destino das partículas inaladas no trato respiratório: impactação inercial, sedimentação gravitacional e difusão (Figura 3) (Cheng et al., 2014).

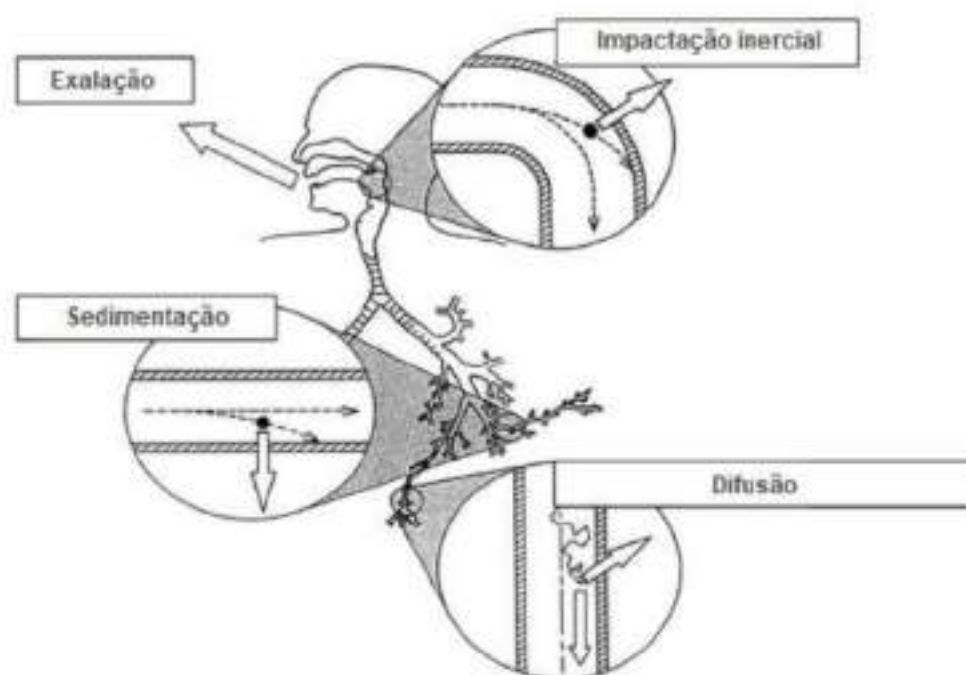


Figura 3. Principais mecanismos de deposição das partículas no trato respiratório. Adaptado de Demoly et al. (2014).

A impactação ocorre quando partículas, em razão de seu momento inercial, não conseguem acompanhar as mudanças na direção do fluxo aéreo e colidem com as paredes das vias respiratórias. Esse mecanismo afeta predominantemente partículas maiores ($> 5 \mu\text{m}$) inaladas a altas taxas de fluxo, que tendem a se depositar nas vias aéreas superiores, especialmente nas regiões extratorácica e orofaríngea (Chalvatzaki; Chatoutsidou; Lazaridis, 2020; Williams; Carvalho; Peters, 2011). Essas partículas são frequentemente deglutidas, o que pode reduzir a eficácia pulmonar do tratamento e resultar em efeitos locais ou sistêmicos indesejados (Demoly et al., 2014; Dey; Bock; Garcia, 2025). Em contrapartida, partículas que não se depositam, particularmente aquelas com diâmetro inferior a $1 \mu\text{m}$, podem ser exaladas devido à sua baixa velocidade de sedimentação (Demoly et al., 2014; Shekunov et al., 2007; Usmani; Biddiscombe; Barnes, 2005).

Partículas com tamanho entre 1 e $5 \mu\text{m}$ depositam-se predominantemente por sedimentação gravitacional (Dhoble et al., 2024). À medida que a velocidade do fluxo

de ar diminui, o tempo de residência das partículas nas vias aéreas aumenta, favorecendo sua deposição gradual durante o transporte ao longo do trato respiratório. Esse mecanismo ocorre principalmente nas vias aéreas mais estreitas, como brônquios e bronquíolos, bem como nos espaços alveolares (ElKasabgy; Adel; Elmeligy, 2020).

A difusão, ou movimento browniano, torna-se relevante para partículas ultrafinas ($< 1 \mu\text{m}$), que apresentam movimento aleatório resultante de colisões moleculares (Williams; Carvalho; Peters, 2011). Esse é o principal mecanismo de deposição dessas partículas que efetivamente alcançaram as regiões profundas do pulmão (alvéolos), sem serem exaladas nas vias aéreas superiores. A difusão envolve o deslocamento das partículas de regiões com maior concentração no ar em direção às paredes das vias aéreas, onde a concentração é menor (ElKasabgy; Adel; Elmeligy, 2020).

2.3. Dispositivos inalatórios

A maioria dos fármacos inaláveis requer dispositivos específicos para a administração da dose no sítio de ação. Nebulizadores, inaladores dosimetrados pressurizados (*pressurized metered-dose inhalers*, pMDIs) e inaladores do tipo pó seco (*dry powder inhalers*, DPIs) são os principais tipos de dispositivos utilizados na terapia inalatória. Esses sistemas administram os medicamentos na forma de aerossóis, os quais consistem em gotículas líquidas ou partículas sólidas suspensas em um meio gasoso (Ye; Ma; Zhu, 2022). Cada tipo de dispositivo apresenta vantagens e limitações específicas, e sua seleção deve ser individualizada, considerando fatores relacionados ao paciente, ao medicamento e ao próprio dispositivo (custos, manutenção, técnica de uso).

2.3.1. Nebulizadores

Os nebulizadores podem ser de jato, *mesh* ou nebulizadores ultrassônicos e são dispositivos que administram o fármaco na forma líquida como uma névoa. Possibilitam a nebulização de misturas de medicamentos, o uso com respiração em volume corrente e adequados a pacientes de qualquer idade ou mesmo inconscientes (Sorino et al., 2020). Apesar de seu uso difundido em ambientes de emergência e

durante internações hospitalares, especialmente em crises asmáticas graves, os nebulizadores apresentam algumas limitações, como o tempo prolongado necessário para a aerosolização, baixa portabilidade, dependência de fonte externa de energia, custo relativamente elevado e a necessidade de desmontagem e limpeza frequentes após cada utilização (Ibrahim; Verma; Garcia-Contreras, 2015; Shahin; Chablani, 2023). Muraki e colaboradores (2009) investigaram o efeito do MTK sódico nebulizado sobre a hiperresponsividade das vias aéreas em um modelo animal de asma, utilizando a broncoconstrição induzida por leucotrienos cisteínicos (LTC_4 e LTD_4) como estímulo. A resposta das vias aéreas foi avaliada por alterações na pressão máxima de abertura das vias aéreas (Pao) em animais previamente tratados com inalação de MTK (10 mg/mL) ou solução salina por 15 minutos. Nos animais controle tratados com salina, a Pao aumentou rapidamente após a inalação dos leucotrienos, atingindo valores máximos entre 30 segundos e 5 minutos. Em contraste, o MTK nebulizado suprimiu de forma significativa os aumentos de Pao induzidos pelos leucotrienos, reduzindo as respostas a níveis basais. O pré-tratamento com MTK inalado inibiu de maneira eficaz os picos de Pao induzidos tanto pela administração inalatória quanto intravenosa de LTC_4 e LTD_4 (Muraki et al., 2009).

2.3.2. Inaladores dosimetrados pressurizados

Os inaladores pressurizados são os dispositivos inalatórios mais utilizados (Wang et al., 2024). Estes sistemas pulverizam suspensões ou soluções do fármaco utilizando um gás propelente para administração diretamente nos pulmões. Eles permitem a administração rápida, portátil e consistentes de medicamentos, especialmente quando comparado aos nebulizadores (Anderson, 2018). No entanto, a dificuldade de coordenação entre a atuação do dispositivo e a inalação pelo paciente muitas vezes limita sua utilização (Shahin; Chablani, 2023). Novos modelos de inaladores pressurizados acionados pela respiração, como o Easibreathe®, são ativados automaticamente quando o dispositivo detecta respiração do paciente e emite a dose em resposta (Ibrahim; Verma; Garcia-Contreras, 2015).

Na década de 1950, os pMDI continham gases clorofluorcarbonos (CFC) como propelentes em sua composição. Com o tempo, principalmente por questões ambientais, os dispositivos contendo CFC foram substituídos pelos seus congêneres com propelente hidrofluoralcano (HFA), que é um gás inerte, eficaz, atóxico e seguro.

O HFA tem rápida absorção e eliminação pulmonar e não está associado à depleção da camada de ozônio. A utilização de inaladores de alta pressão com HFA, no entanto, não é adequada para todo tipo de fármacos, particularmente produtos biológicos, devido a sua faixa de dose geralmente pequena em função da atuação e instabilidade físico-química (congelamento ou precipitação) (Moon et al., 2019; Wang et al., 2024). Alguns gases propelentes como HFA-134 e HFA-227 também não são adequados para fármacos pouco solúveis, causando bloqueio do orifício de dispersão, falta de homogeneidade da suspensão, com aglomeração ou sedimentação (Moon et al., 2019). Utilizando um delineamento fatorial, Sawatdee e colaboradores (2020) propuseram 22 diferentes formulações de pMDI para a administração inalatória de MTK, como alternativa à via oral. As formulações continham MTK como princípio ativo, propelente HFA-134a ou uma mistura de HFA-134a/HFA-227, além da incorporação de etanol como co-solvente e polietilenoglicol (PEG) 400 como solubilizante. Oito formulações apresentaram propriedades aerossóis favoráveis, atendendo ao critério de variação de dose, na faixa entre 80 e 120% do valor declarado (15 µg de MTK por inalação) (Sawatdee et al., 2020).

2.3.3. Inaladores tipo pó seco

Como alternativa aos pMDI, os DPI foram introduzidos na década de 1960. Os DPI são dispositivos portáteis acionados pela inalação, que não requerem o uso de propelentes e que administram o medicamento na forma de pó seco através da aerolização induzida por cisalhamento (Abdel-Gawad et al., 2020). Esses dispositivos são geralmente preferidos pois não dependem da coordenação entre a atuação e respiração. Porém, a dose administrada é altamente depende da taxa de fluxo inspiratório do paciente, podendo, algumas vezes, apresentar variabilidade (Sorino et al., 2020).

Os pós secos para inalação podem ser divididos em duas categoriais principais: sistemas com carreadores e sistemas isentos de carreadores (Shetty et al., 2020). Nas formulações convencionais baseadas em carreadores, as partículas de fármaco micronizado (1 a 5 µm) são misturadas com um excipiente carreador de maior diâmetro (50 a 200 µm), geralmente a lactose (Elsayed; Shalash, 2018). O carreador melhora a fluidez dos pós, facilita a liberação do fármaco a partir do dispositivo e melhorando a deposição pulmonar (Scherließ et al., 2022). A adição de um carreador

também aumenta o volume de pó a ser administrado, minimizando a variabilidade da dose inalada (Faulhammer et al., 2015). Em contraste, os sistemas isentos de carreador são constituídos exclusivamente por partículas de fármaco ou formulações processadas de fármaco-excipientes, projetados para superar limitações das formulações convencionais, como baixa uniformidade de mistura, coesividade excessiva e capacidade de dosagem limitada (Luna Lazo et al., 2023).

Por meio de técnicas de engenharia de partículas, é possível produzir partículas com propriedades aerodinâmicas otimizadas, favorecendo a deposição pulmonar (Ambrus et al., 2018). Os métodos de formulação de DPI incluem secagem por pulverização (*spray drying*, SD) (Abdel-Gawad et al., 2020; Faramarzi et al., 2015; Moussa et al., 2015; Panchal et al., 2012), secagem por pulverização/congelamento (*spray-freeze drying*) (Aziz et al., 2023), eletropulverização (*electrospraying*) (Yaqoubi et al., 2020), método de evaporação de solvente (Patel et al., 2014, Patel et al., 2017, Patel; Rashid; Ahsan, 2017, Sathishkumar; Kumaresan, 2017), micronização a jato (Liu et al., 2025; Moon et al., 2019) e tecnologia de fluidos supercríticos (Ma et al., 2023).

2.3.3.1. *Spray drying*

Entre as técnicas de engenharia de partículas empregadas, SD é amplamente utilizada na produção de sistemas particulados para administração inalatória de fármacos (Bahrainian et al., 2021; Lechanteur et al., 2023; Ógáin et al., 2011; Sarcinelli et al., 2021; Scherließ et al., 2022). Seu uso é difundido devido à sua capacidade de produzir partículas inaláveis com tamanho, morfologia e propriedades controladas, em um processo único, reprodutível e escalonável (Ziaee et al., 2019). Comparado a outros métodos preparativos como a micronização, o SD permite controle mais preciso das propriedades físico-químicas das partículas, melhorando o desempenho aerodinâmico e a deposição pulmonar eficiente (Adhikari; Gordon; Das, 2022).

No processo de SD (Figura 4), um líquido é pulverizado em uma câmara aquecida, na qual a evaporação do solvente promove a formação de partículas sólidas. Após as etapas de pulverização e secagem na câmara do *spray dryer*, um ciclone é comumente utilizado para coletar as partículas. Depois de sair da secagem, o fluxo de ar que transporta as partículas é direcionado tangencialmente para o topo do ciclone, resultando em um vórtice de ar devido ao movimento rotacional rápido. Por

força centrífuga, as partículas são expelidas para as paredes do dispositivo e separadas da corrente de ar, que é então conduzida para a exaustão (Cal; Sollohub, 2010; Paudel et al., 2013).

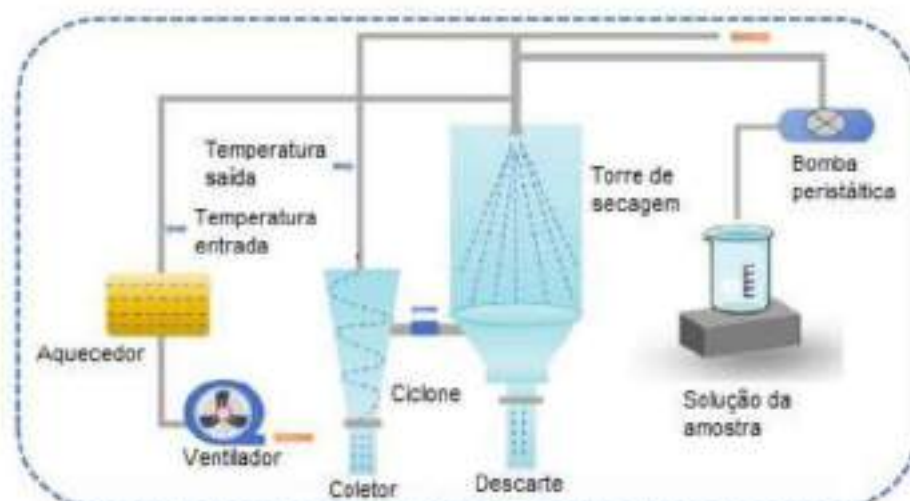


Figura 4. Representação esquemática do equipamento de secagem por pulverização (*spray dryer*). Adaptado de Chen et al. (2025).

A engenharia das partículas produzidas por SD envolve o entendimento e controle dos mecanismos relacionados à sua formação, desde a pulverização das gotículas e difusão molecular até a evaporação do solvente e precipitação/cristalização do soluto (Almansour et al., 2020; Vehring, 2008). Estudos demonstram que a composição, viscosidade e concentração do material a ser pulverizado, a velocidade de atomização da solução, a temperatura e vazão do ar de secagem são alguns dos parâmetros críticos do processo que podem impactar no rendimento e qualidade de formulações obtidas por SD (Almansour et al., 2022; Dufour et al., 2015; Paudel et al., 2013). Os parâmetros de saída, como a temperatura do ar de exaustão, o tamanho, forma e distribuição das gotículas durante a pulverização e a eficácia da secagem são dependentes de relações mútuas com as configurações de ajuste do equipamento (Cal; Sollohub, 2010).

Os equipamentos de SD possuem variadas configurações, incluindo, por exemplo, variações do bico de pulverização (rotatório, pressão ou hidráulico, ultrassônico, multi-fluidos ou pneumático), câmaras de secagem com diferentes desenhos e dimensões, direção do fluxo de ar de secagem (co-corrente, contra-corrente, misto) e tipo de gás de secagem (ar comprimido, nitrogênio) (Cal; Sollohub,

2010; Davis; Walker, 2018; Ziaee et al., 2019).

Moussa e colaboradores (2015) demonstraram que o método de SD constitui uma plataforma promissora para o desenvolvimento de partículas de MTK para administração inalatória. Os autores avaliaram a influência de três excipientes (manitol, leucina e ovoalbumina) no desempenho de formulações de liberação rápida. O processo de SD foi realizado sob condições controladas e todas as formulações produziram partículas com tamanho inferior a 5 µm. Entre os excipientes avaliados, a leucina apresentou o desempenho mais favorável, resultando em pós com excelentes propriedades de escoamento. Em contrapartida, a ovalbumina afetou negativamente o processamento, promovendo a adesão do pó às superfícies do equipamento, reduzindo o rendimento para 50,69% e induzindo a aglomeração de partículas (Moussa et al., 2015). Achados semelhantes foram relatados por Abdel-Gawad e colaboradores (2020), que incorporaram MTK em aglomerados inaláveis (*soft agglomerates*) preparados por SD. Manitol e ovalbumina foram utilizados como excipientes formadores de partículas, enquanto a lecitina atuou como agente aglutinante. A L-leucina foi incluída como auxiliar de dispersão para melhorar o desempenho de aerossolização. Os parâmetros de SD adotados resultaram em altos rendimentos de produção e eficiência de associação do fármaco superiores a 94%, indicando perda mínima do fármaco durante o processamento. As formulações otimizadas apresentaram micropartículas pequenas e aglomeradas, que se desagregavam facilmente em partículas individuais, alcançando uma fração respirável superior a 54% (Abdel-Gawad et al., 2020). Faramarzi e colaboradores (2015) empregaram a tecnologia de SD para produzir micropartículas de MKT livres de carreadores, com propriedades aerodinâmicas otimizadas para deposição nas regiões profundas do pulmão. Uma avaliação sistemática das variáveis de formulação revelou que a composição do solvente influenciou a morfologia das partículas e o comportamento de aerossolização. A formulação ótima utilizou uma proporção de etanol:água de 2:1, gerando micropartículas lisas e com mínima agregação, em contraste com formulações baseadas exclusivamente em etanol, que produziram partículas agregadas e com menor potencial de deposição (Faramarzi et al., 2015).

A técnica de SD também pode ser utilizada para a complexação de fármacos com ciclodextrinas (Cui et al., 2020; Pongsamart et al., 2022; Ramezani et al., 2017).

2.3.3.2. Excipientes

Embora as propriedades físico-químicas dos pós possam ser moduladas pela engenharia de partículas, a produção de formulações de DPI com desempenho aerodinâmico adequado ainda representa um desafio significativo. Muitas formulações de DPI combinam o IFA com excipientes selecionados para gerar partículas processadas que favorecem a entrega pelo dispositivo e a deposição pulmonar eficiente (Healy et al., 2014). Os excipientes são comumente incorporados em formulações DPI para modificar propriedades do pó, aprimorar a estabilidade físico-química e ajustar o perfil farmacocinético e farmacodinâmico do fármaco (Weers; Miller, 2015). Esse aspecto é particularmente crítico para o MTK, um fármaco higroscópico cuja concentração na formulação influencia diretamente o comportamento do pó (Abdel-Gawad et al., 2020). Estudos prévios de SD utilizando o IFA puro revelaram que os pós de MKT exibiram baixa estabilidade física e forte tendência à aglomeração irreversível após o processamento (Abdel-Gawad et al., 2020; Moussa et al., 2015). Assim, a seleção de excipientes é essencial para garantir desempenho aerossol consistente e eficácia terapêutica em formulações inalatórias de MTK. O impacto potencial de um excipiente na qualidade do produto depende tanto de suas propriedades intrínsecas quanto da concentração empregada.

Do ponto de vista regulatório, excipientes para via pulmonar devem preferencialmente possuir histórico consolidado de uso e perfil de segurança caracterizado (EMA, 2025). Nesse contexto, a lactose é atualmente o único excipiente listado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) na lista de ingredientes inativos para via inalatória (He et al., 2025), utilizado principalmente como carreador em produtos comerciais de DPI. O uso de excipientes alternativos ou não tradicionais demandam avaliações adicionais toxicológicas e de segurança para comprovar sua adequação à inalação.

2.3.3.2.1. Açúcares

Os açúcares desempenham um papel central em formulações para inalação, atuando principalmente como diluentes e agentes promotores de fluxo, possibilitando assim a dosagem precisa e a reprodutibilidade de dose de pequenas quantidades de fármaco micronizado. Além disso, podem atuar como excipientes estabilizantes em pós obtidos por SD para inalação (Fernandes et al., 2022; Zillen et al., 2021). Entre os

diversos excipientes à base de açúcares, a lactose é um dissacarídeo composto por glicose e galactose e constitui o carreador mais utilizado em formulações DPI, apresentando perfil de segurança bem estabelecido, ampla disponibilidade comercial e elevada compatibilidade com fármacos de baixo peso molecular (Mahajan; Gundare, 2014). Na indústria farmacêutica, a lactose é comumente produzida em processos como SD, moagem ou peneiramento (Lee et al., 2018), estando atualmente disponível no mercado uma ampla variedade de graus de lactose para inalação, com propriedades físico-químicas distintas.

A lactose é empregada principalmente em formulações inalatórias como diluente e agente promotor de fluxo. Utilizando metodologia de superfície de resposta, Mahajan e Gundare (2014) investigaram o efeito da concentração do excipiente (0,5–1,5%) nas propriedades de escoamento de microesferas de MTK produzidas por SD, observando que concentrações mais elevadas de lactose melhoraram predominantemente a fluidez do pó (Mahajan; Gundare, 2014). A lactose processada por SD também tem sido investigada como matriz microparticulada para a administração pulmonar de micro (Sathishkumar; Kumaresan, 2017) e nanopartículas (Ullah et al., 2022) de MTK.

Apesar de seu uso consolidado como excipiente em formulações DPI, a aplicação da lactose como estabilizante, particularmente em pós inaláveis obtidos por SD, é limitada. Isso se deve ao fato de que ela geralmente forma sólidos amorfs após o processamento, os quais apresentam elevada higroscopicidade e maior coesividade (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2021; Hebbinck et al., 2021). Além disso, a lactose é um açúcar redutor e pode participar de reações de Maillard envolvendo o grupo aldeído do açúcar e grupos amino de substâncias coformuladas, o que pode comprometer a estabilidade do produto (Gholizadeh-Hashjin et al., 2024).

O manitol tem se destacado como um excipiente particularmente atrativo para formulações DPI devido às suas propriedades tecnológicas favoráveis durante o processamento. Sua natureza não redutora e sua relativamente baixa higroscopicidade contribuem para uma maior estabilidade físico-química dos pós, minimizando a aglomeração induzida por umidade e vias de degradação química (Rahimpour; Kouhsoltani; Hamishehkar, 2014). Patil-Gadhe e colaboradores (2014) propuseram o uso de 3% de manitol como crioprotetor e carreador para DPI de MTK preparado por liofilização (Patil-Gadhe et al., 2014). Além disso, o manitol apresenta boa estabilidade térmica e tendência à cristalização, o que melhora a fluidez do pó e

reduz a adesividade durante o processamento. Pós de MTK contendo maiores teores de manitol têm demonstrado, de forma consistente, aumento nos rendimentos de produção por SD, superiores a 80%, enquanto sistemas baseados em outros diluentes (como a ovalbumina, por exemplo) apresentam menores rendimentos devido à maior adesão e aglomeração de partículas durante o processamento (Abdel-Gawad et al., 2020; Moussa et al., 2015).

Embora o manitol seja geralmente reconhecido como seguro (*generally recognized as safe*, GRAS), é importante destacar que ele é administrado clinicamente em doses cumulativas de até 635 mg durante testes de provocação brônquica osmótica utilizados para avaliar a hiper-responsividade brônquica, uma característica marcante da asma (Fröhlich, 2025; Zillen et al., 2021). Embora tais doses sejam substancialmente superiores às tipicamente administradas por formulações DPI, excipientes capazes de gerar um ambiente hiperosmolar nas vias aéreas podem, teoricamente, exacerbar a reatividade brônquica quando utilizados em níveis elevados ou em administração repetida, devendo, portanto, ser cuidadosamente considerados no desenvolvimento de formulações (Zillen et al., 2021).

2.3.3.2.2. Polímeros

Tanto polímeros naturais quanto sintéticos podem ser empregados na produção de formulações DPI, oferecendo grande versatilidade devido à sua diversidade estrutural e à presença de múltiplos grupos funcionais que podem ser ajustados para alcançar propriedades físico-químicas bem definidas. A citotoxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade das partículas poliméricas formuladas podem ser moduladas por meio do controle de parâmetros como carga superficial, tamanho e morfologia das partículas, hidrofobicidade, perfil de degradação e concentração do polímero (Yue et al., 2023). Em conjunto, essas características influenciam de forma crítica a biodistribuição das partículas, a cinética de liberação do fármaco e, consequentemente, o desempenho terapêutico global dos sistemas inaláveis (Guo et al., 2021).

Os polímeros naturais comumente investigados para administração pulmonar incluem polissacarídeos (como dextrana, alginato, ácido hialurônico e quitosana), bem como proteínas (incluindo gelatina, colágeno e albumina). Embora esses materiais sejam, em geral, biodegradáveis e biocompatíveis, sua aplicação farmacêutica pode

ser limitada por desafios relacionados à extração, purificação, produção em larga escala, variabilidade entre lotes e potencial imunogenicidade (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2021; Hebbinck et al., 2021).

Entre os polissacarídeos naturais, a quitosana é um dos polímeros mais amplamente estudados para aplicações inalatórias, devido à sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade favoráveis, além de suas pronunciadas propriedades mucoadesivas em pH fisiológico (Zhang et al., 2024). Panchal e colaboradores (2012) avaliaram a viabilidade do uso de quitosana em diferentes razões polímero:fármaco para a produção de micropartículas inaláveis de MTK por SD, utilizando glutaraldeído como agente de reticulação. As microesferas obtidas apresentaram morfologia esférica, superfícies lisas e distribuição de tamanho relativamente estreita, com diâmetros médios variando entre 7 e 12 μm . Foram alcançadas eficiências de encapsulação entre 78% e 86%, indicando incorporação eficaz do fármaco na matriz polimérica. Além disso, o estudo identificou uma correlação positiva entre a concentração de quitosana e propriedades como tamanho de partícula, mucoadesão e eficiência de encapsulação, destacando o papel crítico do teor de polímero na modulação das características físico-químicas de micropartículas inaláveis à base de quitosana (Panchal et al., 2012).

Ácido polilático (PLA), ácido poli(lático-co-glicólico) (PLGA), poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e álcool polivinílico (PVA) estão entre os polímeros sintéticos mais utilizados na preparação de sistemas particulados poliméricos. Esses materiais são, em geral, biodegradáveis e biocompatíveis. No entanto, em contraste com os polímeros naturais, apresentam propriedades físico-químicas mais previsíveis e reprodutíveis (Chen et al., 2025), o que é vantajoso para o desenvolvimento de formulações e a produção em larga escala.

O PLGA, sintetizado pela copolimerização de monômeros de ácido lático e ácido glicólico, é um copolímero aprovado pelo FDA e amplamente utilizado em aplicações médicas (Shetty et al., 2020; Yue et al., 2023). Sua biodegradabilidade e perfil de liberação de fármacos podem ser finamente ajustados por meio da razão lactídeo:glicolídeo, do peso molecular e da estrutura química (Guo et al., 2021; Zhang et al., 2024). Entre esses parâmetros, o mecanismo de degradação é um determinante-chave da cinética de liberação: como as unidades de glicolídeo são menos hidrofóbicas do que as de lactídeo, formulações de PLGA com menor teor de lactídeo sofrem degradação hidrolítica mais rápida (Luna Lazo et al., 2023).

A capacidade de modular a cinética de liberação de MTK a partir de micropartículas inaláveis por meio da seleção do polímero foi demonstrada por Patel e colaboradores (2017), que avaliaram PLA, PLGA 85:15 e PLGA 50:50 como polímeros formadores de matriz. Foram observados perfis de liberação distintos, dependentes do polímero, consistentes com o comportamento intrínseco de degradação de cada material. O PLGA 50:50 apresentou a liberação mais rápida do fármaco, atribuída à sua degradação hidrolítica mais acelerada, que aumenta a permeabilidade da matriz e facilita a difusão do fármaco, resultando em maior liberação cumulativa. Em contraste, PLGA 85:15 e PLA produziram perfis de liberação mais sustentados, sendo o PLA o que apresentou a cinética mais lenta. A degradação mais lenta dessas matrizes preserva a integridade estrutural por períodos mais prolongados, permitindo uma liberação gradual do fármaco governada por mecanismos de difusão e erosão superficial (Patel et al., 2017).

2.3.3.2.3. Ciclodextrinas

Ciclodextrinas (CD) são oligossacarídeos cíclicos constituídos por unidades de α -1,4-D-glicopirranose ligadas que formam uma estrutura semelhante a um cone truncado (Connors, 1997). Baseado em sua estrutura, as CD possuem grupamentos hidroxila localizados na superfície externa hidrofílica, enquanto a cavidade central da molécula é formada por carbonos esqueléticos e oxigênios etéreos dos resíduos de glicose, sendo, portanto, lipofílica (Loftsson; Brewster, 1996). As CD mais comuns são alfa-ciclodextrina (α -CD), beta-ciclodextrina (β -CD) e gama-ciclodextrina (γ -CD), que consistem de seis, sete ou oito unidades de glicopirranose, respectivamente (Connors, 1997; Jansook; Ogawa; Loftsson, 2018).

Ao longo das últimas décadas, o uso de CD em formulações permitiu que muitos medicamentos contendo fármacos pouco solúveis chegassem ao mercado global (Puskás et al., 2023). O aumento de solubilidade pode ser atribuído à habilidade das CD formarem complexos de inclusão com os fármacos pela incorporação parcial ou completa dos mesmos dentro da sua cavidade hidrofóbica (Pardhi et al., 2024; Rao; Stella, 2003). Nenhuma ligação covalente é formada durante a complexação de inclusão fármaco/CD e, em solução aquosa, os complexos estão em equilíbrio dinâmico com as moléculas de fármaco livre, sendo constantemente associados e dissociados (Jansook; Ogawa; Loftsson, 2018; Loftsson; Brewster, 1996). No entanto,

outros tipos de interações, como a formação de agregados ou complexos que não envolvam a inclusão, também podem alterar as propriedades físico-químicas de substâncias associadas às CD (Loftsson et al., 2002).

