

SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL POR ELEMENTOS FINITOS DA LIBERAÇÃO DE INSULINA ENCAPSULADA EM PARTÍCULAS DE ALGINATO E WHEY PROTEIN EM AMBIENTE GASTROINTESTINAL

F. V. CENDON¹, R. M. M. JORGE^{1,2}, R. WEINSCHUTZ², A. L. MATHIAS^{1,2}

¹Universidade Federal do Paraná – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos,
Departamento de Engenharia Química

²Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: mathias@ufpr.br

RESUMO –A administração oral de insulina em diabéticos é restringida pela sua degradação enzimática antes de atingir a região de absorção intestinal. Porém, esferas de alginato e proteína isolada do soro de leite contendo insulina podem protegê-la do ambiente estomacal. A liberação do medicamento em meio aquoso foi descrita como predominantemente controlada pelo processo de difusão fickiana.O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da concentração inicial de insulina, no intervalo de 18,85 a 56,55 mol.m⁻³,e do diâmetro da esfera, no intervalo de 0,792 a 2,375 mm,com uso de modelagem aplicada aos dados da literatura. O método dos elementos finitos foi aplicado a uma geometria tridimensional e resolvido em COMSOL 4.3b. Os resultados demonstram que maiores diâmetros aumentam a quantidade de insulina ingerida que se torna disponível na porção intestinal do trato digestivo, enquanto que a concentração inicial de hormônio na partícula dentro da faixa avaliada não afeta essa quantidade.

1. INTRODUÇÃO

Diabéticos insulinodependentes necessitam controlar o nível glicêmico com avaliações periódicas do teor de glucose no sangue e com as injeções de insulina (GUYTON e HALL, 2006).A administração oral de insulina pode ser uma alternativa às injeções. Porém, peptídeos, como a insulina, sofrem degradação enzimática pelas pepsinas no estômago e pelas carboxipeptidases A e B, tripsina, α -quimotripsina e elastase no intestino (REIS, 2007).Logo, há a necessidade de desenvolver matrizes protetoras de modo a garantir que a insulina atinja o jejuno e o ileo, onde há maior absorção (SILVA, 2003).A modelagem de processos e a simulação computacional facilitam o entendimento dos fenômenos de transporte e diminuem a necessidade de experimentos, acelerando trabalhos de pesquisa em diversas áreas. Vários trabalhos têm relatado simulações de processos de transferência de massa (Perussello *et al.*, 2013;Cogné *et al.*, 2013;Stute *et al.*, 2013), inclusive com simulações computacionais para avaliar a administração de medicamentos (Davidson *et al.*, 2008; Lopez-Salazar *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2012).A liberação de insulina contida em esferas de alginato e proteína isolada de soro de leite (WPI)é controlada predominantemente pelo processo de difusão fickiana (Déat-Lainé *et al.*, 2012). Tal confirmação foi efetivada usando um modeloempíricoproposto por

Harland *et al.* (1998), o qual iguala a fração de soluto liberado à soma de dois termos: um referente ao processo difusivo e outro ao processo erosivo. Segundo Déat-Lainé *et al.* (2012), o termo erosivo é praticamente desprezível. O objetivo deste trabalho foi modelar o processo de difusão de insulina em uma matriz de alginato e WPI submersa em soluções de pH = 1,2 e pH = 6,8 e aplicar o modelo no software COMSOL 4.3b para obter perfis de concentração ao longo do processo e para simular outras condições não testadas experimentalmente. A modelagem provém de uma solução analítica em série de potências da Segunda Lei de Fick aplicada para processos em regime transitório.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os parâmetros utilizados para a simulação da liberação de insulina de uma matriz alimentar composta por alginato e WPI nas condições biológicas presentes no sistema gastrointestinal foram descritos por Déat-Lainé *et al.* (2012). Eles foram determinados para dessorção de insulina presente em partículas esféricas. Estas foram preparadas por extrusão de uma mistura de duas soluções, uma de alginato com insulina e uma de WPI, em cloreto de cálcio 0,1 mol.L⁻¹. As partículas usadas apresentavam o diâmetro e a concentração inicial de hormônio apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Características das partículas testadas (Déat-Lainé *et al.*, 2012)

Diâmetro inicial	1,583 mm
Concentração de insulina inicial	37,70 mol/m ³ (13,1 UI/100 P)
Proporção de solução de alginato	80%
Concentração da solução de alginato	3,0%
Proporção de solução de WPI	20%
Concentração da solução de WPI	11%

Os resultados de liberação expressos em porcentagem de insulina liberada e o teor residual nas esferas ao longo do tempo (Tabela 2) foram estimados a partir do gráfico de Déat-Lainé *et al.* (2012).

