



En otro estudio, utilizando nanopartículas de polisacáridos mucoadhesivos de chitosán, se comprobó que la absorción intestinal de muchos péptidos y proteínas parecía aumentar [32].

Rekha et al. desarrollaron un nuevo material con el objeto de evaluar su aplicación como sistema de liberación de péptidos por vía oral, el lauril succinil chitosán. La presencia de grupos succinil carboxilo tiene un efecto inhibidor sobre la cinética de liberación de la insulina a pH 1.2 minimizándolo hasta un $8.5 \pm 0.45\%$ en 2 horas, lo que redujo las pérdidas a nivel estomacal. Los resultados mostraron que la presencia de grupos hidrofóbicos controlaron la liberación de la insulina transportada en las partículas al pH intestinal (48.1 ± 1.3 UI/100 mg de partículas). Consiguieron nano y micropartículas (315 nm - $1.090 \text{ }\mu\text{m}$) cargadas negativamente y que demostraron poderse unir al calcio, lo que previno de la degradación enzimática. La alta capacidad mucoadhesiva y la permeabilidad intestinal fueron mejores que con las partículas de chitosán sin modificar, e incluso uno de los preparados utilizados, LSC2, fue capaz de abrir las *tight-junctions*, liberar insulina en la barrera epitelial intestinal y reducir los niveles de glucosa en sangre en ratas diabéticas durante 6 horas [33].

Otra prometedora alternativa en el campo de la administración no invasiva de péptidos, son los polímeros tiolados [34], una nueva generación de polímeros mucoadhesivos.

Estos polímeros tiolados, denominados "thiómeros" pueden ser de distintos tipos; hasta el momento, se han generado distintos thiómeros catiónicos, como Los thiómeros Chitosán-cisteína [35], chitosán-tiobutilamidina [36], [37] y chitosán-ácido tioglicólico [38], [39] y thiómeros aniónicos, como poli(ácido acrílico)-cisteína [40], poli(ácido acrílico)-cisteamina [41], carboximetilcelulosa-cisteína [42] y alginato-cisteína [43].

Se ha visto que tras la administración oral de tabletas de insulina a base de polímeros tiolados chitosan-insulina a ratas no diabéticas, sus niveles de glucosa en sangre disminuyeron significativamente durante 24 horas [44].

En el 2010 Sajesh et al., a través de estudios *in vitro* e *in vivo*, compararon la actividad farmacológica de la insulina administrada por vía oral a través micropartículas de hidrogel compuestas por ácido glicol polimetacrílico conjugado con polietileno chitosan (PCP) frente a las mismas micropartículas tioladas a nivel de la cisteína (Cys-PCP). Se vio que

las micropartículas de hidrogel tioladas mostraron una menor capacidad de carga o de encapsulación de insulina frente a las partículas sin modificar. Tanto la PCP como la Cys-PCP fueron capaces de inhibir las proteasas enzimáticas *in vitro*. Sin embargo las micropartículas tioladas fueron más eficaces para la obtención de una respuesta farmacológica en ratas con diabetes inducida en comparación con las micropartículas no modificadas. A partir de estos estudios, la tiolación de micropartículas de hidrogel parece constituir un prometedor sistema para mejorar la administración oral de péptidos y proteínas [45].

También en 2010, Sonaje et al. realizaron un estudio comparativo entre la administración de un análogo de insulina de acción rápida: la insulina-aspart por vía oral frente a la vía subcutánea. La administración oral de insulina-aspart se logró con nanopartículas pH sensibles, un sistema compuesto de chitosán y poli(ácido gamma-glutámico). Los resultados obtenidos en el estudio indican que la insulina-aspart administrada oralmente fue absorbida por la circulación sistémica, mientras que el transportador de chitosán fue principalmente retenido en el tracto gastrointestinal.

En la evaluación de la farmacodinamia y la farmacocinética en un modelo de administración en ratas diabéticas, la administración oral de nanopartículas cargadas con insulina-aspart produjo una respuesta hipoglucémica más lenta y por un periodo de tiempo más prolongado; mientras que la inyección subcutánea de insulina-aspart produjo un efecto hipoglucémico más pronunciado y con una duración relativamente corta.

Finalmente la comparación de los perfiles farmacodinámicos y farmacocinéticos entre la administración oral de insulina-aspart y la inyección subcutánea de insulina-NPH, un preparado de insulina de acción intermedia, sugiere la posibilidad de utilizar este sistema de nanopartículas como una alternativa no invasiva para la administración de insulina [46].

