



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0922989-2 B1

(22) Data do Depósito: 17/12/2009

(45) Data de Concessão: 19/09/2017



(54) Título: LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE NUTRIENTES IN VIVO

(51) Int.Cl.: A23L 29/262; A23L 29/30; A23L 33/21

(30) Prioridade Unionista: 17/12/2008 US 12/337,022, 17/12/2008 US PCT/US2008/087104

(73) Titular(es): NEW WORLD PHARMACEUTICALS, LLC

(72) Inventor(es): FREDERICK A. SEXTON; SITARAMAN KRISHNAN; VENKAT KALYAN VENDRA

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para:
"LIBERAÇÃO SUSTENTADA DE NUTRIENTES *IN VIVO*".

Este pedido de patente reivindica prioridade do pedido de patente internacional No. PCT/US2008/087104, depositado
5 em 17 de dezembro de 2008 e do pedido de patente US12/337022, depositado em 17 de dezembro de 2008, ambos os quais requerendo o benefício da prioridade do pedido de patente US61/014251, depositado em 17 de dezembro de 2007.

Os documentos acima expostos, e todos os documentos
10 neles citados ou citados durante a sua análise (doravante "documentos citados nos pedidos") e todos os documentos citados ou referenciados nos "documentos citados nos pedidos", e todos os documentos citados ou mencionados neste documento ("documentos aqui citados"), e todos os
15 documentos citados ou referenciados em documentos aqui citados, juntamente com as instruções de qualquer fabricante, descrições, especificações do produto, e as folhas de propaganda de produto para qualquer dos produtos mencionados neste ou em qualquer documento ficam aqui
20 incorporados por referência, e podem ser empregados na utilização da presente invenção.

Campo da Invenção

A invenção se refere a composições para aumentar o desempenho dos atletas, proporcionando uma liberação

adequadamente controlada com relação ao tempo e um aumento da absorção de nutrientes, incluindo carboidratos, aminoácidos e eletrólitos.

Antecedentes da Invenção

5 O entendimento atual das necessidades nutricionais relacionadas aos esportes indica que o consumo de carboidratos desempenha um papel fundamental, ao melhorar a resistência e o desempenho do atleta. Com a entrada no mercado de Gatorade® e outras bebidas esportivas
10 semelhantes a partir dos anos 1960 mais atenção começou a ser dada ao papel dos vários nutrientes com relação ao desempenho humano em eventos atléticos.

 O entendimento da capacidade que o organismo tem de absorver e processar carboidratos e outros nutrientes para
15 a obtenção de um máximo desempenho tem sido estudada por muitos. Em 2003, o Comitê Olímpico Internacional sobre Nutrição para Atletas emitiu uma posição afirmando que uma dieta rica em carboidratos nos dias que antecedem uma competição ajuda a melhorar o desempenho, principalmente
20 quando o exercício durar mais do que cerca de 60 minutos e estabelece que os atletas devem procurar alcançar a ingestão de carboidratos que atendam às necessidades de energia em seus programas de treinamento e também substituir adequadamente seus estoques de carboidratos

durante a fase de recuperação que se dá entre as sessões de treinamento e competição. No entanto, esta é uma tarefa difícil, especialmente para os atletas em formação que precisam de um fornecimento sustentado de carboidratos e
5 outros nutrientes, sem o inconveniente de uma ingestão de grandes ou pequenas quantidades de alimentos em intervalos mais regulares, a fim de atender às necessidades dietéticas necessárias para a manutenção de um melhor desempenho.

Há, portanto, uma necessidade no estado da técnica de
10 se fornecer um abastecimento sustentado e controlado de carboidratos e outros nutrientes para indivíduos, sem a necessidade de ingestão de alimentos e aperitivos em excesso.

A citação ou a identificação de qualquer documento
15 neste pedido de patente não deve ser considerada uma admissão de que tal documento está qualificado como anterioridade do estado da técnica para a presente invenção.

Sumário da Invenção

20 Os inventores determinaram composições para administração *in vivo* que surpreendentemente dão uma resposta glicêmica elevada e prolongada em comparação com os produtos alimentares convencionais, como GATORADE®. A presente invenção é baseada na premissa de que o desempenho

atlético pode ser melhorado através da apresentação de suplementos nutricionais (como carboidratos e eletrólitos) com liberação controlada.

A presente invenção diz respeito a uma composição que
5 compreende suplementos nutricionais (como carboidratos, aminoácidos, vitaminas e/ou eletrólitos) que quando administrada a um ser humano proporciona uma liberação sustentada dos referidos suplementos nutricionais durante um período prolongado de tempo. De preferência, os
10 suplementos nutricionais podem ser apresentados de forma sustentada e estendida para um desempenho atlético de pico e para recuperação. Por exemplo, a composição pode liberar os referidos suplementos nutricionais para que as taxas de absorção e oxidação de carboidratos exógenos sejam
15 aumentadas durante o exercício. De acordo com uma modalidade, a composição libera suplementos nutricionais de modo que a saturação dos transportadores SGLT1 e GLUT-5 com carboidratos exógenos seja mantida durante o exercício.

Em uma modalidade preferida, uma composição para
20 consumo *in vivo* pode incluir suplementos nutricionais e compostos para liberação sustentada de suplementos nutricionais *in vivo*. De preferência, os suplementos nutricionais podem incluir carboidratos, aminoácidos, vitaminas e eletrólitos. Em outra modalidade preferida, os

compostos para a liberação sustentada dos suplementos nutricionais podem incluir um ou mais componentes selecionados a partir de polímeros biodegradáveis, bioadesivos, nanopartículas, suspensões coloidais e
5 aglomerantes.

De acordo com uma modalidade, os polímeros biodegradáveis e aglomerantes podem ser selecionados a partir de: poli (lactídeo), poli (glicolídeo), poli (lactídeo-co-glicolídeo), poli (ácido láctico), poli (ácido
10 glicólico), poli (ácido glicólico-co-ácido-láctico), policaprolactona, policarbonatos, poliesteramidas, polianidridos, poli (aminoácido), poliortoésteres, poliacetilas, policianoacrilatos, polieterésteres, poli (dioxanona), poli (alquilenol alquilato), copolímeros de
15 polietileno glicol e poliortoéster, poliuretanos biodegradáveis, hidrogéis, misturas e copolímeros dos mesmos.

Em uma modalidade vantajosa, a invenção inclui nanopartículas e micropartículas compreendendo hidrogéis.
20 Vantajosamente, os hidrogéis podem incluir polissacarídeos modificados. Os polissacarídeos podem incluir modificações com grupos químicos como ácido carboxílico (como por exemplo, carboximetilcelulose [CAS no. 9000-11-7], glicolato de amido [CAS no. 9057-06-1], etc), ou acrílico

metacriloíla (como por exemplo, acrilato de amido [CAS no. 39316-65-9], acrilato de hidroxipropilcelulose [CAS no. 94187-94-7], acrilato de hidroxietilamido, etc), hidroxialquila (como por exemplo hidroxipropilcelulose [CAS
5 no. 9004-64-2], hidroxietilamida [CAS no. 9005-27-0], hidroxietilcelulose [CAS no. 9004-62-0], etc) e éster (como por exemplo acetato de amido, fosfato de amido, etc.). O amido modificado também podem conter, enxertadas, partes de ácidos graxos (como em adipato de amido [CAS no. 39347-22-
10 3], etc), oligo (óxido de alquilenos) enxertos (como por exemplo hidroxipropilcelulose, etc), enxertos hidrófobos como colesterol, enxertos anfifílicos como alquenilsuccinato (como, por exemplo, anidrido 1-octenilsuccínico de ácido de amido modificado, etc) ou
15 derivatizações de cadeia lateral para introduzir grupos aldeídicos ou carboxílicos.

Em uma outra modalidade vantajosa, a invenção pode também incluir métodos de reticulação das micropartículas e nanopartículas da presente invenção para formar hidrogéis.
20 A reticulação pode ser realizada utilizando-se iniciadores de radical livre, tais como sais de persulfato, ou sistemas redox envolvendo o ácido ascórbico, ou utilizando-se um reticulador que ocorre naturalmente, como a genipina. Uma reticulação iônica também podem ser contemplada, tal

como polissacarídeos aniônicos como gelana. Em uma outra modalidade ainda vantajosa, a invenção pode também incluir a preparação de hidrogéis. Em uma modalidade vantajosa, uma mistura de polissacarídeos hidrofobicamente modificados tais como, mas não limitados a: hidroxipropilcelulose e um polissacarídeo carbóxi tal como, mas não limitado a, celulose ou alginato de carboximetila, pode ser utilizada para preparar as partículas de hidrogel da presente invenção. Em uma outra modalidade vantajosa, as suspensões de nanopartículas podem ser sintetizadas por auto-montagem de quitosana e carboximetil celulose hidrolisada, na qual os polímeros podem ser hidrolisados com as enzimas quitosanase e celulase, respectivamente.

Em outra modalidade, hidrogéis podem ser preparados a partir de misturas de polissacarídeos ácidos tais como, mas não limitados a alginatos, polissacarídeos básicos, tais como, mas não limitados a derivados oligossacarídeos da quitosana, polissacarídeo básico, tal como, mas não se limitando a quitosana e polissacarídeos aniônicos como, mas não limitado a ácido hialurônico, alginato e alginato oxidado misturado com quitosana, agar enxertado e mistura de alginato de sódio com acrilamida, gelana co-reticulada com scleroglucano, dextrano foro-reticulado modificado, amido reagido com metacrilato de glicidila, ou monômeros

polimerizáveis de sacarídeo, como a sacarose, produtos de reação de açúcares com epóxi-acrilatos ou cloreto de metacriloíla e cloreto de acetila. Os hidrogéis de nanopartículas e micropartículas podem ser preparados
5 utilizando-se polímeros de auto-montagem (pH, temperatura, precipitação ou força iônica induzida, formação de micelas, precipitação coloidal, devido a interação eletrostática entre polímeros de carga oposta) ou por métodos convencionais de emulsificação.

10 Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais são liberados *in vivo* de uma forma sustentada e em uma concentração eficaz para aumentar a duração do exercício e para potencial produção acumulada de energia de pelo menos cerca de 1% até cerca de 50%, cerca de 50% até
15 cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000%, quando comparada com um controle sem pré-suplemento nutricional e ingestão durante o exercício. Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais são liberados *in vivo* de uma forma sustentada
20 e em uma concentração eficaz para aumentar a duração de pico de energia e potência de cerca de 1% até cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000% quando comparada com um controle sem ingestão de suplemento nutricional

antes e durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais são liberados *in vivo* de uma forma sustentada e em uma concentração eficaz para aumentar a duração de
5 pico de energia e potência por cerca de 1% até cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% a cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000%, quando comparado com um controle sem pré-suplemento nutricional e ingestão durante o exercício.

10 Em ainda outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais são lançados *in vivo* de uma forma sustentada e em uma concentração eficaz para aumentar o número de eventos de ruptura efetiva de pelo menos cerca de 1% até cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100%
15 até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000% quando comparado com um controle sem pré suplemento nutricional e ingestão durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais são liberados *in vivo* de uma forma sustentada
20 e em uma concentração eficaz para diminuir a duração do tempo de recuperação entre os eventos de pico de pelo menos cerca de 1% até cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000% quando comparado com um controle sem

ingestão de suplemento nutricional antes e durante o exercício. Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais são liberados *in vivo* de uma forma sustentada e em uma concentração eficaz para aumentar a produção de energia contínua em exercício (watts) em cerca de 1% a cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000%, vantajosamente de cerca de 50% em cerca de 62% VO_2 por 90 minutos e não menos do que cerca de 25% de aumento em exercício de alta intensidade (*explosão*), cerca de 86% VO_2 , potência e duração seguintes 90 min de exercício contínuo, e aumentar o número de períodos de pico efetivos em cerca de 100% com relação ao desempenho quando utilizando bebidas disponíveis comercialmente para melhorar o desempenho.

Em ainda outra modalidade preferida, os compostos para a liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo* liberam os suplementos nutricionais em quantidades e concentrações eficazes durante longos períodos de tempo, para aumentar a duração do exercício e o potencial de potência acumulada em cerca de 1% a cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000%, vantajosamente com aumento de pelo menos cerca de 10% até cerca de 70%, na duração di pico de energia e potência de saída de pelo

menos cerca de 10% até cerca de 70%; aumentando o número de eventos de pico efetivos de cerca de 10% a 100% e diminuindo a duração do tempo de recuperação entre os eventos de pico de pelo menos cerca de 10% até cerca de 5 100%, quando comparados com um controle sem ingestão de suplemento nutricional pré- e durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, os compostos para a liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo* liberam os suplementos nutricionais em quantidades e 10 concentrações eficazes durante longos períodos de tempo para diminuir a duração do tempo de recuperação entre os eventos de pico em pelo menos cerca de 2%, cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 20%, cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, 15 cerca de 90% ou cerca de 100% quando comparados com um controle sem ingestão de suplemento nutricional pré- e durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, os compostos para a liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo* 20 liberam os suplementos nutricionais em quantidades e concentrações eficazes durante longos períodos de tempo e aumentam a potência contínua de exercício (watts) em cerca de 2%, cerca de 5%, cerca de 10 %, cerca de 20%, cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de

70%, cerca de 80%, cerca de 90% ou cerca de 100%, vantajosamente em cerca de 50% a cerca de 62% VO_2 por 90 minutos e não menos do que cerca de um aumento de 25% em exercício de intensidade alta (*explosão*), cerca de 86% VO_2 em potência e duração após 90 minutos de exercício contínuo, e aumentam o número de períodos de picos efetivos em pelo menos cerca de 100% em relação ao desempenho quando utilizando as bebidas disponíveis comercialmente para melhorar o desempenho.

10 Em outra modalidade preferida, as composições são formuladas como uma bebida, um chiclete, uma refeição leve, um pó ou qualquer outra forma consumível.

Em outra modalidade preferida, um método para melhorar o desempenho atlético e a resistência é apresentado e compreende administrar a um indivíduo uma composição que compreende suplementos nutricionais e os compostos para a liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo*, onde os suplementos nutricionais incluem carboidratos, aminoácidos, vitaminas e eletrólitos, e consumir a referida
15 composição onde os compostos para a liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo* libera os suplementos nutricionais em quantidades e concentrações eficazes durante longos períodos de tempo para aumentar a duração do exercício e o potencial de produção acumulada de energia em
20

pelo menos de cerca de 1% até cerca de 50 %, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1000% e para aumentar a duração de pico de energia e potência de saída em de pelo menos cerca de 10% até cerca de 70% e aumentar o número de eventos de pico efetivos de cerca de 10% a 100%; além de diminui a duração do tempo de recuperação entre os eventos de pico de pelo menos cerca de 10 a cerca de 100%, quando comparada com um controle sem ingestão de suplemento nutricional antes e durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, uma composição para consumo *in vivo* compreende um ou mais suplementos nutricionais e compostos para tempo de liberação controlado e liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo*, onde liberação de carboidratos e a cinética de absorção da composição são diferentes do que as de uma composição sem compostos com tempo liberação controlado e liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo*. Em algumas modalidades, a liberação de carboidratos e a cinética de absorção compreendem uma mudança na concentração de glicose no sangue. Em uma modalidade preferida, a composição compreende um hidrogel. Em modalidades preferidas, os suplementos nutricionais são selecionados do grupo que consiste de: carboidratos,

aminoácidos, lipídeos, eletrólitos e vitaminas. Exemplos de eletrólitos são: sódio, potássio, magnésio, cloreto, cálcio, bicarbonato, fosfato e sulfato.

Em outra modalidade preferida, um método para a
5 fabricação de partículas para liberação sustentada e com tempo de liberação controlado dos suplementos nutricionais *in vivo*, compreende: (a) aquecimento de uma solução de hidroxipropilcelulose (HPC) acima de uma temperatura mais baixa que a temperatura crítica de solução, (b) cadeias de
10 polímeros de reticulação para obtenção de hidrogéis de micropartículas, e (c) carregar as micropartículas dos hidrogéis com um ou mais carboidratos, onde as partículas resultam num controle ao longo de um coeficiente de partição de liberação de partículas associadas e de
15 cinética de absorção. Em algumas modalidades, os um ou mais carboidratos em (c) são selecionados do grupo consistindo de monossacarídeos, dissacarídeos, polissacarídeos e suas combinações. Exemplos de carboidratos adequados incluem: dextrose, frutose, galactose, sacarose, maltose, lactose,
20 polidextrose, dextrinas, sólidos de xarope de milho, amido e suas combinações. Em certas modalidades, as cadeias poliméricas são reticuladas com trimetafosfato trissódico (TSTMP). Em certas modalidades, o coeficiente de partição e a liberação de partículas associadas e a cinética de

absorção constituem uma barreira de difusão em pH ácido para as uma ou mais moléculas de carboidratos de (c) dentro das partículas. Em certas modalidades, o pH ácido é menor que pH 3,8.

5 Em outra modalidade preferida, uma composição da invenção compreende um hidrogel, onde o hidrogel é composto por um polissacarídeo. Em certas modalidades, o polissacarídeo é selecionado do grupo que consiste de um polissacarídeo termicamente sensível, um polissacarídeo
10 modificado hidrofobicamente, um polissacarídeo sensível a pH e suas combinações. Exemplos de polissacarídeos adequados incluem hidroxipropilcelulose e alginato de sódio. Em outra modalidade preferida, uma composição para consumo *in vivo* compreende um ou mais carboidratos e
15 compostos para liberação sustentada e tempo de liberação controlado dos carboidratos *in vivo*. Em uma modalidade preferida, a composição compreende partículas de hidrogel. Em ainda outra modalidade preferida, as partículas de hidrogel sequestram os carboidratos. Em uma modalidade
20 adicional, os carboidratos são liberados das partículas hidrogel em uma taxa determinada pela difusão dos carboidratos no interior das partículas de hidrogel. Em uma modalidade preferida, as partículas de hidrogel compreendem um polissacarídeo. Exemplos de polissacarídeos adequados

incluem polissacarídeos termicamente sensíveis, polissacarídeos hidrofobicamente modificados e polissacarídeos sensíveis a pH e suas combinações. Em uma modalidade particular, o polissacarídeo é a
5 hidroxipropilcelulose. Em outra modalidade, o polissacarídeo é alginato de sódio. Em algumas modalidades, o carboidrato tem um alto índice glicêmico.

Em outra modalidade preferida, as partículas de hidrogel de acordo com a presente invenção são revestidas
10 com um polímero. Em algumas modalidades, o polímero é um polissacarídeo responsivo a pH.

Em outra modalidade preferida, uma composição de acordo com a presente invenção pode sustentar concentrações de glicose no sangue acima dos níveis de jejum durante o
15 repouso por mais tempo do que um volume igual da composição sem compostos para o tempo de liberação controlado e liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo*.

Em outra modalidade preferida, uma composição de acordo com a presente invenção pode sustentar concentrações
20 de glicose no sangue acima dos níveis de jejum durante exercício de baixa, moderada ou de alta intensidade com maior duração do que um volume igual da composição sem compostos para liberação com tempo controlado e liberação sustentada dos suplementos nutricionais *in vivo*.

Em outra modalidade preferida, a administração *in vivo* de uma composição de acordo com a presente invenção resulta em uma resposta mais baixa de insulina do que na administração *in vivo* de composição sem compostos para
5 tempo de liberação controlado e liberação sustentada de suplementos nutricionais.

Em outra modalidade preferida, a administração *in vivo* de uma composição de acordo com a presente invenção resultada num melhor aproveitamento dos depósitos de
10 gordura do que na administração *in vivo* de composição sem compostos para tempo de liberação controlado e liberação sustentada de suplementos nutricionais.

Deve-se notar que neste relatório descritivo e particularmente nas reivindicações e/ou nos parágrafos do
15 texto, termos como "compreende", "composto", "compreendendo" e semelhantes podem ter o significado que lhes é atribuído segundo a lei de patentes norte-americana, por exemplo, eles podem significar "inclui", "incluídos", "incluindo" e similares, e que termos como "que consiste
20 essencialmente de" e "consistindo essencialmente de" terão o significado atribuído a eles segundo a lei de patentes norte-americana que, por exemplo, permite os elementos não explicitamente citados, mas exclui os elementos que são encontrados no estado da técnica ou que afetam uma

característica básica ou nova da invenção.

Estas e outras modalidades ou são abaixo reveladas ou são óbvias e englobadas pela seção de descrição detalhada da invenção apresentada a seguir.

5 Breve Descrição dos Desenhos

A seguinte descrição detalhada, apresentada a título de exemplo, mas que não pretende limitar a invenção exclusivamente às modalidades específicas descritas, pode ser melhor compreendida em conjunto com os desenhos que
10 acompanham o presente relatório descritivo, em que:

A figura 1 mostra polissacarídeos contendo grupos de ácido carboxílico;

A figura 2 representa um derivado de escleroglucano oxidado;

15 A figura 3 mostra as reações de Passerini e de Ugi para condensação com multicomponentes;

A figura 4 descreve a estrutura da genipina;

A figura 5 mostra a estrutura de carragenina;

A figura 6 representa dextranos vinil-funcionalizados;

20 A figura 7 retrata o aduto de metacrilato de glicidila de amido resultantes de (a) a transesterificação, e (b) abertura do anel do grupo epóxi;

As figuras 8A e 8B mostram a reticulação de polissacarídeos contendo grupos hidroxila. P representa um

segmento de polissacarídeo;

A figura 9 retrata um macrogel de hidroxipropil celulose reticulado e uma dispersão estável de partículas coloidais em microgel de hidroxipropilcelulose em água;

5 A figura 10 retrata a reticulação de polissacarídeos contendo hidroxila usando TSTMP na presença de hidróxido de sódio;

A figura 11 descreve a síntese de hidroxipropil celulose acrilatada;

10 A figura 12 descreve a estrutura química da hidroxipropil celulose;

A figura 13 retrata reticulação química usando TSTMP; pH = 11,5; T = 50°C; 1 h; R representa uma cadeia de polissacarídeo;

15 A figura 14 retrata a determinação enzimática de glicose;

As figuras 15A a 15C retratam (A) Número ponderado de distribuição de tamanho de partículas na dispersão HPC 4,4% (p/v), (B) distribuição de tamanho de partículas em massa ponderada na dispersão HPC 4,4% (p/v), e (C) digitalização de imagens de microscopia eletrônica de micropartículas reticuladas HPC;

20

A figura 16 retrata a cinética de transporte de glicose através das partículas HPC e através da membrana da

célula de difusão para: a dispersão de HPC do Exemplo 2.1, e uma solução de glicose (sem partículas HPC) que tinha a mesma concentração total de glicose como a dispersão HPC (8,7 % p/p); pH = 7; T = 28°C;

5 A figura 17 retrata a cinética de transporte de glicose através das partículas HPC e através da membrana da célula de difusão para: a dispersão de HPC do Exemplo 2.9 com alginato de sódio contendo como uma barreira de difusão que responde a pH, e uma dispersão preparada por uma
10 diluição 1: 1 desta dispersão com água destilada, pH = 3,8; T = 28°C;

 A figura 18 retrata a cinética de transporte de glicose através das partículas HPC e através da membrana da célula de difusão para: a dispersão de HPC do Exemplo 2.1 e
15 uma solução de glicose (sem partículas HPC) que tinha a mesma concentração total de glicose como na dispersão HPC (8,7% p/p); pH = 7; T = 37°C;

 A figura 19 retrata a cinética de transporte de glicose através das partículas de HPC e através da membrana
20 da célula de difusão para: a dispersão de HPC do Exemplo 2.4, e uma solução de glicose (sem partículas HPC) que tinha a mesma concentração total de glicose como a da dispersão de HPC (8,7 % p/p); pH = 2; T = 37°C;

 A figura 20 mostra o efeito do pH sobre a cinética de

transporte de glicose através das partículas de HPC e através da membrana da célula de difusão para as dispersões de HPC do Exemplo 2.12 que continha alginato de sódio como uma barreira de difusão pH-responsiva; pH = 7, 3,8, e 2; T
5 = 28°C;

As figuras 21A e 21B mostram (A) a concentração de glicose no sangue em função do tempo após o consumo de 380 mL da dispersão do Exemplo 2.4, e 380 mL de GATORADE® e controle (B) perfis normalizadas de concentração de glicose
10 no sangue, em relação à concentração de glicose no sangue em estado de jejum. O sujeito permaneceu sentado em uma cadeira durante o experimento;

A figura 22 mostra a concentração de glicose no sangue normalizada versus tempo, após o consumo de 380 mL de uma
15 dispersão do Exemplo 2.5, e 380 mL de GATORADE® como controle. O sujeito permaneceu sentado em uma cadeira durante o experimento;

A figura 23 mostra a concentração de glicose no sangue normalizada versus tempo, após o consumo de duas dispersões
20 diferentes do Exemplo 2.5. A primeira dispersão continha dextrose pura, enquanto que a segunda dispersão continha uma relação de massa 1:3 de dextrose para frutose. A concentração de açúcar total em ambas as dispersões foi a mesma. O sujeito permaneceu sentado em uma cadeira durante

o experimento;

A figura 24 mostra a concentração de glicose no sangue normalizada versus tempo, após o consumo de 450 g da dispersão do Exemplo 2.7 e 450 g de solução de dextrose a 10% em peso em água destilada. O sujeito permaneceu sentado em uma cadeira durante o experimento;

A figura 25 mostra a concentração de glicose no sangue normalizada versus tempo, após o consumo de 450 g da dispersão do Exemplo 2.7: (a) como um *bolus* e (b) em três alíquotas, cada um pesando 150 g. As alíquotas foram consumidas em $t = 0, 39$ e 69 min. O sujeito permaneceu sentado em uma cadeira durante o experimento;

A figura 26 mostra a concentração de glicose no sangue normalizada versus tempo, após o consumo de 380 mL de: (a) dispersão do Exemplo 2.7 em três alíquotas, e (b) GATORADE® em três alíquotas. O sujeito permaneceu sentado em uma cadeira durante o experimento;

A figura 27 mostra o efeito do consumo de 380 mL da dispersão de HPC do Exemplo 2.4, antes de um exercício contínuo de intensidade moderada ($\sim 60\% V_{O2max}$) em uma esteira. GATORADE® com dextrose adicionada e água foram utilizados como controles positivos e negativos, respectivamente;

A FIGURA 28 mostra os parâmetros utilizados na análise

quantitativa dos perfis de concentração de glicose no sangue.

Descrição Detalhada da Invenção

Enquanto a fabricação e uso das diversas modalidades da presente invenção são discutidas abaixo em detalhes, 5 deve ser notado que a presente invenção fornece muitos conceitos inventivos aplicáveis que podem ser incorporados em uma ampla variedade de contextos específicos. Modalidades específicas descritas neste documento são 10 meramente ilustrativas de formas específicas de utilização e uso da invenção e não delimitam o âmbito da invenção ou o escopo das reivindicações anexas.

De acordo com uma modalidade, a composição da presente invenção proporciona liberação contínua de carboidratos 15 durante longos períodos de tempo e, opcionalmente, de outros nutrientes em um indivíduo. De preferência, carboidratos são liberados a partir da composição de uma maneira que mantém a absorção de carboidratos máxima e as taxas de oxidação por um período prolongado de tempo. 20 Geralmente, a taxa de absorção máxima de carboidratos em um indivíduo se encontra em um intervalo de cerca de 1,2 a cerca de 1,7 g/min. A taxa de oxidação de carboidratos de pico de cerca de 1,75 g/min pode ser alcançada, por exemplo, quando os carboidratos são administrados como uma

mistura de glicose (1,2 g/min) e frutose (0,8 g/min). Ver, por exemplo, Azevedo, J. L. Jr.; Tietz, E.; Two-Feathers, T.; Paull, J.; Chapman, K. *Lactate, Fructose and Glucose Oxidation Profiles in Sports Drinks and the Effect on Exercise Performance*. PLoS ONE [Online] 2007, 2, pp e927-e927 (doi:10.1371/ journal.pone.0000927),), para perfis representativos de oxidação de carboidratos.

A taxa e a extensão da absorção de carboidratos exógenos podem ser limitada não só pela quantidade de carboidratos disponíveis, mas também pela capacidade máxima de transporte intestinal de glicose e frutose. Transporte intestinal de glicose é mediado por um transportador de glicose dependente de sódio (SGLT1), localizado na membrana apical. Transportadores SGLT1 podem tornar-se saturados a uma taxa de ingestão de glicose de aproximadamente 1 g/min. A frutose, por outro lado, é absorvida pelo intestino pelo GLUT-5, um transportador de frutose facilitador sódio-independente. Geralmente, a ingestão de uma mistura de carboidratos que têm mecanismos de transporte diferentes de absorção na corrente sanguínea aumenta, ao mesmo tempo, a absorção de carboidratos e água.

Os requerentes aproximaram o número de calorias necessário com base em níveis de atividade determinados, conforme indicado na Tabela 1. A demanda de energia é

estimada com base na taxa de queima calórica normalizada com base em peso (kcal por minuto de atividade por unidade de massa corporal de um indivíduo) e o conteúdo calórico de glicose (~ 4 kcal/g). A energia disponível a partir da oxidação da glicose exógena é de cerca de 396 kcal. Como pode ser visto na Tabela 1, esta energia é insuficiente para satisfazer a demanda total de energia das atividades listadas. A presente invenção visa reduzir a diferença calórica utilizando uma formulação de liberação controlada de nutrientes.

Tabela 1: Exigência de energia com base nos níveis de atividade

	Futebol competitivo	Corrida (11 km/h)	Corrida (16 km/h)	Trabalho em construção externa
Taxa de queima de calorias (kcal kg ⁻¹ min ⁻¹)	0,0757	0,0871	0,0606	0,0417
Energia total necessária * (kcal)	1022	1176	818	563
Razão de oxidação de glicose necessária [§] (g min ⁻¹ lb ⁻¹)	0,0189	0,0218	0,0151	0,0104
Total de glicose necessária* (g)	256	294	204	141

Glicose exógena oxidada [#] (g)	99	99	99	99
Diferença (g)	157	195	105	42
Energia obtida a partir de glicose exógena (kcal)	396	396	396	396
Diferença calórica (kcal)	627	780	422	167

* Com base em um indivíduo de 67,5 kg e uma atividade de 90 minutos

§ Taxa de oxidação de glicose que é necessária para sustentar a taxa de queima calórica relatada na linha 1. Os
5 valores são estimados com base no fato de que 1 g de carboidrato puro produz cerca de 4 kcal de energia.

Com base em uma taxa de oxidação de glicose exógena de ~ 1,1 g/min, que é determinada pela taxa de transporte de glicose (a partir do lúmen intestinal para a corrente
10 sanguínea) através do epitélio intestinal.

O termo "liberação sustentada" (i.e., de liberação prolongada e/ou liberação controlada) é aqui utilizado para se referir ao suplemento nutricional, por exemplo, sistema de apresentação de carboidratos etc, ou à composição que é
15 introduzida no corpo de um ser humano e que continuamente libera um fluxo de um ou mais nutrientes ao longo de um período de tempo pré-determinado e em um nível suficiente

para alcançar o efeito desejado em todo o período de tempo pré-determinado. A referência a um fluxo contínuo de liberação se destina a abranger a liberação que ocorre como resultado de liberação limitada da difusão do componente a partir da matriz ou biodegradação *in vivo* da composição ou da matriz ou de um componente, ou como resultado da transformação metabólica ou dissolução dos nutrientes adicionados ou outros agentes desejados. Uma liberação retardada pode ser alcançada pelo encapsulamento dos nutrientes dentro de portadores de partículas com características de superfície mucoadesivas. A aderência das partículas carregadas de nutrientes à mucosa intestinal aumenta o tempo de retenção das partículas no interior do lúmen intestinal, proporcionando uma liberação contínua e o transporte sanguíneo de nutrientes através do epitélio, além do tempo de retenção normal de composição não-adesiva no interior do trato gastrointestinal.

Em uma modalidade preferida, a composição de suplemento nutricional se encontra na forma de uma solução, suspensão, cápsula gel, pó, petisco (por exemplo, uma barra), forma de granola ou comprimido. A "apresentação" de nutrientes compreende, por exemplo, suspender os nutrientes, individualmente ou em combinações, em micropartículas de liberação sustentada de partículas;

compostos que se ligam aos nutrientes com afinidades diferentes e assim por diante. De acordo com uma modalidade, a demanda de volume para o consumo pelo indivíduo é de cerca de 500 mL, quando na forma líquida; no
5 entanto, formulações e aumentos ou diminuições nas concentrações e nas quantidades são contempladas.

Exemplos de nutrientes incluem, mas não limitados a: carboidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, co-enzimas, fosfolipídios, minerais e eletrólitos. Exemplos de
10 vitaminas e co-enzimas que podem ser apresentadas utilizando-se esta invenção incluem, mas não estão limitadas a, água ou vitaminas lipossolúveis como tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, piridoxina, ácido pantotênico, biotina, flavina, colina, inositol e ácido
15 paraminobenzóico, carnitina, vitamina C, vitamina D e seus análogos (como ergocalciferol, calcitriol, doxercalciferol e paricalcitol), vitamina A e carotenóides, ácido retinóico, vitamina E e vitamina K.

Em uma modalidade preferida, a composição nutricional
20 é composta por carboidratos que são absorvidos por receptores diferentes, por exemplo, receptores SGLT e GLUT. Carboidratos adequados incluem, mas não são limitados a, mono- e di-polissacarídeos, como glicose, sacarose, maltose, bem como carboidratos comestíveis mais complexos,

como maltodextrinas. De acordo com uma modalidade preferida, a composição inclui uma mistura de glicose e frutose. A relação de peso de glicose para frutose, de preferência, varia de cerca de 1:1 a cerca de 100:1, cerca de 5:1 a cerca de 95:1, cerca de 10:1 a cerca de 90:1, cerca de 15:1 a cerca de 85:1, de cerca de 20:1 a cerca de 80:1, a cerca de 25:1 a cerca de 75:1, cerca de 30:1 a cerca de 70:1, cerca de 35:1 a cerca de 65:1, cerca de 40:1 a cerca de 60:1, cerca de 45:1 a cerca de 55:1 ou de cerca de 50:1. De preferência, a composição inclui de cerca de 0,1 a cerca de 99,9 % em peso, cerca de 1 a cerca de 99 % em peso, cerca de 5 a cerca de 95 % em peso, cerca de 10 a cerca de 90 % em peso, cerca de 15 a cerca de 85 % em peso, cerca de 20 a cerca de 80 % em peso, cerca de 25 a cerca de 75 % em peso, cerca de 30 a cerca de 70 % em peso de carboidratos, cerca de 35 a cerca de 65 % em peso, cerca de 40 a cerca de 60 % em peso, cerca de 45 a cerca de 55 % em peso, ou cerca de 50 % em peso, calculado com base em 100% da matéria seca da composição.

Em outra modalidade preferida, a composição inclui aminoácidos. Os aminoácidos podem ser encontrados na forma de aminoácidos livres ou peptídeos e estão preferencialmente presentes em uma quantidade na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 99,9 % em peso, cerca de 1 a cerca

de 99 % em peso, cerca de 5 a cerca de 95 % em peso, cerca de 10 a cerca de 90 % em peso, cerca de 15 a cerca de 85 % em peso, cerca de 20 a cerca de 80 % em peso, cerca de 25 a cerca de 75 % em peso, cerca de 30 a cerca de 70 % em peso de carboidratos, cerca de 35 a cerca de 65 % em peso, cerca de 40 a cerca de 60 % em peso, cerca de 45 a cerca de 55 % em peso, ou cerca de 50 % em peso, calculados com base na matéria seca de 100% da composição.

O material peptídico pode ser derivado de proteínas de origem animal ou vegetal e exemplos de tais proteínas são: proteínas do leite, proteínas da carne, proteínas de soja, proteínas do trigo, proteínas de ervilha, proteínas de arroz e proteínas de milho. De preferência, o ingrediente bruto de proteína é a proteína de glúten de trigo ou de uma subfração das mesmas, nomeadamente gliadina. No presente contexto, o "material peptídico" deve ser entendido como indicando um hidrolisado de proteínas e pode conter todos os tipos de peptídeos, que podem variar em comprimento, bem como uma certa quantidade de aminoácidos livres resultantes da hidrólise. O ingrediente bruto de proteína é hidrolisado por uma ou mais enzimas hidrolíticas. A enzima hidrolítica pode ser de animal, de vegetal, de levedura, de origem bacteriana ou fúngica. Preparações de enzimas utilizadas são, de preferência, as que têm uma baixa atividade exo-

peptidase, para minimizar a liberação de aminoácidos livres e melhorar os perfis de paladar dos hidrolisados protéicos. O ingrediente de proteína hidrolisada preferido da presente invenção tem um comprimento médio de cadeia de peptídeos na
5 faixa de 10-40 resíduos de aminoácidos e, mais de preferência, na faixa de 10-20 resíduos de aminoácidos. A cadeia peptídica média pode ser determinada utilizando-se o método descrito no documento WO 96/26266. Além disso, o ingrediente peptídico está presente em uma quantidade de
10 cerca de 0,1-90 % em peso, calculado com base na matéria seca da composição.

Outros componentes opcionais da composição de acordo com a invenção são: vitaminas, minerais, eletrólitos, sabores, antioxidantes, componentes tendo co-enzimas e
15 propriedades antioxidantes, incluindo lipídios emulsionantes, e proteínas que alcancem necessidades nutricionais específicas e/ou necessidades fisiológicas.

Carboidratos, como dextrose, frutose, e semelhantes e suas combinações podem estar presentes em uma composição de
20 acordo com a invenção em qualquer quantidade desejável, incluindo, por exemplo, cerca de 1 a 20% em peso da composição, por exemplo, 1% em peso, 2% em peso, 3% em peso, 4% em peso, 5% em peso, 6% em peso, 7% em peso, 8% em peso, 9% em peso, 10% em peso, 11% em peso, 12% em peso,

13% em peso, 14% em peso, 15% em peso, 16% em peso, 17% em peso, 18% em peso, 19% em peso ou 20% em peso da composição. Também de 20-25% em peso, 25-30% em peso, 30-35% em peso, 35-40% em peso, 40-45% em peso, 45-50% em peso, maior do que de 50% em peso.

Outros componentes opcionais da composição de acordo com a presente invenção incluem conservantes, corantes, como *FD & C. dyes and lakes*; flavorizantes e edulcorantes. Conservantes adequados incluem, por exemplo, metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sódio e sorbato de potássio e podem estar presentes em uma composição de acordo com a presente invenção em valores como, por exemplo, cerca de 0,0001% em peso, cerca de 0,001% em peso, cerca de 0,005% em peso, cerca de 0,01 % em peso, cerca de 0,02% em peso, cerca de 0,03% em peso, cerca de 0,04% em peso, cerca de 0,05% em peso, cerca de 0,1% em peso, cerca de 0,5% em peso ou superior a 0,5% em peso da composição.

Em outra modalidade preferida, a composição nutricional compreende um aglutinante e/ou polímero biodegradável ou mistura de polímeros biodegradáveis com características para um momento apropriado de liberação e de uma cinética de liberação apropriada. A composição da presente invenção pode ser formada em micropartículas compreendendo as composições nutricionais apropriadas e

adequadas para proporcionar concentrações eficazes dos compostos da invenção durante um período prolongado de tempo sem a necessidade de repetições freqüentes de doses. A composição da presente invenção pode ser incorporada num
5 polímero biodegradável ou numa mistura de polímeros em todas as formas adequadas para um técnico no assunto e pode formar uma matriz homogênea com o polímero biodegradável.

Em outra modalidade preferida, os suplementos de nutrientes estão presentes em nano-suspensões/partículas
10 coloidais. As nanopartículas ou partículas coloidais (CP) podem formar uma suspensão coloidal estável em água e em um meio fisiológico. As CP se associam aos nutrientes, por exemplo, aos carboidratos, em meio aquoso por um mecanismo espontâneo e a liberação dos nutrientes das CP se dá em um
15 meio fisiológico e, mais precisamente, *in vivo*. A cinética de liberação dependerá da natureza do polímero que é o precursor das CP. A proteína, cujo valor nutricional depende da estrutura terciária da molécula, também pode ser apresentada por este método, utilizando-se polímeros
20 hospedeiros biocompatíveis que não desnaturam a proteína.

Assim, variando-se a estrutura específica dos polímeros é possível controlar a associação e os fenômenos de liberação dos pontos de vista cinético e quantitativo.

Outra modalidade preferida da invenção diz respeito à

preparação de partículas selecionadas e outras partículas selecionadas que estão estruturadas em escala submícron e capazes de serem utilizadas especialmente para transportar um ou mais nutrientes, estas partículas sendo arranjos
5 supramoleculares individualizados (discretos), que são baseados em ácidos poliamino lineares anfifílicos tendo ligações peptídicas e compreendendo pelo menos dois tipos diferentes de aminoácidos hidrofílicos repetidos, aminoácidos hidrofóbicos repetidos; e os aminoácidos de
10 cada tipo de sendo idênticos ou diferentes uns dos outros, capazes de se associar a pelo menos um nutriente em suspensão coloidal, no estado não dissolvido, e liberá-lo, especialmente *in vivo* de uma forma prolongada e/ou retardada; e estável na fase aquosa em um pH entre 4 e 13,
15 na ausência de tensoativos.