Apesar de sua aplicação mais comum ser o aumento da solubilidade (Chen et al., 2024; De Castro et al., 2020; Schönbeck; Gaardahl; Houston, 2019; Zhang et al., 2020), o uso de CD também pode proteger os insumos farmacêuticos ativos do calor, hidrólise e oxidação, melhorando a estabilidade das formulações (Branchu et al., 1999; Kali; Haddadzadegan; Bernkop-Schnürch, 2024; Paczkowska et al., 2018; Popielec; Loftsson, 2017). As CD podem ser usadas para reduzir sabores e odores desagradáveis (Cui et al., 2020; Mohapatra et al., 2021; Paczkowska et al., 2018), diminuir o efeito de compostos irritantes e como excipientes para modular a liberação de fármacos (Dufour et al., 2015; Kali; Haddadzadegan; Bernkop-Schnürch, 2024; Liu et al., 2020; Rincón-López et al., 2021).

A associação de MTK com CD já foi descrita anteriormente. Duran Meras e colaboradores (2007) reportaram a formação de um complexo de inclusão entre o MTK e a dimetil- β -ciclodextrina (DIMEB) na proporção de 1:1, preferencialmente em meio ácido (Durán Merás; Espinosa-Mansilla; Rodríguez, 2007). Barbosa e colaboradores (2019) propuseram a formação de complexos de inclusão pelo processo de moagem de proporções equimolares de MTK γ -CD. Os autores observaram que, apesar do complexo de inclusão fármaco/CD formado não apresentar incremento de solubilidade em relação ao MTK puro (Barbosa et al., 2019; Barbosa et al., 2021), a complexação proporcionou uma maior estabilidade do fármaco em solução. As amostras contendo o fármaco/CD mantiveram-se estáveis em solução aquosa por, pelo menos, 4 horas, enquanto as amostras com MTK puro apresentaram redução do teor, chegando a um quarto da sua concentração inicial após apenas duas horas em solução. Kim e colaboradores (2015) desenvolveram uma solução oral aquosa estável de MTK, 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP β CD), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e parabenos, bioequivalente ao medicamento na forma de grânulos orais. Apesar do trabalho mostrar apenas um ligeiro aumento na solubilidade do MTK com HP β CD, mais importante ainda, houve uma melhora significativa da sua estabilidade, com menos de 1% de degradação e nenhuma precipitação ocorrendo ao longo de 2 meses (Kim et al., 2015).

A HP β CD é um derivado quimicamente modificado produzido pela substituição

dos grupos hidroxilas da β -CD por grupamentos hidroxipropil, resultando em uma substância amorfa, mais hidrossolúvel e menos tóxica do que CD natural (Brewster; Loftsson, 2007). Ciclodextrinas são consideradas seguras para uso humano, uma vez que são pouco absorvidas pelas mucosas (EMA, 2017). A HP β CD possui monografia nas farmacopeias americana e europeia, é utilizada em muitos produtos aprovados comercialmente (Puskás et al., 2023). Apesar de nenhum medicamento contendo HP β CD ser comercializado como pó para inalação (Puskás et al., 2023), pesquisas recentes têm demonstrado potencial promissor para sua aplicação (Amaro et al., 2015; De Castro et al., 2020; Pan et al., 2023; Suzuki et al., 2020; Vartiainen et al., 2017; Zhao et al., 2019). Amaro e colaboradores (2015) comprovaram a validade da utilização de HP β CD como agente dispersante na administração pulmonar de fármacos, pelo incremento nas propriedades aerodinâmicas de pós DPI e maior estabilidade das formulações (Amaro et al., 2015). Zhao et al. (2018) propuseram o uso de HP β CD como alternativa para contornar os problemas de higroscopicidade e consequente deterioração da aerolização da rafinose como carreador para formulações inalatória. Os autores observaram uma redução na absorção de umidade com o aumento da concentração da CD, além de um aumento da biodisponibilidade (Zhao et al., 2018). Estudos prévios realizados por Lechanteur e colaboradores (2023) demonstram que a associação de excipientes como HP β CD e L-leucina afetam a morfologia das partículas, podendo alterar o desempenho de deposição no pulmão (Lechanteur et al., 2023).

O uso de CDs como excipiente para a administração pulmonar de MTK foi reportado por Aziz et al. (2023). Os autores compararam o uso de diferentes carreadores, incluindo açúcares (eritritol, rafinose, trealose, manose e lactose) e CDs (α -CD, β -CD, γ -CD, HP- β -CD e CD altamente ramificada - HBCD) na formulação de micropartículas de MKT para DPI por meio de *spray-freeze drying*. As formulações à base de açúcares geraram partículas altamente porosas, porém com formato irregular e propensas à agregação, o que poderia comprometer as propriedades de fluxo. Em contraste, os carreadores à base de CDs produziram partículas esféricas, uniformemente porosas, com agregação mínima, diâmetros geométricos médios menores (5-12 μ m), além de distribuição granulométrica mais estreita. Testes aerodinâmicos revelaram desempenho superior das formulações com CDs. Embora não tenham sido reportados dados de MMAD nem estudos de liberação *in vitro*, os

resultados evidenciam o potencial das CDs como excipientes superiores aos açúcares convencionais no desenvolvimento de formulações inaláveis de MTK (Aziz et al., 2023).

2.3.3.2.4. L-leucina

A L-leucina é um α -aminoácido de cadeia ramificada com cadeia lateral alifática não polar, o que confere baixa solubilidade aquosa (~22 mg/mL) e atividade superficial moderada (Ordoubadi et al., 2021). Essas características físico-químicas justificam seu amplo uso como excipiente em formulações de DPI, tanto no aumento da dispersão das partículas (Mangal et al., 2015; Molina; Kaialy; Nokhodchi, 2019; Simon et al., 2016) quanto na proteção de formulações obtidas por SD contra os efeitos da umidade (Li et al., 2016).

A influência da leucina na morfologia das partículas durante o processo de SD depende de sua capacidade de se difundir para a superfície da gota ao longo da etapa de secagem.

O conceito de número de *péclet* (Pe), Equação 1, tem sido utilizado para explicar a morfologia e densidade das partículas resultantes de um processo de SD, considerando a razão entre a velocidade de evaporação do solvente (κ) durante a secagem e o movimento difusional dos solutos nas gotículas (D) (Vehring, 2008).

$$Pe = \frac{\kappa}{8D}$$

Equação 1.

Para números de *péclet* menores que 1, a mobilidade de difusão dos solutos é rápida em comparação a velocidade de recuo radial da superfície da gota, mantendo-os uniformemente distribuídos na gotícula durante a evaporação do solvente e, consequentemente, resultando em pouca alteração na superfície da partícula. Solutos livremente solúveis no sistema solvente ou processos de secagem mais lentos tendem a formar partículas sólidas menores com maior densidade (Almansour et al., 2020; Tsapis et al., 2002). Nos casos em que o número de *péclet* é maior que 1, como no uso de polímeros, por exemplo, a velocidade de recuo da interface líquido/ar é

consideravelmente maior que a difusão dos componentes dissolvidos ou suspensos (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2021). Com a contínua evaporação do solvente, a concentração crítica do soluto é atingida, levando a sua solidificação. Quanto maior a molécula de um soluto ou menor a sua mobilidade, menor é sua difusão, resultando no enriquecimento da superfície da partícula com os componentes com maior número de *pecl*. Os solutos podem cristalizar na superfície ou formar uma casca, resultando em partículas maiores com diferentes morfologias, desde esferas ocas a partículas com reentrâncias, ondulações ou enrugadas (Chvatal et al., 2017). Logo, o número de *pecl* é definido não apenas pelas propriedades físico-químicas do soluto e do solvente, mas também pelos parâmetros de processo que determinam a velocidade de secagem (Belotti et al., 2015; Miller et al., 2015).

A L-leucina é um surfactante de baixo peso molecular (131,13 g/mol), associada, normalmente, a um número de *pecl* inicial pequeno, devido ao seu alto coeficiente de difusão em solventes como água e álcool (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2021; Vehring, 2008). Durante a secagem por SD, essas propriedades favorecem a sua difusão preferencialmente para a interface da gota. Com a evaporação contínua do solvente, a concentração de leucina na superfície aumenta, levando à supersaturação e cristalização superficial subsequente. Esse mecanismo forma uma "casca" cristalina hidrofóbica externa ao redor da partícula na secagem, que colapsa conforme a evaporação prossegue, resultando em partículas ocas com superfícies enrugadas ou corrugadas (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2021). Essas morfologias são reconhecidamente superiores em desempenho aerodinâmico em comparação a partículas densas de superfície lisa, enquanto a natureza hidrofóbica da casca enriquecida em leucina limita a formação de pontes sólidas entre partículas, reduzindo forças coesivas interparticulares e melhorando a fluidez e dispersibilidade do pó (Zhang et al., 2022).

Embora os aminoácidos ainda não sejam formalmente reconhecidos pelo FDA como excipientes para administração pulmonar, sua natureza endógena faz com que estejam, em geral, associados a menor preocupação toxicológica quando comparados a outros agentes utilizados para melhorar o desempenho aerossol (Chen et al., 2025).

A aplicabilidade da leucina como excipiente funcional em formulações de DPI é bem exemplificada por sistemas de MTK obtidos por SD. Moussa e colaboradores (2015) investigaram o impacto de diferentes excipientes (manitol, leucina e

ovalbumina) no desempenho de formulações de liberação rápida de MTK produzidas por SD em condições controladas (temperatura de entrada 80 °C, taxa de aspiração 85%, fluxo da bomba 5%). Todas as formulações geraram partículas no intervalo respirável (<5 µm), mas os pós contendo leucina destacaram-se com desempenho aerodinâmico superior e excelentes propriedades de fluxo (Moussa et al., 2015). A leucina também foi usada como excipiente dispersante em sistemas microparticulados de MTK desenvolvidos por Abdel-Gawad e colaboradores (2020) por SD. O aminoácido contribuiu para altos rendimentos de produção e eficiência de associação do fármaco, além de promover sistemas particulados de baixa densidade otimizados para aerolização (Abdel-Gawad et al., 2020). Ademais, a L-leucina atua como estabilizante de partículas, conferindo estabilidade físico-química às formulações de DPI ao mitigar a deterioração induzida por umidade (Abdel-Gawad et al., 2020; Li et al., 2016; Moussa et al., 2015).

2.3.3.3. *Partículas inaláveis de MTK*

A Tabela 1 apresenta os sistemas inaláveis de MTK descritos na literatura.

2.3.3.3.1. *Sistemas microparticulados*

Sistemas de liberação de fármacos microparticulados têm ganhado relevância na área farmacêutica devido à sua capacidade de superar importantes desafios de formulação, incluindo a administração de fármacos pouco solúveis, a viabilização de liberação controlada ou sustentada por períodos prolongados e a preservação da estabilidade dos compostos ativos (Panigrahi; Das; Majumdar, 2024). No contexto da administração pulmonar, as micropartículas têm sido amplamente investigadas como formulações DPI, em função de sua capacidade de modular o comportamento aerodinâmico e a liberação do fármaco, além de favorecer a deposição pulmonar.

Tabela 1. Formulações inaláveis de MTK: métodos de produção, composição das formulações, dispositivos e principais achados.

Método de produção	Excipientes	Formulação	Dispositivo	Principais achados	Referência
NA	Solução salina	Solução para inalação	Nebulizador ultrassônico	Inalação de MTK (10 mg/mL) inibiu significativamente a broncoconstrição induzida por leucotrienos (LTC ₄ and LTD ₄) inalados ou por via intravenosa, com efeito por 24 horas.	Muraki <i>et al.</i> (2009)
SD	Quitosana (polímero), glutaraldeído (agente de reticulação)	Microesferas	-	As microesferas apresentavam formato esférico, distribuição de tamanho estreita, com tamanho médio de partícula de 7 a 12 µm e eficiência de encapsulação de 78 a 86%. Correlação positiva entre proporção fármaco:polímero e a eficiência de encapsulação e mucoadesividade.	Panchal <i>et al.</i> (2012)
Método de gelificação iônica	Quitosana (polímero), Tripolifosfato – TPP (agente de reticulação)	Nanopartículas poliméricas	NA	A formulação otimizada apresentou tamanho médio de partícula de 222,5 nm, potencial zeta positivo e eficiência de encapsulamento do fármaco de 61,8%. As partículas apresentaram liberação sustentada ao longo de 24 horas com efeito de liberação inicial rápida.	Inamdar <i>et al.</i> (2013)
SD	Xiloglucana (polímero)	Microesferas	DPI (Rotahaler®)	As microesferas apresentaram liberação sustentada do fármaco (até 167 minutos). A mucoadesão das partículas aumentou com o incremento da concentração do polímero. Estudos farmacocinéticos pulmonares em ratos revelaram que as microesferas aumentaram significativamente a retenção do	Mahajan & Gundare (2014)

Método de produção	Excipientes	Formulação	Dispositivo	Principais achados	Referência
				fármaco nos pulmões em comparação com o fármaco isolado.	
Dupla Emulsão O/A/O - método de evaporação de solvente	PLA, PLGA e PEI (polietilenimina)	Partículas porosas de grande porte	Intratraqueal	As partículas obtidas em formato esférico com superfície porosa, e diâmetro aerodinâmico dentro da faixa de partículas respiráveis. A liberação do fármaco apresentou um padrão bifásico, com liberação inicial rápida durante os primeiros 30 minutos, seguida por uma liberação sustentada por 4 dias. As partículas atenuaram a resposta inflamatória induzida por alérgenos em um modelo animal e preveniram alterações histológicas associadas à asma.	Patel <i>et al.</i> (2014)
Método de emulsificação por fusão - ultrassonicação	Precirol® ATO5 (líquido sólido), Capryol®-90 (líquido), Ácido DL-pirrolidonacarboxílico do éster etílico de L-cocil arginina - CAE (surfactante)	Carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC)	DPI (Rotahaler®)	O tamanho médio das partículas foi de $184,6 \pm 2,7$ nm, com distribuição de tamanho estreita. Obteve-se liberação sustentada do fármaco MTK a partir de NLC. O MNLC-DPI preparado com 3% de manitol apresentou diâmetros aerodinâmicos adequados. O estudo de instilação intratraqueal <i>in vivo</i> revelou melhor deposição pulmonar do MKT na forma de MNLC-DPI.	Patil-Gadhe <i>et al.</i> (2014)
SD	Manitol (diluente), ovalbumina e L-leucine (agente dispersante)	Micropartículas	DPI (Aerolizer®)	O melhor desempenho aerodinâmico foi obtido com DPI com leucina. Todas as formulações apresentaram liberação rápida e completa do	Moussa <i>et al.</i> (2015)

Método de produção	Excipientes	Formulação	Dispositivo	Principais achados	Referência
				fármaco. Os pós secos demonstraram boa estabilidade por até 6 meses de armazenamento..	
SD	Bicarbonato de amônio	Micropartículas	DPI (Aerolizer®)	A formulação otimizada demonstrou propriedades de aerossolização adequadas, com diâmetro aerodinâmico dentro da faixa ideal para administração respiratória. A incorporação do bicarbonato de amônio não melhorou a eficiência da aerossolização e reduziu os rendimentos de produção.	Faramarzi <i>et al.</i> (2015)
Método de evaporação de solvente	Eudragit® RS100 (polímero) e lactose inalável (carreador)	Microesferas	DPI	As micropartículas obtidas foram esféricas e lisas, com tamanho ideal para administração pulmonar (variando de 4,59 a 4,92 µm). A formulação com proporção de 1:1 de MTK para Eudragit apresentou liberação de 93,71% do fármaco em 12 horas.	Sathishkumar & Kumaresan (2016)
Dupla Emulsão O/A/O - método de evaporação de solvente	PLA, PLGA 85:15, PLGA 50:50, PEG-PLGA	Micropartículas	Via intratraqueal	O polímero utilizado na preparação das partículas influenciou a morfologia e as características da superfície das mesmas. O sistema de liberação de fármacos particulado desenvolvido neste estudo foi capaz de encapsular dois fármacos, MTK e heparina, com alta eficiência de encapsulamento. As partículas contendo os dois fármacos apresentaram propriedades físico-químicas favoráveis para a administração pulmonar, liberando os fármacos de forma sustentada e reduzindo a captação pelos	Patel <i>et al.</i> (2017)

Método de produção	Excipientes	Formulação	Dispositivo	Principais achados	Referência
				macrófagos alveolares, sem causar danos pulmonares significativos após uma única administração.	
Dupla Emulsão O/A/O - método de evaporação de solvente	PLA, PLGA 85:15, PLGA 50:50 e PEI	Micropartículas	DPI (HandiHaler®)	Partículas porosas grandes, preparadas com PEI como agente porogênico, apresentaram propriedades físico-químicas favoráveis para administração pulmonar. Comparadas com partículas não porosas menores, as partículas porosas grandes foram captadas pelos macrófagos alveolares em menor extensão.	Patel; Rashid; Ahsan (2017)
SD	Manitol, ovalbumina (diluente), lecitina (aglutinante), L-leucine (agente dispersante)	Micropartículas	DPI (Aerolizer®)	A formulação otimizada com manitol apresentou partículas esféricas com diâmetro aerodinâmico variando de 1,31 a 4,21 e baixa densidade. As partículas MTK inaladas de dissolução rápida, direcionadas aos pulmões, alcançaram eficácia promissora com uma dose dez vezes menor em comparação ao produto oral comercializado.	Abdel-Gawad et al. (2020)
NA	Etanol absoluto (co-solvente), PEG 400 (solubilizante) e HFA134a (propelente)	MDI	pMDI	A formulação com 15% v/v de etanol, 5% v/v de PEG 400 e HFA-134a como propelente, apresentou o melhores propriedades aerodinâmicas e ausência de toxicidade em macrófagos nas vias aéreas pulmonares.	Sawatdee et al. (2020)
Eletropulverização	Metanol, acetone, diclorometano e	DPI	DPI (Aerolizer®)	O processo reduziu o tamanho das partículas para a faixa respirável e criou uma forma amorfa que	Yaqoubi et al. (2020)

Método de produção	Excipientes	Formulação	Dispositivo	Principais achados	Referência
	clorofórmio (solventes orgânicos) Lactose inalável (carreador)			aumentou significativamente sua taxa de dissolução, atingindo 80% em 15 minutos, sem dissolução adicional até 48 horas.	
Método de gelificação iônica SD	Quitosana (polímero), TPP (agente de reticulação), polissorbato 80, ácido hialurônico e L-leucina. Microesferas de lactose (carreador).	Nanopartículas poliméricas	DPI (HandiHaler®)	As nanopartículas apresentaram tamanhos variando de 220 nm a 383 nm, com um índice de polidispersão $\leq 0,50$. Nanopartículas fisicamente misturadas com microesferas de lactose alcançaram propriedades aerodinâmicas ótimas para a administração pulmonar de MTK, sendo que a formulação modificada com leucina apresentou o melhor desempenho geral.	Ullah et al. (2022)
Spray freeze drying	Eritritol, D-lactose monoidratada, D-manose, D-trealose diidratada, Rafinose pentaidratada (carreadores açúcares) α -CD, β -CD, γ -CD, HP- β -CD, HBCD	Micropartículas	DPI (Cyclohaler®)	Os resultados mostraram que a mudança de acreadores de açúcares simples para ciclodextrinas melhorou a forma das partículas, tornando-as mais esféricas, com menos aglomerações e uma distribuição de tamanho mais estreita. As formulações à base de ciclodextrina exibiram um comportamento aerodinâmico notavelmente superior.	Aziz et al. (2023)

Método de produção	Excipientes	Formulação	Dispositivo	Principais achados	Referência
Método de gelificação iônica Liofilização	Quitosana (polímero), TPP (agente de reticulação), ácido hialurônico e L-leucina. Lactose ou manitol (carreador).	Nanopartículas poliméricas incorporadas em micropartículas de lactose ou manitol	DPI (HandiHaler®)	As nanopartículas de quitosana revestidas com ácido hialurônico, com estrutura triangular e tamanho de partícula de 276 nm, foram incorporadas em micropartículas. A liberação sustentada de MTK a partir de micropartículas nanoincorporadas foi atribuída à lenta dissolução da quitosana em pH pulmonar. As nanopartículas incorporadas com lactose apresentaram maior fração de partículas finas em comparação com as com manitol. As micropartículas apresentam AUC0-t menor em comparação com a solução de MTK	Ullah <i>et al.</i> (2025)

Entre esses sistemas, as micropartículas à base de polímeros têm se destacado como uma estratégia particularmente promissora para a administração pulmonar de MTK (Tabela 1). Sua elevada estabilidade físico-química, significativa capacidade de incorporação de fármaco, taxa relativamente baixa de liberação e atividade farmacológica prolongada as tornam carreadores atrativos para terapias por inalação (Kumar et al., 2023). Mahajan e Gundade (2014) desenvolveram microesferas contendo MTK por SD, utilizando xiloglucana como matriz polimérica e lactose como carreador. A formulação otimizada, contendo 2% (p/v) de xiloglucana e 1% (p/v) de lactose, apresentou propriedades aerodinâmicas adequadas com deposição eficiente nas regiões profundas do pulmão. Além disso, mais de 89% da dose nominal foi emitida a partir do inalador, demonstrando excelente dispersibilidade do pó e desempenho de inalação (Mahajan; Gundare, 2014).

De forma semelhante, Satishkumar e colaboradores (2017) prepararam micropartículas poliméricas de MTK com diferentes proporções fármaco:polímero e posteriormente misturadas com lactose para obtenção de um sistema DPI. Foram propostas quatro formulações utilizando MTK e o polímero sintético Eudragit® RS100 nas proporções de 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4. As micropartículas foram produzidas por emulsificação óleo-em-água seguida de evaporação do solvente, misturadas com Lactohale LH100 como carreador e encapsuladas em cápsulas de gelatina. A uniformidade de teor variou de 96% a 110% do valor teórico. As micropartículas resultantes apresentaram morfologia esférica, superfície lisa e diâmetros médios entre 4,59 e 4,92 μm . A formulação 1:1 alcançou uma dose emitida de 91,6% e uma fração respirável de 38,4%, refletindo deposição eficiente nas regiões inferiores do trato respiratório (Sathishkumar; Kumaresan, 2017).

Embora as micropartículas poliméricas convencionais proporcionem bom controle da liberação do fármaco e da deposição pulmonar, as partículas porosas de grande porte (LPPs, *large porous particles*) representam uma abordagem avançada para aprimorar ainda mais a administração pulmonar. As LPPs são constituídas por partículas de baixa densidade (tipicamente abaixo de 0,4 g/cm³) com diâmetros geométricos superiores a 5 μm (Shahin; Chablani, 2023, Trisopon; Kittipongpatana; Saokham, 2024), resultando em um pequeno diâmetro aerodinâmico, o que permite deposição eficiente nas regiões profundas do pulmão (Luna Lazo et al., 2023). Além disso, o tamanho geométrico relativamente elevado dessas partículas minimiza a aglomeração e melhora a dispersibilidade em comparação às micropartículas

convencionais, favorecendo o desempenho aerossol (Farinha et al., 2025; Gallo et al., 2019). Adicionalmente, as LPPs são consideradas uma estratégia promissora para obtenção de efeitos terapêuticos prolongados, uma vez que seu grande tamanho físico contribui para evitar a fagocitose por macrófagos, enquanto sua baixa densidade permite que se comportem aerodinamicamente como partículas menores, facilitando a deposição pulmonar profunda e reduzindo a depuração mucociliar (Zhang et al., 2024).

As LPPs são comumente preparadas pelo método de dupla emulsão, seguido de evaporação do solvente por SD ou *spray freeze drying* (Shahin; Chablani, 2023). Patel e colaboradores (2014) conduziram estudos com partículas porosas de grande porte contendo MTK utilizando a técnica de evaporação de solvente via dupla emulsão água/óleo/água (W1/O/W2). A formação da estrutura porosa nessas partículas geralmente requer agentes formadores de poros (porógenos), como líquidos voláteis, carbonato de amônio ou bicarbonato de amônio (Chvatal et al., 2019; Gallo et al., 2019; Luna Lazo et al., 2023). A polietilenimina (PEI) foi incorporada para produzir partículas altamente porosas, que apresentaram morfologia esférica com superfícies porosas e um diâmetro aerodinâmico de $2,51 \pm 0,12 \mu\text{m}$, aproximadamente metade do diâmetro médio volumétrico de $7,72 \mu\text{m}$, refletindo sua baixa densidade compactada de $0,10 \text{ g/cm}^3$. Os autores sugeriram que o PEI aumentou a pressão osmótica da fase aquosa interna, promovendo a entrada de água no núcleo da partícula por meio de canais aquosos, posteriormente removidos por liofilização, formando poros na superfície (Patel et al., 2014; Patel; Rashid; Ahsan, 2017). Em comparação com partículas menores e não porosas, as LPPs contendo MTK também apresentaram menor captação por macrófagos alveolares e maior deposição pulmonar (Patel; Rashid; Ahsan, 2017).

2.3.3.3.2. Sistemas nanoparticulados

Sistemas de liberação de fármacos nanoestruturados, geralmente na faixa de 1 a 1000 nm, incluem nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), carreadores lipídicos nanoestruturados (NLC) e lipossomas (Cao et al., 2024). Esses sistemas têm emergido como uma plataforma promissora para a administração pulmonar de fármacos, devido à sua capacidade de aumentar a solubilidade de compostos pouco solúveis em água, modular a liberação do fármaco,

prolongar o tempo de residência pulmonar e, potencialmente, reduzir a exposição sistêmica (Cao et al., 2024; Liu et al., 2020; Luna Lazo et al., 2023). No entanto, devido ao seu pequeno tamanho e às forças coesivas, as nanopartículas são geralmente formuladas com carreadores de tamanho micrométrico ou como aglomerados de micropartículas, a fim de alcançar adequada aerossolização e deposição pulmonar após a inalação (Wang et al., 2018).

No contexto do MTK, diversas abordagens nanoestruturadas têm sido investigadas para superar sua limitada solubilidade aquosa e a variabilidade farmacocinética associada à administração oral (Tabela 1). Nanopartículas poliméricas, como sistemas de quitosana–tripolifosfato obtidos por gelificação iônica, têm apresentado tamanhos de partícula em torno de 200 nm, com carga superficial positiva que favorece a estabilidade eletrostática e eficiência de encapsulação de moderada a elevada. Além disso, esses sistemas proporcionaram liberação sustentada do fármaco por até 24 horas após um efeito inicial de liberação rápida (*burst*), sustentando seu potencial para terapia pulmonar local com redução da frequência de administração (Inamdar et al., 2013; Ullah et al., 2022; Ullah et al., 2025).

De forma semelhante, nanopartículas lipídicas têm demonstrado desempenho favorável. Em particular, as SLNs têm sido propostas como alternativas aos sistemas poliméricos devido à sua degradação mais rápida *in vivo*, o que pode mitigar preocupações relacionadas ao acúmulo prolongado de polímeros no tecido pulmonar (Dhara; Khawas; Sharma, 2024; Guo et al., 2021; Wang et al., 2024). Rahmanian e colaboradores (2016) desenvolveram SLNs contendo MTK por meio do método de homogeneização a quente, com o objetivo de aumentar a biodisponibilidade sistêmica. Formulações para DPI foram posteriormente preparadas por SD, incorporando uma mistura de manitol e lactose, ou sem carreador. As SLNs apresentaram tamanho de partícula inferior a 100 nm e eficiência de encapsulação superior a 99%. A avaliação *in vitro* do desempenho aerossol demonstrou que as formulações contendo manitol e lactose atingiram dose emitida superior a 93%, em comparação com 78% para a formulação sem carreador (Rahmanian et al., 2016).

Sistemas lipídicos de segunda geração, particularmente os NLC, compostos por lipídios sólidos e líquidos que formam uma matriz lipídica desorganizada, têm sido explorados para melhorar a capacidade de incorporação de fármacos e a estabilidade físico-química em relação às SLNs (Abdelaziz et al., 2018; Singh; Pandey; Awasthi, 2025). Patil-Gadhe e colaboradores (2014) desenvolveram NLCs contendo MTK

(MNLC) utilizando Precirol® ATO 5 (lipídio sólido) e Capryol® 90 (lipídio líquido) na proporção de 7:3, preparados pelo método de emulsificação a quente seguida de ultrassonicação. As nanopartículas resultantes apresentaram tamanho médio adequado e distribuição homogênea. Ensaio *in vitro* de citotoxicidade confirmaram sua ausência de toxicidade e compatibilidade com a linhagem celular pulmonar A549. No entanto, as dimensões nanométricas impuseram limitações potenciais, como tendência à agregação e propriedades de fluxo subótimas. Para contornar essas limitações, os autores propuseram uma abordagem de nanocompósito em dupla escala (Patil-Gadhe et al., 2014).

De forma análoga, Ullah e colaboradores (2022) empregaram estratégia semelhante para preparar nanopartículas poliméricas contendo MTK para administração inalatória, seguidas de mistura física com microesferas de lactose. O estudo avaliou quatro formulações distintas contendo quitosana, polissorbato 80, ácido hialurônico ou L-leucina, cada uma com características específicas que influenciaram o desempenho. Os tamanhos de partícula variaram de 220 a 383 nm, com índices de polidispersidade inferiores a 0,50. A eficiência de associação do fármaco variou de 46% a 86%, dependendo dos excipientes utilizados. Dentre as formulações avaliadas, as nanopartículas modificadas com leucina apresentaram o melhor desempenho (Ullah et al., 2022). Posteriormente, os mesmos autores propuseram a obtenção de micropartículas contendo nanopartículas (*nanoembedded*) revestidas com ácido hialurônico por liofilização, utilizando manitol ou lactose como carreadores, com o objetivo de melhorar o desempenho terapêutico do DPI de MTK. Embora ambas as formulações tenham apresentado características físico-químicas semelhantes, as micropartículas contendo lactose demonstraram perfil de inalação superior (Ullah et al., 2025).

2.4. Avaliação *in vitro* de formulações DPI

A determinação do desempenho das formulações DPI é essencial para garantir a eficácia terapêutica da administração pulmonar de fármacos. Além do desenho do dispositivo, propriedades físico-químicas da formulação do tipo pó seco, como diâmetro, morfologia, umidade, densidade e carga eletrostática superficial, definem o comportamento aerodinâmico das partículas e, conseqüentemente, sua trajetória dentro do trato respiratório (Ari; Alhamad, 2023).