Otra prometedora alternativa en el campo de la administración no invasiva de péptidos son los polímeros tiolados

Como hemos ido describiendo, se han propuesto numerosos sistemas de administración con polímeros mucoadhesivos, estos sistemas se consideran efectivos en base a que potencian la absorción intestinal de moléculas biológicas vulnerables frente a las enzimas proteolíticas [47 y 48]. Sin embargo su toxicidad en tratamientos a largo plazo, todavía no está bien definida y serían necesarios más datos en estudios sobre humanos para regular su uso potencial en aplicaciones clínicas.

Sistema de administración a base de portadores de partículas

La mayoría de las estrategias para la administración oral de insulina a base de partículas transportadoras, se han desarrollado para evitar los problemas inherentes a la administración de péptidos por vía oral. Estos transportadores protegen eficazmente las drogas peptídicas contra la degradación enzimática y el ambiente desfavorable del tracto gastrointestinal (TGI), proporcionan una elevada transferencia de fármaco a través de la mucosa epitelial, permiten mantener un control sobre la velocidad de liberación, y dirigir la administración de fármacos a determinados sitios del intestino.

Para superar todas las barreras ya mencionadas, y de cara a mejorar la formulación de péptidos se han investigado sistemas coloidales de transporte tales como: microemulsiones [49], liposomas [50], nano- y micro-partículas poliméricas [51], y micelas poliméricas [52]. Todos ellos se han formulado con polímeros adhesivos, inhibidores de proteasas, inhibidores de la agregación de la insulina, y excipientes funcionales para inducir un transporte transcelular o paracelular a través de las placas de Peyer, así como un transporte mediado por receptores de insulina en el tracto gastrointestinal.

Hay investigaciones que proponen el uso de vehículos oleosos para proteger a los péptidos del ambiente del tracto gastrointestinal (TGI), donde las microemulsiones agua/aceite (W/O) resultan ser las más prometedoras. Las microemulsiones se perfilan como sistemas inteligentes y patentados para la posible liberación de estos péptidos y proteínas. Cho et al. patentaron una formulación W/O para compuestos proteicos en la que dentro de la fase hidrofílica se incluye la sustancia biológicamente activa (insulina en nuestro caso) y lecitina, o un precursor de lecitina que contenga un fosfolípido, y en la fase lipofílica, aceite, un fosfolípido y un surfactante. La leci-



● SISTEMA DE ADMINISTRACIÓN DE INSULINA POR VÍA ORAL

tina se integra en las membranas de los quilomicrones, transportando de esta manera a la proteína hacia la circulación general. La invención se basa en una estructura pro-micelar que comprende un agente farmacológicamente activo encapsulado en una membrana con ácidos grasos esterificados. En el intestino, la exposición a estos ácidos grasos convierte la pro-micela en una micela estable que llevaría a cabo la liberación efectiva del fármaco a la circulación general. La membrana de la micela puede ser encapsulada con un agente de recubrimiento o un recubrimiento entérico que nos proporcione una microcápsula [53].

Los liposomas son sistemas coloidales de tipo vesicular, formados por una o varias bicapas de fosfolípidos que rodean un compartimento acuoso, son capaces de incorporar medicamentos de carácter hidrófilo o lipófilo. De este modo podríamos incluir, dentro de los liposomas, moléculas peptídicas y entre ellas a la insulina.

Los liposomas pueden suponer, como vemos, una alternativa como potencial transportador para la administración oral de proteínas. En un estudio se examinaron liposomas dobles conteniendo insulina en combinación con aprotinina [54].

En otro estudio específico, liposomas fusogénicos demostraron ser los únicos vehículos de administración capaces de introducir su contenido directamente en el citoplasma con la ayuda de las glicoproteínas de la envoltura del virus Sendai [55]. Los resultados indican que los liposomas fusogénicos son vehículos útiles para mejorar la absorción de la insulina a través del tracto intestinal.

También se han estudiado ampliamente las nanopartículas como vehículos transportadores de insulina. Estas nanopartículas son partículas sólidas coloidales de tamaño entre 0,01 y 1 μ m, formadas por materias macromoleculares en las que se incorpora el principio activo. Se clasifican según la naturaleza de la matriz en: a) nanopartículas elaboradas con macromoléculas naturales: albumina y gelatina y b) nanopartículas acrílicas: acrilamida, metilmetacrilato y alquilcianoacrilato. Las nanopartículas de poliacrilamida y polimetacrilato tienen el inconveniente de no ser biodegradables mientras que las de polialquilcianoacrilato si son degradables. Las nanopartículas de alquilcianoacrilato tienen la ventaja, desde el punto de vista biofarmacéutico, de su elevada capacidad de carga frente a otros sistemas transportadores de medicamentos. Se ha visto que la administración oral de nanocápsulas conteniendo insulina reduce los niveles de glucosa en

ratas diabéticas durante periodos prolongados. La nanoencapsulación protege a la hormona de la degradación proteolítica en el TGI y mantiene su actividad biológica después de pasar por la mucosa intestinal.