De preferência, as partículas são partículas submicrométricas estruturadas e capazes de serem utilizadas especialmente para transportar um ou mais nutrientes, estas partículas sendo discretos arranjos supramoleculares
20 capazes de se associar a pelo menos um dos nutrientes em suspensão coloidal, no estado não dissolvido, e liberá-lo, especialmente *in vivo*, em uma maneira prolongada e/ou retardada, e estável na fase aquosa em um pH entre 4 e 13, na ausência de tensoativos.

Em outra modalidade preferida, a composição pode ser formulada para encapsular as composições nutricionais em microesferas ou micropartículas de modo que podem ser misturadas ou formuladas em qualquer forma, como um pó, uma
5 bebida, goma, produto alimentar nutricional, pílula e similares.

Uma "microesfera" ou "micropartícula", como aqui definidas, incluem uma partícula de um material biocompatível em fase sólida com um diâmetro de cerca de um
10 milímetro até cerca de um micrômetro ou menos, onde a partícula pode conter um agente biologicamente ativo e onde o material de fase sólida sustenta-o na liberação *in vivo* das composições nutricionais da microesfera. Uma microesfera pode ter uma forma, esférica, não-esférica ou
15 irregular. A forma de microesferas típica é, geralmente, esférica.

Materiais "biocompatíveis", conforme aqui definidos, significam que o material, e quaisquer produtos de degradação do material, não é tóxico para o destinatário e
20 também não apresenta efeitos deletérios ou indesejáveis sobre o corpo do receptor.

Em uma modalidade preferida, as microesferas contêm uma mistura de compostos nutricionais e as microesferas são compostas por um material biodegradável que é liberado

durante um certo período de tempo. Por exemplo, a fim de proporcionar uma liberação inicial de nutrientes para fornecer um reservatório imediata de energia ou de nutrientes para o indivíduo, os compostos nutricionais são formulados como tal, e podem conter uma variedade de carboidratos, aminoácidos, eletrólitos, vitaminas, etc, em diferentes razões. O segundo grupo pode conter uma relação diferente de carboidratos:aminoácidos:vitaminas etc, ou estritamente diferente ou similar de carboidratos que são liberados durante um longo período de tempo para manter uma liberação sustentável dos nutrientes. A formulação de nutrientes no microesferas e o tempo de liberação podem ser variados dependendo do tipo de atividade, dos indivíduos, da idade, do peso e das necessidades nutricionais. Por exemplo, um corredor de maratona (nutrição sustentada ao longo do longo período) teria diferentes necessidades nutricionais do que um corredor velocista (pico de nutrição).

Em outra modalidade preferida, diferentes tipos de carboidratos, como aqueles que são consumidos, por exemplo, transportadores SGLT versus transportadores GLUT, são adicionados em diferentes proporções em diferentes taxas de liberação para alcançar os resultados como descrito a seguir.

Em outra modalidade preferida, as composições compreendem compostos que se dissolvem, *in vivo*, sequencialmente em um período de tempo em regiões ácidas, neutras e fracamente alcalinas do trato gastrointestinal.

5 Estes compostos incluem, por exemplo, um revestimento de dispersão de ácido polimérico como o primeiro revestimento, para prolongar a liberação do suplemento nutricional. Nesta modalidade, a micropartículas compreende um núcleo de um material de carbonato de cálcio, açúcar, dextrose e

10 sementes de confeito. A primeira camada é feita de um material que retarda a passagem rápida da água. A primeira camada é, de preferência, uma dispersão aquosa de poli (ácido metacrílico-co-acrilato de etila) (comercialmente disponível com a designação Eudragit L30D-55). A segunda

15 camada é feita de um polímero de látex acrílico. A segunda camada é, de preferência, de poli (acrilato de etila-co-metacrilato-co-metil-2-trimetilamonioetil cloreto de metacrilato) (comercialmente disponível com a designação de Eudragit RS-30D). A espessura do segundo revestimento é

20 estabelecida para alcançar a taxa de liberação no tempo desejada para a droga.

Os produtos com liberação no tempo são, de preferência, substancialmente esféricos em sua configuração. O diâmetro dos os produtos com liberação

temporal de drogas geralmente varia entre 20 e 650 micra, entre 30 e 500 micra ou entre 40 e 350 micra e se encontra, de preferência, entre aproximadamente 50 e 250 micra quando os produtos estão em uma forma de suspensão líquida. É uma
5 característica da presente invenção que as composições de nutrientes de liberação controlada contendo produtos da presente invenção, por causa de seu tamanho, podem ser suspensas em meio aquoso, proporcionando assim uma suspensão líquida.

10 Nesta modalidade, as composições nutricionais são formuladas como uma formulação de tempo de liberação controlado que inclui: um núcleo que pode ser opcional; suplementos nutricionais ligados ao núcleo, uma primeira camada tendo permeabilidade limitada à água e uma segunda
15 camada, que é mais permeável à água do que a primeira camada, onde os componentes do primeiro e segundo revestimentos, juntos, compõem o tempo de liberação das composições de nutrientes.

O núcleo geralmente terá um diâmetro de cerca de 19 a
20 57, cerca de 20 a 56, cerca de 21 a 55, cerca de 22 a 54, cerca de 23 a 53, cerca de 24 a 52, cerca de 25 a 51, cerca de 26 a 50, cerca de 27 a 49, cerca de 28 a 48, cerca de 29 a 47, cerca de 30 a 46, ou cerca de 31 a 45 micra. O núcleo é geralmente composto de um ingrediente inerte, de

preferência um material selecionado do grupo consistindo de carbonato de cálcio, açúcar, dextrose e sementes sem semelhanças.

A primeira camada, que tem uma permeabilidade limitada
5 à água é que retarda a passagem rápida de ácido e água. Esta primeira camada, normalmente, têm um diâmetro de entre cerca de 1,30 e 4,60, cerca de 1,40 e 4,50, cerca de 1,50 e 4,40, cerca de 1,60 e 4,30, cerca de 1,70 e 4,20, cerca de 1,80 e 4,10, cerca de 1,90 e 4,00, cerca de 2,00 e 3,90,
10 cerca de 2,10 e 3,80, cerca de 2,20 e 3,70, cerca de 2,30 e 3,60 ou cerca de 2,40 e 3,50 micra. A primeira camada é feita, de preferência, de um revestimento de dispersão ácido polimérico que prolonga liberação da droga, mais preferivelmente uma dispersão aquosa de poli (ácido
15 metacrílico-co-acrilato de etila). Como o polímero disponível comercialmente de nome EUDRAGIT L30D-55. O núcleo e o primeiro revestimento, juntos, normalmente têm um diâmetro de entre cerca de 60 e 77, cerca de 61 e 76, cerca de 62 e 75, cerca de 63 e 74, cerca de 64 e 75, ou
20 cerca de 65 e 74 micra.

Sabe-se que os componentes do primeiro e segundo revestimentos, juntos, compõem o tempo de liberação do produto da presente invenção. A liberação temporal dos primeiro e segundo revestimentos, juntos, propiciam um

efeito da droga administrada por via oral, dentro de um indivíduo, durante um período máximo de cerca de 12 horas. Será notado por um técnico no assunto que a espessura da segunda camada pode ser alterada para atingir a taxa de
5 liberação no tempo desejada para o suplemento. Ou seja, a espessura da segunda camada pode ser aumentada para alcançar um maior período de tempo de libertação no corpo. Os revestimentos funcionam com base nas sua diferença de porosidade. O revestimento interior é composto de, por
10 exemplo, poli (ácido metacrílico-co-acrilato de etila) que é sensível a pH.

O transporte de nutrientes em todo o revestimento interno é determinado pela porosidade e pelo conteúdo de água do revestimento, os quais são determinados pelos
15 diferentes valores de pH dentro de regiões do trato gastrointestinal. Em um ambiente ácido (no estômago), o revestimento interior torna-se relativamente hidrofóbico e encolhe, levando à diminuição da dimensão dos poros e permeabilidade de nutrientes. Em contraste, o pH dentro do
20 lúmen intestinal é maior. O revestimento interior torna-se relativamente hidrofílico, devido à ionização, e permite rápida liberação de nutrientes dos núcleos de partículas. O revestimento exterior não é pH-responsivo, mas pode ser usado para controlar a permeabilidade dos nutrientes,

controlando o tamanho dos poros. A presente invenção proporciona, no primeiro e segundo revestimentos, porosidade tal que a água que entra no componente de liberação no tempo vai passar através do segundo
5 revestimento mais rápido que através da primeira camada e a droga e a água saindo do componente liberação no tempo vão passar através do primeiro revestimento mais lentamente do que através da segunda camada. Na forma preferida, a passagem através de cada camada se dá por meios mecânicos
10 com a passagem através do primeiro revestimento sendo aumentada por meio de interação iônica.

Em outra modalidade preferida, um ou mais dos suplementos nutricionais são vinculados a ou encapsulados por uma partícula que é estável em um ambiente aquoso e são
15 liberados por um longo período de tempo uma vez que os suplementos tenham sido consumidos.

A composição de acordo com a presente invenção pode ter a forma de um pó, goma de mascar, uma bebida ou qualquer outro produto alimentício. Uma bebida, de acordo
20 com a presente invenção, pode ser preparada dissolvendo-se os ingredientes acima definidos em uma quantidade adequada de água. Preferivelmente uma bebida isotônica foi preparada. Para bebidas destinadas a serem consumidas durante e após o exercício é recomendado ter-se uma

concentração da composição de acordo com a invenção na faixa de cerca de 0,10 a 60% em peso calculado sobre o peso total da bebida.

Em uma modalidade preferida, a formulação tem uma
5 viscosidade e "sensação na boca" aproximadamente equivalente à água. A viscosidade da formulação pode ser quantificada utilizando-se um viscosímetro capilar, como o viscosímetro *Ubbelohde*, determinando o tempo necessário para o líquido cair de uma marca calibrada para outra em um
10 capilar de vidro [Ver, por exemplo, Pearce, E. M.; Wright, C. E.; Bordoloi, B. K. *Laboratory Experiments in Polymer Synthesis and Characterization*; Pennsylvania State University: University Park, 1982; p. 187]. A viscosidade à temperatura ambiente da água é de cerca de 1 cP, enquanto
15 que a do óleo de oliva é de cerca de 80 cP, a do óleo de rícino de cerca de 1000 cP e a do xarope de milho de cerca de 1400 cP. A viscosidade do leite desnatado é de cerca de 30 cP [Ver Vesa, T. H.; Marteau, P. R.; Briet, F. B. e colaboradores *Am. J. Clin. Nutr.* 1997, 66, 123-126].

20 Em outra modalidade preferida, a composição compreende agentes aromatizantes que oferecem uma variedade de sabores/aromas que são agradáveis, palatáveis e que transmitem um sentimento de confiança para consumidores adultos, adolescentes e crianças.

Em uma modalidade preferida, o consumo das composições de nutrientes aumenta a duração do exercício e o potencial de produção acumulada de energia por pelo menos cerca de 2%, cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 20%, cerca de 30%,
5 cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 90% ou cerca de 100%, quando comparado ao caso de ingestão de nenhum carboidrato suplementar (ou seja, das composições de nutrientes) antes e durante o exercício.

10 Em outra modalidade preferida, o consumo das composições de nutrientes aumenta a duração da energia de pico e a potência em pelo menos cerca de 2%, cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 20%, cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60 %, cerca de 70%, cerca de 80%,
15 cerca de 90% ou cerca de 100%, quando comparado ao caso de ingestão de nenhum carboidrato suplementar (ou seja, das composições de nutrientes) antes e durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, o consumo das composições de nutrientes aumenta o número de eventos de
20 ruptura efetiva em pelo menos cerca de 1% até cerca de 50%, cerca de 50% até cerca de 100%, cerca de 100% até cerca de 500% ou cerca de 500% até cerca de 1.000% quando comparado ao caso de ingestão de nenhum carboidrato suplementar (ou seja, das composições de nutrientes) antes e durante o

exercício.

Em outra modalidade preferida, o consumo das composições de nutrientes diminui a duração do tempo de recuperação entre os eventos de pico de pelo menos cerca de 2%, cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 20%, cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 90% ou cerca de 100% quando comparado ao caso de ingestão de nenhum carboidrato suplementar (ou seja, das composições de nutrientes) antes e durante o exercício.

Em outra modalidade preferida, o consumo de composições de nutrientes resulta em de cerca de 1% a cerca de 50%, de cerca de 50% até cerca de 100%, de cerca de 100% até cerca de 500% ou de cerca de 500% até cerca de 1000% de aumento na produção contínua de exercícios de força (watts) em cerca de 62% VO_2 por 90 minutos e não menos do que cerca de um aumento de 25% em exercício de intensidade alta (*burst*), em cerca de 86% VO_2 , em potência e duração após 90 minutos de exercício contínuo, e aumenta o número de picos efetivos por períodos a $> 100\%$ em comparação com o desempenho ao utilizar-se bebidas que melhoram o desempenho, como GATORADE, CYTOMAX ou POWERADE.

A medição do potencial acumulado de potência de saída é bem conhecido por um técnico versado no assunto (ver, por

exemplo, Byrne, C; Twist, C; Eston, R. *Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage: theoretical and applied implications*. Sports Med. 2004, 34, 49-69; Hunter, A.; St, C; Lambert, M. e colaboradores *Effects of*
 5 *supramaximal exercise on the electromyographic signal*. Br. J. Sports Med. 2003, 37, 296-299; and Williams, S. G.; Cooke, G. A.; Wright, D. J. e colaboradores *Peak exercise cardiac power output: A direct indicator of cardiac function strongly predictive of prognosis in chronic heart*
 10 *failure*. Eur. Heart J. 2001, 22,1496-1503). Em uma modalidade particularmente vantajosa, o teste de recuperação de "iô-iô" intermitente é utilizado para medir o potencial de produção acumulada de energia (ver, por exemplo, Krstrup, P.; Mohr, M.; Amstrup, T. R. e
 15 colaboradores *The yo-yo intermittent recovery test: physiological response, reliability, and validity*. Med. Sd. Sports Exerc. 2003, 35, 697-705).

Em outra modalidade preferida, o consumo das composições de nutrientes resulta em uma maior
 20 sustentabilidade na concentração, coordenação mão/olho durante o exercício prolongado, etc. Testes desta natureza são conhecidos no estado da técnica e qualquer um deles, ou mais de um, podem ser utilizados. Ver, por exemplo, o documento de patente US 7,300,365. Isso se traduz em melhor

desempenho atlético, mas também ajuda a promoção para o trabalho não atletas, acadêmicos e/ou usuários procurando desempenho.

Em outra modalidade preferida, o consumo das
5 composições de nutrientes resultada em melhor concentração e função cerebral, em comparação com o caso de nenhum carboidrato suplementar (ou seja, as composições de nutrientes) ser ingerido.

Em outra modalidade preferida, o consumo das
10 composições de nutrientes deve resultar na concentração melhorada e estabilizada de glicose no sangue e, portanto, uma bebida benéfica ou alternativa alimentar para indivíduos com diabetes.

Em outra modalidade preferida, as composições são
15 embaladas para a acessibilidade durante longos períodos de esforço atlético (por exemplo, uma maratona), ou quando energia imediata e suplementos associados são necessários, o produto que compreende os nutrientes estando em forma de um sólido ou gel que é carregável, mas protegido, pela
20 pessoa em uma forma pronta para o consumo.

Em outra modalidade preferida, a composição nutricional é embalada de modo que seja facilmente manipulada e armazenada em mochilas, bolsa de ginástica, bolsos, etc. De preferência, a embalagem é ecologicamente

correta.

Em uma modalidade preferida, as composições nutricionais são misturadas com um aglomerante biodegradável ou encapsulada dentro de uma microesfera biodegradável que permite a liberação sustentada de carboidratos e outros nutrientes desejados. O termo "biodegradável", como aqui definido, significa que o polímero irá se degradar ou erodir *in vivo* para formar espécies químicas menores. A degradação pode resultar, por exemplo, de processos químicos, enzimáticos e/ou físicos. Polímeros biodegradáveis adequados biocompatíveis, incluem, por exemplo, polissacarídeos, poli (lactídeo), poli (glicolídeo), poli (ácido lactídeo-co-glicolídeo), poli (ácido láctico), poli (ácido glicólico), poli (ácido glicólico-co-láctico), policaprolactona, policarbonatos, poliesteramidas, polianidridos, poliortoésteres, poli (aminoácidos), poliacetilas, policianoacrilatos, polieterésteres, poli (dioxanona), poli (alquil alquilenos), copolímeros de polietilenoglicol e poliortoéster, poliuretanos biodegradáveis, hidrogéis, misturas e copolímeros dos mesmos.

Polímeros não-biodegradáveis biocompatíveis adequados para os métodos e composições da presente invenção incluem polímeros não-biodegradáveis selecionados do grupo

consistindo de poliacrilatos, polimetacrilatos, polímeros de etileno vinil acetato e outros acil acetatos de celulose substituídos, poliuretanos não degradáveis, poliestirenos, cloreto de polivinila, fluoreto de polivinila, poli (vinil
5 imidazol), clorossulfonato de poliolefinas, óxido de polietileno, hidrogéis, misturas e copolímeros dos mesmos.

Em outra modalidade preferida, hidrogéis são utilizados na liberação sustentada dos suplementos nutricionais. Hidrogéis poliméricos físicos têm sido
10 amplamente explorada para aplicações de biomateriais. Exemplos incluem hidrogéis formados por complexação de polímero enantiomérico ou segmentos de polipeptídeo e hidrogéis com propriedades sensíveis a temperatura ou pH. Eles atraem especial atenção no caso de apresentação de
15 drogas sustentada por causa das condições leves e do meio aquoso envolvidos na captura de agentes bioativos delicados, como proteínas. Por exemplo, hidrogéis formados *in situ*, formados a partir de copolímeros em bloco termossensíveis, também têm sido propostos como matrizes de
20 liberação sustentada de drogas. Eles têm a vantagem de que não há reação química envolvida na formação do gel. Estes hidrogéis de copolímero são normalmente projetados para medicamentos macromoleculares, como proteínas e hormônios. De preferência, o polímero se encontra em uma solução

aquosa, que forma um hidrogel. Por exemplo, soluções aquosas de polímero adequadas contêm de cerca de 1% a cerca de 80%, de cerca de 2% a cerca de 75%, de cerca de 3% até cerca de 70%, de cerca de 4% até cerca de 65%, de cerca de 5% até cerca de 60%, de cerca de 6% até cerca de 55%, de cerca de 7% até cerca de 50%, de cerca de 8% até cerca de 45%, de cerca de 9% até cerca de 42% de polímero, de preferência de cerca de 10 % até cerca de 40% de polímero. Hidrogéis adequados também podem conter de cerca de 1% até cerca de 20%, de cerca de 2% a cerca de 19%, de cerca de 3% até cerca de 18%, de cerca de 4% até cerca de 17% ciclodextrina (p/p) (com base no peso total da solução), de preferência de cerca de 5% a 15% de ciclodextrina, para solubilizar nutrientes que têm solubilidade limitada em água. O hidrogel é tipicamente formado utilizando-se um fluido transportador aquoso. Por exemplo, soluções aquosas típicas contêm de cerca de 1% a cerca de 80%, de cerca de 2% a cerca de 75%, de cerca de 3% até cerca de 70%, de cerca de 4% até cerca de 65%, de cerca de 5% até cerca de 60%, de cerca de 6% até cerca de 55%, de cerca de 7% até cerca de 50%, de cerca de 8% até cerca de 45%, de cerca de 9% até cerca de 42% de polímero, de preferência de

cerca de 10% até cerca de 40% de polímero.

A composição de hidrogel pode também conter um polímero secundário, que pode complexar-se com o nutriente, conjugar-se ao nutriente ou ambos. O polímero secundário
5 pode ser, adequadamente, um: poliéster, poliuretano, poliamida, poliéter, polissacarídeo, poli (aminoácido), polipeptídeo ou uma proteína. De preferência, o polímero é um derivado di-ou mono-funcional de polímero ou polímero poli-iônico com segmentos de poli(etilenoglicol). No caso
10 dos suplementos nutricionais se conjugarem ou complexarem a hidrogéis, as formulações de hidrogel agem não apenas como uma matriz, mas também um portador dos suplementos nutricionais. Isto significa que os suplementos nutricionais, como, por exemplo, uma variedade de
15 carboidratos, não são só se encontram fisicamente aprisionados no hidrogel, mas também são complexados ou conjugados com as moléculas que formam o hidrogel. Um polímero secundário pode também ser usado para alterar as propriedades, tais como porosidade e viscosidade, da matriz
20 de hidrogel.

As propriedades dos hidrogéis são ajustáveis usando-se diferentes pesos moleculares de polímeros de bloco, ajustando-se o conteúdo de ciclodextrina e através da utilização de polímeros secundários. Por exemplo, o

hidrogel pode ser ajustado para ser um hidrogel mais flexível ou um hidrogel mais rígido. A estrutura de hidrogel pode ser adaptada para ter viscosidade variável e taxas de liberação maior ou menor de drogas. O grau de
5 hidrofobicidade do poli(hidroxiálcanoato) também pode ser selecionado para uma taxa de liberação sustentada desejada.

A duração da liberação prolongada é dependente do peso molecular dos polímeros de bloco, particularmente do peso molecular da parte hidrofóbica poli(hidroxiálcanoato) (por
10 exemplo, PHB). A taxa de liberação pode ser alterada, de acordo com a presente invenção, para conseguir uma duração desejada da resposta, selecionando-se: um poli(hidroxiálcanoato) específico, um estereoisômero do poli(hidroxiálcanoato) selecionado, o peso molecular do
15 poli(hidroxiálcanoato) selecionado e a quantidade relativa de ciclodextrina usada no hidrogel, para conseguir uma duração e uma taxa de liberação sustentada desejadas. O peso molecular e a seleção do poli(óxido de alquilenos) hidrofílico também impacta a cinética de liberação
20 sustentada, mas em menor grau do que o componente hidrofóbico do poli(hidroxiálcanoato). Polímeros secundários também podem ser utilizados para alterar a cinética de liberação. Hidrogéis podem fornecer liberação sustentada durante um período de um ou mais dias pelo

ajuste dos pesos moleculares dos polímeros de bloco e dos copolímeros, bem como pelo o conteúdo de ciclodextrina dentro do hidrogel da presente invenção e pelo uso potencial de polímeros secundários.

5 A microencapsulação de componentes do suplemento nutricional em polímeros biodegradáveis, como polilactida-poliglicolídeo também é contemplada. Dependendo da proporção de componente para polímeros e da natureza do polímero especificamente empregado, a taxa de liberação do
10 componente pode ser sustentada. Exemplos de outros polímeros biodegradáveis incluem poli(ortoéster)es e poli(anidrido)s. As formulações também são preparadas por encapsulamento do componente em lipossomas ou microemulsões, que são compatíveis com os tecidos do corpo.

15 Além disso, as funcionalidades do terminal de um polímero pode ser modificadas. Por exemplo, poliésteres podem ser bloqueados, desbloqueados ou se apresentarem como uma mistura de polímeros bloqueados e desbloqueados. Um poliéster bloqueado é classicamente definido como já
20 conhecido no estado da técnica, especificamente tendo grupos terminais carboxila bloqueados. Geralmente, o grupo de bloqueio é derivado do iniciador da polimerização e é tipicamente um grupo alquila. Um poliéster desbloqueado é classicamente definido como já conhecido no estado da

técnica, especificamente com grupos terminais carboxila livres.

Em uma modalidade vantajosa, misturas de polissacarídeos são utilizadas para sintetizar dispersões
5 aquosas de micropartículas ou nanopartículas. Polissacarídeos preferidos são polissacarídeos hidrofobicamente modificados no qual os polissacarídeos formam redes interpenetrantes de polímero. Em uma modalidade especialmente vantajosa, os polissacarídeos
10 contêm grupos ácido carboxílico, tais como, mas não limitados a, os polissacarídeos da Fig. 1.

Sem prender-se a uma teoria, espera-se que o hidrogel contendo partículas carbóxi estejam em um estado que entre em colapso no ambiente ácido do estômago. Assim, as
15 moléculas de açúcar são mantidas encapsuladas dentro das partículas no estômago. As partículas de hidrogel irão atingir um estado expandido quando chegarem ao intestino delgado (pH 5-7), e irão liberar o açúcar encapsulado em uma taxa mais rápida do que no estômago. Uma característica
20 fundamental dos hidrogéis de polissacarídeos propostos é sua capacidade de resposta a pH. Idealmente, os hidrogéis não devem inchar no ambiente ácido do estômago, mas devem crescer com a entrada para o intestino delgado e liberar os açúcares encapsulados em uma taxa controlada.

Vantajosamente, os carboidratos da presente invenção são partículas de liberação controlada dispersas em meio aquoso, mas também podem ser armazenadas em forma de partículas sólidas.

5 Em uma modalidade particularmente vantajosa, os hidrogéis incluem polissacarídeos hidrofobizados. Polissacarídeos podem ser funcionalizados com hidrófobos como o colesterol. Por exemplo, polissacarídeos tais como, mas não limitados a, pululana, dextrana e manana podem ser
10 parcialmente substituídos por vários grupos hidrofóbicos tais como, mas não limitados a, alquilas de cadeias longas e colesterol.

 As nanopartículas ou micropartículas da presente invenção podem compreender as moléculas de amido modificado
15 com porções de ácidos graxos enxertadas. Os ácidos graxos podem ser enxertados em amido usando-se persulfato de potássio, por exemplo, como um catalisador. Em outra modalidade, a invenção também abrange modificação da superfície de partículas de amido em nanoescala utilizando-
20 se, por exemplo, o cloreto de ácido esteárico (um hidrófobo), poli (etilenoglicol) ou éter metílico (uma molécula hidrofílica). Em outra modalidade, o amido modificado pode ser um amido modificado com acrilóila ou um hidroxietilamido modificado com acrilóila.

Em uma modalidade vantajosa da invenção, o polissacarídeo é derivatizado para introduzir grupos aldeídicos ou carboxílicos na cadeia lateral. Estes grupos são, então, reticulados para produzir mais redes tridimensionais estáveis.

Em uma modalidade vantajosa, as partículas são reticuladas para formar hidrogéis. A reticulação pode ser realizada utilizando-se iniciadores de radical livre, tais como sais de persulfato, ou sistemas redox envolvendo o ácido ascórbico, ou de um reticulador que ocorre naturalmente, como genipina. Reticulação iônica também é explorada. Polissacarídeos aniônicos, como gelana, podem ser usados para reticulação iônica em vez de produtos químicos, como bórax, que pode não ser desejável em uma formulação de alimentos.

A presente invenção também se relaciona com a preparação dos hidrogéis. Em uma modalidade vantajosa, uma mistura de polissacarídeos hidrofobicamente modificados tais como, mas não limitados a, hidroxipropilcelulose e um polissacarídeo carboxi contendo grupos tais como, mas não limitados a, carboximetilcelulose ou alginato podem ser usados para preparar as partículas de hidrogel da presente invenção. Exemplos de alginatos adequados incluem polímeros de sódio de alginato (por exemplo, sódio alginato NF, F-

200, SAHMUP alginato de sódio e NF, SALMUP), que podem estar presentes em uma composição de acordo com a presente invenção em quantidades de, por exemplo, cerca de 0,01% em peso até cerca de 1,0% em peso da composição.

5 O polissacarídeo hidrofobicamente modificado resulta na formação de partículas espontâneas, devido à fase de separação em água, enquanto o polissacarídeo contendo grupos de ácido carboxílico dá um comportamento pH-responsivo e também aumentará o tempo de trânsito
10 intestinal. Em uma modalidade, as suspensões de nanopartículas podem ser sintetizadas por auto-montagem de quitosana hidrolisada e carboximetilcelulose. Os polímeros são hidrolisados com as enzimas quitosanase e celulase, respectivamente. Interações eletrostáticas entre os grupos
15 carboxilato da carboximetilcelulose com os grupos amino da quitosana resultam na formação espontânea de nanopartículas por soluções de mistura dos dois polímeros. O tamanho das partículas depende da proporção de mistura das soluções, e também do peso molecular dos polímeros. Será preciso
20 hidrolisar os polímeros e diminuir o peso molecular antes da mistura, a fim de prevenir a formação de gel macroscópico.

Em outra modalidade, hidrogéis podem ser preparados a partir de misturas de polissacarídeos ácidos tais como, mas

não limitados a, alginatos e polissacarídeos básicos, tais como, mas não limitados a, derivados oligossacarídicos da quitosana, um polissacarídeo básico, tal como, mas não se limitando a, quitosana e polissacarídeos aniônicos como, 5 mas não limitados a, o ácido hialurônico, alginato e alginato oxidado misturado com quitosana, agar enxertado e mistura de alginato de sódio com acrilamida, gelana co-reticulada com escleroglucana, dextrano modificado por fotoreticulação, amido reagido com metacrilato de glicidila 10 ou monômeros polimerizáveis de sacarídeo, como a sacarose, criados pela reação do açúcar com epóxi-acrilatos, ou cloreto de metacrilato e cloreto de acetila.

A reticulação de polissacarídeos contendo grupos hidroxila, por exemplo, amido de amido, hidroxialquila, 15 hidroxialquilcelulose, etc, pode ser alcançada usando uma variedade de reagentes, incluindo bis-epóxidos, divinilssulfona, N/V-carbonildiimidazol, cloreto cianúrico, cloreto de tereftaloíla, dissulfeto de carbono, formaldeído, glutaraldeído e como mostrado nas Figs. 8 A e 20 8B [Park, H.; Park, K.; Shalaby, W. S. W. Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery, Technomic Publishing Company: Lancaster, PA, 1993]. Reticulação macroscópica para formar hidrogéis pode ser facilmente alcançada com estes reagentes. Kabra e colaboradores [Kabra, B. G.; Gehrke, S.

H.; Spontak, R. J. Microporous, responsive hydroxypropyl cellulose gels. 1. Synthesis and microstructure. *Macromolecules* 1998, 31, 2166-2173] utilizaram um reticulador divinilssulfona para preparar macrogéis de
5 hidroxipropilcelulose. A síntese de nano-hidrogel ou micropartículas, por outro lado, exige cuidadosa seleção de condições de reação para evitar precipitação (devido à instabilidade coloidal) ou a formação de um macrogel. A diferença entre um macrogel e uma suspensão microgel
10 coloidalmente estável é evidente a partir das fotografias de duas amostras reticuladas de polímero de hidroxipropilcelulose, mostradas na Fig 9. Ambos os frascos mostrados na Fig. 9 contêm cerca de 4% (p/v) de hidroxipropilcelulose em água. O frasco rotulado '1' mostra
15 um macrogel, enquanto o frasco rotulado '2' contém uma suspensão microgel coloidalmente estável de hidroxipropilcelulose. Para evitar a formação macrogel e agregação coloidal, a concentração de polissacarídeos foi mantida bastante baixa (abaixo de cerca de 1% em peso) nas
20 reações de reticulação. Cai e colaboradores [Cai, T.; Hu, Z.; Marquez, M. Synthesis and self-assembly of nearly monodisperse nanoparticles of a naturally occurring polymer. *Langmuir* 2004, 20, 7355-7359] prepararam nanopartículas de hidroxipropilcelulose reticulada usando

divinilssulfona como reticulador em concentração de 0,05% em peso de polímero. A toxicidade da divinilssulfona é motivo de preocupação ao se sintetizar formulações para liberação controlada de nutrientes. As Figs 8A e 8B mostram a reticulação de polissacarídeos contendo grupos hidroxila. P representa um segmento de polissacarídeos.

O transporte de pequenas moléculas como a glicose através hidrogéis de polissacarídeos tem sido investigado para encapsulamento de células e engenharia tecidual [McEntee, M.-K. E.; Bhatia, S. K.; Tao, L.; Roberts, S. C; Bhatia, S. R. Tunable transport of glucose through ionically-crosslinked alginate gels: effect of alginate and calcium concentration. J. Appl. Polym. Sc. 2008, 107, 2956-2962]. Contas de hidrogel de alginato ionicamente reticulado, com um diâmetro médio de gota de 2 mm, foram preparadas utilizando-se alginato de cálcio e cloretos. Os pesquisadores descobriram um perfil de liberação em duas etapas para a glicose em uma faixa de tempo de 20 a 50 min. Note-se que as taxas de liberação foram medidas suspendendo-se as esferas carregadas com glicose em água pura. A grande diferença na concentração de glicose no interior da esfera e no fluido de suspensão (água pura) resultou em uma liberação relativamente rápida de açúcar (dentro de cerca de 50 min após a suspensão).

Espera-se que a reticulação covalente dê maior estabilidade (contra desintegração prematura) para as esferas de hidrogel, na ampla faixa de pH e condições de força iônica que são encontradas no trato gastrointestinal, do que hidrogéis ionicamente reticulados. Quando metafosfato trissódico é usado como agente de reticulação, ligações covalente cruzadas são formadas. A taxa de liberação de nutrientes é ajustada através do controle da densidade de reticulação das microesferas. Mais importante, a taxa de liberação depende da concentração dos nutrientes fora as partículas, na fase aquosa da suspensão. As dispersões da presente invenção contêm uma concentração relativamente elevada de açúcar na fase aquosa. A difusão de nutrientes a partir da micropartículas hidrogel ocorre somente quando os nutrientes vão se esgotando a partir da fase aquosa. Assim, as partículas funcionam como reservatórios de nutrientes e de fornecimento de açúcar dentro do lúmen intestinal ao longo de um período de tempo significativamente além da duração relatada no estudo usando pérolas de alginato ionicamente reticulado (~ 50 min) [McEntee, M.-K. E.; Bhatia, S. K.; Tao, L.; Roberts, S. C; Bhatia, S. R. Tunable transport of glucose through ionically-crosslinked alginate gels: effect of alginate and calcium concentration. J. Appl. Polym. Sc. 2008, 707, 2956-

2962]. Em formulações da presente invenção, os nutrientes dissolvidos na fase aquosa serão inicialmente absorvidos através do epitélio intestinal. As micropartículas inicialmente liberam os nutrientes encapsulados em razões
5 baixas (por causa do gradiente de concentração baixo), e em um ritmo mais rápido quando os nutrientes são esgotados na fase aquosa (por causa de uma diferença maior de concentração).

Pesos moleculares aceitáveis de polímeros utilizados
10 na presente invenção podem ser determinados por um técnico versado no assunto, com base em fatores como a taxa desejada de degradação de polímero, propriedades físicas tais como resistência mecânica e taxa de dissolução do polímero em solvente. Tipicamente, uma faixa aceitável de
15 peso molecular é de cerca de 2.000 Daltons até cerca de 2.000.000 Daltons, de cerca de 3.000 Daltons até cerca de 1.900.000 Daltons, de cerca de 4.000 Daltons até cerca de 1.800.000 Daltons, de cerca de 5.000 Daltons até cerca de 1.700.000 Daltons, de cerca de 6.000 Daltons até cerca de
20 1,6 milhões Daltons, de cerca de 7.000 Daltons até cerca de 1.500.000 Daltons, de cerca de 8.000 Daltons até cerca de 1.400.000 Daltons, de cerca de 9.000 Daltons até cerca de 1.300.000 Daltons, de cerca de 10.000 Daltons até cerca de 1.200.000 Daltons, de cerca de 12.000 Daltons até cerca de

1.100.000 Daltons, de cerca de 13.000 Daltons até cerca de 1.000.000 Daltons, de cerca de 14.000 Daltons até cerca de 900.000 Daltons, de cerca de 15.000 Daltons até cerca de 800.000 Daltons, de cerca de 16.000 Daltons até cerca de 700.000 Daltons, de cerca de 17.000 Daltons até cerca de 600.000 Daltons, de cerca de 18.000 Daltons até cerca de 500.000 Daltons, de cerca de 19.000 Daltons até cerca de 400.000 Daltons, de cerca de 20.000 Daltons até cerca de 300.000 Daltons, de cerca de 21.000 Daltons até cerca de 200.000 Daltons, de cerca de 22.000 Daltons até cerca de 100.000 Daltons, ou de cerca de 23.000 Daltons até cerca de 50.000 Daltons. Em uma modalidade preferida, o polímero é um polímero ou copolímero biodegradável.

Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais podem ser encapsulados em micropartículas ou microesferas. Estas partículas compreendem opcionalmente tensoativos, tais como um tensoativo catiônico ou aniônico que é carregado e fixado à superfície das partículas. As propriedades bioadesivas das micropartículas são atribuídas aos tensoativos carregados e presos na superfície da partícula, já que as extremidades hidrofóbicas dos tensoativos são incorporadas no núcleo sólido e as extremidades hidrofílicas são expostas na superfície das micropartículas.

Substâncias bioadesivas, também indicadas como substâncias mucoadesivas, são geralmente conhecidas por serem materiais que são capazes de serem vinculados a uma membrana biológica e mantidos na referida membrana por um

5 período prolongado de tempo. Quando comparados com sistemas convencionais de liberação controlada, sistemas de liberação controlada bioadesivos têm as seguintes vantagens: i) um sistema de liberação controlada bioadesivo localiza um ingrediente ativo biológico em uma determinada

10 região, melhorando assim a biodisponibilidade de ingredientes ativos que podem ter pouca biodisponibilidade por si só, ii) um sistema de liberação controlada bioadesivo leva a uma interação relativamente forte entre uma substância bioadesiva e uma mucosa, tal interação

15 contribuindo para um aumento do tempo de contato entre o sistema de liberação controlada e o tecido em questão e permite a localização do ativo liberado a partir do sistema de liberação controlada para um sítio específico, iii) um sistema de liberação controlada bioadesivo prolonga a

20 apresentação de ingredientes ativos biológicos em quase qualquer rota não-parenteral, iv) um sistema de liberação controlada bioadesivo podem ser localizado em um sítio específico com a finalidade de terapia local, v) um sistema de liberação controlada bioadesivo pode ser direcionado a

tecidos doentes específicos e vi) um sistema de liberação controlada bioadesivo é útil quando as abordagens convencionais são inadequadas, como por certos ingredientes ativos biológicos que não são adequadamente absorvidos.

5 As micropartículas também podem incluir pelo menos um co-tensoativo. O co-tensoativo pode ser um tensoativo natural biologicamente compatível ou um tensoativo farmacêuticamente aceitável não-natural. O co-tensoativo ajuda a manter as partículas dentro da faixa de tamanho
10 desejado, impedindo a sua agregação. O co-tensoativo compreende menos de cerca de 5%, menos do que cerca de 4%, menos do que cerca de 3%, menos do que cerca de 2%, de preferência menos de cerca de 1%, menos do que cerca de 0,9%, menos do que cerca de 0,8%, menos de cerca de 0,7%,
15 menos do que cerca de 0,6%, menos do que cerca de 0,5%, menos do que cerca de 0,4%, menos do que cerca de 0,3%, menos do que cerca de 0,2% e mais preferivelmente menos do que cerca de 0,1% em peso da partícula.

 As micropartículas são preferencialmente formadas como
20 suspensão coloidal de uma fase aquosa contínua de uma fase de partículas submicrométricas. A fase aquosa contínua da suspensão de partículas pode conter antioxidantes, conservantes, microbicidas, tampões, osmotizadores, crioprotetores e outros aditivos farmacêuticamente úteis ou

solutos conhecidos.

As micropartículas sustentam a taxa de liberação dos suplementos nutricionais por um período prolongado de tempo. Por exemplo, as micropartículas sustentam o
5 lançamento de suplementos nutricionais por um período entre cerca de 1 minuto e 12 (doze) horas.

O uso de micropartículas que oferecem taxas variáveis de liberação de nutrientes é contemplado. Por exemplo, a cinética de liberação de nutrientes pode ser qualquer uma
10 das seguintes: (i) uma taxa de liberação de estado estacionário ou de ordem zero, em que há uma taxa substancialmente uniforme ao longo da liberação; (ii) uma taxa de liberação de primeira ordem, em que há uma taxa de declínio de lançamento em direção a zero com o tempo; e
15 (iii) uma liberação retardada, em que a taxa inicial é lenta mas aumenta com o tempo.

O termo "bioadesão" refere-se à fixação de um material a um substrato biológico, como uma membrana biológica. O termo "substância mucoadesiva" é, de acordo com a
20 terminologia geralmente aceita, utilizado como sinônimo do termo "uma substância bioadesiva".

Um tensoativo catiônico é incorporado em uma superfície externa das micropartículas para formar uma micropartícula bioadesiva. O tensoativo é preso e fixado à

superfície das partículas e forma uma camada na interface em torno do núcleo das partículas. A interface em torno do núcleo é hidrofóbica. O tensoativo catiônico também estabiliza a superfície externa do componente de núcleo

5 hidrofóbico das micropartículas, promovendo assim um tamanho de partícula mais uniforme.

Exemplos de materiais de superfície ativa que são capazes de ligação forte com as superfícies carregadas negativamente e hidrofílicas de tecidos são preferíveis

10 para o uso, como tensoativos catiônicos carregados. Materiais de superfície ativa adequados incluem compostos alquilamônio de cadeia linear, compostos alquilamônio cíclicos catiônicos derivados do petróleo, e materiais poliméricos catiônicos. Cloreto de cetilpiridínio apresenta

15 fortes propriedades bioadesivas em superfícies biológicas, e é um material tensoativo preferido. O tensoativo está presente em uma proporção de cerca de 0,01% a cerca de 5%, de preferência de cerca de 0,05% a cerca de 2% em peso da suspensão.

