

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CARLOS RAMON SOUZA CARNEIRO

CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO PROTETOR E DE ENCAPSULAMENTO DE
SISTEMAS MICROTECNOLÓGICOS DE INSULINA ORAL BASEADOS EM
EUDRAGIT®

PONTA GROSSA

2026

CARLOS RAMON SOUZA CARNEIRO

**CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO PROTETOR E DE ENCAPSULAMENTO DE
SISTEMAS MICROTECNOLÓGICOS DE INSULINA ORAL BASEADOS EM
EUDRAGIT®**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas na área de Fisiopatologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Marino Favero
Coorientadora: Prof. Dra. Adriana Yuriko Koga

PONTA GROSSA

2026

C289 Carneiro, Carlos Ramon Souza
Caracterização do efeito protetor e de encapsulamento de sistemas microtecnológicos de insulina oral baseados em Eudragit® / Carlos Ramon Souza Carneiro. Ponta Grossa, 2026.
72 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Marino Favero.
Coorientadora: Profa. Dra. Adriana Yuriko Koga.

1. Sistemas de liberação de fármacos. 2. Polímeros farmacêuticos (Eudragit®). 3. Insulina - Administração oral. 4. Nanotecnologia farmacêutica. 5. Diabetes mellitus - Tratamento. I. Favero, Giovani Marino. II. Koga, Adriana Yuriko. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. IV.T.

CDD: 615.19

CARLOS RAMON SOUZA CARNEIRO

**CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO PROTETOR E DE
ENCAPSULAMENTO DE SISTEMAS MICROTECNOLÓGICOS DE
INSULINA ORAL BASEADOS EM EUDRAGIT®**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre(a) no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível Mestrado e Doutorado, Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do Centro-Oeste (UNICENTRO).

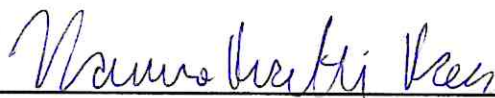
Ponta Grossa, 17 de março de 2026.



Prof. Dr. Giovani Marino Favero – UEPG – Presidente



Prof. Dr. Felipe de Lara Janz – UEPG – Membro titular interno



Prof. Dr. Mauro Ricetti Paes – UNICESUMAR – Membro titular externo

Dedico este trabalho a todos os Meus Ancestrais que caminham comigo, sejam Eles (as) encarnados ou desencarnados. Principalmente ao meu pai Carlos César Carneiro, a minha filha Gabriela Carneiro, a minha esposa Aline Coelho de Andrade Souza, e ao meu sogro Ubiratan de Souza (In Memorian), pois sem seus conselhos este trabalho não seria realizado.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer o Grande Espírito, Zambi, por ser o arquiteto do Universo, colocando a possibilidade de poder aprender cada vez mais nessa encarnação. A Xangô e Oxum, que são Os Sagrados Pai e Mãe Orixás que me guiam nesta vida terrena. Xangô, Pai, que traz equilíbrio, discernimento, resiliência e paciência para que possa ter força para caminhar com mais tranquilidade, fazendo com que realize os trabalhos da vida com firmeza, dedicação e força. A minha Mãe Oxum que magnetiza, fertiliza e fecunda todas as sementes que planto em minha caminhada terrena, trazendo amor real e verdadeiro. Agradeço ao Orixá Exu e Orixá Pombogira, que são Os Senhores e Senhoras da comunicação, desejo, fertilidade e fecundidade, que abriram portas para que pudesse voltar a angariar conhecimentos em âmbito profissional e pessoal.

Não tem como não citar O Caboclo Ubiratã, que é o Mestre de todo o conhecimento que posso adquirir nesta jornada. O Caboclo que me guia através da floresta do conhecimento, transformando toda informação em um saber sólido e contundente. Ao Exu e Mestre João Caveira, que é o Senhor das encruzilhadas da minha vida. Ele, que retira as vendas da ignorância e me transforma a cada dia em uma ferramenta Divina para caminhar com mais leveza e suavidade em cada trilha. Sou muito grato a cada Mestre e Mestra que me acompanha e guia, semeando a vitalidade nas trilhas que passo, para que possa me tornar um instrumento da sabedoria em cada passo.

Esse título de mestre acadêmico não aconteceria se meu sogro Ubiratan de Souza, antes de fazer a sua passagem para o mundo espiritual não me inspirasse a continuar meus estudos. Não tem como não o citar pela sua força de vontade de auxiliar a me manter no caminho do conhecimento. Esse título é praticamente em seu nome. Obrigado e que meu abraço e sentimentos de amor cheguem sempre aonde estiver meu amigo e também pai. Foram dias de conversa para me estimular a entender que essa parte seria mais um desafio nessa jornada, mas que traria muita felicidade e prosperidade aonde eu fosse. Minha sogra Korine Coelho de Andrade Souza, que também me encorajou a seguir em frente e não parar. Trouxe também a vontade de superar meus limites e continuar trilhando um caminho de sucesso e garra.

Minha esposa venerável e amável, Aline Coelho de Andrade Souza, que é uma fonte inspiradora e companheira, que me estimula sempre a não desistir. Sua força de vontade, seu abraço e seu ombro de afago é uma jazida de amor que pulsa em crescermos juntos e prosperarmos em todos os sentidos da vida. O oásis de amor que mantém o desejo da vida e a

inspiração para sermos sempre melhores em cada momento. Sem o seu suporte e sua personalidade, nada disso teria acontecido.

A minha filha amada, Gabriela Carneiro que é a fagulha que mantém acesa a força de vontade para me tornar sempre um bom pai, profissional, e principalmente, um ser humano melhor. Em todos os momentos em que estive dentro da UEPG, seja na graduação de 2007-2011, e também agora no mestrado, você esteve em meus pensamentos. Tudo isso aconteceu porque ela é o combustível de crescimento. Agradeço a todos os meus familiares que estiveram comigo sendo o alicerce de superação, para caminhar sempre a Luz do Conhecimento e da Verdade.

Não há a possibilidade de isso ter acontecido se não houvesse a paciência e orientação do meu orientador e amigo, Dr. Giovani Marino Fávero, que através de seus ensinamentos e bate papos nos corredores da UEPG, foram os estímulos para concluir esse mestrado. A união de mestre e discípulo não é apenas a orientação, mas a amizade que se carrega para que ambos se tornem melhores. O conhecimento foi trilhado a cada momento, a cada “prosa” para que este projeto tomasse forma e chegar aonde chegou.

Um grande abraço para coorientação da professora e Dra. Adriana Yuriko Koga, que auxiliou na montagem experimental das insulinas e abriu espaço para o entendimento de nano e micropartículas e confiou na realização desse trabalho. A toda a equipe dos laboratórios da Universidade Estadual de Ponta Grossa, que estão sempre à disposição para que possamos trabalhar com tranquilidade e realizar nossos sonhos. A força da UEPG não está nas paredes que são levantadas, mas em cada colaborador que está lá para transformar em ambiente saudável e de aprendizado.

Um agradecimento especial para UEPG, principalmente, para o Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas UEPG/UNICENTRO, que cedem todo o suporte para a busca da intelectualidade para aqueles que se comprometem com a pesquisa em nosso país. Sem a presença da UEPG e desses docentes nada desse sonho poderia tornar-se realidade. A Universidade Estadual de Ponta Grossa é o símbolo de compromisso com o estudo acadêmico na cidade princesina, construindo sonhos e mudando realidades de várias pessoas. A UEPG é uma das engrenagens que move esse trem fantasma que chamamos de Ponta Grossa.

Por último e não menos importante, mas peça fundamental para que a pesquisa seja realizada, agradeço de coração a Gabriela Ruva Fagundes. Colega, profissional, pesquisadora e uma amiga que auxiliou na adaptação e na realização desta pesquisa. Com aproximadamente 13 anos fora do ambiente de pesquisa e com a dificuldade de voltar para o

ambiente acadêmico institucional, ela auxiliou em cada detalhe e em cada nova adaptação, que foram necessárias para que este trabalho acontecesse.

Muito obrigado a todos e um grande Saravá para todos os Mestres, Mentores, amigos e colaboradores que transformaram um sonho em realidade. Que a força de vontade, disciplina e coragem nos impulsionem sempre a sermos melhores do que ontem. Axé. Laroyê.

Este trabalho é uma celebração da vida, mesmo daqueles que já partiram. Pois a virtude e ensinamentos dos que já se foram ficam gravados em nossa Alma Ancestral.

“Se você ensina o que aprendeu, e você segue o que eu vivi, estarei vivo mesmo que enterrado. Aprender mesmo a gente aprende quando o saber não é mercadoria. Quando é com Mestres e Mestras, eles não cobram. Eles ensinam para manter o conhecimento vivo. Quando você compartilha o saber, o saber só cresce. É como as águas que ‘confluenciam’. Quando o rio encontra o outro rio, ele não deixa de ser rio. Ele passa a ser um rio maior”. – Nego Bispo

RESUMO

O *Diabetes mellitus* é uma doença crônica multifatorial e multicausal que afeta milhões de pessoas no mundo. Algumas pesquisas estimam que em 2045 a população diabética poderá subir para 783 milhões, aumentando, conseqüentemente, a insulino terapia. De forma clássica o diabetes é classificado em três tipos: DM tipo 1, DM tipo 2 e DM gestacional. Mas na atualidade já é sabido que essa classificação se tornou simplória para definir o *Diabetes mellitus*. Mas de fato a hiperglicemia sistêmica que traz problemas moderados até problemas extremamente graves, podendo acarretar a morte do paciente. Esta doença metabólica além de impactar a saúde do paciente, influencia muito o setor econômico, seja no valor gasto do tratamento, como também a relação da pessoa doente com o mercado de trabalho. As intercorrências do diabetes podem causar morte prematura dos pacientes, principalmente antes dos 60 anos, causando grande impacto no mercado de trabalho. Uma doença que movimenta bilhões de dólares, em pesquisas de novos tratamentos. O hormônio que controla a hiperglicemia é a insulina. Esta hiperglicemia descontrolada faz com que o carboidrato ingerido cause danos no organismo humano. Este hormônio interage com receptores de membranas plasmáticas específicos, controlando a captação de glicose, sendo extremamente importante em vários processos anabólicos, armazenamento energético e na inibição de processos catabólicos. A insulino terapia utilizada no tratamento da DM não é muito aceita pelo paciente, devido ao desconforto de sua aplicação, sendo os tratamentos atuais exclusivamente com injeções subcutâneas diariamente ou endovenosa em níveis hospitalares e emergenciais. Além da adesão ao tratamento com a insulina, as suas dosagens não são muito fáceis de estabelecer, devido à hipoglicemia de rebote. Essa hipoglicemia de rebote pode causar: problemas cardiovasculares, arritmias cardíacas, perda de consciência, coma e óbito. Devido a esses problemas, a indústria farmacêutica, com o avanço das tecnologias, principalmente com o advento de micro e nanopartículas, pesquisadores ao redor do mundo investem em pesquisas para transformar as insulinas parenterais em insulinas orais. O uso de micro e nanopartículas não auxiliam apenas na proteção, mas também na melhora do direcionamento e liberação da insulina no local desejado, otimizando seu efeito terapêutico, melhorando sua posologia, forma de administração e adesão do paciente. Os polímeros de polimetacrilatos são uma ótima opção para o desenvolvimento destas micropartículas de insulinas orais. São substâncias atóxicas e com suas propriedades bem estabelecidas pelo FDA, sendo substâncias biocompatíveis com a fisiologia humana. São polímeros que são biodegradáveis ou não, usados também na indústria alimentícia. Eles podem ser utilizados tanto para uma liberação sustentada e/ou programada, e também para revestimentos de proteção do fármaco, neste caso a insulina. Por este motivo esse trabalho tem como objetivo fabricar três tipos de micropartículas orais de insulina, utilizando três tipos de polímeros de Eudragit® comercializados: L100, S100 e RS30D. Realizar também a caracterização da proteção e do revestimento destas formulações através de testes analíticos como FTIR (Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier); Potencial Zeta; Polidispersão e análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura por canhão de emissão de campo. Cada Eudragit® reagiu de uma forma diferente com a insulina, L100 e S100 com ligações de hidrogênio e RS30D de forma mais eletrostática, acentuando a diferença de interação com o fármaco e sinalizando possíveis diferenças de liberação. Com essas análises preliminares a formulação de Eudragit® L100 + Insulina Regular mostrou-se mais promissora para uma formulação mais elaborada e testes futuros.

Palavras-chave: polimetacrilatos, polímeros, insulino terapia, proteção, diabetes.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic, multifactorial, and multicausal disease that affects millions of people worldwide. Some research estimates that by 2045, the diabetic population could rise to 783 million, consequently increasing the use of insulin therapy. Classically, diabetes is classified into three types: Type 1 DM, Type 2 DM, and Gestational DM. However, it is now understood that this classification has become simplistic for defining Diabetes mellitus. But the core issue is the systemic hyperglycemia, which causes problems ranging from moderate to extremely severe, and can even lead to the patient's death. This metabolic disease not only impacts the patient's health but also significantly influences the economic sector, both in terms of treatment costs and the relationship of the affected person with the job market. Complications from diabetes can lead to premature death of patients, especially before the age of 60, causing a major impact on the workforce. It is a disease that moves billions of dollars in research for new treatments. The hormone that controls hyperglycemia is insulin. This uncontrolled hyperglycemia causes ingested carbohydrates to damage the human body. This hormone interacts with specific plasma membrane receptors, controlling glucose uptake, and is extremely important in various anabolic processes, energy storage, and inhibition of catabolic processes. Insulin therapy used in the treatment of DM is not very well accepted by patients due to the discomfort of its administration, with current treatments being exclusively daily subcutaneous injections or intravenous administration in hospital and emergency settings. Besides adherence to insulin treatment, determining the correct dosages is not very easy due to rebound hypoglycemia. This rebound hypoglycemia can cause: cardiovascular problems, cardiac arrhythmias, loss of consciousness, coma, and death. Due to these problems, the pharmaceutical industry, with the advancement of technologies, especially the advent of micro and nanoparticles, has researchers around the world investing in studies to transform parenteral insulins into oral insulins. The use of micro and nanoparticles helps not only with protection but also improves the targeting and release of insulin at the desired site, optimizing its therapeutic effect, improving its dosage regimen, administration method, and patient adherence. Polymethacrylate polymers are an excellent option for the development of these oral insulin microparticles. They are non-toxic substances with well-established properties by the FDA, being biocompatible with human physiology. These polymers can be biodegradable or not, and are also used in the food industry. They can be used for sustained and/or programmed release, as well as for protective coatings of the drug, in this case, insulin. Therefore, this work aims to fabricate three types of oral insulin microparticles, using three types of commercially available Eudragit® polymers: L100, S100, and RS30D. It also aims to characterize the protection and coating of these formulations through analytical tests such as FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy); Zeta Potential; Polydispersity; and morphological analysis by field emission gun scanning electron microscopy. Each Eudragit® reacted differently with insulin: L100 and S100 via hydrogen bonds, and RS30D in a more electrostatic manner, highlighting the difference in interaction with the drug and signaling possible differences in release. With these preliminary analyses, the formulation of Eudragit® L100 + Regular Insulin proved to be the most promising for a more elaborate formulation and future testing.

Keywords: polymethacrylates, polymers, insulin therapy, protection, diabetes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Copolímero microparticulado de Eudragit® L100, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 1A 500X; 1B 3.000X; 1C 1.500X; 1D 10.000X.....	52
Figura 2	Copolímero microparticulado de Eudragit® S100, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 2A 500X; 2B 1.500X; 2C 5.000X; 2D 10.000X.....	53
Figura 3	Copolímero microparticulado de Eudragit® RS30D, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 3A 1.500X; 3B 5.000X; 3C 10.000X; 3D 30.000X.....	54
Figura 4	Comparação da forma dos 3 Eudragit®: L100, S100 e RS30D, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 4A L100 em 10.000X, 4B S100 em 10.000X e 4C RS30D em 30.000X.....	55
Figura 5	Comparação da superfície da micropartícula dos 3 Eudragit®: L100, S100 e RS30D, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 5A L100 em 30.000X; 5B S100 em 30.000X e 5C RS30D em 60.000X.....	56
Figura 6	Copolímero microparticulado de Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 6A 70X; 6B 500X; 6C 1.000X; 6D 5.000X.....	57
Figura 7	Copolímero microparticulado de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 7A 70X; 7B 500X; 7C 3.000X; 7D 5.000X.....	58
Figura 8	Copolímero microparticulado de Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 8A 70X; 8B 500X; 8C 3.000X; 8D 5.000X.....	59
Figura 9	Comparação das micropartículas aumentado em 70 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (9A), S100 (9B) e RS30D (9C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca).....	60

Figura 10	Comparação das micropartículas aumentado em 500 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (10A), S100 (10B) e RS30D (10C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca).....	61
Figura 11	Comparação das micropartículas aumentado em 5.000 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (11A), S100 (11B) e RS30D (11C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca).....	62
Figura 12	Comparação da superfície das micropartículas, aumento em 15.000 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (12A), S100 (12B) e RS30D (12C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca).....	63

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Medições do Potencial Zeta (mV) em D30, D60 e D90 dias das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	44
Gráfico 2	Índice de Polidispersão aferidos em D30, D60 e D90 das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	45
Gráfico 3	Tamanho de partícula, diâmetro médio. Aferições em D30, D60 e D90 dias das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	45
Gráfico 4	Comparação do resultado do FTIR do Hormônio Insulina, Eudragit® L100 e Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	47
Gráfico 5	Comparação do resultado do FTIR do Hormônio Insulina, Eudragit® S100 e Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	48
Gráfico 6	Comparação do resultado do FTIR do Hormônio Insulina, Eudragit® RS30D e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparativo dos 3 tipos de Eudragit® L100, S100 e RS30D, utilizados para o revestimento da molécula de insulina.....	36
Tabela 2	Resultados do Potencial Zeta (mV), diâmetro médio (nm) e polidispersão das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DM1	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1
DM2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
FEG-SEM	<i>Field Emission Gun Scanning Electron Microscope</i>
PDI	Índice de Polidispersão
UI/mL	Unidade de medida Internacional por mililitros
GADA	Autoanticorpo contra a Descarboxilase do Ácido Glutâmico
HOMA2-IR	<i>Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance</i>
PI3K	Enzima Phosphatidyl Inositol 3-kinase
AKT	Alvo da Kinase do T vírus murino (<i>Murine Leukemia Virus Oncogene Homolog</i>)
NPY	Neuropeptídeo Y
POMC	Pró-Opiomelanocortina
mM	Milimolar ou milimol
gene INS	Gene da insulina
PDX1	<i>Pancreatic and Duodenal Homeobox 1</i>
NEUROD1	<i>Neurogenic Differentiation 1</i>
MAFA	<i>V-maf Musculo Aponeurotic Fibrosarcoma Oncogene Homolog A</i>
GLUT-2	Transportador de Glicose 2
PC1/3	<i>Prohormone Convertase 1/3</i>
PC2	<i>Prohormone Convertase 2</i>
Ca²⁺	Íon Cálcio
INSR	Receptor de insulina
ADA	Associação Americana de Diabetes
ROF	<i>Rule of Five</i>
-OH	Grupo hidroxila

-NH	Grupo amina
m²	Metros quadrados
pH	Potencial de hidrogênio iônico
mL	Mililitros
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
DP	Desvio Padrão
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
mg/Kg	Miligramas por quilogramas
KOH	Hidróxido de potássio
g/mol	Gramas por mol
D30	Dia 30
D60	Dia 60
D90	Dia 90
nm	Nanômetros
p	Valor de p, limiar de significância
cm⁻¹	Unidade de medida de comprimento de onda
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	<i>Diabetes mellitus</i>	20
2.2	Diabetes e outras doenças.....	21
2.3	Insulina.....	22
2.4	Hipoglicemia severa.....	26
2.5	Tecnologias farmacêuticas orais: Nanotecnologia e Microtecnologia.....	29
2.6	Polímeros de polimetacrilatos.....	34
2.7	Método de <i>Spray Drying</i>	36
3	OBJETIVOS.....	38
3.1	Objetivo Geral.....	38
3.2	Objetivos Específicos.....	38
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1	Desenvolvimento de micropartículas de insulina.....	39
4.2	Análise de Tamanho da Partícula, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta.....	39
4.3	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier.....	40
4.4	Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura por canhão de emissão de campo (FEG-SEM).....	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1	Análise do Tamanho de Partícula, Polidispersão e Potencial Zeta.....	42
5.2	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier.....	46
5.3	Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (<i>Field Emission Gun Scanning Eletron Microscopy</i> - FEG-SEM).....	50
6	CONCLUSÃO.....	65
	REFERÊNCIAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

Doenças crônicas são doenças que afetam a população por períodos longos, e se desenvolvem ao longo da vida dos pacientes e podem se estender por meses, anos, ou pela vida inteira do indivíduo (Hunt *et al.*, 2024). O Diabetes mellitus é uma doença crônica que cresce exponencialmente na população mundial, afetando não só a vida dos pacientes, mas diretamente a vida de seus cuidadores e até mesmo a economia da família, e dos sistemas de saúde mundiais (Forouhi *et al.*, 2022; Hunt *et al.*, 2024). Esta hiperglicemia não controlada afeta a coagulação sanguínea, que pode levar a amputações; problemas cardíacos e circulatórios como: aterosclerose e arritmias cardíacas, nefropatias, podendo levar a falência renal; hepatopatias; e também retinopatias, que podem levar o paciente a cegueira permanente, dentre outras (Chaker *et al.*, 2015; Ley *et al.*, 2014).

O Diabetes mellitus tradicionalmente é classificado em 3 tipos: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e diabetes gestacional. Diabetes tipo 1 é ausência de produção e excreção de insulina pelas células β -pancreáticas. Diabetes tipo 2 é a secreção diminuída de insulina e/ou a dificuldade de interação da insulina com o seu receptor nas membranas celulares. O diabetes gestacional é a resistência a insulina, devido ao estado de gravidez (Lundkvist *et al.*, 2005). Mas hoje já é sabido que esta classificação está desatualizada, visto que, na atualidade, entende-se que o diabetes é uma doença multifatorial e heterogênea. Pois muitos pacientes possuem sintomatologias distintas, reações diferentes aos tratamentos, diferença acentuada na evolução da doença, diferentes tipos de riscos e complicações diversas (Ahlqvist *et al.*, 2020).