Hay estudios donde las nanopartículas cargadas con chitosán, preparadas por gelación ionotrópica con aniones polifosfatos o por complejación de polielectrolitos y dextrano han dado buenos resultados [56].

En cuanto a los sistemas transportadores basados en el chitosán, Lee, E et al. desarrollaron, en 2010, un nuevo sistema de administración de insulina por vía oral con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad, para ello idearon un sistema basado en la conjugación entre la insulina y un chitosan de bajo peso molecular. El conjugado se sintetizó a partir de una reacción en sitios concretos de la estructura de la insulina modificada en el residuo de lisina de la cadena β y el grupo sulfhidrilo. Tras la administración de estos conjugados de insulina por vía oral en modelos de ratas diabéticas, se vio que podían controlar los niveles de glucosa en sangre con eficacia durante varias horas; sin embargo esta biodisponibilidad fue muy inferior a la conseguida tras la administración de insulina inyectada por vía subcutánea [57].

Woitiski et al. estudiaron en 2009 la utilización de distintos biomateriales para la formulación de nanopartículas a través de transportadores coloidales en condiciones de pH neutro que protegieran de la degradación a la insulina [58].

Incluiremos aquí el ya citado trabajo de Sonaje y otros [46], incluyéndolo en este apartado como modelo de un sistema de administración de insulina (insulina-aspart) por vía oral a base de nanopartículas pH sensible, compuestas por chitosan y poli (ácido gamma glutámico).

Por otro lado, con nanopartículas preparadas con una mezcla de un poliéster biodegradable (poli (epsilon-caprolactona)) y un polímero biodegradable (Eudragit RS), utilizado como portador

de drogas para la administración oral de un análogo de insulina de acción rápida, se observó una disminución de la glucemia en ayunas durante un período prolongado de tiempo y una mejora en la respuesta glucémica dependiente del tiempo [59].

Mundargi et al. también consiguieron administrar insulina vehiculada a través de microesferas pH sensibles de Eudragit L100, Eudragit RS100 y una mezcla de ambas; en estudios in vitro se observó que la insulina no se liberó a pH 1.2 mientras que la liberación de insulina fue máxima a un pH de 7.4, también se observó que se mantenía íntegra la estructura de la insulina tanto durante la encapsulación como después de su liberación a pH 7.4. En los estudios que hicieron in vivo con modelos de ratas con diabetes inducida se produjo absorción de insulina a través del intestino, lo que refuerza la esperanza en un prometedor futuro para la administración oral de insulina [60].

Los autores Almeida y Souto mencionan distintos procedimientos en la elaboración de nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) como sistema de liberación de péptidos y proteínas, entre las que se incluyen: microemulsiones, homogeneización de alta presión, emulsificación-evaporación de solvente, emulsificación-difusión de solvente y partículas obtenidas mediante la técnica de fluido supercrítico entre otras, siendo esta última técnica la que cuenta con mayor porcentaje de eficiencia en la incorporación de insulina dentro de las partículas lipídicas [61].

Un nuevo sistema de reciente desarrollo, utilizado como transportador de péptidos y proteínas, son los *aguosomas*, ya que se han utilizado, con cierto éxito, para la administración de insulina, hemoglobina y otros antígenos, ofreciéndonos un futuro prometedor [62].

Sistemas de administración vectorizados

La administración de péptidos y proteínas dirigida a sitios específicos se ha utilizado para disminuir la dosis de fármaco total administrada y concentrar la dosis terapéutica en estos lugares en los que se produce la acción farmacológica [63].

La absorción no es uniforme a través del TGI, se produce en sitios específicos dependiendo de las diferencias en la composición de la formulación, el grosor de la capa mucosa, el pH, la superficie del área y la actividad enzimática [64].

La administración de medicamentos vectorizados para su absorción en el colon, tiene varias características: un

Las nanopartículas de poliacrilamida y polimetacrilato tienen el inconveniente de no ser biodegradables



FOTO 2

Viales de insulina



tiempo de permanencia prolongado, una actividad enzimática reducida, un incremento en la respuesta de los tejidos para potenciar la absorción [65].

La administración de insulina a través de sistemas de liberación vectorizados hacia el colon ha sido desarrollada y estudiada extensamente durante los últimos años. En este sentido se ha estudiado la administración de insulina vectorizada, utilizando glicolato de sodio y óxido de polietileno consiguiéndose, de este modo, una disminución de la glucemia tras su administración oral [66].