20 Compostos alquilamônio de cadeia linear são materiais de superfície ativa catiônicos nos quais um ou mais grupos alquila hidrofóbicos estão ligados a um átomo de nitrogênio catiônico. A ligação também pode ser mais complexa como, por exemplo, em $RC(=O)-NHCH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$. Alternativamente,

o material de superfície ativa catiônico pode conter mais de um átomo de nitrogênio catiônico como a classe de compostos de $R-NHCH_2CH_2CH_2NH_2$ e seus derivados. Exemplos representativos de compostos adequados como materiais de superfície ativa catiônico incluem, mas não estão limitados a: cloreto de cetil trimetilamônio (CTAB), brometo de hexadeciltrimetilamônio (HDTAB), cloreto de estearil dimetilbenzilamônio, cloreto de lauril dimetilbenzilamônio, haleto de cetil dimetiletilamônio, haleto de cetil dimetilbenzilamônio, haleto de cetil trimetilamônio, haleto de dodecil etildimetilamônio, lauril trimetilamônio, haleto de coco alquiltrimetilamônio, haleto de C_8-C_{20} N,N-dialquildimetilamônio.

Outros compostos adequados como tensoativo catiônico incluem, mas não estão limitados a: cloreto de bis (alquila de sebo hidrogenada) dimetilamônio que reconhecidamente é adsorvido sobre a superfície com grupos hidrofóbicos orientados para longe do mesmo, 2-hidroxidodecil-2-hidroxietil cloreto de dimetilamônio [CAS no. xx] e N-octadecil-NN,N-tris-(2-hidroxietil)-1,3-diidrofluoreto de diaminopropano [CAS no. 6818-37-7].

Compostos de superfície ativa de amônio quaternário em que o átomo de nitrogênio carregando a carga catiônica é parte de um anel heterocíclico podem ser usado como o

tensoativo catiônico. Exemplos de compostos adequados são cloreto de laurilpiridínio, brometo de laurilpiridínio, brometo de tetradecilpiridínio, haleto de cetilpiridínio, onde o haleto é selecionado a partir de brometo, cloreto ou
5 fluoreto.

Aminas poliméricas que podem ser usadas como o tensoativo catiônico compõem uma classe de polímeros contendo grupos iônicos ao longo da cadeia principal e exibem propriedades de eletrólitos e de polímeros. Esses
10 materiais contêm nitrogênio com funcionalidade primária, secundária, terciária ou quaternária em seu esqueleto e podem ter uma média de pesos moleculares tão baixa quanto cerca de 100 ou superior a cerca de 100.000. Aminas poliméricas adequadas úteis como um tensoativo catiônico
15 incluem, mas não são limitadas a, polidimeril poliamina que é disponibilizada por General Mills Chemical Co., poliamida, poliacrilamidas, cloreto de polidialildimetilamônio, polihexametileno biguanida, e também outras biguanidas, por exemplo, as divulgados nos
20 documentos de patente US 2,684,924, US 2,990,425, US 3,183,230, US 3,468,898, US 4,022,834, US 4,053,636 e US 4,198,425, incorporados por referência neste pedido, 1,5-dimetil-1,5-diazaundecametileno polimetobrometo, como o "polibrene" fabricado pela Aldrich, polivinilpirrolidona e

seus derivados , polipeptídeos, poli -cloridrato de (alilamina), aminas polioxietienadas e polietilenoimina como a "Polymin" fabricada por BASF.

5 Materiais poliméricos adequados para o tensoativo catiônico também incluem polímeros catiônico de superfície ativa preparados através da conversão de uma porção dos grupos acil- amino a seus derivados. Por exemplo, a polietilenoimina é o primeiro condensado com menos do que a quantidade estequiométrica de haletos ácidos, assim
10 alquilando alguns dos grupos amino; os demais grupos amino são então condensado com halogenetos de hidrogênio como o cloreto de hidrogênio ou, preferivelmente, fluoreto de hidrogênio. A atividade tensoativa destes compostos varia com o número de grupos amino que são acilados e com o
15 comprimento da cadeia do grupo de acilação RCO. A reação de condensação pode ser realizada com cloretos de ácido esteárico ou oleico na presença de um fluoreto de metal contendo solvente, fluoreto de prata de preferência, de tal forma que o cloreto de metal formado na reação precipita a
20 partir do solvente.

Também são adequados, para os efeitos da presente invenção, os derivados de polissacarídeos catiônicos, tais como dextrano ou celulose, por exemplo, dietilaminoetil celulose. Exemplos de copolímeros aplicáveis com base em

acrilamida e um monômero catiônico são disponibilizados por Hercules Inc. sob o nome comercial RETEN incluindo RETEN 220, ou por National Adhesives sob o nome comercial FLOC AID incluindo o FLOC AID 305. Outras polieletrólitos úteis
5 baseados em acrilamidas são disponibilizados por Allied Colloids sob o nome comercial PERCOL. Outros exemplos de materiais adequados são derivados catiônicos de guar, como os que são vendidos sob a marca JAGUAR por Celanese-Hall.

Em outra modalidade preferida, as micropartículas
10 compreendem um núcleo hidrofóbico que é preferivelmente formado de um material hidrofóbico biodegradável com propriedades de barreira. Materiais de núcleo sólido farmacologicamente adequado, não tóxicos, são materiais biocompatíveis inertes hidrofóbicos com um intervalo de
15 fusão entre cerca de 50°C e cerca de 120°C, entre cerca de 60°C e cerca de 110°C, entre cerca de 70°C e cerca de 100°C ou entre cerca de 80°C e cerca de 90°C. Os exemplos incluem, mas não são limitados a, ceras naturais, regeneradas ou sintéticas, incluindo: ceras de origem
20 animal, como cera de abelha; lanolina e cera de goma-laca; ceras vegetais, como carnaúba, candelila, cana-de-açúcar, farelo de arroz e cera bayberry; ceras minerais tais como ceras de petróleo, incluindo parafina e cera microcristalina; colesterol; ésteres de ácidos graxos como

o estearato de etila, miristato isopropílico e palmitato isopropílico; álcoois graxos de alto peso molecular, tais como álcool cetosteárilico, álcool cetílico, álcool estearílico, álcool oleílico; rícino hidrogenado sólido e
5 óleos vegetais; parafinas rígidas; gorduras sólidas; polímeros biodegradáveis, como policaprolactona, poliamidas, polianidridos, policarbonatos, poliortoésteres, ácido polilático e copolímeros de ácido láctico e ácido glicólico; derivados de celulose e suas misturas. Outros
10 compostos hidrofóbicos que podem ser utilizados na presente invenção incluem triglicerídeos, de preferência de grau de pureza alimentício, ou, ainda melhor, o que pode ser produzido por síntese ou por isolamento a partir de fontes naturais. Fontes naturais podem incluir gordura animal ou
15 óleo vegetal, como óleo de soja, que é uma fonte de triglicérides de cadeia longa (LCT). Outros triglicérides adequados são predominantemente compostos por ácidos graxos de comprimento médio (C_{10} - C_{18}), denotados triglicérides de cadeia média (MCT). As porções de ácidos graxos de tais
20 triglicerídeos podem ser insaturadas, monoinsaturadas ou poliinsaturadas. Misturas de triglicerídeos que possuam várias porções de ácidos graxos também são úteis para a presente invenção. O núcleo pode incluir um composto hidrofóbico único ou uma mistura de compostos hidrofóbicos.

Materiais hidrofóbicos são conhecidos por técnicos no assunto e estão disponíveis comercialmente, como descrito na lista de materiais de transporte adequados em Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 28th ed.; The
5 Pharmaceutical Press: London, 1982; pp 1063-1072.

Considerações na seleção do material do núcleo incluem boas propriedades de barreira para os ingredientes ativos e marcadores sensoriais, baixa toxicidade e irritabilidade, biocompatibilidade, estabilidade e alta capacidade de carga
10 para os ingredientes ativos de interesse.

Um co-tensoativo anfifílico ou não-iônico pode ser usado na micro da presente invenção para fornecer estabilidade melhorada. Co-tensoativos podem ser formados de compostos naturais ou compostos não-naturais. Exemplos
15 de compostos naturais são fosfolipídios e colatos. Exemplos de compostos não-naturais incluem: polissorbatos, que são ésteres de ácidos graxos de sorbitol polietoxilados, vendidos por Unigema surfactants como Tween; ésteres de polietileno glicol de ácidos graxos a partir de fontes como
20 óleo de rícino, ácido graxo polietoxilado, como o ácido esteárico; polímero isooctilfenol/formaldeído polietoxilado; poloxâmeros, tais como, copolímeros em bloco poli (oxietileno) poli (oxipropileno) disponibilizados por BASF como PLURONIC; polioxietileno éteres de álcool graxo

disponibilizados por ICI surfactants como Brij; éteres de polioxietileno nonilfenílicos vendidos por Union Carbide como Triton N; éteres de polioxietileno isooctilfenil vendidos por Union Carbide como Triton X e SDS. Misturas de
5 moléculas de tensoativo, incluindo misturas de tensoativos de tipos químicos diferentes, podem ser usados na presente invenção. Os tensoativos, de preferência, são adequados para a administração farmacêutica e compatíveis com a droga a ser apresentada.

10 Tensoativos particularmente adequados incluem fosfolipídios, que são altamente biocompatíveis. Fosfolipídeos especialmente preferenciais são fosfatidilcolinas (lecitinas), como a lecitina de soja ou a lecitina de ovo. Outros fosfolipídios apropriados incluem
15 fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, ácido fosfatídicos, cardiolipina e fosfatidiletanolamina. Os fosfolipídios podem ser isolados de fontes naturais ou preparados por síntese. Acredita-se que tensoativos fosfolipídicos geralmente formam um revestimento de
20 monocamada simples no núcleo hidrofóbico. O co-tensoativo pode estar presente em uma quantidade inferior a cerca de 5%, de preferência menos de cerca de 1%, e mais preferivelmente menos do que cerca de 0,1%, em relação ao peso do componente de núcleo hidrofóbico. Em algumas

modalidades, um ou mais co-tenssoativos podem ser usados.

Em outra modalidade preferida, os suplementos nutricionais compreendem compostos que modulam a absorção de carboidratos. No trato gastrointestinal, cromo e vanádio
5 (seja individualmente ou, de preferência, em conjunto) modulam transporte de açúcares (por exemplo, transporte de glicose) por retardar a absorção normal de glicose. A absorção mais lenta da glicose diminui a liberação de insulina e reduz a resposta excessiva de insulina em
10 resposta aos níveis de glicose no sangue aumentando após uma refeição. Esta secreção pancreática benéfica de insulina reduz a carga de glicose e a taxa de carga de glicose durante as fases iniciais de detecção, absorção e metabolismo de glicose do corpo. Taxas reduzidas de carga
15 de glicose reduzem o estresse nas células beta normalmente associado com a resposta de insulina à glicose em ascensão. Além disso, a absorção de glicose mais lenta, ou modulada, permite mais tempo para que a insulina estimule as vias metabólicas normais de açúcar, ou antes do carregamento de
20 glicose ser completo ou durante um ritmo mais lento da carga de glicose. Consequentemente, os mecanismos dependentes de insulina terão mais tempo para se preparar para a chegada de açúcares no intestino. Esta modulação da absorção da glicose melhora, a curto prazo, a modulação de

insulina no fígado, músculo e tecido adiposo. Estes efeitos no trato gastrointestinal são, com toda a probabilidade, efeitos com respostas a curto prazo e elas não estão necessariamente associadas com os efeitos a longo prazo

5 sistêmicos de administração de cromo e de vanádio.

Além disso, o cromo e o vanádio podem potencialmente reduzir o metabolismo de glicose por meio da interação com o intestino, principalmente com o epitélio do intestino responsável pelo metabolismo do açúcar (incluindo a

10 absorção). Um mecanismo primário para transporte de açúcar no intestino é o transporte de açúcar facilitado por sódio. Estes transportadores estão localizados na membrana luminal do epitélio. A membrana basolateral também pode ter um transportador de açúcar adicional que facilita o transporte

15 para fora da célula e para o sangue. Para a absorção de açúcar líquido no lúmen do intestino para o sangue, o transporte de açúcar facilitado por sódio, em geral, exige uma concentração de sódio favorável à difusão de sódio nas células do epitélio do lúmen. Este gradiente de

20 concentração é, em grande parte gerado pelo transporte ativo da ATPase Na/K nas células do epitélio, que geralmente transporta três átomos de sódio para fora da célula, para o lado de sangue do epitélio, em troca de dois átomos de sódio no sentido inverso.

Cada ciclo da bomba exige hidrólise de ATP para o transporte de um sódio e potássio contra seus respectivos gradientes de concentração. A reação de hidrólise requer um cátion divalente, tipicamente de magnésio. Em muitos casos, 5 no entanto, outros cátions bivalentes podem substituir ou entrar na reação de hidrólise com diferentes graus de atividade catalítica ou inibição. A substituição de cátions trivalentes por cátions divalentes, no ciclo, geralmente leva a uma inibição significativa da atividade de bombeamento e/ou desfosforilação do estado da fosfoenzima 10 intermediária. Cromo pode, assim, inibir a Na/K ATPase, substituindo o magnésio e inibindo, assim, em relação ao magnésio, a atividade catalítica e de transporte, dando origem a um gradiente de sódio diminuído através da 15 membrana lumenal. A redução do gradiente de transporte de açúcar reduz os efeitos das forças termodinâmicas e cinéticas, favorecendo a entrada de açúcar no intestino.

Além disso, durante a hidrólise de ATP no ciclo catalítico da ATPase Na/K, uma fosfoenzima intermediária 20 (EP) é formada entre fosfato e um ácido aspártico no sítio ativo da ATPase. Este EP covalente é transitório e é quimicamente distinto das proteínas fosforiladas associadas quinases e fosfatases, que também se mostraram afetadas por vanádio. A formação de EP no ciclo catalítico para a Na/K

ATPase é inibida pela presença de vanadato em baixas concentrações, de menos de 1 micromolar. O vanadato liga-se ao sítio ativo como um estado de transição análogo ao de fosfato em um complexo de vanádio-enzima, ou EV, em vez de
5 EP. O complexo EV é altamente estável, já que a cinética de perda de vanadato do complexo EV é relativamente lenta. O vanadato pode, assim, efetivamente inibir a Na/K ATPase, interrompendo a catálise através da formação de EV, dando origem a um gradiente de sódio diminuído através da
10 membrana lumenal. Consequentemente, o gradiente reduzido reduz a entrada de açúcar no intestino.

Cromo e vanádio, também operam no nível sistêmico após a absorção dos dois metais de transição a partir do intestino. Os principais locais de atividade incluem
15 fígado, músculo e tecido adiposo. Vanádio pode ter uma atividade particular no que diz respeito aos sistemas de fosforilação, incluindo as muitas proteínas fosforiladas responsáveis pelo metabolismo de modulação. Cromo pode também modular o metabolismo a nível celular. Estes efeitos
20 sistêmicos, em geral, melhoram a ação da insulina e/ou as vias metabólicas associadas com açúcar e/ou metabolismo lipídico.

Em relação à absorção e ao metabolismo das composições em questão e aos diferentes componentes da mesma, as

características do trato alimentar podem afetar a forma como as composições da presente invenção e métodos para usar os mesmos, são utilizados quando ingerido oralmente. Os elementos do trato alimentar, incluindo o trato
5 gastrointestinal, podem afetar a dose necessária para qualquer modalidade da mesma. Tais características são bem conhecidas por aqueles que são técnicos no assunto.

Em outra modalidade preferida, as composições nutricionais são formuladas em formas dose unitária, tais
10 como comprimidos, cápsulas, pó, grânulos, pelotas, pastilhas mastigáveis, cápsulas, líquidos, suspensões aquosas ou soluções ou formas de dosagem similares, utilizando equipamentos convencionais e técnicas conhecidas no estado da técnica. Tais formulações tipicamente incluem
15 um transportador sólido, semi-sólido ou líquido. Exemplos de transportadores incluem lactose, dextrose, sacarose, sorbitol, manitol, amidos, goma de acácia, fosfato de cálcio, óleo mineral, manteiga de cacau, óleo de *theobroma*, alginatos, xarope, gelatina tragacanth, metilcelulose,
20 polioxietileno-sorbitano, metil hidroxibenzoato, propil hidroxibenzoato, talco, estearato de magnésio e similares.

Outras formulações adequadas para administração oral pode se encontrar na forma de cápsulas, drágeas, comprimidos, pílulas, pastilhas (usando uma base com sabor,

geralmente sacarose e acácia ou tragacanth), pós, grânulos, ou como uma solução ou uma suspensão em uma solução aquosa ou líquido não aquoso, ou como uma emulsão líquida óleo-em-água ou água-em-óleo, ou como um elixir ou xarope, ou como
5 pastilhas (usando uma base inerte, como a gelatina e glicerina, sacarose ou e acácia), cada uma contendo uma quantidade predeterminada de um suplemento ou os seus componentes como um ingrediente ativo. Um suplemento, ou os seus componentes, também pode ser administrado como um
10 bolus, papa ou pasta.

Em outras formulações, os suplementos nutricionais são fornecidos em bebidas. As bebidas desta invenção podem ser, por exemplo, bebidas carbonatadas, águas seltzer aromatizadas, refrigerantes ou bebidas minerais, bem como
15 não-carbonatadas, sucos, refrescos e formas concentradas dessas bebidas. Bebidas, especialmente suco e bebidas de cola, que são carbonatadas na forma de refrigerantes, bem como bebidas sem gás e néctares e bebidas energéticas ou bebida concentrada que contêm pelo menos cerca de 45% em
20 peso de suco também são contemplados.

A título de exemplo, os sucos de frutas e sabores de frutas aqui apresentados incluem uva, pêra, maracujá, abacaxi, banana ou purê de banana, damasco, laranja, limão, grapefruit, maçã, amora, tomate, manga, mamão, limão,

tangerina, cereja, framboesa, cenoura e suas misturas. Além disso, sabores artificiais, por exemplo, cola, sabores naturais ou derivados destes sucos podem ser usados nas bebidas. Sabores de chocolate e outros sabores de "não-
5 frutas" podem também ser usados para fazer as bebidas que contém o suplemento vitamínico e mineral. Além disso, o leite, obtido de vacas ou sintético, é uma bebida contemplada a que as composições em pó desta invenção podem ser adicionadas. Ao leite pode-se incluir componentes de
10 outra bebida, em particular sabores como chocolate, café ou morango. Como aqui utilizado, o termo "produto de suco" se refere a ambas as frutas e sucos de vegetais e frutas e sucos de vegetais concentrado os quais compreendem pelo menos cerca de 45% de suco de fruta. O termo "vegetais",
15 conforme aqui utilizado, inclui tanto partes não-frutíferas de plantas comestíveis, como tubérculos, folhas, cascas, como também, se não for indicado o contrário, qualquer grão, noz, feijão e couves, que são fornecidos como sucos ou aromas de bebida.

20 Em uma modalidade preferida, bebidas desportivas podem ser complementadas pelas composições em pó da presente invenção. Bebidas típicas do esporte contêm água, xarope de sacarose, xarope de glucose-frutose e sabores naturais ou artificiais. Estas bebidas também podem conter ácido

cítrico, citrato de sódio, fosfato de potássio, bem como outros materiais que são úteis na reposição de eletrólitos perdidos durante a transpiração.

As Tabelas 2 e 3 descrevem os componentes representantes de esportes e os produtos de bebidas energéticas.

Tabela 2: Produtos para beber representantes de energéticos. O caracter 'x' indica que uma quantidade não especificada de ingrediente está presente na formulação.

	<i>Monster Energy</i>	<i>Red Bull</i>	<i>RockStar</i>
Tamanho recipiente / Kg	0,49	0,25	0,24, 0,49 ou 0,71
Porção / Kg	0,24	0,25	0,24
Vitamina B2 / mg	1,7		3,4
Vitamina B3 / mg	20	100	20
Vitamina B5 / mg			10
Vitamina B6 / mg	2	125	2
Vitamina B12 / µg	6	240	6
Sódio / µg	180	200	40
Potássio			
Ácido fólico			
Magnésio			
Zinco			
Taurina / mg	1000		1000
Penax extrato de Ginseng / mg	200		25
Energy Blend / mg	2500		1350

L-Carnitina / mg	X		25
Glicose	X		
Cafeína / mg	X	X	80
Guaraná / mg	X		25
Inositol / mg	X		25
Glucuronolactona	X		
Maltodextrina	X		
Extrato de Ginko biloba / mg			150
Cardo de leite / mg			20
Extrato de Muirapuama			
Extrato de Catuaba			
Extrato de erva-mate			
Extrato de Epimédio			
Ingredientes			
Água			
Água gaseificada	X	X	X
Sacarose	X	X	X
Frutose			
Xarope de glicose-frutose			
Glicose	X	X	X
Acelsulfame		X	

Aspartame / Sucralose	X	X	
Trealose			
Isolado de soro de proteína (whey-protein)			
Ácido cítrico	X		X
Ácido fosfórico			
Ácido láctico			
Carbonato de magnésio			
Acetato de vitamina E			
Sal	X		
Fosfato de potássio			
Goma de éster			
Ascorbato de sódio			
Citrato de sódio	X	X	X
Sabor	X	X	X
Ácido benzóico	X		X
Ácido sórbico	X		X
Ácido ascórbico	X		
L-Carnitina	X		X
Niacinamida	X	X	X
Pantotenato de cálcio		X	X
Ácido pantotênico			
Cálcio dissódico			

Cloridrato Piroxidínico	X	X	
Lactato de magnésio			
Lactato de cálcio			
Goma de acácia			
Cianocobalamina	X	X	
Citrato de potássio			
Amido modificado			
Extrato de hibisco			
Fosfato de cálcio			
Goma arábica			
Vanocobalamina			
Extrato da flor de Trevo vermelho			
Óxido de magnésio			
Picolinato de zinco			
Extrato de Muirapuama			
Extrato de <i>Epimedium</i> <i>sagittatum</i>			
Extrato de semente de guaraná	X		
Extrato de erva-mate			
Extrato de catuaba			
Ácido fólico			

Taurina	X	X	
Extrato de Penax Ginseng	X		
Glucuronolactona	X	X	
Inositol	X	X	
Riboflavina	X		
Maltodextrina	X		

Tabela 3: Produtos representantes de bebida esportiva

	<i>Gatorade</i>	<i>Accelera de</i>	<i>Propel fit Water</i>	<i>Vitamin Water Revive</i>	<i>Life Water (Goji Melon)</i>	<i>Function : Alternative Energy</i>
Tamanho rec. / Kg	0,59	0,59	0,56	0,59	0,59	0,50
Porção / Kg	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Vitamina B2 / mg						
Vitamina B3 / mg				20		10
Vitamina B5 / mg				20		
Vitamina B6 / mg			12,5	12,5	5	1
Vitamina B12 / µg			75	60	30	3
Sódio / mg	110	120	35		20	120
Potássio / mg	30	15		140		
Ácido fólico/						200

µg						
Magnésio / mg						20
Zinco / mg						4,95
Taurina / mg						
Ext. Penax Ginseng						
Energy Blend / mg						300
L- Carnitina						
Glicose						
Cafeína						X
Guaraná						X
Inositol						
Glucurono lactona						
Maltodext rina						

Extrato de Ginko biloba						
Cardo de leite						
Extrato de Muirapuam a						X
Extrato de Catuaba						X
Extrato de erva- mate						X
Extrato de Epimédio						X
Ingredientes						
Água	X	X	X	X	X	X
Água gás.	X	X	X	X	X	X
Sacarose	X	X	X	X	X	X
Frutose				X		

Xarope de gli-frut	X					
Glicose						
Acelsulfa me			X			
Aspartame / Sucralose			X			
Trealose		X				
Isolado de soro proteína (whey- protein)		X				
Á cítrico	X	X	X	X	X	X
Ác. fosf.		X				
Ácido láctico		X				
Carb. de magnésio		X				
Acetato de vit.E		X	10% RDA		X	
Sal	X	X				X

Goma de éster	X	X		X		
Ascorbato de sódio		X				
Citrato de sódio	X		X			X
Sabor	X	X	X	X	X	X
Ác. Benz.						
Á.sórbico						
Ác. ascórbico				X	X	X
L-Carnitina						
Niacinamida			X	X	X	X
Pantoteno de cálcio			X		X	
Ácido pantot.				X		
Cálcio dissódico			X			
Cloridr.			X	X	X	X

Piroxidí nico						
Lact. de magnésio						
Lact. de cálcio					X	
Goma de acácia					X	
Cianocoba lamina				X		X
Citr. de potássio					X	
Amido mod.					X	
Ext. de hibisco					X	
Fosfato de cálcio					X	
Goma arábica					X	
Vanocobal amina					X	
Extr.					X	

florTrevo vermelho						
Óxido de magnésio						X
Picol. de zinco						X
Extr. Muirapu ama						X
Extr. de <i>Epimedium</i> <i>sagitta</i> <i>tum</i>						X
Extr. de semente guaraná						X
Extr. de erva-mate						X
Extr. de catuaba						X
Ác fólico						
Taurina						
Ext Penax						

Ginseng						
Glucurono lactona						
Inositol						
Riboflav.						
Maltodex.						

Como usado aqui, o termo "bebida de suco" se refere a um produto de suco de fruta ou legume que é apresentado em uma única unidade, pronto para servir, de forma potável. Sucos da presente invenção podem ser do tipo "força total",

5 que geralmente compreendem pelo menos cerca de 95% de suco. Sucos de "força total" também incluem os produtos 100% de suco, como, por exemplo, laranja, limão, maçã, framboesa, cereja, damasco, grapefruit, pêra, uva, limão, tangerina, cenoura, abacaxi, melão, manga, mamão, maracujá, purê de

10 banana e banana, amora, tomate, cenoura, repolho, aipo, pepino, espinafre e várias misturas dos mesmos. Sucos incluem também produtos de suco estendidos, que são referidos como "néctares". Estes produtos de suco estendidos geralmente compreendem entre cerca de 50% até

15 cerca de 90%, de cerca de 55% até cerca de 85%, de cerca de 60% até cerca de 80%, de cerca de 65% até cerca de 75% de suco, de preferência de cerca de 50% até cerca de 70% suco. Néctares geralmente têm açúcares adicionados ou adoçantes

artificiais ou substitutos de carboidratos. Como usado aqui, o termo "suco de cítricos" refere-se aos sumos de frutos selecionados de suco de laranja, suco de limão, suco de lima, suco de grapefruit, suco de tangerina e suas
5 misturas.

Como usado aqui, o termo "suco de materiais" refere-se a uma fruta concentrada ou suco de vegetais, além de materiais, tais como aromas do suco e de sabor voláteis, óleos de casca e polpa ou bagaço. Como usado aqui, o termo
10 "suco concentrado" se refere a um produto de suco de frutas ou vegetais que, quando diluído com a quantidade adequada de água, torna-se suco de formas potável. Sucos concentrados dentro do escopo da presente invenção são tipicamente formulados para fornecer bebidas potáveis
15 quando diluído com 3 a 5 partes de água, em peso.

Como usado aqui, o termo "concentrado de bebidas" ou "xarope de engarrafamento" refere-se a uma mistura de sabores e água e de cerca de 10% até cerca de 60%, de cerca de 20% até cerca de 50% ou de cerca de 30% até cerca de 40%
20 de açúcar ou carboidrato substituto, por exemplo, sacarose, dextrose, sólidos de xarope de milho, frutose, dextrinas, polidextrose e suas misturas.

O componente de sabor das bebidas e bebidas concentradas contém sabores selecionados de sabores de

frutas, sabores vegetais, aromas botânicos e suas misturas. Como usado aqui, o termo "sabor da fruta" refere-se aos sabores derivados da parte comestível reprodutiva de uma planta de semente, especialmente nos casos em que ela
5 tenham uma polpa doce associadas com a semente, e o termo "sabor vegetal" refere-se aos sabores derivados de outras partes comestíveis de sementes e outras plantas. Também estão incluídos dentro dos termos "sabor da fruta" e "sabor vegetal" sabores preparados que são sinteticamente feitos
10 para simular sabores vegetais e fixadores derivados de fontes naturais. Sabores de frutas particularmente preferidos são os sabores cítricos, incluindo laranja, limão, lima e grapefruit. Além de sabores cítricos, uma variedade de sabores de outras frutas podem ser utilizados,
15 tais como maçã, uva, cereja, manga, abacaxi e mamão e sabores do gênero. Esses sabores de frutas podem ser derivados de fontes naturais, como sucos e óleos, ou podem ser sinteticamente preparados. Como usado aqui, o termo "sabor botânico" refere-se aos sabores derivadas de partes
20 de uma planta que não seja o fruto, ou seja, derivados de nozes, cascas, raízes e folhas, e grãos, como café, cacau e baunilha. Também estão incluídos dentro do termo "sabor botânico" sabores preparados sinteticamente que são feitos para simular sabores botânicos derivados de fontes

naturais. Exemplos de tais sabores incluem sabores de cola, chá, café, chocolate, baunilha, amêndoas, etc. Sabores botânicos podem ser derivados de fontes naturais, como óleos essenciais e extratos, ou podem ser sinteticamente
5 preparados.

O componente de sabor pode incluir uma mistura de vários sabores, por exemplo, limão e sabores de lima, sabores cola e sabores cítricos para formar sabores de cola, etc. Se desejado, sucos como laranja, limão, lima,
10 maçã, uva, cenoura, aipo, e sucos semelhantes podem ser usados no componente de sabor. Os sabores no componente de sabor às vezes são formados em gotas de emulsão que são então dispersas no concentrado de bebida. Considerando que estas gotas, geralmente, têm uma gravidade específica menor
15 do que a da água e, portanto, que estas formam uma fase separada, agentes de peso (que também podem atuar como agentes de turvação) são normalmente utilizados para manter as gotas de emulsão dispersas na bebida. Exemplos de tais agentes de peso são os óleos vegetais bromados (BVO) e
20 ésteres de breu, em particular o éster de goma. Ver Green, L. F. Developments in Soft Drinks Technology; Applied Science Publishers: London, 1978; Vol. 1, pp 87-93, para uma descrição detalhada do uso de agentes de turvação em bebidas líquidas. Além de agentes de peso, emulsificantes e

estabilizantes de emulsão podem ser usados para estabilizar as gotas de emulsão. Exemplos de tais emulsionantes e estabilizadores de emulsão incluem as gomas, pectinas, celulosas, polissorbatos, ésteres de sorbitano e alginatos de propilenoglicol. Ver Green, L. F. *supra* na pg. 92. O valor particular do componente sabor eficaz para transmitir características de sabor a bebidas e concentrados de bebidas ("melhorador de sabor") pode depender do sabor ou sabores selecionados, da impressão de sabor desejada e da forma do componente de sabor.

O componente de sabor pode incluir pelo menos 0,05% em peso da composição de bebidas e, normalmente, de 0,1% a 2% em peso para bebidas carbonatadas. Quando os sucos são usados como o próprio sabor, o componente de sabor pode incluir, numa base de força única, até 25% de suco de frutas em peso da bebida, de preferência de 5% a 15% de suco em peso para bebidas carbonatadas.

Dióxido de carbono pode ser introduzido na água, que é misturada com o xarope de bebida ou na bebida potável após a diluição, para alcançar carbonatação. A bebida gaseificada pode ser colocada em um recipiente, como uma garrafa ou lata, e depois selada. Qualquer metodologia de carbonatação convencional pode ser usada para fazer as bebidas carbonatadas da presente invenção. A quantidade de

dióxido de carbono introduzido na bebida vai depender do sistema de sabor particular utilizado e da quantidade de carbonatação desejada. Normalmente, bebidas carbonatadas da presente invenção contêm de 1,0 a 4,5 volumes de dióxido de carbono. As bebidas gaseificadas contêm, preferencialmente, de 2 a cerca de 3,5 volumes de dióxido de carbono.

A presente invenção também é particularmente adequada para a suplementação de bebidas e concentrados de bebidas, incluindo sumos em água e frutas cítricas. As bebidas podem conter de 3% a 100% de suco ou de cerca de 0,05% a cerca de 10% de um sabor artificial ou natural, suco de laranja particularmente. Voláteis do suco de laranja concentrado, aroma e sabor de suco de laranja, polpa e casca de óleos utilizados no método da presente invenção podem ser obtidos a partir de suco de laranja padrão. Ver Nagy, S.; Shaw, P. E.; Veldhuis, M. K. Citrus Science and Technology; AVI Publishing: Westport, Connecticut, 1977; Vol. 2, pp 177-252; para o processamento padrão de laranja, grapefruit e tangerina. (Ver também Nelson e colaboradores Fruit and Vegetable Juice Processing Technology, 3rd ed.; AVI Publishing: Westport, Connecticut, 1980; pp. 180-505, para o padrão de processamento de sucos não cítricos como maçã, abacaxi, uva, etc, para fornecer fontes de matérias de suco e sumos de suco de produtos não cítricos).

Sucos de diferentes fontes são frequentemente misturados para ajustar o açúcar à relação de ácido do suco. Diferentes variedades de laranjas podem ser misturadas ou sucos diferentes podem ser misturados para
5 obter o sabor desejado e a relação de ácido/açúcar. A proporção de açúcar para o ácido de cerca de 8: 1 a cerca de 20: 1 é considerada aceitável para sucos de frutas. No entanto, os índices de açúcar/ácido preferidos são tipicamente de cerca de 11:01 a cerca de 15:1,
10 especialmente para sucos cítricos. Adoçantes incluem os açúcares normalmente presentes em produtos de suco, por exemplo, glicose, sacarose e frutose. Açúcares incluem também o xarope de milho rico em frutose, xarope invertido, álcoois de açúcar, xarope de sorbitol, incluindo refinados,
15 e suas misturas. Além de açúcar, o suco de bebidas estendido da presente invenção pode conter outros adoçantes. Outros adoçantes adequados incluem sacarina, ciclamato, acetossulfam, L-aspartil-L-fenilalanina, adoçantes de éster de alquila inferior (por exemplo,
20 aspartame). Um adoçante preferido para uso em tais produtos do suco estendido é o aspartame. Para bebidas de suco de "força única", o teor de açúcar pode variar de cerca de 2° a cerca de 16° Brix (16° Brix significando que o suco contém cerca de 16% de sólidos solúveis, e assim por

diante). Normalmente, o teor de açúcar destas bebidas depende da quantidade de suco nelas contida.

Em formas de dosagens sólidas para administração oral (cápsulas, comprimidos, pílulas, drágeas, pós, grânulos e
5 similares), o suplemento, ou seus componentes, é misturado com um ou mais veículos farmacêuticamente aceitáveis, como o citrato de sódio ou fosfato bicálcico, e/ou qualquer um dos seguintes: (1) enchimentos ou diluentes, como amido, lactose, sacarose, glicose, manitol e/ou ácido silícico,
10 (2) pastas como, por exemplo, carboximetilcelulose, alginatos, polivinila, pirrolidona, gelatina de sacarose e/ou de acácia; (3) umectantes como o glicerol, (4) agentes de desintegração como ágar-ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou amido de tapioca, ácido algínico, silicatos
15 próprios e carbonato de sódio, (5) agentes retardadores de solução tais como a parafina, (6) aceleradores de absorção tais como compostos de amônio quaternário, (7) agentes umectantes como, por exemplo, o álcool acetílico e monoestearato de glicerol, (8) absorventes, tais como
20 caulim e argila bentonítica, (9) lubrificantes, como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietileno glicóis sólidos, lauril sulfato de sódio e suas misturas, e (10) agentes colorantes. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as composições farmacêuticas podem também incluir

agentes tamponados. Composições sólidas de um tipo semelhante também podem ser empregadas como enchimentos em cápsulas de gelatina mole e dura, usando excipientes de lactose, como leite, ou açúcares, bem como polietileno glicol de alto peso molecular e similares.

Um comprimido pode ser feito por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Obtidos por compressão pode ser preparado usando-se aglutinantes (por exemplo, gelatina ou hidroxipropilmetilcelulose), lubrificantes, solvente inerte, conservantes, desintegrantes (por exemplo, amido glicolato de sódio ou carboximetilcelulose de sódio reticulada), tensoativos ou dispersantes. Comprimidos moldados podem ser feitos por moldagem em uma máquina adequada a partir de uma mistura do suplemento ou seus componentes umedecidos com um diluente inerte líquido. Comprimidos e outras formas farmacêuticas sólidas, como drágeas, cápsulas, comprimidos e granulados, podem opcionalmente ser marcados ou preparados com revestimentos e envoltórios, tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos bem conhecidos no estado da técnica farmacêutica de formulação.

Comprimidos e outras formas farmacêuticas sólidas também podem ser formuladas de modo a proporcionar a

liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo nela utilizado, por exemplo, com hidroxipropilmetilcelulose em proporções variáveis para fornecer o perfil de liberação desejado, além de outras matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microesferas. Eles podem ser esterilizados, por exemplo, por filtração através de um filtro de retenção de bactérias, ou incluir agentes esterilizantes na forma de composições sólidas estéreis que pode ser dissolvidas em água estéril, ou meio estéril injetável ou outros procedimentos, imediatamente antes do uso. Estas composições também podem conter, opcionalmente, agentes opacificantes e podem ser do tipo de uma composição que libera o ingrediente ativo apenas, ou preferencialmente, em uma certa porção do trato gastrointestinal, opcionalmente, de uma forma retardada. Exemplos de modalidades de composições que podem ser utilizados incluem substâncias poliméricas e ceras. O ingrediente ativo pode estar em forma micro-encapsulada, se for o caso, com um ou mais dos suplementos nutricionais acima descritos.

20 Formas de dosagens líquidas para administração oral incluem emulsões farmacologicamente aceitáveis, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires. Além do suplemento ou componente, as formas de dosagem de líquidos podem conter diluentes inertes comumente usado no

estado da técnica como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes de solubilização e emulsificantes, como o álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etila, acetato de álcool etílico, álcool benzílico, benzoato de benzila, propileno glicol, 1,3-butileno glicol, óleos (em particular, de amendoim, de sementes de algodão, de gérmen de milho, de oliva, óleos de mamona e gergelim), glicerol, álcool tetrahidrofurílico, glicóis de polietileno e ésteres de ácidos graxos de sorbitano e suas misturas.

10 Além de diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes, tais como agentes umectantes, emulsificantes e agentes de suspensão, adoçantes, aromatizantes, corantes, flavorizantes e conservantes.

As suspensões, além de o suplemento ou seus
15 componentes, podem conter agentes de suspensão como, por exemplo, álcoois etoxilados isoestearílicos, polioxietileno-sorbitano e ésteres de sorbitol, celulose microcristalina, metahidróxido de alumínio, bentonita, ágar-ágar e tragacanth, e suas misturas.

20 A composição da presente invenção pode ser administrada como uma cápsula ou comprimido contendo uma dose única ou dividida do inibidor. De preferência, a composição é administrada como uma solução estéril, suspensão ou emulsão, em dose única ou dividida. Os

comprimidos podem conter transportadoras como a lactose e amido de milho, e/ou agentes lubrificantes, tais como estearato de magnésio. As cápsulas podem conter diluentes incluindo amido de milho seco e lactose.

5 Um comprimido pode ser feito por compressão ou moldagem do ingrediente ativo, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Comprimidos prensados podem ser preparados através da compressão, em uma máquina adequada, do ingrediente ativo em uma forma de fluxo livre, como um
10 pó ou grânulos, opcionalmente misturado com um aglutinante, lubrificante, diluente inerte, de superfície ativa ou dispersante. Comprimidos moldados podem ser feitos por moldagem em uma máquina apropriada, uma mistura do ingrediente ativo em pó e um veículo adequado umedecido com
15 um diluente inerte líquido.

Ao preparar formas de dosagem incorporando as composições da invenção, os compostos podem também ser misturados com excipientes convencionais, tais como aglomerantes, incluindo amido, gelatina pré-gelatinizada e
20 similares, lubrificantes, como óleo vegetal hidrogenado, ácido suteárico e similares, diluentes, tais como lactose, manose ou sacarose, e desintegrantes, como carboximetilcelulose e amido glicolato de sódio, agentes de suspensão, tais como povidona, álcool polivinílico, e

similares, absorbantes, como o dióxido de silício, conservantes, tais como metilparabeno, propilparabeno , e benzoato de sódio, tensoativos, tais como lauril sulfato de sódio, polissorbato 80, e similares, corantes, como F.D. & C. dyes and lakes, flavorizantes e edulcorantes.

A presente invenção será agora descrita em ainda maior detalhe por meio dos seguintes exemplos não limitantes.

Exemplo 1: Formulações de carboidratos de liberação retardada para intensificar no desempenho atlético.

10 O objetivo do exemplo é o desenvolvimento de um fluido nutricional que fornece carboidratos e outros nutrientes para um atleta de uma forma que promove o desempenho atlético de pico. A abordagem proposta é apresentar a liberação controlada de carboidratos digestíveis de uma
15 dispersão aquosa adequada de micro ou nanoesferas. Os carboidratos de importância digeríveis incluem: os monossacarídeos - glicose, frutose e galactose, os dissacarídeos - sacarose, maltose e lactose, e os polissacarídeos - amido. O amido é quebrado em dextrinas
20 pela amilase salivar (na boca) e pela amilase pancreática (no intestino delgado). A dextrina é utilizada pelas enzimas da borda em escova no intestino delgado, que também converte os açúcares duplos em açúcares simples. Os monossacarídeos são, finalmente, transportados através do

epitélio intestinal para a corrente sanguínea. O ensaio proposto busca a liberação controlada de carboidratos de fácil digestão, especialmente os açúcares simples, glicose e frutose, para a absorção sustentada no sangue.

