

Universidade do Algarve

Departamento de Química e Farmácia

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas



# **Insulinoterapia: vias e sistemas de administração alternativos**

Ana Filipa dos Santos Fadista

Faro, 2011

Universidade do Algarve

Departamento de Química e Farmácia

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas



# **Insulinoterapia: vias e sistemas de administração alternativos**

Ana Filipa dos Santos Fadista

Dissertação orientada por Professora Doutora Ana Grenha

Faro, 2011

## **Agradecimentos**

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Grenha, pela sua disponibilidade e paciência no esclarecimento de dúvidas tanto no desenvolvimento do tema como na estruturação do trabalho.

A todos os docentes da FCT e FFUL que leccionam as disciplinas do curso de Ciências Farmacêuticas, colaborando na aprendizagem e crescimento dos alunos.

Aos meus pais e à minha irmã em especial, por todo o amor, esforço, orgulho e confiança que sempre depositaram em mim, acreditando vivamente nas minhas capacidades e sem os quais nada seria possível.

Ao Henrique, pelo seu apoio e compreensão, e por ter estado sempre presente.

A todos os meus amigos, que sempre me ofereceram a sua amizade e me apoiaram nos momentos mais difíceis.

A todos os que contribuíram, directa ou indirectamente, para a realização deste trabalho, um muito obrigada.

## **Resumo**

O presente trabalho tem como objectivo o estudo dos transportadores utilizados para incorporação de insulina com vista à sua administração por via pulmonar, sendo esta uma via alternativa à administração de insulina por via subcutânea em doentes com diabetes.

A diabetes é uma doença crónica com uma crescente incidência a nível mundial, pelo que muitos indivíduos dependem da administração subcutânea de insulina diariamente, de modo a compensar a sua falta ou ineficácia endógena.

A administração de fármacos por via pulmonar tem sido bastante estudada e tem vindo a ser explorada com vista à obtenção de um efeito sistémico. O pulmão apresenta várias vantagens no âmbito da administração sistémica de fármacos, nomeadamente no que se refere ao facto de evitar o efeito de primeira passagem, à grande superfície disponível para absorção e à elevada vascularização, tratando-se de uma opção cómoda e não invasiva.

O desenho dos transportadores de insulina, como lipossomas, nano e micropartículas, permitem a protecção da proteína. A administração do fármaco por via pulmonar também impõe requisitos rigorosos relativamente ao dispositivo de administração, dado que o tamanho das partículas influencia o local de entrega, e, conseqüentemente, o grau de absorção do fármaco nos pulmões.

Neste momento existe uma formulação comercial de insulina inalada, que foi no entanto retirada do mercado, e outras formulações em fases avançadas de ensaios clínicos.

**Palavras-Chave:** administração pulmonar; diabetes; dispositivos de administração; insulina; lipossomas; micropartículas; nanopartículas.

## **Abstract**

The main objective of this work is the study of the carriers used to incorporate insulin having the aim of its administration through a pulmonary method as a substitute of insulin subcutaneously administration in patients with diabetes.

Diabetes is a chronic illness with such an increasing incidence worldwide that many people rely on the daily administration of subcutaneous insulin in order to compensate its absence or its endogenous ineffectiveness.

The administration of drugs through pulmonary method has been extensively studied and has been explored so as to achieve a systemic effect. The lung has several advantages in the context of systemic administration of drugs, particularly regarding the fact that it avoids first-pass effect into the large surface area available to the absorption and due to its high vascularization, since it is a convenient and noninvasive option.

The design of insulin carriers, such as liposomes, nano- and microparticles, allows the protection of the protein. Drug administration through pulmonary method also imposes strict requirements in what the administration device is concerned, since the size of the particles influences the delivery site and consequently the degree of drug absorption in the lungs.

Besides other formulations in advanced stages of clinical trials, there is now a commercial formulation of inhaled insulin, which was, however, withdrawn from the market.

**Keywords:** delivery devices; diabetes; insulin; liposomes; microparticles; nanoparticles; pulmonary delivery.

## Índice

Índice de Figuras .....	VIII
Índice de Quadros .....	IX
Índice de Abreviaturas .....	X
1. Introdução .....	1
2. Diabetes .....	3
2.1. Definição .....	3
2.2. Epidemiologia .....	3
2.3. Classificação da Diabetes .....	4
3. Anatomia e Fisiologia do Pâncreas .....	6
4. Insulina .....	7
4.1. Efeitos da insulina nos tecidos alvo .....	7
4.2. Regulação da secreção da insulina .....	9
4.3. Degradação da insulina .....	10
5. Preparações de insulina disponíveis no mercado .....	11
6. Vias alternativas para administração de insulina .....	13
6.1. Via oral.....	13
6.2. Via nasal.....	14
6.3. Via pulmonar.....	15
7. Transportadores para administração pulmonar de insulina .....	19
7.1. Lipossomas .....	21
7.2. Micropartículas .....	23

7.2.1. Micropartículas produzidas com materiais sintéticos hidrofóbicos .....	25
7.2.2. Micropartículas produzidas por materiais naturais mucoadesivos hidrofílicos .....	27
7.3. Nanopartículas .....	29
7.3.1. Nanopartículas produzidas por materiais hidrofóbicos sintéticos .....	30
7.3.2. Nanopartículas produzidas por materiais hidrofílicos naturais .....	33
7.4. Combinação de nano e micropartículas .....	34
8. Tipos de dispositivos .....	36
9. Comercialização da insulina inalada .....	38
10. Técnica inalatória .....	41
11. Aceitação e satisfação por parte dos doentes .....	42
12. Conclusão .....	43
13. Bibliografia .....	44

## Índice de Figuras

**Figura 1** – Prevalência da diabetes a nível mundial em 2000 e em 2030 em doentes com idades compreendidas entre 35 – 64 anos de idade

**Figura 2** – Representação esquemática do pâncreas

**Figura 3** – Representação esquemática da molécula de insulina

**Figura 4** – Mecanismo de activação do receptor de insulina

**Figura 5** – Mecanismo da secreção de insulina estimulada pelos níveis de glicose

**Figura 6** – Estrutura lipossomal

**Figura 7** – Estrutura química da FDKP

**Figura 8** – Estrutura química do quitosano

**Figura 9** – Estrutura química do ácido hialurónico

**Figura 10** – Efeito hipoglicemiante após administração intratraqueal de: a) (▲) nanopartículas com dosagem de 10 UI/Kg de insulina, (■) solução com dosagem de 10 UI/Kg de insulina; b) (■) nanopartículas com dosagem de 20 UI/Kg de insulina, (▲) solução com dosagem de 20 UI/Kg de insulina; (◆) solução tampão de fosfato como controlo

**Figura 11** – Nanopartículas Lipídicas: (A) Nanopartícula lipídica sólida; (B) Transportador lipídico nanoestruturado

**Figura 12** – Efeito hipoglicemiante após a administração intratraqueal de (◇) solução controlo, (■) solução controlo de insulina (17.9 U/Kg) e (▲) microsferas manitol/nanopartículas com insulina (16.7 U/Kg)

## **Índice de Quadros**

**Quadro 1** – Descrição de sistemas combinados de nanopartículas microencapsuladas adequados para administração pulmonar

## Índice de Abreviaturas

<b>AERx<sup>®</sup>iDMS</b>	<i>AERx<sup>®</sup> insulin diabetes management system</i>
<b>AIR<sup>®</sup></b>	<i>Advanced Inhalation Research<sup>®</sup></i>
<b>ATP</b>	<i>Adenosine triphosphate</i>
<b>AVC</b>	Acidente Vascular Cerebral
<b>CFC</b>	Clorofluorocarbono
<b>CS</b>	Quitosano
<b>DMPE</b>	<i>Dimyristoylphosphatidylethanolamine</i>
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico ( <i>Deoxyribonucleic acid</i> )
<b>DPI</b>	Inalador de pó seco
<b>DPOC</b>	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
<b>DPPC</b>	<i>Dipalmitoylphosphatidylcholine</i>
<b>EMA</b>	<i>European Medicines Agency</i>
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>FDKP</b>	<i>Fumaryl diketopiperazine</i>
<b>HA</b>	Ácido Hialurônico
<b>HFA</b>	Hidrofluralcano
<b>HPC</b>	Hidroxipropilcelulose
<b>MDI</b>	Inalador Pressurizado com válvula doseadora
<b>NLC</b>	Transportador lipídico nanoestruturado ( <i>nanostructured lipid carrier</i> )
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PACA</b>	<i>Poly(alkylcyanoacrylate)</i>
<b>PBCA</b>	<i>Polybutylcyanoacrylate</i>
<b>PHCA</b>	<i>Polyhexylcyanoacrylate</i>

<b>PLA</b>	Ácido poliláctico
<b>PLGA</b>	Ácido poliláctico-glicólico
<b>SLN</b>	Nanopartícula lipídica sólida ( <i>solid lipid nanoparticle</i> )
<b>TPP</b>	<i>Tripolyphosphate</i>



## 1. Introdução

A diabetes é uma doença crónica resultante de uma insuficiente produção de insulina pelo pâncreas ou de uma utilização ineficaz da insulina pelo organismo. A hiperglicémia é um efeito típico da ausência de controlo da diabetes que, ao longo do tempo, pode levar a diversas complicações de saúde, principalmente ao nível do sistema nervoso central e cardiovascular.<sup>[1,2]</sup> A doença afecta aproximadamente 8% da população e um terço dos indivíduos não sabem que possuem a patologia.<sup>[2]</sup>

Muitos indivíduos dependem da administração subcutânea de insulina diariamente, de modo a compensar a sua falta ou ineficácia endógena.<sup>[2]</sup> Actualmente, a administração de insulina realiza-se obrigatoriamente por injeção subcutânea, não sendo de todo uma solução cómoda para os pacientes devido à necessidade de injeções diárias. Assim, o desenvolvimento de novos sistemas de administração de insulina que possibilitem a utilização de vias alternativas à parenteral é uma área de interesse crescente. As vias de administração mais promissoras para a administração de insulina são a oral, nasal e pulmonar.<sup>[3,4]</sup>

A administração de insulina por via oral é a opção mais atractiva dada a facilidade de administração. No entanto, as proteínas, tal como a insulina, são facilmente degradadas no trato gastrointestinal devido à acção enzimática e ao baixo pH gástrico.<sup>[4, 5]</sup>

A administração nasal também tem sido apresentada como tendo grande potencial, dada a facilidade de acesso à cavidade nasal, a sua elevada vascularização e uma relativamente elevada área disponível para absorção (150 cm<sup>2</sup>). Contudo, um mecanismo de eliminação mucociliar muito activo impede um contacto prolongado do fármaco com a mucosa, e a presença de enzimas proteolíticas não favorece uma elevada biodisponibilidade.<sup>[4, 5]</sup>

A utilização da via pulmonar para a administração de fármacos tem sido também bastante estudada, em muitos casos para obtenção de um efeito sistémico. O pulmão apresenta várias vantagens neste âmbito, nomeadamente no que se refere ao facto de evitar o efeito de primeira passagem, à grande superfície disponível para absorção (100

– 150 m<sup>2</sup>) e à sua elevada vascularização, tratando-se de uma opção cómoda e não invasiva.<sup>[6]</sup>

Não obstante a relevância de todas as referidas vias de administração no âmbito da administração de insulina, esta dissertação centrar-se-á na utilização da via pulmonar, uma vez que é a via mais estudada para este efeito, existindo inclusive uma formulação comercial de insulina inalada e outras formulações em fases avançadas de ensaios clínicos.

## **2. Diabetes**

### **2.1. Definição**

A diabetes refere-se a um grupo de distúrbios metabólicos comuns que compartilham o fenótipo de hiperglicémia. Existem vários tipos distintos de diabetes que são causados por uma interação complexa de factores genéticos e ambientais. Dependendo da etiologia da diabetes, os factores que contribuem para a hiperglicémia incluem insuficiente produção de insulina pelo pâncreas ou uma utilização ineficaz da insulina pelo organismo. A desregulação metabólica associada à diabetes acarreta alterações fisiopatológicas secundárias em muitos sistemas orgânicos que, ao longo do tempo, podem levar a complicações de saúde, principalmente ao nível do sistema nervoso central e cardiovascular.<sup>[1,7,8]</sup>

### **2.2. Epidemiologia**

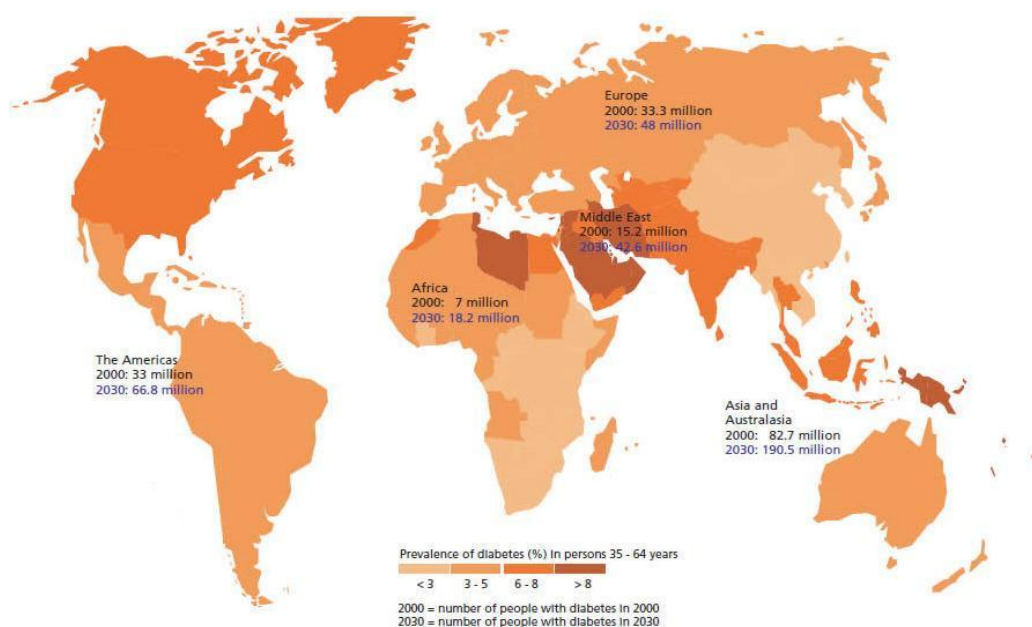
A diabetes constitui um grave problema de Saúde Pública à escala mundial, sendo uma situação clínica que, embora heterogénea na sua etiopatogenia, tem vindo a aumentar de frequência, sendo considerada uma doença em expansão epidémica, sobretudo nos países em desenvolvimento e industrializados.<sup>[9]</sup> O aumento da esperança de vida, conseguido através do desenvolvimento em geral e do progresso das ciências da saúde, em particular, deu origem a uma maior prevalência de doenças crónicas. A diabetes é uma doença sem cura até à data, cujas complicações graves incluem problemas cardiovasculares, hipertensão, insuficiência renal, cegueira e amputação de membros.<sup>[10]</sup>