Tozaki et al. también informaron sobre unos nuevos pellets recubiertos de azopolímero capaces de transportar insulina y calcitonina [67].

La carga superficial y el tamaño de partícula son los principales factores que controlan la captación de partículas por las placas de Peyer [68].

Proteínas como las lectinas y la transferrina también han sido sugeridas como transportadores en la absorción gastrointestinal de polipéptidos. La unión covalente de moléculas de lectina, procedentes del tomate, a partículas de poliestireno, incrementaron significativamente la captación por las placas de Peyer y los tejidos intestinales normales [69]. El porcentaje total de la dosis administrada a través del tejido linfático fue, estadísticamente, mucho mayor que la absorbida por el tejido no linfático. Se estima que el 60% de la dosis absorbida por el intestino delgado, lo hace a través de las placas de Peyer, a pesar de que estas placas constituyen un pequeño porcentaje de

la superficie total del tejido del intestino delgado. Una cantidad significativa del total absorbido, también tuvo lugar en el intestino grueso, particularmente en sus secciones linfáticas. Estos resultados fueron confirmados por microscopía fluorescente.

Joseph et al. emplearon microesferas de poli (lactido-co-glicolado) PLGA para la administración oral de péptidos en ratones diabéticos [70]. La formulación con microesferas redujo la respuesta glucémica a la sobrecarga oral de glucosa en los ratones. Estas microesferas poseían un tamaño $\sim 1\mu\text{m}$ y supuestamente fueron absorbidas a través de las placas de Peyer.

Se ha demostrado en un modelo de monocapas de células Caco-2 la transcitosis de un conjugado de insulina-transferrina (In-Tf) mediada por receptores de transferrina [71]. Los resultados indican que este transporte transepitelial podría considerarse como una aproximación factible al desarrollo de un sistema oral de liberación para insulina y otros fármacos peptídicos.

Con Tyrophostin-8, utilizado como un amplificador de la transcitosis mediada por el receptor de transferrina, se incrementaron los efectos hipoglucémicos de los conjugados In-Tf en ratas diabéticas, especialmente 7 horas después de su administración oral [72].

En 2008 Ainslie et al. consiguieron fabricar un microdispositivo a base de superponer varias capas poliméricas cargadas con distintos fármacos y destinado a la administración oral de terapias múl-

tiples que demostró ser capaz de liberar de forma unidireccional fármacos por vía oral. De este modo se consiguió un microdispositivo polimérico multicapa cargado con insulina y el quimioterápico camptotecina, observándose *in vitro* la liberación controlada, tanto de insulina como de camptotecina a lo largo de 180 minutos, desde el microdispositivo hacia el interfaz celular, consiguiéndose una concentración de droga en el epitelio intestinal 10 veces mayor frente a la conseguida usando hidrogeles, cargados con fármaco, no protegidos. Si bien es verdad que la creación de un microdispositivo de este tipo podría constituir un método viable para la administración oral de fármacos contribuyendo a mejorar el cumplimiento terapéutico por parte del paciente y a reducir la toxicidad asociada, sin embargo el problema es que no ha sido probado solo y específicamente con insulina (solo se estudió su liberación junto con camptotecina), ni se han llevado a cabo pruebas de glucemia que corroboren su efectividad *in vivo* [73].

Aunque ha habido algunos resultados prometedores con agentes que incrementan la liberación dirigida o la transcitosis mediada por receptores específicos, las cantidades absorbidas por el epitelio intestinal fueron insuficientes. Además, debido a la absorción continua de partículas a través de las células M de las placas de Peyer, podría inducirse una respuesta inmune, lo que incrementaría los problemas de toxicidad.

Conclusiones

Desde que en 1922 Banting y Best aislaron por primera vez la insulina de páncreas bovinos y que posteriormente la tecnología de ADN recombinante nos proporcionara una insulina capaz de ser activa en humanos al ser administrada en forma inyectable y disponible a un coste razonable, se ha desarrollado un largo camino hacia el encuentro de nuevas vías de administración de insulina, desde la rectal a la oral, se ha trabajado en la búsqueda de una gran variedad de sistemas de administración.

En las últimas décadas, gran número de investigaciones se han focalizado hacia la obtención de sistemas de administración de insulina por vía oral, intentando conseguir una terapéutica con insulina biodisponible por vía oral capaz de salvar los obstáculos que presenta el tracto gastrointestinal, de manera que sea posible alcanzar niveles de concentración de insulina en sangre adecuados para conseguir la regulación del metabolismo de la glucosa.