A hiperglicemia, o aumento da concentração circulante de glicose na corrente sanguínea é a causa dos problemas fisiológicos que acontecem no diabetes. Sendo o hormônio insulina que regula a entrada deste açúcar para o interior das células (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024). A insulina é um hormônio polipeptídico composta por duas cadeias, cadeia A com 21 aminoácidos e cadeia B com 30 aminoácidos, conectadas por três pontes dissulfetos (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024). Mesmo sendo a insulina responsável por esse controle energético de entrada de carboidratos nas células, ela não faz apenas isso, ela está envolvida em vários outros processos metabólicos (Szablewski, 2024).

A insulina é extremamente importante para vários outros processos metabólicos do organismo humano, no fígado, rins, capilares, cérebro, tecido adiposo e outros tecidos, como: inibição da gliconeogênese, a promoção da glicólise e glicogênese, inibe a lipólise, incitação da lipogênese, ativa a lipoproteína lipase, estimula a síntese protéica, estimula e promove o crescimento e proliferação celular, entre outros processos metabólicos (Haeusler *et al.*, 2018;

Szablewski, 2024). Assim sendo, a insulina não é apenas uma “chave” para conectar em sua “fechadura”, para então internalizar a glicose. Ela é um dos principais hormônios anabólicos, que está diretamente conectada com o equilíbrio energético e também com a construção e armazenamento de moléculas, que são utilizadas no crescimento, mantimento, crescimento e produção celular (Haeusler *et al.*, 2018; Szablewski, 2024).

Mas a utilização da insulina de forma parenteral (subcutânea e endovenosa) pode trazer grandes problemas, como a hipoglicemia de rebote severa. Esta hipoglicemia pode causar problemas cardíacos como: arritmias e infartos; problemas cerebrais graves como: tremores; convulsões; confusão mental; coma e morte. Isto porque o cérebro utiliza apenas glicose como fonte energética, sendo a hipoglicemia severa um fator que pode acarretar grandes prejuízos ao funcionamento cerebral (Amiel *et al.*, 2019 e Hunt *et al.*, 2024). Consequentemente é importantíssimo o acompanhamento médico e farmacêutico na utilização dessas insulinas. Visto que cada paciente responde diferente a insulinoaterapia, e tem mais ou menos adesão ao tratamento com esse hormônio (Amiel *et al.*, 2019).

As tecnologias farmacêuticas nas últimas décadas deram um salto de evolução, melhorando a performance e a qualidade dos fármacos (Jong *et al.*, 2008). Além de que os medicamentos de utilização pela via oral são a base e o alicerce da indústria farmacêutica. Mas essa via possui várias limitações que precisam ser superadas (Ahadian *et al.*, 2020). Para melhorar a dissolução, absorção e entrega do princípio ativo em seu local de ação, evitando danos colaterais, efeitos indesejados e toxicidade, então as nano e microtecnologias farmacêuticas chegaram para aperfeiçoar esses processos, melhorando a biodisponibilidade do fármaco (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024).

Os primeiros comprimidos liberam todo o fármaco de uma só vez, seja no estômago ou no intestino delgado (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024). Com o avanço da tecnologia e a utilização de micro e nanotecnologias, o alvo terapêutico é encontrado com maior facilidade e o efeito terapêutico é otimizado, diminuindo a toxicidade e melhora-se o índice terapêutico (Mandrachia *et al.*, 2024). Existem várias técnicas para arquitetar carreadores micro e nano tecnológicos específicos que liberaram o princípio ativo de forma controlada/programada. Construindo um fármaco excelente para a administração oral, não só que seu tamanho preciso possa ultrapassar barreiras fisiológicas, mas também consiga encontrar o seu alvo terapêutico. Assim produzindo sistemas dinâmicos capazes de detectar, registrar, estimular/inibir respostas biológicas, para que então seja liberado no local preciso do trato gastrointestinal (Ahadian *et al.*, 2020).

Os polímeros sejam eles biodegradáveis ou não são à base dos excipientes nas fabricações de micro e nanopartículas (Yoo *et al.*, 2011). Os polimetacrilatos que são copolímeros do ácido metacrílico e seus coadjuvantes, mais conhecidos comercialmente como Eudragit®, mas possuem vários nomes comerciais, são atóxicos e seu uso é bem seguro e recomendado pelo FDA (Moreira *et al.*, 2025). São compostos muito utilizados tanto na indústria farmacêutica, como na indústria alimentícia. Existem diferentes polimetacrilatos, podendo ser catiônicos, aniônicos ou neutros, dependendo das diferentes proporções de metacrilatos de dimetilaminoetila, ácido metacrílico e ésteres de ácido metacrílico, sendo utilizados em diversas finalidades como: liberação controlada e/ou sustentada, liberação programada, para trazer mais estabilidade na formulação, para melhorar absorção e liberação do princípio ativo (Zhang *et al.*, 2014 e Patra *et al.*, 2017).

A insulinoterapia, atualmente, tem pouca adesão pelos pacientes devido a sua invasividade terapêutica, desconforto, alergias e hipoglicemias severas, mesmo com vários dispositivos disponíveis que dimuíram esse desconforto e facilitaram sua administração (Amiel *et al.*, 2019). A insulina também é extremamente sensível e de difícil estabilização em uma forma terapêutica oral, pois ultrapassar as barreiras e os metabolismos do sistema gastrointestinal desnatura e causa inativação da insulina, acarretando em não realizar seu efeito terapêutico (Hunt *et al.*, 2024). Este trabalho tem como objetivo a produção de uma insulina microparticulada oral, com três tipos de Eudragit®: L100, S100 e RS30D, que possuem algumas características similares e outras muito distintas. Em segundo plano analisar a capacidade de proteção e revestimento dos polímeros à insulina, através dos métodos FTIR, Potencial Zeta e Microscopia de Varredura.

Produzindo então uma insulina através do método de *spray drying*, que é um método de secagem por aspersão muito utilizável e confiável na indústria farmacêutica. Podendo então, com essa técnica, dimensionar o tamanho da partícula para ultrapassar as limitações do trato gastrointestinal, e liberando a insulina em um local de melhor absorção, evitando seu desnaturamento. Conseguindo consequentemente evitar os episódios de hipoglicemias graves que podem piorar o estado clínico do paciente que já está debilitado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Diabetes mellitus*

Diabetes mellitus é uma doença que afeta aproximadamente 425 milhões de pessoas em 2022, sendo que 75 milhões são dependentes de insulina (Hunt *et al.*, 2024). Estimativas mais recentes apontam que em 2045 a população diabética poderá subir para 783 milhões (Forouhi *et al.*, 2022). Sendo uma doença além dos fatores de saúde e comorbidades do paciente e de seus cuidadores, é extremamente onerosa para o Estado. Etiologicamente o *diabetes mellitus* é comumente subdivida em diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional, e mais recentemente, diabetes com etiologia específica, tendo outras classificações como diabetes tipo 3, ou diabetes desenvolvida por medicamentos ou outras doenças, por exemplo. Sendo que diabetes tipo 2 corresponde a 90% dos casos. (Forouhi *et al.*, 2022; Hunt *et al.*, 2024).

O *diabetes mellitus* afeta milhões de pessoas ao redor do mundo. E isto além de impactar a saúde, influencia muito o setor econômico, seja no valor gasto do tratamento, também com a relação da pessoa doente com o mercado de trabalho. Vendo que muitas pessoas morrem, devido às intercorrências do diabetes, antes dos 60 anos (Chaker *et al.*, 2015; Ley *et al.*, 2014). Na Espanha, os anos de vida ajustados por incapacidade, que é a morte prematura do indivíduo devido ao diabetes é de 2%, comparando com outras causas de morte precoce. Na África do Sul, é de 162.877 anos de vida saudável perdidos por ano na população. No Quênia, o cálculo ajustando para 100mil pessoas, as mortes prematuras são de 364, causadas por diabetes (Chaker *et al.*, 2015; Ley *et al.*, 2014).

Uma doença que nos EUA, em 2020, custou 2,9 bilhões de dólares, sendo 60% destes custos utilizados com terapias complementares e indiretas, para a melhora da qualidade de vida, bem estar e produtividade dos pacientes (Hunt *et al.*, 2024). Isto porque o *Diabetes Mellitus* não é só uma doença causada pelo aumento da glicose circulante. Mas sim uma doença multifatorial, onde esta glicose em altas concentrações acarreta várias outras doenças e comorbidades (Amiel *et al.*, 2019).

Também nos EUA estima-se que 7,2 dias de trabalho são perdidos por paciente/ano por causa do diabetes. Neste mesmo país, os custos totais relacionados à perda de produtividade foram de aproximadamente U\$ 1.962.314, enfatizando a perda de produtividade na prematuridade da morte, que foi de 49%; o presenteísmo de 44%,

comparando com 4% do absenteísmo (Chaker *et al.*, 2015). Agora pensando nas outras doenças que o *diabetes mellitus* pode provocar, esses números podem subir facilmente.

Na Europa foram gastos com cuidados em saúde 147 bilhões de dólares para o tratamento de diabetes. Somando a América do Norte e o Caribe, em 2013, o valor gasto foi de 263 bilhões de dólares (Ley *et al.*, 2014). Sendo então que o *diabetes mellitus* tornou-se uma das doenças crônicas que mais causam mortes prematuras. Indicando que investir em prevenção, autocuidado, tratamento, manejo e soluções para a doença é extremamente necessário para combater uma epidemia global não transmissível.

2.2 Diabetes e outras doenças

Embora tradicionalmente o diabetes seja conhecida pelo aumento da glicemia e seu diagnóstico laboratorial tem por base um único metabólito – glicose. Hoje já é sabido que é uma doença totalmente heterogênea e multifatorial (Ahlqvist *et al.*, 2020). Muitos pacientes possuem características sintomatológicas distintas, diferentes ações medicamentosas, ritmo diferenciado na evolução da doença e distintos riscos e complicações de saúde (Ahlqvist *et al.*, 2020). Por exemplo: pacientes com deficiência severa de insulina tem maiores riscos de desenvolverem casos de retinopatias e neuropatias, agora diabetes com resistência severa a insulina tem elevadas tendências a riscos de doença renal crônica e esteatose hepática (Ahlqvist *et al.*, 2020).

Diabetes autoimune grave acomete 6% dos pacientes com diagnóstico de diabetes, está associada à presença de autoanticorpos GADA. Tem um início mais precoce e veloz. O paciente tem baixa secreção de insulina, índice de massa corporal baixa e tem uma maior dificuldade do controle glicêmico (hemoglobina glicada muito elevada). Sua progressão é rápida para a insulino terapia. Com um alto risco de cetoacidose diabética no diagnóstico, aproximadamente de 31% (Ahlqvist *et al.*, 2020).

Pacientes com deficiência severa à insulina são aproximadamente 18% dos casos de diabetes. Não apresenta a presença de autoanticorpos GADA, baixa ou sem secreção da insulina, hemoglobina glicada alta. Possuem maiores riscos de retinopatias causadas pela alta circulação de glicose sanguínea e de neuropatias periféricas, mesmo após o controle glicêmico. Neste caso existe uma necessidade de uma terapia precoce e um acompanhamento mais criterioso, pois em 25% dos casos podem acontecer cetoacidose. Também possui uma progressão rápida para o uso de insulina (Ahlqvist *et al.*, 2020).

Diabetes com resistência severa à insulina aparece em 15% dos pacientes diagnosticados com hiperglicemia. Está associada à presença de obesidade, concomitantemente, alta resistência a insulina (HOMA2-IR muito elevado), mas hemoglobina glicada relativamente baixa, comparando com as outras classificações de diabetes. O enfermo possui um alto risco de desenvolver uma doença renal crônica, não causa apenas pela resistência à insulina, mas também devido às altas concentrações de açúcares circulantes, tendo uma baixa taxa de filtração glomerular. Possuindo um risco de 5 vezes mais de desenvolver falência renal. Aparecendo em exames laboratoriais macroalbuminúria e altas concentrações de açúcares na urina. Esteatose hepática não alcoólica presente, na qual 19% dos casos sendo uma esteatose hepática significativa, com fibrose hepática (Ahlqvist *et al.*, 2020).

Em 22% dos casos de diabetes estão os pacientes que possuem diabetes leve relacionado à obesidade. Neste caso a obesidade está presente, mas a resistência a insulina é leve e não tão elevada como em pacientes com resistência severa à insulina. (Ahlqvist *et al.*, 2020).

O maior grupo de pacientes são os que possuem o diabetes leve relacionado à idade, que abrangem cerca de 39% dos casos. Seu início é mais tardio e lento, sem alterações metabólicas graves. (Ahlqvist *et al.*, 2020).

Portanto, entender que o acompanhamento e a caracterização do diabetes são muito importantes para evitar a rápida progressão da doença. Consequentemente, evitar o aparecimento de novas doenças e comorbidades, e a piora de doenças que acompanham o diabetes. Pois quanto mais rápido esse diagnóstico e entendimento da causalidade da doença, consegue-se evitar o aumento da pressão arterial, AVC, cegueira, falência renal, infartos e várias outras doenças. Assim evitando, adiando ou antecipando o uso da insulina, para o melhor bem estar e sobrevida do paciente.

2.3 Insulina

A insulina é um hormônio polipeptídico composto por 51 aminoácidos, produzido pelas células β -pancreáticas. Sendo uma proteína que faz a regulação da glicose, sua secreção é estimulada pelo aumento deste carboidrato circulante na corrente sanguínea (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024). Este hormônio interage com receptores de membranas plasmáticas específicos, controlando a captação de glicose e incitando a glicólise e glicogênese, também inibindo a gliconeogênese (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024). Portanto, sendo um

importante polipetídeo no controle de vários processos metabólicos no corpo humano, promove processos anabólicos de produção e armazenamento energético, e diminui processos catabólicos (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024).

Em diferentes órgãos e tecidos, como: rins, fígado, cérebro, músculos esqueléticos, tecido adiposo e trato gastrointestinal, a insulina controla o metabolismo e armazenamento energético (Szablewski, 2024). No tecido adiposo estimula a captação de glicose, promovendo o armazenamento de gordura na lipogênese, facilitando o transporte de ácidos graxos na corrente sanguínea, e inibindo a lipólise (Szablewski, 2024). Nos músculos mais periféricos, ela aumenta a obtenção de glicose, promovendo o crescimento da massa muscular, simultaneamente com o estímulo da síntese de glicogênio (Szablewski, 2024). A insulina no fígado promove a síntese do glicogênio e a concentração de lipídeos, inibindo a gliconeogênese e glicogenólise (Szablewski, 2024).

Além desses mecanismos fisiológicos, a insulina atua em vários outros processos metabólicos (Szablewski, 2024). A insulina estimula o crescimento celular e a proliferação de células, promovendo a síntese de proteínas e lipogênese, restringindo a lipólise e a degradação proteica (Szablewski, 2024). Sendo então a insulina um hormônio extremamente importante para processos biológicos e controle energético do organismo humano (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024).

Essa característica multifacetada da insulina para o controle energético mantém um equilíbrio funcional no organismo humano. Sendo um hormônio essencial para o equilíbrio energético, facilitando a captação de glicose em células dependentes, como músculo esquelético, fígado e tecido adiposo. Suas ações específicas incluem: promover armazenamento de glicogênio no músculo, inibir a produção hepática de glicose e estimular o armazenamento de triglicerídeos no tecido adiposo. Esses efeitos são mediados por vias de sinalização como PI3K/AKT, adaptando-se às demandas metabólicas do organismo (Jamshidi *et al.*, 2022 e Szablewski, 2024).

No cérebro, a insulina atravessa a barreira hematoencefálica, e assim regulando o apetite, suprimindo neuropeptídeos orexígenos que estimulam a fome (NPY) e ativando os que induzem saciedade (POMC). Além disso, influencia funções cognitivas e memória, com estudos mostrando melhora na capacidade de memorização após administração intranasal. A insulina também modula a captação de glicose em regiões específicas, como a hipófise, com efeitos distintos entre gêneros (Szablewski, 2024).

No pâncreas, a insulina inibe a secreção de glucagon (células α) e estimula a liberação de somatostatina (células δ), ampliando seu controle glicêmico. Nos rins, regula a homeostase e previne danos associados ao diabetes, como a nefropatia. Já nos ossos, promove a formação osteoblástica e inibe a reabsorção, enquanto na pele, sua disfunção está ligada a condições como acne e queda capilar (Szablewski, 2024).

A insulina inibe a cetogênese hepática, reduzindo a liberação de ácidos graxos e a produção de corpos cetônicos durante o jejum. Paralelamente, estimula a síntese proteica em músculos e fígado, aumentando a captação de aminoácidos e inibindo sua degradação, o que favorece o anabolismo tecidual (Szablewski, 2024).

Nos vasos sanguíneos, a insulina ativa a via PI3K/AKT em células endoteliais, estimulando a produção de óxido nítrico (NO) e promovendo vasodilatação. Esse mecanismo melhora o fluxo sanguíneo para tecidos periféricos, facilitando a entrega de glicose e nutrientes. Assim, a insulina integra funções metabólicas e vasculares, destacando seu papel central na homeostase global (Szablewski, 2024).

Como a insulina está relacionada a vários processos metabólicos endógenos, a hiperinsulinemia, causada pela resistência da insulina, está associada a um maior risco, progressão e metástase de vários tipos de câncer, com prognósticos não favoráveis para tratamentos oncológicos, assim como o aparecimento de distúrbios metabólicos e de doença metabólicas como o *diabetes mellitus* (Szablewski, 2024). A insulina interage com o seu receptor de membrana e essa ligação hormonal entre hormônio/receptor, desencadeia uma cascata de sinalização, que ativa várias enzimas, que por seguinte são responsáveis por controlar várias vias metabólicas (Szablewski, 2024).

Classicamente acreditava-se que a insulina era produzida e excretada exclusivamente pelas ilhotas de Langerhans, nas células β pancreáticas. Mas recentemente, através de novos achados científicos é sabido que algumas células neuronais do sistema nervoso central, também produzem uma pequena quantidade de insulina (Szablewski, 2024). A glicose na concentração sanguínea entre 2mM e 4mM, a biossíntese de insulina é estimulada, enquanto que na concentração acima de 5mM é inibida. Tanto a secreção e síntese de insulina são estimuladas com as variações de níveis plasmáticos de glicose circulante (Szablewski, 2024).

Na espécie humana o hormônio é codificado no braço curto do cromossomo 11, codificado pelo gene INS, sendo que o local de maior produção e secreção do hormônio é nas células β do pâncreas (Szablewski, 2024). Os fatores de transcrição essenciais para a produção, regulação e secreção de insulina nas células do pâncreas são: IDX1 (PDX1), MafA

e o NeuroD1 (Szablewski, 2024). Cada um desses fatores de transcrição tem sua importância na regulação da insulina.

O fator IDX1 (PDX1) é o regulador mestre que age no desenvolvimento e diferenciação das células β . Ele controla principalmente a expressão dos genes INS, glucoquinase, GLUT-2 (Szablewski, 2024). O MafA é um regulador específico na diferenciação e função das células β , controlando a expressão dos genes importantes relacionados com a produção e liberação da insulina, devido ao aumento da glicose sanguínea (Szablewski, 2024). O NeuroD1 atua concomitantemente com o IDX1 na diferenciação das células β pancreáticas. Está intimamente ligado com o desenvolvimento das células beta, podendo estar relacionado também na regeneração celular das mesmas (Szablewski, 2024).

O hormônio insulina não é produzido e liberado diretamente. Sua liberação é bifásica: a primeira rápida, de até 10 minutos, que é liberada dos grânulos secretórios que estão no citoplasma das células beta, esta fase é rápida para evitar picos glicêmicos; a segunda fase é mais lenta que pode durar até 30 minutos, que requer o recrutamento de novos grânulos secretórios, com a reorganização do citoesqueleto celular, através de actina (Szablewski, 2024). Sua produção, através da tradução é a pré-pró-insulina, que no Retículo Endoplasmático Rugoso, elimina a sequência sinal e realiza o processamento em pró-insulina. Que por seguinte é dobrada em sua configuração 3D, ligando suas duas cadeias peptídicas (cadeia A e B), através de 3 pontes dissulfetos (Szablewski, 2024). Então no Complexo de Golgi, a pró-insulina com as 3 ligações dissulfetos, é armazenada em grânulos secretores imaturos, onde as enzimas PC1/3 e PC2 clivam a proteína. Para que em seguida a maturação da insulina ocorra através da remoção dos aminoácidos C terminais, pela enzima carboxipeptidase E (Szablewski, 2024).

Antes de a insulina ser secretada, os grânulos secretores precisam atravessar a rede de actina, que é controlada por proteínas G e fatores de ativação. Os grânulos ancoram-se na membrana plasmática, e através da resposta de Ca^{2+} , ela é liberada (Szablewski, 2024 e Hunt *et al.*, 2024). A insulina circulante chega a vários órgãos alvos, entrando em contato com seu receptor, o INSR. Quando ocorre esse contato na subunidade α do INSR, estimula a mudança conformacional, que ativa a tirosina quinase na subunidade β . Logo em seguida ocorre a autofosforilação de resíduos de tirosina, junto com a ativação de proteínas de ligação à fosfotirosina (Szablewski, 2024). Para que então a glicose circulante entre para o interior das células (Szablewski, 2024).

2.4 Hipoglicemia severa

Como dito anteriormente, a insulina é um hormônio essencial para o mantimento da homeostase energética de várias vias de metabolismo da glicose, para o controle da hiperglicemia vascular. Mas em pessoas que estão com seu sistema metabólico comprometido, como no *diabetes mellitus*, a utilização da insulina exógena para o tratamento desta doença, pode acarretar hipoglicemias graves, que tem a possibilidade de levar o indivíduo a morte (Hunt *et al.*, 2024). Hoje todas as insulinas que existem no mercado são de uso parenteral (subcutânea ou intravenosa), para o tratamento do *diabetes* e outros distúrbios metabólicos (Hunt *et al.*, 2024).

Pacientes que utilizam insulina para o controle glicêmico podem desenvolver como efeito colateral, hipoglicemias graves, mas também as sulfonilureias são capazes de desencadear efeitos hipoglicêmicos graves (Amiel *et al.*, 2019 e Hunt *et al.*, 2024). Isto porque o cérebro utiliza apenas glicose como fonte energética, sendo a hipoglicemia severa um fator que pode acarretar grandes prejuízos ao funcionamento cerebral (Amiel *et al.*, 2019 e Hunt *et al.*, 2024).