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), na primeira metade desta década, havia cerca de 171 milhões de pessoas com diabetes a nível mundial, prevendo-se que, em 2030, cerca de metade da população mundial possua a patologia (figura1).<sup>[11]</sup>

Em Portugal, o Inquérito Nacional de Saúde forneceu-nos uma aproximação à prevalência da diabetes em Portugal. Numa amostra da população portuguesa com cerca de 50 mil pessoas, este inquérito estima em menos de 5% o número de diabéticos, cerca de 500 mil pessoas. Este número está aliás de acordo com outras estimativas da ordem dos 2-4% na população em geral.<sup>[10]</sup>

Mais recentemente, através da rede "Médicos-Sentinela" foi possível obter estimativas de incidência da diabetes em Portugal da ordem dos 2.5 por mil habitantes, valor que tem vindo a aumentar em ambos os sexos, até ao grupo etário entre os 65-74 anos, com valores mais elevados para o sexo feminino. A taxa de incidência da diabetes é superior à do Acidente Vascular Cerebral (AVC) ou do enfarte agudo do miocárdio.<sup>[10]</sup>

Com uma crescente incidência mundial, a diabetes será uma importante causa de morbilidade e mortalidade no futuro. No entanto, vários estudos indicam que essa enfermidade é provavelmente sub-relatada como causa de morte. Uma estimativa recente sugere que a diabetes foi a quinta principal causa de morte em todo o mundo e que foi responsável por quase 3 milhões de mortes por ano (1.7 a 5.2% de mortes a nível mundial).<sup>[1]</sup>



**Figura 1** – Prevalência da diabetes a nível mundial em 2000 e em 2030 em doentes com idades compreendidas entre 35 – 64 anos de idade <sup>[12]</sup>

### 2.3. Classificação da Diabetes

Actualmente, a diabetes é classificada em 4 tipos: Tipo 1 ou diabetes dependente de insulina; Tipo 2 ou diabetes não dependente de insulina; Tipo 3; e Diabetes gestacional.<sup>[1]</sup>

- Diabetes Tipo 1

A diabetes tipo 1 caracteriza-se, essencialmente, pela destruição selectiva das células  $\beta$  e por deficiência grave ou absoluta de insulina. A administração de insulina é essencial nos pacientes com este tipo de diabetes. A diabetes tipo 1 é ainda subdividida em causas imunes e idiopáticas, representando a forma imune a categoria mais comum. Embora os pacientes tenham, na sua maioria, menos de 30 anos de idade, o início da doença pode ocorrer em qualquer idade.<sup>[1,7]</sup>

- Diabetes Tipo 2

A diabetes tipo 2 caracteriza-se por resistência dos tecidos à acção da insulina, em conjunto com uma insuficiente secreção da hormona. Apesar de existir produção de insulina pelas células  $\beta$  nos indivíduos com diabetes tipo 2, a hormona é inadequada para superar a resistência, levando a hiperglicémia.

Os indivíduos com diabetes tipo 2 podem não necessitar de insulina para sobreviver, mas aproximadamente 30% beneficiam da insulinoterapia para controlar os níveis de glicose no sangue.<sup>[1,7]</sup>

- Diabetes Tipo 3

A designação de diabetes tipo 3 refere-se a múltiplas outras causas específicas da elevação da glicémia, incluindo doenças não-pancreáticas e terapia farmacológica, entre outras.<sup>[1]</sup>

- Diabetes Gestacional

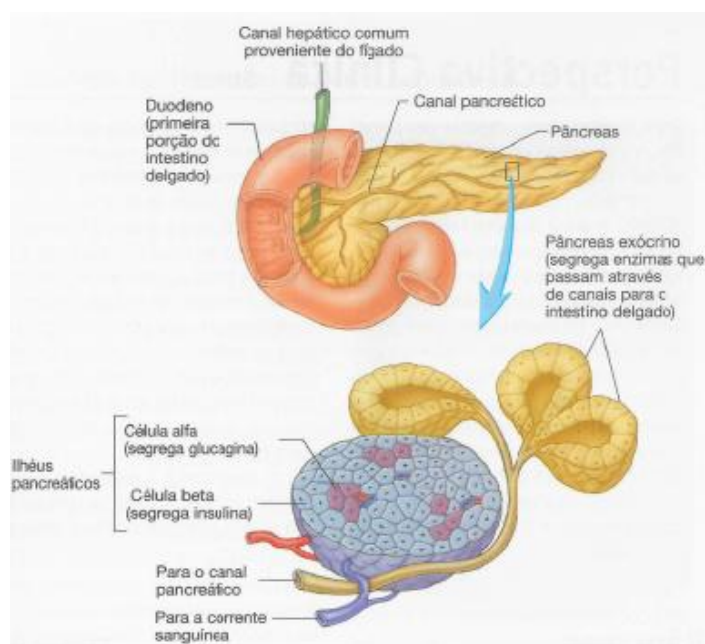
Refere-se a qualquer anormalidade nos níveis de glicose observada pela primeira vez durante a gravidez. Durante a gravidez, a placenta e as hormonas placentárias criam resistência à insulina, que se torna mais evidente no terceiro trimestre de gravidez.<sup>[1]</sup>

### 3. Anatomia e Fisiologia do Pâncreas

O pâncreas está situado no espaço retroperitoneal, entre a grande curvatura do estômago e o duodeno. É uma estrutura alongada, que mede aproximadamente quinze centímetros de comprimento e pesa cerca de oitenta e cinco a cem gramas. A cabeça do pâncreas está situada junto ao duodeno e o corpo e a cauda estendem-se até ao baço (figura2).<sup>[13]</sup>

Este órgão consiste numa glândula endócrina e exócrina. A porção exócrina é formada por ácinos, que produzem o suco pancreático, e por um sistema de canais que transporta o suco pancreático até ao intestino delgado. A porção endócrina é composta pelos ilhéus pancreáticos (ilhéus de Langerhans), os quais produzem hormonas que entram no sistema circulatório.<sup>[13]</sup>

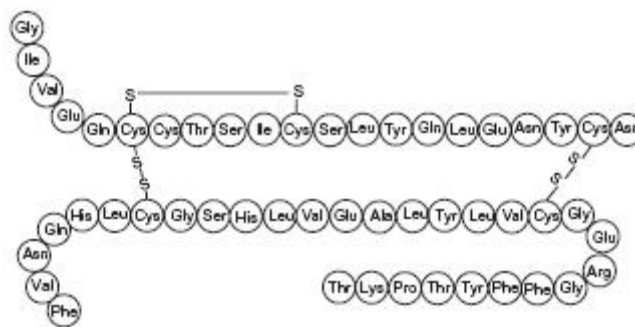
Entre 500.000 e 1 milhão de ilhéus pancreáticos estão dispostos entre os canais e os ácinos do pâncreas. Cada ilhéu é composto por células alfa (20%) que segregam glucagina, células beta (75%) que segregam insulina, e outros tipos de células (5%). Das células restantes, umas são células imaturas de funções questionáveis e as outras são células delta, que segregam somatostatina. Os ilhéus pancreáticos são inervados por nervos de ambas as divisões do sistema nervoso autónomo e vascularizados por uma rede capilar bem desenvolvida.<sup>[13]</sup>



**Figura 2** – Representação esquemática do pâncreas <sup>[13]</sup>

## 4. Insulina

A insulina é um péptido com peso molecular de 5.808 Da nos seres humanos. Contém 51 aminoácidos dispostos em duas cadeias ( $\alpha$  e  $\beta$ ) ligadas por pontes dissulfeto (figura3); existem diferenças nos aminoácidos de ambas as cadeias de acordo com a espécie. A pró- insulina, uma longa molécula proteica de cadeia simples, é processada no interior do complexo de Golgi e armazenada em grânulos, onde é hidrolisada em insulina e num segmento de conexão residual, designado péptido C, através da remoção de quatro aminoácidos.<sup>[1,7,8]</sup>



**Figura 3** – Representação esquemática da molécula de insulina <sup>[14]</sup>

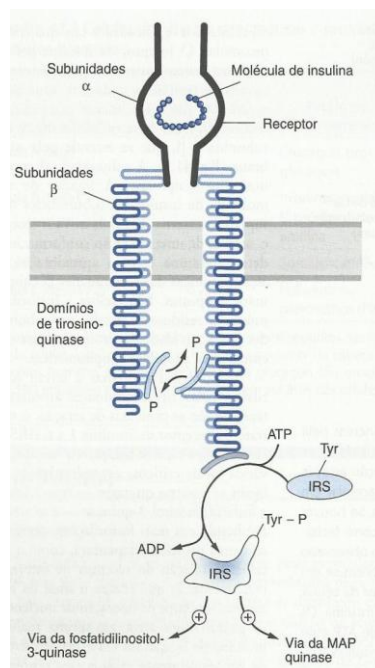
A insulina e o péptido C são secretados em quantidades equimolares, em resposta a todos os secretagogos da insulina; ocorre também libertação de uma pequena quantidade de pró-insulina não-processada ou parcialmente hidrolisada. Enquanto a pró-insulina pode exibir alguma acção hipoglicemiante, o péptido C não desempenha nenhuma função fisiológica conhecida. Os grânulos no interior das células  $\beta$  armazenam insulina na forma de cristais, que consistem em dois átomos de zinco e seis moléculas de insulina. O pâncreas humano contém até 8 mg de insulina, representando aproximadamente 200 unidades biológicas.<sup>[1,7,8]</sup>

### 4.1. Efeitos da Insulina nos Tecidos Alvo

As hormonas pancreáticas desempenham um papel importante na regulação da concentração sanguínea dos nutrientes essenciais ao aparelho circulatório, especialmente a glicose e os aminoácidos. Os principais tecidos alvo da insulina são o

fígado, o tecido adiposo, os músculos e o centro de saciedade do hipotálamo, sendo este último um conjunto de neurónios do hipotálamo cuja função é controlar o apetite.<sup>[8,13]</sup>

Após penetrarem na circulação, as moléculas de insulina difundem-se para os tecidos e ligam-se aos receptores de membrana nas células alvo.<sup>[13]</sup> O receptor de insulina consiste em dois heterodímeros ligados de modo covalente, contendo, cada um, uma subunidade  $\alpha$ , que é totalmente extracelular e constitui o local de reconhecimento, e uma subunidade  $\beta$ , que se estende pela membrana. A ligação de uma molécula de insulina às subunidades  $\alpha$  na superfície externa da célula activa o receptor e, através de uma alteração conformacional, determina uma estreita aproximação das alças catalíticas das subunidades  $\beta$  citoplasmáticas opostas.<sup>[1]</sup> Logo que as moléculas de insulina se ligam aos receptores, estes levam à fosforilação de proteínas específicas na membrana (figura 4).<sup>[13]</sup> Parte da resposta celular à insulina corresponde ao aumento, na membrana plasmática, do número de proteínas responsáveis pelo transporte activo da glicose e dos aminoácidos. Em seguida, a insulina e as moléculas receptoras são levadas por endocitose para o interior da célula. As moléculas de insulina são libertadas a partir dos receptores de insulina e fraccionadas dentro da célula, e assim, o receptor de insulina pode voltar a integrar a membrana celular.<sup>[8,13]</sup>



**Figura 4** – Mecanismo de activação do receptor de insulina<sup>[1]</sup>

A regulação dos níveis normais de glicose requer a presença de insulina. Estes níveis podem aumentar drasticamente quando é segregada muito pouca insulina ou quando os receptores de insulina não respondem à sua presença. Na ausência de insulina, o transporte de glicose e de aminoácidos para o interior da célula diminui drasticamente, embora os níveis sanguíneos destas moléculas possam ser muito elevados. O centro da saciedade requer insulina para captar glicose. Se esta não estiver presente, não há detecção de glicose no líquido extracelular, mesmo que a sua concentração seja elevada, levando a uma intensa sensação de fome apesar da glicémia se encontrar elevada.<sup>[7,8,13]</sup>

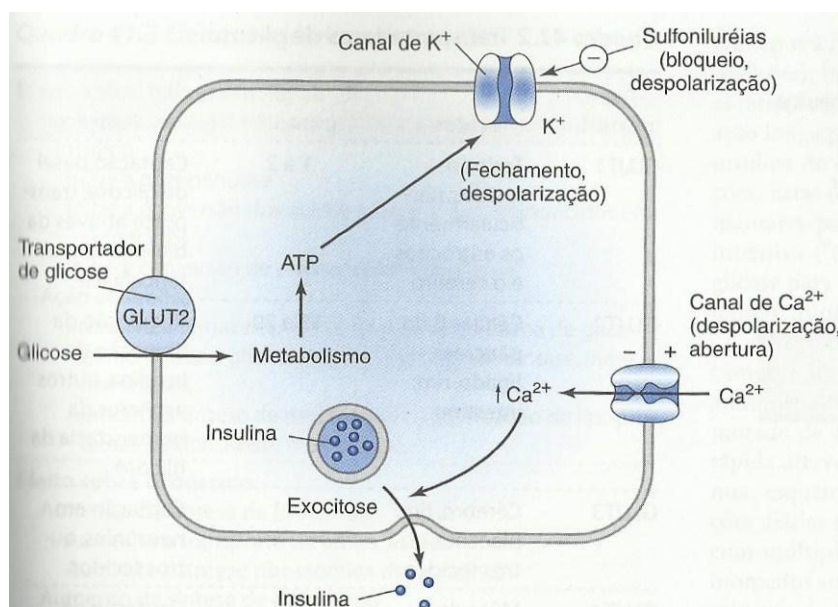
Os níveis de glicose podem descer muito quando é segregada demasiada insulina. Quando a insulina é demasiada, os tecidos alvo absorvem rapidamente a glicose do sangue, fazendo baixar muito os níveis de glicose.<sup>[13]</sup>