Ensaio de aerossolização *in vitro* simulam o desempenho aerodinâmico das formulações e avaliam sua adequação à deposição pulmonar após inalação (Lazo et al., 2022). Sistemas em cascata, como o *Next Generation Impactor* (NGI) e o *Andersen Cascade Impactor* (ACI), representam as metodologias padrão para determinação da distribuição aerodinâmica de tamanho de partícula, permitindo quantificar a deposição em múltiplos estágios que simulam regiões distintas do trato respiratório (Ceschan et al., 2025).

Os principais indicadores incluem o diâmetro aerodinâmico médio em massa (MMAD), desvio padrão geométrico (GSD), fração de partículas finas (FPF) e dose emitida (ED). O MMAD corresponde ao diâmetro aerodinâmico em que 50% da massa do fármaco se deposita, sendo valores entre 1-5 μm ideais para alcançar regiões profundas dos pulmões, especialmente alvéolos (Sadhu et al., 2025). O GSD reflete a variabilidade da distribuição de tamanho, indicando homogeneidade do aerossol. A FPF representa a proporção de partículas finas, geralmente com diâmetro aerodinâmico inferior a 5 μm .

Além da distribuição adequada de tamanho, as formulações inalatórias devem apresentar estabilidade físico-química e mínima retenção do fármaco no dispositivo. Nesse contexto, a ED quantifica a fração da dose nominal efetivamente liberada pelo inalador e disponível para deposição pulmonar (Zillen et al., 2021).

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Preparo, caracterização e avaliação *in vitro* de formulações do tipo pó seco para administração inalatória de MTK para tratamento de asma crônica.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterizar a matéria-prima MTK sódico quanto às suas propriedades físico-químicas.
- Obter micropartículas de MTK para inalação utilizando HP β CD e leucina como excipientes.
- Caracterizar as formulações obtidas quanto às suas propriedades físico-químicas.
- Avaliar o comportamento aerodinâmico das formulações DPI.
- Avaliar a estabilidade preliminar das formulações DPI.
- Avaliar a citotoxicidade do MTK e das formulações DPI obtidas em modelo de linhagem celular de adenocarcinoma pulmonar (Calu-3) e macrófagos J774A.1.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

O MTK sódico foi obtido do fabricante BioChem Partner, China. 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), ácido fosfórico, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio (MTT), cloreto de magnésio, cloreto de potássio, hidróxido de potássio, hidróxido de sódio, L-leucina, metanol grau CLAE, meios Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), piruvato sódico, solução tripsina-EDTA, soro fetal bovino (SFB) e a substância química de trabalho MTK sódico (lote LRAC5690) foram obtidos da Sigma-Aldrich, Brasil. A solução de aquosa de penicilina 10.000 UI/mL-estreptomicina 10.000 μ g/mL foi adquirida da Nova Biotecnologia, Brasil. Acetato de amônio, ácido acético, ácido clorídrico, álcool etílico, bicarbonato de sódio, cloreto de sódio, fosfato de sódio e sulfato de sódio foram obtidos da Neon, Brasil. Acetato de sódio, foi obtido da Isofar, Brasil. Citrato de sódio, cloreto de cálcio e fosfato de potássio monobásico foram obtidos da Vetec Química Fina, Brasil. Dimetilsulfóxido (DMSO) grau CLAE foi obtido da Biograde, Brasil. Fosfato de sódio monobásico monoidratado foi obtido da Synth, Brasil. As linhagens celulares de adenocarcinoma de pulmão (código 0264) e macrófagos J774A.1 (código 0121) foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro, Brasil. Todos os materiais foram usados como recebidos, sem purificação adicional.

4.2. Métodos

4.2.1. Quantificação do MTK por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)

As amostras contendo MTK foram quantificadas usando um sistema CLAE Shimadzu, modelo Nexera X2 equipado com amostrador SIL-30AC, bomba LC-30AD, degaseificador DGU20A3, detector DAD SPD-M 20A, módulo de comunicação CBM-20A e forno da coluna CTO-20A (Shimadzu, Japão).

A quantificação do MTK nas análises de doseamento e deposição *in vitro* foi realizada de acordo com método descrito por Shrikrishna e Nisharani (2015), com deliberadas modificações (Shrikrishna; Nisharani, 2015). O método cromatográfico foi realizado em modo de eluição isocrática, utilizando-se uma coluna Waters C18 (150

mm × 4,6 mm, tamanho de partícula de 3 µm), mantida em forno a 30 °C. A fase móvel foi composta por uma mistura de metanol e água purificada ajustada para pH 3,0 (90:10, v/v), com fluxo de 0,5 mL/min. O volume de injeção foi de 20 µL e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 283 nm.

Para os estudos de estabilidade, dissolução, solubilidade e perfil de solubilidade de fase, foi empregado um método indicativo de estabilidade, conforme previamente descrito por Al Omari e colaboradores (2007). Utilizou-se uma coluna C18 (250 mm × 4,6 mm, tamanho de partícula de 5 µm) como fase estacionária. A fase móvel consistiu em uma mistura de tampão aquoso de acetato de amônio 0,05 M, ajustado para pH 3,5 com ácido fosfórico, e metanol (15:85, v/v). A vazão foi de 1,5 mL/min, com volume de injeção de 20 µL e detecção no comprimento de onda de 254 nm.

Após o preparo e a diluição, as amostras foram filtradas em filtro seringa de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com tamanho de poro de 0,45 µm (Millipore®, 13 mm de diâmetro) e, em seguida, analisadas de acordo com o método cromatográfico previamente estabelecido.

4.2.2. Estudo de solubilidade

A solubilidade em equilíbrio do MTK sódico em diferentes meios foi determinada pelo método de agitação orbital em frascos ou *shake flask* (Brasil, 2024). A solubilidade foi avaliada em água na faixa de pH fisiológico (1,2 a 7,4), em tampão acetato de sódio (pH 6,8), tampão fosfato de potássio (pH 6,8), tampão fosfato de sódio (pH 6,8) e em fluido pulmonar simulado (FPS1, pH 7,4) (Zhang et al., 2025).

Os meios aquosos em diferentes pH foram preparados adicionando-se ácido clorídrico ou hidróxido de sódio à água purificada até o pH desejado. Os tampões salinos em pH 6,8 foram preparados de acordo com metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira 7ª edição (Brasil, 2024). O tampão fosfato de potássio pH 6,8 foi preparado misturando-se 50 mL de solução de fosfato de potássio monobásico 0,2 M e 22,4 mL de hidróxido de potássio 0,2 M. Quando necessário, o pH foi ajustado para 6,8 e o volume completado para 200 mL. O tampão fosfato de sódio pH 6,8 preparado misturando-se 50 mL de solução de fosfato de sódio monobásico 0,2 M, 22,4 mL de hidróxido de sódio 0,2 M. Quando necessário, o pH foi ajustado para 6,8 com ácido acético 0,05 M e o volume completado para 200 mL. O tampão acetato de

sódio pH 6,8 foi preparado dissolvendo 2,73 g de acetato de sódio em 70 mL de água. O pH foi ajustado para 6,8 com ácido acético 0,5 M, e o volume completado para 100 mL.

O fluido pulmonar simulado foi preparado conforme descrito por Marques, Loebenberg, Almukainzi (2011). O FPS1 ou solução de Gamble foi preparado dissolvendo-se, na seguinte ordem, 0,095 g de cloreto de magnésio ($MgCl_2$), 6,019 g de cloreto de sódio ($NaCl$), 0,298 g de cloreto de potássio (KCl), 0,126 g de fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4), 0,063 g de sulfato de sódio (Na_2SO_4), 0,368 g de cloreto de cálcio diidratado ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$), 0,574 g de acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2$), 2,604 g de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) e 0,097 g de citrato de sódio diidratado ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) em 1L de água purificada. O pH foi ajustado para 7,4.

Para o estudo de solubilidade, um excesso conhecido do fármaco (30 mg) foi adicionado a tubo eppendorf contendo 500 μL de meio e mantido sob agitação a 200 rpm por 48 horas a $37,0 \pm 0,5$ °C, protegidos da luz, em incubadora com agitação orbital (Novatecnica, Brasil). Os tubos foram inspecionados visualmente a cada hora para assegurar a presença excesso de pó não dissolvido. Ao final do experimento, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 4 °C, os sobrenadantes diluídos e as concentrações de MTK foram determinadas por CLAE conforme método descrito anteriormente (item 4.2.1). Em virtude da variabilidade na solubilidade, soluções padrão em diferentes concentrações (entre 100 e 800 $\mu g/mL$) foram preparadas e utilizadas na quantificação de MTK nos diferentes meios. A linearidade do método foi comprovada na faixa de concentração estudada. Todas as análises foram realizadas em triplicata para cada meio avaliado.

4.2.3. Estudo de eficácia de complexação

O perfil de solubilidade de fase foi conduzido de acordo com a metodologia adaptada de Higuchi e Connors (1965) para investigar a influência da HP β CD na solubilização do MTK.

Uma quantidade conhecida e em excesso de MTK (20 mg) foi adicionada a FPS1 contendo concentrações crescentes de HP β CD, de modo a obter as seguintes razões molares MTK:HP β CD: 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:6 e 1:8. Foram preparadas, no mínimo, três amostras para cada razão molar. Os frascos foram vedados, protegidos da luz e submetidos à agitação a 200 rpm por 3 horas, à 25 °C $\pm$ $0,5$ °C, em incubadora

orbital com agitação orbital (Novatecnica, Brasil). Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 4 °C, e as concentrações de MTK dissolvido no sobrenadante foram determinadas por CLAE, conforme previamente descrito (item 4.2.1). A solubilidade do MTK foi determinada a partir de uma curva padrão na faixa de concentração de 50 a 800 µg/mL.

A eficácia de complexação (EC) foi calculada pelo coeficiente angular do perfil de solubilidade de fase, de acordo com a Equação 2 (De Castro et al., 2020):

$$EC = \frac{[Fármaco - CD]}{[CD]} = \frac{slope}{(1 - slope)}$$

Equação 2

na qual "slope" é a inclinação da reta do perfil de complexação (concentração de MTK no eixo y *versus* concentração de CD no eixo x).

A proporção molar fármaco-ciclodextrina no estudo de complexação foi determinada a partir de EC, de acordo com a Equação 3 (De Castro et al., 2020):

$$Razão molar fármaco/CD = 1 : \frac{(EC + 1)}{EC}$$

Equação 3

4.2.4. Obtenção das partículas DPI

As formulações de DPI foram obtidas por SD utilizando um *spray dryer* LabMiq MSD 1.0 em escala laboratorial (LabMiq, Brasil) e um mini *spray dryer* Büchi B-290 (Büchi, Suíça), ambos equipados com bico de dois fluidos de 0,7 mm de diâmetro. Os parâmetros de processamento do equipamento Büchi B-290 foram semelhantes aos utilizados no equipamento LabMiq MSD 1.0, exceto que o nitrogênio foi utilizado como gás para pulverização em vez do ar comprimido.

As partículas foram produzidas a partir de soluções de etanol/água (1:1 v/v) (Faramarzi et al., 2015), contendo MTK, com ou sem incorporação de L-leucina, associadas a diferentes concentrações de HPβCD. O teor final de sólidos das soluções foi de 10 g/L.

A dose de MTK para administração pulmonar foi definida com base em

evidências prévias da literatura, resultando na proposição de doses diárias inalatórias entre 1 e 3 mg, a depender das formulações avaliadas. Essa faixa foi estabelecida considerando, primeiramente, a dose oral recomendada para adultos, de 10 mg ao dia (Organon, 2025), bem como dados de estudos pré-clínicos que empregaram doses mais elevadas por via oral (10 a 30 mg/kg/dia) (Abdel-Gawad et al., 2020), refletindo limitações associadas à biodisponibilidade sistêmica e à distribuição do fármaco até o pulmão. De maneira consistente, a literatura demonstra que a administração pulmonar pode reduzir a dose necessária em, aproximadamente, 10 vezes em comparação à via oral (Suzuki et al., 2018), em função da maior eficiência de deposição local. Esse racional é corroborado por estudos farmacodinâmicos em modelos animais, nos quais micropartículas inaláveis de MTK mantiveram o controle de marcadores inflamatórios mesmo com uma redução de dez vezes na dose administrada (Abdel-Gawad et al., 2020). Adicionalmente, evidências clínicas com formulações inaláveis tipo DPI de MTK avaliaram a segurança, tolerabilidade e farmacocinética em uma ampla faixa de doses (0,1 a 10 mg) (Philips et al., 2010; Philips et al., 2011).

As formulações, bem como os parâmetros de processo, encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Formulações e parâmetros de processo.

Código	Composição (%)			Equipamento	Parâmetros do <i>spray dryer</i>			
	MTK	L-leucina	HPβCD		Vazão ar (L/h)	Vazão bomba (L/h)	Entrada (°C)	Saída (°C)
F1-a	5	-	95	(a) LabMaq MSD 1.0	2400	0,4	80 (77-84)	47-61
F2-a	5	10	85				80 (75-82)	47-62
F3-a	17,3	-	82,7				80 (75-84)	45-57
F4-a	15,7	9,1	75,2				80 (75-86)	43-54
MTK-a	100	-	-				80 (75-87)	45-51
F1-b	5	-	95	(b) Büchi B-290	2293	0,4 (20%)	80 (80-81)	34-38
F2-b	5	10	85				80 (79-81)	33-36
F5-b	5	20	75				80 (79-81)	27-33
MF-1	5	-	95	-	-	-	-	-
MF-2	5	10	85	-	-	-	-	-

A temperatura do ar de entrada foi mantida constante em 80 °C em todos os experimentos, conforme previamente descrito para SD do MTK (Abdel-Gawad et al.,

2020; Moussa et al., 2020).

As misturas físicas contendo MTK e HP β CD (MF-1) e MTK, HP β CD e L-leucina (MF-2) foram preparadas por mistura homogênea dos componentes em gral e pistilo. As amostras em pó foram armazenadas em frasco âmbar à temperatura ambiente, sob vácuo, em dessecador, imediatamente após o processo SD, a fim de minimizar a absorção de umidade entre a produção e a realização dos ensaios. O rendimento do processo foi calculado, em porcentagem, pela razão entre a massa de pó coletada e a massa inicial de sólidos presentes na solução antes da secagem por SD, multiplicada por 100.

4.2.5. Caracterização das formulações

4.2.5.1. Difração de raios X em pó (PDRX)

Os difratogramas de raios X do MTK, dos excipientes e das formulações foram obtidos em difratômetro Lab X XRD-6100 (Shimadzu, Japão), equipado com fonte de radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). As amostras em pó foram analisadas em voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA, com taxa de varredura $2^\circ/\text{min}$, em uma faixa angular de 2 a 60° (2θ) e passo de $0,02^\circ/\text{s}$.

4.2.5.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das partículas foi avaliada em microscópio Zeiss FIB-SEM Auriga 40 (Zeiss Microscopy GmbH, Alemanha), operado sob alto vácuo, com voltagem de 2 kV. As amostras foram suavemente distribuídas sobre fitas adesivas dupla face previamente fixadas em suportes (*stubs*) de alumínio. O excesso de pó foi removido por jato de ar e, em seguida, as amostras foram metalizadas com uma camada de ouro de aproximadamente 15 nm de espessura, sob vácuo. As micrografias foram obtidas aleatoriamente em diferentes magnificações. O tamanho médio geométrico das partículas nas formulações foi determinado medindo a distância perpendicular entre lados opostos das partículas (>100 partículas por amostra), utilizando o software ImageJ 1.53 (National Institutes of Health, Maryland, EUA), conforme descrito por Acosta e colaboradores (2021).

4.2.5.3. *Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

As análises foram realizadas em calorímetro exploratório diferencial DSC-60 (Shimadzu, Japão). Amostras foram precisamente pesadas (1–2 mg) em cadinhos de alumínio selados e aquecidas de 25 a 300 °C, à razão de aquecimento de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min), de acordo com método descrito por Shruthi colaboradores (2013). A temperatura de transição vítrea (T_g) do MTK tal como fornecido foi determinada pelo método de *melt quench*, aquecendo-se rapidamente a amostra (10 °C/min) até 150 °C e, em seguida, promovendo-se o resfriamento rápido (até 0 °C) com nitrogênio líquido. Posteriormente, a amostra foi aquecida na faixa de 0 a 300 °C, a uma razão de aquecimento de 5 °C/min. A T_g foi definida como o ponto médio da transição e os demais eventos foram reportados a partir da temperatura de início dos processos endo ou exotérmicos.

4.2.5.4. *Umidade residual*

Os teores de umidade dos pós obtidos por SD foram determinados por termogravimetria (TG), utilizando-se um analisador termogravimétrico TG-50 (Shimadzu, Japão). Aproximadamente 3 a 5 mg de cada amostra de pó foram pesados em cadinho de platina aberto. Sob atmosfera de nitrogênio (vazão de 50 mL/min), as amostras foram aquecidas de 25 a 700 °C, à razão de aquecimento de 10 °C/min. O teor de umidade residual foi definido como a perda de massa observada na faixa de 25 a 100 °C em relação à massa inicial (Simon et al., 2016). Os valores reportados correspondem à média de três determinações.

4.2.5.5. *Densidade aparente e compactada*

A densidade das formulações foi determinada utilizando proveta graduada de 5 mL, preenchida com equivalente a 1 mL de pó. O volume inicialmente ocupado pelo pó foi considerado o volume aparente (V_0) e a densidade aparente (d_a) foi determinada como a razão entre a massa da amostra e seu volume aparente. A densidade compactada (d_c) foi obtida através da compactação das amostras previamente utilizadas para a determinação da densidade aparente, manualmente submetidas a 100 batidas a uma altura de 5 cm sobre uma superfície nivelada. A densidade

compactada foi calculada pela razão entre a massa e o volume final compactado. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

4.2.5.6. *Avaliação das propriedades de fluxo*

O índice de Carr (IC) e a razão de Hausner (H) foram calculados e utilizados na caracterização de densidade dos pós de acordo com metodologia farmacopeica (USP, 2025) pelas das equações 4 e 5:

$$IC = \frac{d_a - d_c}{d_a} \times 100$$

Equação 4

$$H = \frac{d_c}{d_a}$$

Equação 5

Nas quais d_a e d_c correspondem, respectivamente, a densidade aparente e densidade compactada das formulações.

4.2.5.7. *Sorção dinâmica de vapor*

As isotermas de sorção-dessorção de vapor de água das formulações de MTK foram obtidas por meio de um analisador gravimétrico automatizado de sorção de vapor, DVS Advantage-1 (Surface Measurements Systems Ltd., Reino Unido). As amostras foram equilibradas a 0% de umidade relativa (UR) até que uma massa de referência seca constante fosse registrada. As amostras foram expostas ao seguinte perfil de UR: 0–90% em etapas de 10% e o inverso para dessorção a $25,0 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Em cada estágio, a massa da amostra foi deixada atingir o equilíbrio, ou seja, mudança de peso ao longo de 10 min ($dm/dt \leq 0,002 \text{ mg/min}$). A quantidade de absorção de água para cada estágio de UR foi expressa como % da massa seca da amostra (m_0). Um mínimo de duas análises foram realizadas para cada amostra.

4.2.5.8. Avaliação do desempenho aerodinâmico *in vitro*

A deposição pulmonar das formulações de pós secos por pulverização foi estimada usando um NGI (Copley Scientific Limited, Reino Unido), aparato 5, operado sob condições farmacopeicas (USP, 2025). A vazão foi ajustada para atingir uma queda de pressão de 4 kPa no inalador de pó de alta resistência RS01 (Plastiape, Osnago-Lecco, Itália) e o tempo de aspiração foi ajustado para obter fluxo de ar de 4 L. Nesta condição, o fluxo sônico crítico foi garantido ($P3/P2 < 0,5$) e assumiu uma vazão estável. Os estágios NGI (estágios 1 a 7 e filtro) foram revestidos com 1 mL de fase móvel de CLAE para molhar as superfícies de coleta. O inalador de pó seco foi carregado com uma cápsula de gelatina dura nº 3 contendo 20 ± 2 mg de pó, precisamente pesado, para cada teste de formulação. Após a deposição no NGI, os pós foram coletados de cada estágio individualmente (dispositivo, garganta, estágios 1 a 7 e filtro), diluídos volumetricamente em um volume adequado de fase móvel, as soluções foram filtradas através de membrana de filtro de tamanho de poro de $0,45 \mu\text{m}$ (filtro de seringa Millipore®, PVDF, 13 mm de diâmetro) e quantificadas por CLAE, utilizando o método descrito anteriormente (item 4.2.1.). Uma curva padrão na faixa de 0,5 a 200 $\mu\text{g/mL}$ foi utilizada para a quantificação de MTK nos estágios. O perfil de deposição de cada formulação foi determinado em quadruplicata e os resultados apresentados são os resultados médios $\pm$ o desvio padrão das replicatas.

A ED foi determinada como a porcentagem da massa total de pó que sai da cápsula. A quantidade total de partículas com diâmetros aerodinâmicos menores que 5 e $3 \mu\text{m}$ foi calculada por interpolação a partir do inverso da distribuição de massa cumulativa normal padrão menor que o tamanho de corte declarado em relação ao logaritmo natural do diâmetro de corte dos respectivos estágios. Essa quantidade foi considerada como a FPF abaixo de $5 \mu\text{m}$ e $3 \mu\text{m}$, e expressa como percentual da ED. O MMAD das partículas foi determinado a partir do mesmo gráfico do tamanho de partícula correspondente ao ponto de 50% da distribuição cumulativa. O GSD foi calculado de acordo com a equação 6 (Simon et al., 2024):

$$GSD = \sqrt{\frac{\text{Tamanho } X}{\text{Tamanho } Y}}$$

onde Tamanho X é o tamanho de partícula correspondente ao ponto de 84% e Tamanho Y é o tamanho de partícula correspondente ao ponto de 16% da distribuição cumulativa.

4.2.5.9. Dissolução

Para investigar a liberação do fármaco a partir de formulações DPI, testes de dissolução foram realizados em meio biorrelevante (FPS1), uma vez que esse meio representa o fluido extracelular das regiões mais distais do pulmão (Marques, Loebenberg, Almukainzi, 2011). Quantidades de 20 mg de formulações DPI foram dispersas em frascos de vidro posteriormente selados contendo 20 mL de FPS a 37 °C e mantidos sob agitação utilizando um agitador magnético com aquecimento (IKA, Alemanha). O volume utilizado corresponde ao volume aproximado do fluido de revestimento pulmonar (10-30 mL) (Bastola; Young; Das, 2021; May et al., 2015) e foi calculado para garantir as condições *sink* de solubilidade do fármaco no meio em estudo.

Em tempos predeterminados (10, 15, 30, 60 e 120 minutos), amostras (500 µL) foram coletadas e filtradas em membrana com tamanho de poro de 0,45 µm e as concentrações de MTK dissolvido foram determinadas por CLAE conforme método descrito anteriormente (item 4.2.1). As formulações foram avaliadas em comparação com o MTK como fornecido (controle). A quantidade de MTK dissolvido foi estabelecida através de uma curva padrão na faixa de concentração de 1 a 12 µg/mL. Todas as análises foram realizadas em quadruplicata.

4.2.5.10. Citotoxicidade

Estudos de citotoxicidade foram realizados utilizando metodologia previamente descrita, na qual baseia-se na capacidade da enzima succinato desidrogenase mitocondrial em reduzir o reagente MTT, resultando na formação de cristais insolúveis de formazan nas mitocôndrias das células viáveis (Mosmann, 1983).

As linhagens celulares Calu-3 (código 0264), uma linhagem epitelial brônquica humana, e J774A.1 (código 0121), uma linhagem de macrófagos representativa das primeiras células do sistema imune a responderem à presença de patógenos, foram

adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, RJ, Brasil).

As células Calu-3 foram cultivadas em meio Eagle modificado de Dulbecco de baixa concentração de glicose (*Dulbecco's Modified Eagle Medium* – DMEM), suplementado com 20% de soro fetal bovino (SFB), 1 mM de piruvato de sódio e 1% de solução antibiótica de penicilina/estreptomicina (10.000 U/mL e 10.000 µg/mL, respectivamente). As células J774A.1 foram mantidas em DMEM de alta concentração de glicose, suplementado com 10% de SFB e 1% de solução antibiótica. Ambas as culturas celulares foram mantidas em incubadora a 37 °C, sob atmosfera controlada contendo 5% de CO₂, sendo subcultivadas a cada 48 horas até atingirem aproximadamente 80% de confluência.

A dissociação das células Calu-3 foi realizada por tripsinização, utilizando-se de 1 a 2 mL de solução de tripsina-EDTA a 0,25%, por um período de 10 a 15 minutos, de acordo com o tamanho do frasco de cultivo (25 ou 75 cm²). A neutralização da tripsina foi efetuada mediante a adição de um volume de meio de cultura duas vezes superior ao volume da solução enzimática, seguida de centrifugação a 3.000 rpm por 10 minutos. Após o descarte do sobrenadante, o pellet celular foi ressuspensionado em DMEM suplementado com 20% de SFB.

Os macrófagos J774A.1 foram destacados por meio da adição de 2 mL de DMEM contendo 10% de SFB, com auxílio de um raspador celular (cell scraper; Kasvi®, RJ, Brasil). Em seguida, adicionaram-se mais 2 mL de meio ao frasco para a recuperação completa das células desprendidas. A suspensão celular foi centrifugada a 2.500 rpm por 5 a 7 minutos, o sobrenadante foi descartado e o pellet ressuspensionado em DMEM suplementado com 10% de SFB.

4.2.5.10.1. Preparo das amostras

As amostras foram preparadas de acordo com as proporções molares presente nas formulações. O MTK, a F1-b e a F2-b foram inicialmente preparados como soluções-estoque na concentração de 3.500 µg/mL em DMSO puro. Essas soluções foram posteriormente diluídas em meio DMEM suplementado com 20% de SFB para as células Calu-3 e em DMEM contendo 10% de SFB para as células J774A.1, de modo a obter concentrações finais de 24, 42 e 60 µM. Adicionalmente, um segundo conjunto de soluções-estoque foi preparado na concentração de 700 µg/mL em DMSO, sendo posteriormente diluído nos respectivos meios de cultivo para atingir

concentrações finais de 5 e 10 μM de MTK. Todas as amostras foram mantidas protegidas da luz.

A HP β CD foi preparada a partir de uma solução-estoque na concentração de 73.000 $\mu\text{g/mL}$ em DMSO puro, sendo posteriormente diluída em DMEM contendo 20% de SFB (para Calu-3) ou 10% de SFB (para J774A.1), a fim de obter concentrações finais de 125, 250, 375 e 500 μM . De forma semelhante, a L-leucina foi preparada a partir de uma solução-estoque a 7.900 $\mu\text{g/mL}$ em DMSO e diluída nos respectivos meios de cultivo para alcançar concentrações finais de 300, 450 e 600 μM .

As condições controle incluíram DMEM suplementado com 20% de SFB ou DMEM com 10% de SFB (controles negativos), DMEM suplementado com 20% de SFB ou DMEM com 10% de SFB contendo 1% de DMSO (controles de veículo) e DMSO puro (controles positivos).

4.2.5.11. Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

As células Calu-3 (passagem 13) e J774A.1 (passagem 19) foram distribuídas em placas de 96 poços nas densidades de 5×10^4 e 3×10^4 células por poço, respectivamente, utilizando-se 200 μL de DMEM suplementado com 20% de SFB para as células Calu-3 e 10% de SFB para as células J774A.1. As placas foram incubadas a 37 °C, sob atmosfera contendo 5% de CO_2 , até que as culturas atingissem aproximadamente 80% de confluência.

Em seguida, o meio de cultivo foi substituído pelas amostras de teste. As placas contendo F1-b, F2-b ou MTK foram mantidas protegidas da luz, e as células foram incubadas a 37 °C, sob 5% de CO_2 , por 24 horas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos em dois ensaios independentes.

Após o período de exposição, o meio de cultura foi substituído por 100 μL de uma solução MTT a 0,5 mg/mL em solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4). As placas foram mantidas protegidas da luz e incubadas a 37 °C, sob 5% de CO_2 , por 3 horas. Após esse período, os cristais de formazana formados foram solubilizados pela adição de 100 μL de DMSO por poço.

A absorbância foi determinada a 562 nm utilizando um espectrofotômetro Kasuaki® DR-200BS-NM. A porcentagem de viabilidade celular foi calculada de acordo com a Equação 7 (Matilainen et al., 2008).

$$\% \text{ células vivas} = \frac{\text{absorvância das células tratadas}}{(\text{média das absorvâncias das células sem tratamento}) \times 100}$$

Equação 7.

4.2.6. Estabilidade

Amostras das formulações DPI foram analisadas em relação ao seu conteúdo de MTK após o armazenamento por 60 dias em frasco âmbar, em dessecador sob vácuo, à temperatura ambiente.

Para a determinação do teor de MTK nas formulações durante os estudos de estabilidade, aproximadamente 5 mg da formulação (equivalente, teoricamente, a 0,5 mg de MTK) foram pesados com precisão e diluídos em metanol, obtendo-se igualmente uma concentração final de 50 µg/mL. O teor (%) de MTK foi determinado por meio de curva analítica construída na faixa de concentração de 30 a 70 µg/mL.

Após o preparo e a diluição, as amostras foram filtradas em filtro de seringa com tamanho de poro de 0,45 µm (Millipore®, PVDF, 13 mm de diâmetro) e, em seguida, analisadas de acordo com o método cromatográfico previamente estabelecido (item 4.2.1.).

4.2.7. Análise estatística

Todos os resultados expressos foram calculados como média ± desvio padrão (DP). Diferenças significativas foram avaliadas por meio de análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida por teste de *Dunnett* para comparações múltiplas. Todas as análises estatísticas foram realizadas em software Prism 10 (GraphPad Software Inc., EUA). Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo estatisticamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Solubilidade em equilíbrio

A Figura 5 apresenta a curva de calibração obtida para quantificação das amostras de solubilidade (A) e um cromatograma HPLC representativo (B).