O Grupo de Estudos Internacionais de Hipoglicemia (The International Hypoglycaemia Study Group) sugestiona que essa hipoglicemia de rebote severa, está associada com o aumento do risco de desenvolver problemas cardiovasculares e óbito (Amiel *et al.*, 2019). Várias pesquisas experimentais insinuam diferentes mecanismos de como a hipoglicemia pode desenrolar para problemas cardíacos. Em estudos clínicos randomizados mostraram arritmias cardíacas e morte súbita em episódios de hipoglicemias graves (Amiel *et al.*, 2019). Estes episódios graves de eventos cardíacos são efeitos multifatoriais da baixa concentração de glicose na circulação sanguínea (Amiel *et al.*, 2019).

Associação Americana de Diabetes (ADA) que cunhou o termo hipoglicemia, referindo-se aos episódios de diminuição elevada da concentração de glicose circulante, possibilitando ao indivíduo vários danos significativos (Amiel *et al.*, 2019). Essa diminuição da glicemia está além de apenas problemas fisiológicos, mas também de problemas psicossociais e de interrupção de atividades diárias. Visto que essas diminuições abruptas da glicemia vascular aumentaram diretamente a mortalidade (Amiel *et al.*, 2019 e Hunt *et al.*, 2024).

Mesmo o diabetes sendo uma doença multifatorial e também estar associada a várias outras doenças como: hipertensão arterial, hipercolesteremia, obesidade, falência renal, entre outras, as consequências cardiovasculares devido à hipoglicemia, explica a dificuldade de

diminuir os riscos de acidentes cardíacos, como: arritmias, infartos e anginas (Amiel *et al.*, 2019). Esta associação há outras doenças podem confundir o diagnóstico e acompanhamento de ambas as doenças, pois os episódios de hipoglicemia afetam pacientes com diversas comorbidades e doenças, sugerindo diversos desfechos problemáticos para os pacientes (Amiel *et al.*, 2019 e Hunt *et al.*, 2024).

Episódios de hipoglicemias severas e fatais foram reconhecidos logo quando a insulina foi descoberta em experimentos animais e utilizada em tratamentos para diabetes, resultando em mortes precoces em pessoas com diagnósticos de diabetes (Amiel *et al.*, 2019 e Hunt *et al.*, 2024). No Reino Unido em 1979, um estudo com pessoas com menos de 50 anos com diabetes, a hipoglicemia foi responsável por 4% das mortes (Amiel *et al.*, 2019). Mas esse número pode ser ainda maior, isto porque algumas mortes causadas por infarto e outras causas, podem ter sido produzidas por arritmias cardíacas motivadas pela hipoglicemia (Amiel *et al.*, 2019).

O tratamento e acompanhamento de idosos, acima de 75 anos, que possuem diabetes é algo complicado. Várias diretrizes dizem que o controle glicêmico rigoroso nesses pacientes é algo complicado, frágil e não recomendado, isto porque possuem várias outras doenças e comorbidades concomitantes em estágios avançados (Amiel *et al.*, 2019). Nestes casos o controle glicêmico radical pode trazer riscos significativos para hipoglicemias de rebote. Mas mesmo assim o tratamento excessivo com insulina e sulfonilurêias é muito comum nessa população mais velha (Amiel *et al.*, 2019). Isto acontece porque a idade avançada, múltiplas comorbidades, declínio cognitivo, função renal reduzida, problemas cardíacos, elevam o risco de hipoglicemias graves (Hunt *et al.*, 2024). Interessantemente, o não controle glicêmico adequado também está associado ao maior risco de hipoglicemias nesses pacientes (Amiel *et al.*, 2019). Muito importante nesses casos a busca do equilíbrio do tratamento para evitar efeitos indesejáveis e perigosos.

Durante a gravidez em mulheres com diabetes preexistentes o risco de mortalidade é muito alto, visto que o infarto agudo do miocárdio aumenta de 3 a 5 vezes durante a gravidez (Amiel *et al.*, 2019). Mesmo que não existam relatos e pesquisas significativas da interação direta entre hipoglicemia, gravidez e infarto agudo do miocárdio, a hipoglicemia grave é evidente e frequente, principalmente no primeiro trimestre em grávidas que utilizam insulina (Amiel *et al.*, 2019). Em uma pesquisa com 972 gestantes com DM1, duas das quatro mortes foram outorgadas à síndrome “dead in bed” (morto na cama) por hipoglicemia severa (Amiel *et al.*, 2019). Mas mesmo com esses relatos o controle glicêmico na gravidez não deve ser

desencorajado, devido aos benefícios bem estabelecidos ao feto (Amiel *et al.*, 2019). Alcançar um perfil normoglicêmico é o ideal, sem o excesso de hipoglicemias de rebote e severas (Hunt *et al.*, 2024).

Em crianças e adolescentes os dados são escassos para os efeitos da hipoglicemia, mas alguns estudos mostram que a mortalidade em crianças e adolescentes com diabetes, em tratamento com insulina, é significativamente maior do que na população saudável da mesma idade (Amiel *et al.*, 2019). O padrão da mortalidade é de 2 a 4 vezes maior em jovens com diabetes tipo 1, apontando que a cetoacidose diabética é a causa mais comum, e a hipoglicemia severa noturna também aparece em alguns dados (Amiel *et al.*, 2019).

Mesmo com a confusão das misturas de doenças e comorbidades, é sabido que a hipoglicemia tem efeitos negativos na saúde do indivíduo, principalmente em pacientes com problemas cardíacos (Amiel *et al.*, 2019). Estes riscos cardiovasculares significativos como arritmias, disfunção cardíaca e morte súbita, mostram que a hipoglicemia desencadeia alterações hemodinâmicas e eletrofisiológicas. Isto acontece devido à ativação do sistema simpato-adrenal, com a liberação de catecolaminas, aumentando a frequência cardíaca e o débito cardíaco, concomitantemente, enquanto reduz a pressão sistólica (Amiel *et al.*, 2019). Também induz uma queda rápida do potássio plasmático, levando a anomalias na condução e repolarização cardíaca, causando anomalias metabólicas. Além de produzir várias alterações vasculares como: aumento da coagulabilidade sanguínea, disfunção endotelial e inflamação, elevando o risco de trombozes e ateromas (Amiel *et al.*, 2019).

Portanto, conseguimos entender que a hipoglicemia pode trazer grandes riscos e impacto na vida de pacientes diabéticos. Devido a hipoglicemia as respostas inflamatórias e hemorreológicas podem persistir por dias, promovendo um ambiente totalmente propício para eventos trombóticos. Existe um aumento significativo em eventos cardiovasculares agudos como isquemia do miocárdio, infarto, insuficiência cardíaca ou arritmias, principalmente em pacientes com doenças cardiovasculares preexistentes, tudo isso devido às hipoglicemias recorrentes e severas (Amiel *et al.*, 2019).

Então mesmo com os efeitos benéficos e controle glicêmico utilizando as insulinas, é muito importante em pacientes idosos e frágeis, exigir metas glicêmicas não tão rigorosas. Em grávidas é interessante o equilíbrio entre o controle glicêmico e a prevenção da hipoglicemia. Em crianças e adolescentes o risco de morte súbita é alto, tudo isso devido a hipoglicemia e seus efeitos cardiovasculares (Amiel *et al.*, 2019).

2.5 Tecnologias farmacêuticas orais: Nanotecnologia e Microtecnologia

As tecnologias farmacêuticas evoluem para melhora de adesão do tratamento, para melhora significativa e concreta do paciente, evitar efeitos colaterais e melhora da qualidade de vida do paciente, entre outras melhorias farmacêuticas no desenvolvimento de fármacos (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024). Mas nas últimas décadas a tecnologia farmacêutica evolui significativamente, desde os primeiros comprimidos de ácido acetilsalicílico até os sistemas mais modernos de liberação prolongada (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024). Portanto, estas nanos e microtecnologias emergiram com o intuito de melhorar a liberação dos fármacos, direcionar e controlar a liberação e absorção, melhorar biodisponibilidade, diminuir toxicidade, permitir a administração por várias vias disponíveis (oral, intravenosa e tópica) (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024).

Primordialmente os comprimidos liberam todo o fármaco de uma vez só, seja no estômago ou no intestino delgado (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024). Hoje em dia a tecnologia está bem mais avançada, para melhorar o alvo terapêutico dos fármacos (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024).

Os comprimidos de primeira geração liberam o fármaco de acordo com as características físico-químicas, mostrando que inicialmente apenas essas características influenciavam a liberação do fármaco (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024). Mais tarde as farmacêuticas buscavam melhorar o desempenho dessas formulações, para que os comprimidos não fossem apenas uma compressão de fármaco, amido, lactose e outros excipientes (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024). Pesquisas foram direcionadas para que as maquinarias de produção de medicamentos se alinhassem a maquinaria fisiológica, tanto na visão macro do organismo humano, quanto na maquinaria celular existente em cada fase metabólica do aparecimento da doença (Jong *et al.*, 2008 e Mandrachia *et al.*, 2024).

Com o aumento da taxa de vida da humanidade e com isso o aparecimento de novas doenças como cânceres, doenças neurodegenerativas, doenças metabólicas e doenças autoimunes, a procura de novas alternativas de tratamentos são muito importantes (Mandrachia *et al.*, 2024). Visto que os fármacos que são utilizados para o tratamento dessas doenças podem causar vários efeitos colaterais, forma de administração não agradável (administração parenteral), tempo de tratamento prolongado e esquema de terapia complexa (Mandrachia *et al.*, 2024).

Buscar o alvo terapêutico facilitando a adesão do tratamento pelos pacientes é uma barreira que deve ser sanada, para a melhora da saúde da população. Por isso, as micro e

nanopartículas são importantíssimas para a evolução dos tratamentos médicos (Jong *et al.*, 2008; Mandrachia *et al.*, 2024 e Wong *et al.*, 2018). Basicamente a estruturação das formulações clássicas (milimétricas), para as formulações micro e nanométricas é um fator de 1×10^{-3} a 1×10^{-6} , que faz a comparação de ser muito maior ou menor que uma célula (Jong *et al.*, 2008; Mandrachia *et al.*, 2024 e Wong *et al.*, 2018).

De modo geral as formulações que possuem micropartículas são utilizadas para a liberação controlada de fármacos administrados em quase todas as vias de administração, mas para algumas limitações para injeções intravenosas (Mandrachia *et al.*, 2024). Já as nanoparticuladas podem ser administradas por todas as vias sem restrições, mas possui uma complexa produção no ambiente industrial, normalmente encarecendo ou inviabilizando sua produção em larga escala (Mandrachia *et al.*, 2024). Sendo então as nanopartículas muito menores que as células humanas, tendo a facilidade de ultrapassar barreiras fisiológicas e celulares, podendo alcançar o núcleo das células (Mandrachia *et al.*, 2024). Portanto as formulações micro são mais utilizadas para sistemas reservatórios de liberação controlada e programada de princípios ativos e as formulações nano mais adequadas para administração intravenosa, visando os alvos celulares (Mandrachia *et al.*, 2024).

Estas formulações tendem a serem complexas e necessitam de um alto custo de produção. Mas estes sistemas completos buscam proporcionar uma função especial no tratamento, melhorando o direcionamento e entrega específica do fármaco, redução da toxicidade mantendo o efeito terapêutico, maior segurança e biocompatibilidade e desenvolvimento mais rápido de fármacos (Jong *et al.*, 2008). A busca de carreadores específicos é importante para o desenvolvimento de formulações mais assertivas, melhorando a incorporação e liberação do princípio ativo, traz estabilidade para a formulação, biodistribuição e direcionamento melhorado e funcionalidade objetiva e precisa (Jong *et al.*, 2008).

A administração oral representa a base da indústria farmacêutica, mas preparar uma formulação adequada para a entrega do medicamento não é algo tão simples (Ahadian *et al.*, 2020). Pois existem várias barreiras fisiológicas que limitam a absorção de vários princípios ativos (Ahadian *et al.*, 2020). A criação de sistemas inteligentes de liberação de fármacos pode suprimir essas limitações, ou até mesmo eliminá-las (Ahadian *et al.*, 2020). Além de melhorar a adesão do paciente, diminuição do custo e natureza não invasiva, a administração oral é extremamente importante pela facilidade de utilização (Ahadian *et al.*, 2020).

Mesmo com a facilidade de utilização de medicamentos de uso oral, o trato gastrointestinal oferece grandes barreiras para absorção e distribuição do princípio ativo para o organismo. Essas barreiras são: ambiente extremamente ácido do estômago, enzimas digestivas, dificuldade em atravessar paredes teciduais do trato gastrointestinal e atingir a circulação sistêmica, barreira de primeira passagem, metabolismo hepático e excreção prematura do princípio ativo antes de seu efeito desejado (Ahadian *et al.*, 2020). Então para corrigir estes efeitos de biodisponibilidade, normalmente a dose efetiva ingerida é maior do que a dose necessária. No entanto, estas concentrações maiores podem trazer alta toxicidade e efeitos adversos, sendo que a tentativa de reduzir a dose pode não acontecer o efeito esperado (Ahadian *et al.*, 2020).

Além dessas barreiras fisiológicas, muitas limitações estão ligadas às propriedades físico-químicas dos fármacos e excipientes (Ahadian *et al.*, 2020). Na produção e desenvolvimento de fármacos de uso oral utilizam-se as Regras de Lipinski (Rule of Five – ROF), que são: peso molecular menor que 500 Daltons (moléculas maiores tendem a ter menor permeabilidade), menor ou igual a 10 aceptores de ligação de Hidrogênio (referindo-se ao número de átomos de nitrogênio e oxigênio na molécula), menor ou igual a 5 doadores de ligação de hidrogênio (apontando o número total de grupos de -OH e -NH na molécula) e logP não superior a 5 (índice de lipofilicidade, valor alto indica que a molécula é muito lipofílica). Se o princípio ativo ultrapassa mais de um desses critérios, a molécula tem maior probabilidade de apresentar dificuldade em absorção, metabolismo e distribuição no organismo, diminuindo seu efeito terapêutico (Ahadian *et al.*, 2020). Por isso moléculas como: hormônios, proteínas com alto peso molecular e polipeptídeos com grandes cadeias ramificadas são difíceis de administrar oralmente (Ahadian *et al.*, 2020).

A insulina, por exemplo, se administrada oralmente diminuiria muito seus efeitos colaterais, principalmente a hipoglicemia severa, e com certeza, sua adesão seria melhorada, assim facilitando e aprimorando o tratamento. Mas sua biodisponibilidade oral possui grande instabilidade em ambientes ácidos, altamente degradada por proteases, baixa absorção intestinal e não entra na ROF (Ahadian *et al.*, 2020, Hunt *et al.*, 2024). Mas para contornar esses problemas em formulações orais de insulina, podemos utilizar micro ou nanocarreadores, para que possamos direcionar para seções específicas do trato gastrointestinal, e assim liberá-la na circulação sistêmica com a concentração necessária para o efeito terapêutico, evitando episódios de hipoglicemias de rebote, quando administrada em via subcutânea ou intravenosa (Ahadian *et al.*, 2020).

Existem várias técnicas para moldar carreadores micro/nano específicos que liberaram o princípio ativo de forma controlada/programada, arquitetando seu tamanho preciso para ultrapassar barreiras fisiológicas e encontrar o seu alvo terapêutico, produzindo sistemas dinâmicos capazes de detectar, registrar, estimular/inibir respostas biológicas, para que então seja liberado no local preciso do trato gastrointestinal (Ahadian *et al.*, 2020). Em virtude de que o epitélio intestinal é o principal local de absorção de fármacos orais, apresentando uma área superficial de 300 – 400m², mas impondo várias restrições químicas e físicas (Ahadian *et al.*, 2020).

O trato gastrointestinal é separado em várias locais que têm propriedades únicas que afetam a liberação e absorção do fármaco; a cavidade bucal; esôfago; intestino; delgado; intestino grosso que é subdividido em ceco, cólon, reto e ânus; sendo o ceco e o cólon as principais partes de absorção do intestino grosso (Ahadian *et al.*, 2020). Todos esses lugares possuem baixa permeabilidade de substâncias estranhas como os fármacos, pois possuem fatores que influenciam: glândulas que secretam enzimas, muco e ácido. Sendo que a organização do muco com o epitélio intestinal fica como uma escova em matriz lipídica. A acidez estomacal é muito elevada, pH de 0,8 – 5 (Ahadian *et al.*, 2020).

Estas barreiras bioquímicas criam um ambiente hostil para dissolução e absorção do fármaco. As degradações enzimáticas no estômago com as amilases, lipases e proteases, junto com a acidez estomacal causam uma perda de 94 a 98% dos fármacos por desaminação, oxidação ou hidrólise (Ahadian *et al.*, 2020). No intestino delgado, enzimas como: tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidases e elastases em altas concentrações são mais um desafio para o princípio ativo alcançar seus níveis séricos desejados. No cólon as oportunidades são maiores para absorção, mas além de passar pelos desafios anteriores, existe uma diferença de pH das outras regiões, sendo um pH mais neutro de 6 a 6,7 e a difusão pela camada de muco não é algo tão simples (Ahadian *et al.*, 2020).

Essa camada de muco possui uma estrutura viscoelástica e hidrogel, formando uma barreira semissólida de difícil penetração desde o lúmen intestinal até o epitélio subjacente. São duas camadas de muco que limitam a interação do fármaco com o epitélio: camada externa, que é mais frouxa e a camada mais interna que é mais aderente (Ahadian *et al.*, 2020). Quem secreta esse muco são as células caliciformes, que fazem uma renovação do muco a cada 24/48 horas para eliminar compostos nocivos e bactérias potencialmente infectantes. São as mucinas, glicoproteínas, que tornam esse gel extremamente viscoso, mas a presença de proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, lipídios, sais minerais, anticorpos e

enzimas, tornam esse ambiente extremamente competitivo para o fármaco (Ahadian *et al.*, 2020). Portanto, estruturar um fármaco que ultrapasse mais essa barreira com maior facilidade é extremamente importante.

O epitélio intestinal forma uma barreira de permeabilidade celular, para regular a passagem de substâncias entre as células e evitar colonização e proliferação de bactérias patogênicas no lúmen intestinal. Esse epitélio possui pregas intestinais e as junções estreitas, compostas por 3 tipos celulares: enterócitos (que são as células mais abundantes e são responsáveis pela absorção de água e nutrientes), células caliciformes (10 a 20% das células intestinais e secretam muco) e as células *Microfold* (são 1% das células, estão localizadas nas placas de *Peyer*, coletando antígenos), estas últimas células são um alvo terapêutico importante, pois não possuem muito muco em seu entorno (Ahadian *et al.*, 2020).

Existem diferentes vias de absorção para que os fármacos alcancem as vias de circulação sistêmica: via transcelular, via paracelular, absorção linfática e endocitose mediada por receptores ou transcitose. A Via Transcelular é através de difusão passiva ou transporte ativo, no interior das células epiteliais. Via Paracelular através das junções estreitas, entre as células epiteliais, mais específicas para moléculas hidrofílicas e pequenas. Absorção linfática é arquitetada pelas células *Microfold* nas placas de *Peyer*, ótima opção para moléculas maiores. Transcitose por moléculas específicas que utilizam receptores e transportadores específicos (Ahadian *et al.*, 2020).

As técnicas de microfabricação de fármacos estão sendo planejadas e implementadas porque possuem uma facilidade de modelagem. Podendo então combinar diferentes características dos fármacos e excipientes, facilitando a incorporação do princípio ativo e dos excipientes, melhorando também o alvo terapêutico. Com isso possibilitando incluir diferentes tamanhos e formas que aumentam a superfície de contato do fármaco com o trato gastrointestinal, otimizando seu sistema de liberação e contato com o alvo terapêutico (Ahadian *et al.*, 2020). Estas tecnologias farmacêuticas podem ser ainda mais adaptadas e responsivas a bioestímulos. Tendo além das aplicações de liberação de fármacos, estas micros e nanotecnologias, oferecem vantagens na geração de protótipos biomiméticos do trato gastrointestinal, integrando pistas fisiológicas, fluxo estruturas biomiméticas, também auxiliando na engenharia de tecidos (Ahadian *et al.*, 2020).

São vários métodos para a fabricação de sistemas em micro e nanoescalas para a liberação de fármacos: emulsão, montagem, fotolitografia, replicação por molde, usinagem em microescala, fresagem em microescala, deposição, *etching* e ablação a laser (Ahadian *et*

al., 2020). Estas são algumas técnicas que auxiliam na montagem de uma micro ou nano partícula.

2.6 Polímeros de polimetacrilatos

O Eudragit® são polimetacrilatos, que são polímeros sintéticos catiônicos, aniônicos e neutros de metacrilatos de dimetilaminoetila, ácido metacrílico e ésteres de ácido metacrílico em diferentes proporções (Nikam *et al.*, 2023; Patra *et al.*, 2017). Eles estão disponíveis comercialmente por vários sinônimos, além do Eudragit®, como: Acryl-EZE, Acryl-EZE MP, Eastacryl 30D, Kollicoat MAE 30D, Kollicoat MAE 30 DP, metacrilatos poliméricos e polímeros do metacrilato (Patra *et al.*, 2017). As diferentes polimerizações de ácidos acrílicos e metacrílicos, ou seus ésteres, produzem diferentes tipos de Eudragit®. Estes polímeros irão apresentar diferentes vantagens na construção da formulação terapêuticas, principalmente na proteção e liberação do princípio ativo. São compostos biodegradáveis ou não, biocompatíveis, fáceis de eliminação corporal e melhoram a estabilidade e a liberação controlada/programada do fármaco (Nikam *et al.*, 2023). Cada polímero possui propriedades singulares, que possibilitam a formação de várias formulações diferentes em nano e microtecnologias, para aplicação pretendida como: distribuição, tamanho, solubilidade, flexibilidade e permeação controlada (Nikam *et al.*, 2023; Patra *et al.*, 2017).

Cada Eudragit® possui uma diferente seletividade para atingir o trato gastrointestinal em diferentes pontos, intestino delgado, cólon e intestino grosso (Nikam *et al.*, 2023). Esses copolímeros são utilizados normalmente para revestimento de comprimidos orais, e também em cápsulas, tanto para proteção como também para aprimorar a liberação, deixando-a mais controlada e programada. São compostos usados também para a formulação de fármacos que utilizam proteínas como princípios ativos, pois auxiliam na proteção contra o ambiente ácido do estômago, por exemplo (Nikam *et al.*, 2023). São considerados materiais atóxicos e não irritantes. Incluídos como ingredientes seguros e inativos pelo FDA, no uso de cápsulas e comprimidos, pontuando que uma ingestão diária de 2mg/Kg em peso corporal humano é considerada essencialmente uma dosagem segura (Patra *et al.*, 2017).