Tabela 2 – Porcentagem de insulina liberada e correspondente teor de insulina residual nas partículas (Déat-Lainé *et al.*, 2012)

Tempo (s)	Insulina liberada (%)		Insulina residual (mol/m ³)	
	pH = 1,2	pH = 6,8	pH = 1,2	pH = 6,8
0	0%	0%	37,70	37,70
900	42%	64%	21,86	13,57
1800	47%	73%	19,98	10,17
2700	59%	80%	15,45	7,54
3600	67%	84%	12,44	6,03
7200	73%	90%	10,17	3,77
10800	82%	94%	6,78	2,26
14400	88%	97%	4,52	1,13

2.1. Modelagem

A Segunda Lei de Fick (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), aplicada para regime transiente, sem reações e em coordenadas esféricas, foi usada para a modelagem do processo. Essa equação diferencial pode ser resolvida analiticamente pelo método de separação de variáveis (Welty et al., 2008). Crank (1975) fornece as soluções (Equações **Erro! Fonte de referência não encontrada.** e **Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

$$-\frac{\partial C_A}{\partial t} = D_{AB} \cdot \left(\frac{\partial^2 C_A}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \cdot \frac{\partial C_A}{\partial r} \right) \quad (1)$$

$$\text{p/ } r \neq 0 \frac{C_A - C_{A_0}}{C_{A_S} - C_{A_0}} = 1 + \frac{2 \cdot R}{\pi \cdot r} \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \cdot \sin \left(\frac{n \cdot \pi \cdot r}{R} \right) \cdot e^{-D_{AB} \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t / R^2} \quad (2)$$

$$\text{p/ } r = 0 \frac{C_A - C_{A_0}}{C_{A_S} - C_{A_0}} = 1 + 2 \cdot \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \cdot e^{-D_{AB} \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t / R^2} \quad (3)$$

A concentração de insulina no meio de liberação foi considerada nula, já que se espera que a insulina liberada seja absorvida pelo organismo no menor tempo possível. Consequentemente, sua concentração na superfície das partículas também foi considerada nula. A temperatura e a concentração inicial no interior das partículas foram consideradas homogêneas. O teor de insulina residual nas partículas ao longo do tempo usado na modelagem (Déat-Lainé et al., 2012) é a concentração média, sendo necessário integrar a equação do fluxo global de insulina em direção à superfície da partícula (Equação 4), que fornece a relação entre o fluxo molar avaliado na superfície das partículas e o tempo. A combinação entre as Equações **Erro! Fonte de referência não encontrada.** e **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, que é uma equação diferencial separável. Esta pode ser resolvida a partir da condição de que $C_{A_m} = C_{A_0}$ para o tempo inicial, obtendo-se a **Erro! Fonte de referência não encontrada.**. O único parâmetro desconhecido dessa equação é o coeficiente de difusão. Para encontrá-lo, sua curva foi ajustada aos valores de insulina residual (Tabela 2), sendo obtido o valor do coeficiente de difusão que gera o melhor coeficiente de determinação para o ajuste. Para o ajuste, o somatório da Equação 6 foi calculado até o termo $n=50$, já que os resultados apresentaram variação de ordem menor que 10^{-3} a partir desse termo.

$$N_A = -D_{AB} \cdot \frac{\partial C_A(r=R,t)}{\partial r} \quad (4)$$

$$N_A = \frac{dC_{A_m}(t)}{dt} \cdot \frac{V_p}{S_p} = \frac{2 \cdot C_{A_0} \cdot D_{AB}}{R} \cdot \sum_{n=1}^{\infty} e^{-D_{AB} \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t / R^2} \quad (5)$$

$$C_{A_m}(t) = C_{A_0} \cdot \left[1 - \frac{6}{\pi^2} \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \left(\frac{1 - e^{-D_{AB} \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t / R^2}}{n^2} \right) \right] \quad (6)$$

