



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2016 028675 1

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA
FILHO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 48031918000124

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Quirino de Andrade, 215

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 01049-010

País: Brasil

Telefone: 11 56270217

Fax: 11 56270103

Email: auin@unesp.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO PARA ENCAPSULAÇÃO DA INSULINA EM MICROPARTÍCULAS DE GOMA GELANA REVESTIDAS COM FILMES DE AMIDO RESISTENTE E PECTINA, MICROPARTÍCULAS MUCOADESIVAS DE GOMA GELANA CONTENDO INSULINA REVESTIDAS COM FILMES DE AMIDO RESISTENTE E PECTINA, E USO DA MESMA

Resumo: A presente invenção refere-se a um processo para encapsulação da insulina em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente/pectina para a administração oral da insulina. O processo descrito na presente invenção promove o efetivo aprisionamento da insulina na matriz polimérica e, conseqüentemente uma proteção contra a degradação, aumento da permeabilidade, bem como uma liberação controlada da insulina.

Figura a publicar: 8

Dados do Procurador

Procurador:

Nome ou Razão Social: Fabíola de Moraes Spiandorello

Numero OAB: 244141SP

Numero API:

CPF/CNPJ: 13521027813

Endereço: Rua Faustina Barbosa Stackfleth, 149, Parque Centenário

Cidade: Jundiaí

Estado: SP

CEP: 13214-773

Telefone: (11) 992340347

Fax:

Email: spianfm@terra.com.br

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3

Nome: ANDRÉIA BAGLIOTTI MENEGUIN

CPF: 35380767826

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: Rodovia Araraquara - Jaú, km 1, Campus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37904

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 2 de 3

Nome: BEATRIZ STRINGHETTI FERREIRA CURY

CPF: 19950755824

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rodovia Araraquara - Jaú, km 1, Campus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37904

Fax:

Email: auin@unesp.br

Inventor 3 de 3

Nome: MARIA PALMIRA DAFLON GREMIÃO

CPF: 70009368787

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rodovia Araraquara - Jaú, km 1, Campus Ville

Cidade: Araraquara

Estado: SP

CEP: 14800-903

País: BRASIL

Telefone: (11) 339 37904

Fax:

Email: auin@unesp.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	16AUIN045 - GOMA GELANA - GRU.pdf
Procuração	PROCURACAO UNESP LEOPOLDO-FABIOLA 2016.pdf
Portaria	DOESP_Nomeacao_Durigan_Marilza.pdf
Relatório Descritivo	16AUIN045 - GOMA GELANA - RELATORIO DESCRITIVO.pdf
Reivindicação	16AUIN045 - GOMA GELANA - REIVINDICACOES.pdf
Desenho	16AUIN045 - GOMA GELANA - DESENHOS.pdf
Resumo	16AUIN045 - GOMA GELANA - RESUMO.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- ☒ Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- ☒ Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

FUNDACAO PARA O DESENVOLVIMENTO DA UNESP FUNDUNESP Agência: 0239 Conta Corrente: 13-002911-5**DETALHE DO COMPROMISSO**

Convênio:	0033-0239-004900019792	Conta de Débito:	0239-000130027340
Tipo do Documento:	CNPJ	CPF/CNPJ do Fornecedor:	
Nome do Fornecedor:	000009853INPI - INST. NACIONAL		
No. compromisso banco:	1023666000200004	No. compromisso cliente:	757949/DS1 1011
Tipo de Pagamento:	BLQ Outros		
Código de Barras:	00199536371000002216907579493219600000000007000		
Valor Nominal:	70,00		
Desc./Abat.:	0,00	Juros:	0,00
Data de Vencimento:	10/10/2016		
Data de Pagamento:	10/10/2016		
Situação:	Efetivado	No. Protocolo:	PGTFORN10102016900115615
No. Lista de Débito:			
Autenticação:			

Valor a Pagar: 70,00

Tipo de Serviço: Pagamento Fornecedor
Complemento do Tipo de Serviço:

Emitir Aviso: Não emitir

Central de Atendimento Santander Empresarial 4004-2125 (Regiões Metropolitanas)
0800 726 2125 (Demais Localidades)

SAC 0800 762 7777
Ouvidoria 0800 726 0322

[retornar](#)[imprimir](#)

001-9		RECIBO DO SACADO			
Local de Pagamento					
Pagável em qualquer Banco					
Cedente					
INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial					
Data do Documento	Nº. documento	Espécie doc.	Acerte	Data Proces.	Vencimento
22/09/2016	1607579493	RC	N	22/09/2016	Contra-apresentação
Uso Banco	Carteira	Espécie	Quantidade	Valor	Agência/Código Cedente
18/027	RS				2234-9/333.028-1
Número: NN Complementar: Peticionamento Eletrônico.					Nosso Número
Natureza: 10 - Patente de					00.000.2.2.16.0757949.3
Cod Serviço Perícia Vinculada RPI Valor					(=) Valor Documento
200 - Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT - RS 70,00					RS 70,00
OAB: 235031SP Procurador: Leopoldo Campos Zuanetti					(-) Desconto/Abatimento
Governo Federal - Guia de Recolhimento da União. GRU - Cobrança					(-) Outras deduções
Sacado					(+) Mora/Multa
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO					(+) Outros Acréscimos
Rua Quirino de Andrade, 215, São Paulo, BR/SP, 01049-010					(-) Valor Cobrado
Sacador/Avalista					RS 70,00
Corte na linha pontilhada					Autenticação mecânica - Controle Cedente

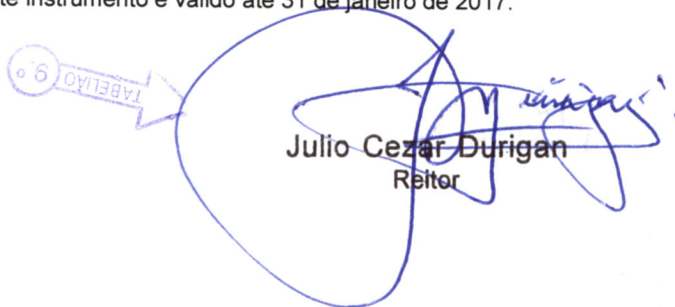
001-9		00199.53637 10000.022169 07579.493219 6 00000000007000			
Local de Pagamento					
Pagável em qualquer Banco					
Cedente					
INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial					
Data do Documento	Nº. documento	Espécie doc.	Acerte	Data Proces.	Vencimento
22/09/2016	1607579493	RC	N	22/09/2016	Contra-apresentação
Uso Banco	Carteira	Espécie	Quantidade	Valor	Agência/Código Cedente
18/027	RS				2234-9/333.028-1
Instruções:					Nosso Número
1. Valores expressos em reais.					00.000.2.2.16.0757949.3
2. Pagamento em cheque, anotar no verso o 'Nosso Número'.					(=) Valor Documento
3. Pagamento via SIAFI(OB-FATURA): identificar na 'ob' o 'Nosso Número'.					RS 70,00
4. Vencimento contra apresentação.					(-) Desconto/Abatimento
OAB: 235031SP Procurador: Leopoldo Campos Zuanetti					(-) Outras deduções
Governo Federal - Guia de Recolhimento da União. GRU - Cobrança					(+) Mora/Multa
Sacado					(+) Outros Acréscimos
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO					(-) Valor Cobrado
Rua Quirino de Andrade, 215, São Paulo, BR/SP, 01049-010					RS 70,00
Sacador/Avalista					Autenticação mecânica - Ficha de Compensação
Corte na linha pontilhada					

- GRU ÚNICA: a GRU apresentada ao INPI, como comprovante da retribuição, deve ser única. Não utilize cópias desta GRU para outro pagamento.- PAGAMENTO: o pagamento da GRU deve ser providenciado no PRAZO ADMINISTRATIVO, regulamentado em lei ou Ato Normativo próprio.

PROCURAÇÃO

Por este instrumento, a **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"**, autarquia estadual de regime especial, criada pela Lei nº 952 de 30/01/1976, com sede na Rua Quirino de Andrade, nº 215, Centro, CEP 01049-010, São Paulo/SP, inscrita no CNPJ do MF sob o nº 48.031.918/0001-24, doravante designada simplesmente **UNESP**, neste ato representada por seu Magnífico Reitor, de acordo com o Art. 34 de seu Estatuto, Prof. Dr. **JÚLIO CEZAR DURIGAN**, brasileiro, casado, professor universitário, portador do RG nº 5.872.573-3 SSP/SP, inscrito no CPF/MF sob o nº 833.745.238-20, ou quem legalmente o substitua, nomeia e constitui seus procuradores, **1) LEOPOLDO CAMPOS ZUANETI**, brasileiro, advogado, devidamente inscrito na Ordem dos Advogados do Brasil Seção de São Paulo sob o número 235.031; e **2) FABIOLA DE MORAES SPIANDORELLO**, brasileira, advogada, devidamente inscrita na Ordem dos Advogados do Brasil Seção de São Paulo, Subseção de Jundiaí sob o número 244.141, ambos lotados junto à Agência UNESP de Inovação, outorgando-lhes poderes para representá-la perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, para o fim de requerer e processar direitos de propriedade intelectual, tais como patentes de invenção, de modelos de utilidade, desenhos industriais, registros de marcas de produto, de serviço, coletivas ou de certificação, de indicações geográficas, cultivares, direitos de autor, de programas de computador e mantê-los em vigor com amplos e ilimitados poderes para assinar petições, autorizações para cópia, termos de cessão de direitos, acordos de gestão e compartilhamento de propriedade intelectual, documentos diversos relacionados ao processo administrativo de proteção de direitos de propriedade industrial, incluindo, mas não se limitando, aos documentos já utilizados pelo INPI, bem como àqueles que vierem a ser adotados e utilizados para instrução processual de patentes, modelos de utilidades, marcas, desenhos industriais e programas de computador, pagar taxas, retribuições, impostos, fazer prova de uso das invenções patenteadas ou das marcas registradas, efetuar pagamentos e receber restituições, dando as respectivas quitações, apresentar oposições, recursos, réplicas, desistir, renunciar, anotar, averbar contratos de licença e transferências de tecnologia, elaborar notificações extrajudiciais, requerer prorrogação dos prazos de proteção, fazer declarações, opor, protestar, impugnar, recorrer, pedir reconsideração, manifestar-se sobre oposições e recursos, obter vista de processos, cumprir exigências, apresentar defesas escritas ou orais, desistir, replicar, transigir, receber, juntar e retirar documentos, requerer caducidade e contestar pedido de caducidade, requerer e contestar nulidade administrativa e licença compulsória, preencher qualquer tipo de formalidade, requerer anotação e averbação de cessão, alterações de nome e de sede, proceder à publicação de editais de chamamento para instruir, elaborar, firmar e acompanhar contratos de transferência de tecnologia e/ou licenciamento com exclusividade ou não, e praticar para o fim mencionado todos os atos necessários perante as autoridades administrativas competentes no Brasil em benefício da Outorgante.

Este instrumento é válido até 31 de janeiro de 2017.



Julio Cezar Durigan
Reitor

São Paulo, 7 de janeiro de 2016.