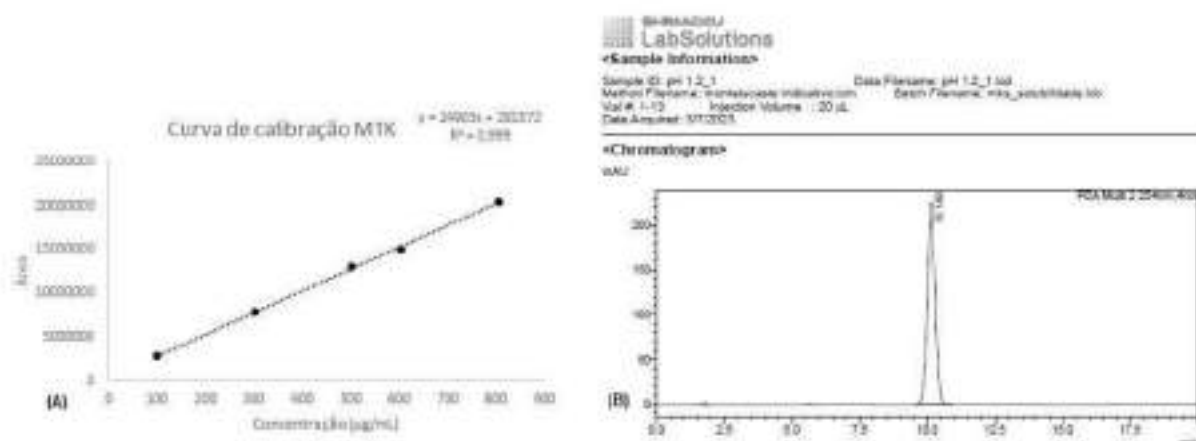


Figura 5. Curva de calibração referente a quantificação das amostras de solubilidade de MTK (A) e um cromatograma HPLC representativo (B).

A Figura 6 apresenta os resultados de solubilidade em equilíbrio do MTK sódico em água, soluções tampões e FPS, em diferentes valores de pH.

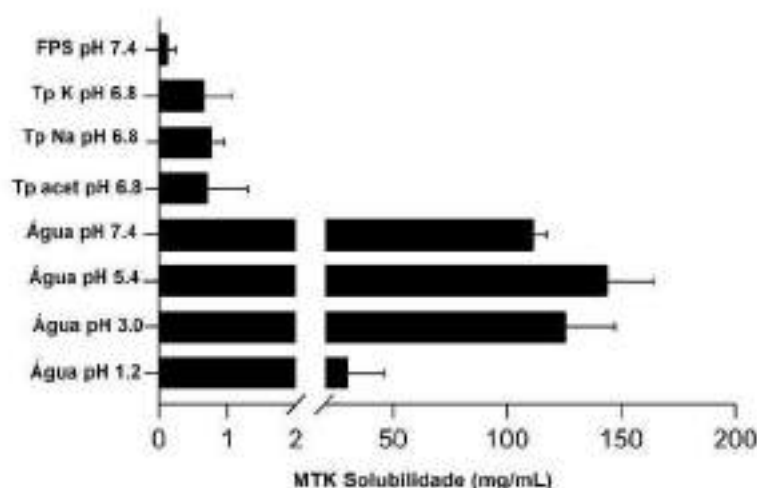


Figura 6. Resultados de solubilidade em equilíbrio do MTK sódico em água em diferentes valores de pH, em tampão fosfato de potássio (Tp K), tampão fosfato de sódio (Tp Na), tampão acetato de sódio (Tp acet) e FPS.

Embora os valores absolutos de solubilidade do MTK obtidos experimentalmente não corroborem a baixa solubilidade frequentemente descrita na literatura, o perfil de solubilidade em função do pH apresentou comportamento consistente com o descrito por Okumu, DiMaso e Löbenberg (2008), caracterizado por menor solubilidade em meio ácido e aumento progressivo em pH mais elevados. Em meio aquoso pH 1,2, a solubilidade observada foi de 30,16 mg/mL, aumentando aproximadamente cinco vezes em pH intermediários e atingindo valor máximo de 143,97 mg/mL em água pura (pH 5,4). Esses valores situam-se na mesma ordem de grandeza daqueles reportados por Soni e colaboradores (2012) para o MTK sódico em água purificada ($100 \pm 0,16$ mg/mL), ainda que diferenças metodológicas devam ser consideradas.

A dependência da solubilidade em relação ao pH também foi observada por Martir e colaboradores (2020), que relataram aumento progressivo da solubilidade do MTK em tampões com $\text{pH } 1,2 < 4,5 < 6,8$, atribuindo esse comportamento à ionização do grupamento amino do fármaco ($\text{pK}_a \approx 5,8$). Em condições ácidas, o MTK tende a converter-se na forma não ionizada (ácido livre), favorecendo a formação de espécies pouco solúveis, enquanto em pH acima do pK_a a fração ionizada tende a aumentar, resultando em maior solubilidade aparente (Zhang et al., 2025).

A avaliação da solubilidade do MTK em tampões pH 6,8 contendo diferentes sais (acetato de sódio, fosfato de sódio e fosfato de potássio) não evidenciou diferenças relevantes entre meios de pH equivalente, independentemente da composição salina, com valores variando entre 0,67 e 0,77 mg/mL nos tampões. Em tampão fosfato pH 6,8, a solubilidade determinada (0,67 mg/mL) foi superior à reportada por Okumu et al. (2008) ($\sim 0,008$ mg/mL), porém substancialmente inferior à descrita por Soni e colaboradores (2012) ($95 \pm 0,275$ mg/mL) (Soni; Gali Vidya Sagar; Sharma, 2012). Essas discrepâncias em meios com pH semelhante reforçam que, além do pH, outros fatores físico-químicos relacionados tanto aos solventes (como força iônica, capacidade tamponante, osmolalidade e tensão superficial) como ao próprio fármaco (especialmente o estado sólido) influenciam na solubilidade observada para o MTK (Martir et al., 2020).

No presente estudo, o MTK utilizado apresentou natureza predominantemente amorfa, conforme caracterização subsequente, enquanto que estudos prévios reportaram o emprego de formas cristalinas do fármaco (Okumu; DiMaso; Löbenberg, 2008; Thibert et al., 1996). Considerando que as substâncias amorfas tendem a

apresentar maior solubilidade aparente em relação às cristalinas (Mota et al., 2009), esse aspecto pode contribuir, ao menos parcialmente, para os valores observados, embora não permita explicação isolada das diferenças entre os resultados.

Apesar da variação na composição do fluido de revestimento pulmonar ao longo do trato respiratório, seu pH mantém-se relativamente constante em torno de 6,7 em indivíduos saudáveis (Floroiu et al., 2024). A solubilidade de equilíbrio do MTK em tampões salinos pH 6,8 e, de forma mais pronunciada, em FPS pH 7,4 foi consideravelmente inferior (0,205 mg/mL) à observada em água purificada. Tal redução pode ser atribuída ao aumento da força iônica do meio, que diminui a concentração micelar crítica do MTK e favorece a agregação do fármaco em complexos de alto peso molecular, conforme sugerido por Thibert e colaboradores (1996). Como o FPS representa de forma mais próxima a composição iônica do fluido pulmonar, os resultados obtidos indicam que, após a deposição das partículas no pulmão, a dissolução do MTK pode ser limitada, potencialmente tornando a etapa de dissolução um fator relevante para a absorção pulmonar. Essa observação é consistente com a natureza hidrofóbica do MTK e com sua classificação como fármaco da classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

5.2. Perfil de solubilidade de fase

Estudos solubilidade de fase, nos quais a solubilidade de um fármaco (em mol/litro) é correlacionada à concentração molar da CD, constituem ferramenta comumente utilizada para estimar tanto a eficiência de complexação (afinidade fármaco-CD) quanto a estequiometria dessa interação (Hou et al., 2025). Considerando que os resultados de solubilidade indicaram alta solubilidade do MTK em meios aquosos, porém o menor valor em FPS, optou-se pela condução dos estudos de solubilidade de fase especificamente nesse meio biorelevante. Essa escolha permite avaliar o potencial da associação MTK:HP β CD para incrementar tanto a solubilidade quanto a estabilidade do fármaco nas condições pulmonares de interesse terapêutico para formulações DPI. A HP β CD foi selecionada para esse estudo considerando sua alta solubilidade em água (maior que 600 mg/mL), baixo perfil toxicológico, disponibilidade comercial e, conseqüentemente, menor custo. Em nossos estudos preliminares, a β -ciclodextrina foi avaliada, porém, devido à baixa solubilidade em meios aquosos, esta não pôde ser utilizada.

Os resultados obtidos são apresentados na Figura 7.

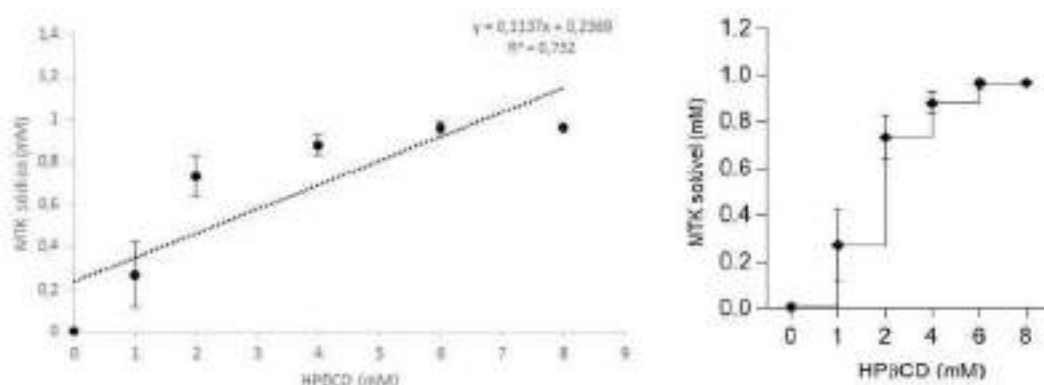


Figura 7. Perfil de solubilidade de fase do MTK com HPβCD em fluido pulmonar simulado.

De acordo com o diagrama de solubilidade de fase (Figura 7), a solubilidade aparente do MTK aumentou em função da concentração de HPβCD, alcançando incremento de 278 vezes na faixa de 6 a 8 mM de CD, sugerindo a formação de complexos hidrossolúveis. A regressão linear dos dados permitiu calcular a eficácia de complexação ($EC = 0,128$). A EC descreve a razão entre o complexo de ciclodextrina e as ciclodextrinas livres (Mohtar et al., 2017), correspondendo a uma razão aproximada de 1:8. Isto é, em média, uma em cada oito moléculas de HPβCD em solução formam um complexo com uma molécula de MTK. Tais resultados confirmam a viabilidade da estratégia para superar a baixa solubilidade do MTK em FPS, otimizando a dissolução pulmonar em formulações DPI.

5.3. Preparo dos pós DPI por SD

As proporções fármaco:ciclodextrina foram inicialmente definidas com base na razão molar ideal previamente determinada para a associação MTK/HPβCD. A partir desse critério, foram propostas formulações destinadas à administração inalatória de MTK contendo razões fármaco:CD de 1:8 (formulação F1) e 1:7 (formulação F2, com adição de 10% de L-leucina). Essas composições foram delineadas de modo a manter proporções fixas entre o fármaco e os excipientes, permitindo avaliar especificamente o impacto da incorporação de L-leucina nas propriedades das partículas, sem comprometer a complexação do MTK.

Adicionalmente, os resultados obtidos no estudo de complexação (Figura 7),

evidenciaram um ganho expressivo de solubilidade do fármaco já em proporções molares fármaco:CD iguais a 1:2. Com base nessa evidência e considerando que, por razões toxicológicas, tecnológicas e econômicas, é desejável utilizar a menor quantidade possível de CD em preparações farmacêuticas (Loftsson; Másson, 1999), foram propostas as formulação F3 e a formulação F4 (esta última contendo 10% de L-leucina). Essas formulações visaram avaliar o desempenho dos pós DPI de MTK contendo HP β CD na proporção molar mínima de 1:2.

As formulações F1-a, F2-a, F3-a e F4-a foram produzidas no *spray dryer* LabMaq MSD 1.0 (equipamento "a"), utilizando as faixas de parâmetros de processo descritas na Tabela 2. Os resultados da avaliação dessas formulações são apresentados na Tabela 3.

Os rendimentos obtidos para formulações processadas no equipamento "a" variaram entre 12% e 17%. Considerando que o rendimento típico do processo de SD situa-se entre 40% e 70%, valores significativamente inferiores podem representar uma limitação à sua aplicação em escala industrial (Cabral-Marques; Almeida, 2009). A análise de teor de MTK sódico (Tabela 3) indicou que a maioria das formulações apresentou taxas de recuperação superiores a 90%, sugerindo ausência de perdas significativas do fármaco durante o processo de secagem, bem como a estabilidade do MTK nas condições experimentais e no sistema solvente escolhido. Entretanto, valores inferiores de teor foram observados para as formulações F3-a e F4-a, correspondentes a $89,75 \pm 1,44\%$ e $87,92 \pm 1,28\%$, respectivamente. Esse comportamento coincidiu com os menores rendimentos obtidos para essas formulações (14,12% e 12,40%), ambas caracterizadas pelos maiores percentuais de MTK na composição (15 e 17%). Esses resultados sugerem perdas relevantes durante o processamento, possivelmente associadas à maior aderência do fármaco às superfícies internas do equipamento (Suzuki et al., 2018). Resultados semelhantes foram descritos por Abdel-Gawad e colaboradores (2020) e Faramarzi *et al.* (2015), que relataram rendimentos significativamente menores em formulações produzidas por SD com maior concentração de MTK, atribuídos ao aumento da adesividade e à maior retenção de material no ciclone. Assim, os dados indicam que o aumento da fração de MTK constitui um fator crítico limitante para o rendimento do processo.

Além da composição, o desenho do equipamento e, em particular, o mecanismo de separação do ciclone exercem influência significativa sobre o rendimento final, especialmente no caso de partículas com diâmetro inferior a 5 μm

(Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2021; Simon et al., 2024; Singh; Rana, 2021). Partículas nessa faixa apresentam menor eficiência de coleta e podem ser carregadas para a exaustão quando o processo de separação é ineficiente, resultando em rendimentos típicos entre 15% e 20% na ausência de um ciclone adequado (Singh; Rana, 2021).

Com base nos resultados de desempenho do processo e na caracterização *in vitro* dos pós, as formulações mais promissoras (F1-a e F2-a), que apresentaram maiores taxas de recuperação do IFA, foram reproduzidas no *spray dryer* Büchi B-290 (equipamento "b"). Adicionalmente, foi proposta a formulação F5, contendo 20% de L-leucina, com o objetivo de avaliar o impacto do aumento da concentração desse excipiente nos resultados obtidos. Ressalta-se que ambos os equipamentos apresentam configurações semelhantes, incluindo bico de atomização de dois fluidos com diâmetro de 0,7 mm e secagem em regime co-corrente, tendo sido empregados parâmetros operacionais equivalentes (Tabela 2). No entanto, o equipamento "b" possui um ciclone separador de alto desempenho, mais eficiente em coletar partículas menores que 2 μm (Amaro et al., 2011; Focaroli et al., 2019), possibilitando rendimentos de até 70% (Cabral-Marques; Almeida, 2009). Além disso, o revestimento condutor do equipamento reduz a adesão de partículas às paredes do ciclone, favorecendo a recuperação do material (Buchi, 2024). Essas características estão diretamente associadas aos maiores rendimentos observados para as formulações produzidas no equipamento "b", cujos valores foram aproximadamente quatro vezes superiores aos obtidos no equipamento "a", situando-se na faixa de 54% a 65%, concomitantemente a teores de MTK superiores a 97% (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados de rendimento (%), diâmetro geométrico (μm), unidade residual (%), teor (%), densidades (g/cm^3) e parâmetros de fluidez das formulações.

Código da formulação	F1-a	F2-a	F3-a	F4-a	F1-b	F2-b	F5-b
Dose (mg)	1	1	3,13	3,45	1	1	1
Proporção molar fármaco/CD	1:8	1:7	1:2	1:2	1:8	1:7	1:6
Concentração de L-leucina (%)	-	10	-	9,10	-	10	20
Rendimento (%)	16,35	14,95	14,12	12,40	64,44	54,16	63,40
Teor MTK (%)	92,12 $\pm$ 2,31	95,28 $\pm$ 2,02	89,76 $\pm$ 1,44	87,92 $\pm$ 1,28	100,94 $\pm$ 2,43	100,66 $\pm$ 0,62	97,96 $\pm$ 1,56
Diâmetro geométrico (μm)	2,30 $\pm$ 0,87	2,11 $\pm$ 0,80	2,28 $\pm$ 0,98	1,89 $\pm$ 0,89	1,17 $\pm$ 0,55	1,72 $\pm$ 0,60	1,07 $\pm$ 0,46
Umidade residual (%)	4,07 $\pm$ 0,53	4,15 $\pm$ 0,20	2,80 $\pm$ 0,04	4,35 $\pm$ 1,94	4,92 $\pm$ 0,71	4,87 $\pm$ 1,85	4,43 $\pm$ 0,81
Densidade aparente (g/cm^3)	0,141 $\pm$ 0,003	0,128 $\pm$ 0,008	0,212 $\pm$ 0,007	0,214 $\pm$ 0,008	0,207 $\pm$ 0,010	0,271 $\pm$ 0,010	0,243 $\pm$ 0,016
Densidade compactada (g/cm^3)	0,176 $\pm$ 0,004	0,174 $\pm$ 0,004	0,304 $\pm$ 0,010	0,293 $\pm$ 0,011	0,283 $\pm$ 0,013	0,326 $\pm$ 0,014	0,365 $\pm$ 0,010
Índice de Carr	20,00 $\pm$ 0,01	26,66 $\pm$ 5,77	26,66 $\pm$ 5,77	26,66 $\pm$ 5,77	26,65 $\pm$ 5,78	16,65 $\pm$ 5,78	33,32 $\pm$ 5,77
Razão de Hausner	1,25 $\pm$ 0,00	1,37 $\pm$ 0,10	1,43 $\pm$ 0,00	1,37 $\pm$ 0,10	1,37 $\pm$ 0,10	1,20 $\pm$ 0,08	1,51 $\pm$ 0,14

5.4. Difração de raios X em pó

A análise de DRX em pó também tem sido utilizada na caracterização de complexos de inclusão CD/fármaco. A comparação sistemática dos padrões de difração dos componentes isolados, das respectivas misturas físicas e dos supostos complexos de inclusão formados pode permitir avaliar mudanças nas propriedades do estado sólido como consequência de interações entre os componentes, evidenciadas pelo aparecimento ou desaparecimento de picos de difração, pela mudança dos picos característicos ou mesmo por alterações nas suas intensidades relativas (Periasamy; Kothainayaki; Sivakumar, 2021; Rezaeinia et al., 2024).

Os padrões de difração das formulações DPI contendo MTK são apresentados na Figura 8. Os difratogramas do MTK (como fornecido pelo fabricante), dos excipientes L-leucina e HP β CD, das misturas físicas (MF-1 e MF-2) e do MTK puro processado por SD (MTK-a) também foram obtidos como referência.

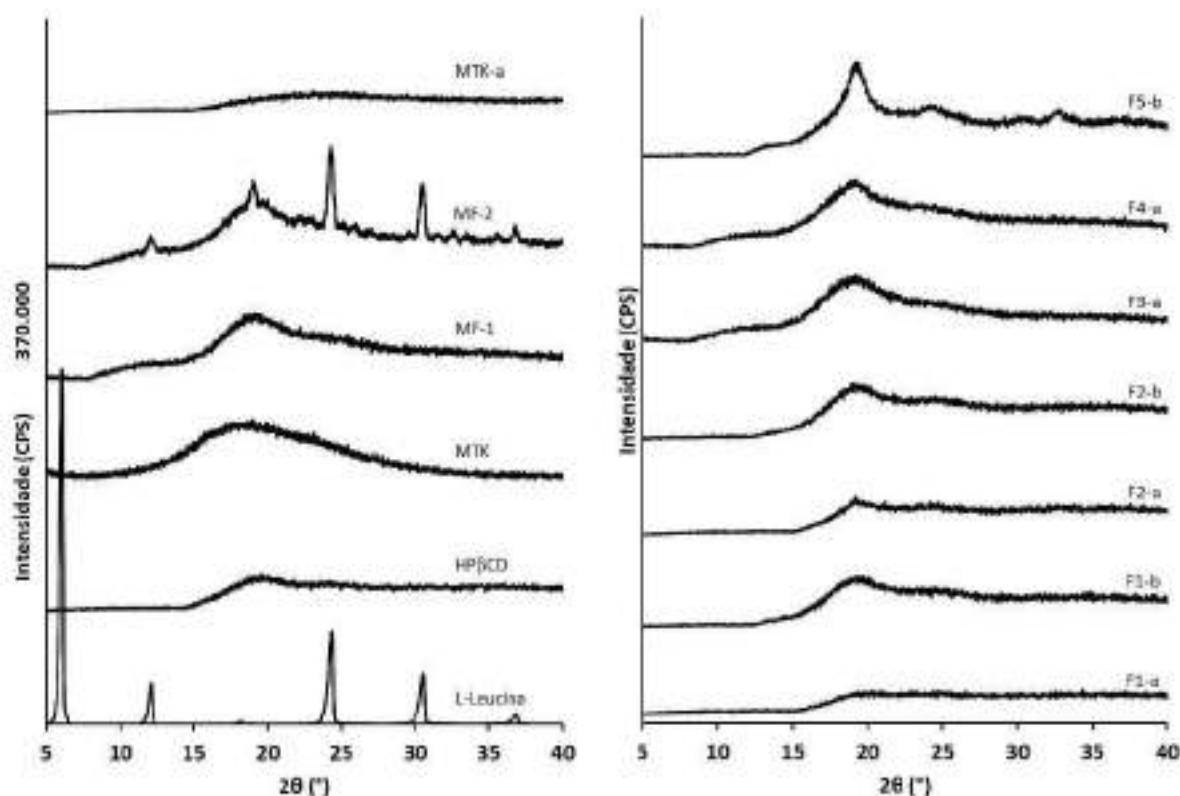


Figura 8. Difratogramas DRX do MTK, excipientes L-leucina e HP β CD, das misturas físicas (MF-1 e MF-2), MTK puro processado por SD (MTK-a) e das formulações DPI (F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b).

De acordo com dados descritos na literatura, o MTK puro apresentou padrão de difração tipo halo difuso, característico de substâncias amorfas (Abdel-Gawad et al., 2020; Barbosa et al., 2019; Faramarzi et al., 2015; Patil-Gadhe et al., 2014). De forma semelhante, a HP β CD também exibiu um padrão difuso, condizente com seu estado amorfo característico (Aziz et al., 2023; Ren et al., 2019). Em contraste, o difratograma da L-leucina apresentou picos intensos e bem definidos em 2 θ iguais a 6,1°; 12,0°; 24,3°; 30,5° e 36,9°, de acordo com a literatura, confirmando sua natureza cristalina (Eedara; Bastola; Das, 2022). Comparando-se os difratogramas das formulações DPI com aqueles das matérias-primas isoladas (Figura 8), pode-se verificar que o MTK não apresentou alteração em seu estado sólido após o processamento, mantendo-se predominantemente amorfo em todas as formulações avaliadas.

Adicionalmente, conforme apresentado na Figura 8, não foram observadas diferenças entre os padrões de difração de formulações de mesma composição produzidas em diferentes equipamentos *spray dryer* (formulações F1-a/F1-b e F2-a/F2-b). Os difratogramas das misturas físicas apresentaram-se, de modo geral, como a superposição dos padrões dos insumos puros, o que sugere a ausência de interação química entre os componentes (De Castro et al., 2020). Particularmente para a mistura física MF-2, contendo MTK, HP β CD e L-leucina, o padrão de difração evidencia uma simples mistura física, uma vez que é possível identificar os picos cristalinos característicos da L-leucina em, aproximadamente, 12,0°; 19,1°; 24,3°; 30,5° e 36,8° 2 θ . Nos difratogramas das formulações F2-a, F2-b e F4-a, que contêm o excipiente, não se verifica a presença de picos definidos, indicando a amorfização parcial dos pós no processo de SD. O mesmo padrão foi observado para a formulação F5-b, mas com um aumento do grau de cristalinidade. Esse resultado pode ser atribuído à maior concentração de L-leucina (20%) nessa formulação em relação às demais. Apesar da capacidade do processo de SD de produzir pós amorfos, estudos anteriores relatam que, em concentrações superiores a 10%, os picos referentes a L-leucina ainda podem ser observados mesmo após a secagem por pulverização (Abdel-Gawad et al., 2020; Feng et al., 2011; Momin et al., 2017; Simon et al., 2016). O aumento da cristalinidade atribuído à presença de L-leucina na superfície da partícula pode contribuir para um efeito anti-higroscópico, aumentando a estabilidade física das

formulações durante o armazenamento (Abdel-Gawad et al., 2020; Moussa et al., 2015).

Não foi possível inferir se houve a inclusão do fármaco na cavidade da CD a partir das análises das formulações SD de MTK pela técnica de PDRX. Considerando que tanto o MTK como a HP β CD utilizados são compostos originalmente amorfos, como evidenciado pelos difratogramas das substâncias isoladas (Figura 8), e que as formulações foram obtidas por um processo que favorece a amorfização, a técnica apresenta limitações para distinguir entre a formação de um complexo de inclusão fármaco-CD ou uma mistura homogênea de componentes amorfos (Mura, 2015).

5.5. Calorimetria exploratória diferencial

A análise térmica, particularmente o DSC, possui um amplo espectro de aplicações na área farmacêutica, do controle de qualidade de matérias-primas a estudos de compatibilidade e pré-formulação, sendo aplicada na caracterização das interações do estado sólido entre IFAs e excipientes, incluindo a complexação fármaco/CD (Mura et al., 2003).

A Figura 9 apresenta a análise de MKT por DSC, tanto para determinação da temperatura de Tg do fármaco pelo método *melt quench* (curvas A e B) e do MTK como recebido (curva C).

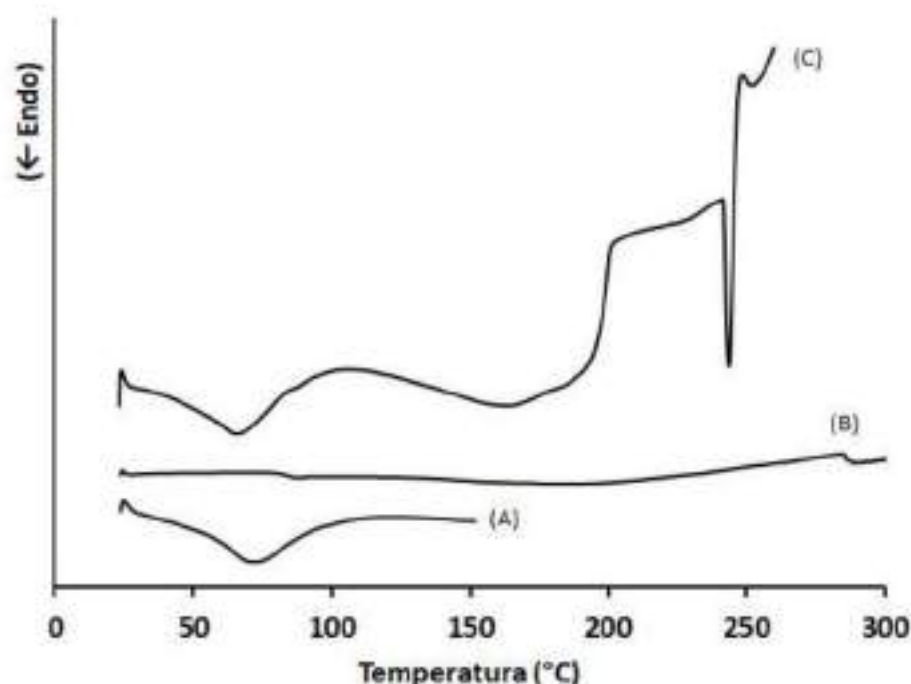


Figura 9. Análise de DSC do MTK. (A) Aquecimento a taxa de 10 °C/min até 150 °C; a amostra foi rapidamente resfriada em nitrogênio líquido e submetida a novo aquecimento a 5 °C/min até 300 °C (B) para determinação da T_g pelo método *melt quench*. (C) Termograma do MTK como recebido submetido a aquecimento a 10 °C/min.

O termograma do MTK (Figura 9) apresentou comportamento característico de um sólido amorfo. Observa-se um evento endotérmico largo em temperaturas inferiores a 100 °C (Figura 9A), condizente com a perda de umidade da matéria-prima (Barbosa et al., 2019; Moussa et al., 2015), corroborada posteriormente pelos resultados de TG. A T_g do MTK foi observada em 81,92 °C (Figura 9B)

Vários autores relatam a presença de um evento endotérmico entre, aproximadamente, 130 °C a 150 °C (Aziz et al., 2023; Mahajan; Gundare, 2014; Moussa et al., 2015; Zamani et al., 2016), correlacionado com a fusão do fármaco. No entanto, eventuais sinais endotérmicos observados imediatamente após a T_g são mais provavelmente associados à cristalização ou à perda de substâncias voláteis (Kwong et al., 2025) e não à fusão do material amorfo. No termograma do DSC (Figura 9C) é possível identificar um evento exotérmico em torno de 200 °C, indicativo de recristalização. Em temperaturas superiores a T_g , o aumento da mobilidade molecular favorece a cristalização do fármaco amorfo (Shi et al., 2020), usualmente observada como um evento exotérmico, seguida pela fusão da fase cristalina formada. Subsequentemente, observa-se uma transição endotérmica bem definida entre 230 e 250 °C, atribuída a uma possível fusão da fase cristalina formada durante o

aquecimento, com posterior decomposição acima de 250 °C, alinhada a literatura (Barbosa et al., 2019).

Os termogramas do MTK como fornecido, dos excipientes, das misturas físicas e formulações DPI obtidas são apresentadas na Figura 10.