A insulina aumenta a capacidade dos seus tecidos alvo para captar e utilizar, tanto a glicose como os aminoácidos. As moléculas de glicose que não são imediatamente necessárias como fonte de energia para manter o metabolismo celular são armazenadas sob a forma de glicogénio no músculo esquelético, no fígado e noutros tecidos, sendo convertidas em gordura no tecido adiposo. Os aminoácidos podem ser degradados e utilizados como fonte de energia ou para a síntese de glicose, ou ser convertidos em proteínas. Sem insulina, a capacidade destes tecidos para aceitar e utilizar a glicose é mínima.<sup>[13]</sup>

#### **4.2. Regulação da Secreção da Insulina**

A secreção de insulina é controlada pelos níveis sanguíneos de nutrientes, por estimulação nervosa e por controlo hormonal.<sup>[7,13]</sup> A hiperglicémia resulta num aumento dos níveis de ATP, que fecham os canais de potássio dependentes de ATP. A diminuição do efluxo de potássio resulta numa despolarização da célula  $\beta$  e abertura dos canais de cálcio regulados por voltagem. O conseqüente aumento do cálcio intracelular desencadeia a secreção de insulina (figura5).<sup>[1]</sup> A hipoglicémia inibe directamente a secreção de insulina.<sup>[13]</sup> Assim, os níveis de glicose no sangue têm um papel fundamental na regulação da secreção de insulina. A seguir a uma refeição, os níveis de glicose e de aminoácidos aumentam no sistema circulatório, elevando a secreção de

insulina. Durante os períodos de jejum (em que os níveis de glicose são baixos) a secreção de insulina decresce.<sup>[7,8,13]</sup>



**Figura 5** – Mecanismo da secreção de insulina estimulada pelos níveis de glicose<sup>[1]</sup>

### 4.3. Degradação da Insulina

O fígado e o rim constituem os dois órgãos principais que removem a insulina da circulação. Normalmente, o fígado depura cerca de 60% da insulina circulante libertada pelo pâncreas, em virtude da sua localização como terminal do fluxo sanguíneo da veia porta, enquanto os rins removem 35 a 40% da hormona endógena. Todavia, em pacientes diabéticos que recebem injeções subcutâneas de insulina esta relação é invertida, de modo que 60% da insulina endógena é depurada pelo rim, enquanto que o fígado não remove mais do que 30 a 40%. A semi-vida da insulina circulante é de 3 a 5 minutos.<sup>[1]</sup>

## 5. Preparações de Insulina Disponíveis no Mercado

As preparações comerciais de insulina diferem em vários aspectos, como diferenças nas técnicas de produção de DNA recombinante, sequência de aminoácidos, concentração, solubilidade e tempo de início e duração da acção biológica. No entanto, há um denominador comum, que consiste no facto de todas as formulações serem injectáveis.<sup>[1,7,15]</sup>

No que diz respeito à duração de acção das diferentes preparações, esta pode ser prolongada através do recurso a artifícios de cristalização ou à fixação sobre uma proteína, como a protamina. De acordo com as características farmacocinéticas, ou seja, consoante o período de latência, a duração de acção e o tempo necessário para atingir a concentração máxima, as insulinas são classificadas em: insulinas de acção curta, de acção intermédia e de acção rápida. As de acção rápida existem em solução cristalina, de absorção subcutânea rápida e com início de acção entre 30 a 45 minutos após a administração. Existe, no entanto uma grande variedade inter e intraindividual quanto à sua cinética. As insulinas de acção mais prolongada existem sob a forma de suspensão, adicionadas de protamina, de modo a retardar a absorção.<sup>[1,16]</sup>

- Insulina de Acção Curta

Nas insulinas de acção curta incluem-se as insulinas solúveis. Têm início de acção entre 25 a 35 minutos após a administração, a actividade máxima entre 3 a 5 horas, terminando o seu efeito 6 a 8 horas após a administração. Existem na terapêutica como análogos da insulina humana, a insulina aspártico, a insulina glulisina e a insulina lispro, que apresentam um início de acção mais rápido que as insulinas solúveis e podem ser administradas imediatamente antes de uma refeição, o que confere aos doentes maior flexibilidade e liberdade nas actividades diárias. O início de acção destes fármacos consegue-se aos 5-10 minutos, a concentração máxima aos 40-60 minutos e a duração do efeito varia entre 2 a 4 horas. A insulina aspártico e a insulina lispro podem ser usadas em alternativa à insulina solúvel em situações de emergência diabética e em período de cirurgia.<sup>[1,16]</sup>

- Insulina de Acção Intermédia

Nas insulinas de acção intermédia incluem-se as que têm início de acção entre 1 a 2 horas, um efeito máximo de 4 a 12 horas e uma duração de acção que se prolonga de 16 a 35 horas, consoante a preparação farmacêutica, o local de injeção e as características individuais do doente. Nelas se incluem a insulina isofânica (ou NPH – Neutral Protamine Hagedorn) e a insulina com protamina. Após a administração subcutânea, as enzimas proteolíticas degradam a protamina permitindo a absorção da insulina. Apresentam-se sob a forma de suspensão com um aspecto ligeiramente turvo, podendo formar um leve depósito. Existem ainda pré-misturas de insulinas designadas por insulinas bifásicas, que resultam da mistura em proporções variáveis de insulina de curta duração de acção com insulinas de acção intermédia e apresentam-se como suspensões para administração subcutânea.<sup>[1,16]</sup>

- Insulina de Acção Prolongada

Existem dois análogos da insulina humana recombinante, com uma acção muito prolongada, são eles a insulina glargina e a insulina detemir. Após a injeção no tecido subcutâneo, estas soluções formam micro-precipitados que permitem a libertação constante, com uma duração de acção muito prolongada.<sup>[1,16]</sup>

## 6. Vias Alternativas para Administração de Insulina

### 6.1. Via Oral

A via oral para administração de insulina é de particular interesse devido à facilidade de administração e à ausência de dor, levando a uma maior comodidade, maior adesão e a um risco de infecção reduzido comparativamente com as injeções subcutâneas de insulina.<sup>[19,28]</sup>

A elevada atractividade de administrar insulina simplesmente pela toma de um comprimido levou a uma série de tentativas neste sentido ao longo dos anos.<sup>[15]</sup>

A grande vantagem desta via de administração é que a insulina, após ser absorvida pelo intestino, seria entregue directamente no fígado em elevada concentração, simulando o padrão de secreção fisiológica do pâncreas e exercendo um efeito directo sobre a produção hepática de glicose.<sup>[28]</sup>

Os principais problemas envolvidos com a administração oral de insulina prendem-se com a degradação e desnaturação desta devido ao baixo pH gástrico, à reduzida absorção no intestino delgado devido à sua estrutura macromolecular e à presença de enzimas proteolíticas no trato gastrointestinal.<sup>[18,19,28]</sup>

As enzimas proteolíticas, como a pepsina e a tripsina, que estão localizadas no estômago e pequeno lúmen intestinal são responsáveis pela degradação de cerca de 20% das proteínas ingeridas.<sup>[28]</sup>

Diferentes abordagens têm sido desenvolvidas com a finalidade de melhorar a biodisponibilidade oral de insulina, como o uso de potenciadores da absorção, inibidores das proteases, revestimentos entéricos e formulações de microsferas e nanopartículas. No entanto, até agora, nenhuma das várias abordagens tem produzido resultados clínicos satisfatórios.<sup>[4,19,28]</sup>

Após a realização de vários estudos, pouco sucesso foi alcançado no sentido de aumentar a biodisponibilidade da insulina por via oral. Apenas uma fracção muito pequena de uma dose de insulina por via oral se torna disponível para absorção através da membrana gastrointestinal.<sup>[18]</sup>

## 6.2. Via Nasal

A administração nasal de fármacos também tem sido estudada e utilizada como uma via alternativa para a administração de insulina.<sup>[19,28]</sup>

A facilidade de acesso à cavidade nasal facilita uma medicação autónoma, melhorando assim a adesão do paciente comparativamente com a via parenteral.<sup>[28]</sup>

A administração de insulina por via nasal tem-se mostrado bastante atractiva devido a uma relativamente elevada área de superfície disponível para absorção (150 cm<sup>2</sup>) que é coberta com numerosas microvilosidades epiteliais. A camada subepitelial é altamente vascularizada e o sangue venoso do nariz passa directamente para a circulação sistémica, evitando-se assim o efeito de primeira passagem e a perda de insulina associada a este.<sup>[4,19,28]</sup>

A administração por esta via permite que sejam necessárias doses mais baixas de insulina, que sejam atingidos níveis terapêuticos mais rapidamente, um início de acção mais rápido e produção de menos efeitos colaterais.<sup>[28]</sup>

Apesar de todas estas vantagens, existem algumas barreiras para a absorção nasal, principalmente um mecanismo mucociliar muito activo que não permite um contacto prolongado do fármaco com a mucosa e a presença de enzimas proteolíticas na cavidade nasal, existem também outros factores que vão influenciar a biodisponibilidade da insulina, tal como as propriedades físico-químicas das partículas (dose, tempo e frequência de administração) e tipo, volume e concentração da insulina ou potenciadores de absorção.<sup>[4,18,28]</sup>

Com a finalidade de aumentar a absorção de insulina através da mucosa nasal têm sido utilizados não só inibidores enzimáticos, como também potenciadores da absorção. Alguns potenciadores da absorção testados são sais biliares, derivados do ácido fusídico, surfactantes, fosfolípidos e ciclodextrinas.<sup>[19,29]</sup>

Tem sido relatado que a administração nasal de insulina tem muitos efeitos colaterais, tal como irritação nasal e lesões na mucosa nasal e na função mucociliar. Estudos relataram que preparações de insulina para administração nasal contendo glicolato de sódio ou taurofosidato de sódio como potenciadores da absorção causam irritação na

mucosa nasal. Algumas das outras desvantagens incluem um aumento da tensão arterial.<sup>[4,18,19]</sup>

Embora a via nasal possa ter grandes potencialidades para a administração de insulina, existem várias limitações para o seu uso, assim o sistema de entrega precisa de ser estudado de uma forma mais aprofundada de modo a ter toda a segurança e eficácia e ser utilizado na prática clínica.<sup>[4,19]</sup>

### **6.3. Via Pulmonar**

Uma vasta gama de insulinas injectáveis está actualmente disponível de modo a otimizar a regulação dos níveis de glicose no sangue. No entanto, o controlo glicémico ideal (hemoglobina glicosilada menor ou igual a 7%) apenas é alcançado por uma minoria dos doentes tratados com insulina. Uma das principais razões para este fracasso é a limitação da insulina subcutânea em replicar o padrão fisiológico de secreção da insulina endógena, de modo que os níveis normais de glicémia sejam mantidos durante períodos de tempo prolongados.<sup>[3,17,18]</sup>

A insulinoterapia padronizada consiste numa injeção subcutânea convencional, sendo também utilizada a administração de insulina por perfusão contínua. Apesar da administração de insulina se realizar obrigatoriamente por via subcutânea, esta não é de todo uma solução cómoda para os pacientes devido à necessidade de injeções diárias, ao stress psicológico, à dor associada à administração, aos custos, riscos de infecção, à dificuldade de manusear a insulina e à deposição local da insulina que pode levar a hipertrofia e deposição de gordura no local da injeção. Assim, a indústria farmacêutica tem vindo a envidar esforços direccionados para o desenvolvimento de novos sistemas de administração de insulina que possibilitem a utilização de vias alternativas à parenteral, de carácter não invasivo.<sup>[15,18]</sup>

Como referido anteriormente, a degradação pelo ambiente ácido do estômago ou por peptidases presentes no trato gastrointestinal superior, a depuração mucociliar activa e a presença de enzimas proteolíticas na cavidade nasal, bem como a impermeabilidade da pele, são factores que têm impedido o sucesso da administração pelas vias oral, nasal e transdérmica, respectivamente.<sup>[3,18,20]</sup>

No entanto, nas últimas três décadas muitos estudos têm apresentado a via pulmonar como uma potencial alternativa à administração de insulina por via subcutânea.<sup>[15]</sup>

A administração pulmonar de fármacos é usada extensivamente no tratamento de doenças respiratórias como a asma, a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e a fibrose cística. Os objectivos do tratamento nestes casos são a administração de fármacos localmente de modo a evitar broncoespasmos ( $\beta$ -agonistas), inflamação (esteróides inaláveis) e infecções bacterianas locais (antibióticos).<sup>[2,21]</sup>

No entanto, os pulmões têm vindo a revelar-se um local atractivo para a administração sistémica de fármacos e, particularmente, de proteínas e péptidos, principalmente devido à elevada área superficial disponível para a absorção sistémica dos fármacos, quando comparado com outras vias não tradicionais, como a sublingual ou a nasal. A administração pulmonar de insulina pode reduzir o número de injeções de insulina diárias necessárias, o que deverá levar a um melhor cumprimento da terapêutica e, conseqüentemente, a melhores resultados no controlo dos níveis séricos de glicose a longo prazo.<sup>[6,20]</sup>

Entre as principais vantagens da administração pulmonar figuram a grande superfície de absorção (100 - 150 m<sup>2</sup>), como referido anteriormente, e a elevada vascularização do epitélio alveolar, local de absorção. Por outro lado, os alvéolos estão cobertos por uma única camada muito fina de células epiteliais (0.1 – 0.2 mm), facilitando a absorção sistémica das moléculas, que escapam à degradação hepática por se evitar com esta administração o efeito de primeira passagem.<sup>[4,20]</sup>