9.º

TABELIÃO DE NOTAS

Rua Marconi, 124 • 1º ao 6º andar • CEP 01047-000 São Paulo/SP
Telefones: (11) 3258-2611 - Fax: (11) 2174-6858
www.nonocartorio.com.br

Reconheço a 1 firma sem valor econômico por semelhança de **JULIO CEZAR DURIGAN**, do que dou fé.

Em tesº da verdade.

GUSTAVO FONTANA ANDOLPHO -

São Paulo/Capital, 7 de janeiro de 2016. Valor recebido R\$ 4,80

Válido somente com selo de autenticidade. Selos pagos por verba





Geraldo Alckmin - Governador

Volume 122 • Número 198 • São Paulo, sexta-feira, 19 de outubro de 2012 www.imprensaoficial.com.br

SEÇÃO I

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO

DECRETO Nº 58.467,
DE 18 DE OUTUBRO DE 2012

Julio Francisco Semeghini Neto
Secretário de Planejamento e Desenvolvimento Regional
Sidney Estanislau Beraldo
Secretário-Chefe da Casa Civil
Publicado na Casa Civil, aos 18 de outubro de 2012.

TABELA 3						MARGEM ORÇAMENTARIA		VALORES EM REAIS	
RECURSOS DORECURSOS									
TESOURO EPRÓPRIOS									
ESPECIFICAÇÃO VALOR TOTAL						VINCULADOS			
LEI	ART	PAR	INC	ITEM					
14675	8º	1º		2	4.167.344,00	4.167.344,00		0,00	
TOTAL GERAL						4.167.344,00	4.167.344,00		0,00

DECRETO Nº 58.468,
DE 18 DE OUTUBRO DE 2012

Artigo 1º - Ficam declarados de utilidade pública, para fins de desapropriação pela CONCESSIONÁRIA AUTO RAPOSO TAVARES S.A., empresa concessionária de serviço público, por via amigável ou judicial, imóveis descritos na planta cadastral de código nº DE-SPD591270-591.592-616-D03/001 e memo-

de coordenada N=7565.308, 309441 e E=437350,33662, sendo constituída pelos segmentos a seguir relacionados: segmento 1-2 em linha reta com azimute 300°43'30", distância de 1,2 km; segmento 2-3 em linha reta com azimute 300°6'30", distância de 1,2 km; segmento 3-4 em linha reta com azimute 300°21'11", distância de 15,68m; segmento 4-5 em linha reta com azimute 300°40'42", distância de 18,52m; segmento 4-5 em linha reta com azimute 300°15'22", distância de 11,34m; segmento 5-6 em linha reta com azimute 300°44'30", distância de 17,84m; segmento 6-7 em linha reta com azimute 300°15'22", distância de 15,15m; segmento 7-8 em linha reta com azimute 300°15'19", distância de 15,15m; segmento 8-9 em linha reta com azimute 300°9'54", distância de 15,70m; segmento 9-10 em linha reta com azimute 301°25'19", distância de 14,82m; segmento 10-11 em linha reta com azimute 300°36'56", distância de 14,98m; segmento 11-12 em linha reta com azimute 300°7'50", distância de 18,10m; segmento 12-13 em linha reta com azimute 300°36'56", distância de 30,89m; segmento 13-14 em linha reta com azimute 301°2'32", distância de 33,54m; segmento 14-15 em linha reta com azimute 299°37'40", distância de 97,28m; segmento 15-16 em linha reta com azimute 305°13'39", distância de 13,72m; segmento 16-17 em linha reta com azimute 297°22'32", distância de 13,72m; segmento 17-18 em linha reta com azimute 306°31'50", distância de 17,44m;

Palácio dos Bandeirantes, 18 de outubro de 2012
GERALDO ALCKMIN
Saulo de Castro Abreu Filho
Secretário de Logística e Transportes
Sidney Estanislau Beraldo
Secretário-Chefe da Casa Civil
Publicado na Casa Civil, aos 18 de outubro de 2012.

DECRETO Nº 58.469,
DE 18 DE OUTUBRO DE 2012

III- comprovação de moradia ou trabalho no município do empreendimento nos últimos 3 (três) anos, a contar da data da inscrição, ou, conforme definido em lei municipal específica.

Palácio dos Bandeirantes, 18 de outubro de 2012
GERALDO ALCKMIN
Silvio França Torres
Secretário da Habitação
Sidney Estanislau Beraldo
Secretário-Chefe da Casa Civil
Publicado na Casa Civil, aos 18 de outubro de 2012.

DECRETO(S)

DECRETOS

DE 16-10-2012

(Publicado novamente por ter saído com incorreções)

DE 18-10-2012

Alexandre Vaghi de Arruda Aniz, RG 19.824.038-7, nomeado Vice-Presidente da Junta Comercial do Estado de São Paulo por decreto de 4-10-2011, até o término de seu mandato;

Gisela Simiema Ceschin, RG 27.252.301-X, nomeada para o cargo de Secretário Geral da Junta Comercial do Estado de São Paulo por decreto de 2-4-2012.

FUNDO SOCIAL DE SOLIDARIEDADE DO
ESTADO DE SÃO PAULO

CHEFIA DE GABINETE

Objeto: Transferência de recursos financeiros, a título de auxílio, para a aquisição de material para implantação da "Praça de Exercícios do Idoso".

Valor do Convênio: R\$ 117.089,94, sendo R\$ 15.000,00 pelo FUSSESP e R\$ 102.089,94 pelo Município.

**PROCESSO PARA ENCAPSULAÇÃO DA INSULINA EM MICROPARTÍCULAS
DE GOMA GELANA REVESTIDAS COM FILMES DE AMIDO RESISTENTE E
PECTINA, MICROPARTÍCULAS MUCOADESIVAS DE GOMA GELANA
CONTENDO INSULINA REVESTIDAS COM FILMES DE AMIDO RESISTENTE
E PECTINA, E USO DA MESMA**

CAMPO DA INVENÇÃO

[1] A presente invenção se insere no campo da Farmacotécnica, Tecnologia Farmacêutica e Saúde Humana, e descreve um processo para encapsulação da insulina em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente e pectina, bem como micropartículas mucoadesivas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente/pectina para administração oral da insulina.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[2] A diabetes mellitus, doença metabólica crônica que afeta mais de 371 milhões de pessoas no mundo, independentemente do sexo, idade ou raça, representa a sexta causa mais comum de morte no mundo (JOSE *et al.*, 2012; SONIA; SHARMA, 2012; BABU *et al.*, 2008; DANEMAN, 2006). Essa patologia é caracterizada pelo aumento anormal e constante dos níveis de glicose no sangue e suas complicações podem levar à retinopatia, insuficiência renal e neurotrofia (DAMGÉ *et al.*, 2008).

[3] A diabetes mellitus pode ser classificada em dois principais tipos: (i) *Diabetes mellitus* tipo I (DM-I) (insulinodependente), a qual é causada pela destruição autoimune das células beta-pancreáticas, impedindo a produção de insulina (INS) (hormônio regulador da glicemia) e (ii) *Diabetes mellitus* tipo II (DM-II) (insulino-independente), caracterizada pela resistência à INS (REIS;

DAMGÉ, 2012), a qual afeta 90% da população diabética no mundo (GERMINO, 2011).

[4] O tratamento da DM-I é realizado através da administração subcutânea diária de INS a fim de suprir a secreção fisiológica deficiente, enquanto que a utilização de medicamentos hipoglicemiantes orais é a base do tratamento da DM-II. No entanto, os diabéticos tipo II podem, com o tempo, necessitar de INS exógena para o controle adequado da glicose no sangue (SONIA; SHARMA, 2012).

[5] Apesar da administração da INS via subcutânea mostrar-se eficiente em termos de biodisponibilidade, por ser invasiva causa desconfortos que vão desde a dor, infecção local, lipoatrofia seguida de depressões irregulares da pele até problemas psicológicos, diminuindo, dessa maneira, a adesão do paciente ao tratamento (REIS; DAMGÉ, 2012; BABIKER; DATTA, 2010).

[6] Várias estratégias têm sido abordadas no intuito de possibilitar uma via alternativa para a administração da INS. Nesse sentido, sistemas para administração nasal (ZHANG *et al.*, 2011b), retal (ONUKI *et al.*, 2000), pulmonar (CHONO *et al.*, 2009), transdérmica (YERRAMSETTY *et al.*, 2010) e oral (PEPPAS; KAVIMANDAN, 2006) têm sido desenvolvidos. Contudo, a via oral é considerada a mais conveniente, já que, por ser mais segura e natural, leva a maior aceitação e adesão do paciente ao tratamento (ALEXANDER, 2009).

[7] Na verdade, a vantagem mais importante da administração oral da INS é que ela é um dos poucos fármacos beneficiados pela metabolização présistêmica, de

modo que, ao ser absorvida pelo epitélio intestinal e alcançar o fígado através da veia porta hepática, inibe diretamente a produção de glicose, pois mimetiza a secreção natural de INS pelas ilhotas de Langerhans. Tal efeito não é alcançado através da administração parenteral, uma vez que somente 20% da INS injetada alcança o fígado (PEPPAS; KAVIMANDAN, 2006; PILLAI; PANCHAGNULA, 2001). Dessa maneira, a hiperinsulinemia periférica é provocada, no intuito de se alcançarem níveis hepáticos suficientes de hormônio, o que pode causar aterogênese, lipogênese, hipoglicemia, ganho de peso e resistência à INS (ARBIT; KIDRON, 2009; KHAFAFY *et al.*, 2007; ARBIT, 2004; STILL, 2002).

[8] No entanto, a principal limitação da administração oral da INS é que, por ser um peptídeo, ela é degradada no estômago e duodeno por clivagem das ligações peptídicas pelas enzimas proteolíticas locais (DAMGÉ *et al.*, 2008; REIS *et al.*, 2008), causando sua desnaturação e mudanças na sua estrutura, conformação e bioatividade (HEINEMANN, 2010; UBAIDULLA *et al.*, 2009). Dessa maneira, menos de 0,1% da dose oral de INS alcança a circulação sanguínea na forma intacta (KUMAR *et al.*, 2006).

[9] Assim, o grande desafio da utilização da via oral para administração da INS reside na sua proteção contra ataques enzimáticos nos segmentos superiores do TGI, a fim de maximizar sua biodisponibilidade. Nesse sentido, estratégias, como modificações químicas do bioativo, uso de inibidores de protease e promotores de absorção, desenvolvimento de formas farmacêuticas coloidais e sistemas colônicos têm constituído importantes objetos de

pesquisa (MARONI *et al.*, 2012; CHONO *et al.*, 2009; WOITISKI *et al.*, 2009).

[10] O cólon apresenta características particulares, como pH próximo a neutralidade, tempo de trânsito relativamente longo e baixa atividade enzimática (enzimas proteolíticas) que o torna um favorável sítio de absorção de peptídeos e proteínas (MENINNI *et al.*, 2012; PERERA *et al.*, 2010) e que podem ser exploradas para a vetorização da liberação dessas substâncias.