• SISTEMA DE ADMINISTRACIÓN DE INSULINA POR VÍA ORAL

En este sentido, últimamente, y a pesar de que aún no se han superado algunos problemas y de que aún son necesarios amplios estudios clínicos, se han desarrollado gran número de innovadores trabajos de investigación que han lanzado alguna luz prometedora sobre el nuevo futuro de la terapia oral con insulina.

Los progresos conseguidos en los últimos años con la administración de insulina por vía pulmonar (Exubera®) y vía bucal (Oral-lyn™), abren el horizonte a investigar nuevas vías de administración y es posible que en un futuro no muy lejano, los laboratorios farmacéuticos puedan proporcionar a los enfermos, que actualmente dependen de la administración subcutánea de insulina, nuevas alternativas y que la administración oral de insulina sea pronto, no solo un deseo, sino una realidad.

Bibliografía

- [1] Wearley L.L., 1991. "Recent progress in protein and peptide delivery by non invasive routes". *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*; 4: 331-394.
- [2] Lane, E.M., O'Driscoll, C.M., Corrigan, O.I., 2005. Quantitative estimation of the effects of bile salts surfactant systems on insulin stability and permeability in the rat intestine using a mass balance model". *J. Pharm. Pharmacol.* 57, 169-175.
- [3] Uchiyama, T., Sugiyama, T., Quan, Y.S., Kotani, A., Okada, N., Fujita, T., Muranishi, S., Yamamoto, A., 1999. "Enhanced permeability of insulin across the rat intestinal membrane by various absorption enhancers: their intestinal mucosal toxicity and absorption enhancing mechanism of n-lauryl-b-D-maltopyranoside". *J. Pharm. Pharmacol.* 51, 1241-1250.
- [4] Morishita, M., Kajita, M., Suzuki, a., Takayama, K., Chiba, Y., Tokiwa, S., Nagai, T., 2000. "The dose-related hypoglycemic effects of insulin emulsions incorporating highly purified EPA and DHA". *Int. J. Pharm.* 201, 175-185.
- [5] Hosny, E.A., Al-Shora, H.I., Elmazar, M.M.A., 2002. "Oral delivery of insulin from enteric-coated capsules containing sodium salicylate: effect on relative hypoglycemia of diabetic beagle dogs". *Int. J. Pharm.* 237, 71-76.
- [6] Morishita, M., Morishita, I., Takayama, K., Machida, Y., Nagai, T., 1993. "Site-dependent effect of aprotinin, sodium caprate, Na₂-EDTA and sodium glycocholate on intestinal absorption of insulin". *Biol. Pharm. Bull.* 16, 68-72.
- [7] N.N., Eddington, N.D., Fasano, A., 2006. "Tight junction modulation and its relationship to drug delivery". *Adv. Drug Deliv. Rev.* 58, 15-28.
- [8] Fasano, A., Uzzau, S., 1997. "Modulation of intestinal tight junctions by zonula occludens toxin permits enteral administration of insulin and other macromolecules in an animal model". *J. Clin. Invest.* 99, 1158-1164.
- [9] Yamamoto, A., Taniguchi, T., Rykyuu, K., Tsuji, T., Fujita, T., Murakami, M., Muranishi, S., 1994. "Effect of various protease inhibitors on the intestinal absorption and degradation of insulin in rats". *Pharm. Res.* 11, 1496-1500.
- [10] Agarwal, V., Reddy, I.K., Khan, M.A., 2000. "Effect of chicken and duck ovomucoid on the stability of insulin in the presence of α -chymotrypsin and trypsin". *Pharm. Pharmacol. Commun.* 6, 223-227.
- [11] Agarwal, V., Reddy, I.K., Khan, M.A., 2001. "Polimethylacrylate microcapsules of insulin for oral delivery: preparation and in vitro dissolution stability in the presence of enzyme inhibitors". *Int. J. Pharm.* 225, 31-39.
- [12] Agarwal, V., Nazzari, S., Reddy, I.K., Khan, M.A., 2001. "Transport studies of insulin across rat jejunum in the presence of chicken and duck ovomucoid". *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 1131-1138.
- [13] Marschütz, M.K., Bernkop-Schnürch, A., 2000. "Oral peptide drug delivery: polymer-inhibitor conjugates protecting insulin from enzymatic degradation in vitro". *Biomaterials*, 21, 1499-1507.
