

António José Ribeiro

**Lição Síntese
(Sumário Pormenorizado)**

nos termos da alínea b) do artigo 5º do Decreto-Lei nº 239/2007 de 19 de Junho

Nanoencapsulação como estratégia para administração oral da insulina

Provas de Agregação em Ciências Farmacêuticas

Coimbra

2011

Sumário pormenorizado da lição síntese elaborado de acordo com alínea b) do artigo 5º do Decreto-Lei nº 239/2007 de 19 de Junho, para apreciação na prestação de provas para a atribuição do título de Agregado da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, em Ciências Farmacêuticas, especialidade Tecnologia Farmacêutica.

INDICE

1. Nota prévia	4
2. Plano da Lição Síntese	5
2.1. Objectivos	5
2.2. Sumário.....	5
2.3. Resumo do Conteúdo Programático da Lição Síntese	6
2.4. Recursos e estratégias científico-pedagógicas	8
2.5. Referências bibliográficas.....	8

1. Nota prévia

Sendo da responsabilidade do candidato a escolha do assunto a tratar na lição, a preferir no âmbito das provas públicas para a atribuição do título de agregado, consideramos que tal tarefa, para além de dever ser suficientemente ponderada, pressupõe que o candidato tenha, não apenas conhecimentos suficientemente aprofundados sobre o tema, mas também, experiência científica sólida que os sustente.

Entre as várias áreas científicas que temos vindo a investigar nas últimas duas décadas e que proporcionaram a apresentação pública de resultados, escolhemos a nanoencapsulação, mais especificamente a sua utilização como estratégia para administração oral da insulina.

As razões desta escolha devem-se, em primeiro lugar à permanente actualidade do tema, traduzida quer na publicação anual de largas centenas de trabalhos científicos ao longo dos últimos trinta anos, quer no enorme número de patentes reivindicando o desenvolvimento de sistemas para administração oral da insulina. A segunda razão prende-se com o facto de considerarmos que as nanotecnologias ocuparão nos próximos anos um papel de destaque na tecnologia farmacêutica pelas propriedades inovadoras que apresentam, passando a constituir estratégias para a resolução de problemas como o aumento da solubilidade e da biodisponibilidade dos fármacos. O terceiro e último motivo, está relacionado com os desafios que o candidato considera mais motivadores no âmbito da tecnologia farmacêutica, a formulação de medicamentos à base de extractos de plantas ou de princípios activos de natureza biológica. Ao primeiro, o candidato consagrou seis anos da sua actividade científica, através do Diploma em Estudos Aprofundados e do doutoramento, enquanto ao segundo foram consagrados os últimos 13 anos, que resultaram numa percentagem significativa da nossa produção científica.

O tempo estabelecido por lei para a apresentação da lição, obriga-nos a fazer opções criteriosas na escolha e na relevância a dar aos diferentes aspectos do tema a tratar. Estamos convictos que outras estruturas e conteúdos poderiam ser apresentados pois o tema proposto é muito extenso e com possibilidade de ter vários tipos de abordagem consoante a área de formação e/ou investigação de quem nele trabalha.

O sumário proposto resulta da conjugação da experiência científica pessoal e da formação académica, Farmacotecnia e Biofarmácia, cujos objectivos primordiais são a investigação e o desenvolvimento aplicado, visando a descoberta de alternativas inovadoras para a concepção de novos sistemas terapêuticos e subsequente estudo farmacocinético.

2. Plano da Lição Síntese

2.1. Objectivos

- Demonstrar a contribuição da nanoencapsulação para o aumento da biodisponibilidade oral dos fármacos peptídicos através da sua aplicação à insulina;
- Descrever os principais obstáculos à administração oral de insulina e comparar resultados obtidos com as estratégias utilizadas para os ultrapassar;
- Entender a contribuição da nanoencapsulação na absorção intestinal da insulina;
- Contribuir para o desenvolvimento de um medicamento eficaz e seguro que permita a administração da insulina por via oral.