[11] A importância dos sistemas microparticulados também deve ser evidenciada, uma vez que estes podem aprisionar os fármacos de origem protéica em uma matriz polimérica, oferecendo proteção contra degradação enzimática, além de oferecerem vantagens em relação aos sistemas monolíticos, como uma distribuição mais homogênea ao longo do TGI e tempo de trânsito mais previsível, o que promove uma absorção mais regular (ZERBINI, 2010).

[12] O revestimento de formas farmacêuticas sólidas com polímeros degradáveis pela microbiota colônica representa uma importante ferramenta tecnológica para se alcançar a liberação cólon-específica de fármacos (AKHGARI *et al.*, 2006). Isso se justifica pelo fato de a atividade enzimática específica do meio colônico representar a estratégia mais confiável para direcionar substâncias para o cólon, pois as propriedades pH dos fluidos e tempo de trânsito gastrintestinais apresentam elevada variabilidade inter e intra-individual (MAIOR *et al.*, 2008; FADDA; BASIT, 2005).

[13] O amido resistente tipo 3 (AR 3), o qual é obtido através do processo de retrogradação, representa uma

fração do amido que escapa da digestão nas porções superiores do TGI e é degradado seletivamente pela microflora colônica (CHUNG *et al.*, 2009, YOON *et al.*, 2009; DIMANTOV *et al.*, 2004). A alta amilose (amido modificado com elevado teor de amilose) vem sendo considerada o material preferido para obtenção de produtos com elevados teores de AR, pois origina uma matriz amorfa onde os cristalitos ficam embebidos e protegidos da exposição às enzimas (HTOON *et al.*, 2009; DIMANTOV *et al.*, 2003; FISHMAN *et al.*, 1996).

[14] Filmes de revestimento de AR associados à pectina foram obtidos anteriormente e suas propriedades mecânicas (resistência à perfuração e alongamento na perfuração), de intumescimento e de barreira (permeabilidade ao vapor d'água) foram avaliadas, demonstrando que essa associação permitiu a obtenção de propriedades filmógenas adequadas. Os resultados obtidos revelaram ainda que os filmes desenvolvidos apresentam características promissoras para a obtenção de sistemas de liberação cólon específica de fármacos, tais como os elevados teores de AR (65,80-96,69%) e a consequente resistência à digestão enzimática nas porções superiores do TGI, bem como reduzida dissolução em meio ácido (MENEGUIN *et al.*, 2014; MENEGUIN, 2012).

[15] Considerando que a maioria dos peptídeos e proteínas é escassamente absorvida no intestino devido ao seu elevado peso molecular e hidrofília (KHAFAGY *et al.*, 2007; PEPPAS, 2004), os sistemas poliméricos bioadesivos representam uma importante abordagem para o êxito da liberação sítio específica e da maximização da

permeabilidade e absorção do fármaco, uma vez que imobilizam o fármaco no órgão alvo, prolongando o tempo de contato entre o fármaco e a mucosa e elevando o gradiente de concentração local do fármaco (ANDREWS *et al.*, 2009; KHAFAGY *et al.*, 2007; PEPPAS, 2004).

[16] A goma gelana (GG) é um polissacarídeo aniônico linear e hidrofílico, que apresenta importantes propriedades bioadesivas (CARDOSO, 2014; PREZOTTI *et al.*, 2014; NARKAR *et al.*, 2010; SALAMAT-MILLER *et al.*, 2005). Por ser considerado um material seguro segundo a FDA, e devido à sua habilidade em formar MP na presença de cátions, como os íons Ca^{+2} , a GG tem sido empregada na obtenção de sistemas de liberação controlada de fármacos (PREZOTTI *et al.*, 2014; BABU *et al.*, 2010; RAJINIKANTH; MISHRA, 2007; AGNIHOTRI *et al.*, 2006; PATIL *et al.*, 2006).

[17] Reddy e Tammishetti (2002) pesquisaram a influência de íons metálicos divalentes e trivalentes na formação de partículas de goma guar e concluíram que a reticulação com íons Al^{+3} ocorreu mais rapidamente do que com íons Ca^{+2} , atribuindo tal efeito a maior valência dos íons Al^{+3} . Foi verificado nesse mesmo estudo que, para se encapsular uma concentração máxima de albumina, foi necessária uma quantidade menor de sais de Al^{+3} . Além disso, a valência dos íons também teve influência na liberação da proteína, a qual foi liberada por um prolongado período de tempo em fluido intestinal simulado a partir das partículas reticuladas com íons trivalente, ao contrário das partículas reticuladas com íons divalentes.

[18] Com base nos fatos expostos, o uso de filmes de AR/pectina para o revestimento de MP mucoadesivas de GG

reticuladas com Al^{+3} representa uma estratégia racional para se alcançar a liberação cólon específica da INS administrada oralmente.

ESTADO DA TÉCNICA

[19] Alguns documentos de patentes também surgem como alternativas para a liberação controlada de medicamentos, por exemplo:

[20] O documento NZ540318 intitulado "*Therapeutic compositions for drug delivery to and through covering epithelia*" descreve composições terapêuticas para administração farmacológica através de filmes finos.

[21] O documento US2013034602 (A1) intitulado "*Enteric-coated capsule containing cationic nanoparticles for oral insulin delivery*" descreve uma cápsula com revestimento entérico contendo nanopartículas para administração oral de insulina envoltos por polímeros muco-adesivos e biodegradáveis.

[22] Assim, a motivação para o desenvolvimento da presente invenção se baseou na necessidade de obtenção de um sistema de liberação que permita a administração oral da insulina, garantindo i) proteção da insulina contra desnaturação ácida e degradação enzimática nas porções superiores do trato gastrintestinal e ii) melhoria da permeabilidade intestinal, ambos fatores contribuindo para a eficácia da insulina oral para o tratamento do *Diabetes mellitus*, o qual têm sido convencionalmente realizado através da administração diária de injeções subcutâneas de insulina. Nesse sentido, a encapsulação da insulina (ou outras proteínas/peptídeos terapêuticos) em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido

resistente/pectina constitui uma importante plataforma tecnológica para o aumento da biodisponibilidade oral desses bioterápicos, modulando sua ação e reduzindo possíveis efeitos colaterais, bem como complicações relacionadas com as vias invasivas de administração de fármacos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[23] A presente invenção tem por objetivo propor um processo para encapsulação da insulina em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente/pectina para a administração oral da insulina. As tecnologias de microencapsulação e revestimento foram exploradas a fim de promover o efetivo aprisionamento da INS na matriz polimérica e, conseqüentemente, alcançar a proteção contra a degradação, aumento da permeabilidade/biodisponibilidade, bem como a liberação controlada da insulina. A escolha da goma gelana para a obtenção das MP foi baseada nas suas importantes propriedades mucoadesivas e biodegradabilidade específica pelas enzimas da microbiota colônica. Além disso, sua habilidade em formar hidrogéis na presença de cátions di ou trivalentes possibilitou a utilização da técnica de geleificação ionotrópica, a qual evita o uso de solventes orgânicos e requer condições reacionais amenas. O uso dos filmes de amido resistente/pectina para o revestimento das MP fundamentou-se em suas propriedades promissoras para se alcançar a liberação colônica, como a baixa solubilidade e degradabilidade enzimática em condições que simulam as porções superiores do trato gastrointestinal.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[24] A FIG. 1 mostra fotomicrografias de partículas obtidas através de gotejamento em diferentes alturas: A) 20 cm e B) 1 cm;

[25] A FIG. 2 apresenta gráficos mostrando a distribuição de tamanho de partícula para as micropartículas controle;

[26] A FIG. 3 apresenta gráficos mostrando a distribuição de tamanho de partícula para as micropartículas carregadas com insulina;

[27] A FIG. 4 mostra as fotomicrografias obtidas por MEV-FEG (aumentos de 50x, 200x, 1000x, 10000x, respectivamente) das superfícies das micropartículas 155 (A), (B), (C), (D). IN155 (E), (F), (G), (H). CIN155 (I), (J), (K), (L). Setas indicam a presença de cristais de amido resistente;

[28] A FIG. 5 mostra as fotomicrografias obtidas por MEV-FEG (aumentos de 50x, 200x, 1000x, 10000x, respectivamente) das superfícies das MP 205 (A), (B), (C), (D). IN205 (E), (F), (G), (H). CIN205 (I), (J), (K), (L);

[29] A FIG. 6 mostra difratogramas do revestimento de amido resistente/pectina, da insulina humana em pó, da mistura física de gelana:insulina (1:1), das micropartículas controle (253 e 255), das micropartículas carregadas com insulina (IN253 e IN255) e micropartículas carregadas com insulina e revestidas (CIN253 e CIN255);

[30] A FIG. 7 mostra as curvas de DSC da gelana, do revestimento baseado em amido resistente/pectina e da insulina em pó;

[31] A FIG. 8 mostra as curvas de DSC das

micropartículas controle, carregadas com insulina e carregadas com insulina e revestidas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[32] A presente invenção refere-se a um processo para encapsulação da insulina em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente e pectina. Tal processo compreende as seguintes etapas:

- (a) Obtenção das micropartículas de goma gelana;
- (b) Incorporação das micropartículas de goma gelana com insulina;
- (c) Preparo da dispersão filmógena de amido resistente e pectina; e
- (d) Revestimento das micropartículas de goma gelana com filmes de amido resistente e pectina;

(a) Obtenção das micropartículas de goma gelana;

[33] As micropartículas foram obtidas por meio do método de geleificação ionotrópica. Visando otimizar as condições para a obtenção das micropartículas para produção de uma população homogênea de partículas, inicialmente foram utilizadas duas metodologias diferentes (Tabela 1), levando-se em conta as seguintes variáveis sobre o tamanho e forma: i) temperatura da água para a dispersão do polímero; ii) altura do gotejamento em relação à superfície da solução reticulante; e iii) velocidade de agitação das micropartículas.

Tabela 1 - Variáveis exploradas para otimização da obtenção das micropartículas

Variáveis	Método 1	Método 2
Temperatura da água para dispersão da gelana	90 °C	60 °C

Altura do gotejamento em relação à superfície da solução reticulante	20 cm	1 cm
Velocidade de agitação das MP	360 rpm	720 rpm

[34] Conforme observado na Tabela 1, dispersões de gelana em diferentes concentrações (1,5%, 2,0% e 2,5%) foram preparadas através da dispersão do polímero em água destilada aquecida (60 ou 90 °C), sob agitação magnética constante durante tempo suficiente para completa homogeneização. As dispersões foram gotejadas através de seringa e agulha de irrigação sem bisel 23G 1" (0,6 x 25 mm) a uma altura de 20 ou 1 cm, em solução catiônica (cloreto de alumínio - 3 ou 5% m/v) mantida em banho de gelo. As micropartículas foram mantidas sob agitação magnética constante a 360 ou 720 rpm por 24 h. Em seguida, as partículas foram separadas por filtração e secas a 30 °C por 24 horas, em estufa com circulação forçada de ar.