- [14] Marschütz, M.K., Caliceti, P., Bernkop-Schnürch, A., 2000. "Design and in vivo evaluation of an oral delivery system for insulin". *Pharm. Res.* 17, 1468-1474.
- [15] Takeuchi, H., Yamamoto, H., Kawashima, Y., 2001. "Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery". *Adv. Drug Deliv. Rev.* 47, 39-54.
- [16] Chowdary, K.P.R., Rao, Y.S., 2004. "Mucoadhesive microspheres for controlled drug delivery". *Biol. Pharm. Bull.* 27, 1717-1724.
- [17] Hejazi, R., Amiji, M., 2003. "Chitosan-based gastrointestinal delivery system". *J. Control Release* 89, 151-165.
- [18] Peppas, N.A., 2004. "Devices based on intelligent biopolymers for oral protein delivery". *Int. J. Pharm.* 227, 11-17.
- [19] Bernkop-Schnürch, A., Scerbe-Saiko, A., 1998. "Synthesis and in vitro evaluation of chitosan-EDTA-protease-inhibitor conjugates which might be useful in oral delivery of peptides and proteins". *Pharm. Res.* 15, 263-269.
- [20] Dorkoosh, F.A., Stokkel, M.P.M., Blok, D., Borchard, G., Rafiee-Tehrani, M., Verhoef, J.C., Junginger, H.E., 2004. "Feasibility study on the retention of superporous hydrogel composite polymer in the intestinal tract of man using scintigraphy". *J. Control Release* 99, 199-206.
- [21] Lamprecht, A., Saumet, J.L., Roux, J., Benoit, J.P., 2004. "Lipid nanocarriers as drug delivery system for ibuprofen in pain treatment". *Int. J. Pharm.* 278, 407-414.
- [22] Bernkop-Schnürch, A., Kast, C.E., Richter, M.F., 2001. "Improvement in the mucoadhesive properties of alginate by the covalent attachment of cysteine". *J. Control Release* 71, 277-285.
- [23] Takeuchi, H., Yamamoto, H., Niwa, T., Hino, T., Kawashima, Y., 1996. "Enteral absorption of insulin in rats from mucoadhesive chitosan-coated liposomes". *Pharm. Res.* 13, 896-901.
- [24] Bernkop-Schnürch, A., Krajicek, M.E., 2001. "Mucoadhesive polymers as platforms for personal peptide delivery and absorption: synthesis and evaluation of different chitosan-EDTA conjugates". *J. Control Release* 50, 215-223.
- [25] Lehr, C.M., 2000. "Lectin-mediated drug delivery: the second generation of bioadhesive". *J. Control Release* 65, 19-29.
- [26] Lowman, A.M., Morishita, M., Kajita, M., Nagai, T., Peppas, N.A., 1999. Oral delivery of insulin using pH-responsive complexation gels". *J. Pharm. Sci.* 88, 933-937.
- [27] Nakamura, K., Murray, R.J., Joseph, J.J., Peppas, N.A., Morishita, M., Lowman, A.M., 2003. "Oral insulin delivery using P (MAA-g-EG) hydrogels: effects of network morphology on insulin delivery characteristics". *J. Control Release* 95, 589-599.
- [28] Foss, A.C., Goto, T., Morishita, M., Peppas, N.A., 2003. "Development of acrylic-based copolymers for oral insulin delivery". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57, 163-169.
- [29] López, J.E., Peppas, N.A., 2004. "Effect of poly (ethylene glycol) molecular weight and microparticle size on oral insulin delivery from P (MAA-g-EG) microparticles". *Drug Dev. Ind. Pharm.* 30, 497-504.
- [30] Morishita, M., Goto, T., Peppas, N.A., Joseph, J.J., Torjman, M.C., Munsick, C., Nakamura, K., Yamagata, T., Takayama, K., Lowmann, A.M., 2004. "Mucosal insulin delivery systems based on complexation polymer hydrogels: effect of particle size on insulin enteral absorption". *J. Control Release* 97, 115-124.
- [31] Kim, B.Y., Jeong, J.H., Park, K., Kim, J.D., 2005. "Bioadhesive interaction and hypoglycemic effect of insulin-loaded lectin-microparticle conjugates in oral insulin delivery systems". *J. Control Release* 102, 525-538.
- [32] Pan, Y., Li, Y., Zhao, H., Zheng, J., Xu, H., Wei, G., Hao, J., Cui, F., 2002. "Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system: chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin in vivo". *Int. J. Pharm.* 249, 139-147.
- [33] Rekha, M.R., Sharma, C.P., 2009. "Synthesis and evaluation of lauryl succinyl chitosan towards oral insulin delivery and absorption". *J. Control Release* 2009 Apr 17;135 (2):144-151.