O pulmão executa funções complexas a nível metabólico e endócrino, mas também oferece protecção estrutural e imunológica contra agentes patogénicos inalados, evitando que partículas indesejáveis que se encontrem suspensas no ar alcancem locais mais sensíveis do organismo. A geometria das vias aéreas, a humidade, e outros mecanismos de defesa contribuem para esse processo de eliminação.<sup>[22]</sup>

A região traqueo-bronquial, que se estende desde a laringe até aos bronquíolos terminais, é formada principalmente por células ciliadas e por muco (mistura complexa de proteínas, glicoproteínas e lípidos). Em conjunto, estas estruturas constituem um mecanismo de defesa conhecido como eliminação mucociliar, que consiste em

impulsionar para fora do organismo o muco, com todos os materiais indesejáveis incorporados, pelo movimento coordenado dos cílios.<sup>[23]</sup> Em contraste, a região alveolar não contém muco. Os alvéolos incluem uma densa rede capilar apoiada em fibras de colagénio e fibras elásticas e são cobertos por uma fina camada epitelial composta por dois tipos de células, pneumócitos tipo I e pneumócitos tipo II. Os pneumócitos tipo I são grandes, planos e incapazes de se dividir, assim, quando estes se encontram danificados são substituídos por pneumócitos tipo II que se diferenciam em pneumócitos tipo I. Os pneumócitos tipo II são células pequenas, interpostas entre os pneumócitos tipo I, com capacidade de sintetizar e secretar um fluido tensioactivo normalmente referido como surfactante pulmonar. Este surfactante tem a importante função de impedir a tendência natural dos pulmões para entrarem em colapso e reduz a tensão superficial na interface ar-líquido. A sua constituição inclui uma mistura complexa de lípidos e proteínas, que consiste em 80-90% de lípidos (principalmente fosfatidilcolina e fosfatidilglicerol) e 5-10% de proteínas. Este é libertado por exocitose e a sua secreção contínua cria um gradiente de superfície que favorece o fluxo dos alvéolos para os bronquíolos até integrar o mecanismo de eliminação mucociliar, desempenhando assim um papel importante na eliminação de substâncias exógenas, entre as quais se incluem os fármacos que atingem os alvéolos. Os alvéolos incluem ainda células fagocitárias como os macrófagos, que desempenham um importante papel no mecanismo de defesa alveolar.<sup>[17,22,23]</sup>

Os monócitos, derivados do sangue, diferenciam-se em macrófagos quando chegam ao pulmão, e formam uma suspensão sobre a superfície, onde se movem livremente. Por fagocitose, eliminam as partículas inaladas que conseguem escapar à eliminação mucociliar e chegam à superfície alveolar. A sua acção como mecanismo de defesa tem por base o facto de conterem lisossomas muito ricos em enzimas hidrolíticas, como a fosfatase ácida e a lisozima.<sup>[17,22]</sup>

A insulina é um fármaco de acção sistémica, pelo que a sua eficácia terapêutica dependerá da capacidade de alcançar a região alveolar, onde ocorre a absorção. Como se depende do que foi dito anteriormente, antes de chegarem às zonas mais profundas do pulmão, os fármacos devem superar os obstáculos e os mecanismos de defesa pulmonar referidos acima, essencialmente o efeito da estrutura das vias aéreas e da

camada de muco. Uma vez nos alvéolos, outros dois mecanismos de defesa se sucedem: os macrófagos alveolares e a actividade enzimática. Portanto, o desafio do desenvolvimento de sistemas de inalação de insulina prende-se com a formulação de sistemas de administração com propriedades adequadas para escapar aos sucessivos mecanismos de defesa do pulmão, providenciando a protecção do fármaco durante o seu trajecto e permitindo a sua entrega no local de absorção.<sup>[17,22,23]</sup>

O sucesso de um aerossol desenvolvido para a administração sistémica de fármacos depende assim, essencialmente, das suas propriedades aerodinâmicas. Isto significa que, mais do que do factor tamanho, a eficácia da administração vai depender duma conjugação entre o tamanho e a densidade das partículas/gotículas de aerossol. Estas devem ser suficientemente pequenas para passar através da boca, garganta, vias aéreas superiores e chegar aos alvéolos, mas não tão pequenas que não sejam depositadas e sejam exaladas novamente. Qualquer partícula que entre na árvore respiratória é depositada e, dependendo do seu diâmetro aerodinâmico, diferentes mecanismos de deposição poderão ocorrer: impacto, sedimentação e difusão. Partículas com um diâmetro aerodinâmico superior a 6  $\mu\text{m}$  e que viajam a alta velocidade serão depositadas por impacto. A sedimentação ocorre principalmente nas pequenas vias aéreas e na região alveolar, e é mais significativa para partículas com aproximadamente 4-6  $\mu\text{m}$ . A deposição por difusão ocorre principalmente na região alveolar, é devida aos movimentos brownianos, e é mais significativa para partículas menores que 0.5  $\mu\text{m}$ . Desta forma, tem sido descrito que o tamanho de partícula ideal para administração de fármacos por via pulmonar de modo a atingir um efeito sistémico deve ser aproximadamente 1-5  $\mu\text{m}$ , com um máximo efeito obtido para partículas entre 2-3  $\mu\text{m}$ .<sup>[22-25]</sup>

## 7. Transportadores para Administração Pulmonar de Insulina

Actualmente, devido à instabilidade e à reduzida permeabilidade das biomembranas às proteínas, como a insulina, a via parenteral é a mais comumente utilizada para a sua administração. Como já foi referido anteriormente, a via parenteral apresenta inúmeras desvantagens e, devido às características atractivas do sistema respiratório, referidas anteriormente, a via pulmonar tem recebido uma especial atenção para a entrega destes fármacos de origem proteica.<sup>[6]</sup> No entanto, as formulações convencionais têm algumas limitações, tais como uma reduzida biodisponibilidade e o aparecimento de efeitos colaterais.<sup>[26]</sup>

O desenvolvimento de uma terapia inalatória eficaz e segura vai depender tanto de um dispositivo de administração como de um transportador do fármaco adequado.<sup>[22,23,27]</sup> Assim, o estudo e desenvolvimento de transportadores de fármacos pode ser uma forma alternativa para superar os problemas das formulações convencionais, dado que eles permitem proteger as proteínas da degradação, melhorar o transporte transepitelial e reduzir a imunogenicidade.<sup>[26]</sup>

Os transportadores são utilizados para a incorporação de fármacos permitindo a sua protecção contra a degradação, com a finalidade de atingirem os órgãos e tecidos desejados e reduzirem os efeitos secundários. No caso de formulações proteicas, o uso de transportadores pode desempenhar um papel fundamental no aumento do índice terapêutico do fármaco por melhorar a deposição pulmonar e a quantidade de fármaco que chega ao local de acção e, como consequência, diminuir os efeitos adversos provocados por uma entrega de fármaco para tecidos não-alvo, aumentar a estabilidade e transporte transepitelial, obter formulações de libertação modificada, penetrar profundamente nos tecidos, escapar ao sistema imune e, assim, aumentar o tempo de semi-vida.<sup>[22,23,26,27]</sup>

Os transportadores deverão permitir que as moléculas se mantenham estáveis no seu ambiente biológico específico, e, idealmente, que atravessem as barreiras da mucosa de modo a alcançar o seu local de acção. Além disso, os materiais e as tecnologias utilizadas para preparar estes veículos são muito relevantes, pelo que atingir o objectivo final da administração vai depender da sua selecção.<sup>[22,27]</sup>

A utilização de transportadores para a administração pulmonar de insulina é um conceito atraente, pois oferece potencial para alcançar uma distribuição relativamente uniforme da dose nos alvéolos <sup>[14]</sup>, pode levar à retenção de partículas nos pulmões, permitindo uma libertação prolongada de insulina, a sua protecção e uma biodisponibilidade melhorada.<sup>[26]</sup>

Os transportadores mais representativos são classificados de acordo com o tamanho de partícula e com a natureza dos materiais que são utilizados para os obter.<sup>[22,23]</sup>

Diversos materiais têm sido utilizados na produção de transportadores, tais como polissacáridos, derivados de poliéster, acrilatos e lípidos, entre outros. Uma das estratégias mais promissoras é a incorporação de polímeros que prolongam a permanência dos transportadores de fármacos nos locais de absorção, facilitando assim uma maior absorção do fármaco. Este tipo de abordagem inclui o uso de polímeros com propriedades mucoadesivas, tais como os derivados de celulose ou polissacáridos como o quitosano.<sup>[22,23,27]</sup>

Além disso, a investigação tem vindo a apostar no desenvolvimento de transportadores de superfície modificada com o objectivo de melhorar as suas propriedades de direccionamento, impedindo que sejam fagocitados pelos macrófagos ou favorecendo a sua interacção com as células epiteliais.<sup>[22]</sup>

A biodisponibilidade de fármacos por via pulmonar é geralmente inferior quando comparada com a administração por via parenteral, devido às características estruturais da via e aos mecanismos de defesa existentes, como a degradação enzimática.<sup>[22]</sup> Numa tentativa de superar esses problemas tem sido estudado o uso de inibidores enzimáticos e de potenciadores da absorção, dado que ambos têm a finalidade de melhorar a absorção pulmonar dos fármacos.<sup>[28]</sup>

Entre estas substâncias incluem-se ácidos biliares, surfactantes, fosfolípidos e inibidores enzimáticos. Embora a adição de potenciadores de absorção seja um método promissor para aumentar a biodisponibilidade sistémica de fármacos inalados, a sua segurança a longo prazo é uma questão importante que deve ser extensivamente examinada. Portanto, o grande desafio é encontrar potenciadores de absorção que aumentem a permeabilidade sem causar toxicidade após exposição longa. Na verdade, poucos têm

sido os estudos realizados sobre a toxicidade destes agentes, e foi recentemente demonstrado que alguns deles, apesar de eficientes potenciadores de absorção pulmonar, induziam lesões nos pulmões. Um potenciador de absorção com particular interesse, dada a ausência de toxicidade já demonstrada é o quitosano. Os inibidores enzimáticos também têm sido utilizados, sendo estas substâncias que reduzem a actividade proteolítica de várias enzimas responsáveis pela degradação de péptidos e proteínas, reforçando assim a sua absorção.<sup>[22,23]</sup>

O investimento no desenvolvimento de transportadores de fármacos para administração pulmonar resultou no surgimento de estruturas como lipossomas e sistemas nano e microparticulados especificamente direccionados para a entrega de fármacos a nível pulmonar.<sup>[22,27]</sup>

### **7.1. Lipossomas**

Os lipossomas são pequenas vesículas esféricas compostas por uma ou mais bicamadas de fosfolípidos, colesterol e/ ou outros lípidos, que encerram uma cavidade interna aquosa (figura 6). São um dos transportadores mais estudados para a entrega de fármacos no pulmão, uma vez que podem ser preparados a partir de compostos endógenos, como os que compõem o surfactante pulmonar, o que tem demonstrado levar a uma maior absorção dos fármacos incorporados, embora o mecanismo subjacente não seja ainda claro.<sup>[14,26]</sup> Os lipossomas unilamelares de pequeno tamanho são corpos com um núcleo hidrófilo, enquanto que os lipossomas multilamelares têm várias camadas de fosfolípidos e compartimentos aquosos.<sup>[29]</sup>

A formulação lipossomal de proteínas para administração pulmonar como aerossol não deve causar reacções adversas pulmonares, como tosse ou broncoconstrição. A formulação também deve oferecer estabilidade suficiente à proteína para garantir que esta sobrevive ao processo de geração do aerossol. A formulação de proteínas e péptidos é muitas vezes mais difícil do que a formulação de pequenas moléculas devido ao importante papel da conformação proteica.<sup>[30]</sup>

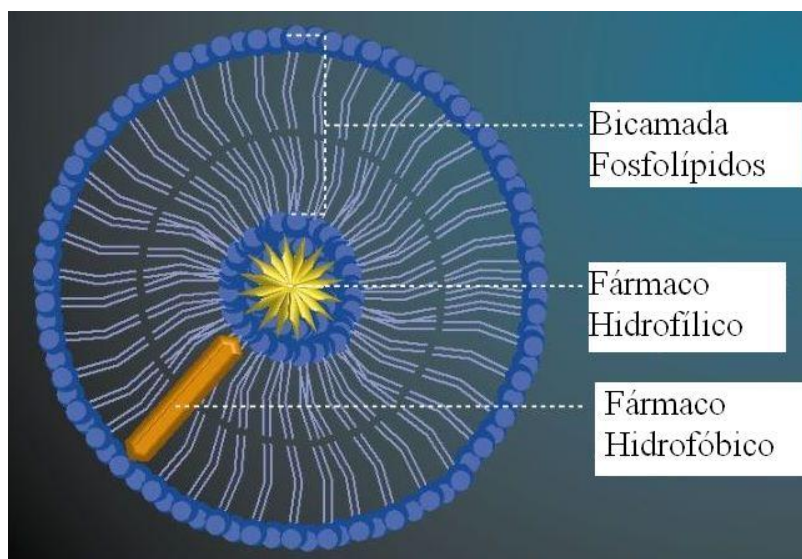
A formulação de lipossomas destinados à inalação deve contemplar, como para qualquer outro sistema, os problemas associados com o processo de nebulização, a

estabilidade dos sistemas, a cinética de libertação do fármaco no meio pulmonar e as alterações farmacocinéticas dos fármacos encapsulados.<sup>[30]</sup>

Devido à sua semelhança estrutural, os lipossomas depositados nos alvéolos pulmonares interagem com os fosfolípidos endógenos, facilitando a absorção da insulina. As vantagens dos lipossomas do ponto de vista de uma administração pulmonar são que estes permitem a libertação prolongada de fármaco, previnem a irritação local, têm baixa toxicidade, e conferem uma elevada possibilidade de manipulação da libertação e direccionamento por variação dos constituintes da bicamada.<sup>[27,29]</sup>