[35] Observou-se que o gotejamento das dispersões a partir de uma altura mais elevada (20 cm), segundo o método 1, originou partículas irregulares com cauda (FIG. 1A), o que pode ser atribuído ao maior efeito de impacto e arraste alcançados nesta condição e que não puderam ser superados pela viscosidade e tensão superficial da gota. Já as partículas produzidas pelo método 2, isto é, obtidas através do gotejamento em baixa altura (1 cm) apresentaram forma aproximadamente esférica (FIG. 1B) e maior homogeneidade de tamanho, confirmando que em alturas mais baixas de gotejamento, a gota assume uma menor velocidade de queda e, conseqüentemente, um menor impacto com a superfície da solução reticulante, permitindo que a forma

da gota seja preservada.

[36] A maior taxa de agitação empregada no método 2 (720 rpm) também deve ter contribuído para o aumento de circularidade das micropartículas (0,6955 - 0,8129), enquanto para o método 1 estes valores apresentaram-se entre 0,4790 e 0,5531, uma vez que a solução reticulante em alta velocidade de agitação pode causar um cisalhamento sobre as partículas, o qual exerce um efeito de polimento sobre as mesmas, tornando-as mais esféricas.

[37] Além disso, a temperatura da água em que a gelana é dispersa também teve influência na forma e tamanho das partículas, uma vez que temperaturas mais elevadas, como a aplicada no método 1 (90 °C), originam dispersões menos viscosas e diminuem a tensão superficial, levando à formação de gotas menores, as quais são transformadas em partículas de dimensão mais reduzida. A baixa viscosidade dessas dispersões também não deve ser suficiente para superar o impacto e arraste das gotas ao entrar em contato com a solução reticulante, originando partículas mais irregulares e com cauda. Contrariamente, a menor temperatura empregada no método 2 (60 °C) origina dispersões poliméricas mais viscosas, as quais são mais resistentes ao arraste e impacto, originando micropartículas mais homogêneas. No entanto, devido às gotas formadas serem maiores, estas dão origem a partículas de tamanho maior, o que pode ser confirmado pela análise de forma e tamanho.

[38] Com base nos resultados, concluiu-se que as condições do método 2 são mais adequadas para a obtenção de micropartículas homogêneas, uma vez que originou partículas

com alto grau de circularidade (0,6955-0,8129) e com distribuição de tamanho mais estreita (700-1400 μm).

(b) **Incorporação de insulina em micropartículas de goma gelana**

[39] Diferentes métodos de incorporação da insulina nas micropartículas foram avaliados visando maximizar a eficiência de encapsulação, por exemplo, incorporação por imersão/difusão; incorporação na dispersão polimérica; e incorporação na solução de reticulante/imersão, sendo esta última a mais eficiente.

b.1) **Incorporação da insulina na solução de reticulante/imersão**

[40] Uma vez que a insulina é um fármaco hidrofílico que pode sofrer difusão para a solução aquosa de reticulante, resultando em baixa eficiência de encapsulação, foi avaliado o carregamento das micropartículas através do gotejamento da dispersão polimérica (2,5%) em solução de reticulante contendo insulina, como segue:

A) Gotejamento de dispersão de gelana em solução de cloreto de alumínio (3%) contendo 6,67 UI/mL (0,23 mg/mL), sob agitação durante 24 h;

B) Gotejamento da dispersão de gelana em solução de cloreto de alumínio (3%) contendo 20 UI/mL (0,7 mg/mL), sob agitação durante 30 min;

C) Gotejamento de dispersão de gelana em solução de cloreto de alumínio (3%) contendo 40 UI/mL (1,4 mg/mL), sob agitação durante 30 min;

(c) **Preparo da dispersão filmógena de amido resistente e pectina;**

[41] A dispersão filmógena de amido resistente e pectina foi preparada da seguinte maneira:

c.1) Preparar separadamente dispersões aquosas de alta amilose e pectina, na concentração de 5% (m/v), sob agitação magnética por 30 minutos;

c.2) Submeter as dispersões de alta amilose à autoclavação a 121 °C por 120 min para gelatinização do amido;

c.3) Resfriar a alta amilose gelatinizada a 30 °C sob agitação mecânica;

c.4) Misturar com a dispersão de pectina, previamente preparada, na proporção de 1:1 (m/m)

c.5) Submeter as dispersões ao processo de retrogradação mediante ciclos térmicos alternados de 4 °C e 30 °C por 16 dias, sendo 2 dias em cada temperatura; e

c.6) Adicionar glicerina (5% em relação à massa de polímero) como como plastificante, sob agitação magnética durante 120 min.

(d) **Revestimento das micropartículas de goma gelana com filmes de amido resistente e pectina;**

[42] Visando evitar a aglomeração das micropartículas durante o processo de revestimento, realizou-se a imersão das mesmas nas dispersões filmógenas, à temperatura ambiente e sob agitação magnética por 1 min;

[43] Em seguida, as micropartículas foram separadas por filtração e secas em turbina de secagem com jato de ar frio até atingir peso constante. Esse processo foi realizado 2 vezes. As micropartículas obtidas foram denominadas de acordo com a concentração de gelana (1,5, 2,0 e 2,5%), concentração do agente reticulante (3 e 5%),

presença de insulina (adição do prefixo INS) e presença de revestimento (adição do prefixo C), como sumarizado na Tabela 2.

Tabela 2 - Nomenclatura e composição das micropartículas de gelana

	Concentração da solução reticulante (AlCl_3)					
	3%			5%		
Gelana (%)	1,5	2,0	2,5	1,5	2,0	2,5
Controle	153	203	253	155	205	255
Com INS	IN153	IN203	IN253	IN155	IN205	IN255
Controle Revestidas	C153	C203	C253	C155	C205	C255
Com INS e Revestidas	CIN153	CIN203	CIN253	CIN155	CIN205	CIN255

Caracterização Físico-química das micropartículas

Forma e tamanho das partículas

[44] A análise da forma e tamanho das partículas foi realizada em estereoscópio apropriado. O diâmetro de Feret a 0° e a circularidade foram determinados a partir da digitalização das imagens de no mínimo 100 partículas em computador, utilizando um programa analisador de imagem.

[45] Os perfis de distribuição granulométrica das micropartículas de gelana, para uma população de 100 partículas, são apresentados nas FIGs. 2 e 3, onde os dados são exibidos em função da frequência percentual e frequência acumulada das classes de tamanhos obtidas pelo diâmetro de Feret.

[46] As micropartículas controle (FIG. 2) apresentaram perfis de distribuição em que o tamanho das partículas variou de 700 a 1600 μm e dentre as diferentes

amostras, a 153 foi a que apresentou a menor variação (700 e 1200 μm). A maior população de micropartículas reticuladas com a concentração mais baixa de Al^{3+} (3%) situaram-se numa faixa de tamanho inferior (1000-1100 μm) àquela verificada para as amostras reticuladas com concentração mais alta de reticulante (5%) (1100-1200 μm), provavelmente devido ao alto grau de reticulação ter fornecido maior resistência mecânica às partículas, originando MP maiores.

[47] As amostras carregadas com insulina (FIG. 3) exibiram perfil de distribuição mais estreito em relação às amostras controle, com distribuição de tamanho de 700 a 1500 μm , sendo que a maior população de todas as micropartículas se situaram numa faixa de tamanho inferior (1000-1100 μm). Ambos os comportamentos podem ser atribuídos às interações fármaco-polímero, as quais devem originar uma rede mais compactada e, conseqüentemente, partículas com tamanho mais reduzido.

[48] Os valores de diâmetro médio e circularidade das micropartículas estão apresentados na Tabela 3. A comparação entre as micropartículas controle revelou que em concentração mais baixa de reticulante (3%), as maiores concentrações de gelatina empregadas no preparado das micropartículas 203 e 253 elevaram o diâmetro médio das partículas (de 1091 para 1156 μm) ($p < 0,05$), uma vez que, na maioria dos casos, o tamanho de uma micropartícula é diretamente proporcional à concentração de polímero, ou seja, à medida que se aumenta a concentração polimérica da dispersão a ser gotejada, espera-se também o aumento do seu tamanho. O mesmo comportamento não foi observado para as

micropartículas reticuladas com 5% de Al^{3+} , para as quais o diâmetro médio das amostras 155 e 205 foi considerado semelhante ($p>0,05$), enquanto que o aumento de 2,0 para 2,5% de gelatina levou à diminuição do diâmetro médio (de 1197 para 1122 μm) ($p<0,05$), provavelmente devido à formação de estruturas muito compactadas e, conseqüentemente, partículas com tamanho mais reduzido.

[49] Apesar do aumento da concentração da solução reticulante estar frequentemente relacionado à maior retração da micropartícula com conseqüente diminuição de tamanho, observou-se que o aumento de Al^{3+} de 3 para 5% levou ao aumento do diâmetro médio das micropartículas controle, com exceção das amostras 253 e 255 ($p>0,05$).

Tabela 3 -Valores de diâmetro médio e circularidade das MP

Amostra	Diâmetro médio (μm)	Circularidade
153	1033,52 $\pm$ 102,41	0,69 $\pm$ 0,17
203	1091,36 $\pm$ 102,66	0,72 $\pm$ 0,12
253	1156,04 $\pm$ 102,66	0,77 $\pm$ 0,85
155	1171,12 $\pm$ 101,94	0,73 $\pm$ 0,12
205	1197,80 $\pm$ 102,20	0,78 $\pm$ 0,09
255	1122,35 $\pm$ 94,90	0,81 $\pm$ 0,04
IN153	1054,55 $\pm$ 78,58	0,76 $\pm$ 0,07
IN203	1080,29 $\pm$ 85,87	0,81 $\pm$ 0,04
IN253	1036,28 $\pm$ 79,99	0,80 $\pm$ 0,04
IN155	1012,20 $\pm$ 75,64	0,73 $\pm$ 0,06
IN205	1065,92 $\pm$ 92,81	0,73 $\pm$ 0,06
IN255	1053,44 $\pm$ 96,32	0,68 $\pm$ 0,10

[50] A comparação entre as micropartículas controle e as carregadas com insulina indicou que a

presença do fármaco, geralmente, levou a obtenção de partículas com menor diâmetro médio (Tabela 3), o que pode estar relacionado com a forte interação entre a insulina e a gelana, corroborando os resultados verificados anteriormente nos gráficos de distribuição de tamanho. No entanto, as amostras IN153 e IN203 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação as suas contrapartidas (153 e 203) ($p > 0,05$), possivelmente, devido a maior massa de fármaco encapsulada (maior EE) nessas amostras que deve ter preenchido os espaços vazios, não permitindo a compactação estrutural.

[51] A morfologia de um sistema multiparticulado pode ser caracterizada qualitativamente pela sua aparência visual como irregular, acircular, angular ou esférica e, quantitativamente, através dos fatores de forma, como a circularidade, para a qual valores mais próximos de 1 indicam maior esfericidade da amostra.