5 Uma compreensão básica da fisiologia do trato gastrointestinal (TGI) é útil no projeto do sistema de apresentação. O tempo de retenção do alimento no estômago é de até 2 horas e depende, entre outros fatores, do valor calórico da refeição (ver, por exemplo, Hadi, N. A.;
10 Giouvanoudi, A.; Morton, R.; Horton, P. W.; Spyrou, N. M. Variations in gastric emptying times of three stomach regions for simple and complex meals using scintigraphy. IEEE Transactions on Nuclear Science 2002, 49, 2328-2331).
O sistema de liberação controlada deve ser capaz de
15 resistir ao pH ácido (1-3) do estômago durante a retenção gástrica, sem liberar a carga de açúcar. O tempo de residência no intestino delgado, onde a maioria da absorção de nutrientes ocorre, é de cerca de 3 h. Para a
apresentação de nutrientes durante um período de tempo mais
20 longo, é necessário prolongar a retenção intestinal - o que pode ser conseguido através do encapsulamento dos nutrientes em um transportador com propriedades mucoadesivas. Polímeros hidrofílicos contendo grupos de ácido carboxílico apresentam boas propriedades

mucoadesivas. Um passo fundamental na concepção de um sistema de liberação controlada de açúcar é a seleção de um material de suporte para encapsular carboidratos. Polissacarídeos e seus derivados são polímeros de escolha
5 como veículos para liberação sustentada de apresentação de drogas e estruturas em engenharia de tecidos, por causa de sua natureza não-tóxica e excelente biocompatibilidade (ver, por exemplo, Dumitriu, S.; Dumitriu, M. Hydrogels as support for drug delivery systems. Em Polysaccharides in
10 Medicinal Applications; Dumitriu, S. Ed.; Dekker: New York, 1996; pp 705-764; Coviello, T.; Matricardi, P.; Marianecchi, C; Alhaique, F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. J. Control. ReI. 2007, 119, 5-24 e Kong, H.; Mooney, D. J. Polysaccharide-based hydrogels in
15 tissue engineering. Em Polysaccharides, 2nd ed.; Dumitriu, S., Ed.; Dekker: New York, 2005; pp 817-837). Eles também têm sido utilizados para encapsulamento de sabor em formulações de alimentos (ver, por exemplo, Madene, A.; Jacquot, M.; Scher, J.; Desobry, S. Flavour encapsulation
20 and controlled release-a review. International Journal of Food Science and Technology 2006, 41, 1-21).

Misturas de polissacarídeos são usadas para sintetizar dispersões aquosas de micro- ou nanopartículas. Polissacarídeos hidrofobicamente modificados, tais como

hidroxipropil celulose ou hidroxietilcelulose são conhecidos por formar nanopartículas espontaneamente na água. Redes interpenetrantes de polímero destes polímeros, com polissacarídeos contendo grupos de ácido carboxílico, foram sintetizados. A FIGURA 1 mostra as estruturas químicas de três importantes polissacarídeos contendo grupos carbóxi-. A unidade monomérica do esqueleto de carboximetilcelulose consiste de resíduos de glicose ligados através de ligações D β -(1- $\rightarrow$ 4). Alginatos são compostos por ácido manurônico ligado de forma D- β (1 - $\rightarrow$ 4) ao monômero de α -L-ácido gulurônico que variam em quantidade e distribuição sequencial ao longo da cadeia polimérica, dependendo da fonte de alginato. O ácido hialurônico é um polímero linear consistindo d alternadas (1- $\rightarrow$ 4)ligado-2-acetamida-2-desoxi- β -D-glicose e (1 - $\rightarrow$ 3) ligado ácido β -D-glucurônico.

Para aumentar a estabilidade das partículas no trato gastrointestinal, as partículas são reticuladas para formar hidrogéis. Mecanismos de reticulação diferentes foram investigados para alcançar a cinética de liberação desejada. A reticulação é realizada utilizando-se iniciadores de radical livre, tais como sais de persulfato, ou sistemas redox envolvendo o ácido ascórbico, ou de um reticulador que ocorre naturalmente,

como genipina. A reticulação iônica também é explorada. Polissacarídeos aniônicos como gelana podem ser usados para reticulação iônica, em vez de produtos químicos, como bórax, que pode não ser desejável em uma formulação de
5 alimentos.

Espera-se que o hidrogel contendo partículas carbóxi esteja em um estado para não entrar em colapso no ambiente ácido do estômago. Assim, as moléculas de açúcar são mantidas encapsuladas dentro das partículas no estômago.
10 Deste modo, as partículas de hidrogel irão atingir um estado expandido quando chegarem ao intestino delgado (pH 5-7) e irão liberar o açúcar encapsulado em uma taxa mais rápida do que no estômago.

Vários pesquisadores têm investigado a síntese de
15 partículas de polissacarídeos e hidrogéis para liberação controlada. A maioria desses estudos foram, no entanto, com foco na incorporação de drogas relativamente hidrofóbicas ou macromoléculas de proteína nos portadores. Um objetivo do ensaio proposto é encapsular pequenas moléculas
20 hidrofílicas, como açúcares. A partição no equilíbrio de moléculas de açúcar entre as partículas de hidrogel e a fase aquosa é determinada. Devido a semelhanças nas estruturas químicas dos polissacarídeos do transportador e dos monossacarídeos encapsulado, espera-se que a eficiência

de encapsulação de hidrogéis de polissacarídeos seja superior à de outros hidrogéis.

Existem poucos estudos que tenham relatado sistemas de liberação retardada por carboidratos. Fox e Allen (Fox, G. J.; Darlene, A. Method and composition for controlling the release of carbohydrates by encapsulation. A Patente norte-americana US 5,536,156, 16 de julho de 1996) têm micropartículas de carboidratos revestidas com um revestimento de liberação retardada comestíveis. O carboidrato revestido, quando ingerido oralmente, causa uma liberação atrasada no tempo do carboidrato no sistema digestivo. As partículas revestidas possuem 3-10 mM em tamanho e foram armazenadas em forma de partículas sólidas. Em contraste, a presente invenção busca desenvolver partículas de liberação controlada que estão dispersas em meio aquoso. Lake e Smith (Lake, M.; Smith, U. Composition and method for long-term glycemic control. Pedido de patente WO/2006/022585, 03 de fevereiro de 2006) relataram a preparação de grânulos de amido, que podem ser usados para melhor controle de longo prazo de glicose no sangue em um paciente diabético. A formulação de liberação retardada de amido foi projetada para reduzir a incidência de hipoglicemia noturna, onde o paciente ingere uma quantidade terapêutica dos grânulos de amido na hora de dormir. Zequer

(Zecher, D. C. Controlled release carbohydrate embedded in a crosslinked polysaccharide. Int. Pat. Appl. WO/2000/032064, 6 de agosto de 2000) relatou uma composição similar de carboidratos de liberação controlada que
5 consiste de polissacarídeos covalentemente reticulados. No entanto, os carboidratos reticulados não estavam em forma de partículas, e não eram na forma de suspensões aquosas.

As seções a seguir descrevem métodos para a síntese de hidrogéis de polissacarídeos.

10 Polissacarídeos hidrofobizados são altamente promissores na síntese de nanopartículas por causa de suas propriedades de auto-montagem em ambiente aquoso. Akiyoshi e Sunamoto (Akiyoshi, K.; Sunamoto, J. Supramolecular assembly of hydrophobized polysaccharides. Supramolecular
15 Science 1996, 3, 157-163) constataram que os polissacarídeos que foram funcionalizados com hidrófobos como colesterol espontaneamente formam nanopartículas quando dispersos em água. A densidade, tamanho e estabilidade coloidal das nanopartículas poderiam ser
20 controlados mediante a adaptação da densidade de enxerto e do grau de hidrofobicidade do hidrófobo. Polissacarídeos, como pullulan, dextrano e manana foram parcialmente substituídos por vários grupos hidrofóbicos, tais como longas cadeias alquila e colesterol. Por exemplo, pullulan

com um peso molecular de 55 kDa, quando funcionalizado com colesterol (~ 1,7 partes de colesterol por 100 unidades de glicose) forma nanopartículas espontaneamente, de 20-30 nm de tamanho (Akiyoshi, K.; Deguchi, S.; Tajima, H.;
5 Nishikawa, T.; Sunamota, J. Self-assembly of hydrophobized polysaccharide: Structure of hydrogel nanoparticle and complexation with organic compounds. Proc. Japan Acad. 1995, 71, 15-19). O pullulan carregando colesterol é auto-agregado para formar nanopartículas monodispersas estáveis
10 após ultrassonificação da suspensão na água. Uma coagulação não ocorreu, mesmo após o aquecimento a 90°C por 1 h. Estas nanopartículas foram usadas para hospedar substâncias hidrofóbicas, tais como a droga antitumor adriamicina (Akiyoshi, K.; Taniguchi, L.; Fukui, H.; Sunamoto, J.
15 Hydrogel nanoparticle formed by self-assembly of hydrophobized polysaccharide. Stabilization of adriamycin by complexation. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 1996, 42, 286-290) e várias proteínas solúveis em água, mas o encapsulamento de pequenas
20 moléculas solúveis em água não foi relatado.

Simi e Abraham (Simi, C. K.; Abraham, T. E. Hydrophobic grafted and crosslinked starch nanoparticles for drug delivery. Bioprocess and Biosystems Engineering 2007, 30, 173-180) fizeram enxertado de ácidos graxos para

amido usando persulfato de potássio como catalisador. Nanopartículas resultantes das moléculas de amido modificado foram adicionalmente estabilizadas por reticulação com tripolifosfato de sódio. As nanopartículas
5 foram utilizadas para o encapsulamento de um fármaco hidrofóbico.

Thielemans e colaboradores (Thielemans, W.; Belgacem, M. N.; Dufresne, A. Starch nanocrystals with large chain surface modifications. *Langmuir* 2006, 22, 4804-4810) também
10 tiveram sucesso na modificação de superfície de partículas de amido em nanoescala utilizando cloreto de ácido esteárico (um hidrófobo) e poli éter metílico (etileno glicol) (uma molécula hidrofílica). Woo e colaboradores (Woo, B. H.; Jiang, G.; Jo, Y. W.; DeLuca, P. P.
15 Preparation and characterization of a composite PLGA and poly(acryloyl hydroxyethyl starch) microsphere system for protein delivery. *Pharmaceutical Research* 2001, 18, 1600-1606) relataram a síntese de polissacarídeos em microesferas utilizando hidroxietilamido modificada com
20 acríloíla. As microesferas foram investigadas por sua capacidade de carga de proteína para apresentação controlada de proteína.

Basheer e colaboradores (Besheer, A.; Hause, G.; Kressler, J.; Mader, K. Hydrophobically modified

hydroxyethyl starch: Synthesis, characterization, and aqueous self-assembly into nano-sized polymeric micelles and vesicles. *Biomacromolecules* 2007, 8, 359-367) reagiram hidroxietilamido com ácidos graxos (láurico, palmítico, esteárico) sob condições de reação leve usando diciclohexil carbodiimida (DCC) e dimetilaminopiridina (DMAP). Os polímeros resultantes foram auto-montados para formar micelas com 20-30 nm e 250-350 nm de vesículas poliméricas. No entanto, produtos químicos, como DCC e DMAP são potencialmente tóxicos e não podem ser utilizados em formulações alimentares.

Chakraborty e colaboradores (Chakraborty, S.; Sahoo, B.; Teraoka, L; Gross, R. A. Solution properties of starch nanoparticles in water and DMSO as studied by dynamic light scattering. *Carbohydrate Polymers* 2005, 60, 475-481) estudaram as propriedades da solução amido em nanopartículas em água usando espalhamento de luz dinâmico. As nanopartículas foram obtidas a partir de Ecosynthetix (Lansing, MI), e foram sintetizadas a partir de amido de milho usando glioxal como agente reticulante. Uma mistura de amido, glicerol (18% em peso de amido seco) e glioxal (0,1-10% em peso) foi extrusada para obter grânulos de amido reticulado. Os grânulos foram criogenicamente moídos e peneirados para obtenção de partículas menores que 150 nm

de diâmetro. O espalhamento de luz dinâmico ou as partículas em água indicaram duas populações principais, com diâmetros médios de 40 e 300 nm, consistindo de nanopartículas de amido isolado e seus agregados, respectivamente. Em maior concentração (~ 3% p/p), um terceiro pico apareceu em cerca de 1 micron, referente a uma agregação das partículas. O controle de agregados de partículas é um passo importante no projeto de nanopartículas de carboidratos.

Uma característica fundamental dos hidrogéis de polissacarídeos propostos é sua capacidade de resposta pH. Idealmente, os hidrogéis não devem inchar no ambiente ácido do estômago, mas devem crescer com a entrada no intestino delgado e liberar os açúcares encapsulados em uma taxa controlada. Esta seção analisa um caso extremo em que a matriz de polissacarídeo era insolúvel em ambientes ácidos, enquanto era completamente dissolvida em valores maiores de pH.

O escleroglucan é um homopolisacarídeo ramificado que produz somente D-glicose quando sob hidrólise completa. O polímero consiste de uma cadeia principal ligada de forma (1 - »3) a unidades β -D-glicopiranosila. A cada terceira unidade ao longo da cadeia principal, o polímero tem uma única unidade de β -D-glicopiranosila ligada de forma (1 -

»6) como uma ramificação. A cadeia lateral de glucopirranose de escleroglucan foi oxidada por meio de uma reação de duas etapas: primeiro com periodato, para formar um derivado de aldeído, e depois com clorito, que resultou no derivado carboxilado chamado sclerox (ver, por exemplo, a Fig. 2 e Coviello. , T.; Palleschi, A.; Grassi, M.; Matricardi, P.; Coviello, T.; Palleschi, A.; Grassi, M.; Matricardi, P.; Bocchinfuso, G.; Alhaique, F. Scleroglucan: A versatile polysaccharide for modified drug delivery. *Molecules* 2005, 10, 6-33). Variando-se a proporção entre o agente oxidante e o polissacarídeo, o polímero pode ser oxidado a uma extensão diferente. Verificou-se que acima de uma oxidação de 60%, o esclerox tornou-se sensível às condições do meio, resultando em uma transição sol-gel reversível mediada pelo pH. a permeação de moléculas modelo ocorreu em ritmos diferentes através do sol e do gel e, consequentemente, a liberação de esclerox comprimidos mostraram perfis diferentes nos dois ambientes, simulando o estômago e os fluidos intestinais, respectivamente.

Em meio ácido, a formação de uma camada inchada em torno da forma farmacêutica adquiriu um papel fundamental na determinação da taxa de apresentação, em pH mais elevado a liberação da carga e a dissolução tornaram-se predominantes. A adição de uma substância ácida, como ácido

cítrico, na formulação reduziu a taxa de liberação no fluido intestinal simulado. A taxa de apresentação ainda se mostrava muito rápida em relação ao tempo de trânsito através do trato GI. Assim, outra estratégia foi utilizada.

5 O polissacarídeo foi derivatizado para introduzir grupos aldeídicos ou carboxílicos na cadeia lateral. Estes grupos foram, então, reticulados para produzir redes tridimensionais mais estáveis.

Pitarresi e colaboradores relataram reticulação de
10 carboidratos funcionalizados com anidrido metacrílico por irradiação UV. O ácido hialurônico foi derivatizado com anidrido metacrílico. Ácido hialurônico de peso molecular relativamente baixo (174 kDa) foi dissolvido em água para formar uma solução de 2% (p / v). Um excesso de 20 vezes de
15 ácido metacrílico (com respeito às unidades de repetição do de ácido hialurônico) foi adicionado com a adição simultânea de NaOH 5 N (para manter o pH entre 8 e 9). A reação foi mantida a 4⁰C e agitados por 24 h. A mistura de reação foi então precipitada em etanol e o produto foi
20 recuperado e purificado por centrifugação e cromatografia de permeação em gel.

Giezen e colaboradores revelaram um processo para produzir nanopartículas de biopolímeros no qual o amido, ou um derivado do amido, foi reticulado utilizando dialdeído

ou polialdeído (ver, por exemplo, Giezen, F. E.; Jongboom, R. O. J.; Fell, J.; Gotlieb, K. F.; Boersma, A. Biopolymer nanoparticles. documento de patente US6677386, de 13 de janeiro de 2004). Um plastificante, como glicerol, foi
 5 utilizado durante o processo, juntamente com um ácido, como o ácido maleico, ácido oxálico ou ácido cítrico. Note-se que os produtos químicos, tais como dialdeídos e glicerol não são adequados como ingredientes alimentares. As nanopartículas reticuladas tinham um tamanho médio de
 10 partícula abaixo de 400 DID. A viscosidade de uma dispersão aquosa contendo 10% em peso destas partículas tinha uma viscosidade inferior a 150 mPas (medido a uma taxa de cisalhamento de 186 s^{-1}).

A viscosidade da formulação deverá aumentar com o
 15 aumento da concentração de partículas. Como uma primeira aproximação, a viscosidade de uma suspensão está relacionada à concentração de partículas por meio da equação de Einstein, $\eta = \eta_w (1 + 2,5\phi)$, onde η é a viscosidade da dispersão, η_w é a viscosidade da fase aquosa
 20 e ϕ é a fração de volume de partículas na dispersão. A

$$\phi = \left[1 + \left(\frac{\rho_p}{\rho_w} \right) \cdot \left(\frac{1}{m} - 1 \right) \right]^{-1}$$

fração de volume da partícula é dada por ,

onde ρ_p é a densidade das partículas, ρ_w é a densidade de

fase aquosa e m é a fração de massa de partículas na dispersão. A viscosidade de dispersão também depende da distância interpartículas, H , que é a distância média entre as superfícies de duas partículas vizinhas na dispersão.

- 5 Para uma população de partículas monodispersas com estrutura hexagonal empacotada proximamente, a distância

$$H = D \left\{ \left(\frac{0.74}{\phi} \right)^{1/3} - 1 \right\}$$

interpartículas é dada por , onde D é o diâmetro de partícula.

Portanto, espera-se que uma fração determinada de
10 massa de polímero em dispersão (isto é, um ϕ fixo) tenha viscosidade de dispersão maior quando as partículas são menores em tamanho. Neste exemplo, a viscosidade da dispersão é adaptada para ser próxima a da água (~ 1 mPas).

Magnani e colaboradores sintetizaram hidrogéis de
15 polissacarídeos usando alginatos, hialuronano e carboximetilcelulose (ver, por exemplo, Magnani, A.; Rappuoli, R.; Lamponi, S.; Barbucci, R. Novel polysaccharide hydrogels: characterization and properties. Polym. Adv. Technol. 2000, 11, 488-495 and Barbucci, R.;
20 Consumi, M.; Lamponi, S.; Leone, G. Polysaccharides based hydrogels for biological applications. Macromol. Symp. 2003, 204, 37-58). O procedimento consistiu de reticulação

de porções ativadas de iodeto de carboxilato de 2-cloro-1-metilpiridínio e usando-se 1,3-diaminopropano como um reticulador. Uma solução aquosa do hialuronato de sódio, alginato e carboximetilcelulose foi transformada em ácido carboxílico por tratamento com uma resina de troca de ácido forte Dowex 50 WX8 (Fluka) a 4⁰C. A solução foi adicionada a uma solução a 5% de hidróxido de tetrabutilamônio para alcançar um pH entre 8 e 9. Após liofilização, o sal de tetrabutilamônio do polissacarídeo foi dissolvido em dimetilformamida (DMF). Uma quantidade estequiométrica de iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio foi adicionada à solução mantida a 0⁰C. O reticulador de diamina foi então adicionado em excesso na solução e a mistura de reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 4 h. A reação foi facilitada pela adição de uma pequena quantidade de trietilamina, que atuou como captador de iodeto de hidrogênio. Géis macroscópicos foram obtidos. A síntese de micro- ou nanopartículas não foi relatada. Além disso, os produtos químicos envolvidos não são adequados para uma formulação de alimentos.

Kabra e colaboradores prepararam macrogéis de hidroxilpropilcelulose por reticulação do polímero com divinil sulfona a uma temperatura acima da temperatura mais baixa de solução crítica (LCST, 41⁰C) (ver, por exemplo,

Kabra, B. G.; Gehrke, S. H.; Spontak, R. J. Microporous, responsive hydroxypropyl cellulose gels. 1. Synthesis and microstructure. *Macromolecules* 1998, 31, 2166-2173). Cai e colaboradores utilizaram a mesma reação para preparar

5 suspensões aquosas de nanopartículas de hidroxilpropilcelulose (ver, por exemplo, Cai, T.; Hu, Z.; Marquez, M. Synthesis and self-assembly of nearly monodisperse nanoparticles of a naturally occurring polymer. *Langmuir* 2004, 20, 7355-7359). Um alto peso

10 molecular (~ 106 Da) foi dissolvido em uma solução aquosa de hidróxido de sódio (pH 12). Brometo de dodeciltrimetilamônio e divinil sulfona foram adicionados como tensoativo e reticulador, respectivamente. A solução foi aquecida a uma temperatura acima da LCST por cerca de 3

15 h, resultando em nanopartículas com diâmetros variando de 170 a 430 nm. A concentração de partículas foi determinada como abaixo de 0,1% em peso. Gao e colaboradores também relataram reticulação *in situ* de nanopartículas de hidroxipropilcelulose auto-associadas utilizando divinil

20 sulfona (ver, por exemplo, Gao, J.; Haidar, G.; Lu, X.; Hu, Z. Self-association of hydroxypropylcellulose in water. *Macromolecules* 2001, 34, 2242-2247).

De Nooy e colaboradores utilizaram a reação entre um ácido carboxílico, um aldeído e um isocianato (condensação

de Passerini de três componentes) para preparar hidrogéis de polissacarídeos (ver, por exemplo, De Nooy, A. E. J.; Masci, G.; Crescenzi, V. Versatile synthesis of polysaccharide hydrogels using the Passerini and Ugi multicomponent condensations. *Macromolecules* 1999, 32, 1318-1320). Um ácido carboxílico que contém carboidratos, tais como carboximetilcelulose ou ácido hialurônico foram utilizados para preparar os hidrogéis. Polissacarídeos, como escleroglucan, pullulan ou que não contenham grupos de ácido carboxílico foram parcialmente oxidados usando-se o reagente TEMPO para introduzir grupos aldeído e ácido carboxílico. A reação de condensação UGI envolve um componente adicional, uma amina. Formaldeído ou glutaraldeído foram utilizados juntamente com aminas, tais como 1,5 diaminopentano ou cloreto de amônio para a reação de condensação. Quitosana também foi utilizada na síntese de hidrogel, considerando os grupos amina presentes em sua estrutura. Todos os géis foram sintetizados como géis macroscópicos. Síntese de micro- ou nanopartículas não foi relatada. Além disso, aldeídos e isocianatos não são geralmente considerados seguros como ingredientes alimentares.

Hidrogéis covalentemente reticuladas preparados utilizando-se outras reações de reticulação também têm sido

relatadas. Dou e colaboradores sintetizaram nanopartículas de dextrana, hidropropilcelulose e hidroetilcelulose carbóxi-funcionalizadas (ver, por exemplo, Dou, H.; Tang, M.; Yang, W.; Sun, K. One-pot synthesis, characterization, and drug loading of polysaccharide-based nanoparticles with carboxy functional groups. *Colloid Polym. Sci.* 2007, 285, 1043-1047). Seu procedimento, no entanto, envolve o uso de produtos químicos como ácido nítrico, ácido acrílico, nitrato de amônio e cério (IV), e N,N'-metileno bisacrilamida, que são inadequados para a formulação de alimentos. Yu e Hoffman relataram a síntese de hidrogéis de alginato de sódio reticulado quimicamente / condroitina 6-sulfato para a liberação controlada de uma proteína modelo catiônica e lisozima (ver, por exemplo, Yu, X. J.; Hoffman, A. S. Polysaccharide hydrogels as drug delivery matrixes. *Proceedings of the 22nd International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*, 1995; Controlled Release Society; pp 352-353). O hidrogel se mostrou em um estado condensado em soluções de cátions divalentes e em um estado descondensado em PBS.

Chen e colaboradores revisaram alguns hidrogéis de polissacarídeo que foram usados para apresentação de peptídeos e proteínas (ver, por exemplo, Chen, J.; Jo, S.; Park, K. Polysaccharide hydrogels for protein drug

delivery. Carbohydrate Polymers 1995, 28, 69-76). Estes hidrogéis, que foram projetados para apresentação nasal de insulina, incluíam 45 mM amido em microesferas (ver, por exemplo, Ilium, L.; Jørgensen, H.; Bisgaard, H.; Krogsgaard, O.; Rossing, N. Bioadhesive microspheres as a potential nasal drug delivery system. Int. J. Pharm. 1987, 39, 189-199), dextran reticulado com epicloridrina (ver, por exemplo, Edman, P.; Björk, E. Routes of delivery: Case studies: (1) Nasal delivery of peptide drugs. Adv. Drug Delivery Rev. 1992, 8, 165-177) e microesferas de éster de ácido hialurônico (ver, por exemplo, Benedetti, L. M.; Topp, E. M.; Stella, V. J. Microspheres of hyaluronic acid esters-Fabrication methods and in vitro hydrocortisone release. J. Control. Rel. 1990, 13, 33-41).

As microesferas de ésteres hialurônico tinham 10-100 μm de diâmetro (ver, por exemplo, Benedetti, L. M.; Topp, E. M.; Stella, V. J. Microspheres of hyaluronic acid esters-Fabrication methods and in vitro hydrocortisone release. J. Control. Rel. 1990, 13, 33-41). A seleção de um agente reticulante adequado é um passo fundamental na preparação de hidrogéis de polissacarídeos para formulações de alimentos. Claramente, a toxicidade da substância química de reticulação impede seu uso. A genipina é um reticulador de ocorrência natural de proteínas e

polissacarídeos e é obtida a partir de extratos de frutos de gardenia. Ela tem atraído grande interesse na síntese de hidrogéis de polissacarídeos. Possui baixa toxicidade aguda (DL₅₀ iv 382 mg/kg em camundongos) e é muito menos tóxica do que a maioria dos outros agentes químicos de reticulação, tais como o glutaraldeído. Sua estrutura é mostrada na Fig. 2.

Meena e colaboradores utilizaram genipin para reticular agarose em meio aquoso em pH ~ 7 em condições de ambiente (ver, por exemplo, Meena, R.; Prasad, K.; Siddhanta, A. K. Preparation of genipin-fixed agarose hydrogel. J. Appl. Polym. Sci. 2007, 104, 290-296). Genipina foi adquirida de Challenge Bioproducts Co., de Taiwan. A quantidade de genipina utilizada foi cerca de 0,8% em peso da massa de agarose. Genipina fixada com agarose mostrou diminuição de inchaço em meio ácido (pH 1,2), representante do ambiente gástrico. A extensão do inchaço foi de 4,8 g / g, enquanto que a agarose não-reticulada inchou até 6 g / g. Os autores relataram que, sob condições de ambiente, a reticulação máxima foi alcançada após cerca de 85 h.

Alternativamente, uma reticulação pode ser conseguida utilizando-se radicais livres. Iniciadores de radicais livres como persulfato de amônio estão listados na lista GRAS de produtos químicos, e podem ser utilizados em

formulações de alimentos.

Com base na reticulação conhecida de polímeros contendo grupos hidroxila mediada por bórax, Palleschi e colaboradores sintetizaram hidrogéis de scleroglucano utilizando bórax (ver, por exemplo, Palleschi, A.; Coviello, T.; Bocchinfuso, G.; Alhaique, F. Investigation of a new scleroglucan/borax hydrogel: structure and drug release. *Int. J. Pharm.* 2006, 322, 13-21). Eles estudaram a cinética de liberação da teofilina, de vitamina B 12 e da mioglobina como modelo de drogas em hidrogéis reticulados. Estes hidrogéis foram géis macroscópicos, e não micro ou nanoesferas.

Gelana também pode ser usada como um agente de reticulação iônico. Gelana é um polissacarídeo microbiano aniônico que é bem conhecido por suas propriedades de gelificação na presença de contra-íons, especialmente íons bivalentes, como cálcio. Gelana tem sido utilizada como um reticulador para escleroglucan.

Carragenas são biopolímeros sulfatados lineares, compostos de unidades D-galactose e 3,6-anidro-D-galactose. Contas de κ -carragenina são preparadas por gelificação com íons monovalentes (muitas vezes K^+) e íons divalentes. Alginatos são polissacarídeos lineares produzidos por algas, que contêm quantidades variadas de ácido β -D-

manurômico ligado de forma (1 - »4)- e resíduos de ácido α -L- gulurônico. Mohamadnia e colaboradores sintetizaram contas ionicamente reticuladas de biopolímeros carboidratos de κ -carragenina (FIGURA 5) e alginato de sódio (ver, por exemplo, Mohamadnia, Z.; Zohuriaan-Mehr, M. J.; Kabiri, K.; Jamshidi, A.; Mobedi, H. pH-Sensitive IPN hydrogel beads of carrageenan-alginate for controlled drug delivery. J. Bioactive Compat. Polym. 2007, 22, 342-356 and Mohamadnia, Z.; Zohuriaan-Mehr, M. J.; Kabiri, K.; Jamshidi, A.; Mobedi, H. Ionically crosslinked carrageenan-alginate hydrogel beads. Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition 2008, 19, 47-59). A gelificação de alginato ocorre quando cátions bivalentes ou trivalentes (geralmente Ca^{2+}) interagem ionicamente com resíduos de ácido gulurônico, resultando na formação de uma rede tridimensional. Hidrogéis de alginato- Ca^{2+} têm sido estudados para liberação controlada em formulações de medicamentos por via oral (ver, por exemplo, Bajpai, S. K.; Sharma, S. Investigation of swelling/degradation behavior of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions. React. Func. Polym. 2004, 59, 129-140).

Langer e colaboradores descreveram a síntese de redes interpenetrantes de polímero consistindo hidrogéis reticulados ionicamente ou covalentemente (ver, por

exemplo, Langer, R. S.; Anseth, K.; Elisseeff, J. H.; Sims, D. Semi-interpenetrating or interpenetrating polymer networks for drug delivery and tissue engineering. Documento de patente US6,224,893, de 01 de maio de 2001).

5 Carboidratos, como o ácido hialurônico, dextrano, sulfato de heparina, sulfato de condroitina, heparina, alginato, gelana e carragena foram usados para sintetizar os hidrogéis ionicamente reticulados. Os hidrogéis covalentemente reticulados de quitosana consistiam de um
10 polímero e reticulador isotiocianato. Os hidrogéis se encontraram na forma de soluções viscosas capazes de reter moléculas biologicamente ativas ou drogas quando injetadas *in vivo*. A formação de micro- ou nanopartículas não foi relatada. O uso de um agente reticulante isotiocianato pode
15 não ser apropriado para uma síntese de hidrogel em grau alimentício.

Uma mistura de polissacarídeos hidrofobicamente modificados, tais como hidropropilcelulose e um polissacarídeo carbóxi contendo porções tais como alginato
20 ou carboximetilcelulose é usado para preparar as partículas de hidrogel. O polissacarídeo hidrofobicamente modificado é obtido na formação de partículas espontâneas devido à separação de fases em água, enquanto que o polissacarídeo contendo grupos de ácido carboxílico dá um comportamento

pH-responsivo e também aumentará o tempo de trânsito intestinal. Uma revisão da formação de hidrogéis (ambos géis macroscópicos e dispersões aquosas) usando uma mistura de polissacarídeos segue.

5 Ichikawa e colaboradores sintetizaram nanopartículas em suspensões de 0,5% de concentração em peso por auto-montagem de quitosana (com um grau de desacetilação ~ 77%) e hidrolisados de carboximetilcelulose (ver, por exemplo, Ichikawa, S.; Iwamoto, S.; Watanabe, J. Formation of
10 biocompatible nanoparticles by self-assembly of enzymatic hydrolysates of chitosan and carboxymethyl cellulose. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2005, 69, 1637-1642). Os polímeros foram hidrolisados com a enzima quitosanase e celulase, respectivamente. Interações eletrostáticas entre
15 os grupos carboxilato da carboximetilcelulose com os grupos amino da quitosana resultou na formação espontânea de nanopartículas apenas pela mistura de soluções dos dois polímeros. O tamanho das partículas depende da proporção de mistura das soluções, e também do peso molecular dos
20 polímeros. Era preciso hidrolisar os polímeros para um menor peso molecular antes da mistura, a fim de prevenir a formação de gel macroscópico.

Sergio e colaboradores relataram a preparação de hidrogéis a partir de misturas de polissacarídeos ácidos,

tais como alginatos e polissacarídeos básicos, tais como derivados de oligossacarídeos de quitosana (ver, por exemplo, Sergio, P.; Ivan, D.; Eleonora, M. Hydrogels of polysaccharide mixtures for tissue engineering and as carriers of active compounds. Pedido de patente internacional WO/2007/135114, de 29 de novembro de 2007). Eles descreveram a síntese de microcápsulas com um diâmetro médio de 870 μm usando um "gerador de contas" eletrostático. Um método químico alternativo de se sintetizar as partículas consistia em, por exemplo, misturar soluções de alginato e derivados de lactose de quitosana preparados em 0,15 M NaCl e HEPES 10 mM (pH 7,4). A concentração total do polímero foi de 2% e a relação peso de poliânion:polication foi de 3: 1. As partículas tinham geralmente tamanho grande, de forma que elas pudessem ser visualizadas por microscopia óptica.

White e colaboradores prepararam filmes hidrogel (para aplicação nas áreas de dermatologia, cirurgia plástica urologia e ortopedia) utilizando polissacarídeos básicos, tais como quitosana, e polissacarídeos aniônicos como o ácido hialurônico (ver, por exemplo, White, B. J.; Rodden, G. I. Compositions of semi-interpenetrating polymer network. Pedido de patente internacional WO/2005/061611, de 07 de julho de 2005).

Vieira e colaboradores têm preparado hidrogéis de alginato e alginato oxidado misturado com quitosana, e estudaram a interação destas drogas com a droga antifolato pirimetamina (ver, por exemplo, Vieira, E. F. S.; Cestari, A. R.; Airolidi, C; Loh, W. Polysaccharide-based hydrogels: Preparation, characterization and drug interaction behavior. *Biomacromolecules* 2008, P, 1195-1199). Alginato de sódio foi parcialmente oxidado usando-se periodato de sódio para obter o 2,3-dialdeído alginato. O periodato foi completamente removido por diálise extensiva. A gelificação de alginato de 2,3-dialdeído foi alcançado com CaCl_2 ou quitosana/ CaCl_2 na presença de bórax. A síntese de micro- ou nanopartículas não é relatada.

Meena e colaboradores têm discutido a síntese de um sistema de hidrogel baseado em enxerto de agar e mistura de alginato de sódio com acrilamida (ver, por exemplo, Meena, R.; Chhatbar, M.; Prasad, K.; Siddhanta, A. K. Development of a robust hydrogel system based on agar and sodium alginate blend. *Polym. Int.* 2008, 57, 329-336). Alginato de sódio e ágar foram dissolvidos separadamente em água destilada. Agar foi dissolvido utilizando-se irradiação de microondas a 90°C por 2 min, enquanto o alginato de sódio foi dissolvido à temperatura ambiente. Misturas de alginato de sódio e ágar foram preparadas ao misturá-los em

diferentes proporções. As misturas resultantes foram resfriadas, formando géis que foram cortados em pedaços pequenos e desidratados com isopropanol. Desidratadas, as partículas de gel endurecido foram filtradas através de um tecido de nylon sob pressão reduzida e secas ao ar, seguido
5 de secagem em estufa a 50°C por 2 h. As amostras secas foram moídas e misturadas usando-se um almofariz e um pilão para obter partículas de malha entre 20-40.

Hidrogéis consistindo de gelana co-reticuladas com escleroglucan também foram relatados (ver, por exemplo,
10 Alhaique, F.; Coviello, T.; Rambone, G.; Carafa, M.; Murtas, E.; Riccieri, F. M.; Dentini, M.; Desideri, P. A *gellan-scleroglucan co-crosslinked hydrogel for controlled drug delivery*. Proceedings of the International Symposium
15 on Controlled Release of Bioactive Materials 1998, 25th 866-867). O uso de ambos gelana e escleroglucan no hidrogel, resultam em melhor rigidez e estabilidade do hidrogel macroscópico e resultaram em uma liberação mais lenta da molécula hóspede. A taxa de liberação foi
20 indesejavelmente mais alta que a da gelana Ca²⁺ reticulada sozinha.

Kim e colaboradores sintetizaram um polissacarídeo baseado em hidrogel utilizando foto-reticulação de dextrana modificada (ver, por exemplo, Kim, S. H.; Won, C. Y.; Chu,

C. C. *Synthesis and characterization of dextran-based hydrogel prepared by photocrosslinking*. Carbohydrate Polymers 1999, 40, 183-190). Dextrana contém resíduos de α -D-glicopiranosil ligados na forma (1 - $\rightarrow$ 6)-, e três grupos
5 hidroxila por resíduos de glucose na estrutura. Dextrana foi reagida com brometo de bromoacetila em primeiro lugar. A dextrana bromoacetilada foi, então, reagida com acrilato de sódio para incorporar grupos de vinila. Foto-reticulação foi conseguida pela irradiação da dextrana acrilada com luz
10 UV. Neste trabalho foram obtidos géis macroscópicos, e não micro- ou nanopartículas.

Da mesma forma, Reis e colaboradores introduziram grupos de vinila pendentes pela reação do amido com metacrilato de glicidila (ver, por exemplo, Reis, A. V.;
15 Guilherme, M. R.; Moia, T. A.; Mattoso, L. H. C; Muniz, E. C; Tambourgi, E. B. *Synthesis and characterization of starch-modified hydrogel as potential carrier for drug delivery system*. J. Polym. Sci: Part A: Polym. Chem. 2008, 46, 2567-2574). O amido é um polissacarídeo composto por
20 dois componentes estruturais: amilase e amilopectina. Amilase é uma cadeia linear composta por 250-300 resíduos de α -D-glicose ligados de forma (1 $\rightarrow$ 4)-. Amilopectina é uma molécula ramificada composta por cerca de 1400 resíduos de D-glicose com ligações α (1- $\rightarrow$ 4) e α (1- $\rightarrow$ 6). Ela

constitui cerca de 80% do amido total e pode ser facilmente hidrolisada. Grupos vinila reticuláveis foram introduzidos pela reação do amido com metacrilato de glicidila, resultando em estruturas esquematicamente mostradas na Fig.

5 7.

Chen e colaboradores sintetizaram monômeros polimerizáveis de sacarídeos, como a sacarose, pela reação do açúcar com epóxi-acrilatos, ou cloreto de metacrilato e cloreto de acetila, e utilizaram estes monômeros para
10 formar hidrogéis (ver, por exemplo, Chen, J.; Bongjo, S.; Park, K. Hydrophilic, hydrophobic, and thermoreversible saccharide gels and foams, and methods for producing same. Documento de patente US6018033, de 25 de janeiro de 2000). Cai e colaboradores fizeram hidropropilcelulose modificada
15 de maneira similar por covalentemente anexar grupos de vinila, que permitiu a ligação química das cadeias de polissacarídeos em nanopartículas através de um processo de polimerização de radicais livres (ver, por exemplo, Cai, T.; Hu, Z.; Ponder, B.; St. John, J.; Moro, D. Synthesis
20 and study of and controlled release from nanoparticles and their networks based on functionalized hydroxypropylcellulose. *Macromolecules* 2003, 36, 6559-6564).

Como mencionado anteriormente, os relatos sobre o

encapsulamento de moléculas hidrofílicas em portadores de partículas de dispersões aquosas não são numerosos. Edlund e Albertsson variaram a densidade de reticulação da hemicelulose baseada em micro hidrogel e descobriu que a rede reticulado não foi capaz de retardar a liberação rápida das moléculas pequenas e hidrofílicas de compostos cafeína, (ver, por exemplo, Edlund, U.; Albertsson, A.-C. A microsphere system: hemicellulose-based hydrogels. Journal of Bioactive and Biocompatible Polymers 2008, 23, 171-186).

Pelo contrário, a liberação de uma macromolécula como proteína (albumina bovina) pode ser controlada variando-se a malhagem da rede, com o lançamento procedido por difusão Fickiana. Outros estudos mostraram a mesma dependência de tamanho e hidrofilicidade das moléculas aprisionadas.

Os requerentes da presente invenção sintetizaram microgéis de hidroxipropilcelulose usando agentes relativamente atóxicos de reticulação tais como trimetafosfato trissódico (TSTMP) e tripolifosfato de sódio (STPP). Hidroxipropilcelulose (HPC) é preparada por reação catalisada por base de óxido de propileno com celulose. HPC é permitido em alimentos para consumo humano, e é descrito na seção 121.1160 dos regulamentos da Food and Drug Administration dos EUA [Klug, E. D. Hydroxypropyl Cellulose. In Encyclopedia of Polymer Science and

Technology; Bikales, N. M., Ed.; Wiley Interscience: New York, 1971; Vol. 15, pp 307-314]. Até 0,4% em peso de TSTMP não reagido e STPP são permitidos em produtos alimentares, de acordo com os regulamentos da FDA. Outros reagentes permitidos pela FDA para a ingestão com amido de qualidade alimentar, como o cloreto de fosforila, adipato e anidrido misto adípico-acético, também podem ser usados para a reação de reticulação. Carcinógenos, tais como epicloridrina, embora usados no passado para reticulação de amido, não pode, obviamente, ser utilizado. Ver, por exemplo, a FIGURA 10, que retrata de reticulação de polissacarídeos contendo hidroxila usando TSTMP na presença de hidróxido de sódio.