2.2. Sumário

- 1.Introdução
- 2.Estado-da-arte da administração oral de fármacos peptídicos
- 3.Nanomedicina e nanopartículas
 - 3.1.Sistemas poliméricos
 - 3.2.Sistemas lipídicos
- 4.Aumento da biodisponibilidade oral de fármacos peptídicos através da sua nanoencapsulação em biopolímeros
 - 4.1.Alginato
 - 4.2.Quitosano
 - 4.3.Dextrinas
 - 4.4.Dextranos
 - 4.5.Outros polissacarídeos
- 5.Mecanismos de absorção e transporte de nanopartículas através do tracto gastrointestinal
 - 5.1.Junções paracelulares
 - 5.2.Transcitose
 - 5.3.Placas de Peyer
- 6.Circulação e distribuição sistémica das nanopartículas

7.Perspectivas futuras

8.Considerações finais

2.3. Resumo do Conteúdo Programático da Lição Síntese

1.Introdução

É apresentada a estrutura da lição, discriminando-se os tópicos a abordar e justificando-se a relação entre cada um deles. Especial relevância é consagrada à temática da administração oral dos fármacos peptídicos, mais concretamente aos trabalhos originais realizados nos últimos dez anos.

A abordagem da nanoencapsulação é restringida à nanomedicina e mais especificamente à concepção dos sistemas de administração de fármacos sendo referidas aplicações a alguns dos fármacos peptídicos.

2.Estado-da-arte da administração oral de fármacos peptídicos

Resenha histórica do fármaco histórico com maior impacto, a insulina. São discriminados os obstáculos à administração oral das proteínas, justificando-se a sua particularidade. Referência para as consequências da realização de estudos experimentais em vários modelos *in vitro* e/ou *in vivo*.

Divulgação de resultados obtidos em trabalhos experimentais recorrendo a inibidores de enzimas presentes no tracto GI, revestimentos gastroresistente, microemulsões, excipientes activos.

3.Nanomedicina e nanopartículas

Referência à terminologia utilizada no âmbito das nanotecnologias, nanomedicina e nanoencapsulação. Justificação da especificidade das nanopartículas utilizadas para administrar fármacos em relação às nanotecnologias no que se refere à escala nanométrica. Distingão estrutural entre os tipos de nanopartículas.

4.Aumento da biodisponibilidade oral de fármacos peptídicos através da sua nanoencapsulação em biopolímeros

Análise comparativa de resultados obtidos no âmbito da utilização das nanopartículas à base de alginato, dextrinas, dextrans, quitosano e albumina para aumentar a biodisponibilidade oral da insulina. Considerando a variedade de sistemas de administração a análise privilegiará os resultados obtidos com sistemas minimamente comparáveis, isto é obtidos e estudados em condições semelhantes.

5.Mecanismos de absorção e transporte de nanopartículas de insulina através do tracto gastrointestinal

Descrição e exemplificação dos mecanismos inerentes ao transporte de insulina através do tracto gastrointestinal, mais concretamente na região proximal do intestino delgado, recorrendo à utilização de nanopartículas.

6.Distribuição sistémica das nanopartículas de insulina

Comparação das farmacocinéticas da administração oral e subcutânea da insulina e descrição da acção do sistema macrófago fagocitário (SMF) nos dois tipos de administração. Justificação da contribuição da nanoencapsulação para ultrapassar o SMF no que se relaciona com a administração oral e abordagem dos factores de formulação que influenciam a interacção das nanopartículas com o SMF.

7.Perspectivas futuras

Será proposta com a respectiva justificação, a utilização das nanopartículas à base de biopolímeros, como modelos de estudo das interacções entre nanopartículas e as células intestinais.

8.Considerações finais

Conclusões e perspectivas de obtenção de resultados a curto prazo relativamente a hipóteses existentes sobre os mecanismos de transporte intestinal de nanopartículas. Relação entre os resultados obtidos e a nanotoxicologia.

2.4. Recursos e estratégias científico-pedagógicas

Em sala de aula, a lição será efectuada com recurso a data-show e power-point.

No decurso da aula, serão mencionados os autores de referência e respectivos textos e obras relativos a cada conteúdo.