[52] De acordo com a Tabela 3, as micropartículas obtidas na presente invenção por geleificação ionotrópica podem ser consideradas aproximadamente circulares, uma vez que os valores de circularidade são próximos a 1 (0,69 e 0,81). Dentre as amostras controle, a amostra 255 foi a que apresentou maior circularidade (0,81), indicando que o aumento da concentração polimérica favorece a homogeneidade da forma, provavelmente devido à formação de uma estrutura mais compactada, a qual sofre menor impacto da tensão superficial, mantendo sua estrutura preservada. Além disso, a maior viscosidade das dispersões com maior concentração de gelana também permite uma maior resistência mecânica, originando partículas mais circulares ao final do processo

de obtenção.

[53] O aumento da concentração da solução reticulante de 3 para 5% não influenciou na circularidade, com exceção da amostra 205 que foi mais circular que a 203 ($p < 0,05$).

[54] A incorporação da insulina promoveu o aumento da circularidade das amostras reticuladas com 3% de solução reticulante de 0,69 para 0,76 para as amostras obtidas com 1,5% de gelana, e de 0,72 para 0,81 para aquelas obtidas com 2,0% de gelana, não havendo diferenças significativamente estatísticas entre os valores de circularidade das amostras 253 e IN253 ($p > 0,05$).

[55] No entanto, para as amostras reticuladas com 5% de $AlCl_3$ (com exceção da 155 e IN155), a presença de insulina diminuiu a circularidade das amostras, o que pode estar relacionado com a forte interação fármaco-polímero, que leva à compactação da estrutura polimérica, o que pode ter ocorrido de maneira heterogênea e abrupta, levando à irregularidade da forma.

[56] Através do conjunto de dados apresentados, concluiu-se que a temperatura da dispersão de gelana e a velocidade de agitação exercem importante influência no diâmetro das micropartículas, as quais, de maneira geral, têm seu tamanho reduzido quando insulina é incorporada. O carregamento com fármaco e o aumento da concentração de gelana permitiram a formação de partículas mais circulares.

Rendimento

[57] Para avaliar o rendimento do processo de obtenção, as micropartículas foram secas até peso constante em dessecador contendo sílica gel, sob vácuo. O rendimento

foi calculado como sendo a massa obtida de micropartículas secas dividida pela soma das massas dos polímeros e fármaco utilizados na sua obtenção, de acordo com a Equação 1:

$$R\% = \frac{m_m}{m_p + m_f} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

[58] onde m_m = massa de MP secas; m_p = massa de polímero e m_f = massa de fármaco.

[59] A Tabela 4 apresenta o rendimento (%) do processo de obtenção das amostras, a qual variou entre 69,26 e 99,10%, indicando que o método proposto é eficiente para obtenção de micropartículas.

Tabela 4 - Rendimento das amostras

Amostra	Rendimento (%)
IN153	98,34
IN155	98,77
IN203	98,52
IN205	99,10
IN253	78,40
IN255	69,23

[60] Observou-se uma significativa redução do rendimento das amostras (até 30%), relacionado com o aumento de concentração de gelana e, conseqüentemente, com o aumento de viscosidade das dispersões a serem gotejadas, as quais frequentemente levam ao entupimento da agulha com perda de material. No entanto, o valor de rendimento alcançado por estas dispersões (~69-78%) demonstra a viabilidade do processo.

Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG)

[61] A morfologia de superfície e da seção

transversal das micropartículas foi avaliada por MEV-FEG em microscópio eletrônico. O preparo das amostras consistiu na deposição de uma camada fina de carbono sobre a superfície das micropartículas para torná-la condutoras. A deposição foi feita através da evaporação de um fio de carbono após a aplicação de um potencial elevado. A análise das seções transversais foi realizada após criofatura das amostras. As fotomicrografias de cada amostra foram obtidas com ampliação de 50, 200, 1000 e 10000 x. Micropartículas revestidas e não revestidas, contendo ou não insulina, foram analisadas.

[62] De maneira geral, a variação da concentração polimérica, o carregamento com fármaco e a presença do revestimento são fatores que influenciaram significativamente a forma e a superfície das micropartículas.

[63] As análises de MEV-FEG revelaram que as micropartículas controle 155 (FIGs. 4A-D) foram as menos esféricas, o que pode ser atribuído a mais baixa concentração de polímero utilizada (1,5%) que é incapaz de levar à construção de uma rede estrutural mais volumosa e expandida. A incorporação de insulina às micropartículas levou à formação de poros na superfície das partículas (FIGs. 4E-H), os quais revelam um rearranjo estrutural provocado pelo fármaco, o qual pode ser atribuído a forte interação fármaco-polímero, associado a mais alta concentração de reticulante (5%), que em conjunto, provocam a rápida retração das estruturas, originando irregularidades.

[64] Apesar das dispersões filmógenas de amido

resistente/pectina originarem filmes com superfície rugosa, observou-se que o revestimento tornou a superfície das micropartículas mais homogênea e lisa em relação às outras amostras. No entanto, este foi depositado sobre as micropartículas de maneira irregular, o que levou à formação de cristas (FIG. 4I). Alguns cristais de amido resistente também puderam ser verificados na superfície da MP CIN155 (FIG. 4I).

[65] As fotomicrografias das micropartículas controle e carregadas com insulina, obtidas a partir de dispersão de gelana 2,0% (FIG. 5), apresentaram uma superfície mais lisa em relação às anteriores, contendo algumas ranhuras verticais (FIGs. 5A, B, F) (também observadas nas amostras 155), as quais provavelmente devem estar relacionadas com o impacto da gota durante a imersão na solução reticulante. No entanto, em aumentos maiores (200, 1000 e 10000 x), é possível observar que as superfícies das MP IN205 (FIGs. 5F, G, H) apresentam rugosidades diferentes, na forma de projeções a partir da superfície, o que deve estar relacionado com o rearranjo estrutural promovido pela adição de insulina.

[66] A deposição irregular de revestimento sobre as micropartículas também foi verificada para a amostra CIN205 (FIG. 5I), com a presença de algumas fissuras superficiais (FIGs. 5J, K).

Difração de raios-X

[67] A identificação da estrutura cristalina e/ou amorfa da insulina humana em pó, da sua mistura física com a gelana, das micropartículas obtidas com 2,5% de polímero contendo ou não insulina, revestidas ou não, foi realizada

a partir de difratogramas obtidos em difratômetro de raios-X, com velocidade do goniômetro de $0,05^\circ/\text{s}$, sob radiação de Cu-K α ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$) e com varredura de raios X de ângulo aberto 2θ entre 4° e 70° .

[68] Os difratogramas das amostras são exibidos na FIG. 6. No difratograma da insulina humana em pó, observam-se alguns picos parcialmente cristalinos em aproximadamente 4° , 10° e 14° (2θ) seguido de um halo amorfo. Esses picos cristalinos entre 0 e 14° (2θ) e o considerável halo amorfo são característicos da insulina em pó, isto é, de uma macromolécula com alguma cristalinidade.

[69] No difratograma da mistura física é possível observar que alguns picos característicos da insulina foram mantidos em 4° e 14° (2θ) e novos picos em aproximadamente $19,16^\circ$ e $22,56^\circ$ (2θ) surgiram, os quais são característicos da gelana. A análise das micropartículas controle obtidas com 2,5% de polímero (253 e 255) indicou um pequeno deslocamento dos picos característicos da gelana, mantendo a parte cristalina da amostra intacta, ou seja, o processo de obtenção das amostras é eficiente e não altera as propriedades fundamentais do polímero isolado.

[70] Nos difratogramas das micropartículas obtidas com adição de insulina (IN253 e IN255) a gelana exibiu seus picos em aproximadamente 22° e 26° (2θ), sendo mantidos dois picos da insulina em aproximadamente $5,08$ e $9,54^\circ$ (2θ) e $6,17$ e 10° (2θ), respectivamente. No entanto, após o revestimento dessas micropartículas (CIN253 e CIN255), houve o desaparecimento dos picos característicos da insulina entre 0° e 14° (2θ), provavelmente devido a sobreposição com os picos do revestimento. O surgimento de

novos picos em 13° e 21°(2θ) foi detectado, sendo estes picos característicos de estrutura cristalina tipo V (amido resistente), formada após a gelatinização do amido, seguido de ciclos de resfriamento, na qual a estrutura da alta amilose passa de tipo B (duplas hélices) para tipo V (hélices simples).

Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

[71] As curvas de DSC das micropartículas, polímeros isolados e da insulina em pó foram obtidas utilizando-se calorímetro exploratório diferencial, a uma razão de aquecimento de 10 °C/min, sob atmosfera inerte de gás nitrogênio (50 mL/min), na faixa de aquecimento de 25 a 300 °C. Os experimentos foram conduzidos utilizando-se cadinho de alumínio com tampa perfurada contendo aproximadamente 5 mg de amostra e como referência foi utilizado um cadinho de alumínio vazio.

[72] As curvas de DSC obtidas para a insulina, polímeros isolados e micropartículas (revestidas e não revestidas) estão apresentadas nas FIG. 7 e 8 e Tabela 5.

[73] A curva de DSC da goma gelana revelou um pico endotérmico alargado em 99,21 °C relacionado à evaporação de água quimicamente ligada e dois picos exotérmicos em 252,38 e 257,86 °C correspondentes à decomposição deste polissacarídeo.

[74] Para o revestimento baseado em amido resistente/pectina, observou-se uma transição endotérmica trifásica. O primeiro evento apresentou-se como um pico alargado com Tonset em 82,26 °C e Tpeak em 125,97 °C, valores muito próximos ao encontrados por Cardoso (2014) para o amido retrogradado, e que estão relacionados com a

desorção de água. O segundo evento endotérmico apresentou dois picos em 186,50 e 197,17 °C, ambos muito próximos à temperatura de despolimerização da pectina (191 °C). Em 244 °C aparece um pico exotérmico que pode ser atribuído à degradação da alta amilose. A insulina apresentou um pico endotérmico em 100 °C e um segundo evento endotérmico em aproximadamente 210 °C. Eventos endotérmicos acima de 100 °C para proteínas no estado sólido refletem sua desnaturação, envolvendo principalmente a quebra de ligações de hidrogênio.

[75] Curvas de DSC bastante semelhantes foram observadas para as micropartículas controle e àquelas contendo insulina (FIG. 8). A DSC das micropartículas controle 153 revelou um pequeno pico endotérmico em 142,28 (°C) relacionado à evaporação de água, seguido por dois eventos exotérmicos em 155,22 e 165,50 (°C), os quais são indicativos da cristalização da gelana e da presença de cristais de diferentes tamanhos. A adição de cátions (reticulante) pode promover a cristalização lateral das fibrilas da gelana, formadas em razão do aquecimento ou resfriamento, nos quais têm-se a formação de duplas hélices entre as extremidades de moléculas vizinhas. Além disso, os picos exotérmicos podem ser indicativos da presença de zonas juncionais com diferentes energias de ligação ou diferentes liberdades rotacionais. Um último evento endotérmico foi evidenciado em 177,55 (°C), o qual deve estar associado à degradação térmica da gelana.