Reticulações de amido usando-se trimetafosfato trissódico foram tipicamente realizadas em meio aquoso em pH de 11,5 [Xie, S. X.; Liu, Q.; Cui, S. W. Starch modification and application. In Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications; Cui, S. W. Ed.; Taylor & Francis: New York 2005; p. 358]. A reação é deixada prosseguir a 40°C por 2-6 h. Os requerentes determinaram que micropartículas de hidroxipropilcelulose poderiam ser obtidas, em concentrações relativamente elevadas (até 10% em peso, sem separação macrofásica), usando a concentração de hidróxido de sódio e temperatura

de reação significativamente maiores. O hidróxido de sódio, não apenas participa na reação de reticulação mas também, evidentemente, diminui a LCST de hidroxipropilcelulose, resultando em formação de partículas, mesmo em temperatura ambiente (em concentrações suficientemente altas de NaOH).

Hidroxipropilcelulose em pó, obtida de Sigma-Aldrich, foi utilizada para a síntese de micropartículas. O polímero HPC tinha um número médio-molecular, M_n de 10.000 g / mol, um peso molecular de peso médio, M_w de 80.000 g / mol, um grau de substituição, DS de 2,5, e uma substituição molar, MS, de 3,7. O grau de substituição, DS, é definido como o número médio de grupos hidroxila substituídos por unidades de anidroglicose [Klug, E. D. Hydroxypropyl Cellulose. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*; Bikales, N. M., Ed.; Wiley Interscience: New York, 1971; Vol. 15, pp 307-314]. A substituição molar, MS, é definida como o número médio de moléculas de óxido de propileno combinadas por unidade de anidroglicose.

Cerca de 15 mg de lecitina de soja refinada (Biomedicals MP) foi dissolvida em 5 mL de uma solução de hidróxido de sódio (pH = 12) para obter uma solução amarela pálida translúcida. Quatrocentos miligramas de HPC foram adicionados a esta solução e agitados para resultar em uma solução viscosa. Em outro frasco, uma solução de 12% (p/v)

de TSTMP foi preparada em água destilada. Cinco mililitros dessa solução TSTMP foram então adicionados ao HPC/solução de lecitina de soja. A mistura foi agitada para obtenção de uma solução homogênea, que foi aquecida a 50°C por 1 hora e, posteriormente, resfriada a temperatura ambiente. O pH da dispersão resultante, medido através de uma sonda de pH de aço inoxidável ISFET (IQ Scientific Instrument), foi de 7,8. O pH foi ajustado para 7 com alguns microlitros de ácido clorídrico 4 M. A dispersão de HPC consistiu em: 400 mg de HPC (3,2 mmol de grupos hidroxila), 15 mg (0,05 mmol) lecitina de soja, 600 mg (2,0 mmol) de TSTMP e cerca de 12 mg (0,3 mmol) de hidróxido de sódio em cerca de 10 mL de água destilada. O diâmetro de número médio de partículas foi de 3,5 µm e o diâmetro de peso médio de partícula foi de 3,7 µm. A viscosidade da dispersão foi de cerca de 11 cP. Dez mililitros de uma solução de dextrose 20% (p / v) em água destilada foi então adicionada a esta dispersão, e a mistura foi aquecida a 60°C por 10 min. O número de diâmetro médio da partícula permaneceu quase o mesmo (~ 5 µm) após a adição de dextrose. A viscosidade da dispersão final foi cerca de 5 cP. O diâmetro médio das partículas na dispersão foi determinada usando um ALVS-ENE Particle Sizer High Performance (ALV-GmbH, Langen / Alemanha). A viscosidade de dispersão foi determinada utilizando-se um

Viscosímetro Ubbelohde (Cannon Instrument Co., Pennsylvania).

Não houve diferenças significativas nos tamanhos de partículas ou nas viscosidades dispersão quando as
5 formulações foram aquecidas a 50°C por 3 h em vez de 1 h.

Em outra formulação, 10 mL de uma solução de 4% (p / v) de HPC em água destilada foi colocada num frasco de vidro. Pelotas de hidróxido de sódio (310 mg, 7,75 mmol) foram adicionadas e dissolvidas nesta solução. A adição de
10 hidróxido de sódio resultou em uma dispersão homogênea nublada. TSTMP (600 mg, 1,96 mmol) e lecitina de soja (14 mg, 0,043 mmol) foi posteriormente adicionado e dissolvido. A dispersão foi aquecida a 50°C por 1 h, após o que foi resfriada em temperatura ambiente. O procedimento resultou
15 na formação de macropartículas que se depositaram no fundo do frasco. Imediatamente após o resfriamento, a dispersão foi agitada (com um agitador magnético) e neutralizada a pH 7 com ácido clorídrico 4 M. O número e diâmetro de peso médio de partícula na fase sobrenadante foi de cerca de 610
20 nm e 690 mn, respectivamente. A viscosidade da dispersão HPC foi de cerca de 1,6 cP. Dez mililitros de uma solução de dextrose 20% (p/v) em água destilada foi então adicionada a esta dispersão, e a mistura foi aquecida a 60°C por 10 min. O número de diâmetro da partícula média na

dispersão carregada de dextrose foi de cerca de 1,6 mm e o peso médio de diâmetro das partículas foi de cerca de 2,2 mM após a adição de dextrose. A viscosidade da dispersão final foi de cerca de 2 cP.

5 Em outra modalidade, o aquecimento de uma solução de 4 g de HPC (31,9 mmol de grupos hidroxila) em 100 g de água com 2,1 g (52,5 mmol) de hidróxido de sódio e 1 g (3,27 mmol) de TSTMP a 110⁰C por 2 h, resultou na formação de hidrogel em microesferas. A dispersão foi resfriada à
10 temperatura ambiente e neutralizada com cerca de 4 mL de ácido clorídrico 4 M para resultar em uma solução com uma viscosidade de cerca de 22 cP e um diâmetro ponderal de partícula médio de cerca de 3,4 µm. Adição de 104 mL de solução de dextrose 20% (p/v) resultou numa dispersão final
15 com uma concentração de açúcar de 10% (p/v), uma viscosidade de 6,8 cP e um diâmetro ponderal de partícula médio de cerca de 4,1 µm. A formulação foi aquecida a 60⁰C por 10 min após a adição da solução de açúcar.

 Em outra formulação, 8 g de HPC (63,7 mmol de grupos
20 hidroxila) dissolvidos em 100 g de água foram aquecidos com 2,23 g (55,8 mmol) de hidróxido de sódio e 1 g (3,27 mmol) de TSTMP. O aquecimento foi realizado em um reator de vidro fechado a 110⁰C por 2 h. Após o resfriamento, o hidróxido

de sódio que não reagiu foi neutralizado com cerca de 20 mL de ácido clorídrico 4 M, para produzir uma dispersão de microesferas reticuladas de HPC com um diâmetro ponderal médio de partícula de cerca de 4,3 μm . A viscosidade da dispersão foi de cerca de 31,2 cP. Uma solução 20% (p/v) de glicose (120 mL) foi então adicionada para se obter uma formulação com 10% (p/v) dextrose, 3,3% (p/v) HPC e cerca de 2,5% (p/v) de cloreto de sódio. A dispersão foi aquecida a 60°C por 10 min após a adição de açúcar. O diâmetro médio ponderal de partícula da dispersão final foi de cerca de 4,5 μm , e a viscosidade dispersão foi de cerca de 31 cP. A viscosidade da dispersão foi sensível à ordem em que as soluções foram misturadas. Quando a solução de dextrose foi adicionada após a segunda etapa de aquecimento (60°C por 10 min), a viscosidade da dispersão resultante foi maior (cerca de 55 cP).

Hidrogéis de micropartículas de hidroxipropilcelulose e alginato de sódio (CAS No. 9005-38-3; American International Chemical, Inc., F-200) são sintetizados como se segue. Dez miligramas de HPC (0,080 mmol de grupos hidroxila) foram dissolvidos em 1 mL de água destilada. A esta solução foi adicionado 1 mL de 2,5 M NaOH (2,5 mmol NaOH), 20 mg (0,065 mmol) de trimetafosfato triassódico, 10

mg de alginato de sódio e 2 mg (6,1 mmol) de lecitina de soja. A solução foi agitada completamente. A dispersão foi obtida de forma nublada e se manteve estável mesmo após a adição de algumas gotas de ácido clorídrico concentrado
5 (levando a um pH final de cerca de 2, simulando o ambiente ácido do estômago).

A hidroxipropilcelulose sofre auto-montagem em água a uma temperatura superior a 41°C. Esta temperatura, acima da qual auto-montagem espontânea da cadeia polimérica ocorre,
10 é chamada de temperatura mais baixa solução crítica (LCST). A auto-montagem térmica de HPC é um processo reversível. Cadeias poliméricas individuais que constituem as micropartículas são solvatadas por moléculas de água quando a solução é resfriada abaixo da LCST. A reticulação das
15 cadeias de HPC utilizando-se metafosfato trissódico (TSTMP) impede a dissolução das micropartículas quando as soluções são resfriadas abaixo da temperatura crítica de solução.

Em outra estratégia, a reticulação pode ser alcançada por funcionalização do polissacarídeo utilizando grupos
20 acríloíla (ou metacriloíla) com cloreto de a acríloíla (ou cloreto de metacriloíla). A formação de ésteres de acríloíla obtidos a partir da reação de cloreto de acríloíla com os grupos hidroxila do polissacarídeo (Fig. 11). É importante, no entanto, remover completamente a

reação cloreto de acrilóila do polímero funcionalizado, por causa da toxicidade do cloreto de acrilóila. O HPC funcionalizado com vinila pode então ser reticulado em água, acima da LCST, usando um iniciador de radicais livres-iniciador redox relativamente benigno como o ácido ascórbico e peróxido de hidrogênio, ou um iniciador térmico, como persulfato de potássio.

Assim, 1 g de hidroxipropilcelulose (8 mmol) foi colocado em um balão de fundo redondo equipado com uma barra de agitação magnética e equipado com um septo de borracha. O polímero foi dissolvido em 20 mL de diclorometano anidro para obter uma solução, nublada viscosa. O ar no frasco foi purgado com nitrogênio seco. Cerca de 1 mL (7 mmol) de trietilamina foi injetada no reator, seguido por adição gota a gota de mais de cerca de 520 mL (6,4 mmol) de cloreto de acrilóila. A mistura foi agitada à temperatura ambiente, quando então a solução nublada ficou clara alguns minutos após a adição de cloreto de acrilóila. A solução foi agitada durante a noite, período após o qual o produto de hidroxipropilcelulose acrilatado foi recuperado e purificado por precipitação repetida a frio ($\sim 0^{\circ}\text{C}$) com éter etílico e acetona. O produto foi seco no vácuo a 40°C . Cerca de 40 mg do polímero HPC acrilatado foi dissolvido em 2 mL de água

destilada para obter uma solução nublada em temperatura ambiente. Cerca de 65 mg (200 mmol) de lecitina de soja foi adicionada a esta solução e se dissolveu. A solução de HPC e lecitina de soja foi de-oxigenada por borbulhamento de gás nitrogênio, após o qual 2 mL de uma solução de persulfato de amônio desgaseificados (9,1 mg, 40 mmol) foi injetada. A solução foi aquecida a 70°C por 2 h para obter uma dispersão de partículas reticuladas de hidroxipropilcelulose acrilatada. Os diâmetros de partículas de número médio e peso médio foram 1,28 µm e 1,34 µm, respectivamente.

Numa síntese baseada em emulsão de microgéis de hidroxipropilcelulose, 80 mg de hidroxipropilcelulose acrilatada foi dissolvido em 2 mL de diclorometano. Água destilada (4 mL) foi adicionada a esta solução e agitada para obter uma emulsão. A reticulação da hidroxipropilcelulose acrilatada foi realizada a 35°C usando um sistema de redox de persulfato de amônio e dextrose. Dextrose (21,6 mg, 12 mmol) foi dissolvida na emulsão. Dois mililitros de uma solução de persulfato de amônio (27,4 mg, 0,12 mmol) em água destilada (2 mL) foi injetada na emulsão para iniciar a reação de reticulação. Diclorometano foi removido da dispersão resultante usando

um evaporador rotativo. A dispersão nublada de microgéis de hidroxipropilcelulose acrilatada reticulada foi obtida. As partículas reticuladas se depositaram no fundo do frasco em pé, e poderiam, portanto, ser isoladas em forma de pó por meio de decantação do sobrenadante. A reticulação também podem ser realizada utilizando-se sistemas redox, tais como persulfato/glicose, ácido ascórbico/peróxido de hidrogênio, etc.

Microscopia eletrônica de varredura de uma solução de HPC 400 mg, 100 mg TSTMP e 200 mg NaOH em 10 mL de água, aquecida a 110°C por 2 h, quando a dispersão foi neutralizada com HCl concentrado revelou grandes (~ 1 mm) partículas cúbicas vistas sob SEM. A HPC tem uma baixa temperatura de transição vítrea e facilmente forma uma película sobre o substrato SEM à temperatura ambiente. No entanto, foi difícil uma imagem das nanopartículas usando-se SEM.

EXEMPLO 2

Ainda com relação aos diversos aspectos da invenção detalhados acima, um entendimento básico da importância relativa de carboidratos (CHOS) como fontes de energia é útil no design dos sistemas de apresentação da presente invenção. Formulações de alimentos que podem melhorar a capacidade de resistência e desempenho físico de atletas

têm sido o foco de diversos estudos em ciência de esportes e exercícios.¹ Atletas requerem um fornecimento contínuo de combustível durante o exercício para evitar a fadiga. Proteínas, gorduras e carboidratos têm sido consideradas
5 como importantes componentes da dieta de um atleta,^{2,3} mas a ênfase atual sobre dietas ricas em carboidratos para os atletas tem a sua base em estudos realizados há cerca de 90 anos atrás. Estes estudos iniciais sugeriram uma relação entre a concentração de glicose no sangue e fadiga. Levine
10 e colaboradores, em 1924, descobriram que uma dieta rica em carboidratos, para os participantes de uma maratona de 25 milhas (aproximadamente 40Km) , resultou no desempenho de corrida melhorado (medido como o tempo para completar a corrida) e impediu a hipoglicemia nos corredores.⁴ Por
15 outro lado, Christensen e Hansen mostraram que uma dieta rica em gordura durante o exercício causava hipoglicemia e neuroglucopenia, o que resultou em fadiga severa e exaustão após o exercício.^{5,6,7} Eles descobriram que estes sintomas poderiam ser evitados através de uma dieta de carboidratos
20 antes do exercício.

A importância relativa de carboidratos, gorduras e proteínas como fontes de energia para o exercício, foi elaborado como uma revisão em 1995 por Coyle.⁸ A revisão mais recente, de Jeukendrap, se concentra em carboidratos

como fonte energia.¹ Enquanto o catabolismo protéico geralmente contribui com menos de 5 % da energia necessária para a contração muscular, um carboidrato na forma de glicogênio muscular, glicogênio hepático e glicose no sangue, e gorduras na forma de ácidos graxos e triglicérides de plasma intramuscular, são as principais fontes de energia para o estado de jejum em exercício aeróbico.⁸ O corpo humano armazena uma grande quantidade de energia como gordura ($> 300.000 \text{ kJ}$)^{10,9}, mas a gordura corporal não está prontamente disponível para a oxidação, mesmo durante o exercício moderado. Os músculos oxidam a gordura a taxas suficientemente altas para sustentar a exercícios moderados e de alta intensidade (ou seja, superior a 60% da taxa máxima de consumo de oxigênio, V_{O2max}), e fazer com que o glicogênio muscular e a glicose no sangue sejam fontes primárias de energia durante estes exercícios. A fadiga ocorre quando o glicogênio muscular e as reservas de glicose no sangue se esgotam.

O armazenamento de energia em forma de glicogênio hepático (~ 80 g) é de cerca de 1280 kJ, em glicogênio muscular (~ 400 g) é de cerca de 6400 kJ, e de glicose no sangue, incluindo o teor de glicose do líquido extracelular (~ 10 g) é de cerca de 160 kJ.^{9,11} Assim, um atleta de 80 kg, com uma taxa máxima de consumo de oxigênio de 4,5

L/min, que está realizando um exercício aeróbico intenso em cerca de 80% de $\text{VO}_{2\text{max}}$, vai gastar energia a uma taxa de cerca de 75 kJ/min, causando depleção da reserva de carboidrato endógeno dentro de cerca de 105 min. O atleta
5 não será capaz de oxidar a gordura em taxas suficientes para satisfazer as necessidades energéticas do exercício, mesmo de intensidade moderada (60-75% $\text{VO}_{2\text{max}}$).⁸ Estes fatores devem afetar negativamente o desempenho do exercício, após 105 min. O consumo de carboidratos pode
10 poupar o armazenamento de carboidratos endógenos e evitar a fadiga.

Muitos estudos têm relatado que o consumo de carboidratos antes e durante o exercício pode retardar a fadiga em atletas de alta intensidade durante os
15 exercícios.^{12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23}

Jeukendrup e colaboradores descobriram que um melhor desempenho físico foi observado em estudos em que houve consumo de carboidratos a uma taxa de 40-75 g/h, mas nenhum avanço foi observado quando a taxa de ingestão de
20 carboidratos excedeu 75 g/h.¹ Eles também determinaram que taxas moderadas de ingestão de glicose (35 g/h) durante o exercício suprimiram a produção endógena de glicose, e altos índices de ingestão de glicose (175 g/h) produziram glicose endógena completamente bloqueada.²⁴ Além disso,

eles também descobriram que uma taxa alta oxidação exógena de carboidratos (> 1 g/min) e, portanto, um consumo de glicogênio muscular reduzido foi obtido por uma combinação de glicose e frutose na dieta quando comparado com um de
5 dieta de glicose.²⁵

O consumo de carboidratos pré-exercício aumenta tanto os estoques de glicogênio no fígado e de glicogênio muscular, e por isso é comumente praticado para retardar a fadiga e melhorar o desempenho do exercício.²⁶ No entanto,
10 ele também pode causar um aumento na concentração plasmática de insulina, o que irá aumentar a captação de glicose muscular no início do exercício, mas, posteriormente, levar a uma hipoglicemia.²⁶ Febbraio e colaboradores demonstraram que pré-ingestão de carboidratos
15 em exercícios é benéfica somente quando a ingestão de carboidratos é mantida durante todo o exercício.²⁶ A ingestão contínua de CHO pode não ser conveniente para os atletas. A maioria dos estudos na literatura empregam um método por via intravenosa para a ingestão contínua de CHO,
20 ou exigem que os participantes consumam CHO em bolus a cada 10-15 minutos. Ambos não são práticos. Formulações disponíveis no mercado não são capazes de apresentação sustentada de CHO. Como aqui descrito, os inventores desenvolveram uma ou mais formulações que podem oferecer

apresentação sustentada de CHOS.

A maior concentração de insulina plasmática também afeta negativamente o catabolismo de gordura.

A captação, mobilização e oxidação de ácidos graxos
5 determina a utilidade da maior reserva de energia no corpo humano - triglicérides do tecido adiposo - como fonte de energia para os músculos durante o exercício.^{9,10} Os triglicérides de tecido adiposo devem primeiro ser hidrolisados pela enzima lipase para liberar ácidos graxos
10 livres na corrente sanguínea para a absorção por músculos em uso. Triglicérides intramusculares também podem sofrer lipólise e agem como uma fonte de ácidos graxos para oxidação na mitocôndria. Em exercícios de intensidades baixa (<25% V_{O2max}) e em jejum, quase toda a energia
15 necessária para o exercício é derivada de ácidos graxos no plasma. A oxidação da gordura pode fornecer até 50% da energia necessária para o exercício a 70% V_{O2max} (com cerca de contribuição igual por parte de ácidos graxos e triglicérides de plasma intramuscular), e menos de um terço
20 da energia necessária para o exercício de duração mais extenuante, de 10 a 30 min. Após a depleção de glicogênio muscular, a capacidade do músculo oxidar a gordura é limitada a uma taxa de utilização de energia de cerca de 50% V_{O2max} .

A disponibilidade de ácidos graxos plasmáticos para a oxidação pelos músculos diminui à medida que a intensidade do exercício é aumentada, possivelmente devido a vasoconstrição estimulada por catecolaminas nos vasos sanguíneos do tecido adiposo¹⁰, insuficiente fluxo sanguíneo do tecido adiposo e, portanto, apresentação insuficiente de albumina e ácidos graxos a partir de tecido adiposo para o funcionamento do tecido muscular.⁹ A capacidade limitada do músculo em oxidar a gordura também tem sido atribuída à etapa de limitação da taxa de transporte de carnitina palmitoiltransferase estimulada de ácidos graxos através da membrana mitocondrial.⁸ A presença de carboidratos no músculo é conhecida por reduzir a oxidação de gordura e o transporte de gordura através da membrana mitocondrial. Aumentos na concentração plasmática de insulina devido ao consumo de CHO pré-exercício reduz a lipólise²⁷ e a disponibilidade de gordura²⁸, e afeta negativamente o desempenho do exercício. Mesmo um aumento muito pequeno na concentração plasmática de insulina pode suprimir a taxa lipolítica em mais de 50% abaixo do nível basal.¹⁰

Coyle demonstrou que quando o carboidrato foi ingerido durante todo o exercício, em 74% V_{O2max} , de modo que a concentração de glicose na corrente sanguínea manteve-se

elevada, o uso de glicogênio muscular foi mínimo durante os últimos estágios do exercício (período de 3 a 4 h), indicando que a glicose no sangue foi a fonte predominante de carboidratos durante este período.⁸ Outros estudos
5 mostraram que o glicogênio muscular não é necessário para o exercício.²⁹

A absorção de CHO do intestino delgado para a circulação sistêmica é o fator limitante no uso de glicose exógena como fonte de energia durante o exercício. A taxa
10 máxima na qual a glicose exógena pode ser oxidada durante o exercício é de cerca de 1 g/min.²¹

Carboidratos, como glicose, sacarose e maltodextrina, com índices glicêmicos altos são igualmente eficazes na manutenção da glicemia e oxidação de carboidratos e melhoram
15 o desempenho em exercícios.⁸ A ingestão de frutose normalmente não é eficaz para melhorar o desempenho em comparação com a glicose ou a sacarose por causa do ritmo relativamente lento em que o fígado converte a frutose em glicose. Ingestão de frutose resultou em um aumento de 4
20 vezes no armazenamento de glicogênio hepático que comparado à glicose.³⁰ Enquanto a frutose é predominantemente metabolizada no fígado, a glicose ignora o fígado e é armazenada ou oxidada pelos músculos. Jandrain e colaboradores descobriram que, quando ingerida

repetidamente durante exercícios de intensidade moderada prolongada, a frutose é metabolicamente menos disponível do que a glicose, apesar de uma alta taxa de conversão para glicose circulante.³¹ Recentemente, Jeukendrup e
5 colaboradores descobriram que a ingestão de quantidades moderadas de glicose e frutose não aumenta a oxidação de CHO exógeno acima de uma quantidade isocalórica de glicose sozinha.³²

No entanto, outros estudos têm mostrado que a taxa de
10 oxidação de CHO exógeno pode ser aumentada usando-se uma mistura de monossacarídeos diferentes (por exemplo, glicose, frutose e sacarose)³³. Jentjens e colaboradores descobriram que quando a glicose é ingerida a uma taxa de 1,8 g de glicose por minuto, a taxa de oxidação de CHO
15 exógeno foi limitada a 0,83 g/min.³⁴ Por outro lado, quando uma mistura de glicose e frutose foi ingerida, uma taxa de oxidação total de CHO exógeno de 1,26 g/min poderia ser alcançada - um aumento de 52%. Um estudo anterior de Adopo e colaboradores tinha mostrado que a ingestão de uma
20 mistura de glicose e frutose resultou em maiores taxas de oxidação exógena de CHO a partir de uma quantidade isocalórica de glicose.³⁵ A taxa de oxidação da glicose exógena e de frutose foi 21% maior do que a taxa, quando somente glicose foi consumida. Considerando que

monossacarídeos diferentes são transportados através do lúmen intestinal por proteínas de transporte específicas, uma mistura de monossacarídeos pode resultar em uma maior aceitação geral, por células, de um único carboidrato. Por exemplo, enquanto glicose e galactose são transportadas através das membranas celulares intestinais por uma proteína de transporte chamada de transportador de glicose sódio dependente (SGLT1), a frutose é transportada por uma proteína de transporte diferente, chamada transportador de glicose 5 (GLUT5). Em princípio, o fornecimento de uma mistura 1:1 de moléculas de glicose e frutose irá reduzir o tráfego na via de transporte por SGLT1 em um fator de 2, em comparação com o caso em que apenas moléculas de glicose são fornecidas. Embora a taxa líquida de absorção de CHOs possa ser aumentada com a utilização de uma mistura de glicose e frutose, a frutose pode não estar imediatamente disponível como fonte de energia, por causa do ritmo relativamente lento de conversão hepática de frutose em glicose.

20 A taxa de fluxo sanguíneo para o intestino delgado também pode ser um fator limitante na absorção de CHOs. Há uma diminuição significativa na taxa de fluxo de sangue para intestino delgado durante o exercício de alta intensidade (conforme a Tabela 4)³⁶. A razão para uma taxa

de oxidação limitanda de glicose exógena durante o exercício também pode ser devido à taxa reduzida do fluxo sanguíneo para o intestino grosso. Também é provável que a síntese hepática de glicogênio e glicogenose não permitam
 5 uma produção de glicose maior do que cerca de 1,0 g/min, independentemente da taxa de abastecimento a partir do intestino delgado.

Tabela 4. Distribuição do fluxo sanguíneo durante repouso e exercício dinâmico em um atleta

	Repouso		Exercício dinâmico	
	mL/min	% de resposta cardíaca total	mL/min	% de resposta cardíaca total
Esplâncnico (gástrico, do intestino delgado, cólon, pancreático, hepático e esplênico) ³⁷	1,4	24	0,3	1
Renal	1,1	19	0,9	4
Cerebral	0,75	13	0,75	3
Coronária	0,25	4	1	4
Músculo esquelético	1,2	21	22	86
Pele	0,5	9	0,6	2
Outros	0,6	10	0,1	0,5
Resposta cardíaca total	5,8	100	25,65	100

Pfeiffer, B. e colaboradores, Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. (2009) 19 (5) :485-503 discutem o efeito de géis de carboidrato sobre a tolerância gastrointestinal. Hultson, C. e colaboradores, Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. (2009) 19 (3):275-284 mostram que não há efeito placebo da ingestão de carboidratos durante o exercício prolongado. Currel, K. e colaboradores, Med. Sci. Sports Exerc. (2008) 40 (2):275-281 reportam o desempenho de resistência com a ingestão de mais de um carboidrato.

10 MÉTODOS EXPERIMENTAL

Micropartículas de polímeros sensíveis a temperatura, tais como hidroxipropilcelulose (HPC), foram preparados por aquecimento de uma solução aquosa do polímero acima de sua temperatura inferior de solução crítica. As cadeias poliméricas dentro das partículas foram covalentemente reticuladas utilizando-se o reagente aprovado pelo FDA trimetafosfato trissódico (TSTMP), para obter hidrogéis em micropartículas. As partículas foram carregadas com dextrose (D-glicose) e as taxas de liberação de dextrose encapsulada foram estudadas para as formulações com diferentes composições químicas e concentrações de partículas. O açúcar que estava presente nas partículas de hidrogel inchadas com água se mostraram disponíveis para liberação retardada. O restante do açúcar estava presente

na fase aquosa, e estava disponível para a absorção imediata em todo o lúmen intestinal. As micropartículas de hidrogel foram revestidas com polímero pH-responsivo e mucoadesivo, como alginato de sódio, para fornecer uma
5 barreira de difusão contra a liberação gástrica. Tanto as cinética de liberação *in vitro* quanto *in vivo* (menos duas diferentes taxas de gasto de energia) foram determinadas experimentalmente. Perfis de concentração de glicose *versus* tempo para as formulações de liberação retardada da
10 presente invenção mostram diferenças e claras vantagens sobre as formulações de liberação imediata convencionais disponíveis no mercado, e outros controles.

MATERIAIS

Hidroxipropoilcelulose (HPC-SL, grau USP) foi obtida
15 de Nippon Soda Co. Ltd. Lecitina de soja refinada foi adquirida de MP Biomedicals Inc., LLC (catálogo no. 102147). Polímeros de sódio alginato (alginato de sódio NF, F-200, SAHMUP e alginato de sódio NF, SALMUP) foram obtidos de American International Chemical, Inc.

20 Trimetafosfato triissódico (TSTMP, grau reagente) e hidróxido de sódio (grau de reagente, > 98%) foram adquiridos de Sigma-Aldrich. As enzimas glicose oxidase/peroxidase (cápsulas de enzima PGO, produto No. P7119), dicloridrato de o-dianisidina (catálogo, No.

D3252), dextrose (catálogo, No. D9434) e ácido clorídrico (37%, catálogo, No.320331) foram obtidos a partir de Sigma-Aldrich. Amido Thin-N-Thik® 99 e amido Resista® 682, ácido cítrico anidro, dextrose Staleydex® 333 e frutose cristalina Krystar® 300 foram obtidas de Tate & LyLe. Lecitina de soja em grau alimentício UltraLec® P Deoiled Lecithin foi obtida de Archer Daniels Midland Company. O tensoativo de qualidade alimentar, éster de ácido diacetil tartárico monoglicerídeo (DATEM, Panodan ® 150 LP KA) foi obtido de Danisco. Hidróxido de sódio (grau FCC) foi adquirida de VWR. Benzoato de sódio (grau FCC) foi adquirido de Fischer Scientific. Sorbato de potássio de grau alimentício e trimetafosfato trissódico foram adquiridos da Spectrum Chemical Mfg. Corp. Todos os produtos químicos foram usados sem purificação adicional. Uma bebida esportiva comercial amplamente utilizada, GATORADE®, foi utilizada como controle positivo para os experimentos *in vivo*. GATORADE® é composto de água, xarope de milho rico em frutose (xarope de glicose-frutose), xarope de sacarose, ácido cítrico, sabor natural, sal, citrato de sódio, fosfato de potássio, amido modificado, corante vermelho #40 e éster de glicerol de breu. A concentração de açúcar total é de 5,83% (p/v). O sódio e o potássio tem concentrações de 0,45 mg/mL e 0,125 mg/mL,

respectivamente.

Hidroxipropilcelulose (HPC)

Hidroxipropilcelulose é um polímero sensível a temperatura. Quando aquecido acima da temperatura inferior de solução crítica (LCST) da solução de polímero, as cadeias de polímero hidratado perdem água por causa da interrupção térmica das ligações de hidrogênio do polímero em água. As cadeias poliméricas precipitam para fora da solução, como elas se tornam hidrofóbicas, para formar micropartículas. Formação de partículas por interação hidrofóbica é reversível - as moléculas de polímero tornam-se novamente solúveis quando a dispersão é resfriada abaixo da LCST. O efeito de diferentes aditivos sobre a temperatura inferior de solução crítica de uma solução aquosa de HPC foi determinada utilizando-se Calorimetria Exploratória Diferencial. A LCST de uma solução aquosa de HPC (8% p/v) foi de 48⁰C. Quando 4 mL de 3,2% (p/v) de solução de lecitina de soja foi adicionada a uma solução 8% (p/v) de HPC (10 mL), nenhuma mudança na LCST foi observada. Quando 3 g de solução TSTMP em água (1,77% p/v) foi adicionada à solução contendo HPC e lecitina de soja, a LCST diminuiu para 37⁰C. Finalmente, 0,5 g de uma solução de hidróxido de sódio 1,36% p/v foi adicionada e a dispersão foi aquecida por 1 hora a 50⁰C, com agitação a

300 rpm. Um precipitado sólido de partículas de polímero foi observado após 1 h de aquecimento, que poderia ser facilmente re-disperso após o resfriamento à temperatura ambiente. O pH da dispersão foi ajustado até cerca de 7 por
5 adição de 40 mL de ácido clorídrico 4 N. Dextrose (1,75 g) foi adicionada à dispersão e foi dissolvida por agitação. O LCST do HPC reticulado em dispersão, após a adição de dextrose, foi cerca de 32°C. A partir destas medições do efeito de aditivos sobre a LCST do HPC, é evidente que a
10 formação de partículas ocorre mesmo sem o uso de um reticulador. A reticulação química é, no entanto, desejável para manter a integridade das partículas em uma ampla faixa de força iônica, temperatura e condições de pH.

O grau de substituição (DS) e de substituição molar
15 (MS) são parâmetros importantes que afetam a formação de partículas em dispersões e reticulação de HPC. Cada unidade de glicose na molécula de celulose tem três grupos hidroxila. O grau de substituição é definido como o número médio de grupos hidroxila por unidade de anidroglicose que
20 reagiram com o óxido de propileno.³⁸ Portanto, o grau de substituição é sempre menor ou igual a três. A substituição molar é definida como o número médio de moléculas de óxido de propileno que reagiram por unidade de glicose. A substituição molar é geralmente maior do que o grau de

substituição, e pode ser maior que 3. A relação de substituição molar para grau de substituição dá o comprimento médio das cadeias laterais de hidroxipropila ($x + 1$, conforme a Figura 12), no polímero.

5 Com base na estrutura do polímero HPC, mostrada na Figura 12, é evidente que o peso molecular médio de cada unidade de repetição do polímero é igual a $(162,15 + 58,08 \cdot MS)$. Cada unidade de repetição tem três grupos hidroxila. Assim, o número de moles de grupo hidroxila por grama do polímero HPC é dada por $3/(162,15 + 58,08 \cdot MS)$. Para HPC-SL, o grau de substituição é 1,9, e a substituição molar é de cerca de 2.1. Assim, a concentração de grupos hidroxila é cerca de 10,6 mmol por grama do polímero.

Síntese da dispersão

15 Na temperatura de reação de 50°C , as cadeias de HPC foram agregadas para formar micropartículas. As cadeias individuais de polímero nas partículas foram covalentemente reticuladas por meio da reação mostrada na Figura 13. No final da reação, as partículas foram depositadas no fundo do frasco. Elas poderiam, no entanto, ser facilmente re-dispersas por agitação suave, após o resfriamento à temperatura ambiente.

Um sistema QI 150-77 de pH/mV/Temperatura (Instrumentos Científicos QI), com um sensor de uso geral

de aço inox de sonda ISFET foi usado para medições de pH. Tamanhos de partículas em dispersões foram medidos usando um aparelho ALV-NIBS High Performance Particle sizer. Microscopia eletrônica de varredura foi feita usando um
5 microscópio de varredura eletrônica JEOL JSM 6300. Uma gota da amostra foi seca ao ar em uma canaleta de alumínio até cerca de 12 horas à temperatura ambiente. As partículas foram secas por pulverização catódica, revestidas com uma camada condutora de ouro antes da análise SEM. As
10 viscosidades das dispersões foram determinadas utilizando-se um viscosímetro Ubbelohde (Cannon instruments Co., tamanho 1C). O tempo necessário para o líquido eluir entre dois pontos credenciados no viscosímetro foi medida utilizando-se um cronômetro, e a viscosidade da formulação
15 foi calculada como um produto da "constante de viscosímetro", da densidade determinada experimentalmente do líquido e do tempo de eluição. Calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi realizada utilizando-se um Calorímetro diferencial de varredurade de TA Instruments.
20 As medições de DSC foram feitas em uma atmosfera inerte de nitrogênio de ultra alta pureza. Painelas de alumínio PerkinElmer (# 02190062) foram utilizadas tanto para a amostra quanto para a referência. As amostras foram aquecidas a 75°C, mantidas nesta temperatura por 1 minuto,

e depois resfriadas a 20°C a uma taxa de 10° C/min. A diferença no fluxo de calor entre a amostra e a referência foi medida para obter o termograma DSC.

A cinética de liberação *in vitro* de glicose
5 encapsulada em micropartículas do hidrogel, foi determinada utilizando célula de difusão horizontal PermeGear Side-Bi-Side. A célula de difusão consistia de uma câmara doadora e receptora separadas por uma membrana. A membrana foi colocada entre as duas câmaras e as câmaras foram mantidas
10 em conjunto com uma pinça de aço inoxidável. As câmaras doadora e receptora tinham um volume de 7 mL cada, e o diâmetro do orifício era de 15 mm. As câmaras doadoras e receptoras foram cercadas por jaquetas, através das quais a água de um banho de água com temperatura controlada foi
15 passada. Para os experimentos de liberação cinética que são detalhados neste documento, uma membrana de poliéterssulfona foi usada, por conta de sua hidrofília e resistência a ácidos. Membranas de poliéterssulfona com tamanho dos poros corridos de 450 e 25 mm de diâmetro foram
20 adquiridas de Sterlitech Corporation. O conjunto de célula de difusão foi montado em uma placa de agitação magnética. O conteúdo da câmara receptora foi agitado usando uma barra de agitação magnética. O conteúdo da câmara doadora permaneceu em repouso. Para a determinação da concentração

de glicose em função do tempo, 100 µL de amostras foram retiradas da câmara utilizando uma micro-seringa e substituídas por um volume igual de água destilada.

As concentrações de glicose nos experimentos *in vitro* foram determinadas utilizando-se um método colorimétrico de glicose oxidase, seguindo um protocolo de Sigma-Aldrich.³⁹ A solução de glicose enzima oxidase/peroxidase foi preparada pela dissolução de 1 cápsula de enzimas Sigma PGO em 100 mL de água em um frasco âmbar. Cada cápsula continha 500 unidades de glicose oxidase (*Aspergillus niger*), 100 unidades purpurogalina de peroxidase (*horseradish*) e sais de tampão. O frasco foi invertido várias vezes com agitação suave para dissolver a cápsula. A solução de o-dianisidina foi preparada pela dissolução de 50 mg de dicloridrato de o-dianisidina em 20 mL de água. A solução de reação PGO-enzimas foi preparada misturando-se 100 mL da solução enzimática PGO e 1,6 mL da solução de dicloridrato de o-dianisidina. A solução foi misturada por inversão várias vezes ou com agitação suave. Um padrão de glicose de 0,05 mg/ml em água foi preparado. A amostra contendo glicose foi adicionada à solução de reação PGO-enzimas. A reação foi deixada seguir para sua conclusão em cerca de 45 minutos em temperatura ambiente. A absorbância final foi medida usando um espectrofotômetro PerkinElmer Lambda 650 UV-vis em 450

nm. A concentração de glicose da amostra foi determinada como segue:

$$\text{Concentração da amostra de glicose (mg/mL)} = (\text{Absorbância (Teste)} \times \text{diluição da amostra} \times 0,05 \text{ mg/mL}) / \text{Absorbância (padrão)}$$

A Figura 14 mostra o esquema de reação enzimática para a determinação de glicose.

A glicose é oxidada em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio pela glicose oxidase (Figura 14). O peróxido de hidrogênio reage com a o-dianisidina na presença de peroxidase para formar um produto colorido. A intensidade da cor marrom medida a 450 nm é proporcional à concentração de glicose no original.

Na cinética de liberação *in vivo*

Um biosensor de glicose no sangue OneTouch Ultra comercializado por LifeScan foi usado para determinar a concentração de glicose no sangue. O OneTouch Ultra Blood Glucose Monitoring System utiliza avançadas tiras de teste de biosensor eletroquímico, que exigem apenas 1 µL de sangue e de 5 s para análise de concentração. As tiras de teste foram projetadas para automaticamente puxar o sangue na tira de teste.

Para o braço em repouso do estudo, o sujeito foi instruído a:

1. Evitar exercícios vigorosos durante 24 h antes do experimento.

2. Passar uma noite em jejum, durante pelo menos 10 h, antes do experimento.

5 3. Enquanto sentado, tirar sangue e ter o mesmo analisado utilizando uma mola convencional carregada em uso com único lance e um medidor de glicose portátil com a finalidade de determinar a concentração de glicose no sangue. Medidas iniciais foram obtidas e registradas até
10 três vezes em 45 min para estabelecer um nível de glicose basal.

4. Consumir 400 mL de formulação de teste, água (controle), solução de dextrose aquosa ou GATORADE® (controle positivo) dentro de aproximadamente 2 min.

15 5. Ainda sentado, tirar sangue e ter o mesmo analisado para a concentração de glicose no sangue usando o medidor de glicose portátil. As medidas foram obtidas e registradas normalmente a cada 5 min nos primeiros 90 min, e depois a cada 15 minutos até 240 minutos, para obter a concentração
20 de glicose no sangue *versus* perfil de tempo.

Depois de subtrair o valor de estado de jejum (base) a partir das concentrações de glicose no sangue, que foram medidas em tempos diferentes, a área sobre os perfis de concentração *versus* tempo sendo determinadas pela regra

trapezoidal usando um código Matlab simples.

Uma esteira Precor Model 966i, ou similar, foi utilizada para os estudos de exercício dinâmico. No braço em exercício do estudo, o sujeito foi instruído a:

5 1. Evitar exercícios vigorosos nas 24 h antes do experimento.

2. Passar uma noite em jejum, durante pelo menos 10 h, antes do experimento.

10 3. Entrar nas instalações de teste e sentar-se confortavelmente por até 45 min.

4. Sentado, tirar sangue e ter o mesmo analisado utilizando uma mola convencional carregada em uso com único lance e um medidor de glicose portátil com a finalidade de determinar a concentração de glicose no sangue. Medidas
15 iniciais foram obtidas e registradas até três vezes em 45 min para estabelecer um nível de glicose basal.