O Eudragit® L100 é um pó branco, sólido, com odor suave e característico. É aniônico e sua base é de ácido metacrílico e ácido metil metacrílico, o seu peso molecular é de 125.000 g/mol, sua acidez é de 315 mg/ KOH/g de polímero e sua temperatura de transição vítrea é maior que 150 °C. Seu alvo de liberação é o jejuno, que possui um pH em torno de 6,0; dissolvendo a formulação e liberando o princípio ativo (Nikam *et al.*, 2023; Patra *et al.*,

2017). Muito utilizado para formulações como: microesferas, microesponjas, nanopartículas, lipossomas, lipotomos, comprimidos e etc. Muitas pesquisas são feitas para utilização como proteção da insulina e também melhorando sua permeação no jejuno, melhorando sua biodisponibilidade (Patra *et al.*, 2017). O Eudragit® L100 mostra ser um sistema de liberação e proteção de insulina muito promissor, visto que seu perfil foi de liberação dependente de pH, conforme a pesquisa de Li *et al.*, 2014, melhorando a absorção da insulina e diminuindo a glicose circulante em ratos. Solventes recomendados são acetona e álcool, sua solubilidade em água é dependente do pH 6 (Patra *et al.*, 2017 e Li *et al.*, 2014).

Eudragit® S100 é um polímero aniônico, e sua base é de ácido metacrílico e metacrilato de metila. Também é um pó branco com odor característico. Seu peso molecular é de 125.000 g/mol, seu índice de acidez é de 190 mg/ de KOH/g e sua temperatura de transição vítrea é de + 150 °C. Sua dissolução acontece em pH em torno de 7,0. Utilizado em fármacos para direcionar suas absorções no cólon. Muito utilizado em adesivos transdérmicos, nanopartículas, micropartículas, microbalões, dispersões sólidas e cristais esféricos (Zhan *et al.*, 2014; Nikam *et al.*, 2023; Patra *et al.*, 2017). Sendo o S100 o potencial direcionador de drogas no cólon, principalmente para pacientes que fazem quimioterapia para o tratamento de câncer de cólon. Os solventes recomendados são acetona e álcool, sua solubilidade em água é dependente do pH (Patra *et al.*, 2017; Nikam *et al.*, 2023 e Li *et al.*, 2014).

Eudragit® RS30D é um copolímero neutro de acrilato de etila, metacrilato de metila e um baixo teor de éster de ácido metacrílico com grupos amônio quaternário. O solvente recomendado é água, fazendo o intumescer para ter uma permeabilidade controlada, sendo então insolúvel em água pura (Patra *et al.*, 2017 e Nikam *et al.*, 2023). Esses grupos amônios estão presentes como sais, que melhora sua solubilidade, deixando mais permeável. É um líquido branco de baixa viscosidade, de cor branca leitosa e com odor leve e característico. É comercializado na forma de dispersão aquosa a 30%, seu peso molecular é de 32.000 g/mol. Possuem baixa permeabilidade independente do pH, devido ao seu intumescimento. Um polímero muito utilizado na formulação de medicamentos que precisam ter uma liberação lenta e sustentada. Usado na formulação de pellets e pellets osmoticamente acionados (Zhang *et al.*, 2014).

Visto a característica e o comportamento diferenciado de cada polímero na variação de pH, cada um deles foi escolhido para verificar as diferentes formas de interação com a insulina e trato gastrointestinal. A característica do RS30D devido ao seu intumescimento em diferentes valores de pH. O L100 pela sua liberação e dissolução em pH 6, liberando o

fármaco com maior facilidade no jejuno. O S100 pela sua dissolução em pH 7, facilitando a liberação da insulina no cólon.

Na tabela 1 abaixo, formulada pelo próprio autor, verifique a comparação dos 3 tipos de Eudragit utilizados para a caracterização do encapsulamento e efeito protetor dos metacrilatos na formulação de insulina oral.

Tabela 1 – Comparativo dos 3 tipos de Eudragit® L100, S100 e RS30D, utilizados para o revestimento da molécula de insulina.

EUDRAGIT®	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	CARGA ELÉTRICA	POLÍMERO BASE	PESO MOLECULAR	ÁREA DE LIBERAÇÃO pH de liberação do PA	ÍNDICE DE ACIDEZ	TEMP. VITREA	SOLVENTES	UTILIZAÇÕES
L100	Pó branco, com odor suave e característico	Aniônico	Ácido metacrílico e ácido metil metacrílico	125.000 g/mol	Jejuno/ 6,0	315 mg/KOH/g	> 150 °C	Acetona e álcool. Sua solubilidade em água é dependente do pH 6,0	Microesferas, microesponjas, nanopartículas, lipossomas, lipotomos, comprimidos
S100	Pó branco, com odor característico	Aniônico	Ácido metacrílico e metacrilato de metila	125.000 g/mol	Cólon/ 7,0	190 mg/KOH/g	> 150 °C	Acetona e álcool. Sua solubilidade em água é dependente do pH 7,0	Adesivos transdérmicos, nanopartículas, microbaldões, dispersões sólidas e cristais esféricos
RS30D	Líquido branco de baixa viscosidade, de cor branca leitosa e com odor lava e característico	Neutro	Acrilato de etila, metacrilato de metila e um baixo teor de éster de ácido metacrílico com grupos de amônio quaternário	32.000 g/mol	Possui baixa permeabilidade independente do pH, devido ao seu intumescimento	*	> 65 °C	Solvente recomendado é água, fazendo o intumescer para ter uma permeabilidade controlada. Sendo insolúvel em água pura.	Um polímero muito utilizado na formulação de medicamentos que precisam ter uma liberação lenta e sustentada. Usado na formulação de pellets e pellets osmoticamente acionados

Fonte: O autor

2.7 Métodos de *spray drying*

A técnica *spray drying*, ou secagem por aspersão, é uma tecnologia amplamente utilizada na indústria farmacêutica, química, cosmética e alimentícia para transformação de líquidos, pastas ou géis em pós secos (Wong *et al.*, 2018). Utilizada muito em substâncias extremamente sensíveis ao calor (Wong *et al.*, 2018). Além de ser adaptada para fabricar micropartículas dependendo do tamanho do bico atomizador utilizado (Wong *et al.*, 2018).

Esse processo envolve principalmente três etapas principais. Primeiro a atomização do líquido, seja ele uma solução, emulsão ou suspensão, que está em constante agitação, é bombeado e aspergido em gotículas muito finas por meio de um bico atomizador. Essas gotículas aspergidas entram em contato com a corrente de ar quente, que rapidamente faz a água ou solvente evaporar. A temperatura utilizada vai depender do material utilizado. No

terceiro momento, o pó seco é coletado e separado do ar quente por ciclones ou filtros nas câmaras de coleta (Wong *et al.*, 2018).

Este método é extremamente vantajoso, pois consiste em uma formação rápida e eficiente da partícula microparticulada, produz um pó com boa fluidez e compatibilidade, preserva as propriedades sensíveis, através do bico atomizador consegue-se um tamanho preciso do tamanho das partículas e é um processo relativamente fácil de reproduzir (comparando com outras tecnologias farmacêuticas), contínuo e escalonável para a produção industrial.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Produzir insulina microparticulada utilizando 3 tipos de polímeros: Eudragit® RS30D, Eudragit® S100 e Eudragit® L100, através da técnica de secagem por aspersão, *spray drying*. Caracterização do efeito protetor e de revestimento dos 3 tipos de Eudragit®.

3.2 Objetivos Específicos

- Produzir um revestimento que proteja a insulina oral;
- Produzir um compósito piloto para formulação de insulinas orais;
- Analisar qual polímero de polimetacrilato é mais adequado;
- Produção de insulina microparticulada escalonável para indústria farmacêutica;
- Verificar a interação molecular entre a insulina e o polímero;
- Analisar a capacidade de revestimento e proteção do Eudragit® L100, Eudragit® S100 e Eudragit® RS30D com a insulina;
- Realizar testes de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo FEG-SEM (*Field Emission Gun Scanning Electron Microscope*) para validação;
- Caracterização da micropartícula de insulina através do FTIR (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier), para validação da micropartícula de insulina;
- Caracterização da amostra pelo Teste Zeta ou Potencial Zeta para validação;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenvolvimento de micropartículas de insulina

A preparação das micropartículas de insulinas com Eudragit®, também apenas as micropartículas de Eudragit® foram preparadas separadamente, uma em cada dia, devido ao uso do equipamento de *spray dryer* (Marca LM – Modelo LS MSD 0.5). Pois a cada utilização o equipamento deve ser higienizado e seco, para ser novamente reutilizado.

Os polímeros de Eudragit® (Evonik Rohm GmbH e Co. KG, Darmstadt, Alemanha) S100, L100 e RS30D foram pesados separadamente, aproximadamente 3,6g cada um. Em seguida, separadamente, em um becker foram previamente dissolvidos em 100 mL de solução fisiológica estéril (Equiplax, Aparecida de Goiânia, Brasil). Sob agitação magnética (Bel Engineering, AM-12, Piracicaba, Brasil, 2024) e com o auxílio de uma seringa, foi acrescentada lentamente aproximadamente 120 mL (12 frascos) a insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma (Biocom Limited, Bangalore, Índia). Essa formulação foi seca utilizando o equipamento de *spray dryer* - Marca LABMAQ – Modelo LS MSD 0.5 (Ribeirão Preto – Brasil). Foram utilizados os seguintes parâmetros operacionais: pressão de ar de atomização de $1,68 \text{ kgf.cm}^{-2}$, vazão de $0,22 \text{ L.min}^{-1}$ e temperatura do ar de saída de $60 \pm 5^\circ\text{C}$. Os pós foram cuidadosamente recuperados, pesados e armazenados sob refrigeração até o momento do uso.

Para controle negativo as micropartículas dos Eudragit® S100, L100 e RS30D, foram preparadas da mesma forma, mas sem a adição de insulina. Rigorosamente recuperados, pesados e armazenados sob refrigeração até o momento do uso.

4.2 Análise de Tamanho da Partícula, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta

O diâmetro médio, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta foram medidos por DLS e eletroforese de mobilidade (Zetasizer Nano ZS, Malvern) por Micro-eletroforese de Laser Doppler. Amostras foram diluídas (1:100) em água Milli-Q a 25°C . Resultados são a média $\pm$ DP de três medições independentes.

Potencial zeta sinaliza a diferença de potencial elétrico entre a superfície da molécula analisada, com o fluído em que ela está suspensa. Caracterizando a estabilidade da molécula em questão (Koga *et al.* 2021). Resultados de potencial zeta entre 0 ± 5 tem alta instabilidade, valores entre ± 10 e ± 30 significam instabilidade, entre ± 30 a ± 40 moderadamente estáveis e entre ± 40 e ± 60 altamente estáveis (Amgoth *et al.*, 2014). As micro e nanopartículas

tendem-se aglomerar, sedimentar ou cristalizar. Isto porque as micro e nanopartículas criam uma energia superficial alta, que causa uma instabilidade termodinâmica (Koga *et al.*, 2021).

A polidispersão é um índice que indica o grau de uniformidade do tamanho das partículas na amostra analisada. Valores menores que 0,05 indicam uma monodispersão, ou seja, partículas homogêneas de mesmo tamanho e valores maiores que 0,7 representam uma variação muito grande de tamanho, apontando uma heterogeneidade no tamanho das partículas (Koga *et al.*, 2021).

O diâmetro médio das partículas também é analisado para identificarmos o tamanho médio das formulações de insulina, assim podendo enquadrar na escala de nano e micropartículas. Enfatizando que 10^{-9} m é 1nm e 10^{-6} m é 1 μ m, ou seja, 1 μ m significa 1.000 nm. Com esse escalonamento conseguimos afirmar se as partículas estão na escala de micro ou nanopartículas.

4.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

As micropartículas de insulina em diferentes polímeros e as micropartículas de apenas polímeros, foram analisados em triplicata por Espectrômetro de FTIR (Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier) modelo IRPrestige-21 com acessório de refletância difusa (SHIMADZU, Quito, Japão). As análises foram realizadas com 4 mg de amostra seca de micropartículas Eudragit® L100, Eudragit® S100 e Eudragit® RS30D, para o controle negativo; micropartículas de Eudragit® L100 + Insulina Regular, Eudragit® S100 + Insulina Regular e Eudragit® RS30D + Insulina Regular e 196 mg de KBr em intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , 32 scan.min^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} , analisadas separadamente. Também para o controle negativo e comparação, a insulina foi gotejada na pastilha de KBr para visualização do espectro.

4.4 Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura por canhão de emissão de campo (FEG-SEM)

As micrografias foram realizadas através do equipamento Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). As amostras também foram recobertas com ouro (metalizador IC-50 Ion Coater, SHIMADZU, Quioto, Japão) para avaliar as características morfológicas e o tamanho das partículas. Cada amostra de micropartículas de Eudragit® L100, Eudragit® S100 e Eudragit® RS30D, para o controle negativo; micropartículas de Eudragit® L100 + Insulina Regular, Eudragit® S100 + Insulina Regular e

Eudragit® RS30D + Insulina Regular; foram acondicionadas na superfície do Stub em fita preta e analisadas com revestimento de ouro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise do Tamanho de Partícula, Polidispersão e Potencial Zeta

O potencial zeta dos diferentes tipos de Eudragit® + insulina regular tiveram diferentes tipos de comportamento, mas mostraram uma similaridade. Esta similaridade foi a melhora de sua estabilidade, maior repulsão eletrostática, de acordo com os dias, D30 (30 dias após a preparação), D60 (60 dias após a preparação) e D90 (90 dias após a preparação).

Na tabela 2 conseguimos verificar que o potencial zeta do Eudragit® RS30D + insulina regular, foi ficando mais negativo, D30 de -17,5 e no D90 -29,8. Mas estes resultados ainda mostram uma instabilidade eletrostática nas amostras analisadas. Nesta mesma tabela verificamos que o Eudragit® L100 + insulina teve um valor melhor de potencial zeta, indicando uma melhor estabilidade, apontando -35,1 de potencial em D30, de -32,4 em D60 e de -39,4 em D90. O Eudragit® S100 + insulina mostrou também uma estabilidade com o passar dos dias. Em D30 seu potencial zeta foi de -28,6; já no D60 seu valor foi de -33,1 e em D90 foi de -36,0.

A análise estatística do Potencial Zeta, realizada por meio do teste de comparações múltiplas de Tukey, revelou diferenças significativas principalmente entre as formulações avaliadas nos mesmos períodos experimentais conforme demonstrado na tabela 2.

No 30º dia (D30), a formulação contendo Eudragit® RS30D apresentou valores de potencial zeta significativamente menos negativos quando comparada às formulações com Eudragit® L100 ($p = 0,0004$) e Eudragit® S100 ($p = 0,0313$). Esse padrão se manteve no 60º dia (D60), com diferenças relevantes entre RS30D e L100 ($p = 0,0014$) e entre RS30D e S100 ($p = 0,0138$). No 90º dia (D90), novamente, a formulação com RS30D apresentou potencial zeta menos negativo em relação a L100 ($p < 0,0001$) e S100 ($p = 0,0002$) conforme demonstrado no gráfico 1. Entre as formulações L100 e S100, observou-se diferença estatisticamente significativa apenas no D90, em que L100 exibiu potencial zeta mais negativo ($p = 0,0293$).

De forma geral, as micropartículas elaboradas com Eudragit® L100 apresentaram os valores de potencial zeta mais negativos ao longo do período de estudo, sugerindo maior repulsão eletrostática entre as partículas e, conseqüentemente, maior estabilidade coloidal. Em contrapartida, as micropartículas contendo Eudragit® RS30D mantiveram potenciais menos negativos em todos os tempos avaliados, indicando tendência aumentada à agregação e, portanto, menor estabilidade da formulação.

Esses resultados estão de acordo aos descritos na literatura, onde valores mais elevados (positivos ou negativos) de potencial zeta implicam forte repulsão eletrostática entre partículas adjacentes, o que favorece a estabilidade coloidal e inibe a agregação. Em contraste, potenciais zeta de baixa magnitude indicam repulsão fraca, tornando o sistema mais suscetível ao aglomeramento. Estes valores também confirmam as características de revestimento de cada Eudragit®.

As formulações com polímeros do tipo Eudragit®, verificou-se que o aumento absoluta do potencial zeta (mais negativo) relaciona-se com maior estabilidade ao longo do tempo, como é o caso de formulações com Eudragit® L100 que demonstraram que potenciais zeta elevados contribuíram para a estabilidade coloidal ao reduzir tendências de agregação (Padilha *et al.*, 2025). Também em estudos com o Eudragit® L100 observa-se um zeta mais negativo indicando menor tendência de floculação e dispersão mais estável (Sy *et al.*, 2024).

Tabela 2 - Resultados do Potencial Zeta (mV), diâmetro médio (nm) e polidispersão das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma

	<i>Diâmetro médio(nm)</i>	<i>PDI</i>	<i>Zeta</i>
<i>RS30D + Insulina D30</i>	1131,0 ± 446,6	0,546 ± 0,173	-17,5 ± 4,14
<i>RS30D + Insulina D60</i>	438,6 ± 860,76	0,625 ± 0,324	-24,8 ± 4,46
<i>RS30D + Insulina D90</i>	427,6 ± 204,56	0,532 ± 0,230	-29,8 ± 5,09
<i>L100 + Insulina D30</i>	521,8 ± 100,2	0,764 ± 0,151	-35,1 ± 1,40
<i>L100 + Insulina D60</i>	449,9 ± 10,93	0,552 ± 0,041	-32,4 ± 3,09
<i>L100 + Insulina D90</i>	479,4 ± 35,32	0,474 ± 0,046	-39,4 ± 3,65
<i>S100 + Insulina D30</i>	350,7 ± 23,2	0,540 ± 0,058	-28,6 ± 3,68
<i>S100 + Insulina D60</i>	334,6 ± 14,64	0,419 ± 0,039	-33,1 ± 2,40
<i>S100 + Insulina D90</i>	878,1 ± 320,58	0,829 ± 0,154	-36,0 ± 3,44

Fonte: O autor.

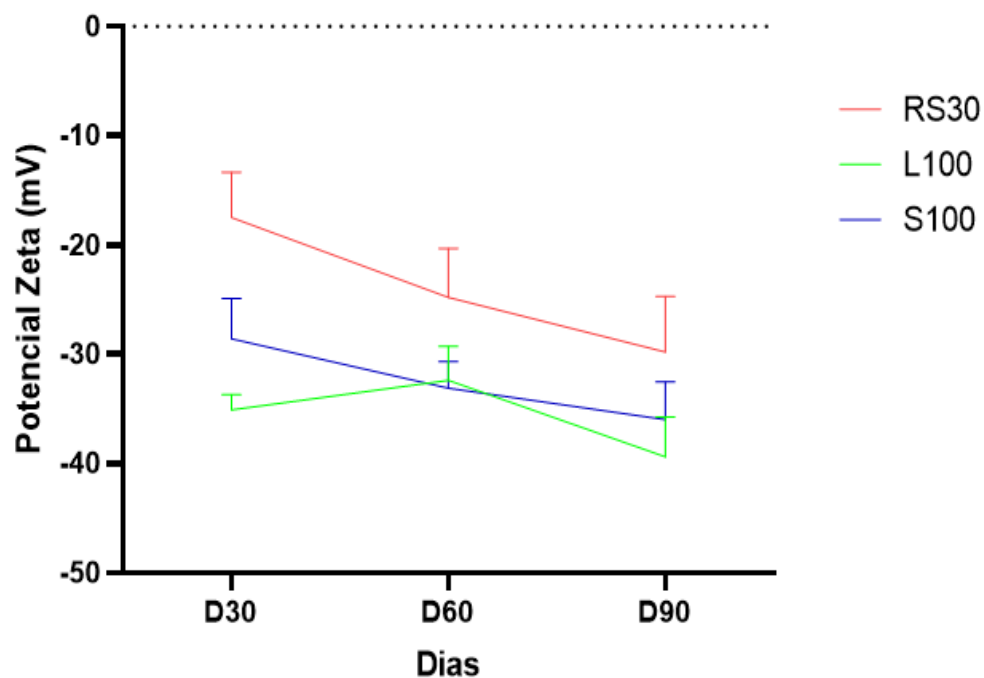
A análise do PDI (índice de polidispersão) não revelou diferenças estatisticamente significativas entre as formulações e tempos avaliados conforme indicado pelo teste de Tukey (todas as comparações com $p > 0,05$), indicando que a distribuição de tamanhos de partículas se manteve estável durante o período de análise. O gráfico 2 evidencia que não houve variação de tamanho das partículas da formulação.

A formulação de Eudragit® S100 + insulina no 90º dia teve uma alteração, no qual o resultado da aferição de PDI foi muito superior ao 30º e 60º dia. Conseguimos verificar isso no gráfico 2. Como são formulações microparticuladas, a tendência dessas partículas é aglomeração e a sedimentação. Posto isto, somado com o resultado do diâmetro aumentado a

probabilidade de ter ocorrido uma aglomeração mais intensa, aglutinando as micropartículas da formulação.