[76] As micropartículas controle 205 apresentaram eventos térmicos muito próximos aos apresentados para MP153 (FIG. 8), com um pequeno deslocamento dos picos exotérmicos

para 158,57 e 161,77(°C), os quais estão relacionados à cristalização da gelana, e do pico endotérmico de degradação da gelana para uma temperatura ligeiramente maior em 179,29(°C). Apesar do pequeno aumento da temperatura de degradação da gelana, menores valores de ΔH (Tabela 5) foram encontrados, razão pela qual não se deve sugerir um aumento de estabilidade térmica provocado pela maior concentração de polímero e reticulante.

[77] As curvas de DSC das micropartículas carregadas com insulina (IN153 e IN205) (FIG. 8) revelaram eventos térmicos ocorrendo em temperaturas muito próximas à das micropartículas controle, sem o aparecimento dos picos característicos da insulina, indicando uma forte interação fármaco-polímero e/ou a dispersão molecular da INS na estrutura polimérica.

[78] O revestimento das micropartículas com filmes de amido resistente/pectina alterou o comportamento térmico das amostras, de modo que um único pico foi observado, o qual ocorreu entre 147,87 e 166,08 (°C). Além disso, o evento endotérmico de degradação da gelana foi deslocado para temperaturas superiores (187,82 °C para CIN153 e 176,51 °C para CIN205), sugerindo que o revestimento das micropartículas deve aumentar a estabilidade térmica das micropartículas.

Tabela 5 - Parâmetros calorimétricos da insulina humana, da gelana, do revestimento baseado em amido resistente/pectina e das micropartículas com e sem insulina, revestidas e não revestidas.

Amostra	T_{onset} (°C)	T_{peak} (°C)	T_{endset} (°C)	ΔH (J/g)
Gelana	51,57	99,27	151,37	-151,39

	220	252,38	259	-
	-	257,86	-	-
AR/P	86,53	125,97	181,27	-5,646
	182,33	188,48	192,99	-5,646
	195,92	198,28	202,05	-0,2264
INS	50	100	158	-13,14
	205	210	217	-1,262
	246	258	269	-1,183
153	147822	155,22	160,76	5,441
	161,06	165,60	169,28	9,511
	170,08	177,55	184,20	-26,28
IN153	151,35	154,95	155,43	5,449
	157,74	162,74	166,08	9,016
	171,72	178,90	183,40	-28,64
CIN153	152,79	162,59	166,08	26,77
	177,43	187,82	199,38	-8,514
205	154,70	158,57	158,89	2,139
	159,33	161,77	164,75	2,401
	173,28	179,29	186,86	-22,06
IN205	150,82	154,48	157,03	1,476
	158,21	160,13	160,76	0,4628
	170,22	173,43	181,80	-37,95
CIN205	147,87	158,90	162,35	28,04
	168,16	176,51	182,60	-16,00

VANTAGENS DA PRESENTE INVENÇÃO

[79] A administração oral da insulina constitui um grande desafio, já que esta pode ser degradada/desnaturada nas porções superiores do trato gastrointestinal (TGI). Seu encapsulamento no interior de

matrizes poliméricas baseadas em goma gelana deve oferecer significativa proteção contra as condições adversas do trato gastrointestinal responsáveis pela inativação deste peptídeo, além do estabelecimento de interações mucoadesivas que devem contribuir para o aumento da permeabilidade intestinal. O revestimento de formas farmacêuticas sólidas com amido resistente tipo 3 é uma estratégia tecnológica racional para se alcançar a liberação cólon específica de fármacos, considerando o fato do cólon ser considerado um órgão de excelência para absorção de proteínas/peptídeos. A pectina também agrega propriedades importantes nesse sentido, já que é resistente à proteases e amilases. Na presente invenção, foram obtidas micropartículas de goma gelana em diferentes concentrações (1,5, 2,0 ou 2,5%; m/v), reticuladas com o íon trivalente Al^{3+} (3 ou 5%; m/v) e revestidas com filmes de amido resistente/pectina para a administração oral de insulina. O método de geleificação ionotrópica empregado permitiu um elevado rendimento de processo, fornecendo micropartículas esféricas com alta eficiência de encapsulação, estruturalmente semicristalinas e com diâmetro médio variando entre 1012-1197. A análise do conjunto de dados obtidos indicou que a concentração de goma gelana tem grande influência no grau de esfericidade e que a insulina altera o rearranjo das estruturas poliméricas; contudo, sem alterar a morfologia da seção transversal, a qual se mantém como uma matriz contínua e intacta. O estudo de absorção de líquidos em diferentes valores de pH que mimetizam os distintos ambientes do trato gastrointestinal revelou um comportamento pH-dependente, sendo observado um menor poder

absortivo das micropartículas em meio ácido do que em tampão fosfato pH 7.4 e 6.8.

[80] Assim, a tecnologia divulgada na presente invenção permite o desenvolvimento de um sistema capaz de possibilitar a administração oral de insulina através de micropartículas de goma de gelana revestidas com filmes de amido resistente e pectina. O sistema de liberação é mucoadesivo e soluciona a elevada degradabilidade dos peptídeos nas porções superiores do trato gastrintestinal, aumentando a biodisponibilidade oral através de seu encapsulamento, além de aumentar a permeabilidade.

[81] Embora a presente invenção tenha sido amplamente descrita, é óbvio para aqueles versados na técnica que várias alterações e modificações podem ser feitas visando aprimoramento do projeto sem que as referidas alterações não estejam cobertas pelo escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para encapsulação da insulina em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente e pectina, **caracterizado** pelo fato de compreender as seguintes etapas:

- (a) Obtenção das micropartículas de goma gelana;
- (b) Incorporação de insulina em micropartículas de goma gelana;
- (c) Preparo da dispersão filmógena de amido resistente e pectina; e
- (d) Revestimento das micropartículas de goma gelana com filmes de amido resistente e pectina.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de as micropartículas serem obtidas através do método de geleificação ionotrópica.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato das seguintes variáveis sobre o tamanho e forma foram consideradas na obtenção das micropartículas: i) temperatura da água para a dispersão do polímero; ii) altura do gotejamento em relação à superfície da solução reticulante; e iii) velocidade de agitação das micropartículas.

4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato das micropartículas obtidas apresentarem alto grau de circularidade, entre 0,6955 e 0,8129, e com distribuição de tamanho mais estreita, entre 700 e 1400 µm.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a incorporação das micropartículas de goma gelana com insulina ser feita por

incorporação na solução de reticulante/imersão.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de a incorporação das micropartículas através do gotejamento da dispersão de gelana em solução de cloreto de alumínio (3%) contendo de 6,67 a 40 UI/mL (0,23 a 1,4 mg/mL) de insulina, sob agitação durante 30 min.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a dispersão filmógena de amido resistente e pectina ser preparada da seguinte maneira:

c.1) Preparar separadamente dispersões aquosas de alta amilose e pectina, na concentração de 5% (m/v), sob agitação magnética por 30 minutos;

c.2) Submeter as dispersões de alta amilose à autoclavação a 121 °C por 120 min para gelatinização do amido;

c.3) Resfriar a alta amilose gelatinizada a 30 °C sob agitação mecânica;

c.4) Misturar com a dispersão de pectina, previamente preparada, na proporção de 1:1 (m/m);

c.5) Submeter as dispersões ao processo de retrogradação mediante ciclos térmicos alternados de 4 °C e 30 °C por 16 dias, sendo 2 dias em cada temperatura; e

c.6) Adicionar glicerina (5%) em relação à massa de polímero como como plastificante, sob agitação magnética durante 120 min.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato de as micropartículas serem imersas nas disposições filmógenas, à temperatura ambiente e sob agitação magnética por 1 min.

9. Micropartículas mucoadesivas de goma gelana contendo insulina revestidas com filmes de amido resistente e pectina conforme processo definido em qualquer uma das reivindicações, 1 a 8, **caracterizadas** pelo fato de serem esféricas com alta eficiência de encapsulação, estruturalmente semi-cristalinas e com diâmetro médio variando entre 1012-1197.

10. Micropartículas, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizadas** pelo fato de apresentarem distribuição de tamanho de 700 a 1500 µm, sendo que a maior população de todas as micropartículas se situaram numa faixa de tamanho entre 1000 e 1100 µm.

11. Micropartículas, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizadas** pelo fato de apresentarem um rendimento entre 69,26 e 99,10%.

12. Uso das micropartículas conforme definidas em qualquer uma das reivindicações 9 a 11, **caracterizado** pelo fato de ser para administração oral de insulina através de um sistema de liberação mucoadesivo.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de o sistema de liberação solucionar a elevada degradabilidade dos peptídeos nas porções superiores do trato gastrointestinal, aumentando a biodisponibilidade oral através de seu encapsulamento e aumentar a permeabilidade.