2.2. Comparação entre simulação, modelo e dados experimentais

A simulação foi efetuada nas mesmas condições dos dados laboratoriais (Déat-Lainé et al., 2012) para comparação da previsibilidade: quatro horas em condições estomacais e quatro horas em condições intestinais. Para tal, o perfil de concentrações previsto pelo modelo nos

mesmos tempos em que foram coletados os dados experimentais (0, 900, 1800, 2700, 3600, 7200, 10800 e 14400s) foi ajustado a um polinômio de sexto grau. Cada polinômio foi multiplicado pela forma diferencial do volume de uma esfera, sendo o total integrado para se obter o número de mols de insulina contido na esfera. Tal valor foi então dividido pelo volume total da partícula, obtendo-se uma concentração média de insulina, a qual pode ser comparada com os dados experimentais. A Equação 7 representa a forma geral do cálculo da concentração média de insulina nas partículas a partir dos perfis de concentração gerados pela simulação, enquanto que a Equação 8 é sua forma integrada.

$$C_{A_m} = \frac{\int_0^R \int_0^{2\pi} \int_0^\pi (A.r^6 + B.r^5 + C.r^4 + D.r^3 + E.r^2 + F.r + G).r^2 .\sin(\theta).d\theta.d\theta.dr}{\frac{4\pi R^3}{3}} \quad (7)$$

$$C_{A_m} = 3. \left(\frac{A.R^6}{9} + \frac{B.R^5}{8} + \frac{C.R^4}{7} + \frac{D.R^3}{6} + \frac{E.R^2}{5} + \frac{F.R}{4} + \frac{G}{3} \right) \quad (8)$$

2.3. Simulação do processo de liberação

A simulação foi realizada com uso do software COMSOL Multiphysics 4.3b (COMSOL, Inc, Burlington, MA, EUA). Um modelo bidimensional sem transferência de massa convectiva foi utilizado. No modelo, a absorção de água, o inchamento, a geração térmica, o campo de velocidade das partículas e o aumento de concentração de insulina no meio que envolve as partículas foram considerados nulos. Os coeficientes de difusão utilizados foram obtidos a partir do procedimento descrito na seção 2.1. O fluxo foi definido pela Equação 5, sendo que o somatório desta equação também foi desenvolvido até o termo n=50. O tempo médio de permanência de líquidos no estômago e no intestino de indivíduos jovens e saudáveis é estimado em uma hora e trinta e cinco minutos e três horas e cinquenta e cinco minutos, respectivamente (Graftet *et al.*, 2001). Esses foram os tempos usados para simular o processo de liberação em ambiente fisiológico. Esse estudo não simula a ingestão do medicamento com sólidos, já que os coeficientes de difusão disponíveis provêm de experimentos de liberação da esfera em ambiente líquido. Foram efetuadas nove simulações. O diâmetro de partícula e a concentração inicial de insulina nas partículas descritos por Déat-Lainé *et al.* (2012) foram pontos centrais. Valores 50% maiores e 50% menores foram também contemplados, ou seja, os diâmetros de 0,792 mm, 1,583 mm e 2,375 mm e as concentrações de 18,85 mol.m⁻³, 37,70 mol.m⁻³ e 56,55 mol.m⁻³. As condições iniciais para as simulações em ambiente intestinal foram obtidas a partir dos resultados das simulações em ambiente estomacal, de onde se obtiveram equações que descrevessem os perfis de concentração nas partículas no final do processo de liberação. Para todos os casos, o melhor ajuste foi de uma equação de sexto grau, com coeficientes de correlação superiores a 0,998. O efeito desejado foi simular a passagem das partículas do meio gástrico para o meio intestinal. Todas as simulações foram feitas utilizando-se um passo de 60 segundos, havendo uma variação insignificante nos resultados com variações no passo.

2.4. Cálculo da porcentagem de insulina liberada no intestino

De modo similar à Seção 2.3, a porcentagem de insulina liberada no intestino foi prevista para os três diâmetros e as três concentrações propostas. As concentrações médias foram obtidas a partir dos perfis de concentração no instante correspondente à entrada da partícula no intestino (ou saída do estômago) e no instante referente à saída do intestino. A

diferença entre essas duas concentrações médias foi dividida pela concentração inicial de insulina na partícula (correspondente àquela definida para a partícula ao entrar no estômago) e expressas em porcentagem de insulina liberada no intestino (Equação 9).

$$\text{Insulina Liberada no Intestino (\%)} = \frac{C_{A_m}(\text{entrada}) - C_{A_m}(\text{saída})}{C_{A_0}} \cdot 100\% \quad (9)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Validação da Modelagem e da Simulação