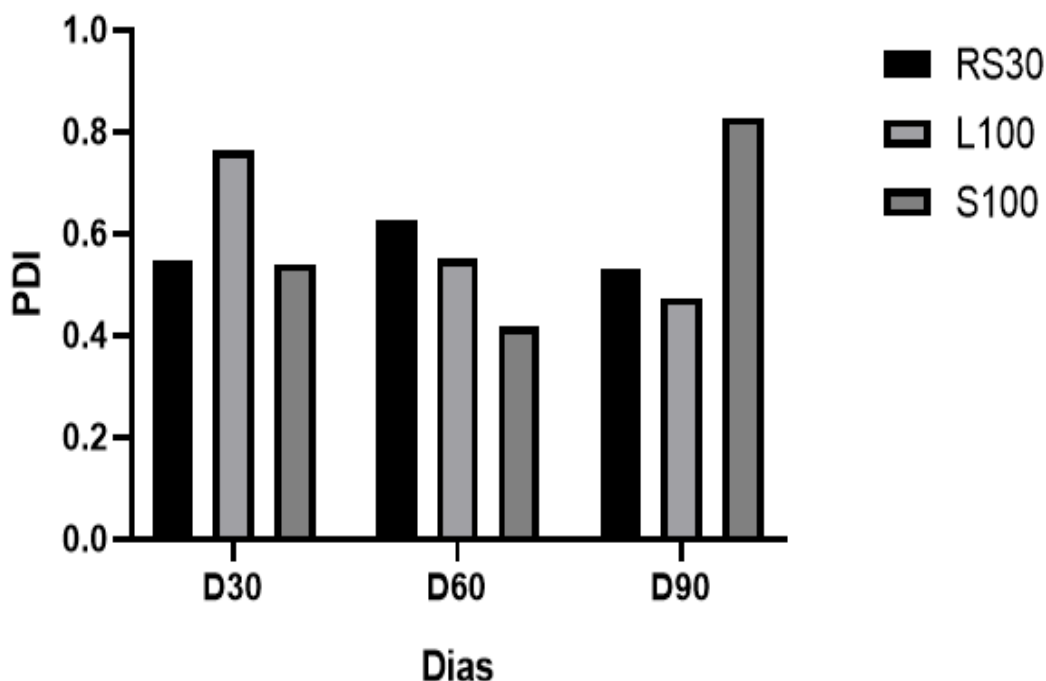
No gráfico 3 formado com as informações da tabela 01, verifica-se que a formulação do RS30D foi a que obteve os maiores tamanhos, no D30 acima dos 1.000 nm e no D90 a formulação com S100 teve o maior tamanho 878,1 nm. A formulação com Eudragit® L100 é que obteve maior estabilidade na formação das micropartículas de insulina, não tendo muita variação em seu diâmetro.

Gráfico 1 - Medições do Potencial Zeta (mV) em D30, D60 e D90 dias das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma



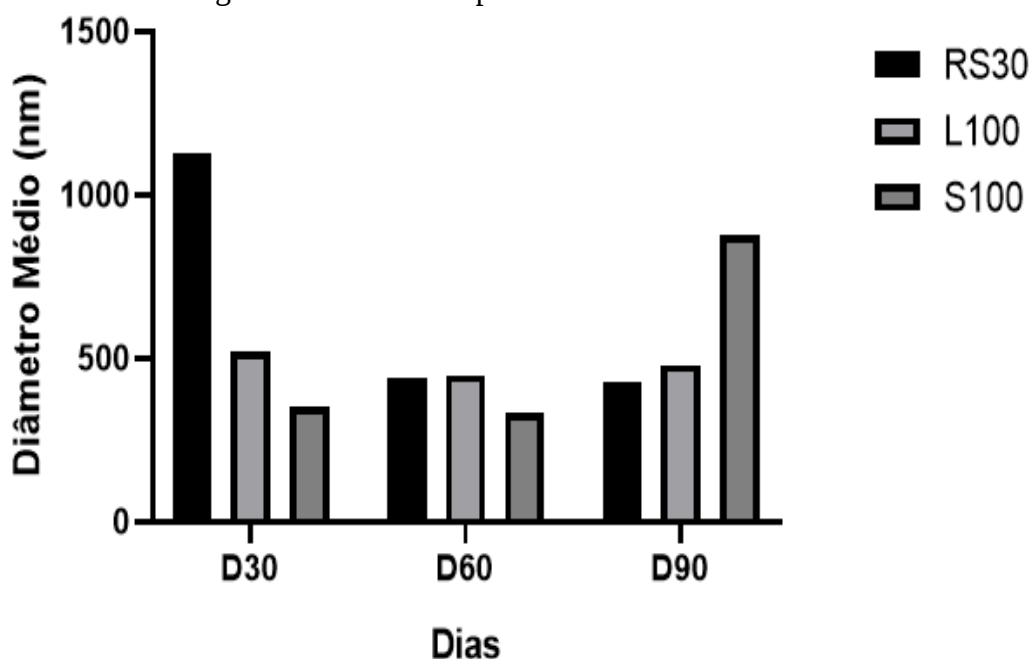
Fonte: O autor.

Gráfico 2 - Índice de Polidispersão aferidos em D30, D60 e D90 das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma



Fonte: O autor.

Gráfico 3 - Tamanho de partícula, diâmetro médio. Aferições em D30, D60 e D90 dias das micropartículas de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma; Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma



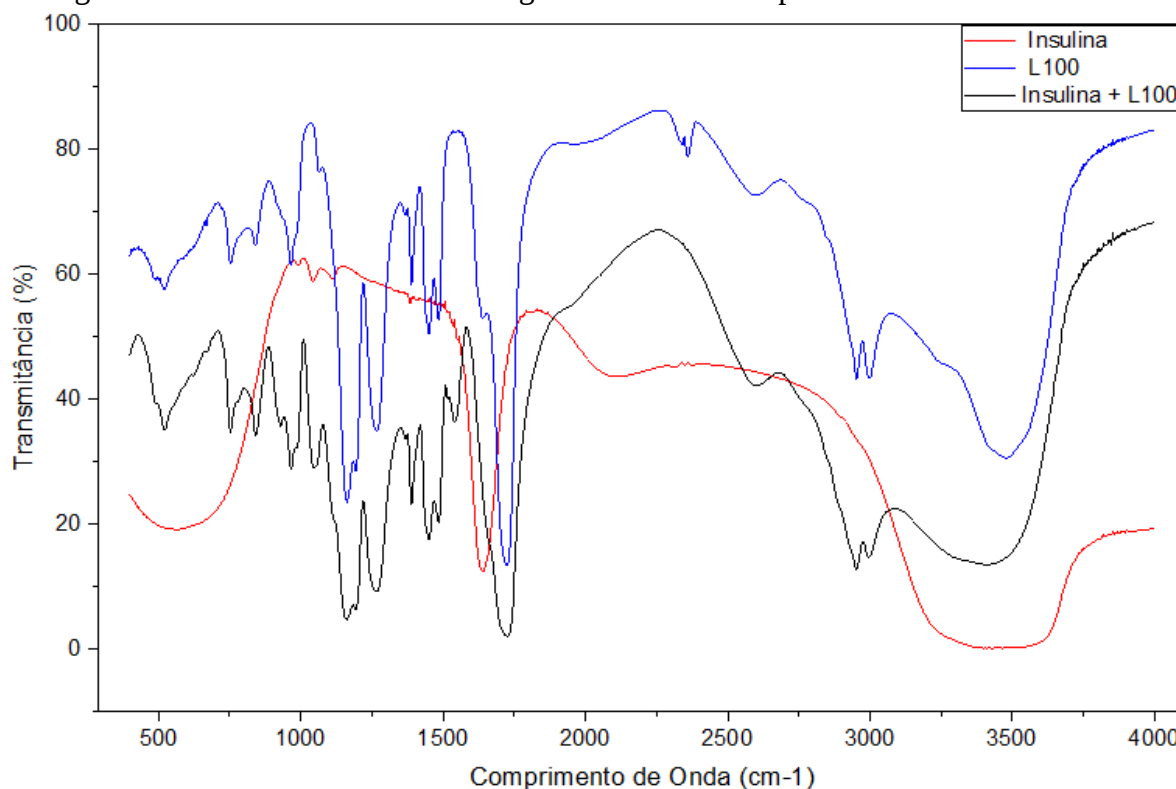
Fonte: O autor.

5.2 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

A análise por FTIR foi realizada para analisar as interações entre a insulina e os diferentes polímeros de Eudragit®. No caso de L100 (Gráfico 4), a comparação dos espectros individuais da insulina (vermelho), do L100 (azul) e da mistura insulina: L100 (preto) mostra alterações nos espectros compatíveis com a associação da proteína-polímero. Na faixa de 3200–3400 cm^{-1} , observa-se uma banda de O–H e N–H, pico próximo a $\approx 3300 \text{ cm}^{-1}$ na insulina e o alargamento / deslocamento para $\approx 3200 \text{ cm}^{-1}$ na mistura são coerentes com formação de ligações de hidrogênio entre grupos amida da proteína e grupos carboxílicos/hidroxila do polímero o que é um parâmetro clássico atribuída a padrão de FTIR aplicada a proteínas (Barth, 2007).

Na região 1700–1750 cm^{-1} , o L100 apresenta estiramiento C=O de éster/carboxilatos ($\sim 1725\text{--}1730 \text{ cm}^{-1}$) enquanto a insulina exibe a banda Amida I em torno de 1650–1655 cm^{-1} , já na mistura é visto ambas as bandas com redução da intensidade e deslocamento de 1645–1650 cm^{-1} sugerindo interação entre carbonila e grupo carboxílico, o que condiz com análises de espectroscopia de sistemas de proteína associada à polímero como também a micropartículas de insulina (Agarwal *et al.*, 2008).

Gráfico 4 - Comparação do resultado do FTIR do Hormônio Insulina, Eudragit® L100 e Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma

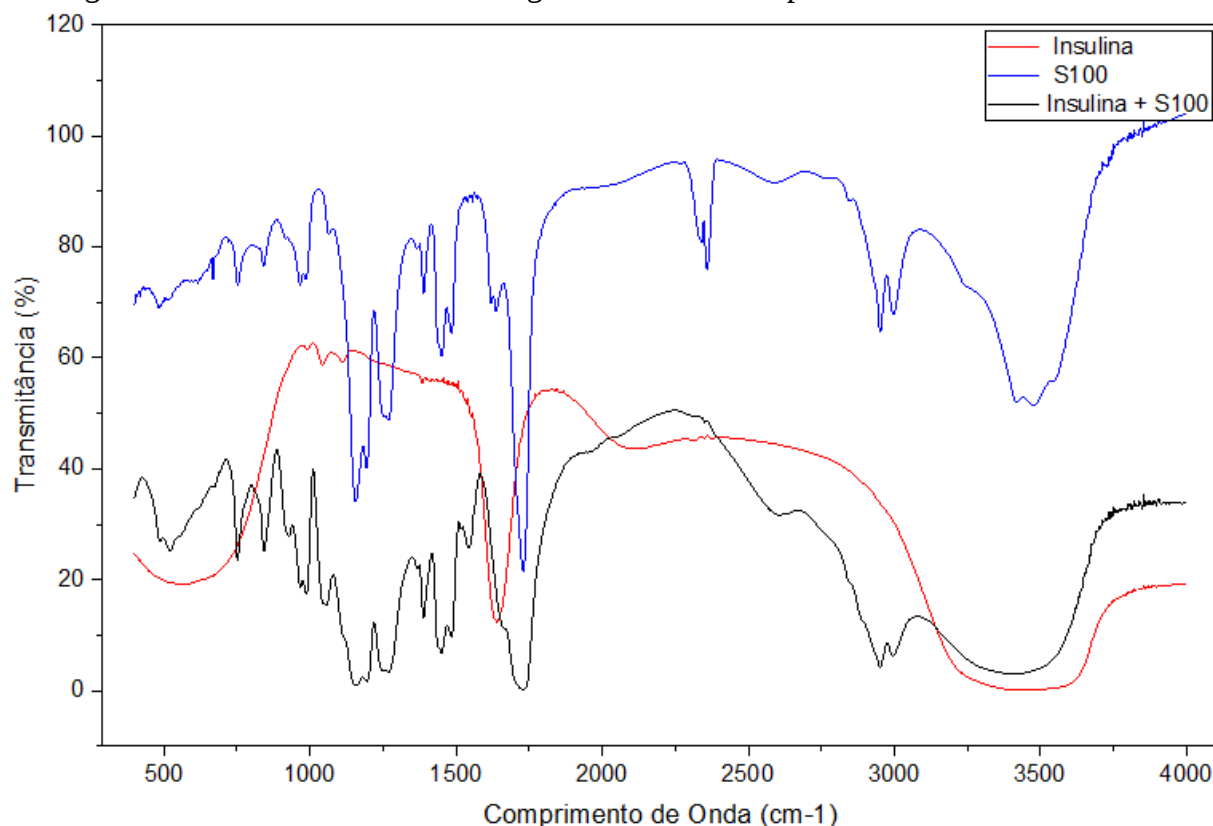


Fonte: O autor.

Na banda de 1500–1550 cm⁻¹ na insulina apresenta redução da intensidade e alargamento na mistura podendo sinalizar uma alteração conformacional da proteína associada ao polímero (Kong *et al.*, 2007). Já as absorções C–O / C–O–C do Eudragit® (≈1250 cm⁻¹) permanecem na amostra associada, indicando manutenção da estrutura e incorporação do L100, a qual pode se dar por ligações de hidrogênio e interação eletrostática (Nikam *et al.*, 2023).

A análise de FTIR do Eudragit® S100 (Gráfico 5) mostrou as mesmas bandas 3200–3400 cm⁻¹, referente O–H e N–H da amida. Já no espectro do polímero essa banda é mais intensa e desloca-se para frequências ligeiramente mais baixas, o que se relaciona à presença de um maior número de grupos carboxílicos protonados no polímero (Agrawal *et al.*, 2017).

Gráfico 5 - Comparação do resultado do FTIR do Hormônio Insulina, Eudragit® S100 e Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma



Fonte: O autor.

Na formação da micropartícula observa-se alargamento e o deslocamento dessa banda para $\sim 3250\text{ cm}^{-1}$, sugerindo o estabelecimento de interações por ligação de hidrogênio entre os grupos -COOH do polímero e os grupos amida da insulina (Agrawal *et al.*, 2017; Jain *et al.*, 2005). Na região de $1700\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$, observa-se a banda de estiramento C=O , característica dos grupos éster e ácido carboxílico do polímero ($\sim 1728\text{ cm}^{-1}$), enquanto a amostra pura de insulina apresenta a banda Amida I centrada em cerca de 1650 cm^{-1} (ligação C=O). Na micropartícula há uma redução da intensidade da Amida I e deslocamento para $\sim 1644\text{ cm}^{-1}$, compatível com a formação de ligações de hidrogênio e eventuais modificações conformacionais da estrutura secundária da proteína (Lopes *et al.*, 2015)

A banda Amida II ($\sim 1545\text{ cm}^{-1}$), correspondente às vibrações N-H e estiramentos C-N , apresenta redução de intensidade e maior largura na formulação, reforçando a hipótese de alteração do ambiente molecular em torno dos grupos amida devido à interação proteína/polímero. As bandas típicas do Eudragit® S100 na faixa de $1200\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ (C-O e C-O-C) permanecem visíveis, confirmando que a estrutura polimérica é preservada e não ocorrem reações químicas perceptíveis. A região abaixo de 1000 cm^{-1} (fingerprint) exibe

sobreposição intensa das bandas, sem surgimento de novos picos, indicando associação (Moreira *et al.*, 2025).

Em comparação, o sistema com Eudragit® RS30D exibe outro comportamento. Na região 3200–3400 cm^{-1} , a banda da mistura insulina + RS30D apresenta apenas leve redução de intensidade, sem deslocamento evidente, indicando interação limitada por ligações de hidrogênio. Entre 1700–1750 cm^{-1} , as bandas da Amida I ($\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$) e C=O do polímero permanecem praticamente inalteradas, com pequena redução de intensidade. Esse padrão sugere encapsulação predominantemente física, sem formação expressiva de novas interações intermoleculares. A região Amida II (1500–1550 cm^{-1}) também sofre pouca modificação, reforçando que a estrutura secundária da insulina é preservada.

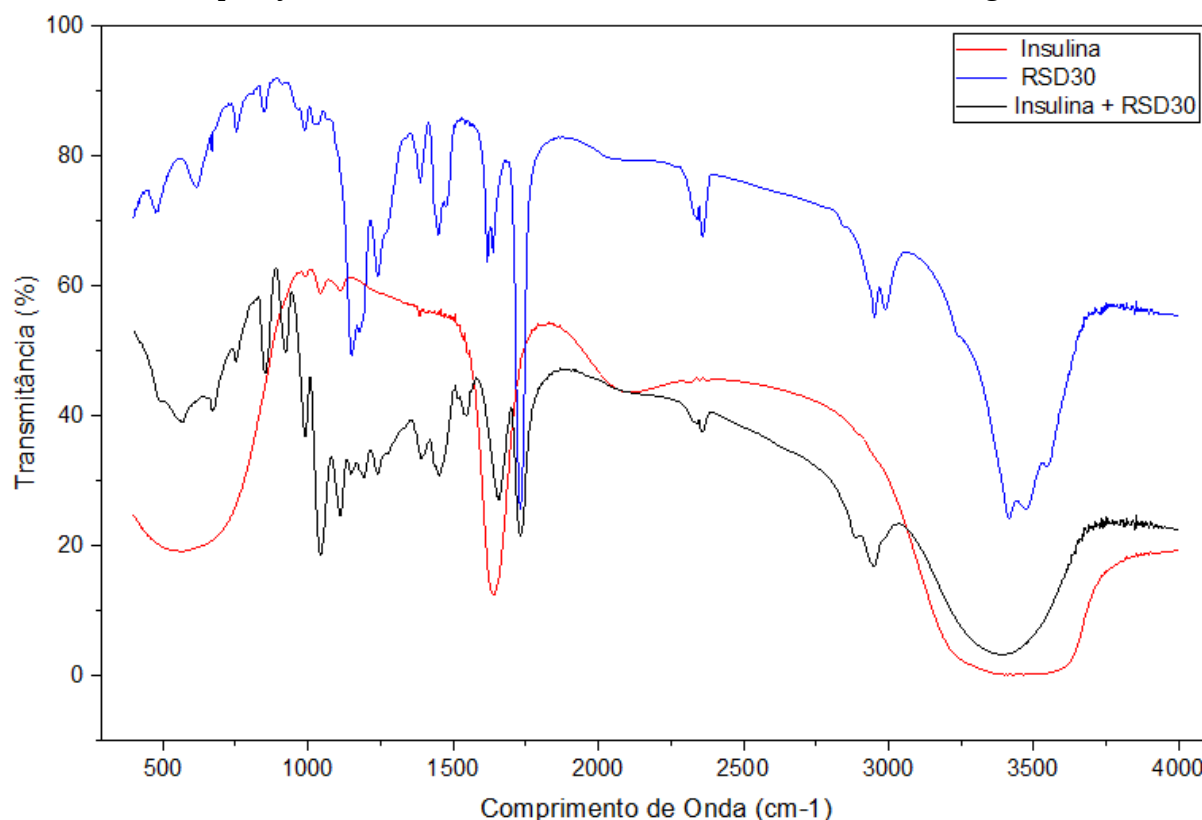
Já na faixa de $\sim 1250 \text{ cm}^{-1}$ correspondente a interação C-O-C e C-O que permanece visível o que indica a manutenção da estrutura química do polímero e uma barreira hidrofóbica oriunda do RS30D (Nikam *et al.*, 2023). Essa análise comparativa pelo FTIR dos três polímeros (S100, L100 e L100) permite avaliar as variações estruturais na influência da interação da insulina com o polímero. Todos os sistemas têm modificação nas bandas amida da insulina principalmente na banda entre 1650 cm^{-1} (Amida I) e 1545 cm^{-1} (Amida II), indicando alteração na molécula da proteína.

Como é observado no Eudragit® S100 há uma redução da intensidade da Amida I e deslocamento em relação ao espectro da insulina pura o que é compatível com as ligações de hidrogênio e associação entre os grupos carboxílicos do polímero e as cadeias da insulina (Agarwal *et al.*, 2008). Já a presença da banda 3200–3400 cm^{-1} corresponde ao estiramento O-H e N-H o que reforça a hipótese de formação de uma rede de ligações intermoleculares (Kong *et al.*, 2007).

Por outro lado, o Eudragit® L100 tem o mesmo comportamento, porém maior deslocamento da banda Amida I de ~ 1655 para $\sim 1645 \text{ cm}^{-1}$ e alargamento da Amida II $\sim 1545 \text{ cm}^{-1}$, podendo indicar uma maior interação entre grupos carboxílicos do L100 e as amidas da insulina possivelmente pelas características físico-químicas do próprio polímero (Nikam *et al.*, 2023).

Já o Eudragit® RS30D teve comportamento diferente devido seu caráter catiônico o que confere ao polímero presença de grupos amônio quaternário em sua estrutura. O espectro mostrou redução da banda Amida I e II juntamente com o alargamento na região de 3300 cm^{-1} mostrando as interações entre o grupo amônio do polímero juntamente com a insulina (Patra *et al.*, 2017).

Gráfico 6 - Comparação do resultado do FTIR do Hormônio Insulina, Eudragit® RS30D e



Fonte: O autor.

De forma geral, esses resultados apontam que todos os polímeros interagem com a insulina, porém com uma intensidade e mecanismos diferentes. Como por exemplo, os polímeros S100 e L100 apresentam predominância de interações via ligações de hidrogênio e forças eletrostáticas aniônicas, o RS30D se associa principalmente por atração eletrostática catiônica (Agarwal *et al.*, 2008). Já a intensidade de interação segue a tendência L100 > S100 > RS30D o que condiz com a natureza dos grupos funcionais de cada polímero juntamente com a interação com a insulina (Agrawal *et al.*, 2017). Essas diferenças estruturais entre os polímeros impactam na estabilidade da insulina e no perfil de liberação, sendo fatores determinantes para o desempenho para sistemas de liberação oral (Al Tahan *et al.*, 2025).

5.3 Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (*Field Emission Gun Scanning Eletron Microscopy- FEG-SEM*)

Na figura 1 o polímero Eudragit® L100 após a passagem pelo método de *spray drying*. Verifica-se que este polímero consegue formar uma cápsula mais arredondada, com a facilidade ancorar em seu interior fármacos para transporte e ação. Apesar de haver fragmentos disformes, a homogeneidade das partículas aparece com mais evidência.

Na figura 2 visualizam-se as imagens do copolímero de Eudragit® S100 realizadas após a passagem do S100 pelo método de *spray drying*. Nota-se que apesar de aparecer algumas estruturas mais ovais, o cisalhamento aconteceu com mais intensidade, mostrando uma baixa homogeneidade em tamanhos e formas.