5. Após o estabelecimento do nível de glicose basal, correr em uma esteira em uma velocidade de aproximadamente 8,05 km/h ($\sim 60\% V_{O2max}$) por até 15 min. Em pontos de tempo
20 prescritos o sujeito foi solicitado a: brevemente parar de correr; tirar sangue e ter o mesmo analisado utilizando uma mola convencional carregada em uso com único lance e um medidor de glicose portátil com a finalidade de determinar a concentração de glicose no sangue, e logo voltar a correr

até a conclusão do período de aquecimento. Medidas iniciais foram obtidas e registrados até três vezes em 15 minutos para estabelecer uma concentração de glicose basal de exercício. Imediatamente após o período de aquecimento,
5 consumir 400 mL de formulação de teste dentro de aproximadamente dois minutos.

6. Voltar a correr no ritmo anterior e no tempo prescrito, quando o sujeito foi solicitado a: brevemente parar de correr, tirar sangue e ter o mesmo analisado
10 utilizando uma mola convencional carregada em uso com único lance e um medidor de glicose portátil com a finalidade de determinar a concentração de glicose no sangue e imediatamente voltar a correr após cada coleta, até a conclusão do exercício. O sujeito foi instruído a correr no
15 ritmo pré-definido pelo o maior tempo possível (até 195 min). As medidas foram obtidas e registradas em uma base regular para obter a concentração de glicose no sangue versus perfil de tempo.

Depois de subtrair o valor de base a partir das
20 concentrações de glicose no sangue, que foram medidas em tempos diferentes, a área sobre os perfis de concentração vs tempo foi determinada.

Exemplo 2.1

Hidroxipropilcelulose (HPC-SL, 4 g) foi dissolvida em

50 g de água destilada em um frasco Erlenmyer de 250 mL, à temperatura ambiente, usando um agitador magnético. Para a solução HPC, no frasco Erlenmyer, uma solução aquosa de lecitina de soja foi adicionada, e a mistura foi agitada por 5 min até que uma solução homogênea amarela pálida fosse obtida. A esta solução, uma solução aquosa de TSTMP foi adicionada em três alíquotas, com agitação, por 2 min entre cada adição. A nebulosidade da formulação aumentou após a adição de TSTMP, indicando a formação de partículas.

10 Finalmente, uma solução aquosa de hidróxido de sódio foi adicionada e a dispersão foi agitada por 5 min. O pH da dispersão foi medido usando um medidor de pH e foi de cerca de 11,6. A formulação resultante foi aquecida por 2 h em um banho de água mantido a 50°C usando uma placa de aquecimento (Corning PC Instruments 620D) e agitada a 300 rpm com um agitador magnético. Um precipitado sólido foi formado durante a reação. O frasco Erlenmyer foi retirado do banho-maria, deixado resfriar à temperatura ambiente e misturado com um agitador magnético até que o precipitado sólido formado durante a reação fosse re-disperso para formar uma dispersão uniforme e homogênea. O pH da dispersão foi medido como sendo 10,9. O pH da dispersão foi ajustado para 7,8 utilizando-se uma solução de HCl 4 N (~30 a 50 mL). Dextrose em pó (8,95 g) foi então adicionada e a

mistura foi agitada à temperatura ambiente por 5 min até que o sólido tivesse sido dissolvido. A dispersão foi aquecida novamente, a 50°C, durante 20 min, enquanto misturada a 300 rpm. O precipitado formado foi re-disperso com um agitador magnético, após o resfriamento à temperatura ambiente.

Exemplo 2.2

Dez mililitros de solução 8% (p/v) de HPC foram colocados num frasco de vidro, agitados com um agitador magnético (300 rpm) e barra de agitação (5 mm x 2 mm L D), uma solução aquosa de lecitina de soja foi adicionada ao frasco. A esta solução, uma solução aquosa de TSTMP foi adicionada gota a gota, com agitação contínua. Finalmente, 0,5 mL de solução de NaOH foi adicionado e a solução resultante foi aquecida a 50°C por 1 h. Após 1 hora, a mistura foi resfriada. Um sólido branco foi depositado no fundo da solução. As micropartículas na fase sólida foram re-dispersas na mistura a 200 rpm (em temperatura ambiente, por cerca de 1 h), para resultar em uma solução homogênea clara. A dispersão assim obtida foi neutralizada com alguns microlitros da solução de HCl 4 N. A concentração final de HPC na dispersão foi de cerca de 4,4% (p/v). Dextrose em pó (1,85 g) foi adicionada a 18,5 mL de uma dispersão de HPC de 4,4% (p/v). A dispersão foi agitada até a dissolução da

dextrose ser completa. Pelo menos 48 h antes de preparada, os estudos de liberação foram realizados.

5 Micropartículas de hidroxipropilcelulose, com um diâmetro médio de cerca de 5,4 μM , foram obtidas (conforme as Figuras 15a e 15b). A viscosidade da dispersão de HPC 4,4% (p/v) foi determinada como sendo 15,46 cP em temperatura ambiente (antes da adição de dextrose). As poucas partículas com diâmetro superior a 5,4 μM (conforme a Figura 15c) foram observadas nas imagens SEM.

10 **Exemplo 2.3**

Polissacarídeos como o amido de grau alimentício hidrofobicamente modificado (amido Thin-N-thik ® 99 e amido RESISTA ® 682) foram usados para formar as micropartículas de hidrogel. Uma solução de amido a 8% (p/v) foi preparada
15 dissolvendo-se 800 mg de amido em 10 mL de água destilada à temperatura ambiente para obter uma dispersão nublada mas homogênea. Soluções de lecitina de soja refinada, TSTMP e hidróxido de sódio foram preparadas em água destilada. A 10 mL da dispersão de amido colocadas num frasco de vidro, 4
20 mL da solução de lecitina de soja foi adicionada e a mistura foi agitada por 5 min. A esta mistura foi adicionado 3 mL de solução TSTMP. Após agitação por 5 min, 0,5 mL de solução de hidróxido de sódio foi adicionada. O

frasco de vidro foi colocado em banho de óleo a 50°C e aquecido por 60 min. Agitação foi fornecida com um agitador magnético em velocidade de 300 rpm e foi mantida durante a reação. Após 60 min, o frasco foi removido do banho de
 5 óleo, deixado resfriar à temperatura ambiente e o pH foi ajustado a 7, com alguns microlitros de solução de ácido clorídrico 4 M. Os tamanhos de partículas das dispersões resultantes são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Tamanhos de partículas em dispersões de amido
 10 hidrofobicamente modificado.

Tipo de amido	Diâmetro de partícula massa média (nm)
Thin-N-Thik® 99	898
Resista ® 682	681,4

Exemplo 2.4

A seguinte formulação foi sintetizada em um reator de vidro de 2 litros com água destilada e produtos químicos de grau alimentício. Soluções estoque de alginato de sódio
 15 (SALMUP), lecitina de soja, trimetafosfato trissódico, hidróxido de sódio, ácido cítrico e dextrose foram preparadas em água destilada. A solução estoque de benzoato de sódio e sorbato de potássio foi preparada dissolvendo-se benzoato de sódio e sorbato de potássio em 250 mL de água
 20 destilada. A reação foi realizada em um frasco de estilo europeu, cônico, de 3 bocas, revestido (Chemglass, catálogo

No. CG-1576 - 11.), de 2 litros de capacidade. O conteúdo do reator foi misturados utilizando um agitador de topo (IKA ® RW-20) que consiste de um eixo de vidro polido (Chemglass, o catálogo não. CG-2078-02) anexado a uma
5 lâmina agitadora de teflon (Chemglass, catálogo No. CG-2080). Um banho de água de recirculação foi utilizado para controlar a temperatura da água que passa através do revestimento do reator.

Um litro de água destilada foi vertido no reator
10 através de uma saída lateral do balão utilizando-se um funil de silicone. A velocidade do agitador foi fixada em 260 rpm. A água fluindo através da jaqueta do reator estava à temperatura ambiente. Cerca de 100 g de HPC-SL em pó foram adicionadas lentamente ao reator através do funil de
15 silicone, durante um período de 20 min, e misturadas por cerca de 60 min para obter uma solução homogênea (clara) de HPC. Uma solução de lecitina de soja foi adicionada ao reator. Após a mistura, por cerca de 5 min, a solução TSTMP foi adicionada e o conteúdo do reator foi ainda misturado
20 por 5 min. Finalmente, hidróxido de sódio foi adicionado ao reator e misturado. O pH da solução resultante foi medido, em cerca de 11,1.

A temperatura do banho de água foi definida como 50°C. Após a temperatura do banho de água chegou a 50°C, o

conteúdo do reator foi aquecido nesta temperatura durante 90 min. Após os 90 min, um sólido branco precipitou para o fundo do reator. A água quente da jaqueta do reator foi drenada e o conteúdo do reator foi resfriado por circulação de água fria ($\sim 10^0\text{C}$). O conteúdo do reator foi misturado por cerca de 1 h, quando os sólidos precipitados foram re-dispersos na fase aquosa para resultar em uma dispersão homogênea. O pH da dispersão foi medido e constatado com 10,3.

10 O pH foi ajustado a 7 com a adição da solução de ácido cítrico. Então, 400,1 g de solução de dextrose (100% p/v) foi adicionada ao reator e os conteúdos foram misturados durante cerca de 10 min. Finalmente, a solução de alginato de sódio foi adicionada através do funil. Qualquer alginato de sódio que tivesse permanecido ao funil foi lavado no reator usando 33 g da solução de dextrose. Após 10 min de mistura, uma solução contendo benzoato de sódio e solução de sorbato de potássio foram adicionadas. O pH da dispersão foi baixado para 3,8 usando solução de ácido cítrico.

20 O número médio de diâmetro das partículas na dispersão foi de cerca de 4,1 micrômetros, o diâmetro médio de massa foi cerca de 4,3 μM . A viscosidade da dispersão foi de cerca de 32,2 cP. O pH foi cerca de 3,8. A densidade em temperatura ambiente foi de cerca de 1,2 g/mL. Uma parte da

dispersão original do Exemplo 2.4 foi diluída pela adição de uma massa igual de água para obter a dispersão diluída, cuja viscosidade foi de 11,7 cP.

Exemplo 2.5

5 Utilizando-se o mesmo procedimento descrito acima, outro lote de formulação foi sintetizado e dividido em quatro partes. Cada uma destas continha quantidades diferentes dos açúcares dextrose e frutose. A composição global, o tamanho de partícula e a viscosidade das amostras
10 são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Formulações de liberação retardada contendo dextrose e frutose. O símbolo "√" indica que a composição contém o componente.

Componente	2.5A	2.5B	2.5C	2.5D
Água destilada	√	√	√	√
Dextrose + frutose / %	5,1	5,1	5,1	5,1
Dextrose + frutose	1/3	3/1	1/1	1/10
Hidroxipropilcelulose (HPC-SL) / %	2,6	2,6	2,6	2,6
Alginato de sódio (SALMUP)	√	√	√	√
Lecitina de soja	√	√	√	√
TSTMP	√	√	√	√
NaOH	√	√	√	√
ácido cítrico	√	√	√	√
Benzoato de sódio	√	√	√	√
sorbato de potássio	√	√	√	√

pH final	3,8	3,8	3,8	3,8
Diâmetro de partícula, média de número/ μm	4,66	4,56	4,16	4,90
Diâmetro de partícula, média de massa/ μm	4,94	4,62	4,44	4,96
Viscosidade em temperatura ambiente/cP	13,7	12,5	12,4	12,4

Exemplo 2.6

As soluções aquosas de lecitina de soja, trimetafosfato trissódico (TSTMP), hidróxido de sódio e alginato de sódio foram preparadas por dissolução dos compostos, respectivamente, em água destilada. Ácido

5 cítrico anidro também foi dissolvido em água destilada. Uma solução de benzoato de sódio e sorbato de potássio em água também foi preparada dissolvendo-se benzoato de sódio e sorbato de potássio em água destilada. Além disso, uma

10 solução de dextrose em água foi preparada dissolvendo-se 151 g de dextrose em 172 g de água destilada.

A síntese das micropartículas de hidrogel foi realizada em um frasco de estilo europeu, cônico, de 3 bocas, revestido (Chemglass, catálogo No. CG-1576-1511), de

15 2 litros de capacidade. O conteúdo do reator foi misturados utilizando um agitador de topo (IKA ® RW-20) que consiste

em um eixo de vidro polido (Chemglass, catálogo No. CG-2078-02) anexado a uma lâmina agitadora de teflon (Chemglass, catálogo No. CG-2080). Um banho de água de recirculação foi utilizado para controlar a temperatura da
5 água que passa através do revestimento do reator.

Água destilada (750 g) foi vertida no reator através de uma boca lateral do balão, utilizando-se um funil de silicone. A velocidade do agitador foi fixada em 265 rpm. Água à temperatura ambiente foi re-circulada através do
10 revestimento do reator. Uma massa de 75,2 g de HPC-SL em pó foi adicionada lentamente à água no reator usando-se um funil de silicone, durante um período de 20 min, e misturada por cerca de 60 min para obter uma solução homogênea de HPC. Solução de lecitina de soja foi
15 adicionada ao reator. Após a mistura por 5 min à temperatura ambiente, a solução de TSTMP foi adicionada e o conteúdo do reator foi ainda misturado por 5 min. Finalmente, hidróxido de sódio foi adicionado ao reator e misturado. O pH da solução resultante foi medido em cerca
20 de 11,1.

A temperatura do banho de água foi elevada a 50°C. Após a temperatura do banho de água chegar a 50°C, o conteúdo do reator foi aquecido a esta temperatura durante 90 min.

Após os 90 min, um sólido branco precipitou para o fundo do reator. A água quente a partir da jaqueta do reator foi drenada e o conteúdo do reator foi resfriado por circulação de água fria.

5 O conteúdo do reator foi misturado por cerca de 1 h, quando os sólidos precipitados foram re-dispersos na fase aquosa para produzir uma dispersão homogênea. O pH da dispersão foi medido e constatado como sendo de 10,3.

10 O pH foi ajustado em 6,5 pela adição de solução de ácido cítrico. Então, 320 g de solução de dextrose foi adicionada à dispersão e misturada por 10 min. Finalmente, a solução de alginato de sódio foi adicionada através do funil. Qualquer alginato de sódio que tenha permanecido aderido ao funil foi lavado no reator usando 33 g solução
15 de dextrose. Após 10 min de mistura, benzoato de sódio e solução de sorbato de potássio foram adicionados. O pH da dispersão foi baixado para 3,8 usando-se solução de ácido cítrico. O número médio de diâmetro das partículas na dispersão foi de cerca de 4,5 μm , e o diâmetro médio de
20 massa foi cerca de 4,7 μm . A viscosidade da dispersão foi de cerca de 38,7 cP.

Exemplo 2.7

A síntese da formulação foi realizada em uma escala de

1,5 litros com produtos químicos de grau alimentício. Soluções aquosas de lecitina de soja, TSTMP, hidróxido de sódio, alginato de sódio, benzoato de sódio e sorbato de potássio foram preparadas com antecedência e em separado.

5 Ácido cítrico anidro também foi dissolvido em água destilada.

A reação foi realizada em um frasco de estilo europeu, cônico, de 3 bocas, de vidro, revestido (Catálogo Chemglass, No. CG-1576-1511), de 2 litros de capacidade. O
10 conteúdo do reator foi misturado utilizando-se um agitador de topo (IKA ® RW-20) que consiste em um eixo de vidro polido (Chemglass, catálogo No. CG-2078-02) anexado a uma lâmina agitadora de teflon (Chemglass, catálogo No. CG-2080). Um banho de água de recirculação foi utilizado para
15 controlar a temperatura da água que passa através do revestimento do reator. Água destilada (750 g) foi vertida no reator através de uma boca lateral do balão com funil de silicone. A velocidade do agitador foi fixada em 265 rpm. A água que flui através da jaqueta do reator foi levada à
20 temperatura ambiente. HPC-SL em pó (75,2 g) foi adicionado ao reator através de um funil de silicone, durante um período de 20 min, e misturado em temperatura ambiente por 60 min, para obter uma solução (clara) homogênea de HPC. Solução de lecitina se soja foi então adicionada ao reator.

Após uma mistura por 5 min, a solução TSTMP foi adicionada e o conteúdo do reator foi ainda misturado por 5 min. Finalmente, hidróxido de sódio foi adicionado ao reator e misturado. O pH da solução resultante foi medido em cerca
5 de 11,1.

A temperatura do banho de água foi definida em 50°C. Após a temperatura do banho de água chegar a 50°C, o conteúdo do reator foi aquecido por 120 min. Após 120 min, um sólido branco precipitou para o fundo do reator. A água
10 quente a partir da jaqueta do reator foi drenada e o conteúdo do reator foi resfriado por circulação de água fria. Agitação adicional por cerca de 1 h re-dispersou os sólidos depositados para resultar em uma dispersão homogênea. O pH da dispersão foi medido e considerado 10,3.
15 Uma solução de ácido cítrico reduziu o pH até cerca de 6,6. Posteriormente, dextrose (150 g) foi adicionada ao reator na forma de pó e os conteúdos foram misturados durante cerca de 10 min. Finalmente, a solução SALMUP foi adicionada através do funil. Após 10 min de mistura, uma
20 solução contendo benzoato de sódio e sorbato de potássio foi adicionada. Finalmente, o pH da dispersão foi baixado para 3,8 usando-se uma solução de ácido cítrico.

O número médio de diâmetro das partículas na dispersão foi cerca de 4,2 micrômetros, o diâmetro médio de massa foi

cerca de 4,8 μm . A viscosidade da dispersão foi de cerca de 36,7 cP.

Exemplo 2.8

A formulação do Exemplo 2.1 foi utilizada. A cinética
5 de liberação de glicose a partir de partículas de HPC foi medida em pH 7 e a uma temperatura de 28°C. Esta temperatura foi escolhida porque era abaixo da LCST do HPC na dispersão.

Um banho de água a 28°C foi utilizado para circular a
10 água através das jaquetas de aquecimento dos compartimentos doador e receptor da célula de difusão. Sete mililitros da formulação de HPC foram adicionados ao compartimento doador da célula de difusão e 7 mL de água destilada (pH ~ 7) foram adicionados ao compartimento receptor. Em intervalos
15 regulares, pequenas alíquotas (0,1 mL) do líquido no compartimento receptor foram retiradas, utilizando uma microseringa, e substituídos por volumes iguais de água destilada (0,1 mL). As alíquotas foram adicionadas a um
balão volumétrico de 250 mL e foram diluídas com água
20 destilada (por um fator de 2500). As concentrações de glicose foram determinadas usando-se o método colorimétrico de glicose oxidase.

A concentração de glicose no compartimento receptor *versus* o perfil de tempo para a dispersão HPC foi comparado

com o perfil obtido para um controle de glicose, que tinha a mesma concentração geral de glicose que a dispersão HPC (8,7% em peso).

Os perfis de concentração vs tempo são bastante diferentes para a formulação de teste e o controle, indicando que a formulação do Exemplo 2.1 mostrou liberação retardada de glicose. Como esperado, a concentração de glicose no final foi menor para a dispersão HPC (~ 38 mg/mL) do que o controle de glicose (~ 54 mg/mL). O procedimento experimental empregado não ofereceu condições para determinar a cinética de transporte de glicose. Uma parte da glicose na dispersão HPC permanece sequestrada dentro de partículas em equilíbrio. Portanto, a concentração final no compartimento doador é menor do que no caso do controle de glicose.

Exemplo 2.9

Alginate de sódio em pó (SALMUP) foi adicionado em 20 g da formulação descrita no Exemplo 2.1. O pH da dispersão final foi ajustado para 3,8 utilizando-se ácido clorídrico 4 N. A formulação continha 8,7% (p/p) dextrose, 3,9% (p/p) HPC, SALMUP, TSTMP e lecitina de soja. A mesma formulação foi diluída com uma quantidade igual de água. A cinética de transporte de glicose foi medida a 28°C usando uma célula de difusão. A formulação diluída continha 4,3% (p/p)

dextrose, 1,9% (p/p) HPC, SALMUP, TSTMP e lecitina de soja. O efeito de diluição sobre a cinética de transporte de glicose foi estudado utilizando-se uma célula de difusão, seguindo o procedimento descrito no Exemplo 2.8. A Figura 17 compara o perfil de concentração de glicose do compartimento acceptor com os perfis de concentração de glicose da formulação original e da formulação diluída.

O valor de platô do perfil de concentração é menor para a formulação diluída (cerca de 50%) do que para formulação original, como esperado para uma diluição de 1:1. Também é evidente, a partir dos perfis de concentração mostrados na Figura 17, que a formulação diluída lança glicose em uma taxa mais rápida em comparação com a formulação original.

15 **Exemplo 2.10**

A cinética de liberação de glicose a partir de partículas de HPC foi medido em pH 7 e em uma temperatura de 37°C. Esta temperatura foi escolhida porque era acima da LCST do HPC na dispersão, e perto da temperatura do corpo humano. A formulação do Exemplo 2.1 foi utilizada. Quase toda a glicose encapsulada foi liberada depois de cerca de 10 h (Figura 18). As partículas de HPC passam por uma transição de um estado hidrofílico para um estado hidrofóbico quando a temperatura é elevada acima da LCST

(por exemplo, 37°C). As moléculas de glicose que estavam presentes nas partículas são expelidas junto com a água, conforme as partículas sofrem encolhimento. É evidente, a partir da Figura 18, que a concentração de glicose no compartimento receptor aumenta a uma taxa mais lenta quando a dispersão de HPC estava presente no compartimento doador, em vez de uma solução de glicose com mesma concentração total de glicose (controle).

Exemplo 2.11

10 A cinética de liberação de glicose a partir de partículas de HPC foi medida em pH 2 e a uma temperatura de 37°C. O valor de pH de 2 é semelhante ao pH do suco gástrico em jejum. A dispersão do Exemplo 2.4 foi utilizada. O pH da dispersão foi ajustado para 2, 15 utilizando ácido clorídrico 4 N. A água na jaqueta da célula de difusão foi mantida a 37°C, em banho-maria. Sete ml da dispersão HPC foram adicionados ao compartimento doador e 7ml de água ácida (pH 2, ácido clorídrico) foram adicionados ao compartimento receptor. Em intervalos de 20 tempo selecionados, alíquotas de 0,1 µL do líquido no compartimento receptor foram retiradas, e foram substituídas com um volume igual de água destilada. As alíquotas retiradas foram diluídas por um fator de 10, usando um balão volumétrico, e as concentrações de glicose

foram determinadas usando um analisador GM8 (Analox Instruments). A Figura 19 mostra os perfis de concentração para a dispersão e a solução de glicose (controle). Claramente, a taxa de liberação é mais lenta para as
5 dispersões HPC do que para solução de glicose.

Exemplo 2.12

O efeito do pH sobre a cinética de liberação de glicose a partir de partículas de HPC foi ainda ilustrado com as dispersões do Exemplo 2.1. O pH da dispersão
10 original foi ajustado a ~ 7 usando ácido clorídrico 4 N. Alginato de sódio em pó (SALMUP) foi adicionado em 20 g desta dispersão, e dissolvido com um agitador magnético. Poucos minutos antes da determinação da cinética de liberação de glicose (usando uma célula de difusão), cerca
15 de 10 g da dispersão que alginato de sódio contida foi retirado, e seu pH foi ajustado para 3,8 utilizando-se ácido clorídrico 4 N. O pH das 10g de dispersão restantes foi ajustado a 2, utilizando ácido clorídrico 4 N. Todas os três dispersões assim obtidas continham cerca de 8,7% (p/p)
20 dextrose, 3,9% (p/p) HPC, SALMUP, TSTMP e lecitina de soja. A cinética de liberação de glicose, a 28°C, foi determinada utilizando uma célula de difusão, como discutido no Exemplo 2.8. O compartimento doador continha 7 mL da dispersão. O compartimento receptor continha 7 mL de água destilada,

acidificada a um pH que foi o mesmo que a da dispersão no compartimento doador. As concentrações de glicose no compartimento receptor foram determinadas pelo método colorimétrico de glicose oxidase. A Figura 20 compara o perfis de concentração de glicose do compartimento receptor de três dispersões: em pH 7, 3,8 e 2. Não há quase nenhuma diferença nos perfis de concentração para valores de pH de 7 e 3,8. No entanto, quando o pH da dispersão foi substancialmente inferior ao pKa do grupo ácido carboxílico (de alginato), um perfil de tempo significativamente diferente de concentração foi observado. Os dados demonstram claramente o papel do alginato de sódio na criação de uma barreira de difusão para moléculas de glicose dentro de partículas de HPC. A propriedade de barreira é reforçada no pH ácido que a dispersão vai encontrar no ambiente gástrico após o consumo.

Exemplo 2.13

Cerca de 12,85 onças (380 mL, 450 g) da dispersão do Exemplo 2.4 foi consumida após o jejum noturno (~ 10 h). As formulações foram compostas de materiais que são considerados aditivos alimentares que são "geralmente reconhecido como seguros" (GRAS) pela Food and Drug Administration dos EUA. As quantidades de todos os ingredientes se encontravam dentro dos níveis permitidos,

conforme determinado pelo FDA dos EUA e pela OMS. Durante a hora antes do consumo da dispersão HPC, o jejum, as concentrações de glicose no sangue foram medidas para se estabelecer uma base. A concentração de glicose no sangue foi determinada em intervalos definidos após o consumo da dispersão (Figura 21a). A Figura 21 também mostra o perfil de concentração de glicose no sangue para o mesmo sujeito, após o consumo de 380 mL de Gatorade®. Na Figura 21b, as concentrações de glicose no sangue são normalizadas subtraindo-se o estado de jejum, a concentração de glicose basal. Ambas dispersões de HPC e Gatorade® apresentaram um alto índice glicêmico (uma medida da taxa na qual o carboidrato ingerido está disponível para absorção intestinal, que se reflecte na taxa de aumento da concentração de glicose no sangue).

O controle de GATORADE®, no entanto, mostrou uma redução acentuada na concentração de glicose no sangue em torno de 70 min, evidentemente por causa da resposta à insulina (hiperinsulinemia) para o alto índice glicêmico de carboidrato.¹¹¹ No estado re-alimentado (após do consumo de dispersão de HPC), a concentração de insulina no sangue aumenta em resposta aos níveis elevados de açúcar no sangue. A insulina aumenta a absorção de glicose do sangue pelas células do corpo, causando uma diminuição na

concentração de glicose no sangue. A resposta hipoglicêmica da insulina é contrariada por glucagon, que desencadeia a glicogenólise hepática, eventualmente retornando a concentração de glicose no sangue ao nível homeostático.

5 Evidentemente, esse processo ocorreu durante um período de 45 min (entre 50 e 95 min após consumir GATORADE®; conforme a Figura 21b). Em contraste, a dispersão HPC foi capaz de fornecer glicose para o sangue em uma taxa controlada, e foi capaz de sustentar os níveis de glicose no sangue acima
10 da concentração de estado de jejum até cerca de 170 min. Embora a dispersão HPC contivesse uma quantidade de açúcar total que foi de cerca de 75% maior do que o controle GATORADE®, a resposta à insulina foi relativamente suave. Um mínimo da concentração de glicose no sangue não foi
15 observado até cerca de 185 min.

Exemplo 2.14

A Figura 22 compara o perfil de concentração de glicose no sangue para uma dispersão de HPC do Exemplo 2.5 com a do controle de Gatorade ®.

20 A formulação foi composta de materiais que são considerados aditivos alimentares que são "geralmente reconhecidos como seguros" (GRAS) pela Food and Drug Administration dos EUA. As quantidades de todos os ingredientes caem dentro dos níveis permitidos, conforme

determinado pelo FDA dos EUA e da OMS. Volumes iguais (380 mL) das duas formulações foram consumidos. Ambas as formulações continham concentrações similares de açúcar. A dispersão de HPC do presente exemplo tem aproximadamente
5 metade do número total de partículas de HPC na dispersão de HPC do Exemplo 2.13. Por isso, as concentrações de glicose no sangue mantiveram-se acima da concentração de estado de jejum somente até cerca de 75 min, que foi, no entanto, cerca de 25 minutos mais do que o controle.

10 **Exemplo 2.15**

Este exemplo ilustra a influência da liberação retardada de dois diferentes tipos de carboidratos, ou seja, dextrose e frutose, sobre o perfil de concentração de glicose no sangue. Apesar da frutose não poder promover a
15 síntese de glicogênio muscular rapidamente⁸, ela pode ser usada para controlar a resposta à insulina e para manter as concentrações de glicose no sangue significativamente acima do valor de estado de jejum, mesmo após 2 h do consumo de carboidratos (conforme a Figura 23). Duas dispersões
20 diferentes de HPC do Exemplo 2.5 (2,5 e 2,5D) foram comparadas na Figura 23. Uma dispersão continha dextrose sozinha como açúcar, enquanto a outra dispersão continha dextrose e frutose. A concentração de açúcar total na segunda dispersão foi a mesma que na primeira dispersão. O

mesmo volume (380 mL) de ambas as dispersões foi consumido, e a resposta glicêmica foi medida. As formulações foram compostas de materiais que são consideradas aditivos alimentares que são "geralmente reconhecidos como seguros" (GRAS) pela Food and Drug Administration dos EUA. As quantidades de todos os ingredientes caem dentro dos níveis permitidos, conforme determinado pelo FDA dos EUA e pela OMS. Pode ser visto na Figura 23 que a formulação que continha principalmente frutose teve um baixo índice glicêmico, como esperado. As concentrações de glicose no sangue estavam acima dos níveis de estado de jejum até cerca de 230 min. O mecanismo de liberação retardada, desde a dispersão de HPC, juntamente com o atraso na conversão metabólica hepática de frutose e glicose resultaram num nível de glicose no sangue maior do que o valor basal.

Exemplo 2.16

O perfil de concentração de glicose no sangue para a dispersão de HPC do Exemplo 2.7 foi comparado com uma solução aquosa de glicose utilizada como controle (conforme a Figura 24). As formulações eram compostas de materiais que são considerados aditivos alimentares que são "geralmente reconhecidos como seguros" (GRAS) pela Food and Drug Administration dos EUA. As quantidades de todos os ingredientes caem dentro dos níveis permitidos, conforme

determinado pelo FDA dos EUA e pela OMS. Ambas as formulações continham concentrações de açúcar total semelhantes (~ 10% em peso). A concentração de glicose no sangue permaneceu acima do nível do estado de jejum por um
5 longo tempo (~ 115 min) para a dispersão de HPC do que o controle de glicose (~ 60 min). A resposta à insulina também é significativamente menos pronunciada para a formulação de liberação prolongada em comparação com o controle de liberação imediata.

10 **Exemplo 2.17**

O efeito do tempo de ingestão da dispersão de HPC é ilustrado usando a dispersão do Exemplo 2.7. A formulação era composta de materiais que são considerados aditivos alimentares que são "geralmente reconhecidos como seguros"
15 (GRAS) pela Food and Drug Administration dos EUA. As quantidades de todos os ingredientes caem dentro dos níveis permitidos, conforme determinado pelo FDA dos EUA e pela OMS. Um volume de 380 mL (450 g) da formulação em *bolus* foi consumido. A concentração de glicose no sangue *versus* o
20 perfil de tempo para a dose *bolus* foi comparada com o perfil de concentração de um experimento no qual a mesma quantidade de formulação foi ingerida em três partes - cada parte composta de 127 mL (150 g) da dispersão. É visto na Figura 25 que todas as estratégias resultaram em níveis de

concentração de glicose supra-basais no sangue, pelo menos, até 110 min. A resposta glicêmica foi menor, como esperado, quando pequenas quantidades de dispersão de carboidratos foram consumidos com frequência.

5 **Exemplo 2.18**

O efeito do tempo de ingestão da dispersão de HPC é ilustrado usando a dispersão do Exemplo 2.7, tendo Gatorade® como controle. Em dois experimentos separados, 380 ml (450 g) de cada formulação foram ingeridos em três
10 partes - cada parte composta de 127 mL (150 g) da formulação. As concentrações de glicose no sangue são comparadas na Figura 26.

Exemplo 2.19

O efeito da alimentação com formulação de liberação
15 lenta de carboidratos antes de exercícios de média intensidade ($\sim 60\% V_{O2max}$) nos perfis de concentração de glicose no sangue é ilustrado neste exemplo. Trezentos e oitenta mililitros da dispersão de HPC do Exemplo 2.4 foram consumidos antes do exercício. O controle deste experimento
20 foi 380 mL de uma formulação de GATORADE® na qual foram adicionados 17,5 g de dextrose em concentração aproximada a da dextrose da dispersão de HPC do Exemplo 2.4. Como pode ser observado na Figura 27, a concentração de glicose no sangue é significativamente mais elevada em 50 min para a

dispersão de HPC quando comparado ao controle. Este estudo também mediu a produção de energia em função do tempo decorrido para a fadiga, onde o sujeito correu a uma taxa equivalente a $\sim 60\% V_{O_{2max}}$ pelo maior tempo possível. A
5 dispersão de HPC produziu um tempo decorrido 55% maior do que o controle da água e 31% maior do que o controle positivo, formulação de Gatorade® na qual foram adicionados 17,5 g de dextrose.

Exemplo 2.20

10 O impacto glicêmico das dispersões de HPC foi caracterizado usando-se área sobre os perfis da concentração de glicose no sangue. A Figura 28 mostra os parâmetros dos perfis de concentração de tempo que foram usados para comparar os perfis de concentração de glicose
15 no sangue para diferentes formulações ilustradas nos exemplos 2.13 a 2.19. $(C - C_b)$ é a concentração de glicose no sangue em relação ao valor inicial, Q é a concentração de glicose no sangue em estado de jejum (antes do início do experimento). O tempo $t=0$ corresponde ao início do
20 experimento (por exemplo, a ingestão de formulação de CHO). O tempo, t_{exp} , é o tempo de duração total do experimento em que as concentrações de glicose no sangue foram medidas. O tempo, $t_{linha\ de\ base}$, é o momento em que a concentração de glicose no sangue atravessa a linha de base, ou seja, cai

abaixo do valor de estado de jejum. Um valor mais alto da linha de base é desejável porque a glicose no sangue está disponível como fonte de energia, por um longo tempo, após a ingestão de CHO. Dois valores de área sobre a curva
5 diferentes foram calculados para todos os perfis relatados concentração de glicose no sangue: AUC+ e AUC_{total}.

AUC+ é a área da região indicada por '+' na Figura 28, e foi calculada usando a seguinte equação:

$$AUC_+ = \int_0^{t_{\text{baseline}}} (C - C_b) dt$$

10 onde a integral é avaliada entre os limites $t = 0$ e $t = t_{\text{linha de base}}$.

AUC_{total} é a área total sob o perfil de concentração, e é a soma algébrica das áreas denotadas por '+' e '-' na Figura 28.. Foi calculado usando:

$$AUC_{\text{total}} = \int_0^{t_{\text{exp}}} (C - C_b) dt$$

15

onde a integral foi avaliada entre os limites $t=0$ e $t = t_{\text{exp}}$.

AUC+ representa o efeito de CHO exógeno sobre a concentração de glicose no sangue. A concentração de
20 glicose no sangue aumenta inicialmente, devido ao consumo de CHO. A glicose exógena no sangue é convertida em

glicogênio no tecido por causa da resposta à insulina, e também é usada para fornecer energia para trabalhar os músculos durante o exercício, levando a uma diminuição na concentração de glicose no sangue. A queda da concentração de glicose no sangue abaixo do valor de estado de jejum se dá por causa da resposta à insulina (em experimentos onde o sujeito permaneceu sentado), ou quando a taxa de oxidação de glicose no sangue pelos músculos trabalhando excede a taxa de fornecimento de glicose para a corrente sanguínea (por fontes exógenas e endógenas, como a absorção de glicose no lúmen intestinal e glicogenólise, respectivamente), ou ambos.

A Tabela 7 resume o efeito de diferentes formulações sobre a concentração de glicose no sangue, em termos de $t_{\text{linha de base}}$, AUC_{+} , AUC_{total} e o desvio médio na concentração de glicose no sangue durante a duração do experimento ($C - C_b$), calculado usando:

$$\langle C - C_b \rangle = \frac{\int_0^{t_{\text{exp}}} (C - C_b) dt}{t_{\text{exp}}} .$$

Ambos AUC_{total} e $(C - C_b)$ dependem da duração do experimento, t_{exp} . Por isso, a comparação destes valores, entre diferentes experimentos, é geralmente feito apenas se os experimentos foram de duração semelhante (por exemplo,

com valores t_{exp} similares). Salvo disposição em contrário, 380 mL da formulação foi ingerida em dose única em *bolus*.

Fica evidente, a partir da Tabela 7, que as dispersões de HPC, em geral, mostraram uma $t_{linha\ de\ base}$ que foi maior que os controles de liberação imediata de CHO ou água. Os valores de $AUC+$ e AUC_{total} também foram significativamente maiores para as dispersões HPC em comparação com os controles, tanto durante os estados de exercício e descanso.

10 Tabela 7. Análise dos perfis de concentração sanguínea de glicose para várias dispersões de HPC e controles.

Experimentos nos quais sujeitos permaneceram sentados

Formulação	$t_{linha\ de\ base}$ (min)	$AUC+$ (mg-min/dL)	t_{exp} (min)	AUC_{total} (mg-min/dL)	(C - Cb) (mg/dL)
HPC 4,2% em peso, glicose 8,7 % em peso (Exemplo 2.13)	167	2355	230	2000	8,7
Gatorade ® (açúcares 5,8% em peso) (Exemplo 2.13)	50	1274	230	255	1,1
HPC 2,6% em peso, glicose 5,1% em peso (Exemplo 2.14)	75	1447	230	458	2,0
HPC 2,6% em peso, glicose 1,3% em peso, frutose 3,8% em peso (Exemplo 2.15)	99	431	230	1218	5,3
HPC 4,2% em	115	1466	213	4489	21,1

peso, glicose 9,8% em peso (Exemplo 2.16)					
Solução de glicose (10% de concentração em peso) (Exemplo 2.16)	61	1409	160	1248	7,8
HPC 4,2% em peso, glicose 9,8% em peso; dispersão ingerida em três partes iguais. (Exemplo 2.17)	132	1856	160	1635	10,2
Gatorade® (açúcares 5,8% em peso), ingerida em três partes iguais (exemplo 2.18)	102	961	160	760	4,8

Experimentos nos quais sujeitos correram em uma esteira a
60% V_{O2max}

Formulação	$t_{\text{linha de base}}$	AUC+ (mg-	t_{exp} (min)	AUC _{total} (mg-	(C - C _b) (mg/dL)
------------	----------------------------	--------------	---------------------------	------------------------------	----------------------------------

	(min)	min/dL)		min/dL)	
HPC 4,2% em peso, dextrose 8,7 % em peso (Exemplo 2.19)	78	800	159	926	5,8
Gatorade® + dextrose (Açúcares 10% em peso) (Exemplo 2.19)	71	400	116	328,0	2,8
Água (Exemplo 2.19)	54	-93	98	229	-2,3

Referências

¹ Jeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. Nutrition 2004, 20, 669-677.

² Koopman, R.; Pannemans, D. L. E.; Jeukendrup, A. E.;
5 Gijsen, A. P.; Senden, J. M. G.; Halliday, D.; Saris, W. H. M.; van Loon, L. J. C; Wagenmakers, A. J. M. Combined ingestion of protein and carbohydrate improves protein balance during ultra-endurance exercise. Amer. J. Physiol.

³ Krogh, A; Lindhard, J. The relative value of fat and
10 carbohydrate as sources of muscular energy. Biochem. J. 1920, 14, 290-363.

⁴ Levine, S.A.; Gordon, B.; Derick, C.L.; Some changes in chemical constituents of blood following a marathon race. J. Am. Med. Assoc. 1924, 82, 1778-1779.

⁵ Christensen, E. H.; Hansen, O. Untersuchungen über die Verbrennungsvorgänge bei langdauernder, schwerer Muskularbeit. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81, 152-161.

⁶ Christensen, E. H.; Hansen, O. Arbeitsfähigkeit und Ernährung. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81: 161-172.

⁷ Christensen, E. H.; Hansen, O. Hypoglykämie, Arbeitsfähigkeit und Ernährung. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81: 172-179.

⁸ Coyle, E.F. Substrate utilization during exercise in active people. Am. J. Clin. Nutr. 1995, 61, 968S-979S.

⁹ Gleeson, M. Biochemistry of Exercise. In Nutrition in Sport. 1st ed.; Maughan, R. J. Ed.; Blackwell Science: Cambridge, MA, 2002; pp. 17-38.

¹⁰ Horowitz, J. F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. Trends Endocrinol. Metab. 2003, 14, 386-392.

¹¹ Adams, D. University of South Australia, Introductory Metabolism Module, <http://www.unisanet.unisa.edu.au/08366/index.htm> (accessed December 2010).

¹² Costill, D.L.; Sherman, W.M.; Fink, W.J.; Maresh, C; Witten, M.; Miller, J.M. The role of dietary carbohydrates in muscle glycogen resynthesis after strenuous running. Am J Clin Nutr. 1981, 34, 1831-1836.

5 ¹³ Coyle, E. F.; Coggan, A. R.; Hemmert, M. K.; Ivy, J. L. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. J. Appl. Physiol. 1986, 61, 165-172.

10 ¹⁴ Coggan, A.R.; Coyle, E.F. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. J. Appl. Physiol. 1988, 65, 1703-1709.

15 ¹⁵ Roberts, K.M.; Noble, E.G.; Hayden, D.B.; Taylor, A.W. Simple and complex carbohydrate-rich diets and muscle glycogen content of marathon runners. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1988, 57, 70-74.