Os resultados previstos pelo modelo e os dados experimentais (Tabela 2) são similares no início da liberação, mas o modelo prevê uma liberação mais rápida do que a observada laboratorialmente, seja na condição estomacal ou intestinal (Figura 1). Esse comportamento pode ser atribuído a um possível inchamento das partículas e/ou ao aumento de concentração de insulina no meio de liberação, a qual havia sido considerada continuamente nula. Ambas as alterações de propriedades foram suprimidas neste estudo devido à complexidade de modelagem do processo difusivo. Os coeficientes de determinação demonstram ótimas correlações tanto para o modelo quanto para as simulações (Tabela 3). A administração de insulina por via oral depende da viabilização de uma proteção da insulina no ambiente estomacal e da sua posterior liberação no meio intestinal. O alginato é estável em pH ácido e o WPI é estável em pH intestinal (Déat-Lainé et al., 2012). A proporção utilizada desses biopolímeros possibilita um coeficiente de difusão aproximadamente duas e meia vezes maior na condição intestinal do que na estomacal, o que é favorável à aplicação terapêutica (SILVA, 2003).

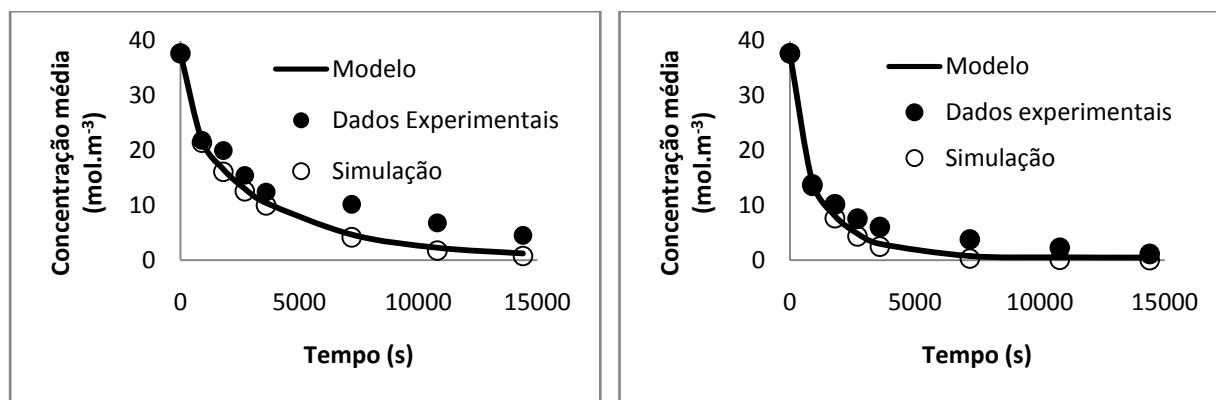


Figura 1—Curva do modelo, dados da previsão e laboratoriais para a condição estomacal ($\text{pH} = 1,2$) à esquerda e intestinal ($\text{pH} = 6,8$) à direita ao longo de um tempo de liberação de 4 horas.

Tabela 3 – Coeficientes de difusão e de determinação para o modelo e para as simulações.

	pH = 1,2	pH = 6,8
D_{AB} ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$)	$1,5 \cdot 10^{-11}$	$3,9 \cdot 10^{-11}$
C.D. - Modelo	0,9880	0,9908
C.D. - Simulação	0,9882	0,9910
C_{A_0} ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$)	37,7	37,7
R (mm)	0,792	0,792

n

{ $n \in \mathbb{Z} / 1 \leq n \leq 50$ }{ $n \in \mathbb{Z} / 1 \leq n \leq 50$ }