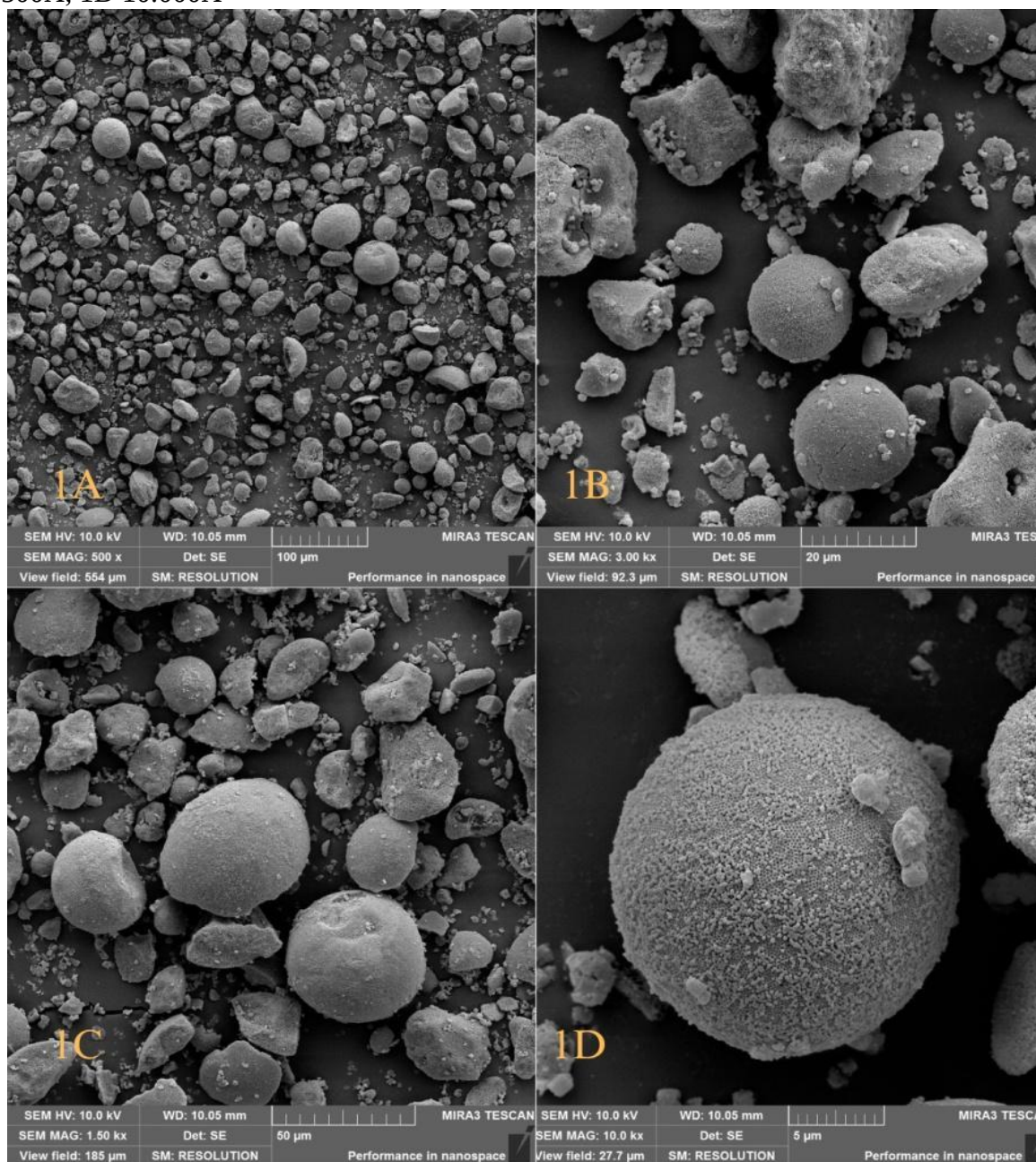
Na figura 3, visualiza-se o copolímero microparticulado de Eudragit® RS30D através do microscópio TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca, após a passagem pelo método de *spray drying*. Nota-se que existe uma heterogeneidade nas micropartículas de RS30D, e a sua forma não é ovalada, mas sim em forma de “tacho e boca”.

Na figura 4 observa-se a comparação da forma das micropartículas dos 3 Eudragit®: L100, S100 e RS30D. As fotos estão numeradas como: 4A L100 em 10.000X, 4B S100 em 10.000X e 4C RS30D em 30.000X.

Na figura 5 as fotografias do microscópio TESCAN, evidenciam a superfície dos 3 Eudragit®: L100, S100 e RS30D. As fotografias são: 5A L100 em 30.000X; 5B S100 em 30.000X e 5C RS30D em 60.000X, comparando a superfície e a forma de cada um dos polímeros a serem utilizados nas formulações das micropartículas de insulina.

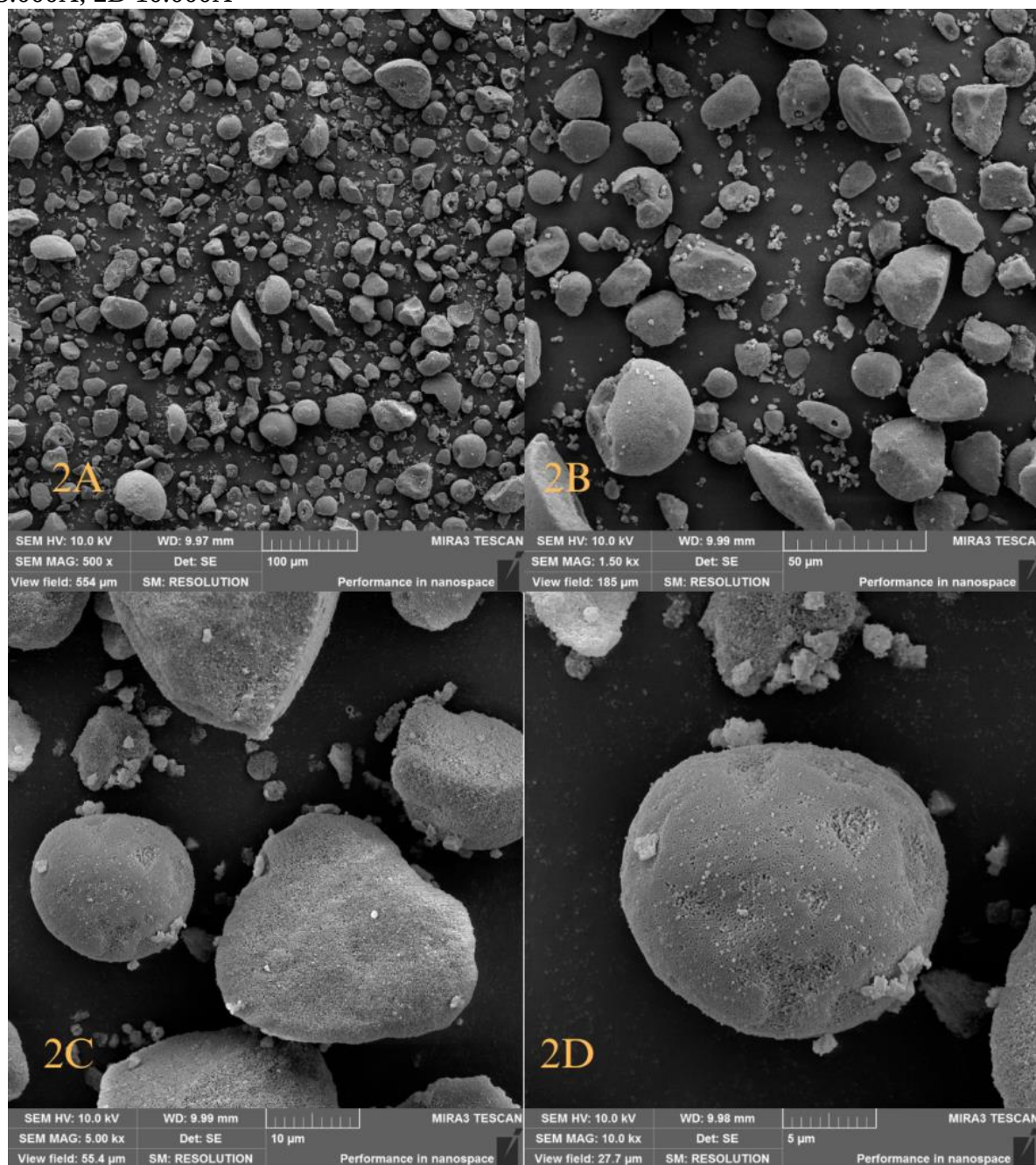
A figura 6 sinaliza 4 fotografias das estruturas microparticuladas da formulação de Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM em 4 aumentos diferentes 70X; 500X, 1.000X e 5.000X respectivamente. Nota-se que as formas ovaladas foram preservadas, e que também os tamanhos e formas são muito semelhantes. Confirmando os resultados do potencial zeta, índice de polidispersão e diâmetro médio.

Figura 1 – Copolímero microparticulado de Eudragit® L100, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 1A 500X; 1B 3.000X; 1C 1.500X; 1D 10.000X



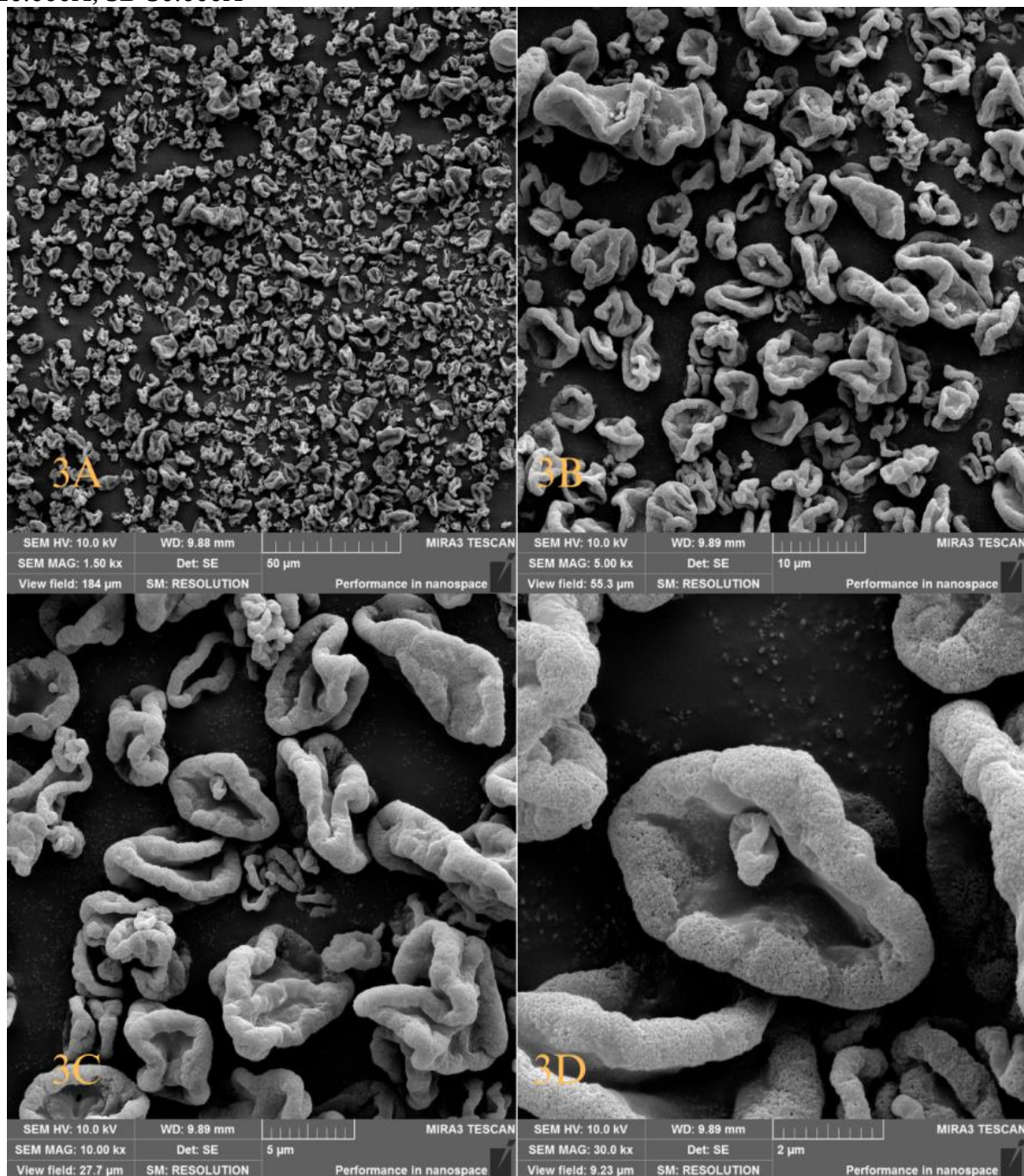
Fonte: O autor.

Figura 2 - Copolímero microparticulado de Eudragit® S100, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 2A 500X; 2B 1.500X; 2C 5.000X; 2D 10.000X



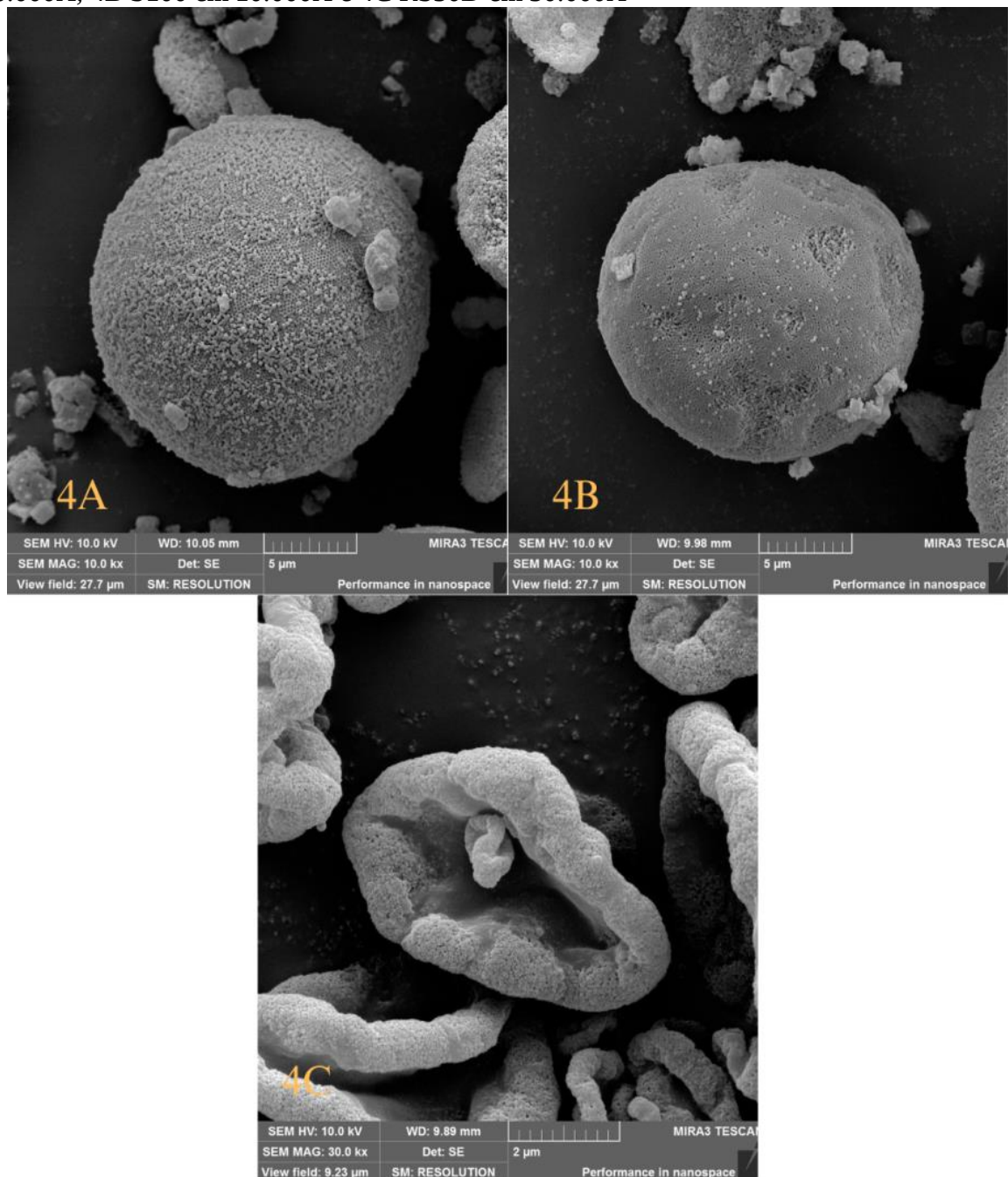
Fonte: O autor

Figura 3 - Copolímero microparticulado de Eudragit® RS30D, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 3A 1.500X; 3B 5.000X; 3C 10.000X; 3D 30.000X



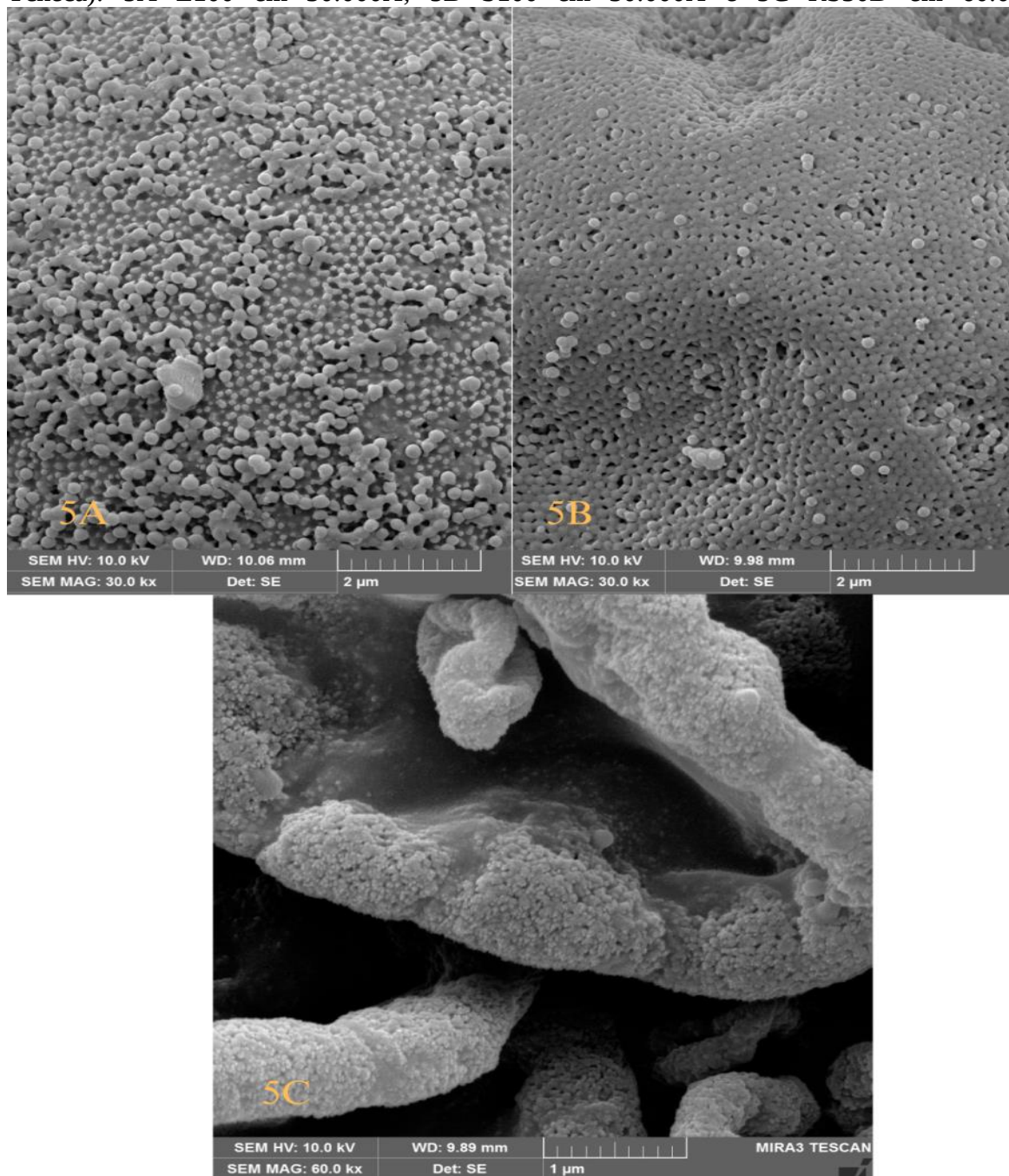
Fonte: O autor

Figura 4 – Comparação da forma dos 3 Eudragit®: L100, S100 e RS30D, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 4A L100 em 10.000X, 4B S100 em 10.000X e 4C RS30D em 30.000X



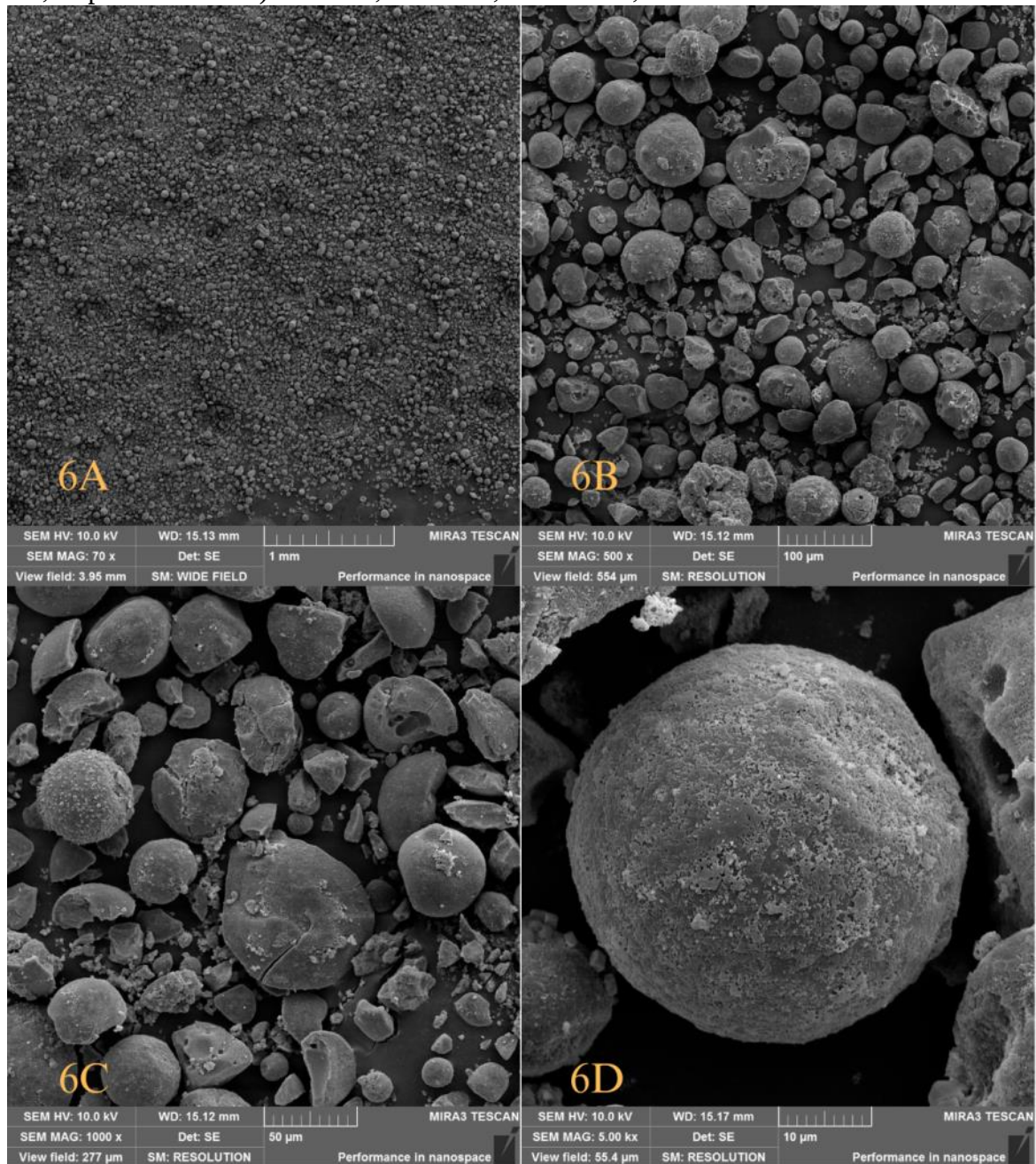
Fonte: O autor.