Num estudo realizado, foi desenvolvido um novo nebulizador compatível com transportadores lipossomais para a entrega de insulina por via pulmonar produzidos pelo método do detergente dialisante. Os resultados experimentais mostraram que a insulina pode ser encapsulada eficientemente em lipossomas (foi alcançada uma eficiência de encapsulação óptima quando foi utilizado etanol a 40%), que o tamanho das partículas foi de aproximadamente 1 µm, a insulina manteve-se estável na solução lipossomal e que o nível de glicose no plasma foi efectivamente reduzido após administração *in vivo*, em ratinhos. Usou-se uma sonda fluorescente nos lipossomas e verificou-se que os lipossomas foram homogeneamente distribuídos nos alvéolos pulmonares. Assim, concluiu-se que os lipossomas, como mediadores da entrega de insulina por via pulmonar promovem um aumento no tempo da sua retenção nos pulmões e uma redução dos efeitos colaterais extrapulmonares, o que resulta numa maior eficácia terapêutica.<sup>[30]</sup>

Um outro estudo também examinou as características da administração pulmonar de insulina com lipossomas como transportadores. Lipossomas à base de dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC) contendo insulina foram administrados em ratos por via pulmonar. Foi concluído que existe um aumento da absorção de insulina por abertura das junções intercelulares do epitélio alveolar, não causando danos irreversíveis. Também se concluiu que o tamanho reduzido dos lipossomas é adequado para a administração de insulina por via pulmonar. Estes resultados mostram também que a aerossolização de lipossomas pode ser bastante útil como sistema de administração pulmonar de insulina.<sup>[31]</sup>



**Figura 6** – Estrutura lipossomal <sup>[26]</sup>

## 7.2. Micropartículas

Micropartículas ou microsferas são partículas sólidas produzidas a partir de polímeros sintéticos ou naturais, variando o seu tamanho entre 1 e 999  $\mu\text{m}$ . As microsferas são necessariamente partículas esféricas, enquanto que as micropartículas não. <sup>[23,32]</sup>

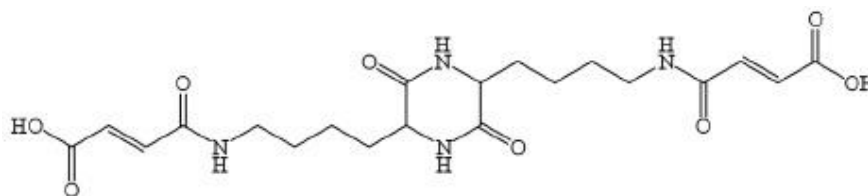
As micropartículas aparecem como um sistema alternativo que pode ser adaptado de acordo com as características morfológicas (forma e porosidade) ou aerodinâmicas (tamanho e densidade) desejadas. <sup>[22,29]</sup>

Estas formulações têm sido propostas como veículos para administração pulmonar, utilizando uma grande variedade de materiais e de polímeros naturais ou sintéticos, pois eles podem oferecer uma dispensa de fármaco eficiente e controlada, bem como conferir proteção das moléculas encapsuladas. <sup>[22,29]</sup>

Um exemplo do uso clínico de microsferas para inalação de insulina é o sistema Technosphere<sup>®</sup>. <sup>[29]</sup> A insulina Technosphere<sup>®</sup> é uma formulação de insulina sob a forma de pó seco, ou seja, de micropartículas para administração pulmonar. O produto é composto por insulina e por um transportador composto por fumaril dicetopiperazina (FDKP). O excipiente FDKP (figura 7) forma sozinho uma via de ligação de hidrogénio num ambiente levemente ácido para formar microsferas de pequeno diâmetro (2-5  $\mu\text{m}$ ).

Durante o processo de precipitação que é usado para formar as microsferas em solução, podem ser introduzidos nestas péptidos e proteínas, que são microencapsulados dentro das microsferas FDKP. As partículas Technosphere<sup>®</sup> são liofilizadas, seguindo-se a formação da microsfera e o encapsulamento do fármaco para formar um pó adequado para inalação. Após a inalação as partículas são facilmente dissolvidas no ambiente pulmonar de pH neutro, permitindo assim a absorção rápida e eficiente de péptidos ou proteínas microencapsuladas para a circulação sistémica.<sup>[33,34]</sup>

A insulina Technosphere<sup>®</sup> fornece insulina com um perfil farmacocinético ultra rápido. Uma absorção rápida é frequentemente associada a potenciadores de penetração que perturbam a integridade celular. Então, para representar o papel da FDKP na absorção da insulina, foi realizado um estudo em que células Calu-3 (estas células têm sido usadas em investigação por serem semelhantes aos pneumócitos tipo I) foram expostas a insulina isoladamente, a soluções com insulina Technosphere<sup>®</sup> em pó dissolvida, e a um painel de potenciadores de absorção conhecidos. Fortes diferenças foram observadas entre os efeitos da insulina Technosphere<sup>®</sup> e os potenciadores de absorção em várias propriedades das células. A insulina Technosphere<sup>®</sup>, a fumaril dicetopiperazina, e os outros componentes do pó da insulina Technosphere<sup>®</sup> não são potenciadores de absorção em células Calu-3. A insulina Technosphere<sup>®</sup> não perturba as uniões íntimas entre as células, nem a permeabilidade, não danifica a membrana plasmática, nem induz toxicidade celular. Estas descobertas suportam a hipótese de que a fumaril dicetopiperazina desempenha um papel passivo no local de absorção de insulina e que a sua função na insulina Technosphere<sup>®</sup> é agir como um componente que entrega insulina às zonas profundas do pulmão, onde a absorção irá ocorrer.<sup>[33-35]</sup>



**Figura 7** – Estrutura química da FDKP <sup>[35]</sup>

- Partículas grandes e porosas

Estas partículas são mais leves e maiores do que as típicas partículas de pó seco, têm um diâmetro geométrico superior a 5  $\mu\text{m}$  e uma densidade de aproximadamente 0.1  $\text{g}/\text{cm}^3$ . Assim, devido às suas características ocas e porosas, estas partículas têm um diâmetro aerodinâmico inferior a 5  $\mu\text{m}$ , e são mais eficientes (sofrem menos agregação) do que partículas menores e não porosas, além de que estas têm menos probabilidade de serem fagocitadas por macrófagos.<sup>[29,36]</sup> Consequentemente, estas partículas depositam-se de uma forma homogênea e reprodutível, sem toxicidade relevante, na superfície alveolar.<sup>[27,29]</sup>

O sistema de administração pulmonar de insulina AIR<sup>®</sup>, preparado com PLGA (ácido poliláctico-glicólico), é baseado em partículas grandes e porosas.<sup>[29]</sup> O sistema AIR<sup>®</sup> é um sistema simples e pequeno activado pela respiração que utiliza cápsulas de pó seco de insulina humana que são perfuradas antes da emissão. O aerossol é feito de partículas grandes e porosas, contendo insulina associada a uma matriz de PLGA. As partículas são relativamente grandes (10-20  $\mu\text{m}$ ) mas o seu diâmetro aerodinâmico está entre 1-3  $\mu\text{m}$ , apresentam tendência para reduzir a agregação, facilitando assim a sua dispersão.<sup>[4]</sup>

Um estudo mostrou que a inalação de partículas grandes e porosas de insulina (formuladas por PLGA) resultaram em níveis elevados de insulina sistémica e, consequentemente, na supressão dos níveis de glicose sistémica durante 96 horas, enquanto que partículas não porosas de insulina tiveram esse efeito apenas durante 4 horas.<sup>[25]</sup>

#### 7.2.1. Micropartículas produzidas com materiais sintéticos hidrofóbicos

- Derivados de poliéster

Tem sido dada bastante atenção aos polímeros biodegradáveis e biocompatíveis PLA (ácido poliláctico) e PLGA para a produção de micropartículas para administração pulmonar, dada a sua reconhecida segurança para administração por via parenteral.<sup>[23]</sup> No entanto, o lento ritmo de degradação do PLGA na periferia do pulmão, possivelmente devido à pequena área de contacto entre o polímero e o líquido do pulmão, pode induzir toxicidade pulmonar.<sup>[22,27]</sup>

Muitas das microsferas produzidas com estes polímeros são para a administração de proteínas, como a insulina.<sup>[22,27]</sup>

Transportadores porosos produzidos com PLGA e carregados com insulina permitiram um aumento da absorção sistêmica da insulina, induzindo uma redução dos níveis séricos de glicose (30% do valor inicial) durante 96 horas após a administração do fármaco, o que não foi observado para as microsferas não porosas. Além disso, para as partículas grandes e porosas a biodisponibilidade de insulina foi de 88% em relação à injeção subcutânea, enquanto que para as microsferas não porosas a biodisponibilidade foi de apenas 12%.<sup>[22]</sup>

As micropartículas com PLGA melhoram a administração sistêmica, e, portanto, a biodisponibilidade de insulina.<sup>[27]</sup>

- Micropartículas Lipídicas

A incorporação de lípidos na formulação de micropartículas tem ganho popularidade desde que foi descrito que a adição de lípidos extra aumentava a permeabilidade das vias aéreas devido a alterações transitórias na concentração local de lípidos e na organização do surfactante, embora o mecanismo segundo o qual este processo acontece ainda não seja bem conhecido. Este aumento de permeabilidade reflecte-se no aumento na absorção dos fármacos, atribuída à presença de surfactante na superfície alveolar, que, com a adição de fosfolípidos extra, apressa o seu processo de “reciclagem”, levando a um aumento da captação de proteína no sistema circulatório. Também já foi descrito que a presença de lípidos pode reduzir a fagocitose de micropartículas pelos macrófagos alveolares.<sup>[22,23]</sup>

Como referido anteriormente, partículas de aerossóis grandes (diâmetro superior a 5  $\mu\text{m}$ ) e porosas (densidade inferior a 0.4  $\text{g}/\text{cm}^3$ ) com um diâmetro aerodinâmico entre 1-5  $\mu\text{m}$  são adequadas para a deposição na região alveolar. Estes pós podem ser preparados usando combinações de excipientes reconhecidos como seguros e, particularmente, usando excipiente solúveis aprovados para inalação, como a lactose, bem como materiais que são endógenos para os pulmões, como fosfolípidos, por exemplo, o DPPC. É utilizada a técnica de atomização para a produção das partículas, e

os esforços concentram-se em explorar as características físicas do pó seco, o tamanho de partícula, densidade e morfologia.<sup>[22,28]</sup>

Estes pós secos foram avaliados de modo a determinar a sua capacidade de obter níveis plasmáticos adequados de insulina. Após a verificação da integridade da insulina em partículas secas *in vitro*, foi demonstrado que os pós inalados fornecem níveis plasmáticos com um perfil farmacocinético e biodisponibilidade semelhantes aos da insulina administrada por via subcutânea.<sup>[22]</sup>

#### 7.2.2 Micropartículas produzidas por materiais naturais mucoadesivos hidrofílicos

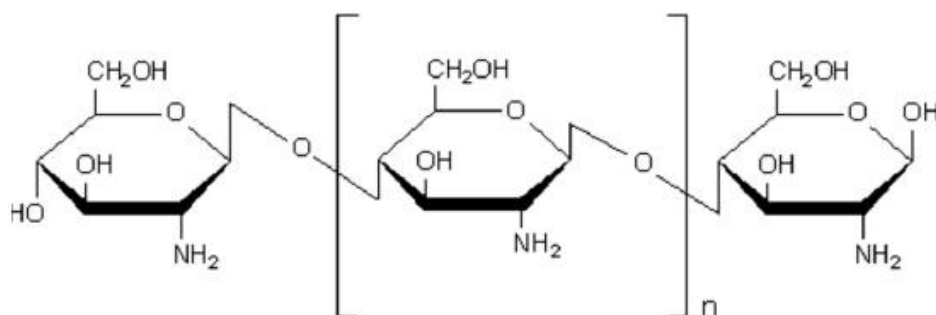
Polímeros mucoadesivos, tais como o quitosano e a hidroxipropilcelulose (HPC) têm o potencial de prolongar o tempo de residência no local de acção, evitando assim a eliminação mucociliar. Além disso, o quitosano também é um potenciador da absorção, pois tem sido demonstrado que este abre as estreitas junções entre as células epiteliais, facilitando a absorção.<sup>[37]</sup>

- Micropartículas à base de celulose

A hidroxipropilcelulose (HPC) é um polímero solúvel em água e mucoadesivo, com uma longa tradição em várias formulações farmacêuticas como excipiente de formulações mucoadesivas e/ou de libertação prolongada. A aplicação de HPC começou por formulações para inalação através da preparação de microsferas por atomização, incorporando fármacos pouco solúveis.<sup>[22,37]</sup>

- Micropartículas à base de polissacáridos

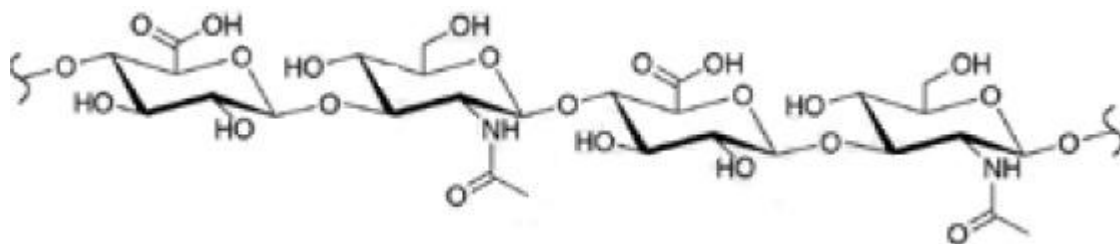
O quitosano (CS) (figura8) é um polissacárido com propriedades biológicas favoráveis, como biocompatibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade e propriedades mucoadesivas (mediadas por uma interacção electroestática entre os grupos amino carregados positivamente do quitosano e a carga negativa do ácido siálico do muco). Com base nestas excelentes propriedades, o quitosano tem sido estudado para a produção de nano e micropartículas como portadoras de proteínas para administração por via pulmonar.<sup>[22,37]</sup>