20 ¹⁶ Mitchell J.B.; Costill, D.L.; Houmard, J.A.; Fink, W.J.; Pascoe, D.D.; Pearson, D.R. Influence of carbohydrate dosage on exercise performance and glycogen metabolism. J Appl. Physiol. 1989, 67, 1843-1849.

¹⁷ Peronnet, F.; Burelle, Y.; Massicotte, D.; Lavoie, C; Hillaire-Marcel, C; Respective oxidation of ¹³C-labeled lactate and glucose ingested simultaneously during exercise. J. Appl. Physiol. 1997, 82, 440-446.

¹⁸ Jeukendrup, A. E.; Raben, A.; Gijsen, A.; Stegen, J. H. C. H.; Brouns, F.; Saris, W. H. M.; Wagenmakers, A. J. M. Glucose kinetics during prolonged exercise in highly trained human subjects: effect of glucose ingestion. J. Physiol. 1999, 515, 579-589.

¹⁹ Angus, D. J.; Hargreaves, M.; Dancey, J.; Febbraio M.A. Effect of carbohydrate or carbohydrate plus medium-chain triglyceride ingestion on cycling time trial performance. J. Appl. Physiol. 2000, 88, 113-119.

²⁰ Fritzsche, R.G.; Switzer, T.W.; Hodgkinson, B. J.; Lee, S.-H.; Martin, J. C.; Coyle, E.F. Water and carbohydrate ingestion during prolonged exercise increase maximal neuromuscular power. J. Appl. Physiol. 2000; 88, 730-737.

²¹ Jeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. Nutrition 2004, 20, 669-677.

²² Coyle, E.F. Carbohydrate supplementation during exercise, J. Nutr. 1992, 122, 782-795.

²³ Jeukendrup, A.E.; Mosely, L.; Mainwaring, G.; Samuels, S.; Perry, S.; Mann, CH.; Exogenous carbohydrate oxidation during ultraendurance exercise. J Appl Physiol. 2006, 100, 1134-1141.

²⁴ Jeukendrup, A.E.; Wagenmakers, AJ. M.; Stegen,

J.H.C.H.; Gijzen, A.P.; Brouns, F.; Saris, W.H.M. Carbohydrate ingestion can completely suppress endogenous glucose production during exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 1999, 276, E672-E683.

5 ²⁵ Jentjens, R.L.P.G.; Underwood, K.; Achten, J.; Currell, K.; Mann, C.H.; Jeukendrup, A.E. Exogenous carbohydrate oxidation rates are elevated following combined ingestion of glucose and fructose during exercise in the heat. *J. Appl. Physiol.* 2006, 100, 807-816.

10 ²⁶ Febbraio, M. A.; Cbiu, A.; Angus, D. J.; Arkinstall, M. J.; Hawley, J. A. Effects of carbohydrate ingestion before and during exercise on glucose kinetics and performance. *J. Appl. Physiol.* 2000, 89, 2220-2226.

15 ²⁷ Wolfe, R. R.; Nadel, E. R.; Shaw, J. H. F.; Stephenson, L. A.; Wolfe, M. H. Role of changes in insulin and glucagons in glucose homeostatis in exercise. *Metabolism* 1986, 77, 900-907.

20 ²⁸ Sparks, M. J.; Selig, S.; Febbraio, M. A. Pre-exercise carbohydrate ingestion: effect of the glycemic index on endurance exercise performance. *Med. Sd. Sports Exerc.* 1998, 30, 844-859.

²⁹ Pederson, B. A.; Cope, C. R.; Schroeder, J. M.; Smith, M. W.; Irimia, J. M.; Thurberg, B. L.; DePaoli-

Roach, A. A.; Roach, P. J. Exercise capacity of mice genetically lacking muscle glycogen synthase: In mice, muscle glycogen is not essential for exercise. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 17260-17265.

5 ³⁰ Nilsson, L. H.; Hultman, E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 1974, 33, 5-10.

³¹ Jandrain, B. J.; Pallikarakis, N.; Normand, S.;
10 Pirnay, F.; Lacroix, M.; Mosora, F.; Pachiaudi, C; Gautier, J. F.; Scheen, A. J.; Riou, J. P. e colaboradores *J. Appl. Physiol.* 1993, 74, 2146-2154.

³² Hulston, C. J.; Wallis, G. A.; Jeukendrup, A. E. Exogenous CHO oxidation with glucose plus fructose intake
15 during exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2009, 41, 357-363.

³³ Shi, X.; Summers, R. W.; Schedl, H. P.; Flanagan, S. W.; Chang, R.; Gisolfi, C. V. Effects of carbohydrate type and concentration and solution osmolality on water
20 absorption. *Med. Sd. Sports Exerc.* 1995, 27, 1607.

³⁴ Adopo, E.; Peronnet, F.; Massicotte, D.; Brisson, G. R. Hillaire-Marcel, C. Respective oxidation of exogenous glucose and fructose given in the same drink during exercise. *J. Appl. Physiol.* 1994, 76, 1014.

³⁵ Jentjens, R. L. P. G.; Achten, J.; Jeukendrup, A. E. High oxidation rates from a mixture of glucose, sucrose and fructose ingested during prolonged exercise. Med. Sci. Sport Exerc. 2004, 36.

5 ³⁶ Medical physiology: principles for clinical medicine. Rhoades, R.; Bell, D. R. p. 569 (table 29.2)

³⁷ Parks, D. A.; Jacobson, E. D. Physiology of the splanchnic circulation. Archives of Internal Medicine 1985, 145, 1278-1281.

10 ³⁸ Bishop, R. G. Preparation of Hydroxypropyl Cellulose. US Patent 3,351,583, Nov 7, 1967.

³⁹ Henry, J. B. Clinical Chemistry. In Todd-Sanford, Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, 15th ed.; Davidsohn, L; Henry, J. B., Eds.; Saunders: Philadelphia, PA, 1974; PP 601-612.

⁴⁰ Newman JD, Turner APF. Home Blood Glucose Biosensors: A Commercial Perspective. Biosens. Bioelectron. 2005;20(12):2435-2453.

20 ⁴¹ Jeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. Nutrition 2004, 20, 669-677.

⁴² Koopman, R.; Pannemans, D. L. E.; Jeukendrup, A. E.; Gijzen, A. P.; Senden, J. M. G.; Halliday, D.; Saris, W. H. M.; van Loon, L. J. C; Wagenmakers, A. J. M. Combined ingestion of protein and carbohydrate improves protein

balance during ultra-endurance exercise. Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2004, 257, E712-E720.

⁴³ Rrogh, A; Lindhard, J. The relative value of fat and carbohydrate as sources of muscular energy. Biochem. J. 1920, 14, 290-363.

⁴⁴ Levine, S.A.; Gordon, B.; Derick, C.L.; Some changes in chemical constituents of blood following a marathon race. J. Am. Med. Assoc. 1924, 82, 1778-1779.

⁴⁵ Christensen, E. H.; Hansen, O. Untersuchungen uber die Verbrennungsvorgange bei langdauernder, scwherer Muskelarbeit. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81, 152-161.

⁴⁶ Christensen, E. H.; Hansen, O. Arbeitsfahigkeit und Ernahrung. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81: 161-172.

⁴⁷ Christensen, E. H.; Hansen, O. Hypoglykamie, Arbeitsfahigkeit und Eraudung. Skand. Arch. Physiol. 1939, 81: 172-179.

⁴⁸ Coyle, E.F. Substrate utilization during exercise in active people. Am. J. Clin. Nutr. 1995, 61, 968S-979S.

⁴⁹ Gleeson, M. Biochemistry of Exercise. In Nutrition in Sport. 1st ed.; Maughan, R. J. Ed.; Blackwell Science: Cambridge, MA, 2002; pp. 17-38.

⁵⁰ Horowitz, J. F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. Trends Endocrinol. Metab. 2003, 14, 386-392.

⁵¹ Adams, D. University of South Australia,
Introductory Metabolism Module,
<http://www.unisanet.unisa.edu.au/08366/index.htm> (accessed
December 2010).

5 ⁵² Costill, D.L.; Sherman, W.M.; Fink, WJ.; Maresh, C;
Witten, M.; Miller, J.M. The role of dietary carbohydrates
in muscle glycogen resynthesis after strenuous running. *Am*
J Clin Nutr. 1981, 34, 1831-1836.

10 ⁵³ Coyle, E. F.; Coggan, A. R.; Hemmert, M. K.; Ivy,
J. L. Muscle glycogen utilization during prolonged
strenuous exercise when fed carbohydrate. *J. Appl. Physiol.*
1986, 61, 165-172.

15 ⁵⁴ Coggan, A.R.; Coyle, E.F. Effect of carbohydrate
feedings during high-intensity exercise. *J. Appl. Physiol.*
1988, 65, 1703-1709.

⁵⁵ Roberts, K.M.; Noble, E.G.; Hayden, D.B.; Taylor,
A.W. Simple and complex carbohydrate-rich diets and muscle
glycogen content of marathon runners. *Eur J Appl Physiol*
Occup Physiol. 1988, 57, 70-74.

20 ⁵⁶ Mitchell J.B.; Costill, D.L.; Houmard, J.A.; Fink,
W.J.; Pascoe, D.D.; Pearson, D.R. Influence of carbohydrate
dosage on exercise performance and glycogen metabolism. *J*
Appl. Physiol. 1989, 67, 1843-1849.

⁵⁷ Peronnet, F.; Burelle, Y.; Massicotte, D.; Lavoie,

C; Hillaire-Marcel, C; Respective oxidation of ¹³C-labeled lactate and glucose ingested simultaneously during exercise. J. Appl. Physiol. 1997, 82, 440-446.

⁵⁸ Jeukendrup, A. E.; Raben, A.; Gijzen, A.; Stegen, J. H. C. H.; Brouns, F.; Saris, W. H. M.; Wagenmakers, A. J. M. Glucose kinetics during prolonged exercise in highly trained human subjects: effect of glucose ingestion. J. Physiol. 1999, 515, 579-589.

⁵⁹ Angus, D. J.; Hargreaves, M.; Dancey, J.; Febbraio M.A. Effect of carbohydrate or carbohydrate plus medium-chain triglyceride ingestion on cycling time trial performance. J. Appl. Physiol. 2000, 88, 113-119.

⁶⁰ Fritzsche, R.G.; Switzer, T. W.; Hodgkinson, B. J.; Lee, S.-H.; Martin, J. C.; Coyle, E. F. Water and carbohydrate ingestion during prolonged exercise increase maximal neuromuscular power. J. Appl. Physiol. 2000; 88, 730-737.

⁶¹ Jeukendrup, A. E. Carbohydrate intake during exercise and performance. Nutrition 2004, 20, 669-677.

⁶² Coyle, E.F. Carbohydrate supplementation during exercise, J. Nutr. 1992, 122, 782-795.

⁶³ Jeukendrup, A.E.; Mosely, L.; Mainwaring, G.; Samuels, S.; Perry, S.; Mann, C.H.; Exogenous carbohydrate oxidation during ultraendurance exercise. J Appl Physiol.

2006, 100, 1134-1141.

⁶⁴ Jeukendrup, A.E.; Wagenmakers, A.J. M.; Stegen, J.H.C.H.; Gijsen, A.P.; Brouns, F.; Saris, W.H.M. Carbohydrate ingestion can completely suppress endogenous
5 glucose production during exercise. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 1999, 276, E672-E683.

⁶⁵ Jentjens, R.L.P.G.; Underwood, K.; Achten, J.; Currell, K.; Mann, C.H.; Jeukendrup, A.E. Exogenous carbohydrate oxidation rates are elevated following
10 combined ingestion of glucose and fructose during exercise in the heat. J. Appl. Physiol. 2006, 100, 807-816.

⁶⁶ Febbraio, M. A.; Chiu, A.; Angus, D. J.; Arkinstall, M. J.; Hawley, J. A. Effects of carbohydrate ingestion before and during exercise on glucose kinetics
15 and performance. J. Appl. Physiol. 2000, 89, 2220-2226.

⁶⁷ Wolfe, R. R.; Nadel, E. R.; Shaw, J. H. F.; Stephenson, L. A.; Wolfe, M. H. Role of changes in insulin and glucagons in glucose homeostasis in exercise.
20 Metabolism 1986, 77, 900-907.

⁶⁸ Sparks, M. J.; Selig, S.; Febbraio, M. A. Pre-exercise carbohydrate ingestion: effect of the glycemic index on endurance exercise performance. Med. Sci. Sports Exerc. 1998, 30, 844-859.

⁶⁹ Pederson, B. A.; Cope, C. R.; Schroeder, J. M.; Smith, M. W.; Irimia, J. M.; Thurberg, B. L.; DePaoli-Roach, A. A.; Roach, P. J. Exercise capacity of mice genetically lacking muscle glycogen synthase: In mice, muscle glycogen is not essential for exercise. J. Biol. Chem. 2005, 280, 17260-17265.

⁷⁰ Nilsson, L. H.; Hultman, E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 1974, 33, 5-10.

⁷¹ Jandrain, B. J.; Pallikarakis, N.; Normand, S.; Pirnay, F.; Lacroix, M.; Mosora, F.; Pachiaudi, C; Gautier, J. F.; Scheen, A. J.; Riou, J. P. e colaboradores J. Appl. Physiol. 1993, 74, 2146-2154.

⁷² Hulston, C. J.; Wallis, G. A.; Jeukendrup, A. E. Exogenous CHO oxidation with glucose plus fructose intake during exercise. Medicine & Science in Sports & Exercise 2009, 41, 357-363.

⁷³ Shi, X.; Summers, R. W.; Schedl, H. P.; Flanagan, S. W.; Chang, R.; Gisolfi, C. V. Effects of carbohydrate type and concentration and solution osmolality on water absorption. Med. Sci. Sports Exerc. 1995, 27, 1607.

⁷⁴ Adopo, E.; Peronnet, F.; Massicotte, D.; Brisson, G. R. Hillaire-Marcel, C. Respective oxidation of exogenous

glucose and fructose given in the same drink during exercise. J. Appl. Physiol. 1994, 76, 1014.

⁷⁵ Jentjens, R. L. P. G.; Achten, J.; Jeukendrup, A. E. High oxidation rates from a mixture of glucose, sucrose and fructose ingested during prolonged exercise. Med. Sci. Sport Exerc. 2004, 36.

⁷⁶ Medical physiology: principles for clinical medicine. Rhoades, R.; Bell, D. R. p. 569 (table 29.2)

⁷⁷ PgiJg5 J) A .; Jacobson, E. D. Physiology of the splanchnic circulation. Archives of Internal Medicine 1985, 145, 1278-1281.

⁷⁸ Bishop, R. G. Preparation of Hydroxypropyl Cellulose. US Patent 3,351,583, Nov 7, 1967.

⁷⁹ fjenry, J G clinical Chemistry. In Todd-Sanford, Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, 15th ed.; Davidsohn, I.; Henry, J. B., Eds.; Saunders: Philadelphia, PA, 1974; pp 601-612.

⁸⁰ Newman JD, Turner APF. Home Blood Glucose Biosensors: A Commercial Perspective. Biosens. Bioelectron. 2005;20(12):2435-2453.

Tendo assim descrito em detalhes as modalidades preferidas da presente invenção, deve-se entender que a invenção definida nos parágrafos anteriores não deve ser

limitada aos detalhes particulares definidos na referida descrição, considerando que muitas variações aparentes da mesma são possíveis sem se afastar do espírito ou do âmbito da presente invenção.

5 Cada patente, pedido de patente, publicação e documento citados ou descritos no presente relatório .
descritivo é aqui incorporado por referência em sua
totalidade, como se cada patente, pedido de patente ou
publicação fosse específica e individualmente indicado para
10 ser incorporado por referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição para consumo *in vivo* compreendendo uma suspensão aquosa **caracterizada pelo** fato de compreender:

a) Suplementos nutricionais; e,

b) uma ou mais partículas de hidrogel que encapsulam um ou mais suplementos nutricionais de (a), em que a uma ou mais partículas de hidrogel

(i) são nanopartículas ou micropartículas;

(ii) compreendem um ou mais compostos que são reticulados e que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados numa forma de liberação controlada e prolongada *in vivo*;

(iii) são sensíveis ao pH, em que uma ou mais partículas de hidrogel não incham no ambiente ácido do estômago, mas incham ao entrar no intestino delgado; e

(iv) são sensíveis à temperatura, em que um ou mais compostos das partículas de hidrogel têm uma temperatura de solução crítica mais baixa em solução aquosa,

em que a liberação de um ou mais suplementos nutricionais e a cinética de absorção da composição são diferentes do que uma composição sem compostos para a liberação sustentada em tempo controlado de suplementos nutricionais *in vivo*.

2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de o um ou mais suplementos nutricionais são um ou mais carboidratos e em que a liberação dos carboidratos e a cinética de absorção compreendem uma alteração na concentração de glicose no sangue.

3. Método para a fabricação de partículas para a liberação sustentada em tempo controlado de suplementos nutricionais *in vivo* **caracterizado pelo** fato de compreender:

(a) aquecer uma solução aquosa de hidroxipropilcelulose (HPC) acima de uma temperatura crítica inferior da solução;

(b) reticular covalentemente cadeias poliméricas de HPC da etapa (a) para se obter hidrogéis de micropartículas; e

(c) carregar os hidrogéis de micropartículas com um ou mais suplementos nutricionais,

em que os hidrogéis de micropartículas encapsulam um ou mais suplementos nutricionais, de tal modo que resulta um coeficiente de repartição em que o um ou mais suplementos nutricionais são liberados das partículas de uma maneira sustentada no tempo controlado *in vivo*.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado pelo** fato de o um ou mais suplementos nutricionais em (c) são carboidratos, sendo os carboidratos selecionados do grupo que consiste em: monossacarídeos, dissacarídeos, polissacarídeos e suas combinações.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado pelo** fato de o ou mais carboidratos são selecionados do grupo que consiste em: dextrose, frutose, galactose, sacarose, maltose, lactose, polidextrose, dextrinas, sólidos de xarope de milho, amido e suas combinações .

6. Método, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado pelo** fato de as cadeias poliméricas serem reticuladas com trimetafosato triassódico (TSTMP).

7. Composição para consumo *in vivo* compreendendo uma suspensão aquosa **caracterizada pelo** fato de compreender:

(a) um ou mais carboidratos; e,

(b) uma ou mais partículas de hidrogel que encapsulam um ou mais carboidratos de (a), em que uma ou mais partículas de hidrogel:

- (i) são nanopartículas ou micropartículas;
- (ii) compreendem um ou mais compostos que são reticulados e que liberam o ou os carboidratos encapsulados numa forma de liberação sustentada e no tempo controlado *in vivo*;
- (iii) são sensíveis ao pH, em que uma ou mais partículas de hidrogel não incham no ambiente ácido do estômago, mas incham ao entrar no intestino delgado; e
- (iv) são sensíveis à temperatura, em que um ou mais compostos das partículas de hidrogel têm uma temperatura de solução crítica mais baixa em solução aquosa.

8. Composição, de acordo com a reivindicação 1 ou 7, **caracterizada pelo** fato de as partículas de hidrogel sequestram os carboidratos.

9. Composição, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizada pelo** fato de os carboidratos são liberados das partículas de hidrogel a uma taxa determinada por difusão dos carboidratos dentro das partículas de hidrogel.

10. Composição, de acordo com a reivindicação 1 ou 7, **caracterizada pelo** fato de as partículas de hidrogel compreendem um polissacarídeo.

11. Composição de acordo com a reivindicação 10, **caracterizada pelo** fato de o polissacarídeo é selecionado do grupo que consiste em: um polissacarídeo sensível à temperatura, um polissacarídeo modificado hidrofobicamente, um polissacarídeo sensível ao pH e suas combinações.

12. Composição, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizada pelo** fato de o polissacarídeo é hidroxipropilcelulose.

13. Composição de acordo com a reivindicação 11, **caracterizada pelo** fato de o polissacarídeo é alginato de

sódio.

14. Composição de acordo com a reivindicação 1 ou 7, **caracterizada pelo** fato de as partículas de hidrogel são revestidas com um polímero.

15. Composição, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizada pelo** fato de o polímero é um polissacarídeo sensível ao pH.

16. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os compostos que são reticulados e que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados numa forma de liberação sustentada e no tempo controlado *in vivo* são selecionados de modo que a composição possa manter a concentração de glicose sanguínea acima dos níveis de estado de jejum durante o repouso durante um período mais longo do que um volume igual da composição sem um ou mais compostos que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados para a liberação sustentada no tempo controlado dos suplementos nutricionais *in vivo*.

17. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os compostos que são reticulados e que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados de uma forma de liberação sustentada e no tempo controlado *in vivo* são selecionados de modo que a composição possa manter a concentração de glicose sanguínea acima dos níveis de estado de jejum durante exercícios de baixa, moderada ou intensidade elevada durante mais tempo do que um volume igual da composição sem um ou mais compostos que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados para uma liberação sustentada no tempo controlado dos suplementos nutricionais *in vivo*.

18. Composição, de acordo com a reivindicação 1,

caracterizada pelo fato de que os compostos que são reticulados e que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados numa forma de liberação sustentada e no tempo controlado *in vivo* são selecionados de modo a que a administração *in vivo* da composição resulte numa resposta mais baixa de insulina do que a administração *in vivo* da composição sem um ou mais compostos que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados para a liberação sustentada no tempo controlado dos suplementos nutricionais.

19. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os compostos que são reticulados e que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados de uma forma de liberação sustentada e no tempo controlado *in vivo* são seleccionados de modo que a administração *in vivo* da composição resulte na utilização aumentada de reservas de gordura do que a administração *in vivo* da composição sem um ou mais compostos que liberam o ou os suplementos nutricionais encapsulados para a liberação sustentada no tempo controlado de suplementos nutricionais.

20. Composição, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizada pelo** fato de que o carboidrato tem um índice glicêmico elevado.

21. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os suplementos nutricionais são selecionados do grupo constituído por: carboidratos, aminoácidos, lipídeos, eletrólitos e vitaminas.

22. Composição, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizada pelo** fato de que os eletrólitos são selecionados do grupo que consiste em: sódio, potássio, magnésio, cloreto, cálcio, bicarbonato, fosfato e sulfato.

23. Método, de acordo com a reivindicação 3,

caracterizado pelo fato de que o coeficiente de partição e liberação de partículas associadas e da cinética de absorção compreendem uma barreira de difusão em pH ácido para uma ou mais moléculas dos carboidratos da etapa (c) no interior das partículas.

24. Método, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado pelo** fato de que o pH ácido ser menor do que pH de 3,8.

25. Composição, de acordo com a reivindicação 1 ou 7, **caracterizada pelo** fato de que as partículas de hidrogel sensíveis a temperatura da temperatura estabilizam quando do aquecimento da composição para a temperatura de solução crítica mais baixa (LCST) dos um ou mais compostos para liberação sustentada no tempo controlado.

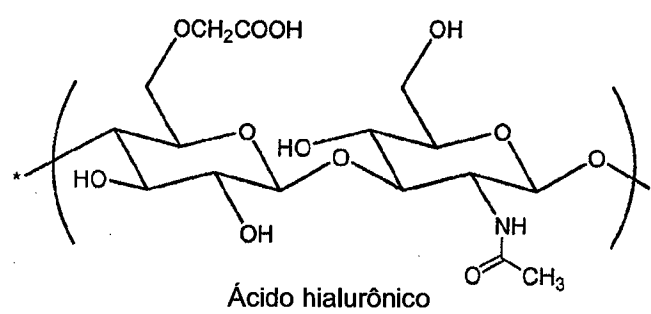
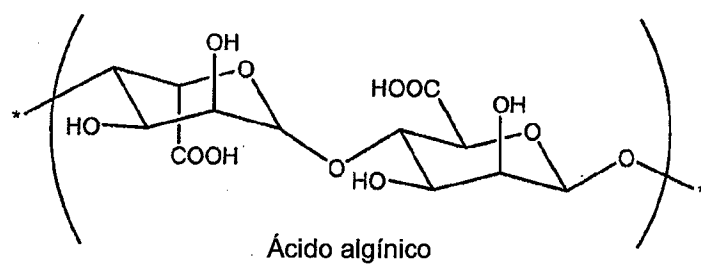
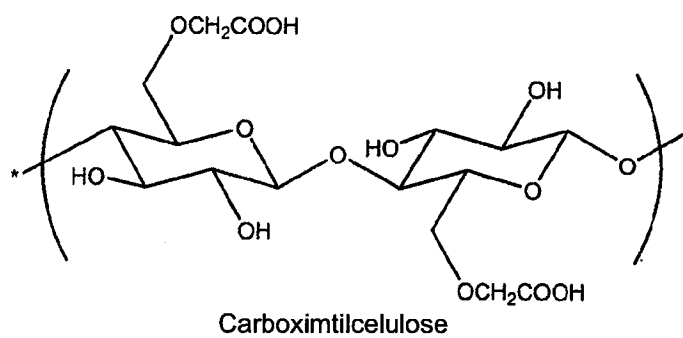


FIGURA 1

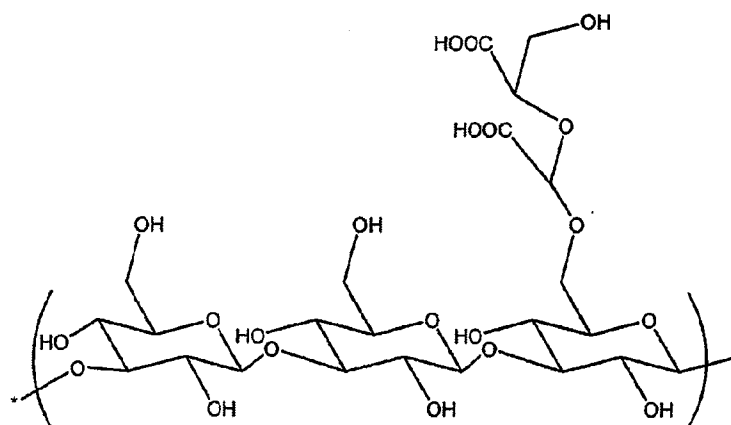


FIGURA 2

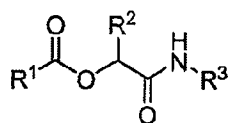
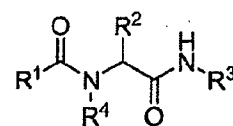
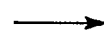
Passerini $R^1\text{COOH}$ $R^2\text{CHO}$ $R^3\text{NC}$ Ugi $R^1\text{COOH}$ $R^2\text{CHO}$ $R^3\text{NC}$ $R^4\text{NH}_2$ 

FIGURA 3

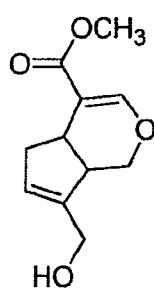


FIGURA 4

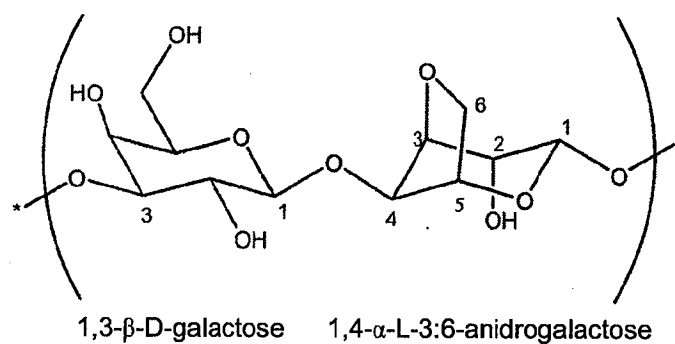
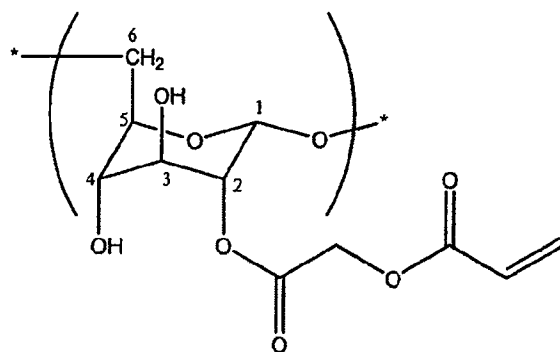
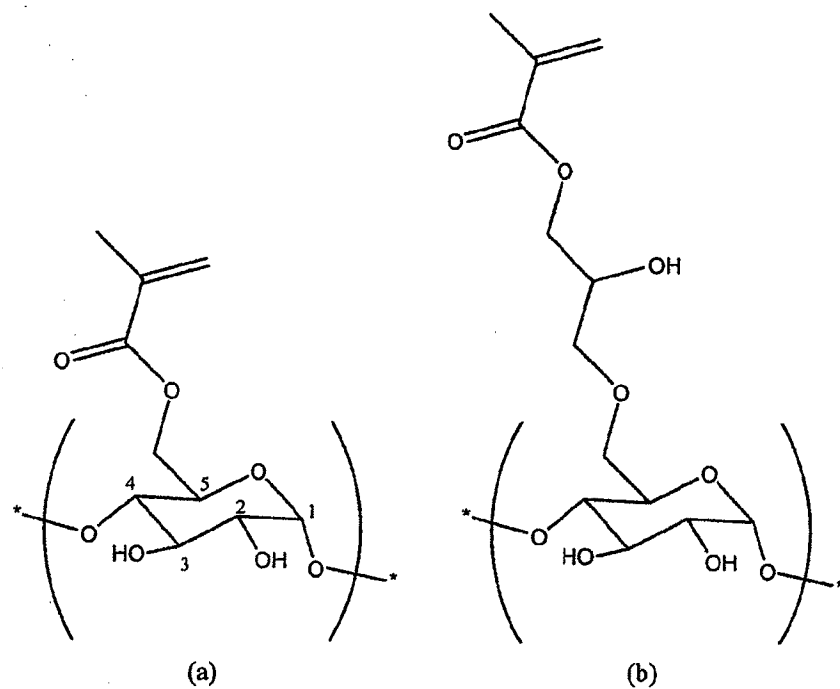
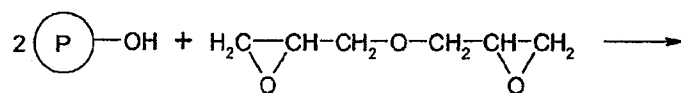
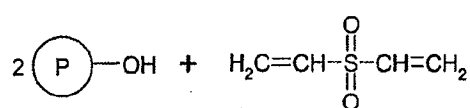
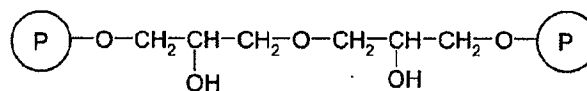


FIGURA 5

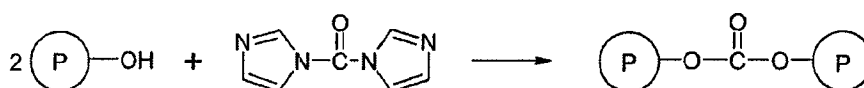
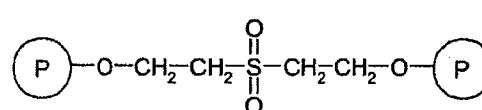
**FIGURA 6****FIGURA 7**



Éter bis(2,3-epóxi) propílico



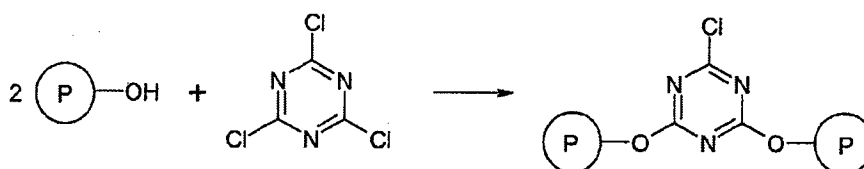
Divinil-sulfona



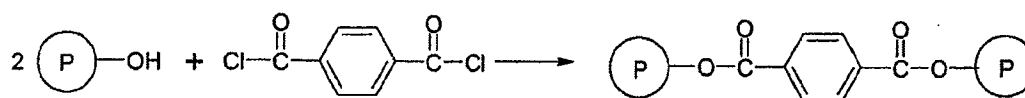
Carbonildiimidazol



Epiclorohidrina

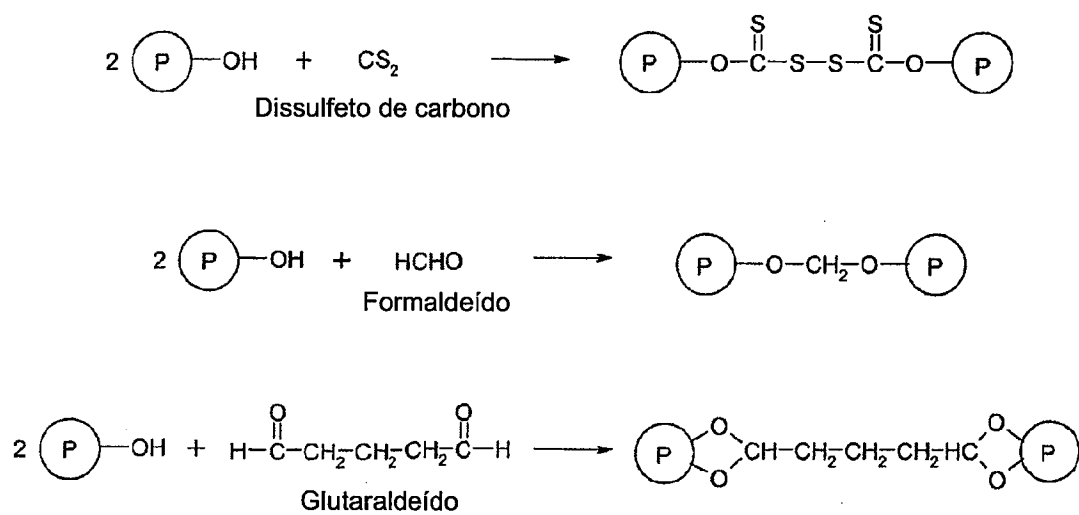


Cloreto cianúrico



Cloreto de tereftaloila

FIGURA 8A

**FIGURA 8B**

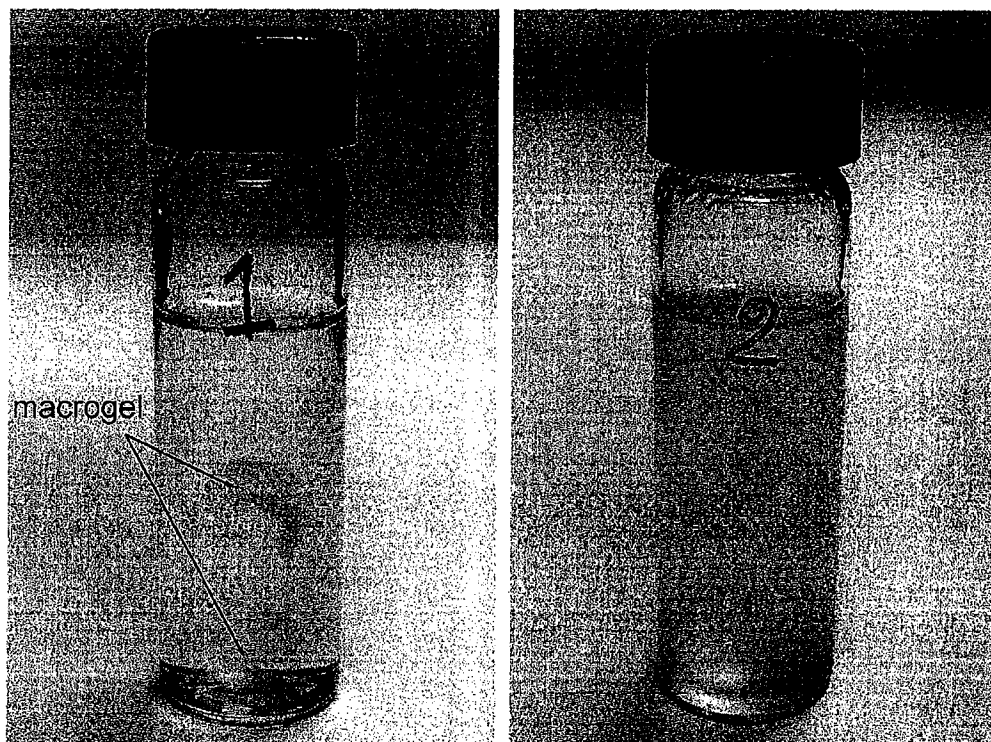


FIGURA 9

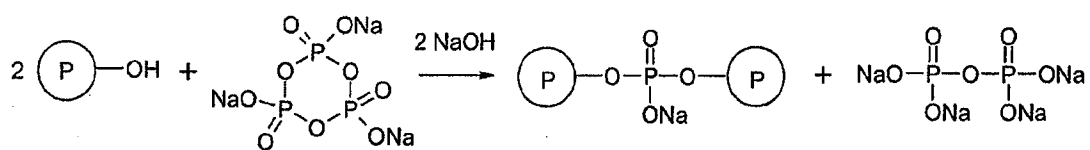


FIGURA 10

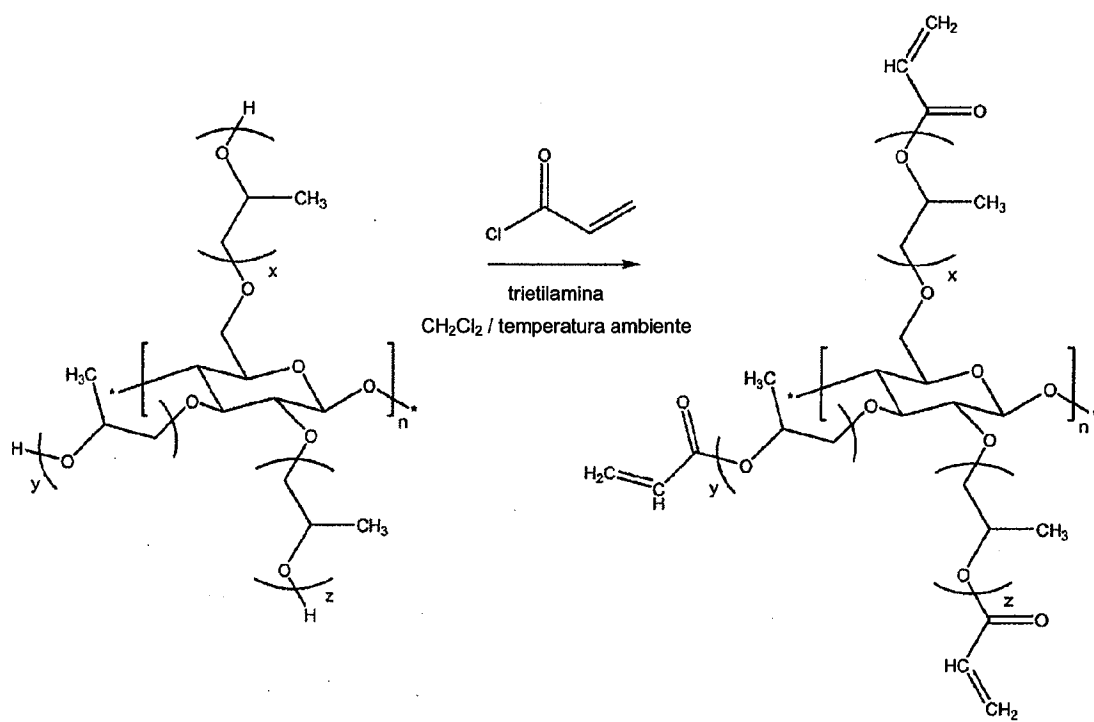
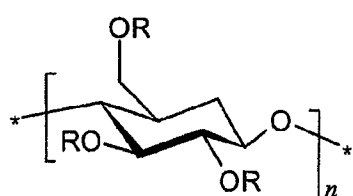