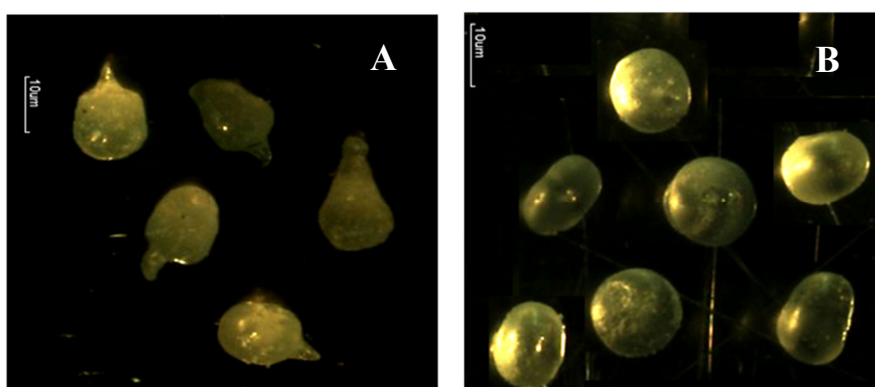


FIG. 1

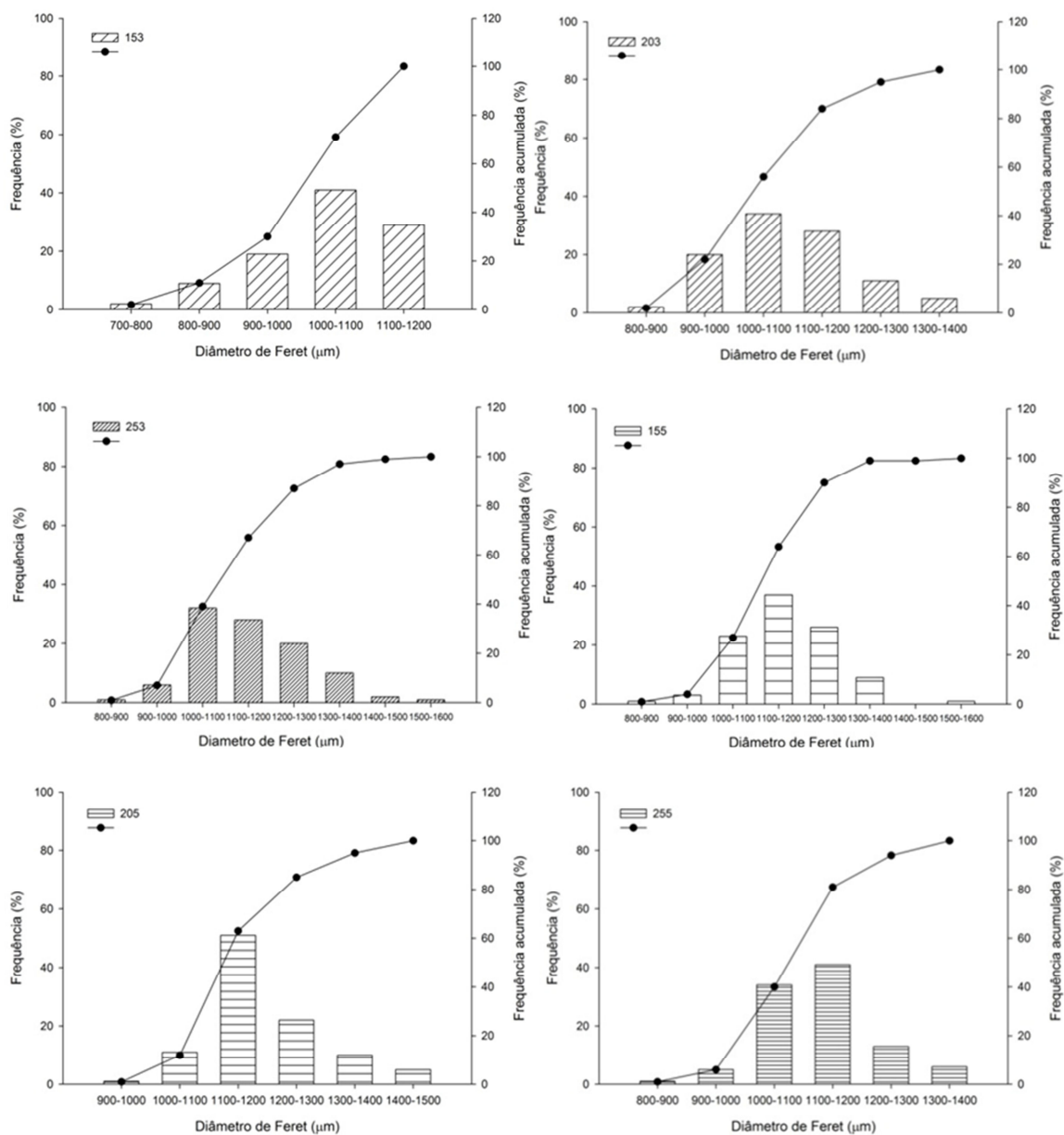


FIG. 2

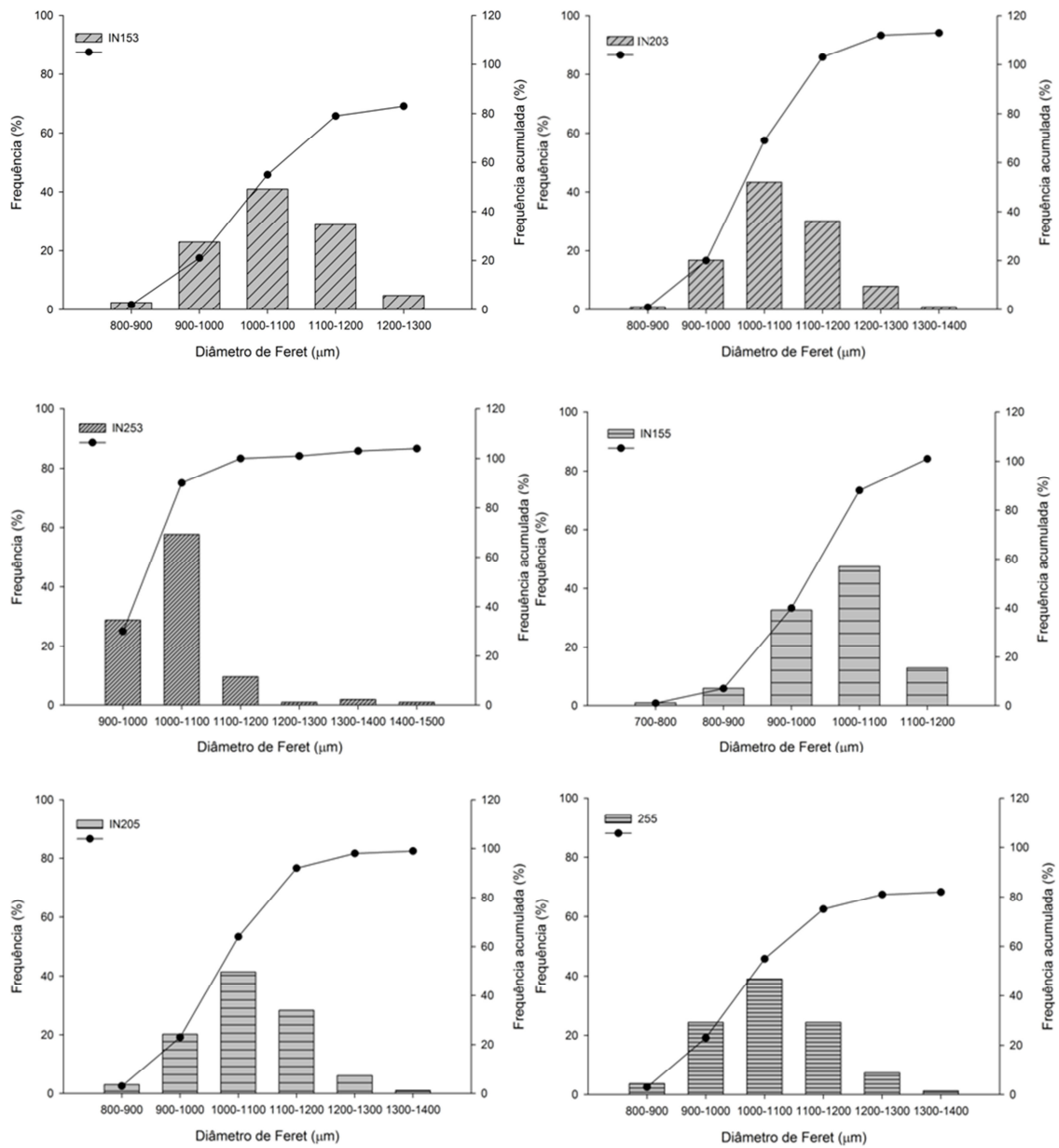


FIG. 3

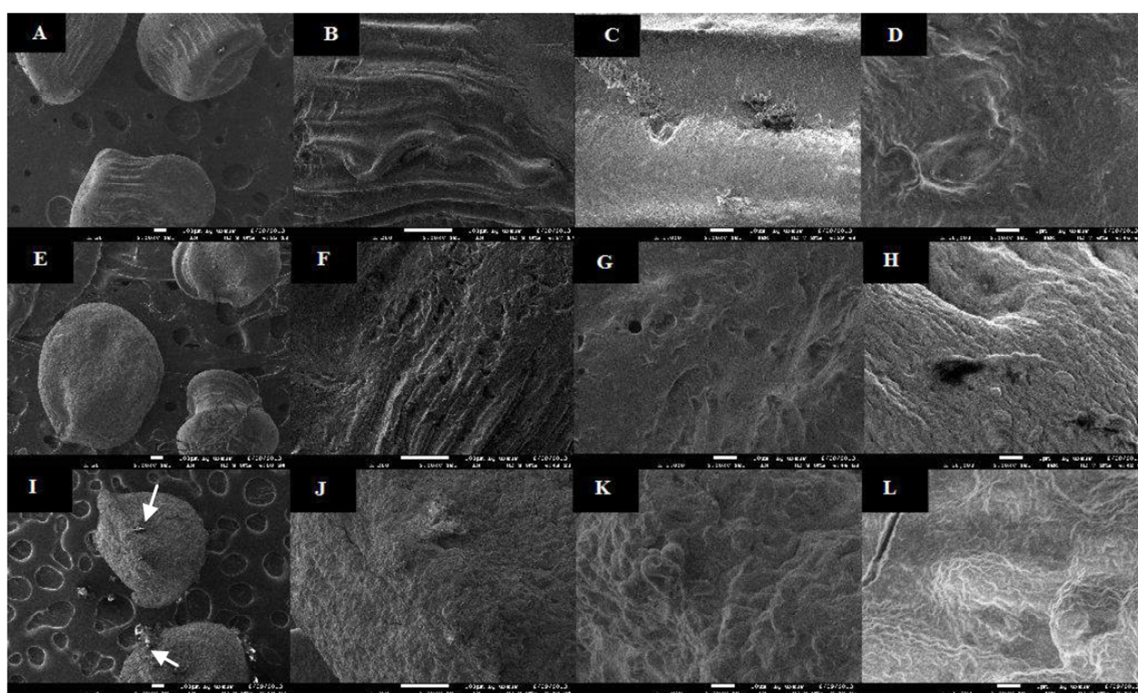


FIG. 4

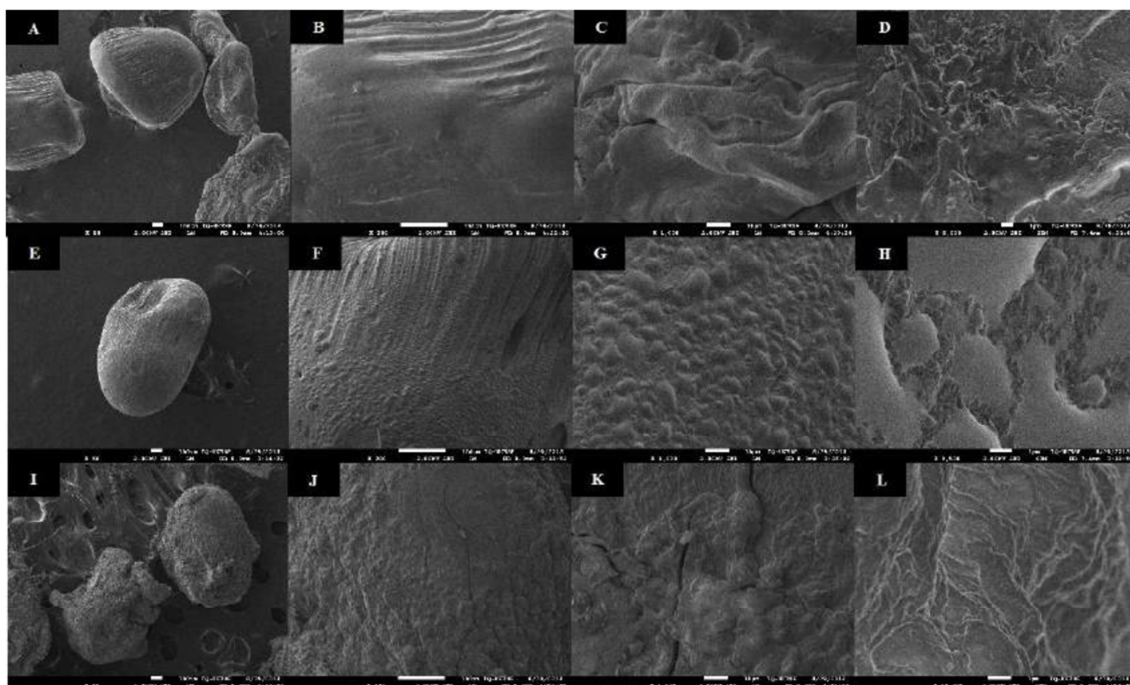


FIG. 5

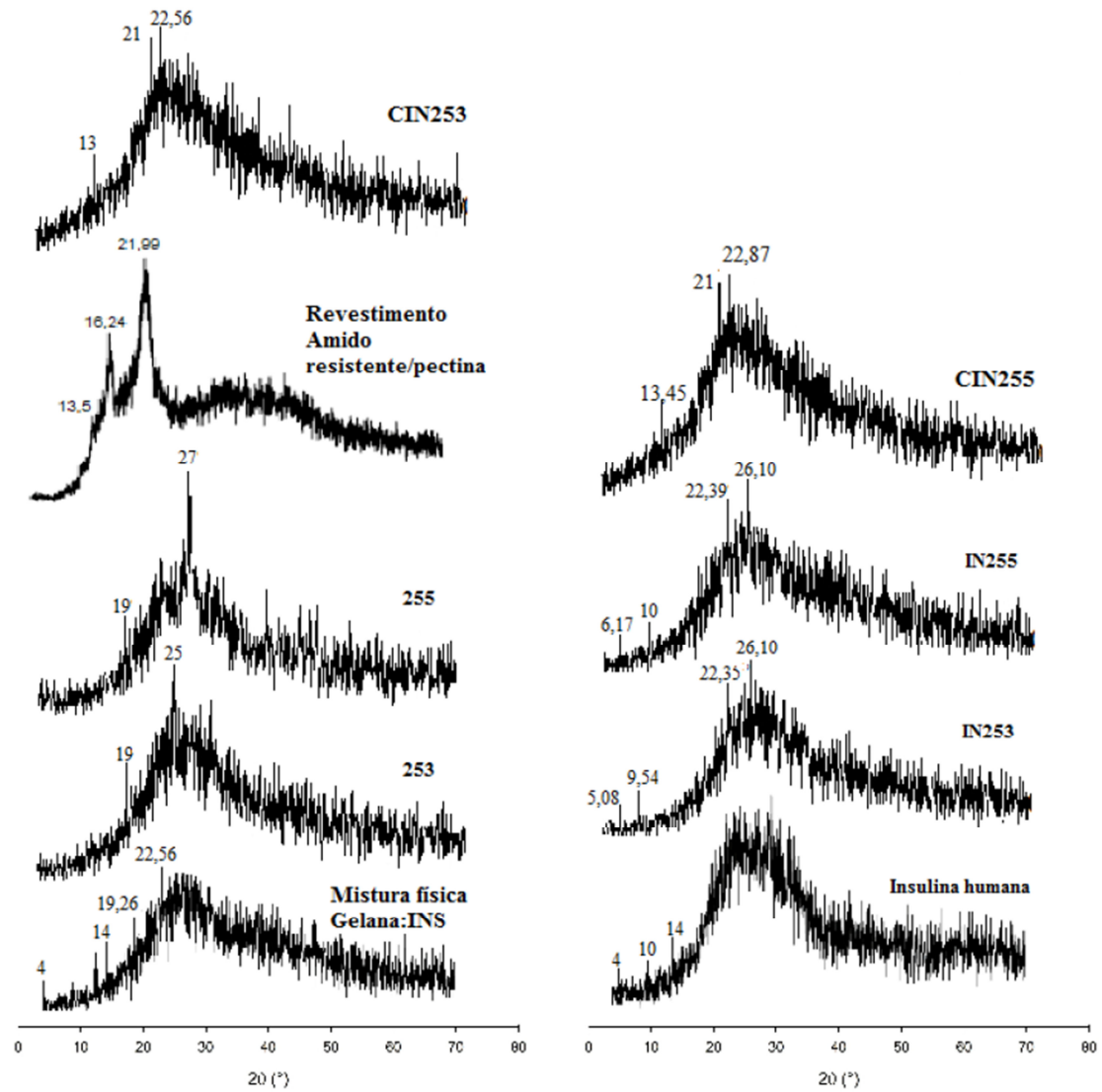


FIG. 6

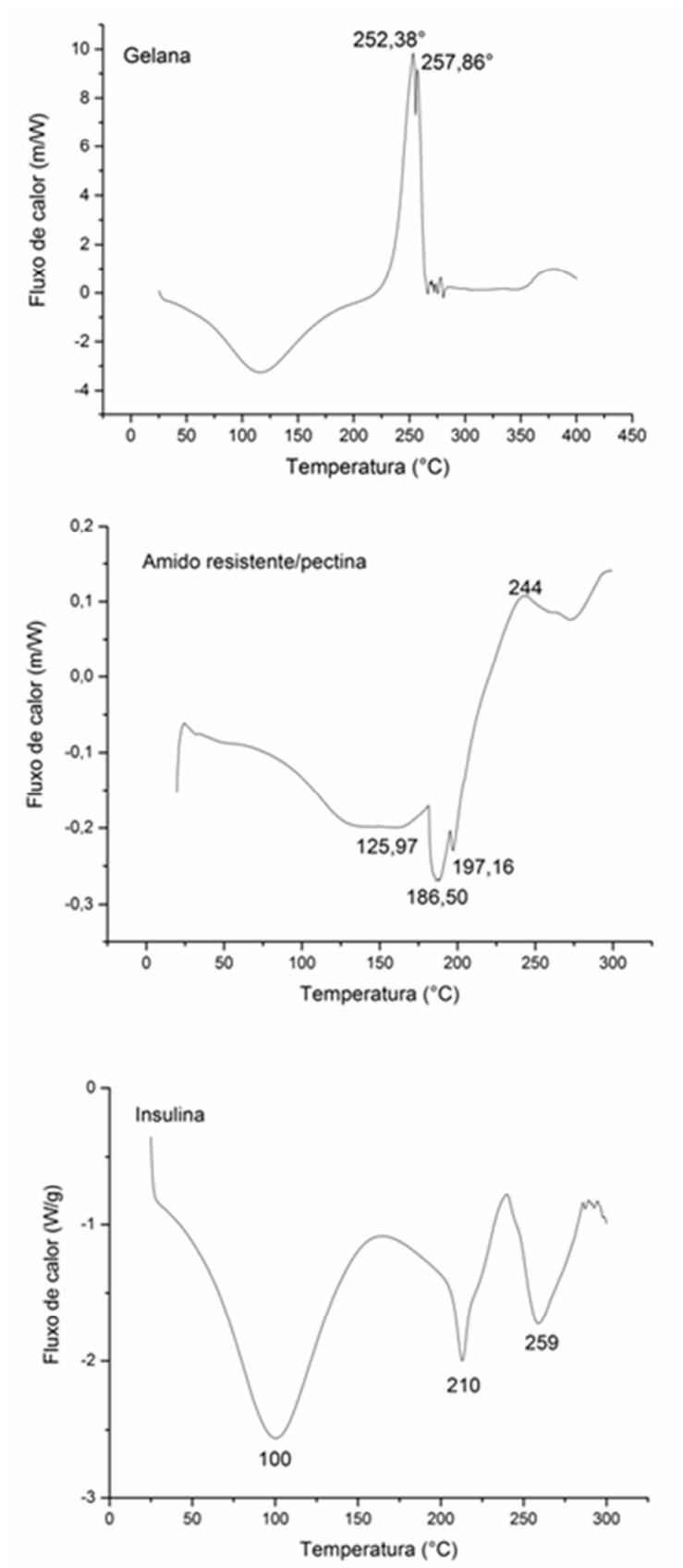
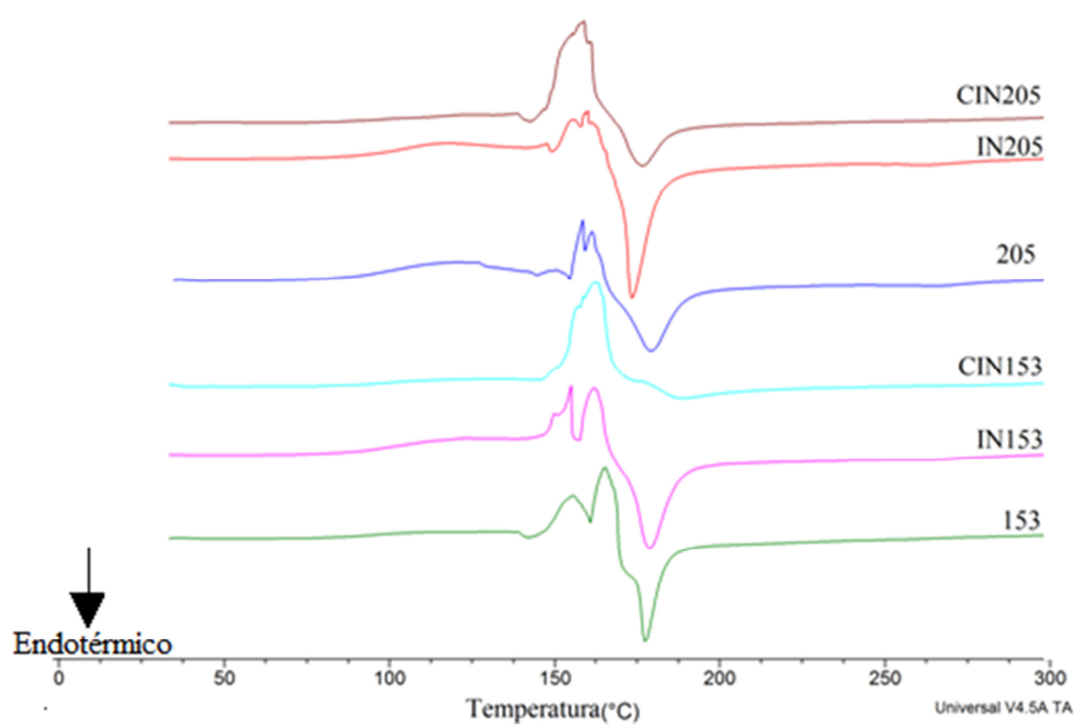


FIG. 7

**FIG. 8**

**PROCESSO PARA ENCAPSULAÇÃO DA INSULINA EM MICROPARTÍCULAS
DE GOMA GELANA REVESTIDAS COM FILMES DE AMIDO RESISTENTE E
PECTINA, MICROPARTÍCULAS MUCOADESIVAS DE GOMA GELANA
CONTENDO INSULINA REVESTIDAS COM FILMES DE AMIDO RESISTENTE
E PECTINA, E USO DA MESMA**

A presente invenção refere-se a um processo para encapsulação da insulina em micropartículas de goma gelana revestidas com filmes de amido resistente/pectina para a administração oral da insulina. O processo descrito na presente invenção promove o efetivo aprisionamento da insulina na matriz polimérica e, conseqüentemente uma proteção contra a degradação, aumento da permeabilidade, bem como uma liberação controlada da insulina.