**Figura 8** – Estrutura química do quitosano <sup>[38]</sup>

Num estudo recente foram produzidas microsferas de quitosano com diferentes características morfológicas e boas propriedades aerodinâmicas (diâmetro aerodinâmico inferior a  $5\mu\text{m}$  e densidade de aproximadamente  $0.23\text{ g/cm}^3$ ) de modo a haver deposição na região alveolar, onde a proteína transportada (insulina) será absorvida. Resultados preliminares *in vivo* demonstraram que as microsferas induzem uma significativa e prolongada redução dos níveis de glicose. A hipótese sugerida foi que, uma vez no local de absorção, o quitosano iria melhorar a absorção pulmonar da insulina através da interação com as células epiteliais. <sup>[38]</sup>

O ácido hialurônico (HA) (figura 9) é um polissacárido linear de origem natural, que se dissolve lentamente em água e forma soluções altamente viscosas. <sup>[22]</sup> O HA é o componente principal da matriz extracelular do tecido conjuntivo dos mamíferos e é um importante elemento estrutural da pele; este está presente em elevadas concentrações no fluido sinovial, no humor vítreo do olho, na cartilagem hialina e no cordão umbilical, desempenhando também um papel importante em várias funções *in vivo*, tal como na lubrificação das articulações, nas propriedades viscoelásticas dos tecidos moles e está envolvido em importantes funções celulares, como na adesão e organização celular. <sup>[39]</sup>



**Figura 9** – Estrutura química do ácido hialurónico <sup>[39]</sup>

Num estudo foram produzidas micropartículas de HA com insulina para inalação (diâmetro aerodinâmico entre 1 e 4  $\mu\text{m}$ ) e, após um estudo farmacocinético em cães, concluiu-se que tanto o tempo de residência no local de acção como o tempo de semi-vida foram superiores quando comparados com a administração de um spray de pó seco de insulina pura. A cinética de absorção foi modificada pela adição de iões de zinco em excesso ou de HPC. A adição de iões de zinco e de HPC também mostrou aumentar o tempo de residência no local de acção em nove vezes quando comparada com a administração de um spray de pó seco de insulina pura.<sup>[40]</sup>

### 7.3. Nanopartículas

Nanopartículas são partículas sólidas com uma dimensão entre 1 e 999 nanómetros e que permitem a incorporação de fármacos, funcionando como veículos para administração pulmonar.<sup>[32]</sup>

O sistema de transporte baseado em nanopartículas e a sua aplicação para a administração de fármacos através da via pulmonar tem sido apresentado como uma alternativa promissora. O seu desenvolvimento ocorreu principalmente porque foi demonstrado que o tamanho de partícula desempenha um papel fundamental na sua capacidade para atravessar o epitélio, papel em que as nanopartículas parecem ter uma acção mais favorável do que as micropartículas.<sup>[22,32]</sup>

Estes transportadores foram propostos como veículos para o transporte de fármacos para o epitélio pulmonar, usando uma ampla gama de materiais, tais como poliésteres, polissacáridos e poliacrilatos. Eles têm demonstrado várias vantagens importantes, como uma melhoria na estabilidade do fármaco, e, em alguns casos, capacidade para controlar a libertação do fármaco. Além disso, um estudo com nanopartículas de látex revelou que, dado o seu pequeno tamanho, elas são capazes de evitar a eliminação mucociliar e a actividade macrófaga. Não há um consenso sobre a faixa de tamanho ideal para evitar ou retardar a fagocitose, no entanto, foi relatado que esta actividade é máxima para partículas na ordem de 1-2  $\mu\text{m}$ , diminuindo tanto para partículas maiores como menores.<sup>[22,32]</sup>

As nanopartículas podem ser formuladas e administradas tanto numa formulação em pó seco, como numa formulação aquosa.<sup>[22]</sup>

### 7.3.1. Nanopartículas produzidas por materiais hidrofóbicos sintéticos

- Nanopartículas derivadas de poliéster

Como referido anteriormente, os derivados biodegradáveis e biocompatíveis do ácido láctico, PLA e PLGA, são excelentes materiais para preparar partículas para o transporte de fármacos por via pulmonar, devido, principalmente, à sua segurança já documentada.<sup>[22,25,41]</sup>

Foram produzidas nanopartículas à base de PLGA com insulina, e, após a sua administração pulmonar em porcos, o nível de glicose no sangue foi reduzido significativamente e a hipoglicémia prolongou-se por um período de 48 horas, resultado bastante superior em comparação com a solução aquosa de insulina nebulizada usada como referência, em que a hipoglicémia apenas se prolongou por um período de 6 horas. Este resultado pode ser devido a uma libertação controlada da insulina a partir das nanosferas com PLGA.<sup>[41,42]</sup>

- Nanopartículas de polímeros acrílicos

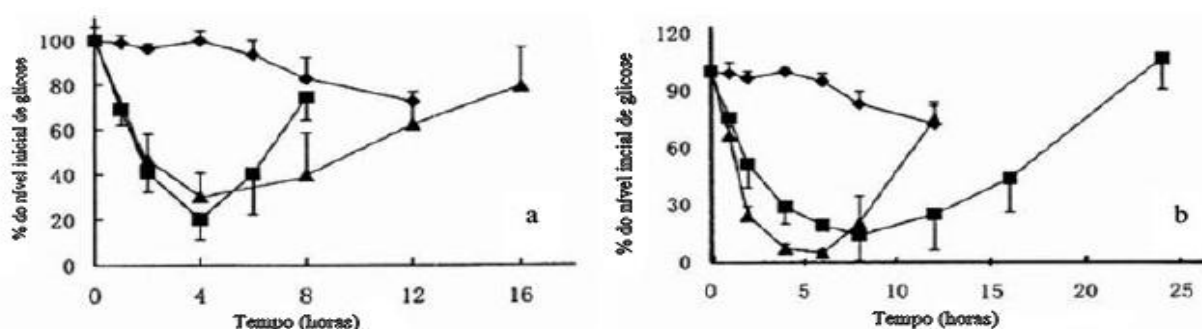
Os derivados do acrilato são considerados como não tóxicos e altamente biocompatíveis, e, actualmente, estão envolvidos na formulação de transportadores de fármacos para diversas vias de administração.<sup>[22,32]</sup>

Foram desenvolvidas nanopartículas biodegradáveis de poli(alquícianoacrilato) (PACA) por uma reacção de polimerização simples, e desde então, essas nanopartículas têm sido objecto de inúmeras pesquisas na área dos polímeros transportadores de fármacos, e muitas aplicações têm surgido, incluindo na entrega de fármacos por via pulmonar.<sup>[22,41]</sup>

Num estudo foram produzidas nanopartículas compostas por polibutilcianoacrilato (PBCA) ou por polihexilcianoacrilato (PHCA). Estas nanopartículas tinham tamanhos entre 110 e 240 nm.<sup>[22]</sup>

Nanopartículas de PBCA carregadas com insulina foram produzidas por polimerização em emulsão, com um tamanho médio de 250 nm. A insulina foi associada com uma eficiência de 80%. Após a administração intratraqueal em ratos normais das

nanopartículas com uma dosagem de insulina de 10 ou 20 UI/kg foi alcançada uma redução dos níveis de glicose sérica comparável à obtida com uma solução com a mesma dosagem de insulina, no entanto, com a administração da insulina em nanopartículas verificou-se um efeito hipoglicemiante mais prolongado. Com a dose de 10 UI/kg de insulina, a formulação de nanopartículas à base de PBCA atingiu 30% do nível inicial de glicose em quatro horas, enquanto que a solução atingiu 20% do nível inicial de glicose no mesmo intervalo de tempo. No entanto, com a solução 80% do nível inicial de glicose foi atingido depois de oito horas e com a formulação de nanopartículas o mesmo nível foi alcançado ao fim de 16 horas. Com a dose de 20 UI/kg de insulina, a formulação de nanopartículas atingiu 14% do nível inicial de glicose em menos de oito horas e a solução de insulina respectiva atingiu 4% do nível inicial de glicose em seis horas. Mas, mais uma vez, a recuperação dos níveis iniciais de glicose foi mais rápido quando administrada a solução (80% do nível inicial de glicose foi atingido em menos de 12 horas para a solução e em menos de 20 horas para as nanopartículas) (figura 10). Este estudo regista a possibilidade de utilização de nanopartículas, que podem alcançar efeitos semelhantes, se não melhores, na redução dos níveis de glicose no sangue aos da administração da solução com a mesma quantidade de insulina. A administração de nanopartículas leva a um efeito mais prolongado, indicando assim uma libertação controlada de insulina a partir das nanopartículas.<sup>[22, 32,41]</sup>

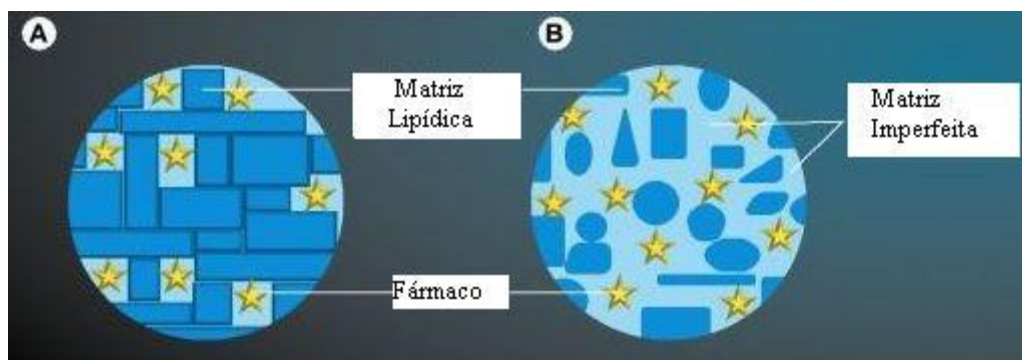


**Figura 10** – Efeito hipoglicemiante após administração intratraqueal de: a) (▲) nanopartículas com dosagem de 10 UI/Kg de insulina, (■) solução com dosagem de 10 UI/Kg de insulina; b) (■) nanopartículas com dosagem de 20 UI/Kg de insulina, (▲) solução com dosagem de 20 UI/Kg de insulina; (◆) solução tampão de fosfato como controlo <sup>[22]</sup>

- Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas geralmente compreendem dois tipos de estrutura, as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC) (figura 11). Consistem numa matriz lipídica sólida dispersa numa solução aquosa e estabilizada com uma camada de agente emulsificante, geralmente composto por fosfolípidos. Estas nanopartículas surgiram como uma alternativa aos lipossomas e às emulsões farmacêuticas, porque são mais estáveis em fluidos biológicos. Também são menos tóxicas do que as partículas inorgânicas e do que os polímeros devido à sua biocompatibilidade e biodegradabilidade. Ao contrário das nanopartículas lipídicas sólidas, os transportadores lipídicos nanoestruturados são compostos não apenas por lípidos sólidos, mas também por uma mistura de lípidos sólidos e líquidos, resultando numa matriz sólida menos rígida e ordenada. Esta diferença vai permitir que os transportadores lipídicos nanoestruturados tenham uma maior capacidade de carga de fármacos e uma maior estabilidade durante o armazenamento.<sup>[14,26]</sup>

Num estudo foram desenvolvidas nanopartículas lipídicas sólidas com insulina, com propriedades de deposição optimizadas para a administração pulmonar. Os resultados dos testes de estabilidade realizados em SLN com insulina, incluindo a medição do tamanho, a morfologia das partículas, bem como a concentração de insulina antes e após a nebulização, demonstram boa tolerância ao processo de nebulização. Não foi encontrada citotoxicidade significativa, o que sugeriu segurança das SLN para administração pulmonar. Os níveis de glicose em jejum podem ser efectivamente reduzidos após a administração pulmonar de insulina com as nanopartículas lipídicas sólidas como veículos. Os nanotransportadores foram distribuídos de forma homogénea nos alvéolos pulmonares e foi observada uma libertação controlada de insulina. Foi obtida uma biodisponibilidade farmacológica de 24.33% após a inalação de SLN com insulina, sendo quatro vezes superior em relação à obtida para a injeção subcutânea, que foi usada como referência. Estes resultados indicam que as SLN podem ser aplicadas com sucesso como portadores pulmonares de insulina, o que pode fornecer valiosas soluções para as necessidades actuais de entrega sistémica de insulina.<sup>[43]</sup>



**Figura 11** – Nanopartículas Lipídicas: (A) Nanopartícula lipídica sólida; (B) Transportador lipídico nanoestruturado <sup>[26]</sup>

### 7.3.2. Nanopartículas produzidas por materiais hidrofílicos naturais

- Nanopartículas baseadas em proteínas

Proteínas, como a gelatina e a albumina, são polímeros hidrofílicos naturais, com vantagens evidentes para manipulação (evita-se o uso de solventes orgânicos) e do ponto de vista do transporte de fármacos. As principais desvantagens destes materiais são a sua fácil degradação e o seu potencial de antigenicidade, quando administradas por via parenteral. No entanto, ainda existe pouca informação sobre a sua antigenicidade por via pulmonar.<sup>[22,37]</sup>

A incorporação de albumina em formulações para inalação a partir de inaladores de pó seco é efectuada com a finalidade de prolongar a libertação de partículas nos alvéolos e, assim, aumentar a absorção da substância activa.<sup>[37]</sup>

- Nanopartículas de polissacáridos

Entre os nanotransportadores poliméricos terapêuticamente utilizados, aqueles que contêm polissacáridos naturais, incluindo o quitosano, o alginato ou o ácido hialurónico, desfrutam de uma grande popularidade na produção de sistemas de administração de fármacos porque eles são naturais, biocompatíveis, biodegradáveis, sem toxicidade e são compostos hidrofílicos, possuem um baixo custo de produção e existem na natureza.<sup>[14,26]</sup>

Um estudo realizado demonstrou que as nanopartículas de quitosano têm uma boa capacidade de incorporação da insulina, libertando 75-80% da insulina em aproximadamente 15 minutos.<sup>[38]</sup>