2.5. Referências bibliográficas

Trabalhos pessoais

- Damas, L., Oliveira, D., Oliveira, C., Santos, A., Veiga, F., Ribeiro, A., 2010. Tracking morphology of nanoparticles produced by emulsif./internal gelation. XVIII International Conference on Bioencapsulation. 2-3 de Outubro, Porto.
- Damgé, C., Reis, C., Veiga, F., Ribeiro, A., Neufeld, R., 2009. A new approach for oral delivery of insulin. *Diabetologia* 52, 947.
- Pinto Reis, C., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J., Veiga, F., 2006. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine* 2, 8-21.
- Pinto Reis, C., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J., Veiga, F., 2006. Nanoencapsulation II. Biomedical applications and current status of peptide and protein nanoparticulate delivery systems. *Nanomedicine*. 2, 53-65.
- Pinto Reis, C., Ribeiro, A., Neufeld, R., Figueiredo, I., Damgé, C., Veiga, F., 2007. Oral insulin - fiction or reality? . XXXVIII Reunião anual da Sociedade Portuguesa de Farmacologia, Coimbra, 5-7 de Dezembro, Coimbra.
- Reis, C., Ribeiro, A., Veiga, F., Neufeld, R., Damge, C., 2009. Oral administration of insulin: towards a new approach. *Diabetes & Metabolism* 35, A11-A11.
- Reis, C.P., Figueiredo, I.V., Carvalho, R.A., Jones, J., Nunes, P., Soares, A.F., Silva, C.F., Ribeiro, A.J., Veiga, F.J., Damge, C., Cabrita, A.M.S., Neufeld, R.J., 2008. Toxicological assessment of orally delivered nanoparticulate insulin. *Nanotoxicology* 2, 205-217.

- Reis, C.P., Neufeld, R.J., Vilela, S., Ribeiro, A.J., Veiga, F., 2006. Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles. *Journal of Microencapsulation* 23, 245-257.
- Reis, C.P., Ribeiro, A.J., Houg, S., Veiga, F., Neufeld, R.J., 2007. Nanoparticulate delivery system for insulin: Design, characterization and *in vitro/in vivo* bioactivity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 30, 392-397.
- Reis, C.P., Ribeiro, A.J., Neufeld, R.J., Veiga, F., 2007. Alginate microparticles as novel carrier for oral insulin delivery. *Biotechnology and Bioengineering* 96, 977-989.
- Reis, C.P., Ribeiro, A.J., Veiga, F., Neufeld, R.J., Damge, C., 2008. Polyelectrolyte biomaterial interactions provide nanoparticulate carrier for oral insulin delivery. *Drug Delivery* 15, 127-139.
- Reis, C.P., Veiga, F., Nunes, P., Soares, A.F., Laranjeira, T., Carvalho, R., Jones, J., Figueiredo, I.V., Ribeiro, A.J., Cabrita, A.M.S., 2007. Toxicological *in vivo* studies of an oral insulin nanosystem. *Toxicology Letters* 172, S90-S90.
- Reis, C.P., Veiga, F.J., Ribeiro, A.J., Neufeld, R.J., Damge, C., 2008. Nanoparticulate Biopolymers Deliver Insulin Orally Eliciting Pharmacological Response. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 97, 5290-5305.
- Ribeiro, A.J., Silva, C., Ferreira, D., Veiga, F., 2005. Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25, 31-40.
- Sarmiento, B., Ribeiro, A., Veiga, F., Ferreira, D., Neufeld, R., 2007. Oral bioavailability of insulin contained in polysaccharide nanoparticles. *Biomacromolecules* 8, 3054-3060.
- Sarmiento, B., Ribeiro, A., Veiga, F., Sampaio, P., Neufeld, R., Ferreira, D., 2007. Alginate/Chitosan nanoparticles are effective for oral insulin delivery. *Pharmaceutical Research* 24, 2198-2206.
- Sarmiento, B., Ribeiro, A.J., Veiga, F., Ferreira, D.C., Neufeld, R.J., 2007. Insulin-loaded nanoparticles are prepared by alginate ionotropic pre-gelation followed by chitosan polyelectrolyte complexation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 7, 2833-2841.