Tecnología Farmacéutica

- [34] Bernkop-Schnürch, A., 2005. "Thiomers: a new generation of mucoadhesive polymers". *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57, 1569-1582.
- [35] Bernkop-Schnürch, A., Brandt, U.M., Clausen, A.E., 1999. "Synthesis and in vitro evaluation of chitosan-cysteine conjugates". *Sci. Pharm.* 67, 196-208.
- [36] Bernkop-Schnürch, A., Hornof, M., Zoidl, T., 2003. "Thiolated polymers-thiomers: synthesis and in vitro evaluation of chitosan-2-iminothiolane conjugates". *Int. J. Pharm.* 260, 229-237.
- [37] Roldo, M., Hornof, M., Caliceti, P., Bernkop-Schnürch, A., 2004. "Mucoadhesive thiolated chitosans as platforms for oral controlled drug delivery: synthesis and in vitro evaluation". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57, 115-121.
- [38] Bernkop-Schnürch, A., Hopf, T.E., 2001. "Synthesis and in vitro evaluation of chitosan-thioglycolic acid conjugates". *Sci. Pharm.* 69, 109-118.
- [39] Kast, C.E., Bernkop-Schnürch, A., 2001. "Thiolated polymers-thiomers: development and in vitro evaluation of chitosan-thioglycolic acid conjugates". *Biomaterials* 22, 2345-2352.
- [40] Bernkop-Schnürch, A., Steininger, S., 2000. "Synthesis and characterization of mucoadhesive thiolated". *Int. J. Pharm.* 194, 239-247.
- [41] Bernkop-Schnürch, A., Clausen, A.E., Hnatyszyn, M., 2001. "Thiolated polymers synthesis and in vitro evaluation of polymer-cysteine conjugates". *Int. J. Pharm.* 226, 185-194.
- [42] Bernkop-Schnürch, A., Scholler, S., Biebel, R.G., 2000. "Development of controlled drug release systems based on polymer-cysteine conjugates". *J. Control. Release* 66, 39-48.
- [43] Bernkop-Schnürch, A., Kast, C.E., Richter, M.F., 2001. "Improvement in the mucoadhesive properties of alginate by covalent attachment of cysteine". *J. Control. Release* 71, 277-285.
- [44] Krauland, A.H., Guggi, D., Bernkop-Schnürch, A., 2004. "Oral insulin delivery: the potential of thiolated chitosan-insulin tablets on non-diabetic rats". *J. Control. Release* 95, 547-555.
- [45] Sajeesh, S., Vauthier, C., Gueutin, C., Ponchel, G., Sharma, C.P., 2010. "Thiol functionalized polymethacrylic acid-based hydrogel microparticles for oral insulin delivery". *Acta Biomater* 2010 Aug; 6 (8): 3072-80.
- [46] Sonaje K, Lin KJ, Wey SP, Lin CK, Yeh TH, Nguyen HN, Hsu CW, Yen TC, Juang JH, Sung HW. 2010. "Biodistribution, pharmacodynamics and pharmacokinetics of insulin analogues in a rat model: Oral delivery using pH-responsive nanoparticles vs. subcutaneous injection". 2010. *Biomaterials*. 2010 Sep; 31(26):6849-58. Epub 2010 Jun 17.
- [47] Junginger, H.E., 1990. "Bioadhesive polymer systems for peptide delivery". *Acta. Pharm. Technol.* 36, 110-126.
- [48] Bernkop-Schnürch, A., Clausen, A.E., 2002. "Biomembrane permeability of peptides: strategies to improve their mucosal uptake". *Mini Rev. Med. Chem.* 2, 295-305.
- [49] Kisel, M.A., KuliK, L.N., Tsybovsky, I.S., Vlasov, A.P., Vorob'ov, M.S., Kholodova, E.A., Zabarovskaya, Z.V. 2001. "Liposomes with phosphatidylethanol as a carrier for oral delivery of insulin: studies in the rat". *Int. J. Pharm.* 216 (2001) 105-114.
- [50] Jung, T., Kamm, W., Breitenbach, A., Kaiserling, E., Xiao, J.X., Kissel, T. 2000. "Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50 (2000) 147-160.
- [51] Jones, M.C., Leroux, J.C. 1999. "Polymeric micelles: a new generation of colloidal drug carrier". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 48 (1999) 101-111.
- [52] Toorisaka, E., Hashida, M., Kamiya, M., Ono, H., Kokazu, Y., Goto, M. 2005. "An enteric-coated dry emulsion formulation for oral insulin delivery". *J. Control Release* 107 (2005) 91-96.
- [53] Talegaonkar S, Azeem A, Ahmad FJ et al. 2008 "Microemulsions: a novel approach to enhanced drug delivery". *Recent Pat Drug Deliv Formul* 2008; 2(3):238-257.