#### 7.4. Combinação de Nano e Micropartículas

Nos últimos anos, temos vindo a assistir ao aparecimento de sistemas inovadores na entrega de fármacos, que são, na verdade, a combinação de alguns outros sistemas. Na década de 90 foi relatado pela primeira vez o encapsulamento de nanosferas dentro de microsferas, numa tentativa de melhorar a eficácia da inalação de nanosferas.<sup>[22]</sup>

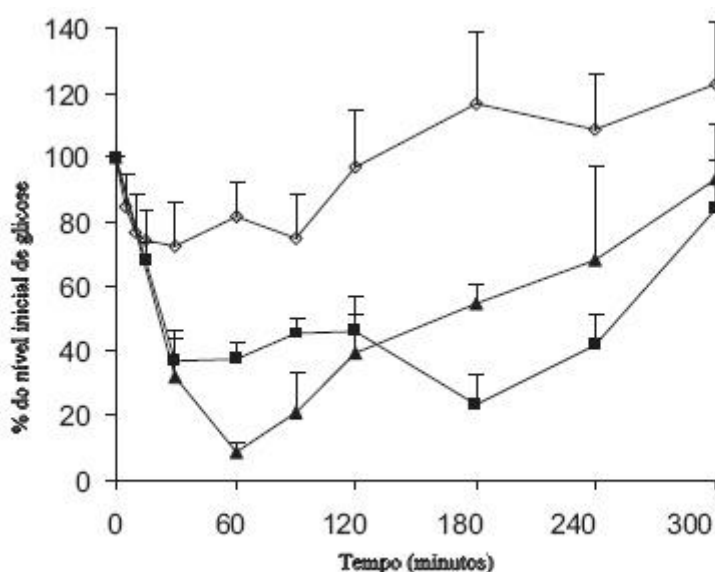
Foram desenvolvidos vários sistemas combinados para a administração de fármacos por via pulmonar, estes encontram-se descritos no quadro abaixo, tal como os principais resultados:

**Quadro 1** – Descrição de sistemas combinados de nanopartículas microencapsuladas adequados para administração pulmonar <sup>[22]</sup>

Composição da Nanopartícula	Composição da Microsfera	Principais Conclusões
Poliestireno	DPPC, DMPE, lactose	Diâmetro aerodinâmico entre 3 e 5 $\mu\text{m}$
Gelatina Cianoacrilato	Lactose	40% das partículas encontravam-se na fracção respirável e tinham um diâmetro aerodinâmico de 3 $\mu\text{m}$ .
Sulfato de terbutalina	Óleo de Palma Hidrogenado	47% das partículas encontravam-se na fracção respirável e tinham um diâmetro aerodinâmico de 3.9 $\mu\text{m}$ . Foi alcançada libertação controlada do fármaco.
CS-TPP	Manitol	Partículas com um diâmetro aerodinâmico entre 2-3 $\mu\text{m}$ . A secagem por atomização (método utilizado na preparação das microsferas) não teve qualquer efeito na libertação da insulina das nanopartículas.

DPPC: Dipalmitoilfosfatidilcolina; DMPE: Dimiristoilfosfatidiletanolamina; CS: Quitosano; TPP: Tripolifosfato.

Foram realizados estudo *in vivo* com microsferas carregadas com insulina (relação manitol/nanopartículas =80/20). A eficácia do sistema foi avaliada através da medição das respostas hipoglicemiantes após a administração intratraqueal de microsferas a ratos. A diminuição dos níveis de glicose causada pelas microsferas foi comparada à de uma solução de insulina controlo e, embora a solução de insulina controlo tivesse uma dose um pouco maior de insulina, a administração de microsferas resultou num efeito hipoglicemiante mais forte durante as primeiras duas horas e o nível de glicose diminuiu numa maior extensão do que com a insulina controlo (figura 12). O transportador de pó seco que incorpora nanopartículas dentro de micropartículas tem a vantagem, quando comparado com soluções líquidas, de ter uma maior estabilidade e facilidade de administração. Além disso, supera os problemas de armazenamento e administração pulmonar de nanopartículas, e, portanto, constitui um transportador promissor para a entrega pulmonar de insulina.<sup>[22,44]</sup>



**Figura 12** – Efeito hipoglicemiante após a administração intratraqueal de (◇) solução de controlo, (■) solução de controlo de insulina (17.9 U/Kg) e (▲) microsferas manitol/nanopartículas com insulina (16.7 U/Kg)<sup>[22]</sup>

## 8. Tipos de Dispositivos

De modo a obter-se uma gestão otimizada da maioria das doenças, incluindo a diabetes, é necessária a administração da dose exacta do composto terapêutico. A administração do fármaco por via pulmonar impõe requisitos rigorosos do dispositivo de entrega, dado que o tamanho das partículas influencia o local de entrega, e, conseqüentemente, o grau de absorção do fármaco nos pulmões.<sup>[25]</sup>

Os dispositivos utilizados para fornecer aerossóis como agentes terapêuticos podem ser de três tipos: nebulizadores, inaladores pressurizados com válvula doseadora (MDI's) e inaladores de pó seco (DPI's).<sup>[27,36]</sup>

Os nebulizadores podem ser de dois tipos, nebulizadores a jacto ou nebulizadores ultrasónicos. Neste tipo de dispositivo o fármaco é inalado ao ritmo da inspiração, não havendo necessidade de coordenação, assim, é geralmente utilizado para entrega de fármacos a crianças, idosos e doentes graves.<sup>[36]</sup> O uso de nebulizadores para a administração de fármacos tem muitas limitações importantes, isto porque os fármacos são por vezes muito instáveis em soluções aquosas e são facilmente hidrolisados. Além disso, o processo de nebulização exerce alta tensão de cisalhamento sobre os compostos, o que pode levar à desnaturação das proteínas. Outra desvantagem deve-se ao facto de as gotículas produzidas pelos nebulizadores serem bastante heterogéneas, o que resulta numa baixa entrega de fármaco para o trato respiratório inferior.<sup>[25,45]</sup> Os nebulizadores permanecem atraentes devido à independência entre a geração do aerossol e a manobra de inalação, sendo de fácil utilização.<sup>[27,36,46]</sup>

Os inaladores pressurizados com válvula doseadora são dos dispositivos mais utilizados de entrega de fármaco em aerossol devido às suas inúmeras vantagens, como facilidade de transporte, baixo custo, o facto de poder conter muitas doses, a dose ser libertada de uma forma reprodutível e oferecer protecção do fármaco de oxidação e contaminação. No entanto, o seu uso é limitado ao tratamento de doenças das vias aéreas superiores devido à baixa deposição das partículas de fármaco nos pulmões e aos desafios da formulação de fármacos proteicos.<sup>[36]</sup> Os MDI's requerem a utilização de propulsores (clorofluorocarbonos (CFC) e, cada vez mais, hidrofluorocarbonos (HFA)) para atomizar a solução de fármacos, o que resulta numa pulverização mais uniforme do que a

alcançada pelos nebulizadores. No entanto, as proteínas e péptidos são susceptíveis a desnaturação quando entram em contacto com os propulsores ou com a grande interface ar-líquido que está constantemente a ser gerada durante a formação do aerossol.<sup>[17,25,27,45,46]</sup>

Uma alternativa promissora para os MDI's e para os nebulizadores são os inaladores de pó seco (DPI's). Os inaladores de pó seco foram desenhados para a inalação de pequenas partículas de pó, estes não necessitam da utilização de um propulsor e são activados pela inspiração. Dentro dos inaladores de pó seco temos os que têm sistema unidose e os que têm sistema multidose. Os sistemas unidose têm a dose de fármaco contida numa cápsula dura de gelatina, alguns exemplos são os dispositivos Spinhaler<sup>®</sup> e Rotahaler<sup>®</sup>, enquanto que nos sistemas multidose o fármaco se encontra num blister, em que o carregamento é realizado pelo paciente, e então a dose unitária do fármaco é pré-carregada no inalador, tendo como exemplos os dispositivos Turbohaler<sup>®</sup> e Diskhaler<sup>®</sup>.<sup>[25,27,45,46]</sup>

## 9. Comercialização da Insulina Inalada

Logo após a descoberta da insulina em 1920, os primeiros estudos usando insulina inalada foram realizados. Em 1971, foi relatado pela primeira vez que a inalação de insulina resultou num aumento da insulina plasmática e consequente redução dos níveis de glicose no sangue, em indivíduos diabéticos saudáveis.<sup>[3]</sup> Em 1987, foi demonstrado que insulina humana nebulizada levava a um controlo de açúcar no sangue comparável à insulina subcutânea em seis crianças com diabetes tipo 1. Contudo, foi reconhecido que a biodisponibilidade da insulina inalada era significativamente mais baixa que a da insulina subcutânea.<sup>[2]</sup>

Uma melhor compreensão da dinâmica e das propriedades das partículas de aerossol criou bases que têm permitido o desenvolvimento da insulina inalada.<sup>[3]</sup>

Dispositivos capazes de fornecer partículas de insulina para o espaço alveolar têm sido desenvolvidos e estudados numa variedade de protocolos clínicos.<sup>[2]</sup>

Um dispositivo ideal não deve apenas fornecer insulina de forma a alcançar um controlo glicémico ideal, mas também deve ser conveniente para os doentes, sendo portátil e fácil de usar.<sup>[2]</sup>

Ao longo dos últimos 20 anos, várias empresas trabalharam a fim de desenvolver sistemas de insulina inalada para uso do doente. Os sistemas diferem na formulação da insulina inalada, como insulina líquida ou pó liofilizado, e no próprio dispositivo, no que diz respeito ao tamanho e mecanismo de libertação da insulina. A biodisponibilidade da insulina inalada varia para cada um dos dispositivos, sendo que grande parte do fármaco é perdido dentro do dispositivo, na orofaringe ou nas vias aéreas superiores.<sup>[2]</sup>

- Exubera<sup>®</sup>

A Exubera<sup>®</sup> foi desenvolvida através da colaboração entre a *Nektar Therapeutics* e a *Pfizer*, em 2006, e foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela *European Medicines Agency* (EMA) para o tratamento da diabetes tipo 1 e da diabetes tipo 2. Contudo, em Outubro de 2007, a *Pfizer* anunciou a suspensão da

comercialização da Exubera<sup>®</sup> devido a uma fraca adesão por parte dos doentes e da comunidade médica.<sup>[2]</sup>

Exubera<sup>®</sup> é um sistema para administração de insulina inalada que tem sido usado para administração de insulina prandial em doentes com diabetes tipo 1 ou tipo 2. O sistema Exubera<sup>®</sup> tem três componentes principais: a formulação em pó seco da insulina humana acondicionada em blisters com estabilidade a longo prazo, o dispositivo inalador de insulina com uma câmara que facilita a administração de uma quantidade apropriada de insulina, e uma unidade que permite a libertação do pó de insulina a partir dos blisters para dentro da câmara do dispositivo.<sup>[47]</sup>

Cada activação do dispositivo produz minúsculas partículas de insulina humana em pó seco com rápida acção. A formulação de insulina é embalada em blisters, cada um contendo 1 ou 3 mg de insulina, em que 1 mg de insulina corresponde a três unidades de insulina subcutânea. Os doentes podem ser obrigados a utilizar múltiplas embalagens para obterem a dose desejada, e devem ser combinados os blisters de 1mg e de 3mg para que o menor número de embalagens por toma sejam utilizadas, por exemplo, para uma dose de 4 mg deve ser usado um blister de 1mg e um blister de 3 mg.<sup>[47]</sup>

- AERx<sup>®</sup>iDMS

A AERx<sup>®</sup>iDMS foi desenvolvida pela *Aradigm Corporation* em conjunto com a *Novo Nordisk*. Este sistema cria um aerossol de gotículas de insulina a partir de uma preparação de insulina líquida. O dispositivo possui um controlo electrónico que permite uma dose reprodutível em cada inalação efectuada. Além disso, o dispositivo oferece a possibilidade de ajustar a dosagem, frequência de utilização e os padrões de inalação de modo a ajudar o médico e o doente a atingirem os objectivos terapêuticos. Apesar do sistema AERx<sup>®</sup> estar na fase 3 de ensaios clínicos, a *Novo Nordisk* foi aconselhada a interromper um estudo mais aprofundado dada a experiência da *Pfizer* com o sistema Exubera<sup>®</sup>.<sup>[2]</sup>

- AIR<sup>®</sup>

O sistema de insulina AIR<sup>®</sup> (*Alkermes, Cambridge, MA*) é baseado na entrega pulmonar de um aerossol de insulina em pó seco composto por partículas grandes e porosas.<sup>[48]</sup>

As partículas são relativamente grandes (10-20  $\mu\text{m}$ ) mas o seu diâmetro aerodinâmico está entre 1-3  $\mu\text{m}$ , estas têm tendência para reduzir a agregação, facilitando assim a sua dispersão.<sup>[2,4]</sup>

A aglomeração relativamente baixa e a alta dispersabilidade permitem uma eficiente entrega da dose de fármaco aos pulmões, com uma única e simples inalação. Uma vez depositadas nos pulmões as partículas oferecem uma absorção rápida e confiável da proteína terapêutica para a circulação sistémica.<sup>[49]</sup>

- Technosphere<sup>®</sup>

A insulina Technosphere<sup>®</sup> é uma insulina inalável para o tratamento da diabetes. A insulina Technosphere<sup>®</sup> fornece insulina com um perfil farmacocinético ultra rápido que é distinto de todos os outros produtos mas semelhante à libertação da insulina endógena e que é adequado para responder às necessidades prandiais de insulina, tanto em doentes com diabetes tipo 1, como em doentes com diabetes tipo 2.<sup>[35,50,51]</sup>

A insulina Technosphere<sup>®</sup> tem demonstrado eficácia em termos de controlo glicémico global e pós-prandial, com eficácia e segurança comprovada. O perfil de tolerabilidade global da insulina Tehnosphere<sup>®</sup> em ensaios clínicos demonstrou um risco relativamente baixo de hipoglicémia e de ganho de peso quando comparada com outras insulinas pós-prandiais de administração subcutânea. A insulina inalada Technosphere<sup>®</sup> pode ser uma opção de tratamento para doentes resistentes e com medo de iniciar as injeções prandiais de insulina.<sup>[50,51]</sup>