Figura 5 - Comparação da superfície da micropartícula dos 3 Eudragit®: L100, S100 e RS30D, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 5A L100 em 30.000X; 5B S100 em 30.000X e 5C RS30D em 60.000X



Fonte: O autor.

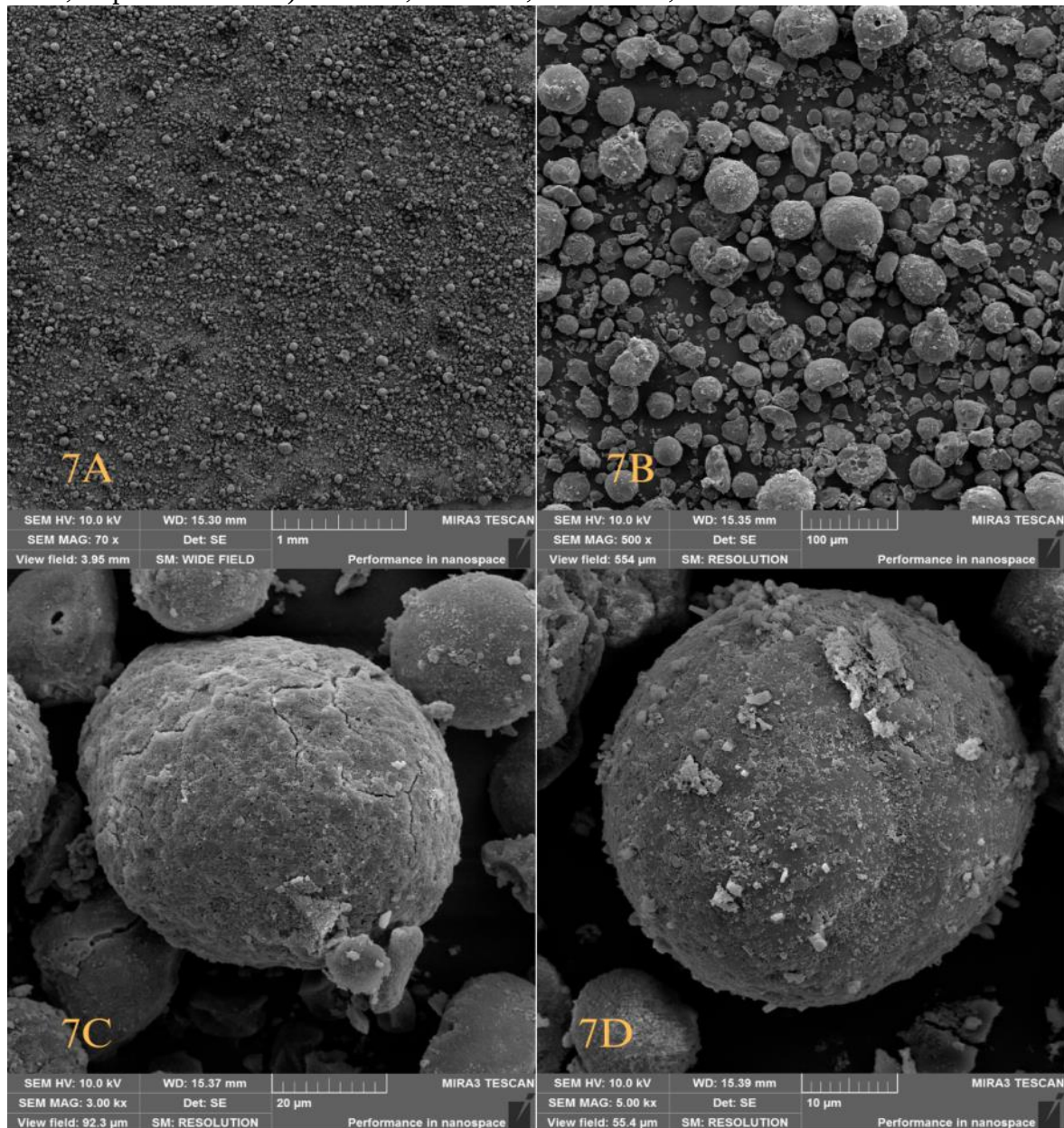
Figura 6 - Copolímero microparticulado de Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 6A 70X; 6B 500X; 6C 1.000X; 6D 5.000X



Fonte: O autor.

A figura 7 mostra a fotografia em 70X (7A); 500X (7B); 3.000x (7C) e 5.000x (7D) da formulação de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM. Uma amostra um pouco mais heterogênea em formas e tamanhos do que a formulação com L100. Mas com características físicas muito parecidas com a formulação com o L100.

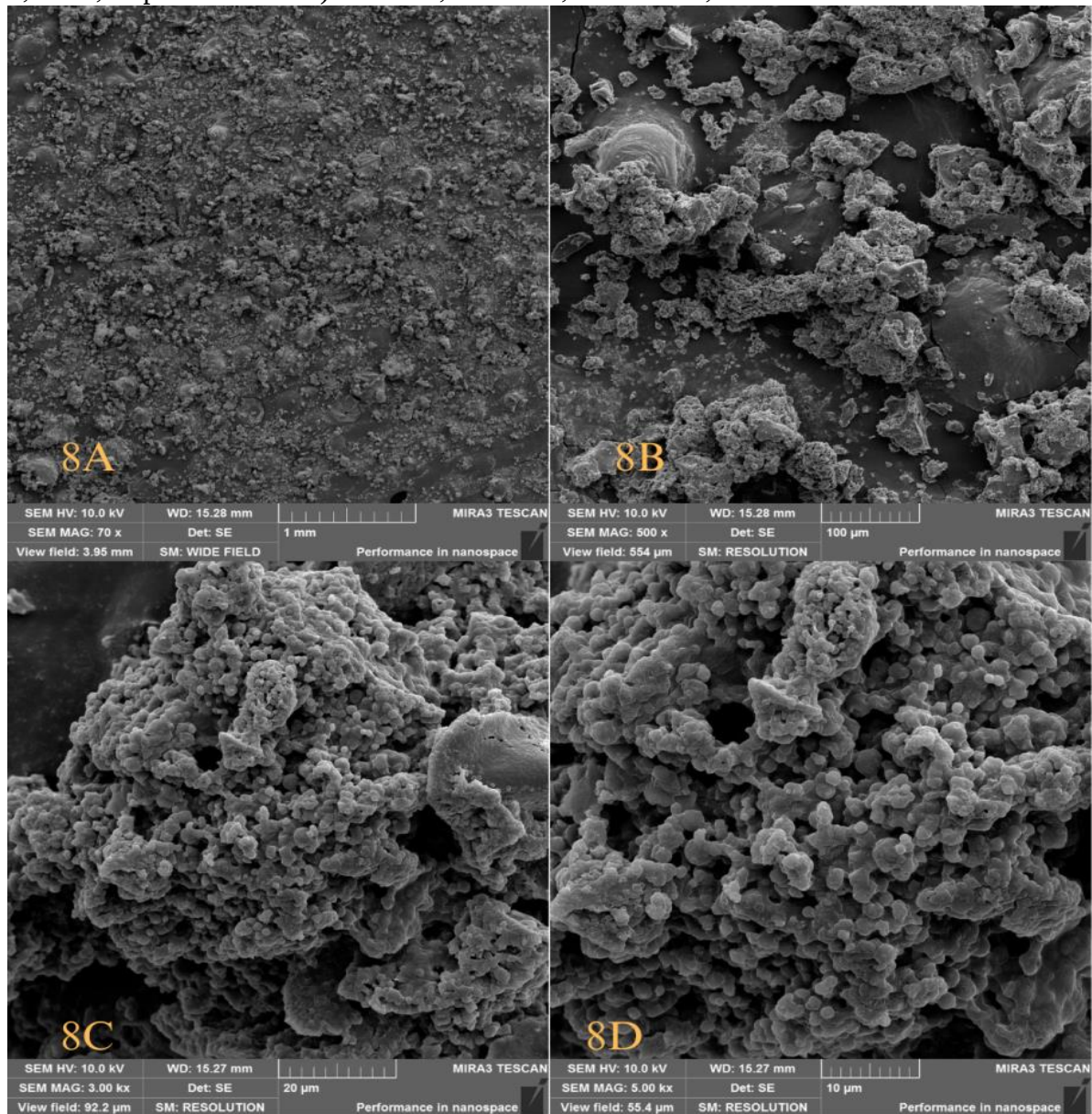
Figura 7 - Copolímero microparticulado de Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 7A 70X; 7B 500X; 7C 3.000X; 7D 5.000X



Fonte: O autor.

A figura 8 mostra o copolímero de Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM, em 4 aumentos 70x (8A); 500x (8B); 3.000x (8C) e 5.000x (8D). A imagem mostra uma interação irregular com a insulina, aparecendo formas desordenadas e sem diâmetro e tamanho específico. Sinalizando também uma resposta confirmatória do potencial zeta, pdi e diâmetro médio realizados anteriormente.

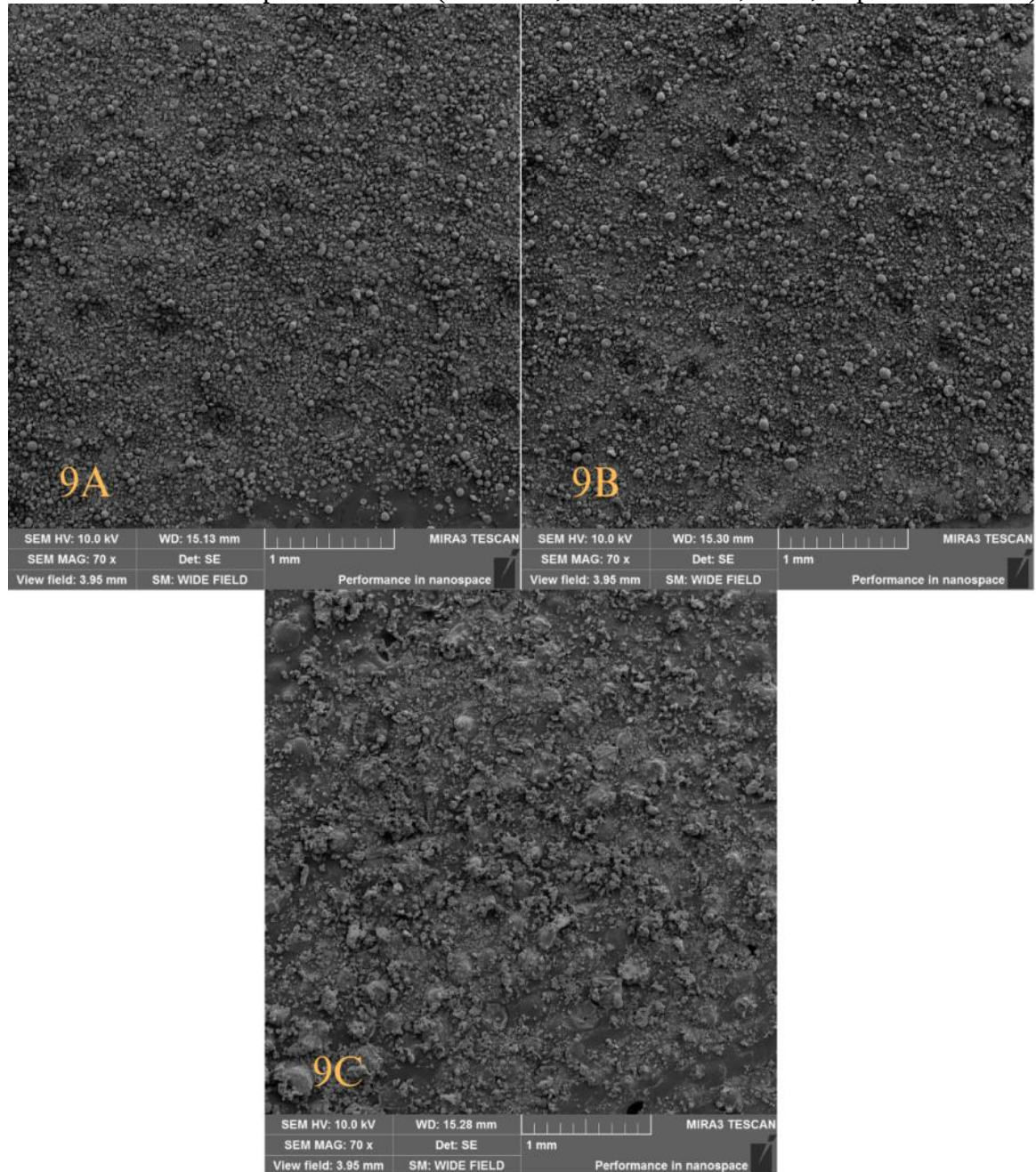
Figura 8 - Copolímero microparticulado de Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma, visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca). 8A 70X; 8B 500X; 8C 3.000X; 8D 5.000X



Fonte: O autor.

A figura 9 mostra as fotografias do microscópio TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca, as imagens aumentadas em 70x do Eudragit® L100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma (9A); Eudragit® S100 + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma (9B) e Eudragit® RS30D + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma. Nesta figura nota-se que RS30D tem uma característica de aglutinar com mais facilidade, enquanto os outros dois Eudragit® tem uma espalhabilidade e homogeneidade melhor.

Figura 9 - Comparação das micropartículas aumentado em 70 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (9A), S100 (9B) e RS30D (9C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca)

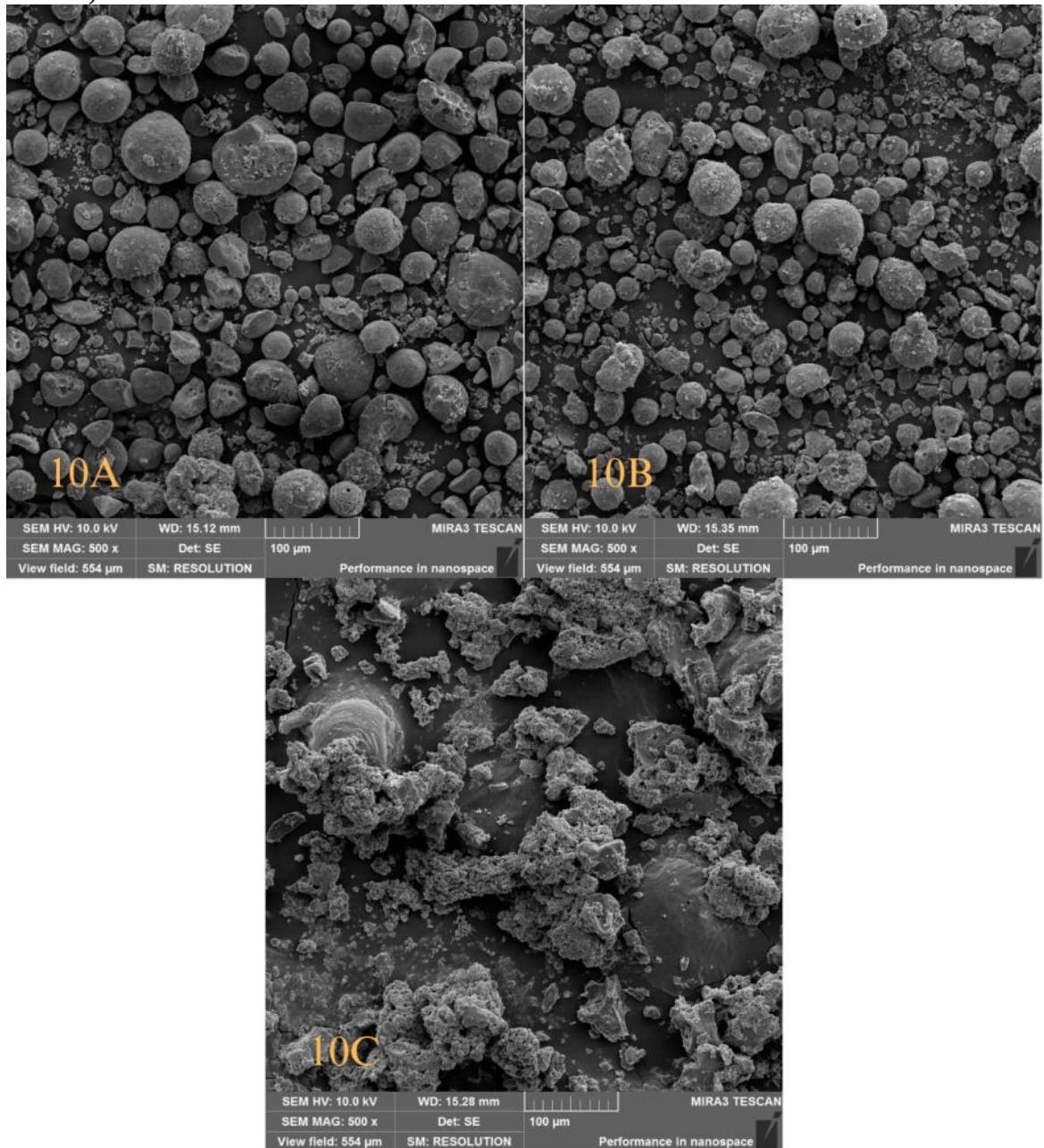


Fonte: O autor.

Figura 10 fotografias realizadas pelo microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca) em aumento de 500x para a visualização da forma das micropartículas dos 3 polímeros de Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (10A), S100 (10B) e RS30D (10C). Nesta imagem a formulação com o

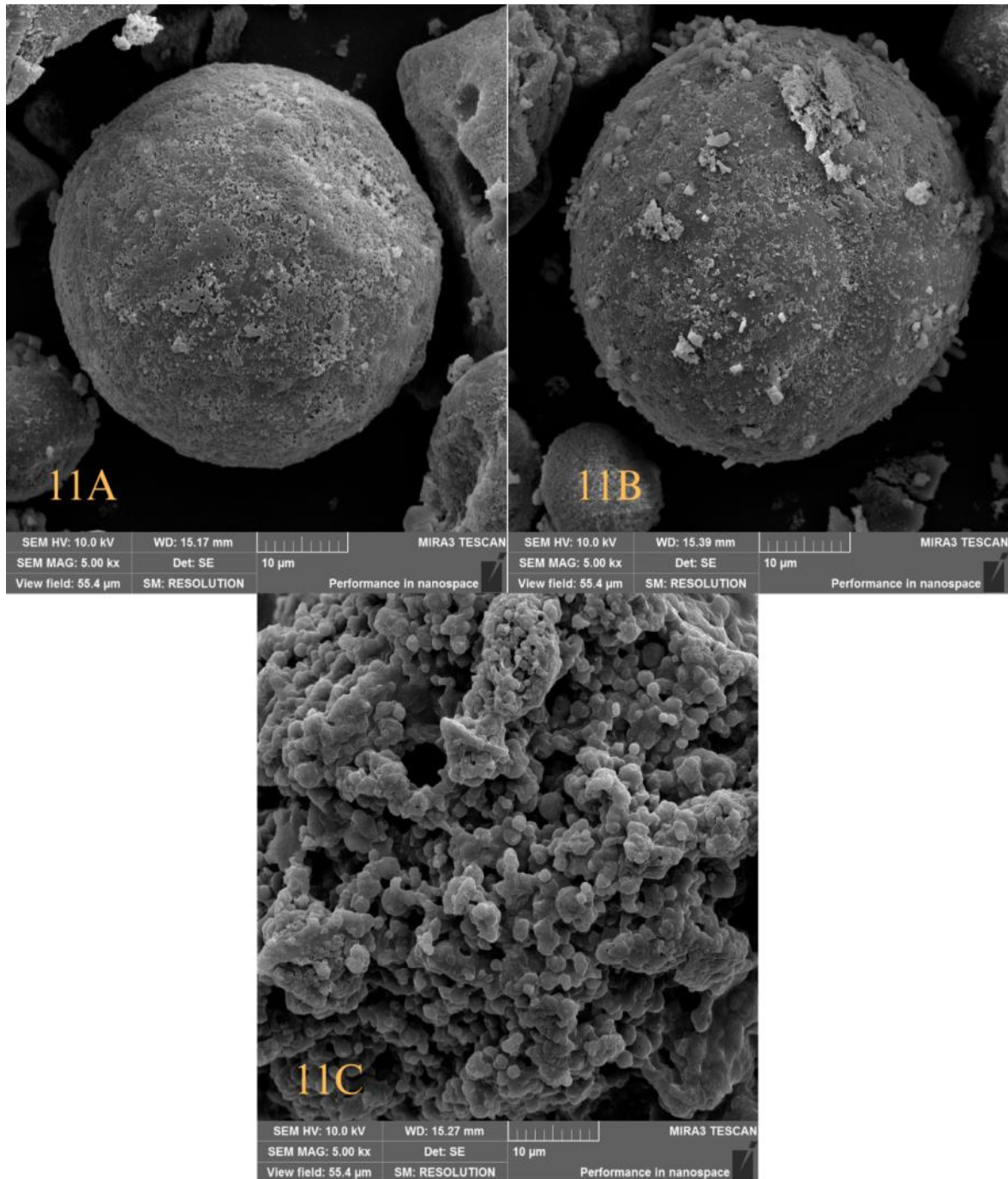
polímero RS30D é o mais heterogêneo, mostrando uma aglutinação e diferentes formas imprecisas de definição. Já o L100 mais estável e o S100 intermediário.