3.2. Simulação do processo de liberação

As dosagens de insulina são expressas na unidade internacional (U.I.) que, por convenção, corresponde a 0,0347 mg de insulina humana, sendo a quantidade mínima almejada para chegar à corrente sanguínea pela administração por via oral. Quantidades inferiores não teriam efeito sobre a glicemia. A faixa de 10% a 20% tem sido considerada adequada para a biodisponibilização da insulina administrada por via oral (Schilling e Mitra, 1990). Isso se deve aos diversos obstáculos que dificultam a chegada do hormônio à corrente sanguínea. Um exemplo é a passagem pelo fígado, que elimina cerca de metade da quantidade de insulina absorvida pelo trato digestivo que chega ao órgão através da veia porta hepática (Ramkissoon-Ganorkaret *al.*, 1999). No melhor dos casos, a ingestão de 5 U.I. de insulina garante apenas o acesso de apenas 1 U.I., o que acaba encarecendo o custo do tratamento. O efeito do diâmetro da partícula sobre a quantidade de insulina que atinge o intestino é evidente (Tabela 4 e Figura 2). Por outro lado, a concentração inicial de insulina não parece afetar significativamente este parâmetro na faixa de valores testada. A Tabela 4 demonstra que um aumento de 50% no diâmetro da esfera mais que duplica a quantidade de hormônio entregue à porção intestinal do trato digestivo, enquanto uma redução de 50% do tamanho diminui em 60 vezes essa quantidade.

Tabela 4 – Porcentagem de insulina liberada no intestino

		Diâmetro		
		0,792 mm	1,583 mm	2,375 mm
Concentração Inicial	18,85 mol.m ⁻³	0,2612%	15,8575%	34,0406%
	37,70 mol.m ⁻³	0,2615%	15,8573%	34,0394%
	56,55 mol.m ⁻³	0,2614%	15,8582%	34,0385%

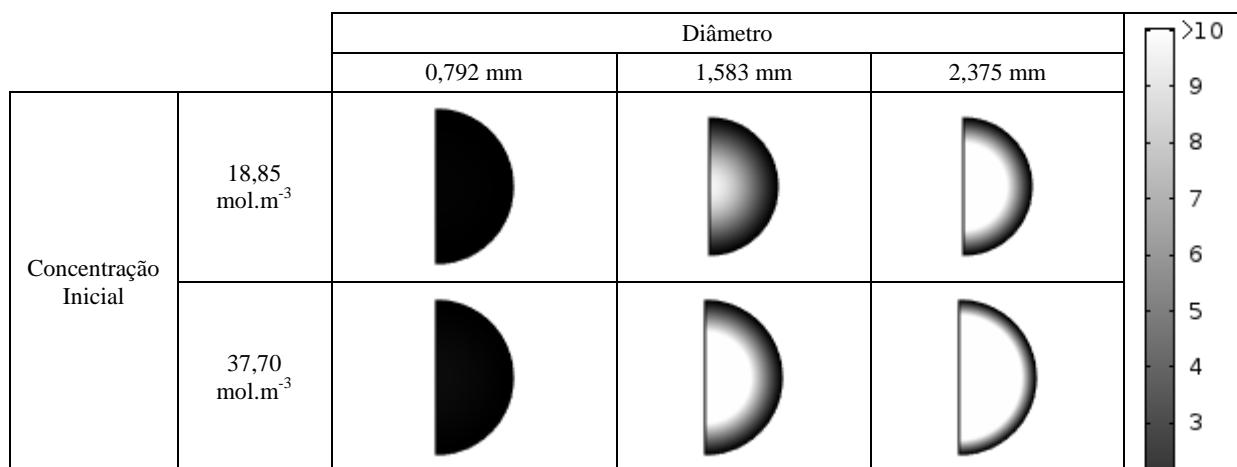




Figura 2–Distribuição de insulina na esferapara o instante de entrada da partícula no intestino (uma hora e trinta e cinco minutos após a ingestão das partículas).

4. CONCLUSÃO

Asimulação computacional baseada na Segunda Lei de Fick permitiu prever o comportamento da liberação de insulina presente em partículas de alginato e WPInas condições depH estomacal e intestinal. Os resultados representaram boa concordância com dados experimentais, embora o modelo estime uma liberação mais rápida do que a observada laboratorialmente. O uso de partículas maiores, no intervalo de diâmetros entre 0,792 e 2,375 mm, protege a insulina no trato estomacal e, consequentemente, aumenta a sua biodisponibilidade no intestino. As concentrações iniciais do hormônio nas esferas entre 18,8 e 56,6 mol.m⁻³, mantendo-se o diâmetro constante, produziram a mesma biodisponibilização. Nesse caso, a definição da concentração inicial deve respeitar outros critérios associados ao balanço populacional das partículas, como a quantidade de partículas representativa de uma dada dosagem de insulina ou até mesmo aspectos relativos ao processo de produção das esferas. Este trabalho demonstra a aplicabilidade da simulação computacional ao desenvolvimento de fármacos. Esta técnica pode contribuir com os estudos relativos à cinética de liberação de medicamentos encapsulados, acelerando a obtenção de resultados e evitando experimentos laboratoriais onerosos e frequentemente demorados. O método apresentado constitui-se em uma importante ferramenta de desenvolvimento, projeto e otimização de processos.