## 10. Técnica Inalatória

A cooperação dos doentes e uma adequada técnica de ventilação são importantes para garantir uma entrega reprodutível do fármaco no pulmão.<sup>[2]</sup>

Para uma melhor inalação do aerossol a inspiração deve ser lenta e profunda, de modo a haver uma melhor penetração das partículas no espaço alveolar. A realização de uma apneia de 2 a 6 segundos no final da inspiração pode melhorar a eficiência do processo. No entanto, uma inspiração rápida e superficial tem um efeito adverso sobre a deposição alveolar, e leva à perda de partículas nas vias aéreas superiores. Devido à perda considerável de insulina nas vias aéreas superiores e à parcial absorção alvéolo-capilar, a biodisponibilidade da insulina inalada é aproximadamente de 8 a 12%, valor muito inferior à biodisponibilidade da insulina subcutânea.<sup>[3]</sup>

A capacidade de respiração desempenha um papel importante na eficácia da terapêutica com insulina inalada.<sup>[2]</sup> As características da respiração têm uma enorme influência na absorção pulmonar e todos os parâmetros que influenciam a respiração têm que ser estudados de modo a avaliar a sua interferência sobre a absorção da insulina (tabagismo, asma, doenças pulmonares, exercício físico e a capacidade de respiração do doente através dos dispositivos inalatórios).<sup>[4]</sup>

Uma questão relevante decorre do facto de que uma grande proporção de doentes (mais de 50%) usa o dispositivo de um modo inadequado, levando a uma não reprodutibilidade em cada administração. Assim, é necessária uma educação intensiva dos doentes pelos profissionais de saúde, de modo a haver um aumento da eficácia do tratamento.<sup>[26]</sup>

## 11. Aceitação e Satisfação por Parte dos Doentes

A aceitação, satisfação com o tratamento e qualidade de vida dos doentes, foram parâmetros avaliados em diversos estudos, incluindo em estudos de eficácia do sistema Exubera<sup>®</sup> [52].

Alguns dos obstáculos referidos para o controlo da glicémia em doentes com diabetes incluem relutância em iniciar a terapêutica com insulina e a adesão dos pacientes, devido à dor e medo da injeção, e também à inconveniência e estigma social associado às injeções. [49]

Doentes que realizaram a terapêutica com insulina inalada indicaram uma qualidade de vida superior, uma maior facilidade de uso e uma maior satisfação com o tratamento quando comparada com a terapêutica com insulina injectável. Num estudo realizado foi demonstrado que os doentes tinham três vezes mais probabilidade de aceitar o tratamento com insulina quando estava disponível a escolha da insulina inalada. [52]

Foi aplicado um inquérito a doentes com diabetes tipo 1 e tipo 2 que já tinham utilizado a injeção subcutânea de insulina para o controlo da doença, e 80% destes declararam preferir a insulina inalada em vez da injeção subcutânea de insulina para administração pós-prandial. [49]

## 12. Conclusão

A administração pulmonar de insulina pode reduzir o número de injeções de insulina diárias necessárias, o que deverá levar a uma melhor aceitação e satisfação por parte dos pacientes, a um melhor cumprimento da terapêutica e, conseqüentemente, a melhores resultados no controlo dos níveis séricos de glicose a longo prazo.

O desenvolvimento de uma terapia inalatória eficaz e segura vai depender tanto de um dispositivo de administração como de um transportador do fármaco adequado. Assim, no decorrer deste trabalho denotámos que o desenvolvimento de transportadores de fármacos pode ser uma forma alternativa para superar os problemas das formulações convencionais, dado que estes são utilizados para a incorporação de fármacos permitindo a sua protecção contra a degradação, com a finalidade de atingirem os órgãos e tecidos desejados e reduzirem os efeitos secundários, desempenhando também um papel fundamental no melhoramento da deposição pulmonar e na quantidade de fármaco que chega ao local de acção.

O investimento no desenvolvimento de transportadores de fármacos para administração pulmonar resultou no surgimento de estruturas como lipossomas e sistemas nano e microparticulados especificamente direccionados para a entrega de fármacos a nível pulmonar.

Um transportador ideal deve ser formulado com materiais que confirmam estabilidade ao fármaco, aumentem o transporte transepitelial, permitam a obtenção de formulações de libertação modificada, que penetrem profundamente nos tecidos, escapem ao sistema imune e, assim, aumentem o tempo de semi-vida.

### 13. Bibliografia

- [1] B. G. Katzung, Farmacologia Básica e Clínica 2007; 10ª edição; 617 – 619.
- [2] L. D. Mastrandrea, Inhaled insulin: overview of a novel route of insulin administration, Vascular Health and Risk Management 2010; 6; 47–58.
- [3] B. E. de Galan, Can inhaled insulin be used for the treatment of diabetes mellitus?, Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research 2008; 8(1); 33-42.
- [4] V. Lassmann-Vague, D. Raccah, Alternatives routes of insulin delivery, Diabetes Metab 2006; 513-522.
- [5] L. Heinemann, New ways of insulin delivery, The International Journal of Clinical Practice 2010; 64(166); 29-40.
- [6] T. K. Mandal, Inhaled Insulin for Diabetes Mellitus, American Journal of Health-System Pharmacy 2005; 62(13); 1359-1364.
- [7] A. S. Fauci, Harrison Medicina Interna 2008, 17ª edição; II; 2275-2276.
- [8] Goldman L., Ausiello D., Cecil Medicine, Saunders Elsevier 2008, 23ª edição; 1727-1760.
- [9] S. Alão, Insulinoterapia na diabetes tipo 2: quando iniciar?, Patient Care 2008; Setembro; 1-15.
- [10] P. L. Ferreira, Qualidade de Vida e Diabetes, Sociedade Portuguesa de Diabetologia 2010; Boletim nº 4.
- [11] S. Wild, G. Roglic, A. Green, R. Sicree, H. King, Global Prevalence of Diabetes, Diabetes Care 2004; 27 (5); 1047-1053.
- [12] World Health Organization, Diabetes Programme, Diabetes Action Now booklet, *Prevalence of Diabete*.  
<http://www.who.int/diabetes/actionnow/en/DANbooklet.pdf>; consultado a 09/09/2011
- [13] R. S. Seeley, T. D. Stephens, P. Tate, Anatomy & Physiology, McGraw-Hill Higher Education 2003; 6(1); 905-907.
- [14] H. M. Mansour, Y. Rhee, X. Wu, Nanomedicine in pulmonary delivery, Internacional Journal of Nanomedicine 2009; 4; 299-319.
- [15] M. M. Al-Tabakha, A. I. Arida, Recent Challenges in Insulin Delivery Systems: A Review, Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 2008; 278-286.

- [16] INFARMED, Prontuário Terapêutico, Março de 2009; 8ª edição; 323-325.
- [17] R. Siekmeier, G. Scheuch, Systemic treatment by inhalation of macromolecules – principles, problems, and examples, *Journal of Physiology and Pharmacology* 2008; 59(6); 53-79.
- [18] A. Gupta, K. K. Jha, R. Arora, *Insulin Drug Delivery: Strategies and Technologies*, The Pharma Research 2010; 4; 154-168.
- [19] N. Yadav, G. Morris, S. E. Harding, S. Ang, G. G. Adams, Various Non-Injectable Delivery Systems for the Treatment of Diabetes Mellitus, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders – Drug Target* 2009; 9(1); 1-13.
- [20] K. Wadher, R. Kalsait, M. Umekar, Pulmonary Insulin Delivery: Challenges and Current Status, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2011; 3(2); 1052-1059.
- [21] M. Sakagami, P. R. Byron, Respirable Microspheres for inhalation, *Clin Pharmacokinet* 2005; 44(3);263-277.
- [22] A. Grenha, D. Carrión-Recio, D. Teijeiro-Osorio, B. Seijo, C. Remuñán-Lopez, Nano- and Microparticulate Carriers for Pulmonary Drug Delivery, *Handbook of Particulate Drug Delivery* 2008; 1-28.
- [23] S. Cryan, Carrier-based strategies for targeting protein and peptide drugs to the lungs, *The AAPS Journal* 2005; 7(1); E20-E41.
- [24] P. Rogueda, D. Traini, The nanoscale in pulmonary delivery. Parte 1: deposition, fate, toxicology and effects, *Expert Opinion Drug Delivery* 2007; 4(6); 595-606.
- [25] R. U. Agu, M. I. Ugwoke, M. Armand, R. Kinget, N. Verbeke, The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides, *Respir Res* 2001; 2; 198-209.
- [26] F. Andrade, M. Videira, D. Ferreira, B. Sarmiento, Nanocarriers for Pulmonary Administration of Peptides and Therapeutic Proteins, *Nanomedicine* 2011; 6(1); 123-141.
- [27] S. Cryan, Carrier-based Strategies for Targeting Protein and Peptide Drugs to the Lungs, *The AAPS Journal* 2005; 7(1); E20-E41.
- [28] D. Shah, V. Agrawal, R. Parikh, Noninvasive insulin delivery system: a review, *International Journal of Applied Pharmaceutics* 2010; 2(1); 35-40.
- [29] R. Siekmeier, G. Scheuch, Inhaled Insulin – Does it become reality?, *Journal of Physiology and Pharmacology* 2008; 59(6); 81-113.

- [30] Y. Huang, C. Wang, Pulmonary delivery of insulin by liposomal carriers, *Journal of controlled release* 2006; 9-14.
- [31] S. Chono, R. Fukuchi, T. Seki, K. Morimoto, Aerosolized liposomes with dipalmitoyl phosphatidylcoline enhance pulmonary insulin delivery, *Journal of Controlled Release* 2009; 104-109.
- [32] M. N. V. R. Kumar, Nano and Microparticles as Controlled Drug Delivery Devices, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 2000; 3(2); 234-258.
- [33] J. J. Neumiller, R. K. Campbell, Technosphere® Insulin, *Biodrugs* 2010; 24(3); 165-172.
- [34] K. Rave, E. Potocka, A. H. Boss, M. Marino, D. Costello, R. Chen, Pharmacokinetics and linear exposure of AFRESA™ compared with the subcutaneous injection of regular human insulin, *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2009; 11; 715-720.
- [35] R. Angelo, K. Roussea, M. Grant, A. Leone-Bay, P. Richardson, Technosphere® Insulin: Defining the role of technosphere particles at the cellular level 2009; 3(3); 545-554.
- [36] D. I. Daniher, J. Zhu, Dry powder platform for pulmonary drug delivery, *Particuology* 2008; 6; 225-238.
- [37] R. Salama, D. Traini, H. Chan, P. M. Young, Recent Advances in Controlled Release Pulmonary Therapy, *Current Drug Delivery* 2009; 6; 404-414.
- [38] A. Grenha, S. Al-Qadi, B. Seijo, C. Remuñán-López, The potencial of chitosan for pulmonary drug delivery, *J. Drug Del. Sci. Tech.* 2010; 20(1); 33-43.
- [39] S. Santoro, L. Russo, V. Argenzio, A. Borzacchiello, Rheological properties of cross-linked hyaluronic acid dermal fillers, *J Appl Biomater Biomech* 2011; 9(2); 127-136.
- [40] K. Surendrakumar, G. P. Martyn, E. C. M. Hodgers, M. Jansen, J. A. Blair, Sustained release of insulin from sodium hyaluronate based dry powder formulations after pulmonary delivery to beagle dogs, *Journal of Controlled Release* 2003; 91(3); 385-394.
- [41] J. C. Sung, B. L. Pulliam, D. A. Edwards, Nanoparticles for drug delivery to the lungs, *Trend in Biotechnology* 2007; 25(12); 563-570.

- [42] Kawashima Y., Yamamoto H., Takeuchi H., Fujioka S., Hino T., *J Control Release* 1999; 62(1-2); 279-287.
- [43] J. Liu, T. Gong, H. Fu, C. Wang, X. Wang, Q. Chen, Q. Zhang, Q. He, Z. Zhang, Solid lipid nanoparticles for pulmonary delivery of insulin, *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 356; 333-344.
- [44] A. Grenha, S.Al-Qadi, B. Seijo, C. Remuñán-López, The potencial of chitosan for pulmonary drug delivery, *J. Drug Del. Sci. Tech.* 2010; 20(1); 33-43.
- [45] G.Scheuch, R. Siekmeier, Novel approaches to enhance pulmonary delivery of proteins and peptides, *Journal of Physiology and Pharmacology* 2007; 58(5); 615-625.
- [46] P. Rogueda, D. Traini, The nanoscale in pulmonary delivery. Part 2: formulation platforms, *ExpertOpinion Drug Delivery* 2007; 4(6); 607-620.
- [47] P. A. Hollander, Evolution of a Pulmonary Insulin Delivery system (Exubera) for Patients With Diabetes, *Medscape General Medicine* 2007; 9(1).
- [48] M. Wolzt, A. Peña, P. Berclaz, F. S. Tibaldi, J. R. Gates, D. B. Muchmore, AIR® Inhaled insulin versus subcutaneous insulin, *Diabetes Care* 2008; 31; 735-740.
- [49] B. L. Silverman, C. J. Barnes, B. N. Campaigne, D.B. Muchmore, Inhaled insulin for controlling blood glucose in patients with diabetes, *Vascular Health and Risk Management* 2007; 3(6); 947-958.
- [50] J. J. Neumiller, R. K. Campbell, L. D. Wood, A Review of Inhaled Technosphere Insulin, *Annals of Pharmacotherapy* 2010; 44(7); 1231-1239.
- [51] O. J. Phung, Technosphere insulin: An inhaled mealtime insulin for the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus, *Formulary Journal* 2011; 46; 14-17.
- [52] S. Bellary, A.H. Barnett, Inhaled Insulin: Overcoming Barriers to Insulin Therapy? 2006; 6(3); 103-108.