- Silva, C.M., Ribeiro, A.J., Ferreira, D., Veiga, F., 2006. Insulin encapsulation in reinforced alginate microspheres prepared by internal gelation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 29, 148-159.
- Silva, C.M., Ribeiro, A.J., Figueiredo, I.V., Goncalves, A.R., Veiga, F., 2006. Alginate microspheres prepared by internal gelation: Development and effect on insulin stability. *International Journal of Pharmaceutics* 311, 1-10.
- Silva, C.M., Veiga, F., Ribeiro, A.J., Zerrouk, N., Arnaud, P., 2006. Effect of chitosan-coated alginate microspheres on the permeability of Caco-2 cell monolayers. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 32, 1079-1088.
- Woitiski, C., Pimentel, V., Neufeld, R., Ribeiro, A., Veiga, F., 2009. Nanoscale analysis of insulin-biopolymeric nanoparticle using atomic force microscopy. XVIIth International Conference on Bioencapsulation, , 24-26 de Setembro, Groningen.
- Woitiski, C.B., Carvalho, R.A., Ribeiro, A.J., Neufeld, R.J., Veiga, F., 2008. Strategies toward the improved oral delivery of insulin nanoparticles via gastrointestinal uptake and translocation. *Biodrugs* 22, 223-237.
- Woitiski, C.B., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J., Veiga, F., 2009. Colloidal carrier integrating biomaterials for oral insulin delivery: Influence of component formulation on physicochemical and biological parameters. *Acta Biomaterialia* 5, 2475-2484.
- Woitiski, C.B., Veiga, F., Ribeiro, A., Neufeld, R., 2009. Design for optimization of nanoparticles integrating biomaterials for orally dosed insulin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 73, 25-33.

Trabalhos de outros autores

- Aboubakar, M., Couvreur, P., Pinto-Alphandary, H., Gouritin, B., Lacour, B., Farinotti, R., Puisieux, F., Vauthier, C., 2000. Insulin-loaded nanocapsules for oral administration: *In vitro* and *in vivo* investigation. *Drug Development Research* 49, 109-117.
- Chalasani, K., Russell-Jones, G., Jain, A., Diwan, P., Jain, S., 2007. Effective oral delivery of insulin in animal models using vitamin B12-coated dextran nanoparticles. *Journal of Controlled Release* 122, 141-150.
- Chen, I.L., Tsai, Y.J., Huang, C.M., Tsai, T.H., 2010. Lymphatic Absorption of Quercetin and Rutin in Rat and Their Pharmacokinetics in Systemic Plasma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 546-551.
- Damgé, C., Socha, M., Ubrich, N., Maincent, P., 2010. Poly(epsilon-Caprolactone)/Eudragit Nanoparticles for Oral Delivery of Aspart-Insulin in the Treatment of Diabetes. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99, 879-889.
- Damgé, C., Reis, C., Maincent, P., 2008. Nanoparticle strategies for the oral delivery of insulin. *Expert Opinion on Drug Delivery* 5, 45-68.
- Dekel, Y., Glucksam, Y., Margalit, R., 2010. Novel fibrillar insulin formulations for oral administration: Formulation and *in vivo* studies in diabetic mice. *Journal of Controlled Release* 143, 128-135.
- des Rieux, A., Fievez, V., Garinot, M., Schneider, Y.-J., Préat, V., 2006. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach. *Journal of Controlled Release* 116, 1-27.
- des Rieux, A., Fievez, V., Momtaz, M., Detrembleur, C., Alonso-Sande, M., Van Gelder, J., Cauvin, A., Schneider, Y.J., Preat, V., 2007. Helodermin-loaded nanoparticles: Characterization and transport across an *in vitro* model of the follicle-associated epithelium. *Journal of Controlled Release* 118, 294-302.
- des Rieux, A., Fievez, V., Theate, I., Mast, J., Preat, V., Schneider, Y.J., 2007. An improved *in vitro* model of human intestinal follicle-associated epithelium to study nanoparticle transport by M cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 30, 380-391.