FIGURA 11



onde R = -H ou

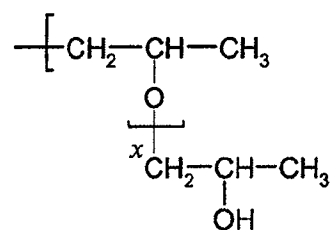
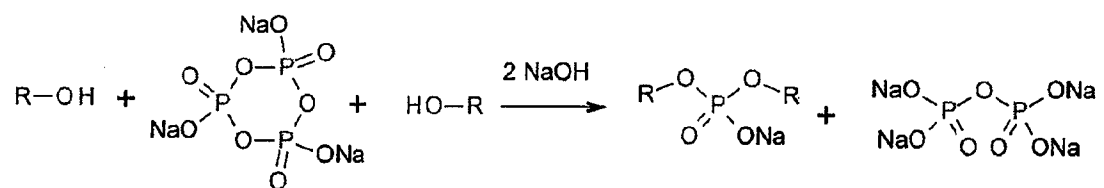
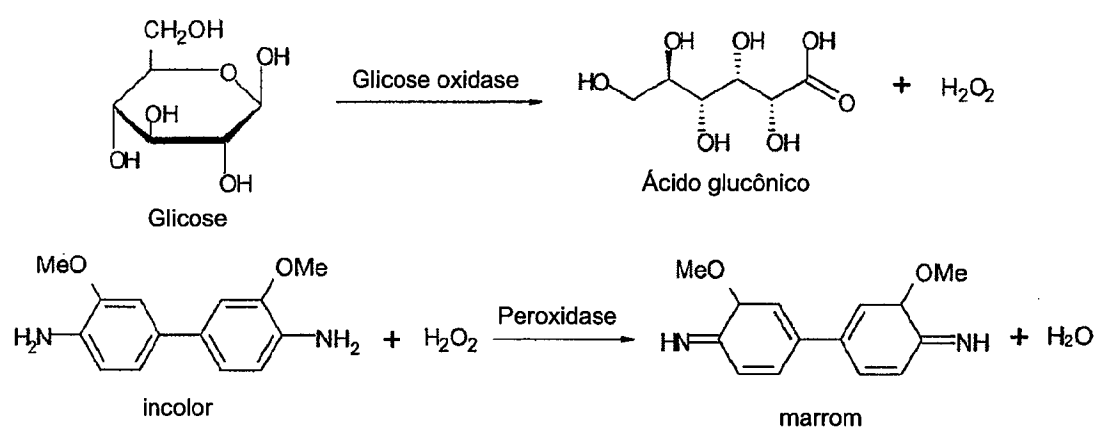
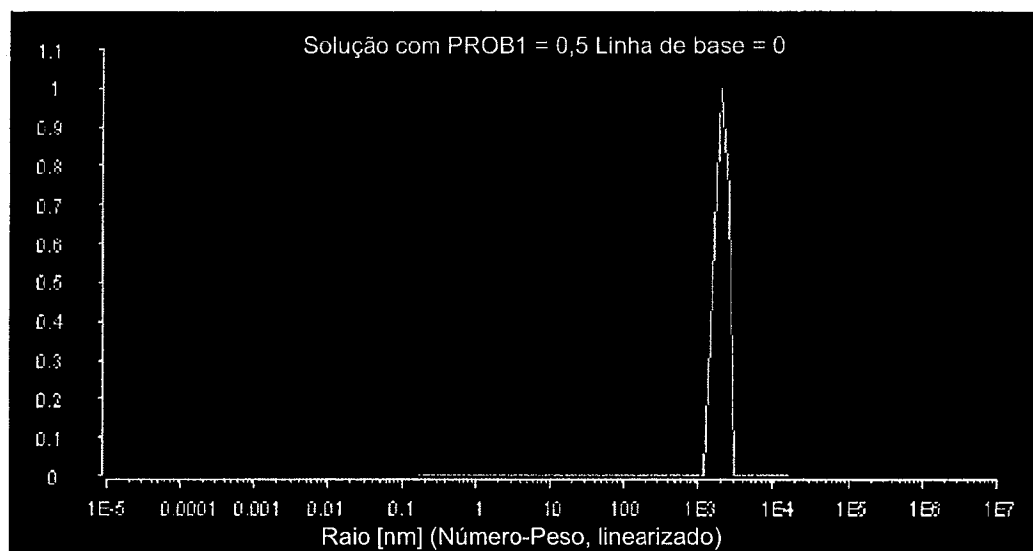
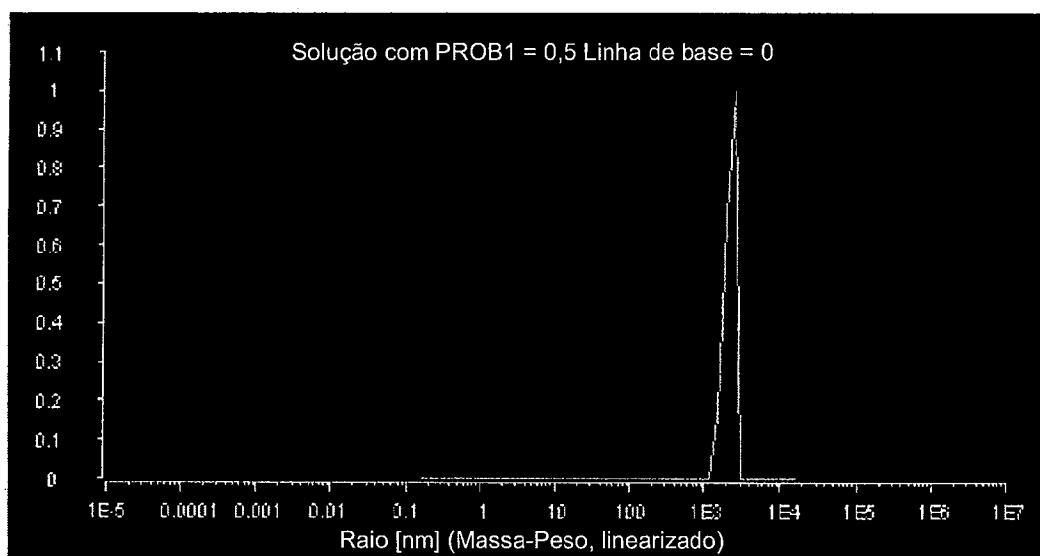


FIGURA 12

**FIGURA 13**

**FIGURA 14**

**FIGURA 15A****FIGURA 15B**

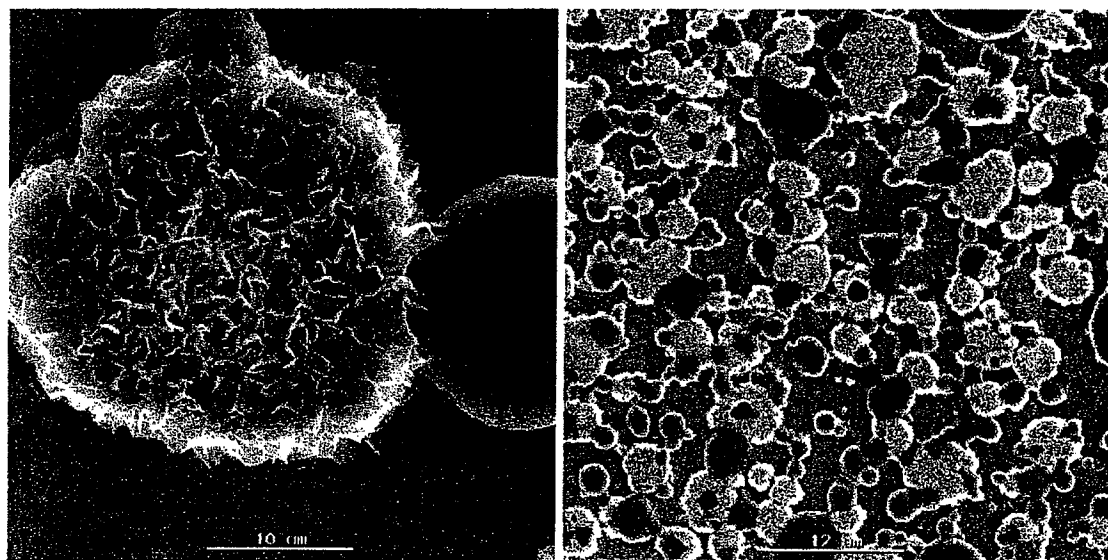
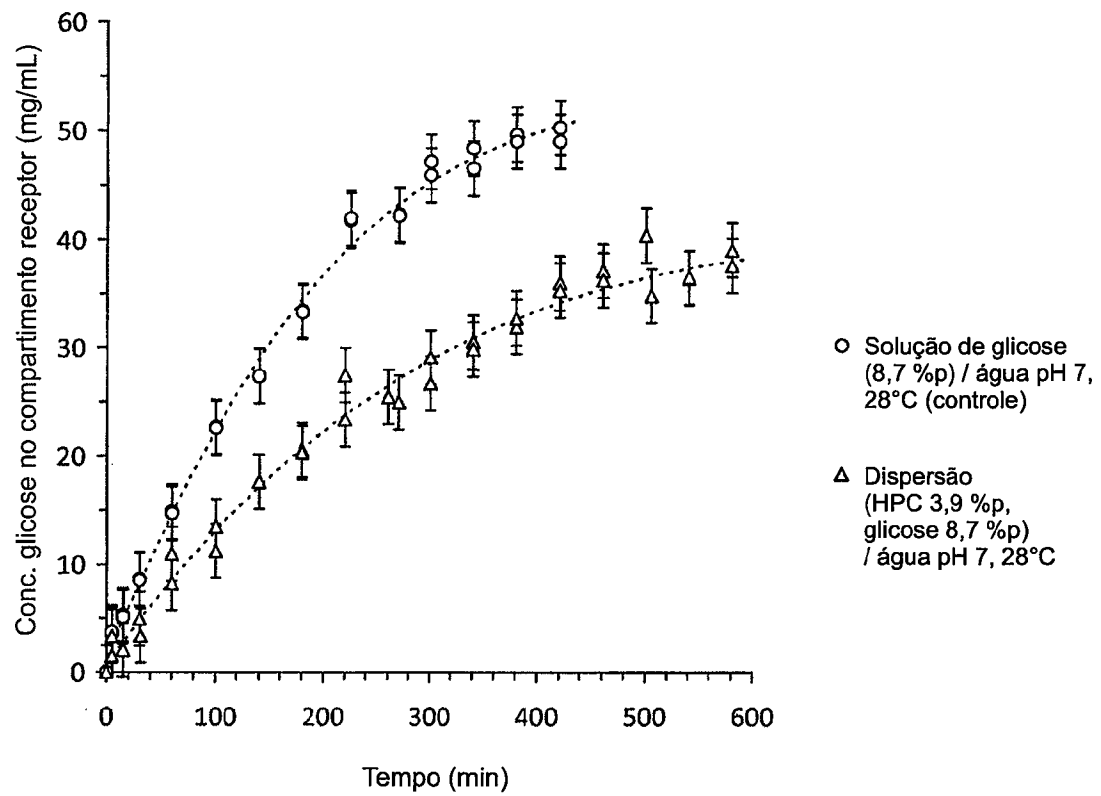
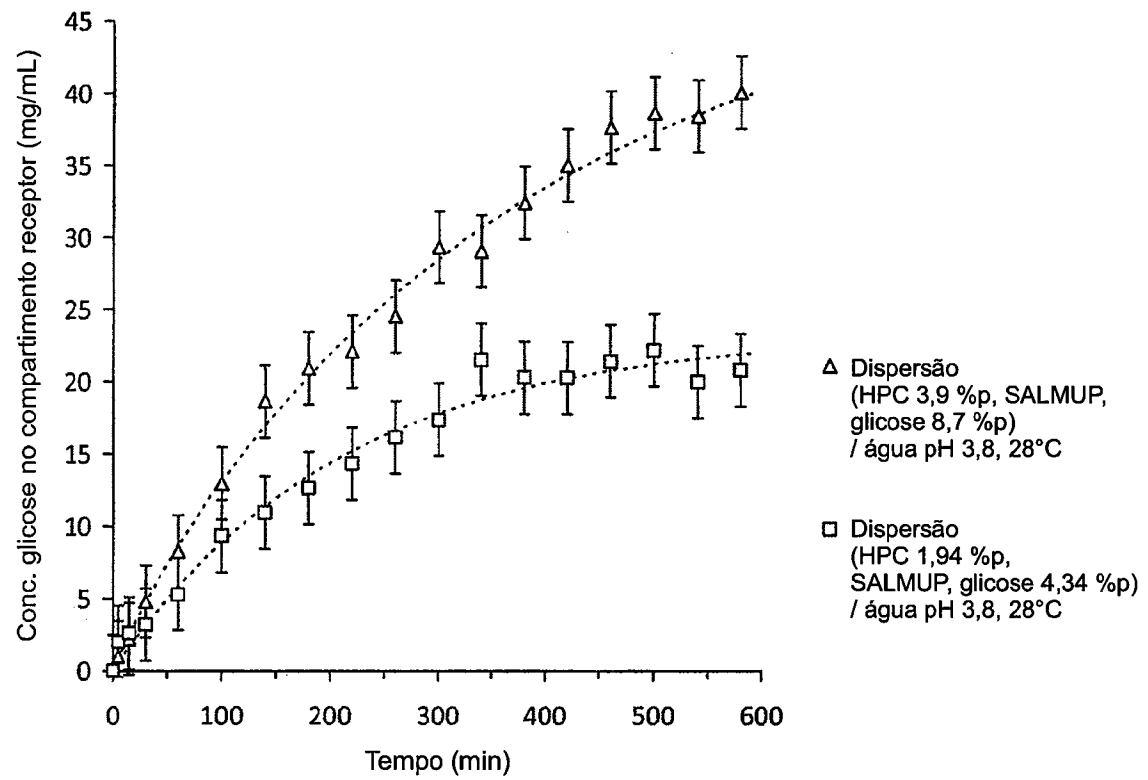
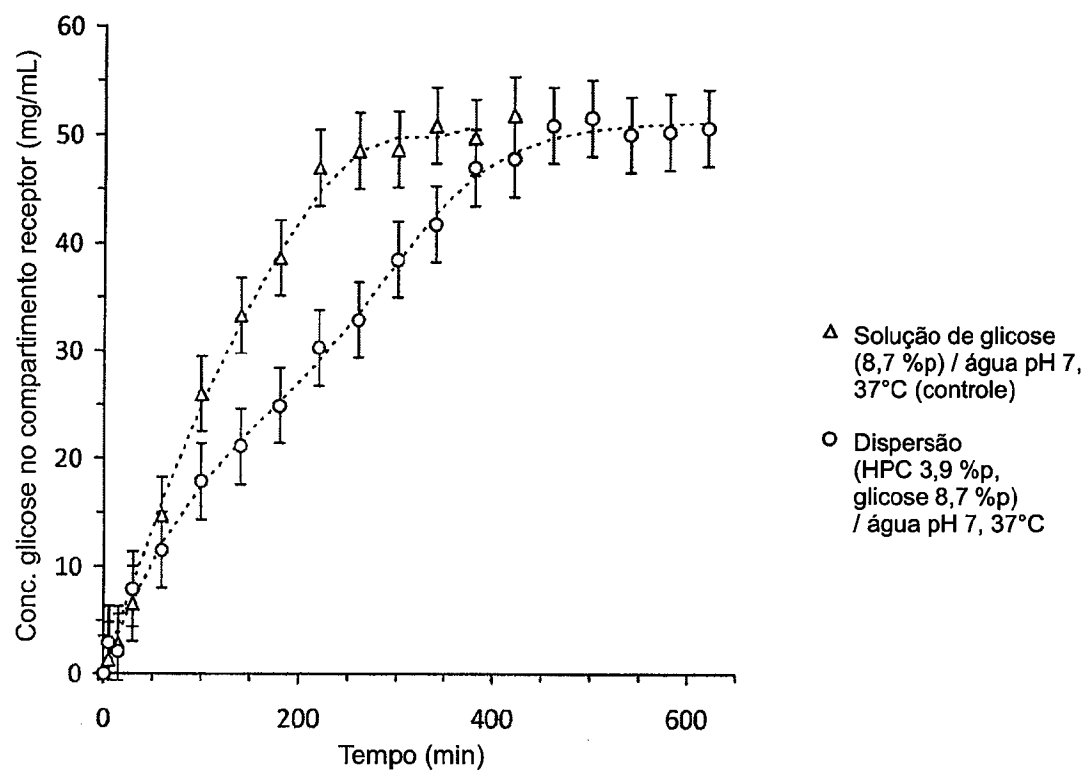
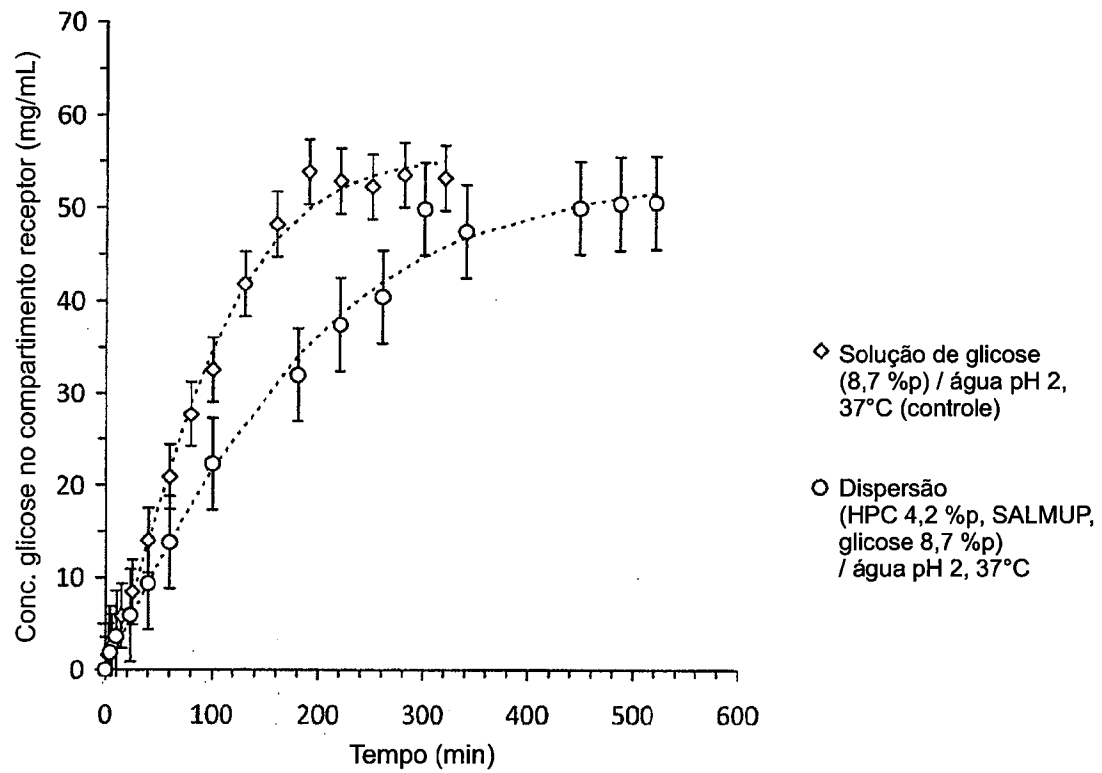


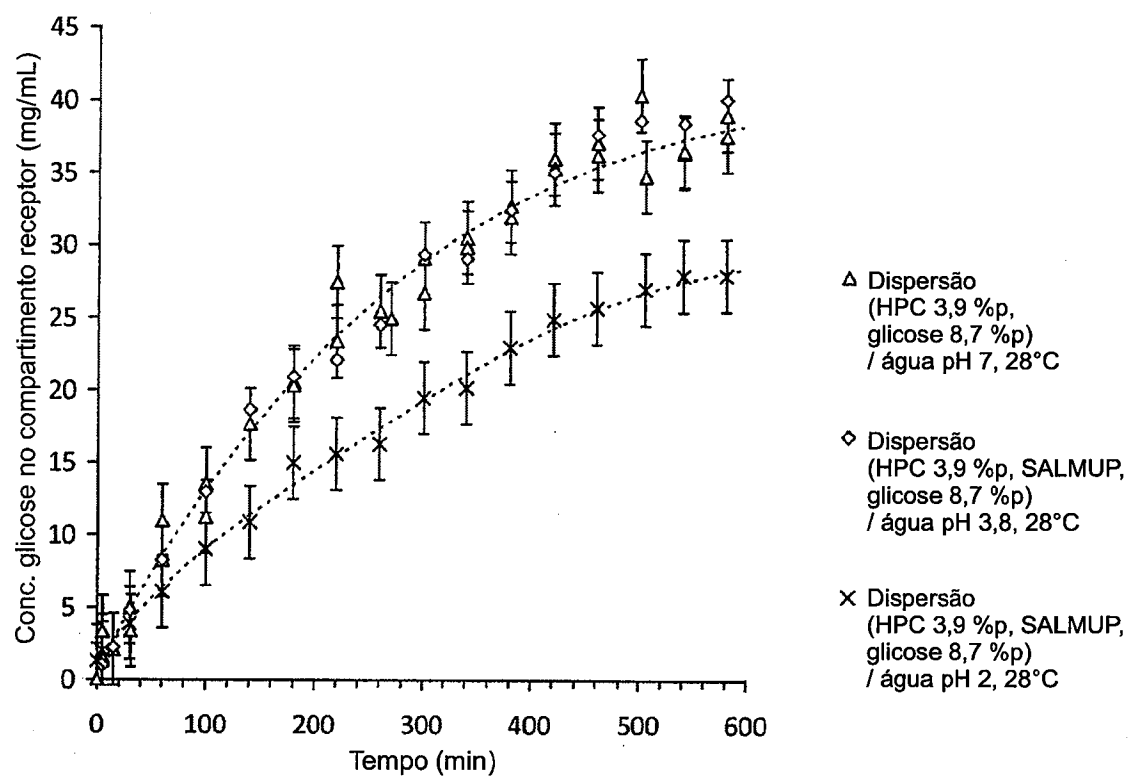
FIGURA 15C

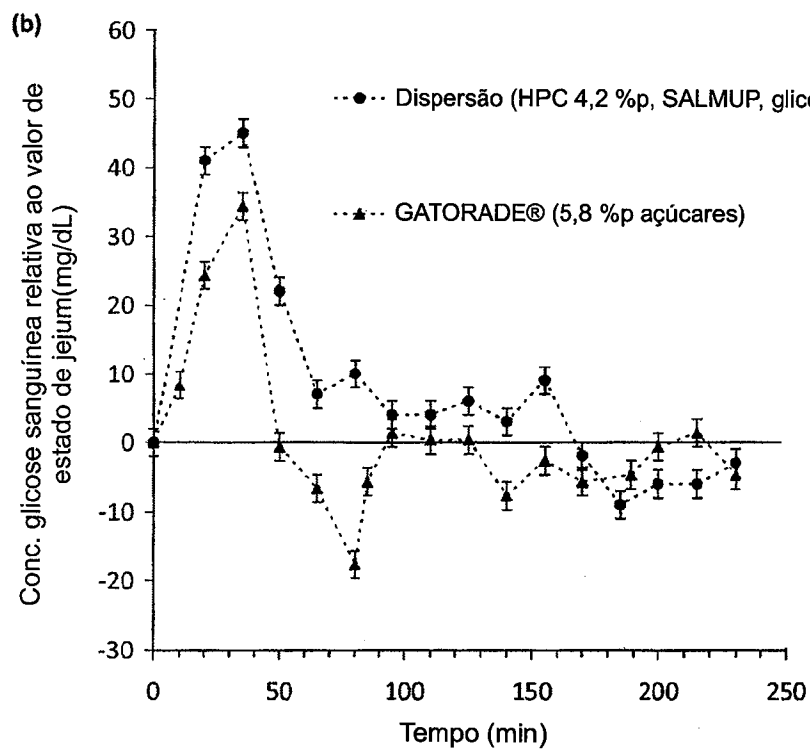
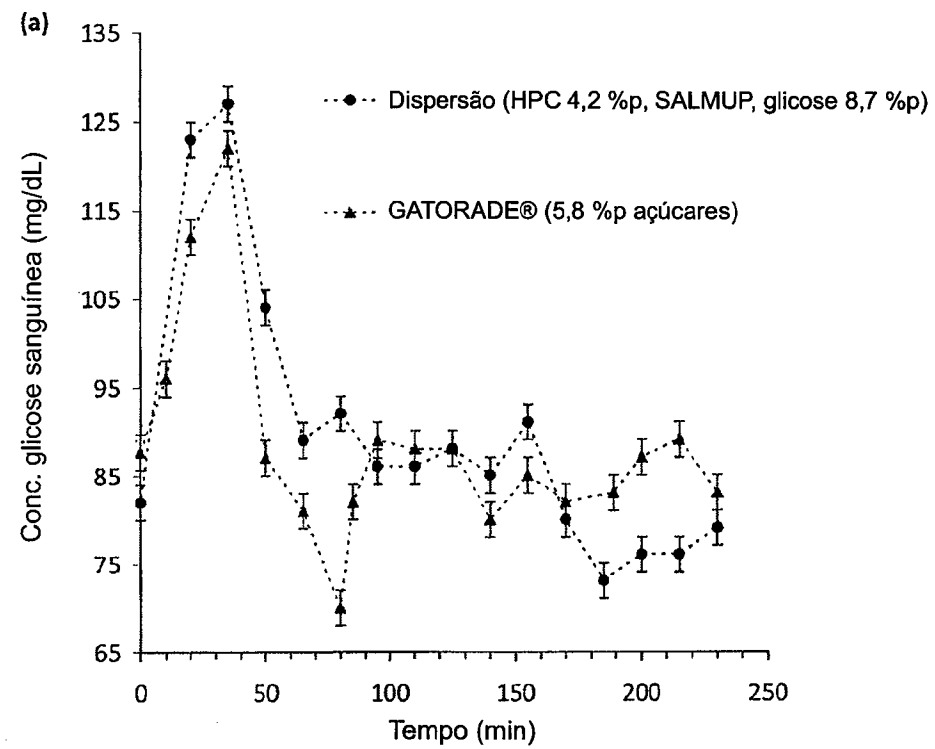
**FIGURA 16**

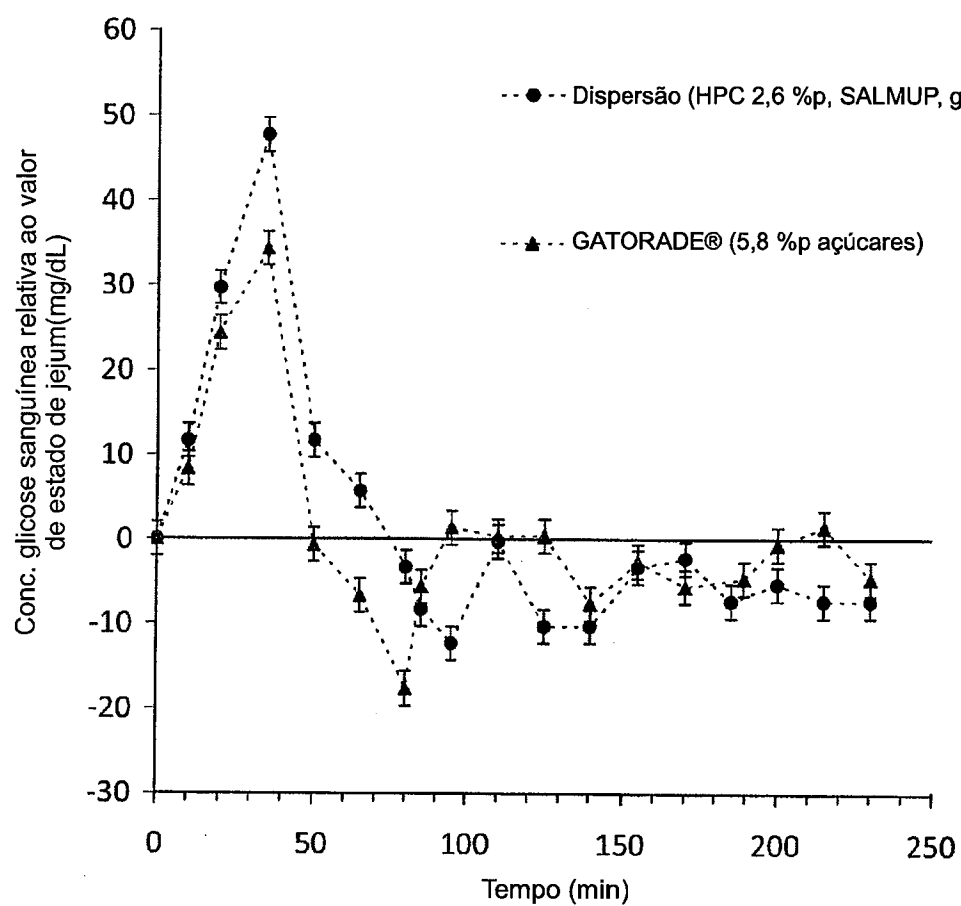
**FIGURA 17**

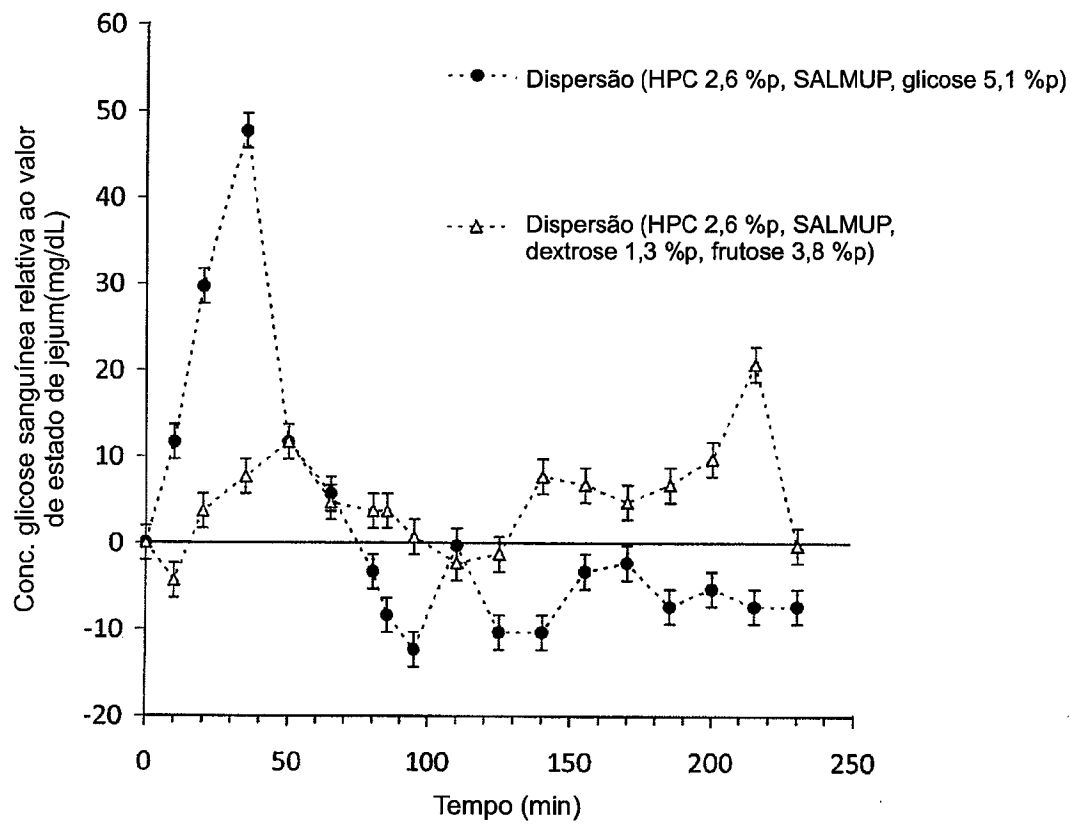
**FIGURA 18**

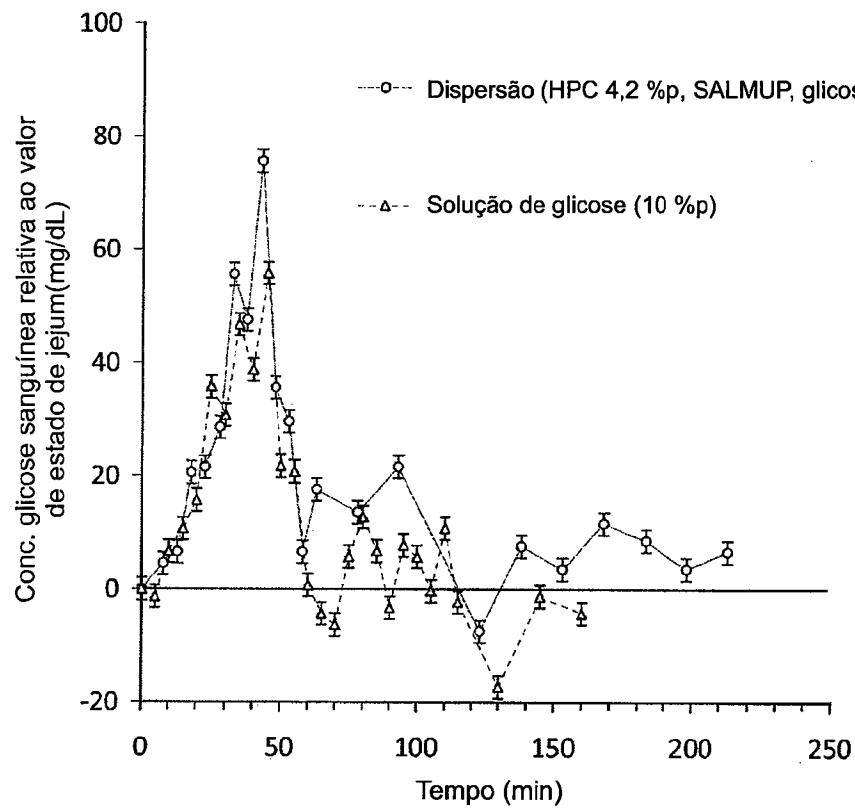
**FIGURA 19**

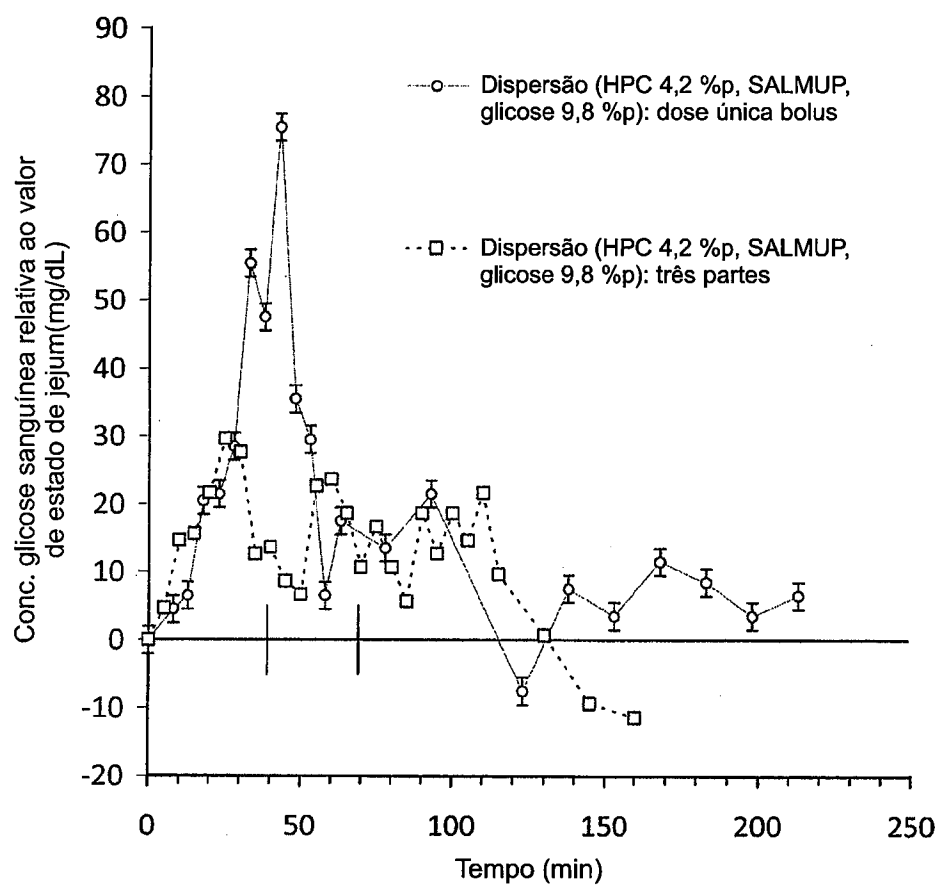
**FIGURA 20**

**FIGURA 21**

**FIGURA 22**

**FIGURA 23**

**FIGURA 24**

**FIGURA 25**

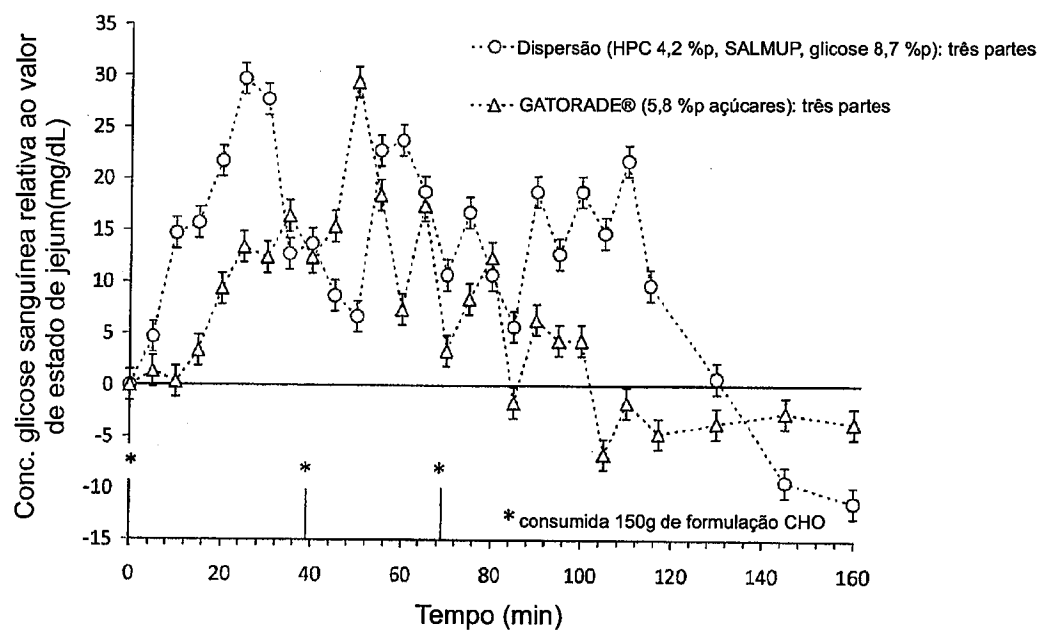
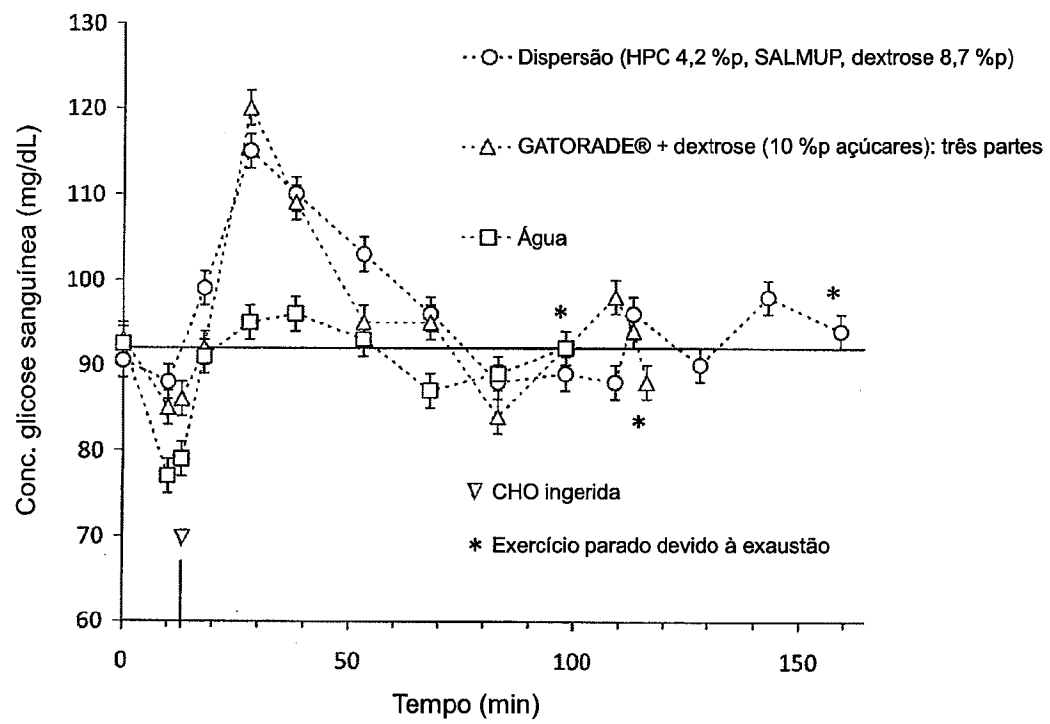
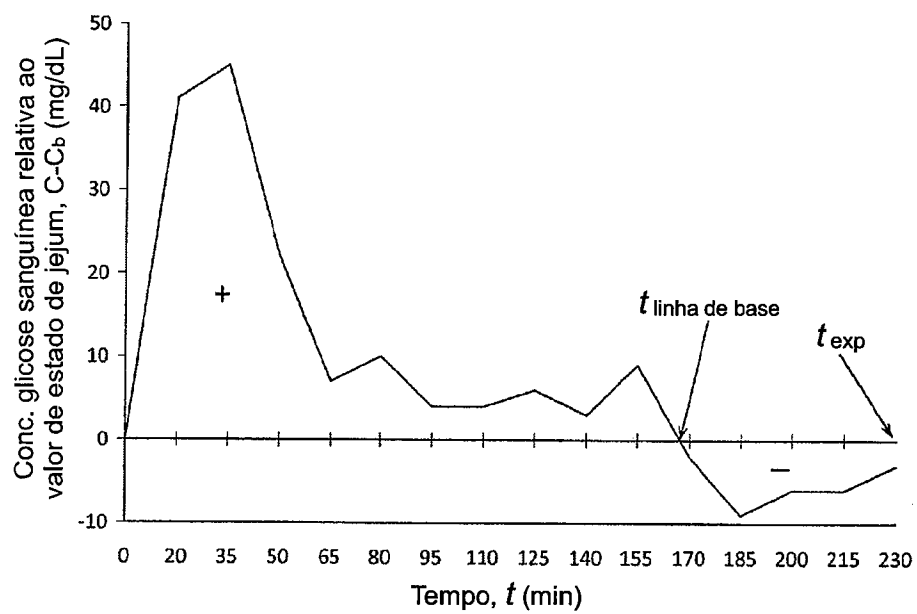


FIGURA 26

**FIGURA 27**

**FIGURA 28**