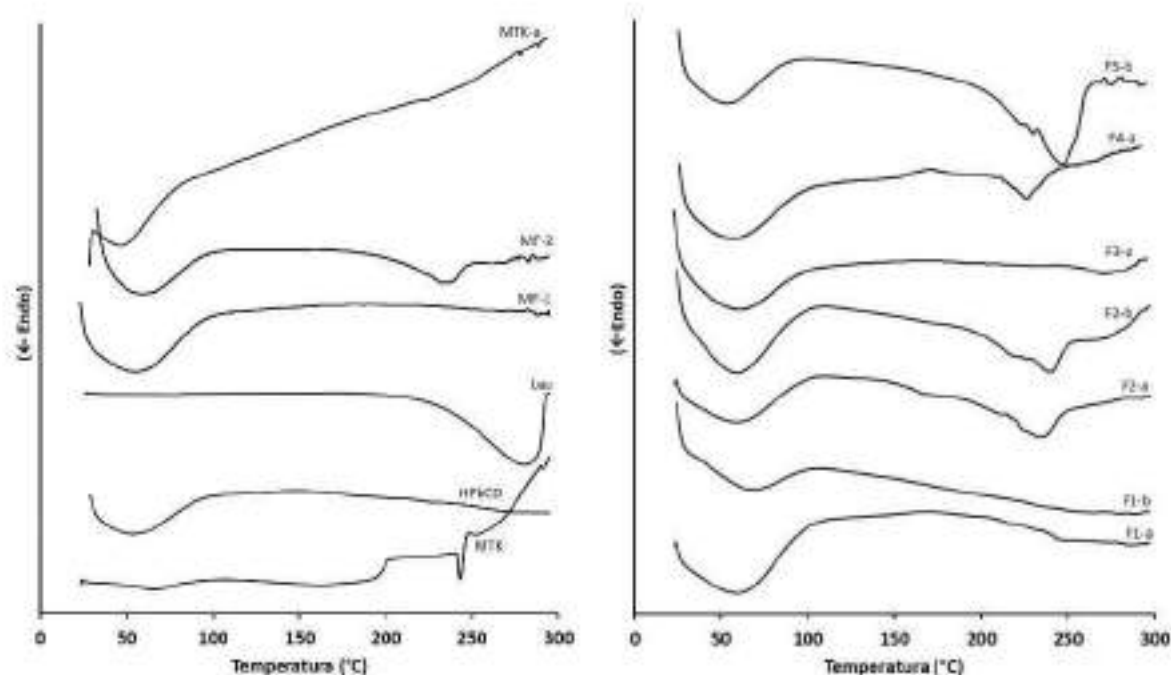


Figura 10. Curvas de DSC do MTK, dos excipientes L-leucina e HP β CD, das misturas físicas (MF-1 e MF-2), MTK puro processado por SD (MTK-a) e das formulações DPI (F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b).

A curva de DSC da HP β CD caracteriza-se por um evento endotérmico alargado entre 30 a 100 °C, correspondente a sua perda de umidade (Guo et al., 2026; Hădărugă et al., 2019). Nenhum pico distinto foi observado no termograma da HP β CD, confirmando sua natureza amorfa (Aziz et al., 2023). No termograma da L-leucina, um pico endotérmico com início em, aproximadamente, 220 °C é atribuído a sublimação da substância, já que, de acordo com a literatura, o mesmo é acompanhado pela perda de massa na análise termogravimétrica (Chang et al., 2014; Lähde et al., 2009; Li et al., 2016; Raula et al., 2008; Schoubben et al., 2019; Wang et al., 2021).

Pela análise dos resultados de DSC das formulações DPI, é possível observar que todas apresentaram um pico largo endotérmico entre 30 e 100 °C, provavelmente relacionado tanto à perda de umidade da HP β CD (excipiente em maior proporção nas

formulações) quanto do próprio processamento por SD, indicando que o processo não removeu todo o solvente durante a etapa de secagem. Os resultados da análise de termogravimetria, apresentados posteriormente, auxiliarão na avaliação da umidade residual dos pós.

As formulações F2-a, F2-b, F4-a e F5-b apresentaram um segundo evento endotérmico, representado por um pico largo e intenso entre, aproximadamente, 230° a 250 °C, devido à presença de L-leucina nas respectivas formulações. O aumento da entalpia dos picos corresponde ao aumento da concentração de L-leucina nas formulações (F5 > F2 > F4). O deslocamento do pico endotérmico de sublimação da L-leucina para um valor menor de temperatura após o processo de SD também foi previamente descrito na literatura (Bahrainian et al., 2021; Li et al., 2016). Mudanças na curva de DSC, como o alargamento ou o deslocamento do pico endotérmico, são consideradas indicativas de perda da estrutura cristalina, sugerindo possíveis interações no estado sólido entre os componentes da formulação (Mura, 2015) e efeito plastificante do excipiente (Li et al., 2016).

Todas as formulações com mesma composição (F1-a e F1-b; F2-a e F2-b) apresentaram curvas de DSC similares. O termograma DSC do MTK puro submetido à secagem por pulverização (MTK-a) confirma a amorfização do fármaco após o processo de SD, em concordância com os resultados obtidos por PDRX e com dados previamente reportados na literatura (Faramarzi et al., 2015).

Outra observação interessante refere-se ao desaparecimento da transição endotérmica referente à fusão da forma cristalina do MTK em 242 °C, mesmo nos termogramas de ambas as misturas físicas. O desaparecimento de picos de fusão na curva de DSC de misturas físicas entre fármaco-CD pode estar relacionado a capacidade da CD de inibir o crescimento de cristais de fármacos amorfos (Shi et al., 2020).

A caracterização de um complexo de inclusão verdadeiro entre MTK:HP β CD pela técnica de DSC não se mostrou conclusiva, considerando que tanto a CD como a molécula hospedeira apresentam natureza amorfa (Mura, 2015).

5.6. Termogravimetria (TG)

É geralmente aceito que a perda de massa observada durante o aquecimento da amostra da temperatura ambiente até 100 °C seja atribuída, principalmente, à

evaporação da umidade (Chen et al., 2025). De acordo com a análise de TG, o MTK apresenta perda de umidade de, aproximadamente, 4,4% até temperatura de 100 °C.

O perfil amorfo dos pós para inalação de MTK torna-os mais suscetíveis à umidade, já que substâncias amorfas tendem a ser mais higroscópicas e menos estáveis que as respectivas fases cristalinas (Adhikari; Gordon; Das, 2022; Vippagunta; Brittain; Grant, 2001). A água adsorvida pode agir como agente plastificante, diminuindo a temperatura de transição vítrea e, conseqüentemente, favorecendo a transição de fase sólida e cristalização (Burnett; Thielmann; Booth, 2004; Ziaee et al., 2017). O aumento da interação entre as partículas devido a forças capilares também pode levar ao aumento da aglomeração dos pós, reduzindo sua aerolização (Shetty et al., 2018), causando variação no desempenho entre lotes e afetando significativamente a estabilidade das formulações (Babenko et al., 2022). Considerando que valores de umidade residual elevados podem apresentar efeitos deletérios para formulações de pós secos para inalação (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2023), a umidade residual das formulações DPI de MTK foi determinada por análise termogravimétrica (Figura 11). Os resultados obtidos para todas as formulações mantiveram-se, majoritariamente, entre 4,07% e 4,92% (Tabela 3), com um valor menor para a formulação F3-a, igual a 2,80% $\pm$ 0,04%. De modo geral, conteúdo de umidade residual de até 5% é considerado aceitável para pós obtidos por SD para uso inalatório (Alhajj; O'Reilly; Cathcart, 2023; Momin et al., 2017, 2018; Razuc; Piña; Ramírez-Rigo, 2018). Assim, os valores observados neste estudo sugerem que as formulações de MTK apresentam teor de umidade compatível com a manutenção da estabilidade física, reduzindo o risco de transformações indesejáveis durante o armazenamento e o manuseio, particularmente relevantes para formulações DPI.

De acordo os termogramas das formulações F2, F4 e F5 apresentados na Figura 11, é possível também observar uma perda de massa em temperaturas superiores a 220°C, correlacionados com sublimação da L-leucina (Li et al., 2016; Raula et al., 2008), corroborando os resultados obtidos nas análises de DSC. Posteriormente, observa-se um evento com maior perda de massa, atribuído à decomposição do fármaco.

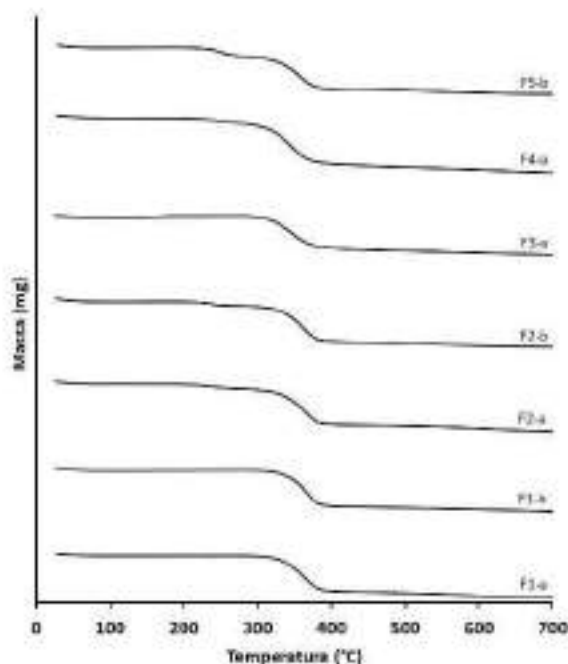


Figura 11. Curva de TGA das formulações DPI (F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b).

5.7. Microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas por MEV do MTK e da formulação MTK-a, contendo 100% do fármaco puro processado por SD, são apresentadas nas Figura 12.

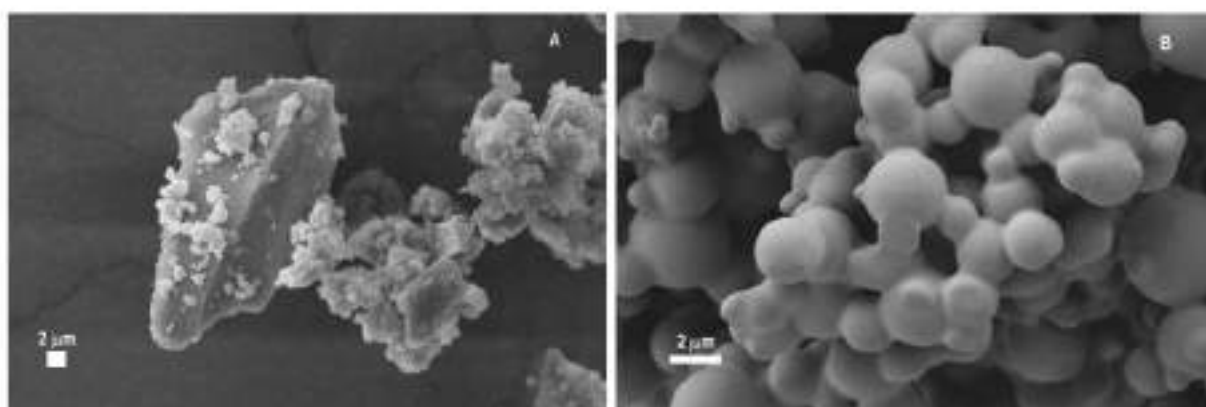


Figura 12. MEV do MTK puro como fornecido pelo fabricante (A) (Mag 5.00K x) e formulação MTK-a após processo de SD (B) (Mag 30.00K x).

O MTK (Figura 12A) apresenta distribuição de tamanho de partículas heterogênea e com dimensões inadequadas à administração inalatória ($> 10 \mu\text{m}$). Após o processo de SD do MTK puro (MTK-a), as partículas obtidas apresentaram

formato esférico, no entanto fundidas entre si (Figura 12B). Estudo prévio conduzido por Moussa e colaboradores (2015) demonstrou que o MTK obtido por SD, na ausência de excipientes, originou um pó com elevada tendência à aglomeração já nos dois primeiros dias após a preparação, mesmo quando armazenado em dessecadores. As propriedades de superfície das partículas afetam sua sensibilidade à umidade do ambiente (Zhang et al., 2022). O MTK é um fármaco altamente higroscópico (Moussa et al., 2015) e a formação de pontes sólidas e agregação irreversível das partículas pode estar relacionada à absorção de umidade (Sou et al., 2016), acentuada pela característica amorfa do IFA, com consequente redução no desempenho aerodinâmico do pó e da sua eficácia terapêutica (Gaikwad et al., 2023). Os resultados MEV obtidos tanto para o MTK puro quanto para o pó processado por SD (100% MTK) indicam que o uso de excipientes que auxiliem na dispersão das partículas e na sua proteção contra a umidade é vantajosa para formulações DPI contendo o fármaco (Abdel-Gawad et al., 2020; Moussa et al., 2015).

Assim, as micrografias das formulações DPI (F1 a F5) são apresentadas na Figura 13.

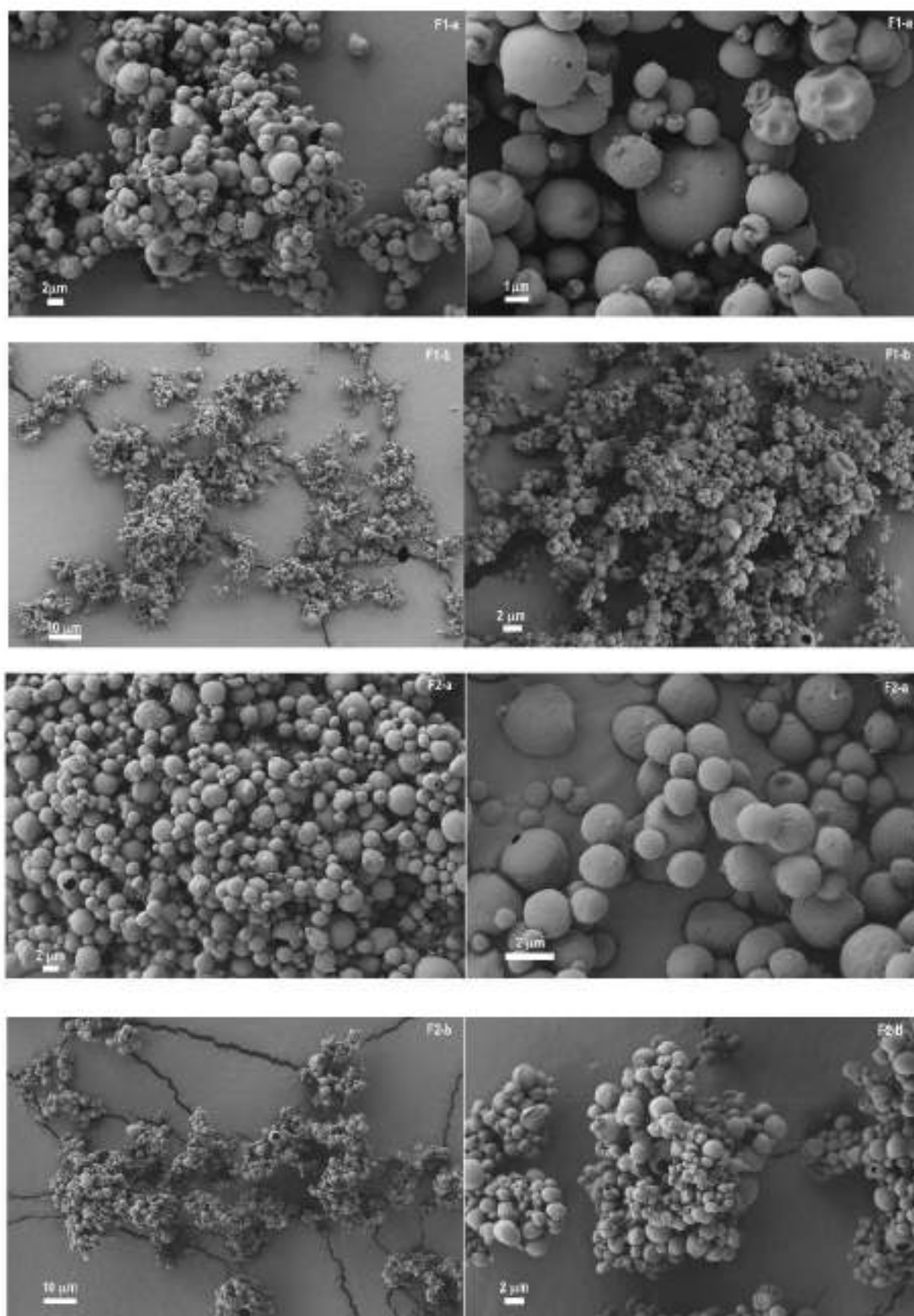


Figura 13. MEV das formulações DPI de MTK: F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b, nas magnificações de 5K x e 15K x.

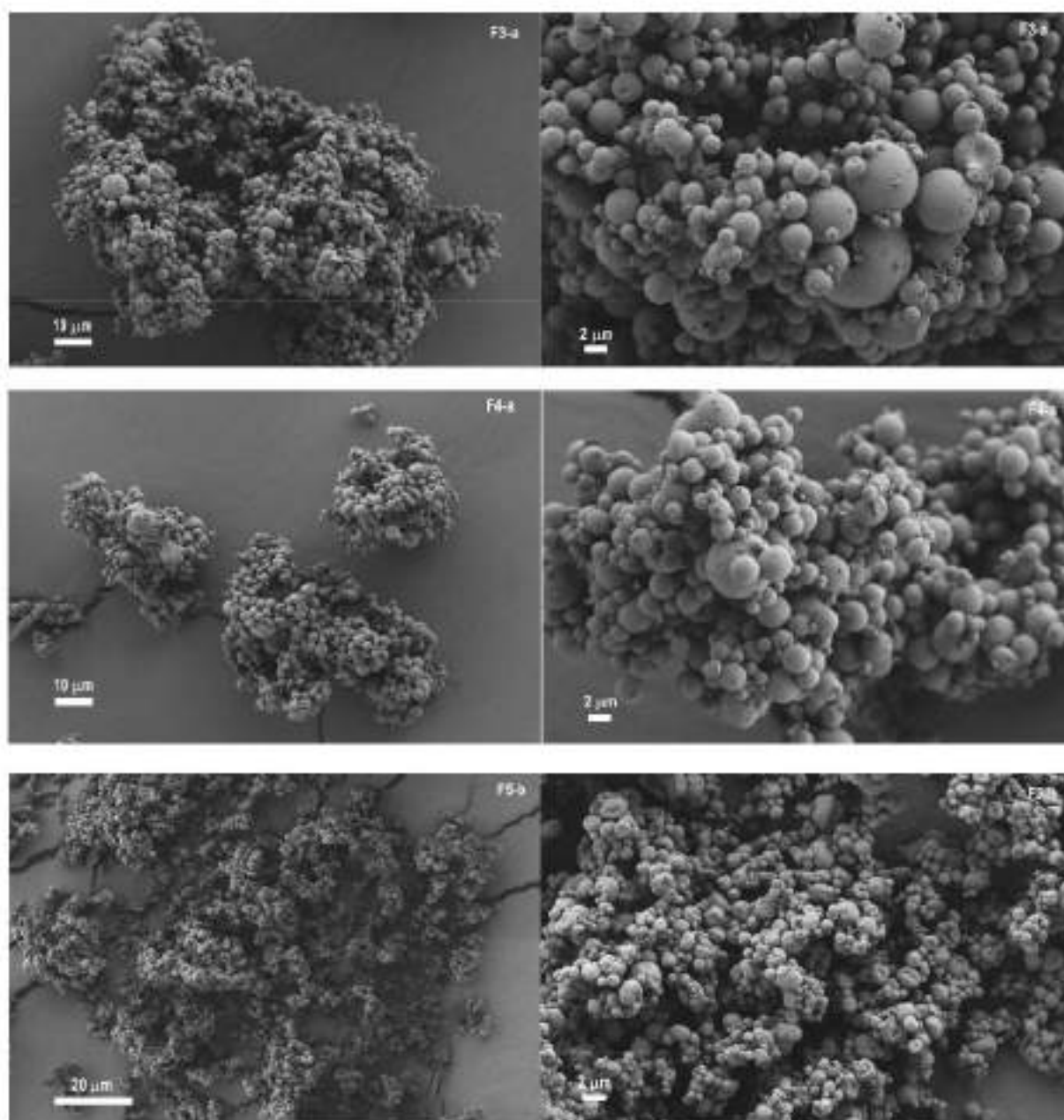


Figura 13 (continuação). MEV das formulações DPI de MTK: F1-a, F1-b, F2-a, F2-b, F3-a, F4-a e F5-b, nas magnificações de 5K x e 15K x.

Pelas imagens MEV da Figura 13 é possível observar que as partículas das formulações de MTK apresentam estrutura característica do processamento de MTK por SD (Abdel-Gawad et al., 2020; Aziz et al., 2023; Faramarzi et al., 2015; Mahajan et al., 2014), com formato esférico com superfícies suaves com paredes colapsadas. Em comparação ao fármaco puro, o processamento por SD demonstrou reduzir e uniformizar o tamanho das partículas, modificando também sua morfologia (Babenko et al., 2022). Este resultado pode ser atribuído à natureza anfifílica da CD, que favorece sua difusão superficial durante o processamento, resultando partículas circulares com morfologia mais lisa (Aziz et al., 2023). O formato esférico minimiza interações interparticulares, resultando em menor agregação das partículas e maior fluidez e aerolização (Ari et al., 2023; Hamedani et al., 2022; Simon et al., 2024).

O diâmetro geométrico das partículas dos pós secos de MTK foi determinado por ImageJ nas micrografias obtidas por MEV. A Tabela 3 demonstra que todas as formulações apresentaram diâmetro geométrico (D_g) entre 1,07-2,30 μm , sugerindo um tamanho de partícula adequado à administração inalatória por DPI. Notadamente, as formulações "b" apresentaram menores tamanhos de partículas em relação aos lotes fabricados no equipamento "a", como evidenciado pela comparação entre os D_g das formulações F1-a ($2,30 \pm 0,87 \mu\text{m}$) e F1-b ($1,17 \pm 0,55 \mu\text{m}$) e formulações F2-a ($2,11 \pm 0,80 \mu\text{m}$) e F2-b ($1,72 \pm 0,60 \mu\text{m}$) (Tabela 3).

De forma geral, as formulações DPI de MTK (Figura 13) apresentaram partículas relativamente aglomeradas, mas não fundidas entre si. Para as formulações F3-a e F4-a, no entanto, é possível observar a formação discreta de pontes sólidas em alguns pontos entre as partículas (Figura 14), indicando uma maior coesão dos pós. Este fato poderia ser explicado pela maior concentração de MTK em ambas as formulações reproduzindo, de forma menos marcante, o comportamento observado para o fármaco processado puro na formulação MTK-a (Figura 12B).

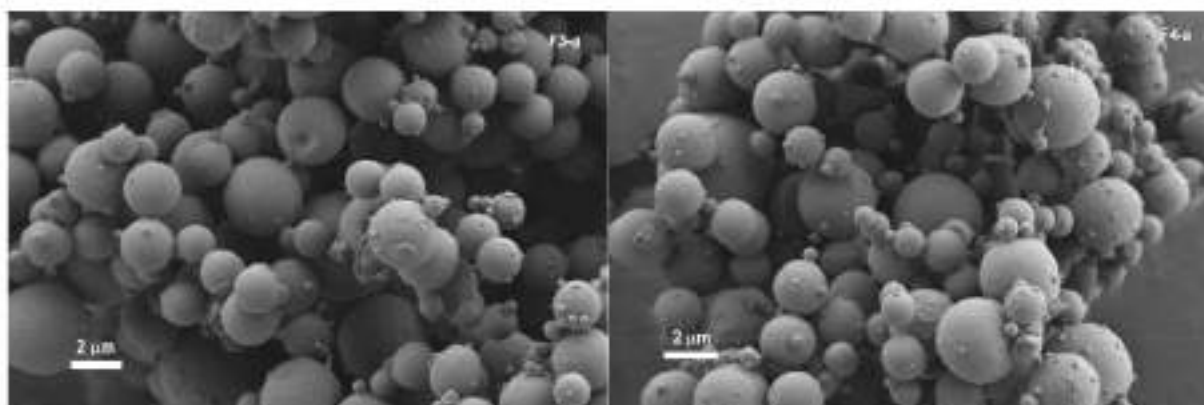


Figura 14. Microscopias das formulações F3-a e F4-a na magnificação de 30K x.

Uma superfície significativamente mais enrugada foi observada na formulação DPI F5-b (Figura 15), que apresenta a maior concentração de L-leucina (20%) em sua composição, em concordância com os resultados obtidos por Abdel-Gawad e colaboradores (2020) no desenvolvimento de micropartículas de MTK por SD. Esse aspecto rugoso, com morfologia semelhante a uma "uva passa", é geralmente atribuído à deposição preferencial de L-leucina na camada superficial seca das partículas durante o processo de SD (Mohtar et al., 2017).

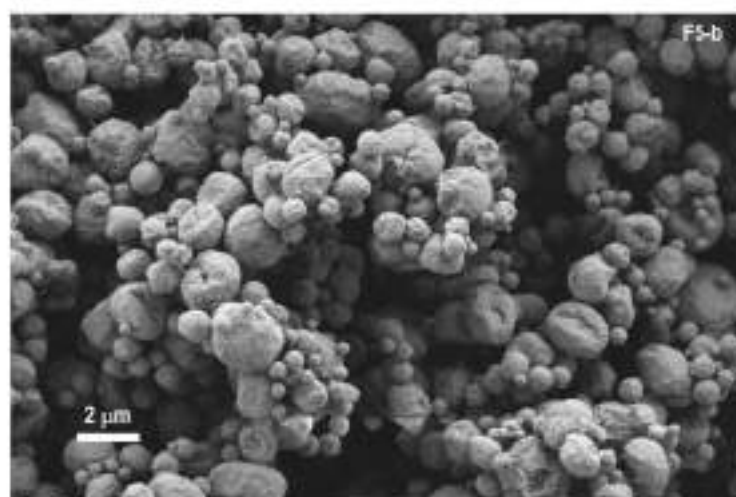


Figura 15. Microscopia da formulação F5-b (magnificação 30K x).

Nas formulações contendo menores teores de L-leucina associada à HP β CD (F2 e F4), a saturação inicial do aminoácido no sistema é relativamente baixa. Nessa faixa de concentração de leucina (até 10%), a HP β CD, presente em maior proporção e caracterizada por um número de Peclet mais elevado (Bya et al., 2025) tende a precipitar preferencialmente durante a secagem (Aziz et al., 2023). Esse

comportamento limita a cristalização precoce da L-leucina, contribuindo para a manutenção de um estado predominantemente amorfo, conforme evidenciado pelos resultados de PDRX. Esse mecanismo está de acordo com os resultados de Ordoubadi e colaboradores (2021), que demonstraram que o aumento da concentração de sacarídeos, como a trealose, reduz a mobilidade da L-leucina durante o processo de SD, inibindo sua cristalização prematura. Como consequência, observou-se uma maior fração amorfa do aminoácido em formulações com maior teor do excipiente sacarídico (Ordoubadi et al., 2021; Xu et al., 2022). Em contrapartida, quando presente em concentrações suficientemente elevadas, como na formulação F5, a L-leucina passa a desempenhar um papel dominante na dinâmica de secagem, sendo capaz de formar uma camada superficial contínua e, inclusive, encapsular moléculas de maior tamanho (Vehring, 2008), como CDs. Esse efeito é potencializado pelo uso de um sistema co-solvente hidroalcoólico, no qual o etanol evapora mais rapidamente que a água, promovendo a saturação da L-leucina na interface ar-líquido. Tal condição eleva o número de Peclet do aminoácido e favorece sua cristalização superficial. Os difratogramas de DRX apresentados anteriormente corroboram essa interpretação, ao evidenciarem maior grau de cristalinidade na amostra F5-b em comparação às demais formulações, indicando uma contribuição mais expressiva da fase cristalina de L-leucina na estrutura dos pós obtidos.

5.8. Densidade

Partículas de baixa densidade são vantajosas para uma série de aplicações, mas especialmente para a administração pulmonar de fármacos, uma vez que apresentam um incremento da dispersibilidade e eficiência de deposição em função da redução do diâmetro aerodinâmico (Chaurasiya; Zhao, 2021).

As densidades aparente e compactada das formulações DPI são apresentadas na Tabela 3. Os valores de densidade das formulações mantiveram-se entre 0,174 e 0,365 g/cm³. Valores de densidade aparente e compactada entre 0,1 e 0,4 g/cm³ são considerados adequados para formulações DPI (Chvatal et al., 2017; Ógain et al., 2011).

Em linhas gerais, as formulações “b” apresentaram os menores diâmetros geométricos e maiores densidades. Partículas menores são geralmente mais densas (Elversson; Millqvist-Fureby, 2005) e fornecem pós com maior densidade, em função

dos menores espaços interparticulares (Razuc; Piña; Ramírez-Rio, 2018). Particularmente, a formulação F5-b, com 20% de L-leucina em sua composição, apresentou os maiores valores de densidade aparente e compactada e um maior grau de rugosidade das partículas. Simon e colaboradores (2016) estabeleceram uma relação linear entre o aumento da concentração do aminoácido e o aumento da densidade dos pós (Simon et al., 2016). Zhang e colaboradores (2022) observaram que, em concentrações superiores a 20% de L-leucina em pós DPI de poli-L-lisina, a corrugação era muito profunda para manter a forma esférica das partículas, induzindo o aumento da interação entre as mesmas e, consequentemente, resultando em valores de densidade maiores (Zhang et al, 2022).

5.9. Fluidez

A avaliação da fluidez de pós, incluindo medidas indiretas como índice de Carr (IC) e razão de Hausner (RH), representa um parâmetro importante no desenvolvimento de pós secos para inalação, considerando que a variabilidade do enchimento de cápsulas está diretamente correlacionada com a reprodutibilidade de dose do medicamento (Faulhammer et al., 2018).

Segundo a Farmacopeia Americana, valores mais baixos de IC e RH implicam melhor fluidez (USP, 2025). A fluidez é considerada boa quando IC é menor que 25, enquanto IC superiores a 40 indicam pós com fluidez ruim. Os valores de RH e IC calculados para a maioria das formulações indicam pós de fluxo limite (formulações F1-a e F2-b) ou pobre (formulações F1-b, F2-a, F3-a e F4-a). A formulação DPI F5-b apresentou os valores mais altos em ambos os índices (IC = 33 e RH = 1,51), indicando maior fricção entre as partículas e fluxo classificado como muito pobre. Esses resultados sugerem que os pós contendo MTK provavelmente terão baixa fluidez, devido ao seu reduzido tamanho de partícula e alta coesividade interparticular, o que pode representar uma restrição durante o processo de encapsulamento dos pós DPI.

5.10. Sorção dinâmica de vapor (DVS)

A sorção dinâmica de vapor foi realizada para avaliar a higroscopicidade dos pós. Os resultados são apresentados na Figura 16.