- des Rieux, A., Ragnarsson, E.G.E., Gullberg, E., Preat, V., Schneider, Y.J., Artursson, P., 2005. Transport of nanoparticles across an *in vitro* model of the human intestinal follicle associated epithelium. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25, 455-465.
- Gaumet, M., Gurny, R., Delie, F., 2010. Interaction of biodegradable nanoparticles with intestinal cells: The effect of surface hydrophilicity. *International Journal of Pharmaceutics* 390, 45-52.
- Gaumet, M., Gurny, R., Delie, F., Vargas, A., 2009. Localization and quantification of biodegradable particles in an intestinal cell model: the influence of particle size Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters Fluorescent biodegradable PLGA particles with narrow size distributions: preparation by means of selective centrifugation. *Eur J Pharm Sci.* 36, 465-473.
- Ma, E., Ma, H., Liu, Z., Zheng, G., Duan, M., 2006. *In vitro* and *in vivo* evaluation of a novel oral insulin formulation. *Acta Pharmacologica Sinica* 27, 1382-1388.
- Peng, Q., Zhang, Z.R., Sun, X., Zuo, J., Zhao, D., Gong, T., 2010. Mechanisms of Phospholipid Complex Loaded Nanoparticles Enhancing the Oral Bioavailability. *Molecular Pharmaceutics* 7, 565-575.
- Pinto-Alphandary, H., Aboubakar, M., Jaillard, D., Couvreur, P., Vauthier, C., 2003. Visualization of insulin-loaded nanocapsules: *in vitro* and *in vivo* studies after oral administration to rats. *Pharmaceutical Research* 20, 1071-1084.
- Primard, C., Rochereau, N., Luciani, E., Genin, C., Delair, T., Paul, S., Verrier, B., 2010. Traffic of poly(lactic acid) nanoparticulate vaccine vehicle from intestinal mucus to sub-epithelial immune competent cells. *Biomaterials* 31, 6060-6068.
- Rekha, M.R., Sharma, C.P., 2009. Synthesis and evaluation of lauryl succinyl chitosan particles towards oral insulin delivery and absorption. *Journal of Controlled Release* 135, 144-151.
- Roger, E., Lagarce, F., Garcion, E., Benoit, J.P., 2010. Biopharmaceutical parameters to consider in order to alter the fate of nanocarriers after oral delivery. *Nanomedicine* 5, 287-306.

- Sajeesh, S., Bouchemal, K., Marsaud, V., Vauthier, C., Sharma, C.P., 2010. Cyclodextrin complexed insulin encapsulated hydrogel microparticles: An oral delivery system for insulin. *Journal of Controlled Release* 147, 377-384.
- Sajeesh, S., Vauthier, C., Gueutin, C., Ponchel, G., Sharma, C.P., 2010. Thiol functionalized polymethacrylic acid-based hydrogel microparticles for oral insulin delivery. *Acta Biomaterialia* 6, 3072-3080.
- Slutter, B., Plapied, L., Fievez, V., Sande, M.A., des Rieux, A., Schneider, Y.J., Van Riet, E., Jiskoot, W., Preat, V., 2009. Mechanistic study of the adjuvant effect of biodegradable nanoparticles in mucosal vaccination. *Journal of Controlled Release* 138, 113-121.
- Socha, M., Bartecki, P., Passirani, C., Sapin, A., Damge, C., Lecompte, T., Barre, J., El Ghazouani, F., Maincent, P., 2009. Stealth nanoparticles coated with heparin as peptide or protein carriers. *Journal of Drug Targeting* 17, 575-585.
- Sonia, T.A., Rekha, M.R., Sharma, C.P., 2011. Bioadhesive Hydrophobic Chitosan Microparticles for Oral Delivery of Insulin: *In Vitro* Characterization and *In Vivo* Uptake Studies. *Journal of Applied Polymer Science* 119, 2902-2910.
- Trevaskis, N.L., Charman, W.N., Porter, C.J.H., 2008. Lipid-based delivery systems and intestinal lymphatic drug transport: A mechanistic update. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60, 702-716.
- Yang, S.X., Yuan, W.E., Jin, T., 2009. Formulating protein therapeutics into particulate forms. *Expert Opinion on Drug Delivery* 6, 1123-1133.
- Yin, L., Ding, J., He, C., Cui, L., Tang, C., Yin, C., 2009. Drug permeability and mucoadhesion properties of thiolated trimethyl chitosan nanoparticles in oral insulin delivery. *Biomaterials* 30, 5691-5700.