- [54] Katayama, K., Kato, Y., Onishi, H., Nagai, T., Machida, Y. 2003. "Double liposomes: hypoglycemic effects of liposomal insulin on normal rats". *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29 (2003) 725-731.
- [55] Goto, T., Morishita, M., Nishimura, K., Nakanishi, M., Kato, A., Ehara, J., Takayama, K. 2006. "Novel mucosal insulin delivery systems based on fusogenic liposomes". *Pharm. Res.* 23 (2006) 384-391.
- [56] Elsayed A., Al Renawi M., Qinna N., Farouk A., Badwan A. 2009. "Formulation and characterization of an oily-based system for oral delivery of insulin". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 73 (2009) 269-279.
- [57] Lee E, Lee J, Jon S. 2010. "A novel approach to oral delivery of insulin by conjugating with low molecular weight chitosan". *Bioconjug Chem.* 2010 Oct 20; 21(10):1720-3.
- [58] Woitiski CB, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, Veiga F. 2009. "Colloidal carrier integrating biomaterials for oral insulin delivery: Influence of component formulation on physicochemical and biological parameters". *Acta Biomater.* 2009 Sep;5(7):2475-84.
- [59] Damgé C, Socha M, Ubrich N, Maincent P. 2010. "Poly (epsilon-caprolactone)/eudragit nanoparticles for oral delivery of aspart-insulin in the treatment of diabetes". *J Pharm Sci.* 2010 Feb; 99 (2):879-89.
- [60] Mundargi, R.C., Rangaswamy, V., Aminabhavi, T.M. 2011. "pH-sensitive oral insulin delivery systems using Eudragit microspheres". *Drug Dev. Ind. Pharm.* (2011) Mar 21 (Epub ahead of print).
- [61] Almeida, A.J., Souto, E. 2007. "Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins". *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007) 478-490.
- [62] Umashankar MS, Sachdeva RK, Gulati M. 2010. "Aquasomes: a promising carrier for peptides and protein delivery". *Nanomedicine*. 2010 Jun; 6(3):419-26.
- [63] Pettit, D. K., Gombotza, W. R. 1998. "The development of site-specific drug-delivery systems for protein and peptide biopharmaceuticals". *Trends Biotechnol.* 16 (1998) 343-349.
- [64] Daugherty A.L., Msrny R. 1999. "Transcellular uptake mechanisms of intestinal epithelial barrier". *Pharm SCI. Technol. Today* 4 (1999) 144-151.
- [65] Msrny R. J. 1992. "The colon as a site for drug delivery". *L. Control. Release.* 22 (1992) 15-34.
- [66] Katsuma M., Watanabe S., Kawai H., Takemura S., Sako K. 2005. "Effect of absorption promoters on insulin absorption through colon-targeted delivery". *Int. J. Pharm.* 307 (2005) 156-162.
- [67] Tozaki H, Nishioka J, Komoike J et al. 2001. "Enhanced absorption of insulin and calcitonin using novel azopolymer-coated pellets for colon-specific drug delivery". *J Pharm Sci* 2001; 90:89-97
- [68] Shakweh M, Besnard M, Nicolas V, et al. 2005. "Poly(lactide-co-glycolide) particles of different physicochemical properties and their uptake by Peyer's patches in mice". *Eur J Pharm Biopharm* 2005; 61:1-13
- [69] Hillery AM, Jani PU, Florence AT. 1994. "Comparative, quantitative study of lymphoid and non-lymphoid uptake of 60 nm particles". *J drug Target* 1994; 2:151-156.
- [70] Joseph JW, Kalitsky J, St-Pierre S et al. 2000. "Oral delivery of glucagon-like peptide-1 in a modified polymer preparation normalizes basal glycaemia in diabetic db/db mice". *Diabetologia* 2000; 43:1319-1328.
- [71] Xia CQ, Wang J, Shen WC. 2000. "Hypoglycemic effect of insulin-transferrin conjugate in Streptozotocin-induced diabetic rats". *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295:594-600
- [72] Xia CQ, Shen WC. 2001. "Tyrosine-8 enhances transferrin receptor mediated transcytosis in Caco-2 cells and increase hypoglycemic effect of orally administered insulin-transferrin conjugate in diabetic rats". *Pharm Res* 2001;18:191-195.
- [73] Ainslie KM, Kraning CM, Desai TA et al. 2008. "Microfabrication of an asymmetric, multi-layered microdevice for controlled release of orally delivered therapeutics". *Lab Chip* 2008 Jul; 8(7):1042-1047. ■