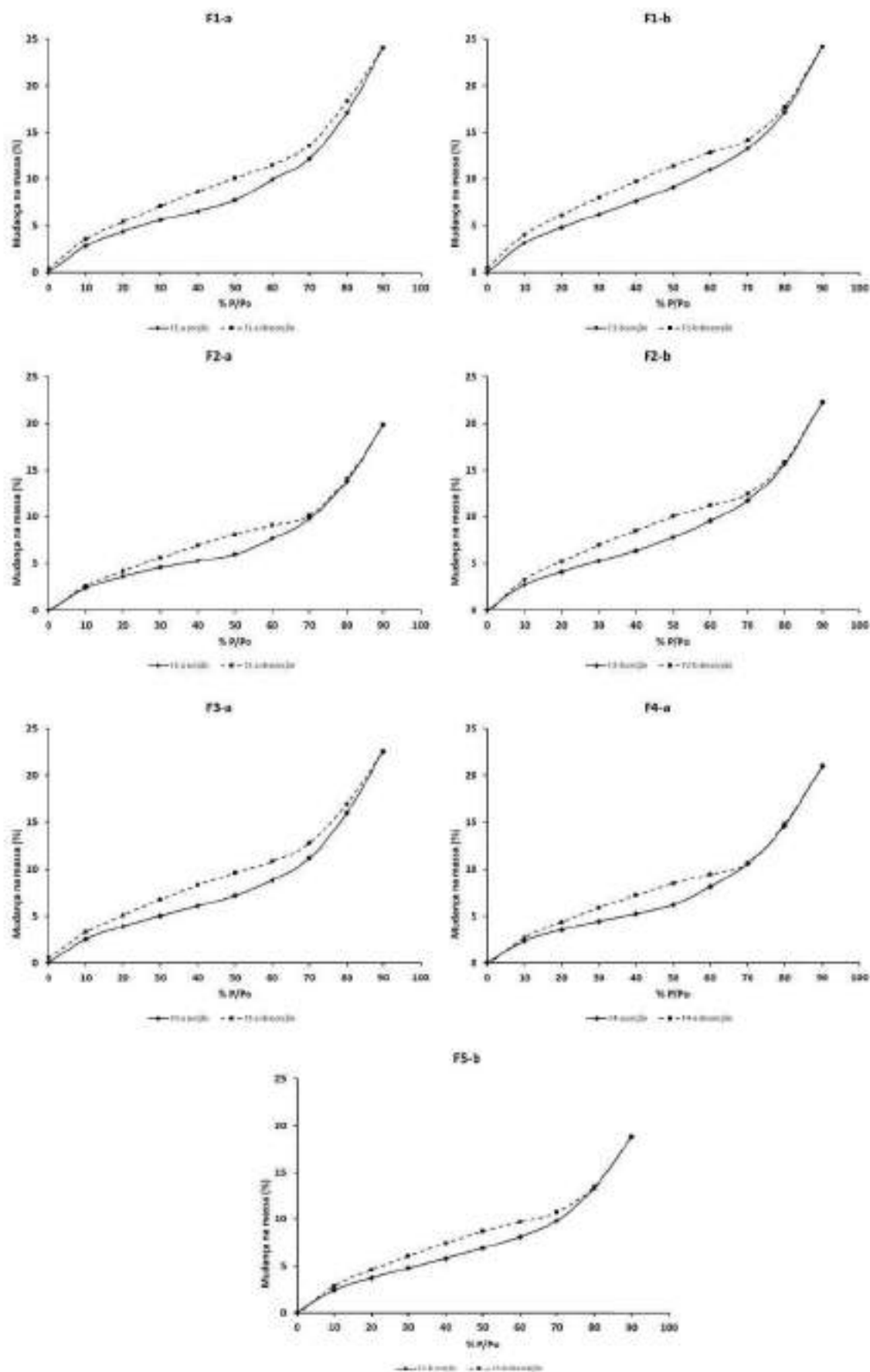


Figura 16. Isotermas DVS das formulações DPI de MTK.

Todas as formulações avaliadas apresentaram isotermas de sorção com histerese, comportamento típico de materiais higroscópicos obtidos por SD e associado à presença de fases predominantemente amorfas (Chang et al., 2014). Em todas as amostras, a captação de umidade aumentou progressivamente com o incremento da UR, atingindo valores entre 18% e 24% de ganho de massa em 90% de UR. Ao final do ciclo de sorção–dessorção, não foram observadas variações residuais de massa, indicando que o processo é reversível e não promove retenção irreversível de água nas formulações.

Esse comportamento é consistente com dados previamente reportados para pós obtidos por SD contendo elevadas proporções de HP β CD (Amaro et al., 2015; Zhao et al., 2018). Embora a HP β CD seja intrinsecamente higroscópica, estudos demonstram que sua presença pode exercer efeito anti-higroscópico em sistemas multicomponentes, reduzindo a adsorção máxima de umidade. Zhao et al. (2018), por exemplo, observaram uma relação inversa entre a concentração de HP β CD e a captação de umidade em formulações contendo rafinose, com valores inferiores a 5% quando a ciclodextrina foi empregada em concentrações superiores a 60%, contribuindo para a estabilidade física das formulações (Zhao et al., 2018).

As isotermas obtidas são do tipo IV, caracterizadas pela presença de histerese associada à adsorção de água em materiais amorfos (Amaro et al., 2015). Compostos de alto peso molecular, como a HP β CD, apresentam elevada afinidade superficial por água devido à sua superfície externa hidrofílica, favorecendo a adsorção. Entretanto, a cavidade interna hidrofóbica da CD limita a difusão da água para o interior da matriz, impedindo a absorção volumétrica e contribuindo para a reversibilidade do processo de sorção.

Além da contribuição da HP β CD, a concentração de L-leucina influenciou de forma clara a extensão da histerese e a cinética de dessorção de umidade. Observou-se uma redução progressiva das variações de massa com o aumento do teor do aminoácido, conforme evidenciado na Figura 17. A formulação F5-b, contendo a maior concentração de L-leucina, apresentou as menores variações de massa ao longo do ciclo, em comparação às formulações F2 (10% de L-leucina) e, especialmente, F1, isenta do aminoácido. Quando a L-leucina foi incorporada em proporções iguais ou superiores a 10% (formulações F2, F4 e F5), a totalidade da água sorvida foi dessorvida já em 10% de UR, indicando que a presença do aminoácido favorece a dessorção de umidade e, conseqüentemente, previne o comprometimento do

desempenho aerodinâmico dos pós (Li et al., 2016).

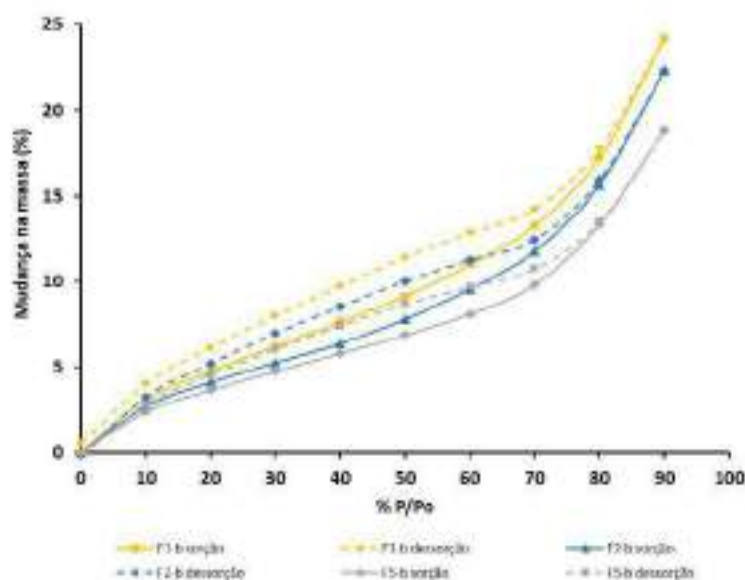


Figura 17. Isothermas DVS das formulações SD de MTK em função da concentração crescente de L-leucina.

As formulações com mesma composição, produzidas em equipamentos diferentes, apresentaram isothermas de sorção dinâmica de vapor distintas entre si, conforme demonstrado na Figura 18.

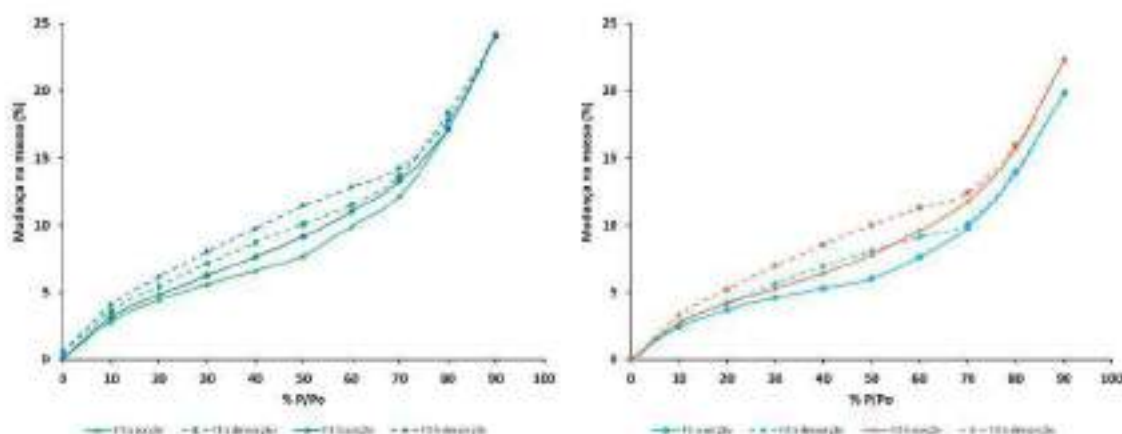


Figura 18. Comparação entre as isothermas DVS das formulações F1 (F1-a e F1-b) e F2 (F2-a e F2-b).

Os testes produzidos no equipamento "b" apresentaram mudanças de massa mais significativas em relação ao observado para as formulações correspondentes do equipamento "a". As diferenças observadas podem estar relacionadas ao menor

tamanho de partícula das formulações “b”, levando a maior sorção de umidade em função da maior área superficial (Focaroli et al., 2019).

Como discutido anteriormente para os resultados de PDRX, os pós secos para inalação de MTK apresentaram difratogramas sem picos definidos e halo característico de materiais amorfos (Figura 8). Após os ensaios de DVS, no entanto, as formulações contendo L-leucina (F2, F4 e F5) apresentaram picos cristalinos característicos em 6.1° e 19.2° 2θ (Figura 19), que podem ser atribuídos à recristalização do aminoácido (Chang et al., 2014). A presença de água adsorvida durante o DVS aumenta a mobilidade molecular do aminoácido, favorecendo sua reorganização em uma fase cristalina energeticamente mais estável. Em contraste, as formulações isentas de L-leucina (F1 e F3) mantiveram, após o DVS, um perfil essencialmente amorfo, semelhante ao observado antes do ensaio. Esse comportamento sugere que, na ausência do aminoácido, a matriz amorfa composta predominantemente por HP β CD e MTK apresenta maior resistência à recristalização induzida por umidade, possivelmente em função do efeito antiplastificante da CD e da ausência de um componente com elevada propensão à cristalização (Kwong et al., 2025).

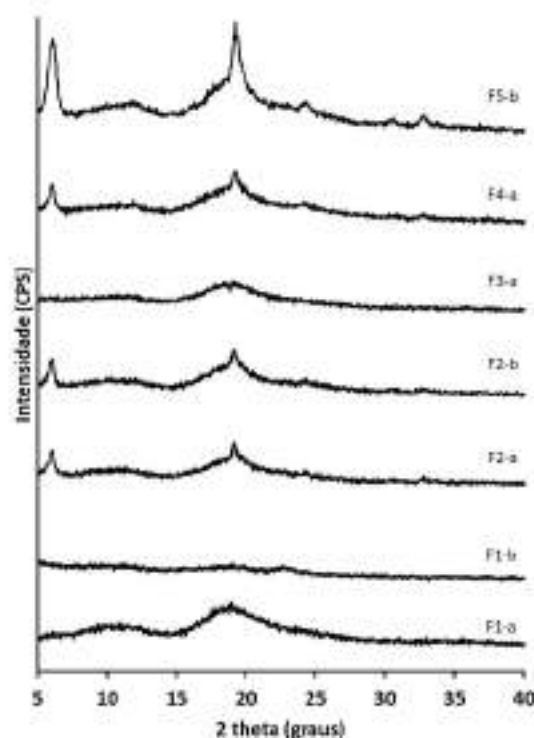


Figura 19. DRX das formulações DPI de MTK após estudos DVS.

5.11. Desempenho aerodinâmico *in vitro*

O estudo de deposição de partículas *in vitro* avalia as características aerodinâmicas dos pós DPI, permitindo que seu desempenho no trato respiratório seja estimado. Os resultados expressos em termos da FPF, dependem principalmente do MMAD, enquanto que o Dg determina as interações interparticulares, ED, dissolução e uniformidade de dose (Shekunov et al., 2007). As características aerodinâmicas das formulações DPI contendo MTK são apresentadas na Tabela 4 e o perfil do desempenho aerodinâmico *in vitro* está representado pela Figura 20.

Tabela 4. Características aerodinâmicas das formulações de MTK.

Código da formulação	F1-a	F2-a	F3-a	F4-a	F1-b	F2-b	F5-b
FPF (%) < 5 µm	68,40 ± 3,81	63,58 ± 4,45	53,57 ± 2,07	51,13 ± 5,19	74,53 ± 5,72	84,07 ± 3,55	82,04 ± 3,52
FPF (%) < 3 µm	36,77 ± 0,76	27,08 ± 1,30	22,53 ± 1,34	20,45 ± 2,73	61,76 ± 4,91	59,67 ± 3,69	48,69 ± 1,13
MMAD (µm)	3,22 ± 0,05	3,71 ± 0,09	4,11 ± 0,11	4,21 ± 0,25	2,23 ± 0,11	2,50 ± 0,05	2,88 ± 0,06
GSD	1,70 ± 0,06	1,63 ± 0,03	1,84 ± 0,17	2,06 ± 0,07	1,94 ± 0,04	1,64 ± 0,01	1,50 ± 0,04
Fluxo (mL/min)	54,7 ± 0,8	54,5 ± 0,5	54,0 ± 1,3	53,9 ± 1,4	54,1 ± 0,9	55,3 ± 0,4	54,7 ± 2,5
ED (%)	75,3 ± 4,5	88,1 ± 2,3	69,0 ± 3,1	67,1 ± 5,6	72,9 ± 4,5	79,4 ± 2,7	82,6 ± 1,1

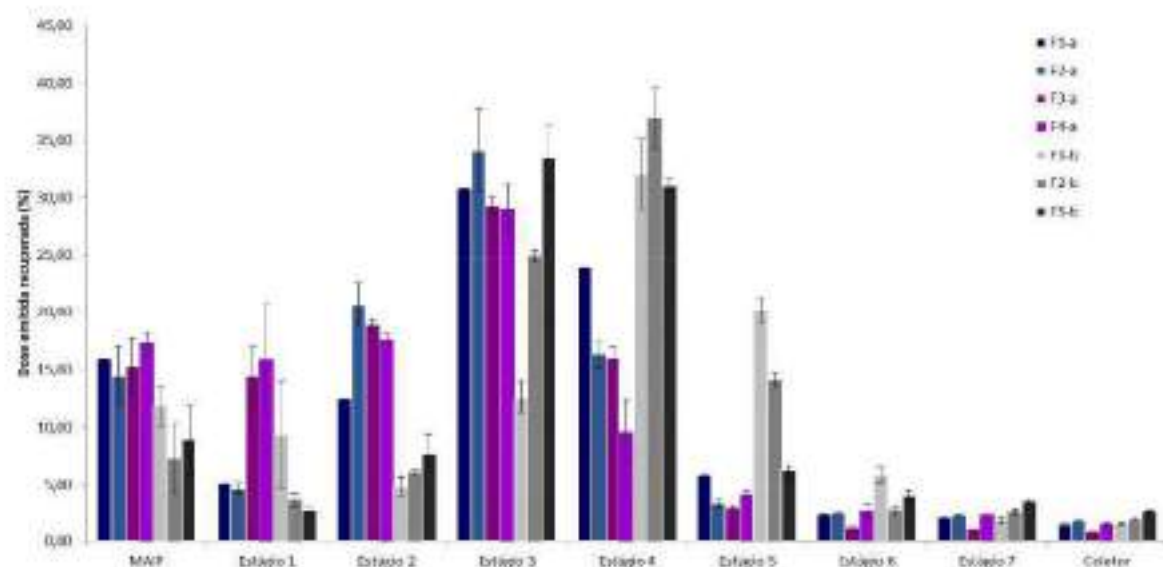


Figura 20. Deposição *in vitro* das formulações de MTK.

De modo geral, todas as formulações DPI de MTK apresentaram desempenho aerodinâmico compatível com a administração inalatória. Os valores de MMAD mantiveram-se entre $2,23 \pm 0,11 \mu\text{m}$ e $4,21 \pm 0,25 \mu\text{m}$, dentro da faixa considerada ideal para deposição no trato respiratório inferior ($1\text{--}5 \mu\text{m}$). Os resultados de GSD variaram entre 1,5 e 2,0, indicando distribuições relativamente estreitas e ausência de polidispersidade extrema que pudesse comprometer a reprodutibilidade da dose inalada.

Diferenças relevantes no desempenho aerodinâmico foram observadas em função do equipamento de produção. As formulações obtidas no equipamento "b" apresentaram, de forma consistente, menores valores de MMAD ($2,2\text{--}2,9 \mu\text{m}$) e maiores frações de partículas finas ($\text{FPF} < 5 \mu\text{m}$ e $< 3 \mu\text{m}$), resultando em maior deposição nos estágios finais do NGI (estágios 5–6), associados às regiões pulmonares mais profundas. Todas as formulações dessa série exibiram valores de $\text{FPF} < 5 \mu\text{m}$ superiores a 70%, evidenciando elevada eficiência respirável, considerada excelente para sistemas DPI. Observou-se ainda um incremento expressivo da $\text{FPF} < 3 \mu\text{m}$, particularmente nas formulações F1-b (~62%) e F2-b (~60%), sugerindo maior potencial de deposição em regiões pulmonares periféricas. Considerando que a deposição pulmonar eficiente requer a combinação de baixo MMAD e elevada FPF, esses resultados indicam desempenho superior das formulações produzidas no equipamento "b". Em comparação, produtos

comercialmente disponíveis geralmente apresentam FPF entre 10 e 50% da dose rotulada (Hoppenot et al., 2014; Zillen et al., 2021), o que posiciona as formulações desenvolvidas na faixa mais elevada reportada para sistemas DPI. Esse comportamento sugere maior proporção da dose efetivamente respirável e distribuição mais ampla ao longo do pulmão. Esses resultados representam uma vantagem terapêutica no contexto da administração inalatória de MTK, cujos receptores de leucotrienos cisteínicos estão amplamente distribuídos tanto nas células musculares lisas das vias aéreas centrais quanto nas regiões distais (Figueroa et al., 2001; Organon, 2025; Yamamoto et al., 2019). Considerando que a asma envolve processos inflamatórios e alterações funcionais que acometem compartimentos centrais e periféricos do pulmão, uma intervenção terapêutica eficaz com MTK pressupõe deposição pulmonar abrangente.

Em contraste, as formulações processadas no equipamento “a” apresentaram deposição significativamente maior nos compartimentos iniciais do impactador (MA/IP até o estágio 2), representativos da região orofaríngea. Esse padrão resultou em menor fração de partículas atingindo os estágios inferiores do NGI, refletindo-se em menores valores de FPF e maiores MMAD (3,2–4,2 μm), conforme apresentado na Tabela 4. Esses resultados indicam que as condições de processamento do equipamento “a” geraram partículas com comportamento aerodinâmico menos favorável à deposição pulmonar profunda.

A ED foi, de modo geral, adequada para todas as formulações, com valores semelhantes entre si (67,1–88,1%), evidenciando bom esvaziamento do dispositivo inalatório independentemente da composição ou do equipamento empregado. Não foi possível estabelecer uma correlação direta entre a presença de L-leucina na formulação e os valores de ED, tampouco foram observadas diferenças sistemáticas na ED entre formulações equivalentes processadas nos diferentes equipamentos. Entretanto, as formulações F3-a e F4-a, caracterizadas por maiores teores de MTK (17,25% e 15,65% p/p, respectivamente), apresentaram desempenho inferior, com valores de ED inferiores a 70%, menores FPF (36–57%) e maiores MMAD. O perfil de deposição dessas formulações concentrou-se predominantemente nos estágios iniciais do NGI (MA/IP até o estágio 3), sugerindo maior coesão interparticular e/ou menor eficiência de dispersão do pó, consistentes com as microscopias obtidas para estas duas formulações (Figura 14). Faramarzi e colaboradores (2015) observaram pior desempenho aerodinâmico, com maiores valores de MMAD e menores FPF,

associado ao aumento de 10 vezes na concentração de MTK em formulações SD. Esses resultados indicam que o aumento do teor de fármaco, quando combinado a condições de processamento menos favoráveis, pode comprometer o desempenho aerodinâmico global das formulações DPI de MTK.

5.12. Dissolução

Tanto a solubilidade como a dissolução são fatores importantes na determinação do tempo de residência do fármaco nos pulmões (Eedara; Tucker; Das, 2019) e, conseqüentemente, na eficácia terapêutica desejada para o medicamento inalatório formulado. A velocidade de dissolução depende tanto de propriedades intrínsecas do fármaco (como solubilidade, $\log P$) como de características físico-químicas da formulação (cristalinidade, distribuição granulométrica), sendo utilizada como uma ferramenta importante para guiar as decisões de desenvolvimento e avaliar diferenças entre lotes (Rohrschneider et al., 2015). No caso da avaliação de formulações inalatórias, no entanto, fatores como o volume reduzido e a complexidade da composição do fluido pulmonar e agitação são difíceis de serem mimetizados e dificultam a padronização de um método para avaliação (Velaga et al., 2018).

Considerando a solubilidade do MTK determinada no ensaio de solubilidade em equilíbrio no meio de dissolução FPS1 (0,205 mg/mL), o volume de meio empregado (20 mL) e a quantidade de fármaco presente na amostra (20 mg da formulação DPI equivalente a 1 mg de MTK), observa-se que o meio é capaz de solubilizar cerca de 4 vezes a dose de MTK avaliada, atendendo à condição sink e assegurando que o processo de dissolução seja governado pelas características da formulação e não por limitações de solubilidade.

Os perfis de dissolução do MTK puro e das formulações DPI são apresentados na Figura 21.

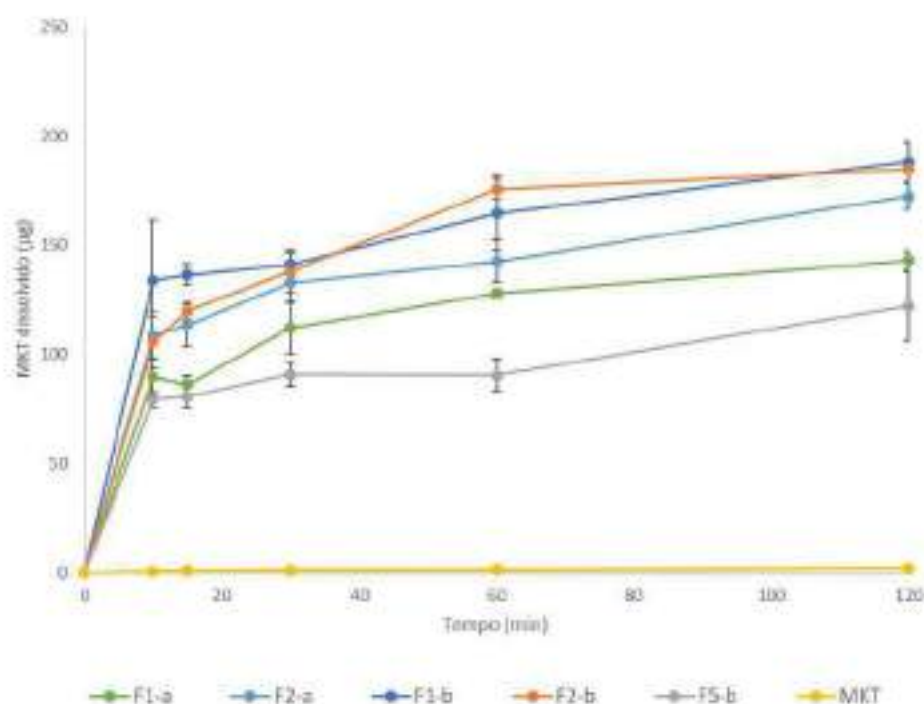


Figura 21. Perfis de dissolução das formulações DPI de MTK em FPS pH 7.4.

Conforme observado na Figura 21, a dissolução do fármaco puro, como fornecido pelo fabricante, foi muito baixa, como já esperado para essa faixa de pH a partir dos estudos prévios de solubilidade em equilíbrio. Menos de 2% do fármaco puro foi dissolvido após 120 minutos de ensaio. Os valores reduzidos de dissolução podem ser atribuídos a baixa molhabilidade do fármaco em função do seu caráter lipofílico (Okumu; DiMaso; Löbenberg, 2008)

Observa-se que a velocidade de dissolução das formulações DPI aumentou significativamente em comparação ao MTK puro. Esse comportamento pode ser atribuído ao processamento por SD, associado à presença de ciclodextrina, fatores que favorecem o aumento da dissolução e da molhabilidade do fármaco. No entanto, apesar dessa melhora em relação ao IFA, os valores de dissolução ainda se mantiveram limitados, entre 12% e 19% após 120 minutos de ensaio.

O tamanho de partículas e molhabilidade podem auxiliar a esclarecer as diferenças na dissolução *in vitro* observada entre as diferentes formulações. Comparando-se as formulações de mesma composição processadas em equipamentos diferentes, é possível verificar que as formulações F1-b e F2-b apresentaram dissoluções ligeiramente maiores comparada aos testes F1-a e F2-a (Figura 21). Essa diferença pode estar associada ao menor tamanho das partículas e

maior área superficial dos pós obtidos no equipamento "b", resultando em uma maior velocidade de dissolução. No entanto, a formulação F5-b, mesmo com os menores tamanhos de partículas, também apresentou os menores valores de dissolução entre as formulações, com resultado médio de, aproximadamente, 122 μg (12%) em 120 minutos de ensaio. A maior concentração de L-leucina, com baixa solubilidade aquosa e maior grau de cristalinidade, depositada na superfície das partículas dessa formulação pode estar relacionada com os menores valores de dissolução obtidos.

Os resultados confirmam a validade da associação MTK:HP β CD por SD para aumento da dissolução do fármaco no FPS. O incremento da dissolução de fármacos pouco solúveis, como o MTK, é particularmente relevante, uma vez que o volume do fluido de revestimento pulmonar é limitado e, portanto, sua dissolução tende ser lenta e incompleta. Além disso, o aumento da taxa de dissolução pode contribuir para a redução da irritação local ou da depuração por ação de macrófagos alveolares ou MCC. Entretanto, uma dissolução excessivamente rápida pode favorecer a absorção sistêmica, resultando em distribuição pulmonar ineficiente e menor tempo de retenção no pulmão. Assim, no desenvolvimento de formulações DPI destinadas ao tratamento local de doenças pulmonares, como a asma, é essencial buscar um equilíbrio entre o aumento da dissolução e a absorção sistêmica, de modo a maximizar a dissolução do fármaco sem comprometer sua retenção pulmonar (Huang et al, 2018).

5.13. Citotoxicidade

Com o objetivo de avaliar o potencial uso futuro das formulações F1-b e F2-b no tratamento de infecções respiratórias, foi investigada a biocompatibilidade dessas formulações em células epiteliais brônquicas humanas (Calu-3) e em macrófagos murinos Balb/C (J774A.1), em diferentes concentrações (5 a 60 μM), após 24 horas de incubação, por meio do ensaio de redução do MTT (Figura 22). Adicionalmente, avaliou-se a citotoxicidade dos componentes isolados das formulações, incluindo o MTK livre (5 a 60 μM), a HP β CD (125 a 500 μM) e a L-leucina (300 a 600 μM) (Figura 23).

Não foram observados efeitos citotóxicos em células Calu-3 expostas às formulações F1-b e F2-b em concentrações de até 60 μM , com viabilidades celulares de $95,49 \pm 3,35\%$ e $100,41 \pm 10,21\%$, respectivamente ($p \geq 0,05$), quando comparadas ao controle de veículo ($100,00 \pm 5,21\%$) (Figura 22). De modo semelhante, o MTK

livre não apresentou potencial citotóxico em células Calu-3 em concentrações de até 60 μM ($94,77 \pm 3,82\%$; $p \geq 0,05$) (Figura 23). A exposição à HP β CD e à L-leucina também não resultou em efeitos citotóxicos em concentrações de até 500 μM ($85,81 \pm 2,43\%$; $p < 0,0001$) (Figura 23B) e 600 μM ($91,20 \pm 4,96\%$; $p = 0,0074$) (Figura 23C), respectivamente. Esses resultados indicam que, mesmo nas maiores concentrações testadas, nem as formulações nem seus componentes individuais promoveram redução da viabilidade celular em Calu-3, estando em conformidade com a norma ISO 10993-5:2009, que classifica materiais com viabilidade celular superior a 70% como não citotóxicos (ISO, 2009).

Em macrófagos J774A.1, a exposição à formulação F1-b em concentrações de até 60 μM resultou em viabilidade celular de $75,95 \pm 8,57\%$ ($p < 0,0006$), em comparação ao controle de veículo ($100,00 \pm 13,92\%$) (Figura 22), caracterizando ausência de citotoxicidade segundo os critérios da ISO 10993-5:2009 (ISO, 2009). Entretanto, quando as células foram incubadas com a formulação F2-b ou com MTK livre na maior concentração avaliada (60 μM), observou-se redução da viabilidade celular para valores inferiores ao limite de 70% ($66,45 \pm 7,07\%$ e $67,99 \pm 8,93\%$, respectivamente; $p < 0,0001$) (Figura 22), indicando potencial efeito citotóxico nessas condições. Esses achados sugerem que a linhagem J774A.1 apresenta maior sensibilidade à exposição a concentrações mais elevadas das formulações e do fármaco livre.

Com base nesses resultados, a concentração de 42 μM foi considerada segura e adequada para a realização de experimentos subsequentes com F1-b, F2-b e MTK livre, uma vez que, nessa condição, as viabilidades celulares observadas foram de $103,70 \pm 3,99\%$, $90,40 \pm 4,49\%$ e $91,09 \pm 8,72\%$, respectivamente ($p \geq 0,05$) (Figura 23). Para a HP β CD e a L-leucina, não foram detectados efeitos citotóxicos em macrófagos J774A.1 em concentrações de até 500 μM e 600 μM , respectivamente, com viabilidades celulares de $89,73 \pm 10,13\%$ e $86,70 \pm 10,06\%$ ($p \geq 0,05$). Esses dados reforçam a segurança desses componentes e sugerem que o efeito observado em concentrações mais elevadas está associado predominantemente ao MTK. Os resultados obtidos encontram respaldo na literatura. Patil-Gadhe e colaboradores (2014), ao avaliarem a citotoxicidade de solução aquosa de MTK em células A549 (adenocarcinoma pulmonar humano) pelo método de MTT, observaram relação inversa entre concentração e viabilidade celular, com redução abaixo de 70% em concentrações do fármaco superiores a, aproximadamente, 50 μM e valor de IC_{50} de

70,85 ± 4,25 µM. Dimer e colaboradores (2020) evidenciaram que a suscetibilidade pode variar com a linhagem celular avaliada e com a concentração empregada. Ao investigarem nanocápsulas contendo claritromicina para o tratamento de infecções respiratórias, os autores não observaram citotoxicidade em células Calu-3 ou THP-1; entretanto, identificaram redução significativa da viabilidade em células A549, demonstrando que determinadas linhagens podem apresentar maior sensibilidade a concentrações mais elevadas. Com base nesses achados, foi selecionada a concentração de 10 µg/mL como segura para a condução dos experimentos subsequentes (Dimer et al., 2020). De forma análoga, a adoção da concentração de 42 µM para as formulações F1-b e F2-b assegura sua biocompatibilidade e segurança, constituindo uma condição apropriada para investigações futuras com potencial aplicação clínica.