5. NOMENCLATURA

A, B, C, D, E, F, G	Coeficientes polinomiais
$C_A = f(r,t)$	Concentração pontual de insulina (mol.m ⁻³)
$C_{Ao} = f(r)$	Concentração pontual de insulina no início do teste (mol.m ⁻³)
C_{AM}	Concentração média de insulina na partícula (mol.m ⁻³)
C_{AS}	Concentração de insulina na superfície da partícula (mol.m ⁻³)
C.D.	Coeficiente de determinação
D_{AB}	Coeficiente de Difusão de A (insulina) em B (partícula) (m ² /s)
P	Partículas
N_A	Fluxo de insulina através da partícula (mol.s ⁻¹ .m ⁻²)
r	Raio indefinido da partícula (m)
R	Raio definido da partícula (m)
S_P	Área superficial da partícula (m ²)
t	Tempo (s)
V_P	Volume da partícula (m ³)
WPI	Whey Protein Isolate (Proteína Isolada de Soro de Leite)

6. REFERÊNCIAS

- COGNÉ, C.; NGUYEN, P.U.; LANOISELLÉ, J.L.; VAN HECKE, E.; CLAUSSE, D. *Modeling heat and mass transfer during vacuum freezing of puree droplet.* *Int. J. Refrig.* v. 36, p. 1319-1326, 2013
- DAVIDSON, A.; AL-QALLAF, B.; DAS, D.B. *Transdermal drug delivery by coated microneedles: Geometry effects on effective skin thickness and drug permeability.* *Chem. Eng. Res. Des.* v. 86, p. 1196-1206, 2008.
- DÉAT-LAINÉ, E.; HOFFART, V.; CARDOT, J.M.; SUBIRADE, M.; BEYSSAC, E. *Development and in vitro characterization of insulin loaded whey protein and alginate microparticles.* *Int.J.Pharm.* 439, 136-144, 2012.
- ELI LILLY AND COMPANY. Diabetes Tipo 1 (DM1). Disponível em: https://www.lilly.com.br/Diabetes/O_Que_E_Diabetes/Diabetes_Tipo1. Acessado em 30/10/2013.
- GRAFT, J.; BRINCH, K.; MADSEN, J.L. *Gastrointestinal mean transit times in young and middle-aged healthy subjects.* *Clin. Physiol.* 21, 2, 253-259., 2001.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de fisiologia médica.* Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Inquérito Domiciliar: Diabetes. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/inquerito/docs/diabete.pdf>. Acessado em 30/10/2013.
- LOPEZ-SALAZAR, R.; CAMACHO-LEON, S.; OLIVARES-QUIROZ, L.; HERNANDEZ, J. *Design and Simulation of High Precision Drug Delivery System.* *Procedia Technology* v. 3, p. 334-341, 2012
- RAMKISSOON-GANORKAR, C.; LIU, F.; BAUDYS, M.; KIM, S. W. *Modulating insulin-release profile from pH/thermosensitive polymeric beads through polymer molecular weight.* *J. Control Release* 59, 287-298, 1999.
- REIS, A.C.B.P. Encapsulação de Fármacos Peptídicos pelo Método de Emulsificação/Gelificação Interna. Universidade de Coimbra, 2007.
- SCHILLING, R. J.; MITRA, A. K. *Intestinal mucosal transport of insulin.* *Int. J. Pharm.* 62, 53-64, 1990.
- SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídios e proteínas: III. Aplicação à insulina. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* vol.39 nº.1, 2003.
- SILVA, P.M.; FERREIRA, J.A.; OLIVEIRA, P. *Tool for studying drug delivery to the eye in case of glaucoma.* *COMSOL Conference in Milan*, 2012
- STUTE, B.; KRUPP, V.; VON LIERES, E. *Performance of iterative equation solvers for mass transfer problems in three-dimensional sphere packings in COMSOL.* *Simul. Model. Pract. Th.* v. 33, p. 115-131, 2013.
- PERUSSELLO, C.A.; KUMAR, C.; CASTILHOS, F.; KARIM, M.A. *Heat and mass transfer modeling of osmo-convective drying of yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*).* *Appl. Therm. Eng.*, 2013