Figura 10 - Comparação das micropartículas aumentado em 500 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (10A), S100 (10B) e RS30D (10C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca)



Fonte: O autor.

Figura 11 - Comparação das micropartículas aumentado em 5.000 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (11A), S100 (11B) e RS30D (11C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca)

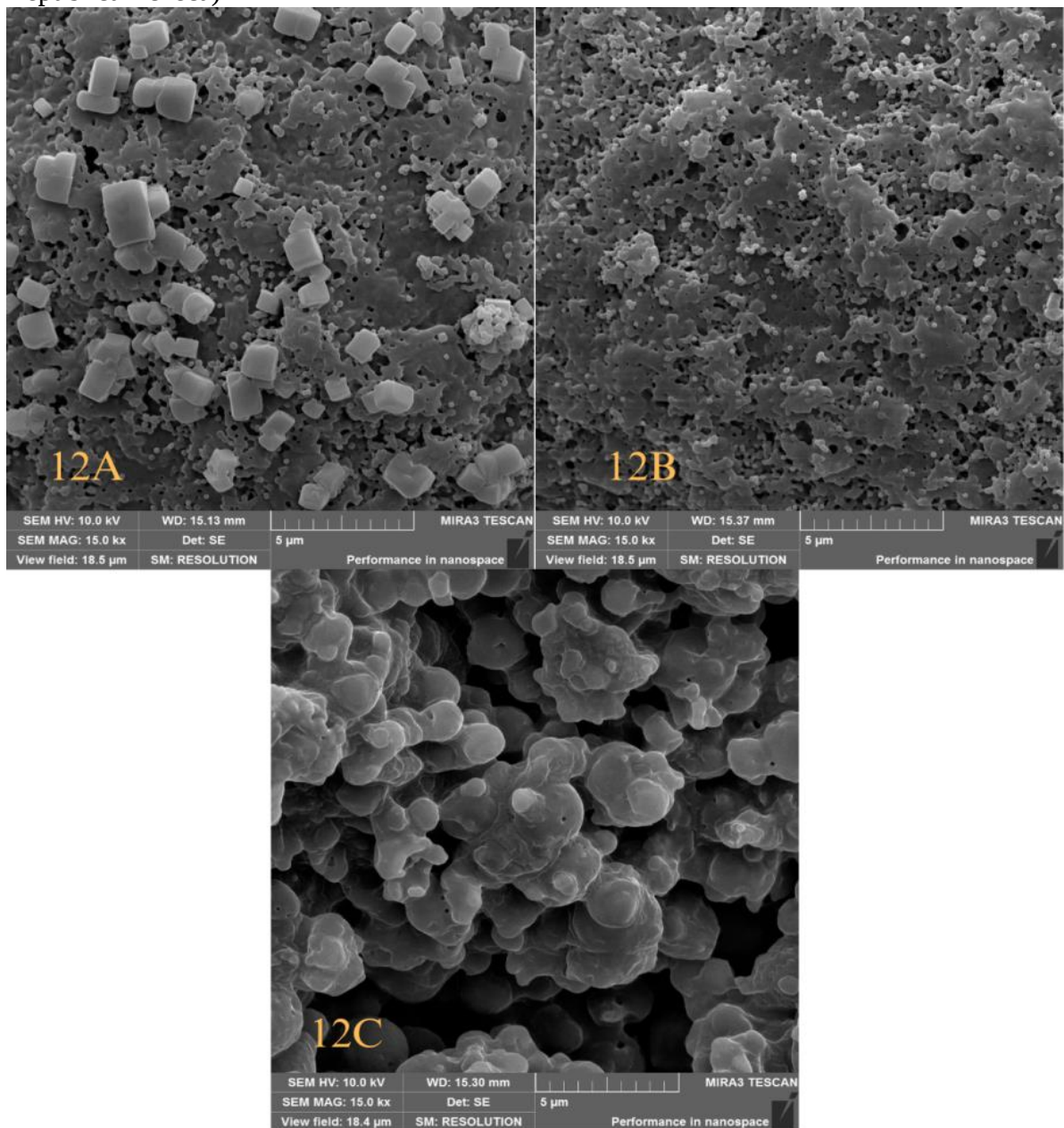


Fonte: O autor.

A figura 11 compara as formulações dos 3 tipos de Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (11A), S100 (11B) e RS30D (11C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca), em um

aumento de 5.000 vezes. A formulação do RS30D (11C) tem uma forma extremamente irregular e disforme. A formulação com L100 (11A) possui uma forma arredondada com a interação da insulina em seu interior e com mais estabilidade. A formulação com S100 (11B) apesar de apresentar uma homogeneidade e estabilidade melhor que o RS30D, ainda possui um cisalhamento muito grande e nítido como visualizado nos outros aumentos.

Figura 12 - Comparação da superfície das micropartículas, aumento em 15.000 vezes, dos 3 Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (12A), S100 (12B) e RS30D (12C), visualizado no Microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca)



Fonte: O autor.

Em um aumento de 15.000x realizado com o auxílio do microscópio FEG-SEM (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca), na figura 12 compara-se a superfície das micropartículas de Eudragit® + Insulina Insunorm Regular 100 UI/mL Aspen Pharma: L100 (12A), S100 (12B) e RS30D (12C).

Como observado, cada polímero de Eudragit® utilizado para realizar a formulação de micropartículas de insulina oral comportou-se de forma diferente em cada imagem, pois são molecularmente distintos. Os polímeros L100 e S100 são aniônicos, enquanto o RS30D é um polímero neutro (Patra *et al.*, 2017 e Nikam *et al.*, 2023). Esta diferença de carga elétrica reflete em seu comportamento na formulação. O RS30D tem uma característica de intumescimento e de agregar-se, por isso sua forma tornou-se mais desordenada e heterogênea, também devido às suas interações mais eletrostáticas. Já o L100 e o S100 são polímeros muito parecidos, aparentando uma forma muito parecida na interação com a insulina, mas como visto o L100 tem uma homogeneidade em tamanho e forma melhor que o S100 (Agarwal *et al.*, 2008).

Não só as interações eletrostáticas influenciaram na agregação e a forma das micropartículas, mas as interações de ligações moleculares diretas entre insulina/polímero influenciaram na forma, e também influenciaram na sua liberação (Agrawal *et al.*, 2017). Cada grupo funcional tanto da insulina, quanto do polímero tiveram interações diferentes dando uma estrutura diferente para cada formulação (Al Tahan *et al.*, 2025). Essas interações deram formas específicas para cada micropartícula.

6 CONCLUSÃO

Cada polímero de Eudragit® em diferentes concentrações ou em diferentes meios reage de forma diferente com a proteína estudada (Barth, 2007). Com este pensamento o objetivo deste trabalho era avaliar a qualidade de proteção e encapsulamento dos 3 tipos Eudragit® frente a insulina em formulações microtecnológicas de insulinas orais. Entendo também que em formulações micro e nanotecnológicas, as utilizações de diferentes concentrações de princípio ativo e de polímero de polimetacrilatos podem alterar todas as análises e formar diferentes nano/micropartículas.

Com a análise do potencial zeta, índice de polidispersão, conclui-se que a formulação que teve maior estabilidade em questão de menor aglutinação, mais homogeneidade em tamanhos de partículas, em ordem crescente de estabilidade, foi: L100 + insulina; em seguida S100 + insulina e por último RS30D + insulina. As fotografias realizadas pela microscopia FEG-SEM, confirmaram os dados obtidos pelo potencial zeta, mostrando imagens da formulação com Eudragit® L100 + Insulina Regular mais homogênea em tamanho das moléculas e uma dispersão maior das partículas, evitando aglutinação e a sedimentação. A formulação com o Eudragit® S100 + Insulina Regular ficou muito próximo do L100, isto era esperado devido à semelhança entre os polimetacrilatos. O Eudragit® RS30D já causou um polimorfismo na formação da estrutura e não obteve um potencial zeta e PDI satisfatório para a proteção e estabilidade da insulina.

A análise do diâmetro médio concluiu que os compósitos de Insulina + Eudragit® L100 e Insulina + Eudragit® S100, ficaram em escalas nanométricas, apesar de apresentar-se em uma escala nanométrica, o compósito de Insulina + Eudragit® RS30D ficou mais parecendo uma rede, todo aglutinado e com um polimorfismo considerável, do que uma partícula uniforme.

O teste FTIR mostrou que cada Eudragit® reage de forma diferente com a insulina. Mostrando que todos os Eudragit® reagiram com a insulina, onde o Eudragit® L100 e S100 além das ligações eletrostáticas aniônicas, também realizaram ligações de carbono e hidrogênio entre polímero/insulina. Já o polímero RS30D mostrou que suas reações foram mais catiônicas com a insulina. Mas todos com o espectro do FTIR preservaram suas características básicas, sinalizando que as mudanças não foram tão acentuadas criando um novo composto químico, isto mostra que a insulina se preservou e pode desligar-se com facilidade do seu carreador Eudragit® com facilidade. Verificamos também que todos os compósitos possuem modificações nas bandas amida da insulina, principalmente na banda

1650 cm^{-1} (Amida I) e 1545 cm^{-1} (Amida II), sinalizando modificação estrutural da insulina. Neste teste também as micropartículas de L100 + Insulina Regular tiveram um comportamento de melhor proteção e estabilidade da formulação.

Com os resultados expostos concluímos que o Eudragit® L100 é muito promissor para a proteção e melhor encapsulamento da insulina, seguido por Eudragit® S100 e por último o Eudragit® RS30D. Além de que a formulação pode ser melhorada com a utilização de um solvente para diluir o Eudragit® + insulina, por exemplo: álcool etílico, na fase anterior a passagem ao *spray dryer*, melhorando a polidispersão e potencial zeta da molécula. O compósito de Insulina + Eudragit® L100 é extremamente promissor para dar seguimento em novas formulações viáveis para a formulação de nano insulinas orais.

Com essas análises também verificamos que há necessidade de mais testes complementares para verificar a atividade da insulina como: HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) e Dicroísmo circular

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, G. R.; WAKTE, P.; SHELKE, S. Formulation, physico chemical characterization and in vitro evaluation of human insulin-loaded microspheres as potential oral carrier. **Progress in Biomaterials**, v. 6, n. 3, p. 125–136, set. 2017. Disponível em: <<https://oiccpres.com/pibm/article/view/10442>>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- AGARWAL, V. *et al.* Polymethacrylate based microparticulates of insulin for oral delivery, part II: solids state characterization. **Die Pharmazie – An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 2, p. 122–128, fev. 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1691/ph.2008.7211>>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- AHADIAN, S. *et al.* Micro and Nanoscale Technologies in oral Drug Delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 157, p. 37–62, 2020. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7374157/>>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- AHLQVIST, E.; PRASAD, R. B.; GROOP, L. Subtypes of type 2 diabetes determined from clinical parameters. **Diabetes Symposium**, v. 69, p. 2086–2093, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/dbi20-0001>>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- AL TAHAN, M. A.; AL-KHATTAWI, A.; RUSSELL, C. Oral peptide delivery systems: Synergistic approaches using polymers, lipids, Nanotechnology, and needle-based carriers. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 112, p. 1–21, out. 2025. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.107205>>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- ALAVI, M.; KAMARASU, P.; MCCLEMENTS, D. J.; MOORE, M. D. Metal and metal oxide-based antiviral nanoparticles: Properties mechanisms of action, and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 306, p. 102726, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102726>>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- AMIEL, S. A. *et al.* Hypoglycaemia, cardiovascular disease, and mortality in diabetes: epidemiology, pathogenesis, and management. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 7, p. 385–396, 2019. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(18\)30315-2](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(18)30315-2)>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2018. **Diabetes Care**, 41:1, 13–27 (2014).
- AMGOTH, C. *et al.* Polymeric Nanocapsules for Drug Delivery Applications. Nanotechnology for Animal Health and Production. **Nanotechnology for Animal Health and Production**, p. 99–123, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/296675152_Polymeric_Nanocapsules_for_Drug_Delivery_Applications>. Acesso em: 24 mar. 2026.
- BARTH, Andreas. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1767, n. 9, p. 1073–1101, set. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

BATTELINO, T. *et al.* Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: recommendations from the international consensus on time in range. **Diabetes Care**, v. 42, n. 8, p. 1593–1603, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/dci19-0028>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

BRAYDEN, D. J. The centenary of the Discovery of insulin: an update on the quest for oral delivery. **Front Drug Deliv**, v. 1, 2021. Disponível em: <[10.3389/fddev.2021.726675](https://doi.org/10.3389/fddev.2021.726675)>. Acesso em: 24 mar. 2026.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: HEALTH AND ECONOMIC COSTS OF CHRONIC DIABETES. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (NCCDPHP): About Chronic Diseases. Published February 11, 2019.

CHAKER, L. *et al.* The Global Impact of non-communicable diseases on macro-economic productivity: a systematic review. **Eur J. Epidemiol**, v. 30, n.5, p.357-395, 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10654-015-0026-5>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

DABELEA, D. *et al.* Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. **Pediatrics**, v. 133, p. 938–945, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.17615/n9e3-6y54>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

DIMEGLIO, L. A.; EVANS-MOLINA, C.; ORAM, R. A. Type 1 diabetes. **Lancet**, v. 391, n. 10138, p. 2449–2462, 2018. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31320-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31320-5)>. Acesso em: 24 mar. 2026.

ELDOR, R. *et al.* M. Glucose-reducing effect of the ORMD-0801 oral insulin preparation in patients with uncontrolled type 1 diabetes: a pilot study. **PLoS ONE** 8, v. 8, n. 4, p. 1-4, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059524>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

FOROUHI, N. G.; WAREHAM, N. J. Epidemiology of diabetes. **Elsevier**, v. 50, n. 10, p. 638–643, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1383/medc.2006.34.2.57>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

GERSTEIN, H. C. *et al.* Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. **N Engl J Med**, v. 358, n. 24, p. 2545-2559, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/nejmoa0802743>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

HAEUSLER, R. A.; MCGRAW, T. E.; ACCILI, D. Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v.19, n. 1, p. 31-44, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrm.2017.89>>. Acesso em: 24 mar 2026.

HOPE, S.V. *et al.* Practical classification guidelines for diabetes in patients treated with insulin: a cross-sectional study of the accuracy of diabetes diagnosis. **Br J Gen Pract**, v. 66, p. 315–22, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3399/bjgp16x684961>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

HUNT, N. J. *et al.* Oral nano therapeutic formulation of insulin with reduced episodes of hypoglycaemia. **Nat. Nanotechnol**, v. 19, p. 534–544, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41565-023-01565-2>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

JAGANATHAN, H.; GODIN, B. Biocompatibility Assessment of Si-based Nano- and Micro-particles. **Adv Drug Delivery Rev.**, v. 64, p. 1800-1819. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.05.008>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

JAIN, D.; PANDA, A. K.; MAJUMDAR, D. K. Eudragit® S100 entrapped insulin microspheres for oral delivery. **AAPS Pharm Sci Tech**, v. 6, n. 1, p. E100–E107, set. 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1208/pt060116>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

JANABI, A. *et al.* Assessment of hypoglycemic effect of an oral insulin formulation in chickens as an experimental animal model. **Systematic Review Pharmacy**, v. 11, n. 4, p. 531-542, 2020. Disponível em: <10.5530/srp.2019.2.04>. Acesso em: 24 mar. 2026.

JAMSHIDI, M. *et al.* Study the effect of insulin-loaded trimethylchitosan nanoparticle on HepG2 cell line. **Gene Reports**, v. 27, 101602, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.097>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

JONG, W. H.; BORM, P. J. A. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. **Internacional Journal of Nanomedicine**, v. 3, p. 133-149, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.2147/ijn.s596>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

KAUR, P. *et al.* Novel nano-insulin formulation modulates cytokine secretion and remodeling to accelerate diabetic wound healing. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 15, p. 47-57, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.nano.2018.08.013>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

KOGA, A. *et al.* Development and validation of an High-Performance Liquid Chromatography Method for the determination of 17- β Estradiol in Polymeric Nanoparticles. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 14, n. 5, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2021v14i5.41355>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

KONG, J.; YU, S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, v. 39, n. 8, p. 549–559, ago. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

KUMAR, A.; DIXIT, C. K. Methods for characterization of nanoparticles. **Adv Nanomed Deliv Therap Nucleic Acids**, p. 43-58, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100557-6.00003-1>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

LENGYEL, M. *et al.* Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery. **Scientia Pharmaceutica**, v. 87, n. 20, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/scipharm87030020>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

LEY, S. H.; HAMDY, O.; MOHAN, V.; HU F. B. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. **Lancet**, v. 383, p. 1999-2007, 2014. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)60613-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)60613-9)>. Acesso em: 24 mar. 2026.

LOPES, M. A. *et al.* Probing insulin bioactivity in oral nanoparticles produced by ultrasonic ation-assisted emulsification/internal gelation. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 5865–5880, set. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.2147/IJN.S86313>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

LÓPEZ, E. S. *et al.* Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: an Overview. **Nanomaterials**, v. 10, p. 292, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/nano10020292>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

LUNDKVIST, J.; BERNE, C.; BOLINDER, B.; JÖNSSON, L. The economic and quality of life impact of hypoglycemia. **Eur. J. Health Econ**, v. 6, p. 197–202, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10198-005-0276-3>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

MANDRACCHIA, D.; TRIPODO, G. Micro and Nano-drug Delivery Systems. **The Royal Society of Chemistry**, Chapter 1 (2021). Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/9781839162664-00001>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

MAYER-DAVIS E. J. *et al.* SEARCH for Diabetes in Youth Study. Incidence trends of type 1 and type 2 diabetes among youths, 2002–2012. **N Engl J Med**, v. 376, p. 1419–1429, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/nejmoa1610187>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

MOREIRA, F. F. *et al.* Development and Characterization of Zein/Eudragit® Composite Nanoparticles for Insulin Intranasal Delivery. **ACS Omega**, v. 10, n. 21, p. 21236–21249, jun. 2025. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c10474>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

NIKAM, P. *et al.* Systematic Overview of Eudragit® Based Copolymer for Smart Healthcare. **Pharmaceutics**, v. 15, 587, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020587>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

OGLE, G. D. *et al.* Global estimates of incidence of type 1 diabetes in children and adolescents: results from the International Diabetes Federation Atlas. 10th edition. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 183, p. 109083, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109083>>. Acesso em: 24 mar. 2026.

OWENS, B. Smart insulin: redesign could end hypoglycemia risk. **Nat. Biotechnol**, v. 36, p. 911–912, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nbt1018-911a>>.

PATRA, C. N. *et al.* Pharmaceutical significance os Eudragit®: A review. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 33–45, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fjps.2017.02.001>>. Acesso em: 24 mar 2026.

PAWASKAR, M. *et al.* Impact of the severity of hypoglycemia on health-related quality of life, productivity, resource use, and costs among US patients with type 2 diabetes. **J. Diabetes Complicat**. v. 32, n. 5 p. 451–457, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.01.012>>. Acesso em: 24 mar 2026.

Li, P. *et al.* Micro encapsulation of coupled folate and chitosan nanoparticles for targeted delivery of combination drugs to colon. **J. Microencapsul**, v. 32, n.1, p. 40-45, sep 2014. Disponível em: < <https://doi.org/10.3109/02652048.2014.944947>>. Acesso em: 24 mar 2026.

PINELO, R.; ROQUE, L.; Reis, C. P. Oral insulin delivery: utopia, currently possible or a near reality? **Ther. Deliv.**, v. 12, n. 6, p. 477–488, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.4155/tde-2021-0021>>. Acesso em: 24 mar 2026.

SAREEN, R. *et al.* Curcumin loaded microsponges for colon targeting in inflammatory bowel disease: fabrication, optimization, and in vitro and pharmacodynamic evaluation. **Bio Med. Res. Int.** v., p. 1-7, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2014/340701>>. Acesso em: 24 mar 2026.

SEAQUIST, E. R. *et al.* Hypoglycemia and diabetes: a report of a work group of the American Diabetes Association and the Endocrine Society. **Diabetes Care**, v. 98, n. 5, p. 1845-1859, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1210/jc.2012-4127>>. Acesso em: 24 mar 2026.

SHARDA, D. *et al.* Chitosan-insulin nano-formulations as critical modulators of inflammatory cytokines and Nrf-2 pathway to accelerate burn wound healing. **Discover Nano**, v. 18, n. 1, p. 154, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s11671-023-03941-2>>. Acesso em: 24 mar 2026.

SHARMA, G. *et al.* Nanoparticle based insulin delivery system: the next generation efficient therapy for Type 1 diabetes. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 24, n. 13, p. 74, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12951-015-0136-y>>. Acesso em: 24 mar 2026.

SUSSMAN, M. *et al.* Estimated life time economic burden of type 1 diabetes. **Diabetes Technol. Ther**, v. 22, n. 2, p. 121–130. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1089/dia.2019.0398>>. Acesso em: 24 mar 2026.

SZABLEWSKI, L. Review: Changes in Cells Associated with Insulin Resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 4, p. 2397, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms25042397>>. Acesso em: 24 mar 2026.

THOMAS, N. J. *et al.* Frequency and phenotype of type 1 diabetes in the first six decades of life: a cross-sectional, genetically stratified survival analysis from UK Biobank. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 6, n. 2, p. 122–29, 2018. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(17\)30362-5](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(17)30362-5)>. Acesso em: 24 mar 2026.

WONG, C. Y.; AL-SALAMI, H.; DASS, C. R. Microparticles, microcapsules and microspheres: A review of recent developments and prospects for oral delivery of insulin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 537, p. 223-244, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.036>>. Acesso em: 24 mar 2026.

YOO, J.; DOSHI, N.; MITRAGOTRI, S. Adaptive micro and nanoparticles: Temporal control over Carrier properties to facilitate drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, p. 1247-1256, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.05.004>>. Acesso em: 24 mar 2026.

ZHANG, Y. *et al.* Thiolated Eudragit®-based nanoparticles for oral insulin delivery: preparation, characterization, and evaluation using intestinal epithelial cells in vitro. **Macromol Biosci.**, v. 14, n. 6, p. 842-852, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/mabi.201300515>>. Acesso em: 24 mar 2026.

ZAMAN, R. *et al.* Insulin-loaded Barium Salt Particles Facilitate oral Delivery of insulin in Diabetic Rats. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 710, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080710>>. Acesso em: 24 mar 2026.