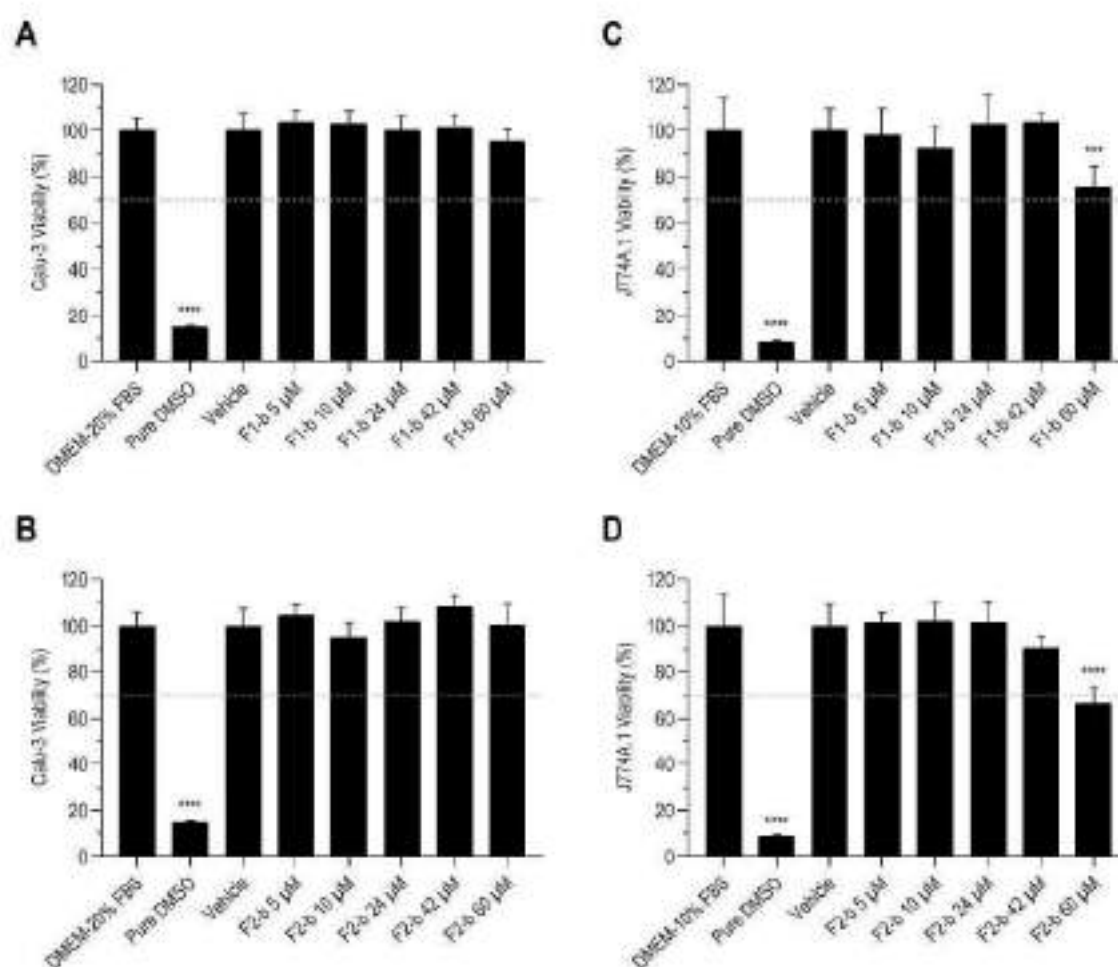


Figura 22. Determinação do efeito citotóxico in vitro das formulações F1-b e F2-b em células Calu-3 (A e B) e células J774A.1 (C e D) em concentrações de 5 a 60 μ M. DMEM-20% SFB e DMEM-10% SFB com 1% DMSO (veículo) foram utilizados como controle negativo e DMSO puro foi utilizado como controle positivo; n=6. Resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão (DP). (* $p < 0.05$; ** $p = 0.0074$; *** $p < 0.0006$; **** $p < 0.0001$).

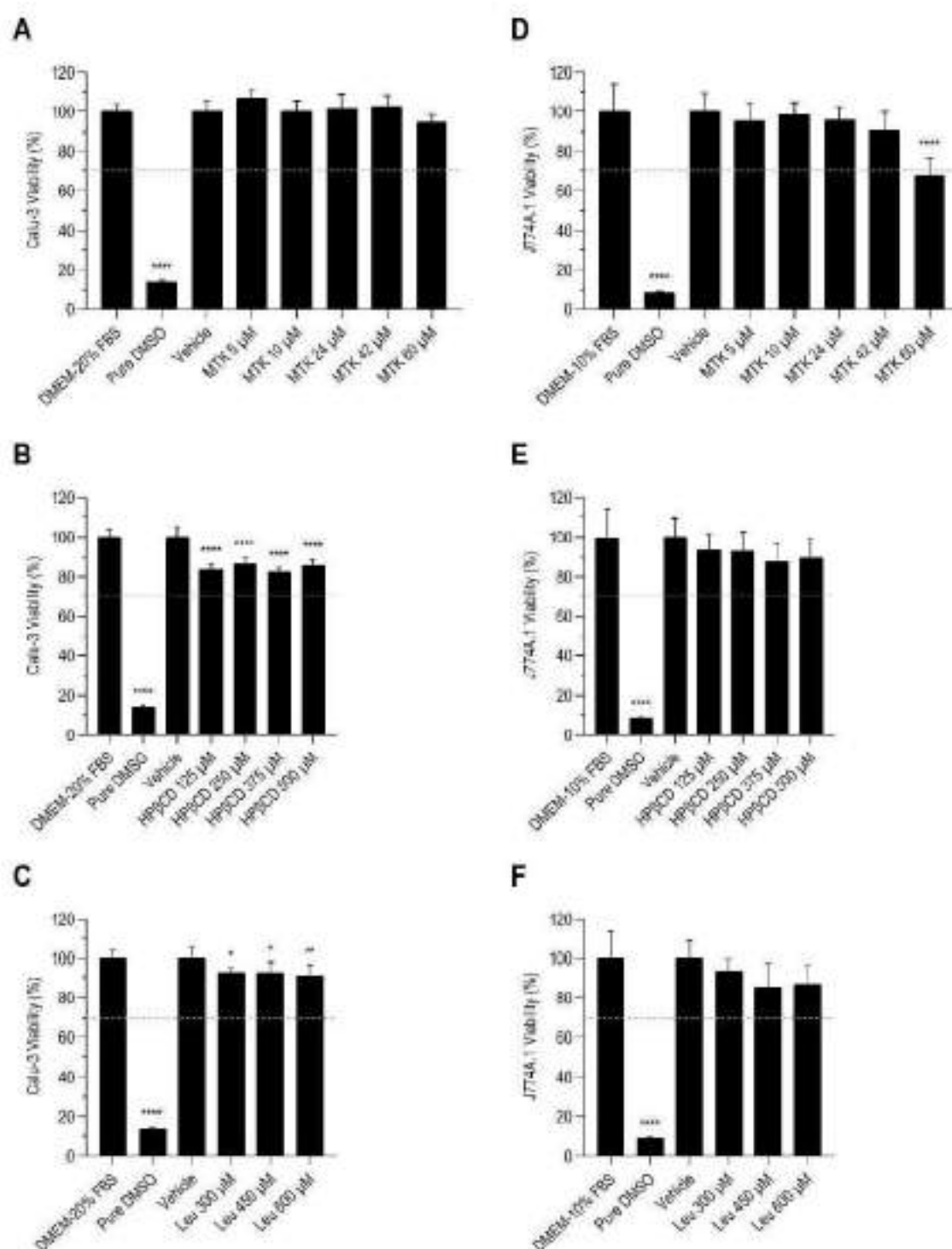


Figura 23. Determinação *in vitro* do efeito citotóxico de MTK, HP β CD e L-leucina em células Calu-3 (A, B e C) e células J774A.1 (D, E e F) em várias concentrações. DMEM-20% SFB e DMEM-10% SFB com 1% DMSO (veículo) foram utilizados como controle negativo, enquanto DMSO puro serviu como controle positivo; n=6. Resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão (DP). (* $p < 0.05$; ** $p = 0.0074$; *** $p < 0.0006$; **** $p < 0.0001$).

5.14. Estabilidade

O conteúdo de MTK nas formulações DPI foi determinado após 60 dias do processo de fabricação e comparado com os resultados iniciais. Os valores são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados de teor do MTK nas formulações DPI após 60 dias de armazenamento em dessecador em temperatura ambiente (média $\pm$ DP; n=3).

Período (dias)	Formulação				
	F1-a	F2-a	F1-b	F2-b	F5-b
0	92,12 $\pm$	95,28 $\pm$	100,94 $\pm$	100,66 $\pm$	97,96 $\pm$
	2,31	2,02	2,43	0,62	1,56
60	94,43 $\pm$	93,44 $\pm$	105,30 $\pm$	99,73 $\pm$	98,34 $\pm$
	0,58	1,08	3,84	1,26	0,93

Os dados apresentados na Tabela 5 indicam que, de modo geral, as formulações de DPI contendo MTK mantiveram-se estáveis ao longo de 60 dias de armazenamento em dessecador, sem evidência de perda significativa de teor. Considerando que o MTK é reconhecidamente sensível à degradação, principalmente oxidativa e fotolítica, conforme descrito na literatura (Al Omari et al., 2007; Emerce; Cok; Degim, 2015; Saravanan et al., 2008; Smith; Rawls; Kunka, 2004; Tiwari et al., 2018), a manutenção do teor ao longo de 60 dias sugere que a formulação em pó seco, associada à HP β CD, exerceu efeito protetor sobre o fármaco. Em comparação a sistemas inalatórios líquidos, os DPI são menos susceptíveis à degradação hidrolítica, à instabilidade química e incompatibilidades entre os componentes (Brunaugh; Smyth, 2018; Gaikwad et al., 2023), aspectos que são particularmente críticos para o MTK. O baixo teor de umidade obtido por meio do processo de SD também minimiza os efeitos da via de degradação hidrolítica (Abdel-Gawad et al., 2020). Além disso, a formação de complexos de inclusão com CD é descrita como estratégia eficaz para estabilizar fármacos susceptíveis à degradação (Popielec, Loftsson, 2017). Contudo, estudos adicionais sob condições aceleradas (temperatura e umidade elevadas) e avaliação de produtos de degradação são necessários para uma caracterização mais robusta do perfil de estabilidade do fármaco na formulação.

6 CONCLUSÃO

O processo de SD permitiu a obtenção de partículas com morfologia esférica, tamanho adequado à administração pulmonar e desempenho aerodinâmico compatível com sistemas DPI. Observou-se, entretanto, que o aumento da fração de MTK nas formulações constitui um fator limitante para o rendimento do processo, o teor final do fármaco e a dispersibilidade dos pós, estando associado à maior coesão entre partículas. A incorporação de excipientes funcionais, como HP β CD e L-leucina, mostrou-se essencial para mitigar essas limitações, favorecer a estabilidade física e melhorar o desempenho aerodinâmico das formulações. A associação do MTK com HP β CD mostrou-se uma abordagem eficaz para superar a baixa solubilidade intrínseca do MTK em fluido pulmonar e favorecer sua dissolução em formulações DPI.

Em conjunto, os resultados obtidos consolidam a associação MTK:HP β CD processada por SD como uma plataforma promissora para o desenvolvimento de formulações inaláveis de MTK, com desempenho biofarmacêutico, aerodinâmico e de estabilidade compatíveis com o tratamento local da asma, abrindo perspectivas para avanços futuros na terapia inalatória desse fármaco.

7 PERSPECTIVAS

Como perspectivas, destacam-se a necessidade de estudos adicionais de estabilidade durante o armazenamento e a aerossolização, bem como a condução de estudos *in vivo* para confirmar a segurança, a eficácia pulmonar e o perfil farmacocinético das formulações desenvolvidas. Esses avanços serão fundamentais para sustentar o progresso regulatório e viabilizar a aplicação clínica dessa estratégia terapêutica.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-GAWAD, Roxane *et al.* Lecithin-based modified soft agglomerate composite microparticles for inhalable montelukast: Development, tolerability and pharmacodynamic activity. **Powder Technology**, v. 360, p. 1167–1176, 15 jan. 2020.

ABDELAZIZ H.M.; GABER M.; ABD-ELWAKIL M.M.; *et al.* Inhalable particulate drug delivery systems for lung cancer therapy: Nanoparticles, microparticles, nanocomposites and nanoaggregates. **Journal of Controlled Release. Elsevier B.V.**, v. 269, 2018.

ACOSTA, M.F. Inhalable Nanoparticles/Microparticles of an AMPK and Nrf2 Activator for Targeted Pulmonary Drug Delivery as Dry Powder Inhalers. **The AAPS Journal**, v. 23, 2021.

ADHIKARI, Bishal Raj; GORDON, Keith C.; DAS, Shyamal C. Solid state of inhalable high dose powders. **Advanced Drug Delivery Reviews** Elsevier B.V., 1 out. 2022.

ALHAJJ, Nasser; O'REILLY, Niall J.; CATHCART, Helen. Designing enhanced spray dried particles for inhalation: A review of the impact of excipients and processing parameters on particle properties. **Powder Technology**, Elsevier B.V., 1 maio 2021.

ALHAJJ, Nasser; O'REILLY, Niall J.; CATHCART, Helen. Quality by design – Spray drying of ciprofloxacin-quercetin fixed-dose combination intended for inhalation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 642, 25 jul. 2023.

ALMANSOUR, Khaled *et al.* Inhalable microparticles containing terbinafine for management of pulmonary fungal infections: Spray drying process engineering using lactose vs. mannitol as excipients. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, 1 dez. 2020.

ALMANSOUR, Khaled *et al.* Insights into the potential of rheological measurements in development of dry powder inhalation formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 614, 1 fev. 2022.

AL OMARI, Mahmoud M. *et al.* Effect of light and heat on the stability of montelukast in solution and in its solid state. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 3, p. 465–471, 5 nov. 2007.

AMARO, Maria Inês *et al.* Optimisation of spray drying process conditions for sugar nanoporous microparticles (NPMs) intended for inhalation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 421, n. 1, p. 99–109, 12 dez. 2011.

AMARO, Maria Inês *et al.* Co-Spray dried carbohydrate microparticles: Crystallisation delay/inhibition and improved aerosolization characteristics through the incorporation of hydroxypropyl- β -cyclodextrin with amorphous raffinose or trehalose. **Pharmaceutical Research**, v. 32, n. 1, p. 180–195, 2015.

AMBRUS, Rita *et al.* Novel dry powder inhaler formulation containing antibiotic using

combined technology to improve aerodynamic properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 123, p. 20–27, 15 out. 2018.

ANDERSON, Sandra D. Repurposing drugs as inhaled therapies in asthma. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Elsevier B.V. 1 ago. 2018.

ARI, Arzu; ALHAMAD, Bshayer Ramadan. Evaluating dry powder inhalers: From in vitro studies to mobile health technologies. **Respiratory Medicine**, W.B. Saunders Ltd, 1 ago. 2023.

AZIZ, Dlivan Fattah *et al.* Screening of sugars and cyclodextrins as carriers in montelukast dry powder inhalers processed by spray freeze drying. **Advanced Powder Technology**, v. 34, n. 10, 1 out. 2023.

BABENKO, Mai *et al.* Development of drug alone and carrier-based GLP-1 dry powder inhaler formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 617, 5 abr. 2022.

BAHRAINIAN, Sara *et al.* Engineering of levodopa inhalable microparticles in combination with leucine and dipalmitoylphosphatidylcholine by spray drying technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 167, 1 dez. 2021.

BARBOSA, Jessica Silva; ALMEIDA PAZ, Filipe A.; BRAGA, Susana Santos. Montelukast medicines of today and tomorrow: from molecular pharmaceutics to technological formulations. **Drug Delivery**, Taylor and Francis Ltd, 21 nov. 2016.

BARBOSA, Jéssica S. *et al.* Preformulation Studies of the γ -Cyclodextrin and Montelukast Inclusion Compound Prepared by Comilling. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 108, n. 5, p. 1837–1847, 1 maio 2019.

BARBOSA, Jéssica S. *et al.* Inclusion of Montelukast in γ -Cyclodextrin: Presenting a Mechanochemical Route to Improve Drug Stability and Solubility. *In*: MDPI AG, 4 fev. 2021.

BASTOLA, Rakesh; YOUNG, Paul M.; DAS, Shyamal C. Simulation of respiratory tract lining fluid for in vitro dissolution study. **Expert Opinion on Drug Delivery**, Taylor and Francis Ltd., 2021.

BATEMAN, Eric D. *et al.* Global Initiative for Asthma 2016–derived asthma control with fluticasone propionate and salmeterol: A Gaining Optimal Asthma Control (GOAL) study reanalysis. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology**, v. 123, n. 1, p. 57–63.e2, 1 jul. 2019.

BELOTTI, Silvia *et al.* Spray-dried amikacin sulphate powder for inhalation in cystic fibrosis patients: The role of ethanol in particle formation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 165–172, 1 jun. 2015.

BOBOLTZ, Allison; KUMAR, Sahana; DUNCAN, Gregg A. Inhaled drug delivery for the targeted treatment of asthma. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Elsevier B.V., 1 jul. 2023.

BORGHARDT, Jens Markus; KLOFT, Charlotte; SHARMA, Ashish. Inhaled Therapy in Respiratory Disease: The Complex Interplay of Pulmonary Kinetic Processes. **Canadian Respiratory Journal**, Hindawi Limited, 19 jun. 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 7. ed. Brasília, DF: Anvisa, 2024. v. 1. Versão RDC nº 940/2024.

BRANCHU, Sébastien *et al.* Hydroxypropyl- β -cyclodextrin inhibits spray-drying-induced inactivation of β -galactosidase. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, n. 9, p. 905–911, 1999.

BREWSTER, Marcus E.; LOFTSSON, Thorsteinn. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 30 jul. 2007.

BRUNAUGH, Ashlee D.; SMYTH, Hugh D. C. Formulation techniques for high dose dry powders. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 547, n. 1–2, p. 489–498, 25 ago. 2018.

BUCHI. **Formulação uma obra de arte. A arte da secagem por atomização.** Disponível em: <https://www.buchi.com/pt/a-arte-da-secagem-por-atomizacao>. Acessado em: 11 fev. 2024.

BURNETT, D. J.; THIELMANN, F.; BOOTH, J. Determining the critical relative humidity for moisture-induced phase transitions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 287, n. 1–2, p. 123–133, 9 dez. 2004.

BYA, Laure Anne *et al.* Formulation of a dry powder for inhalation combining ciclesonide and indacaterol maleate using spray drying. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 678, 10 jun. 2025.

CABRAL-MARQUES, Helena; ALMEIDA, Rita. Optimisation of spray-drying process variables for dry powder inhalation (DPI) formulations of corticosteroid/cyclodextrin inclusion complexes. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, n. 1, p. 121–129, set. 2009.

CAL, Krzysztof; SOLLOHUB, Krzysztof. Spray drying technique. I: Hardware and process parameters. **Journal of Pharmaceutical Sciences** John Wiley and Sons Inc., 2010.

CAO J.; XU Y.; ZHANG J.; *et al.* "Nano-in-Micro" Structured Dry Powder Inhalers for pulmonary delivery: Advances and challenges. **Journal of Drug Delivery Science and Technology Editions de Sante.**, v. 96, 2024.

CESCHAN, Nazareth E. *et al.* Flowrate-Independent Indomethacin dry powder inhaler for potential treatment of pediatric asthma: In vivo aerodynamic and anti-inflammatory evaluation. **Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 216, 17 set. 2025.

CHALVATZAKI, Eleftheria; CHATOUTSIDOU, Sofia Eirini; LAZARIDIS, Mihalís. Simulations of the deposition of pharmaceutical aerosols in the human respiratory tract by dry powder inhalers (DPIs). **Journal of Drug Delivery Science and Technology**,

v. 59, 1 out. 2020.

CHANG, Yue Xing *et al.* Anti-hygroscopic effect of leucine on spray-dried herbal extract powders. **Powder Technology**, v. 266, p. 388–395, 2014.

CHAURASIYA, Birendra; ZHAO, You-Yang. Dry powder for pulmonary delivery: a comprehensive review. **Pharmaceutics**, v.13, n. 31, 2021.

CHEN, Mengxing *et al.* Preparation and pulmonary delivery of astragaloside IV dry powder inhaler for the treatment of silicosis fibrosis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 111, 1 set. 2025.

CHEN, Wojun *et al.* Enhancement of the solubility and oral bioavailability of altrenogest through complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 194, 1 mar. 2024.

CHENG, H. *et al.* Pharmacokinetics, Bioavailability, and Safety of Montelukast Sodium (MK-0476) in Healthy Males and Females. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 3, p. 445-448, 1996.

CHENG, Yung Sung. Mechanisms of Pharmaceutical Aerosol Deposition in the Respiratory Tract, **AAPS PharmSciTech**, Vol. 15, No. 3, June 2014.

CHIPPS, Bradley E. *et al.* Number of patient-reported asthma triggers predicts uncontrolled disease among specialist-treated patients with severe asthma. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v. 130, p. 784–790, 2023.

CHVATAL, Anita *et al.* Aerodynamic properties and in silico deposition of meloxicam potassium incorporated in a carrier-free DPI pulmonary system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 520, n. 1–2, p. 70–78, 30 mar. 2017.

CONNORS, Kenneth A. The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution. **Chemical Reviews**, v. 97, p. 1325-1357, 1997.

CUI, Leqi *et al.* Combining solid dispersion-based spray drying with cyclodextrin to improve the functionality and mitigate the beany odor of pea protein isolate. **Carbohydrate Polymers**, v. 245, 1 out. 2020.

DAVIS, Mark; WALKER, Gavin. Recent strategies in spray drying for the enhanced bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Journal of Controlled Release**, Elsevier B.V., 10 jan. 2018.

DE CASTRO, Renata Ribeiro *et al.* Development of inhaled formulation of modified clofazimine as an alternative to treatment of tuberculosis: Clofazimine inhaled formulation for tuberculosis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 58, 1 ago. 2020.

DEMOLY, Pascal *et al.* The clinical relevance of dry powder inhaler performance for drug delivery. **Respiratory Medicine**, v. 108, n. 8, p. 1195–1203, 2014.

DEY, Shamudra; BOCK, Jonathan M.; GARCIA, Guilherme J. M. Dry powder inhaler deposition in the larynx and the risk of steroid inhaler laryngitis: A computational fluid dynamics study. **Journal of Aerosol Science**, v. 183, 1 jan. 2025.

DHARA T.K.; KHAWAS S.; SHARMA N. Lipid nanoparticles for pulmonary fibrosis: A comprehensive review. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics Academic Press**, v. 87, 2024.

DHOBLE, Sagar *et al.* Design, development, and technical considerations for dry powder inhaler devices. **Drug Discovery Today Elsevier B.V.**, 2024.

DIMER, F. A. *et al.* PLGA nanocapsules improve the delivery of clarithromycin to kill intracellular *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium abscessus*. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 24, 2020.

DUFOUR, Gilles *et al.* Interest of cyclodextrins in spray-dried microparticles formulation for sustained pulmonary delivery of budesonide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, n. 2, p. 869–878, 30 nov. 2015.

DURÁN MERÁS, I.; ESPINOSA-MANSILLA, A.; RODRÍGUEZ, D. Airado. Complexation study of cinalukast and montelukast with cyclodextrins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 3, p. 1025–1032, 19 fev. 2007.

EEDARA, Basanth Babu; BASTOLA, Rakesh; DAS, Shyamal C. Dissolution and Absorption of Inhaled Drug Particles in the Lungs. **Pharmaceutics**, **MDPI**, 1 dez. 2022.

EEDARA, Basanth Babu; TUCKER, Ian G.; DAS, Shyamal C. In vitro dissolution testing of respirable size anti-tubercular drug particles using a small volume dissolution apparatus. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 559, p. 235–244, 25 mar. 2019.

EIXARCH, Helena; HALTNER-UKOMADU, Eleonore; BEISSWENGER, Christoph; BOCK, Udo. Drug Delivery to the Lung: Permeability and Physicochemical Characteristics of Drugs as the Basis for a Pulmonary Biopharmaceutical Classification System (PBCS). **Journal of Epithelial Biology & Pharmacology**, v. 3, p. 1-14, 2010.

ELKASABGY, Nermeen A.; ADEL, Islam M.; ELMELIGY, Mohamed F. Respiratory Tract: Structure and Attractions for Drug Delivery Using Dry Powder Inhalers. **AAPS PharmSciTech**, Springer, 1 out. 2020.

ELSAYED, Mustafa M. A.; SHALASH, Ahmed O. Modeling the performance of carrier-based dry powder inhalation formulations: Where are we, and how to get there? **Journal of Controlled Release**, Elsevier B.V., 10 jun. 2018.

ELVERSSON, Jessica; MILLQVIST-FUREBY, Anna. Particle size and density in spray drying - Effects of carbohydrate properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, n. 9, p. 2049–2060, 2005.

EUROPEAN MEDICINE AGENCY (EMA). Committee for Human Medicinal Products (CHMP). **Cyclodextrins used as excipients. Report published in support of the**

'Questions and answers on cyclodextrins used as excipients in medicinal products for human use' (EMA/CHMP/495747/2013). 9 out. 2017. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/cyclodextrins-used-excipients-report-published-support-questions-and-answers-cyclodextrins-used-excipients-medicinal-products-human-use_en.pdf. Acessado em: 23 dez. 2025.

EUROPEAN MEDICINE AGENCY (EMA). Committee for Human Medicinal Products (CHMP). **Guideline on the Pharmaceutical quality of inhalation and nasal products (EMA/CHMP/QWP/49313/2005 rev. 1)**. 14 Jul 2025. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-quality-inhalation-nasal-medicinal-products-revision-1_en.pdf. Acessado em: 25 out. 2025.

EMERCE, E.; COK, I.; DEGIM, I. T. Determination of the impurities in drug products containing montelukast and in silico/in vitro genotoxicological assessments of sulfoxide impurity. **Toxicology Letters**, v. 238, n. 2, p. 90–99, 2015.

FARAMARZI, Pouya *et al.* Development of Carrier Free Montelukast Dry Powder Inhalation Formulation. **Pharm. Ind.**, v.7, n.10, p. 1535-1542, 2015.

FARINHA S.; GALÉSIO M.; CRISTÓVÃO J.; *et al.* Improving inhalation delivery of biologics with extra-large particles produced by spray freeze drying. **Powder Technology**, v. 459, 2025.

FAULHAMMER, Eva *et al.* Carrier-based dry powder inhalation: Impact of carrier modification on capsule filling processability and in vitro aerodynamic performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 491, n. 1–2, p. 231–242, 1 ago. 2015.

FAULHAMMER, E.; ZELLNITZ, S.; WUTSCHR, T.; STRANZINGER, S.; ZIMMERC, A.; PAUDEL, A. Performance indicators for carrier-based DPIs: Carrier surface properties for capsule filling and API properties for in vitro aerosolization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 536, p. 326–335, 2018.

FENG, A. L. *et al.* Mechanistic models facilitate efficient development of leucine containing microparticles for pulmonary drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 409, n. 1–2, p. 156–163, 16 maio 2011.

FERNANDES, D.A.; COSTA E.; LEANDRO P.; CORVO M.L. Formulation of spray dried enzymes for dry powder inhalers: An integrated methodology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 615, 2022.

FIGUEROA, D. J. *et al.* Expression of the Cysteinyl Leukotriene 1 Receptor in Normal Human Lung and Peripheral Blood Leukocytes. **Am J Respir Crit Care Med.**, v. 163, p. 226-233, 2001.

FLOROIU, Andreea *et al.* Drug solubility in biorelevant media in the context of an inhalation-based biopharmaceutics classification system (IBCS). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 197, 1 abr. 2024.

FOCAROLI, S. *et al.* A Design of Experiment (DoE) approach to optimise spray drying

process conditions for the production of trehalose/leucine formulations with application in pulmonary delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, p. 228–240, 1 maio 2019.

FORBES, B. *et al.* IBCS 4. Application of the Inhalation Biopharmaceutics Classification System to the Development of Orally Inhaled Drug Products. **Molecular Pharmaceutics**, v. 22, p. 1740-1751, 13 mar. 2025.

FRÖHLICH E. Better GRAS than sorry: Excipient toxicity in pulmonary formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Elsevier B.V.**, v.215, 24 jul. 2025.

GAIKWAD, Sachin S. *et al.* Dry Powder Inhaler with the technical and practical obstacles, and forthcoming platform strategies. **Journal of Controlled Release Elsevier B.V.**, 1 mar. 2023.

GALLO L.; VERÓNICA RAMÍREZ-RIGO M.; BUCALÁ V. Development of porous spray-dried inhalable particles using an organic solvent-free technique. **Powder Technology**, v. 342, p. 642-652, 2019.

GANESAN, Shyamala; COMSTOCK, Adam T.; SAJJAN, Uma S. Barrier function of airway tract epithelium. **Tissue Barriers**, v. 1, n. 4, p. e24997, out. 2013.

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA (GINA). Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2025. Disponível em: <http://www.ginasthma.org>. Acesso em: 14 jan. 2026.

GHOLIZADEH-HASHJIN A.; MONAJJEMZADEH F.; GHAFOURIAN T.; HAMISHEHKAR H.; NOKHODCHI A. Compatibility study of formoterol fumarate-lactose dry powder inhalation formulations: Spray drying, physical mixture and commercial DPIs. **Journal of Drug Delivery Sciences and Technology**, v. 95, 11 mar. 2024

GUO, Honghui *et al.* Microencapsulation mechanism of menthol and menthone by hydroxypropyl- β -cyclodextrin for enhanced stability and prolonged retention. **Food and Bioproducts Processing**, jan. 2026.

GUO, Yi *et al.* Pharmaceutical strategies to extend pulmonary exposure of inhaled medicines. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, Chinese Academy of Medical Sciences, 1 ago. 2021.

HĂDĂRUGĂ, Nicoleta G. *et al.* A review on thermal analyses of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Environmental Chemistry, Letters Springer Verlag*, 1 mar. 2019.

HAMEDANI, S. *et al.* A novel particle engineering method for the production of inhalable cromolyn sodium powders by a combination of spray drier and nebulizer. **J. Drug Deliv. Sci. Technol.**, v. 78, 2022.

HASTEDT, Jayne E. *et al.* Scope and relevance of a pulmonary biopharmaceutical

classification system AAPS/FDA/USP Workshop March 16-17th, 2015 in Baltimore, MD. **AAPS Open**, v. 2, n. 1, dez. 2016.

HE, Xiaoke *et al.* Pulmonary inhaled drug delivery systems: From bench to bedside. **Journal of Controlled Release**, Elsevier B.V., 10 dez. 2025.

HEALY, Anne Marie *et al.* Dry powders for oral inhalation free of lactose carrier particles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Elsevier B.V., 30 ago. 2014.

HEBBINK G.A.; JASPERS M.; PETERS H.J.W.; DICKHOFF B.H.J. Recent developments in lactose blend formulations for carrier-based dry powder inhalation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Elsevier B.V., 5 set. 2022.

HEFFLER, Enrico *et al.* Inhaled corticosteroids safety and adverse effects in patients with asthma. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, 18 jan. 2018.

HOPPENTOCHT, M. *et al.* Technological and practical challenges of dry powder inhalers and formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 75, p. 18-31, 2014.

HOU, Jingjing *et al.* Hesperidin- β -Cyclodextrin inclusion complexes: A novel approach for preventing and treating acute lung injury caused by seawater drowning. **International Journal of Pharmaceutics: X**, v. 10, 1 dez. 2025.

HUANG, Zhengwei *et al.* Dry powder inhaler formulations of poorly water-soluble itraconazole: A balance between in-vitro dissolution and in-vivo distribution is necessary. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 551, n. 1-2, p. 103-110, 15 nov. 2018.

HUCK, Benedikt C. *et al.* Models using native tracheobronchial mucus in the context of pulmonary drug delivery research: Composition, structure and barrier properties. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Elsevier B.V., 1 abr. 2022.

IBRAHIM, Mariam; VERMA, Rahul; GARCIA-CONTRERAS, Lucila. Inhalation drug delivery devices: Technology update. **Medical Devices: Evidence and Research** Dove Medical Press Ltd, 12 fev. 2015.

INAMDAR B.P.; KATHAWALA K.J.; PARIKH A.Y.; SHAH T.R.; SHAH J.N. Formulation development and characterization of chitosan nanoparticles of montelukast sodium for site specific drug delivery in management of asthma. **International Journal of Drug Formulation Research**, v. 4, n. 4, p. 87-101, 2013.

ISO. (2009). 10993-5. Biological Evaluation of Medical Devices—Part 5: Tests for in vitro Cytotoxicity Geneva, 2009.

JANSOOK, Phatsawee; OGAWA, Noriko; LOFTSSON, Thorsteinn. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, n. 1-2, p. 272-284, 15 jan. 2018.

KALI, Gergely; HADDADZADEGAN, Soheil; BERNKOP-SCHNÜRCH, Andreas.

Cyclodextrins and derivatives in drug delivery: New developments, relevant clinical trials, and advanced products. **Carbohydrate Polymers**, Elsevier Ltd., 15 jan. 2024.

KIM, Young Hun *et al.* Novel montelukast sodium-loaded clear oral solution prepared with hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a solubilizer and stabilizer: Enhanced stability and bioequivalence to commercial granules in rats. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 82, n. 3, p. 479–487, 1 ago. 2015.

KITTANA, Naim *et al.* Montelukast, current indications and prospective future applications. **Expert Review of Respiratory Medicine**, v. 10, n. 9, p. 943–956, 1 set. 2016.

KUMAR M.; HILLES A.R.; ALMURISI S.H.; BHATIA A.; MAHMOOD S. Micro and nano-carriers-based pulmonary drug delivery system: Their current updates, challenges, and limitations – A review. **JCIS Open. Elsevier B.V.**, v. 12, 2023.

KWONG, Pancy Tsz Hei *et al.* Co-spray drying of cannabidiol and vancomycin combination powder formulations for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* respiratory infections. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 683, 15 out. 2025.

LABIRIS, N. R.; DOLOVICH, M. B. Pulmonary drug delivery. Part I: Physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medications. **British Journal of Clinical Pharmacology**, dez. 2003.

LÄHDE, A.; RAULAA, J.; MALMB, J.; KAUPPINENA, E.I. Sublimation and vapour pressure estimation of L-leucine using thermogravimetric analysis. **Thermochimica Acta**, v. 482, 2009.

LAZO, Raul Edison Luna *et al.* Advanced formulations and nanotechnology-based approaches for pulmonary delivery of sildenafil: A scoping review. **Journal of Controlled Release**, Elsevier B.V., 1 out. 2022.

LECHANTEUR, Anna *et al.* Inhalation powder development without carrier: How to engineer ultra-flying microparticles? **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 191, p. 26–35, 1 out. 2023.

LEE H.J.; LEE H.G.; KWON Y Bin.; *et al.* The role of lactose carrier on the powder behavior and aerodynamic performance of bosentan microparticles for dry powder inhalation. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 117, p. 279–289, 2018.

LI, Liang *et al.* L-Leucine as an excipient against moisture on in vitro aerosolization performances of highly hygroscopic spray-dried powders. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 102, p. 132–141, 1 maio 2016.

LIU, Chi Hsien *et al.* Encapsulating curcumin in ethylene diamine- β -cyclodextrin nanoparticle improves topical cornea delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 186, 1 fev. 2020.

LIU, Zhewei *et al.* Development of high-dose carrier-free inhalable heparin sodium

microparticles using co-jet-milling technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 680, 25 jul. 2025.

LOFTSSON, T. *et al.* Self-Association and Cyclodextrin Solubilization of Drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 11, p. 2307-2316, 2002.

LOFTSSON, Thorsteinn; BREWSTER, Marcus E. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences** John Wiley and Sons Inc., 1996.

LOFTSSON, Thorsteinn; MÁSSON, Már. Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins. **STP Pharma Sciences**, v. 9, n. 3, p. 237-242, 1999.

LUNA LAZO, Raul Edison *et al.* Engineering porous PLGA microparticles for pulmonary delivery of sildenafil citrate. **Powder Technology**, v. 430, 1 dez. 2023.

MA, Zhimin *et al.* Supercritical antisolvent-fluidized bed for the preparation of dry powder inhaler for pulmonary delivery of nanomedicine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 648, 15 dez. 2023.

MAHAJAN, Hitendra S.; GUNDARE, Sadanand A. Preparation, characterization and pulmonary pharmacokinetics of xyloglucan microspheres as dry powder inhalation. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, n. 1, p. 529-536, 15 fev. 2014.

MANGAL, Sharad *et al.* Relationship between surface concentration of l-leucine and bulk powder properties in spray dried formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 94, p. 160-169, 4 jun. 2015.

MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. **Dissolution Technologies**, 2011.

MARTINEZ-TENOPALA, Ricardo *et al.* The use of triple therapy, ICS/LABA/LAMA, in the treatment of asthma: A real-life Latin-American specialized centers experience. **J Allergy Clin Immunol Global**, v. 5, 2026.

MARTIR, J. *et al.* Impact of Food and Drink Administration Vehicles on Paediatric Formulation Performance: Part 1—Effects on Solubility of Poorly Soluble Drugs. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 5, 1 jul. 2020.

MATILAINEN, Laura *et al.* In vitro toxicity and permeation of cyclodextrins in Calu-3 cells. **Journal of Controlled Release**, v. 126, n. 1, p. 10-16, 18 fev. 2008.

MAY, Sabine *et al.* Miniature in vitro dissolution testing of powders for inhalation. **Dissolution Technologies**, v. 22, n. 3, p. 40-51, 1 ago. 2015.

MILLER, Danforth P. *et al.* Physical Characterization of Tobramycin Inhalation Powder: I. Rational Design of a Stable Engineered-Particle Formulation for Delivery to the Lungs. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 2582-2593, 3 ago. 2015.

MOHAPATRA, Snehamayee *et al.* Effect of hydrophilic polymer on solubility and taste

masking of linezolid in multi-component cyclodextrin inclusion complex: Physicochemical characterization and molecular docking. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, 1 dez. 2021.

MOHTAR, Noratqah *et al.* Design and development of dry powder sulfobutylether- β -cyclodextrin complex for pulmonary delivery of fisetin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 113, p. 1–10, 1 abr. 2017.

MOLINA, Carlos; KAIALY, Waseem; NOKHODCHI, Ali. The crucial role of leucine concentration on spray dried mannitol-leucine as a single carrier to enhance the aerosolization performance of Albuterol sulfate. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 49, p. 97–106, 1 fev. 2019.

MOMIN, Mohammad A. M. *et al.* Dry powder formulation of kanamycin with enhanced aerosolization efficiency for drug-resistant tuberculosis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 528, n. 1–2, p. 107–117, 7 ago. 2017.

MOON, Chaeho *et al.* Delivery Technologies for Orally Inhaled Products: an Update. **AAPS PharmSciTech**, Springer New York LLC, 1 abr. 2019.

MOSMANN, Tim. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55–63, 1983.

MOTA, Fátima L. *et al.* Temperature and solvent effects in the solubility of some pharmaceutical compounds: Measurements and modeling. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3–4, p. 499–507, 28 jun. 2009.

MOUGEY, Edward B. *et al.* Absorption of montelukast is transporter mediated: A common variant of OATP2B1 is associated with reduced plasma concentrations and poor response. **Pharmacogenetics and Genomics**, v. 19, n. 2, p. 129–138, fev. 2009.

MOUSSA, R. A. *et al.* Montelukast spray dried microparticles: preparation, excipients selection and in vitro pulmonary deposition. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 11, 2015.

MURA, P. *et al.* Differential Scanning calorimetry as an analytical tool in the study of drug-cyclodextrin interactions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 73, p. 635–646, 2003.

MURA, Paola. Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Elsevier, 1 set. 2015.

MURAKI, Masato *et al.* Inhaled montelukast inhibits cysteinyl-leukotriene-induced bronchoconstriction in ovalbumin-sensitized guinea-pigs: The potential as a new asthma medication. **International Immunopharmacology**, v. 9, n. 11, p. 1337–1341, out. 2009.

ÓGÁIN, Orla Ni *et al.* Particle engineering of materials for oral inhalation by dry powder

inhalers. i - Particles of sugar excipients (trehalose and raffinose) for protein delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n. 1–2, p. 23–35, 28 fev. 2011.

OKUMU, Arthur; DIMASO, Marie; LÖBENBERG, Raimar. Dynamic dissolution testing to establish in vitro/in vivo correlations for montelukast sodium, a poorly soluble drug. *In: dez.* 2008.

ORDOUBADI, Mani *et al.* On the particle formation of leucine in spray drying of inhalable microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 592, 5 jan. 2021.

Organon Farmacêutica Ltda.. Singulair® (montelucaste de sódio): bula do medicamento. Campinas, SP, 2025. Disponível em: https://www.organon.com/brazil/wp-content/uploads/sites/33/2023/06/singulair_bula_profissional.pdf. Acessado em: 04 dez. 2025.

PACZKOWSKA, Magdalena *et al.* Effects of inclusion of cetirizine hydrochloride in β -cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 91, n. 3–4, p. 149–159, 1 ago. 2018.

PAN, Harry W. *et al.* Enhanced powder dispersion of dual-exciptent spray-dried powder formulations of a monoclonal antibody and its fragment for local treatment of severe asthma. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 644, 25 set. 2023.

PANCHAL, Rushi *et al.* Formulation and evalution of montelukast sodium-chitosan based spray dried microspheres for pulmonary drug delivery. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 4, p. 100-111, 2012.

PANIGRAHI S.K.; Das S.; MAJUMDAR S. Unveiling the potentials of hydrophilic and hydrophobic polymers in microparticle systems: Opportunities and challenges in processing techniques. **Advances in Colloid and Interface Science Elsevier B.V.**, v. 326, 2024.

PARDHI, Vishwas P. *et al.* Inclusion complexes of bedaquiline fumarate with β -cyclodextrin and its derivatives: In silico, in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 91, 1 jan. 2024.

PARK, Jun Soo *et al.* Design of Montelukast Nanocrystalline Suspension for Parenteral Prolonged Delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 17, p. 3673–3690, 2022.

PATEL, Brijeshkumar; GUPTA, Nilesh; AHSAN, Fakhrul. Aerosolized montelukast polymeric particles - An alternative to oral montelukast-alleviate symptoms of asthma in a rodent model. **Pharmaceutical Research**, v. 31, n. 11, p. 3095–3105, 2014.

PATEL, Brijeshkumar; RASHID, Jahidur; AHSAN, Fakhrul. Aerosolizable modified-release particles of montelukast improve retention and availability of the drug in the lungs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 560–570, 1 jan. 2017.

PATEL Brijeshkumar.; Rashid Jahidur; GUPTA Nilesh; AHSAN Fakhrul. Low-Molecular-Weight Heparin-Coated and Montelukast-Filled Inhalable Particles: A Dual-Drug Delivery System for Combination Therapy in Asthma. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. 4, p. 1124-1135, 2017.

PATIL-GADHE, Arpana *et al.* Montelukast-loaded nanostructured lipid carriers: Part II Pulmonary drug delivery and in vitro-in vivo aerosol performance. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 88, n. 1, p. 169–177, 2014.

PATTON, John S.; BYRON, Peter R. Inhaling medicines: Delivering drugs to the body through the lungs. **Nature Reviews Drug Discovery**, jan. 2007.

PAUDEL, Amrit *et al.* Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics** Elsevier B.V., 2013.

PERIASAMY, R.; KOTHAINAYAKI, S.; SIVAKUMAR, K. Host-guest inclusion complex of β -cyclodextrin and 4,4'-(1,4-phenylenediisopropylidene)bisaniline: Spectral, structural and molecular modeling studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1224, 15 jan. 2021.

PHILIP G.; PEDINOFF A.; VANDORMAEL K.; *et al.* A Phase I randomized, placebo-controlled, dose-exploration study of single-dose inhaled montelukast in patients with chronic asthma. **Journal of Asthma**, v. 47, n. 10, p. 1078-1084, 2010.

PHILIP G.; VILLARÁN C.; SHAH S.R.; VANDORMAEL K.; SMUGAR S.S.; REISS T.F. The efficacy and tolerability of inhaled montelukast plus inhaled mometasone compared with mometasone alone in patients with chronic asthma. **Journal of Asthma**, v. 48, n. 5, p. 495-502, 2011.

PONGSAMART, Kasama *et al.* Preparation, characterization and antimalarial activity of dihydroartemisinin / β -cyclodextrin spray-dried powder. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 73, 1 jul. 2022.

POPIELEC, Agnieszka; LOFTSSON, Thorsteinn. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 531, n. 2, p. 532–542, 15 out. 2017.

PUSKÁS, István *et al.* Recent List of Cyclodextrin-Containing Drug Products. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, v. 67, n. 1, p. 11–17, 1 fev. 2023.

RAHMANIAN N.; EZZATI J.; DOLATABADI N.; OMIDI Y.; PANAHI-AZAR V.; HAMISHEHKAR H. Preparation of Dry Powder Inhaler of Montelukast Sodium-Loaded Solid Lipid Nanoparticles and Evaluation of its Physicochemical Characteristics. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 35, n. 5, p. 853-861, 2016.

RAMEZANI, Vahid *et al.* Application of cyclodextrins in antibody microparticles: potentials for antibody protection in spray drying. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 7, p. 1103–1111, 3 jul. 2017.

RAO, Venkatramana M.; STELLA, Valentino J. COMMENTARY When Can Cyclodextrins Be Considered for Solubilization Purposes? **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n.5, p. 927-932, 2003.

RAHIMPOUR Y.; KOUHSOLTANI M.; HAMISHEHKAR H. Alternative carriers in dry powder inhaler formulations. **Drug Discovery Today Elsevier Ltd.**, v. 19, n. 5, p. 618-626, 2014.

RAULA, Janne *et al.* Investigations on the humidity-induced transformations of salbutamol sulphate particles coated with L-leucine. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 10, p. 2250–2261, out. 2008.

RAZUC, Mariela; PIÑA, Juliana; RAMÍREZ-RIGO, María V. Optimization of Ciprofloxacin Hydrochloride Spray-Dried Microparticles for Pulmonary Delivery Using Design of Experiments. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 7, p. 3085–3096, 1 out. 2018.

REN, Xiuyun *et al.* Preparation, Characterization, and Properties of Inclusion Complexes of Balofloxacin with Cyclodextrins. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 7, 1 out. 2019.

REZAEINIA, Hassan *et al.* Role of cyclodextrin inclusion complexes assembled in the fast-dissolving structures of electrospun gelatin mats to extend the release of menthol. **Food Hydrocolloids**, v. 154, 1 set. 2024.

RINCÓN-LÓPEZ, Juliana *et al.* Technological evolution of cyclodextrins in the pharmaceutical field. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Editions de Sante, 1 fev. 2021.

ROHRSCHEIDER, Marc *et al.* Evaluation of the Transwell System for Characterization of Dissolution Behavior of Inhalation Drugs: Effects of Membrane and Surfactant. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 2618–2624, 3 ago. 2015.

SADHU, Piyushkumar *et al.* A state-of-the-art review on inhalable nanoconjugates for targeted drug delivery in acute lung injury: Advances, challenges and future directions. Nanomedicine: **Nanotechnology, Biology, and Medicine**, Elsevier Inc., 1 nov. 2025.

SARAVANAN, M. *et al.* Identification, synthesis, isolation and spectral characterization of potential impurities of montelukast sodium. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 3, p. 708–715, 2008.

SARCINELLI, M.A. *et al.* The pulmonary route as a way to drug repositioning in COVID-19 therapy. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, 24 fev. 2021.

SATHISHKUMAR, K.; KUMARESAN, C. Novel, sustained-release, dry-powder inhalable formulation for montelukast sodium. **International Research Journal of Pharmacy**, v.7, n. 12, p. 97-103, 2017.

SAWATDEE, Somchai *et al.* Formulation development and in-vitro evaluation of

montelukast sodium pressurized metered dose inhaler. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, 1 abr. 2020.

SCHERLIEß, Regina *et al.* Particle engineering in dry powders for inhalation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 172, 1 maio 2022.

SCHÖNBECK, Christian; GAARDAHL, Karina; HOUSTON, Bryan. Drug Solubilization by Mixtures of Cyclodextrins: Additive and Synergistic Effects. **Molecular Pharmaceutics**, v. 16, n. 2, p. 648–654, 4 fev. 2019.

SCHOUBBEN, A.; VIVANI, R.; PAOLANTONI, M.; PERINELLI, D.R.; GIOIELLO, A.; MACCHIARULO, A.; RICCI, M. D-leucine microparticles as an excipient to improve the aerolization performances of dry powders for inhalation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 130, p. 54–64, 2019.

SHAHIN, Hend I.; CHABLANI, Lipika. A comprehensive overview of dry powder inhalers for pulmonary drug delivery: Challenges, advances, optimization techniques, and applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Editions de Sante, 1 jun. 2023.

SHEKUNOV, Boris Y. *et al.* Particle size analysis in pharmaceuticals: Principles, methods and applications. **Pharmaceutical Research**, fev. 2007.

SHETTY, Nivedita *et al.* Influence of excipients on physical and aerosolization stability of spray dried high-dose powder formulations for inhalation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 544, n. 1, p. 222–234, 10 jun. 2018.

SHETTY, Nivedita *et al.* Physical stability of dry powder inhaler formulations. **Expert Opin Drug Deliv.**, v. 17, n. 1, p. 77–96, 2020.

SHI, Qin *et al.* Physical stability of amorphous pharmaceutical solids: Nucleation, crystal growth, phase separation and effects of the polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, Elsevier B.V., 30 nov. 2020.

SHRIKRISHNA, Baokar; NISHARANI, Ranpise. Analytical method development and validation for simultaneous estimation of montelukast and ebastine by HPLC. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 8, n. 1, 1 jan. 2015.

SHRUTHI, K. *et al.* Preparation and evaluation of montelukast sodium chewable tablets using modified karaya gum. **Pelagia Research Library Der Pharmacia Sinica**, v. 4, n. 4, p. 125–135, 2013.

SIMON, Alice *et al.* Development of a novel dry powder inhalation formulation for the delivery of rivastigmine hydrogen tartrate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 501, n. 1–2, p. 124–138, 30 mar. 2016.

SIMON, Alice *et al.* Development of inhaled moxifloxacin-metformin formulation as an alternative for pulmonary tuberculosis treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 666, 26 set. 2024.

SINGH, Jatinder; SHAH, Ramanpreet; SINGH, Dhandeep. Inundation of asthma target research: Untangling asthma riddles. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**, Academic Press, 1 dez. 2016.

SINGH, Akashdeep; RANA, Vikas. Exploration of modified cyclone separator for the enhanced recovery of inhalable spray dried cubosomal powder intended to be used for lung delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, 1 dez. 2021.

SINGH P.A.; PANDEY R.P.; AWASTHI R. Unveiling the role of nanoparticle-based therapeutic strategies for pulmonary drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology Editions de Sante**, v. 104, 2025.

SMITH, G. A.; RAWLS, C. M.; KUNKA, R. L. An Automated Method for the Determination of Montelukast in Human Plasma Using Dual-Column HPLC Analysis and Peak Height Summation of the Parent Compound and Its Photodegradation Product. **Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 9, p. 1539-1544, 2004.

SONI, Rajeev; GALI VIDYA SAGAR, D. R.; SHARMA, Dr Pankaj. Formulation, development and in vitro evaluation of mucoadhesive bilayered buccal patches of montelukast sodium, v.4, n.2, p.484-497, 2012.

SOOD, Radhika *et al.* Neuromodulatory effects of leukotriene receptor antagonists: A comprehensive review. **European Journal of Pharmacology**, Elsevier B.V., 5 set. 2024.

SORINO, Claudio *et al.* Inhalation therapy devices for the treatment of obstructive lung diseases: the history of inhalers towards the ideal inhaler. **European Journal of Internal Medicine**, v. 75, p. 15–18, 2020.

SOU, Tomás *et al.* Designing a multi-component spray-dried formulation platform for pulmonary delivery of biopharmaceuticals: The use of polyol, disaccharide, polysaccharide and synthetic polymer to modify solid-state properties for glassy stabilisation. **Powder Technology**, v. 287, p. 248–255, 1 jan. 2016.

SUZUKI, Érika Yoko *et al.* Development of a new formulation of roflumilast for pulmonary drug delivery to treat inflammatory lung conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 550, n. 1–2, p. 89–99, 25 out. 2018.

SUZUKI, Érika Yoko *et al.* Effects of a novel roflumilast and formoterol fumarate dry powder inhaler formulation in experimental allergic asthma. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 588, 15 out. 2020.

THIBERT, R. *et al.* Characterization of the self-association properties of a leukotriene D 4 receptor antagonist, MK-0476. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 134, p. 59-70, 1996.

TIWARI, S. K. *et al.* Study of degradation behaviour of montelukast sodium and its marketed formulation in oxidative and accelerated test conditions and prediction of physicochemical and ADMET properties of its degradation products using ADMET

Predictor™. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 158, p. 106–118, 2018.

TRISOPON K.; KITTIPONGPATANA O.S.; SAOKHAM P. Optimizing large porous mannitol-leucine microparticles via spray drying technique. **Advanced Powder Technology**, v. 35, n. 7, 2024.

TSAPIS, N. *et al.* Trojan particles: Large porous carriers of nanoparticles for drug delivery, **PNAS September**. PNAS, v.99, n.19, p. 12001-12005, 2002.

ULLAH F.; SHAH K.U.; SHAH S.U.; *et al.* Synthesis, Characterization and In Vitro Evaluation of Chitosan Nanoparticles Physically Admixed with Lactose Microspheres for Pulmonary Delivery of Montelukast. **Polymers (Basel)**, v. 14, n. 17, 2022.

ULLAH F.; SABEI F.Y.; SHAH K.U.; *et al.* Inhalable microparticles embedding hyaluronic acid-coated chitosan nanoparticles: fabrication and evaluation for preferential accumulation of montelukast in the lung. **Journal of Microencapsulation**, v. 42, n. 5, p. 519-530, 2025.

USMANI, Omar S.; BIDDISCOMBE, Martyn F.; BARNES, Peter J. Regional lung deposition and bronchodilator response as a function of β_2 -agonist particle size. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 172, n. 12, p. 1497–1504, 15 dez. 2005.

USP-NF. United States Pharmacopeial Convention. 2025.

VARMA, M. V. *et al.* Transporter-Mediated Hepatic Uptake Plays an Important Role in the Pharmacokinetics and Drug–Drug Interactions of Montelukast. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 101, n. 3, p. 406–415, 1 mar. 2017.

VARTIAINEN, Ville *et al.* Aerosolization, Drug Permeation and Cellular Interaction of Dry Powder Pulmonary Formulations of Corticosteroids with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin as a Solubilizer. **Pharmaceutical Research**, v. 34, n. 1, p. 25–35, 1 jan. 2017.

VEHRING, Reinhard. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. **Pharmaceutical Research**, maio 2008.

VELAGA, Sitaram P. *et al.* Dry powder inhalers: An overview of the in vitro dissolution methodologies and their correlation with the biopharmaceutical aspects of the drug products. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 113, p. 18–28, 15 fev. 2018.

VIPPAGUNTA, Sudha R.; BRITAIN, Harry G.; GRANT, David J. W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p.3-26, 2001.

WANG, Yi Bo *et al.* The impact of pulmonary diseases on the fate of inhaled medicines - A review. **International Journal of Pharmaceutics**, 30 jan. 2014.

WANG H.; GEORGE G.; ISLAM N. Nicotine-loaded chitosan nanoparticles for dry

powder inhaler (DPI) formulations – Impact of nanoparticle surface charge on powder aerosolization. **Advanced Powder Technology**, v. 29, n. 12, 2018.

WANG, X.; WAN, W.; LU, J.; QUAN, G.; PAN, X.; LIU, P. Effects of L-leucine on the properties of spray-dried swellable microparticles with wrinkled surfaces for inhalation therapy of pulmonary fibrosis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 610, 26 out. 2021.

WANG, Bin *et al.* Pulmonary inhalation for disease treatment: Basic research and clinical translations. *Materials Today Bio*, Elsevier B.V., 1 abr. 2024.

WEERS, Jeffry G.; MILLER, Danforth P. Formulation Design of Dry Powders for Inhalation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* John Wiley and Sons Inc., 1 out. 2015.

WILLIAMS, Robert O.; CARVALHO, Thiago C.; PETERS, Jay I. Influence of particle size on regional lung deposition - What evidence is there? **International Journal of Pharmaceutics**, 15 mar. 2011.

YAMAMOTO, T. *et al.* Current state and future prospect of the therapeutic strategy targeting cysteinyl leukotriene metabolism in asthma. **Respiratory Investigation**, v. 57, p. 534-543, 2019.

YAQOUBI, S. *et al.* Co-electrospraying technology as a novel approach for dry powder inhalation formulation of montelukast and budesonide for pulmonary co-delivery. **International Journal of Pharmaceutics** Elsevier B.V., 12 out. 2020.

YE, Yuqing; MA, Ying; ZHU, Jesse. The future of dry powder inhaled therapy: Promising or discouraging for systemic disorders? **International Journal of Pharmaceutics** Elsevier B.V., 1 fev. 2022.

YUAN, Linna *et al.* Global, regional, national burden of asthma from 1990 to 2021, with projections of incidence to 2050: a systematic analysis of the global burden of disease study 2021. **eClinical Medicine**, v. 80, 1 fev. 2025.

YUE L.; ZHANG X.; ZHAO C.; CHEN R.; Chen X.; Rao L. Inhaled drug delivery: Past, present, and future. **Nano Today. Elsevier B.V.**, v. 52, 31 jul. 2023.

XU, You *et al.* Leucine improves the aerosol performance of dry powder inhaler formulations of siRNA-loaded nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 621, 26 abr. 2022.

ZAMANI, Maedeh *et al.* Electrosprayed Montelukast/poly (lactic-co-glycolic acid) particle based coating: A new therapeutic approach towards the prevention of in-stent restenosis. **Acta Biomaterialia**, v. 42, p. 316–328, 15 set. 2016.

ZHANG, Qihong *et al.* Preparation, characterization, in vitro and in vivo studies of olmesartan medoxomil in a ternary solid dispersion with N-methyl-D-glucamine and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, 1 abr. 2020.

ZHANG, Xuejuan *et al.* Co-spray-dried poly-L-lysine with L-leucine as dry powder inhalations for the treatment of pulmonary infection: Moisture-resistance and desirable aerosolization performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 624, 25 ago. 2022.

ZHANG C.; D'ANGELO D.; BUTTINI F.; YANG M. Long-acting inhaled medicines: Present and future. **Advanced Drug Delivery Reviews Elsevier B.V.**, v. 204, 2024.

ZHANG, Hanwen *et al.* Solid-state screening and dry powder inhaler development of ziyuglycoside II sodium salt for enhanced bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 681, 20 ago. 2025.

ZHAO, Ziyu *et al.* Low density, good flowability cyclodextrin-raffinose binary carrier for dry powder inhaler: anti-hygroscopicity and aerosolization performance enhancement. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 15, n. 5, p. 443–457, 4 maio 2018.

ZHAO, Ziyu *et al.* Hydroxypropyl- β -cyclodextrin as anti-hygroscopicity agent in amorphous lactose carriers for dry powder inhalers. **Powder Technology**, v. 358, p. 29–38, 15 dez. 2019.

ZIAEE, Ahmad *et al.* Spray drying ternary amorphous solid dispersions of ibuprofen – An investigation into critical formulation and processing parameters. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 120, p. 43–51, 1 nov. 2017.

ZIAEE, Ahmad *et al.* Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Elsevier B.V., 15 jan. 2019.

ZILLEN, Daan *et al.* Natural and bioinspired excipients for dry powder inhalation formulations. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, Elsevier Ltd, 1 dez. 2021.