Biodisponibilità: modelli di assorbimento intestinale *in vitro*

Federico Benetti
ECSIN-ECAMRICERT

Quali sono le caratteristiche che dovrebbero essere considerate nella formulazione e nella scelta di un nutraceutico?

Definizioni

Efficienza

- **Bioaccessibilità** — frazione di nutrienti rilasciata dalla matrice alimentare durante la digestione gastro-intestinale e disponibile per l'assorbimento
- **Biodisponibilità** — frazione di nutrienti assorbita dall' organismo ed in grado di raggiungere la circolazione sanguigna

Funzionalità — Capacità di un principio attivo di espletare la sua funzione su un organismo vivente o un tessuto biologico, alla concentrazione presente nel circolo sanguigno.

Sicurezza — formulazioni e/o di un principio attivi non devono presentare effetti avversi per un organismo vivente o tessuti biologici

Nutraceutica

Diversità

Formulazione nutraceutica e sua somministrazione

VS

Altre tipologie di somministrazione

Assorbimento

ASSORBIMENTO ORALE

ASSORBIMENTO INTESTINALE

Processo Digestivo

BOCCA: SALIVA
Digestione degli zuccheri
α- AMILASI
pH=7

Stomaco: SUCCHI GASTRICI
Digestione delle proteine
PEPSINA
pH=2

FEGATO: BILE
Emulsione dei lipidi
pH=6

ASSORBIMENTO

PANCREAS: SUCCHI PANCREATICI
Digestione proteine e zuccheri
Digestione dei lipidi
PANCREATINA E LIPASI
pH=7

Effetti del processo digestivo su formulazioni

- Come dimostrare che una formulazione nutraceutica è caratterizzata da una maggiore **Efficienza** (Bioaccessibilità e Biodisponibilità)?

- Come possiamo dimostrare la **Funzionalità** di una formulazione nutraceutica?

- Come garantire la **Sicurezza** di una formulazione?

Quanto e cosa di quello che assumiamo arriva a destinazione dopo la digestione?

Valorizzazione dei modelli *in vitro*

"….the possibility to use **biological *in vitro* model fluids** (e.g. **saliva, gastrointestinal fluids**, mucous, plasma or lymph) should be considered…"

"…with an ***in vitro* digestion model**, the **conditions of the human gastrointestinal tract can be simulated**, i.e. temperature, mixing, transit time, composition of salt, enzymes and other constituents such as bile…"

Vantaggi Modello Digestivo *In Vitro*

Ecam Ricert
Innovation in research

ecsin
european center
for the sustainable impact
of nanotechnology

Flessibilità del Modello Digestivo *In Vitro*

DIGIUNO **SAZIETÀ**

Caratteristiche Chiave Modello Digestivo *In Vitro*

- **Compartimenti** (bocca, stomaco, ecc)
- **Sali** (componente inorganica) ed **Enzimi** (componente organica)
- **Temperatura costante** (37 °C)
- **Tempi di transito** del digerito nei vari compartimenti
- **Rapporti volumetrici** tra fluidi digestivi
- Rispetto del **profilo di pH**
- **Peristalsi**

Modello Digestivo *In Vitro*

AD OGNI PASSAGGIO È POSSIBILE VALUTARE:

- STABILITÀ
- RILASCIO PRINCIPIO ATTIVO
- RILASCIO IONICO

Quello che arriva viene assorbito?

Coltura *in vitro* su membrana semipermeabile

Tight junction

Microvilli

Polarità

Microfluidica

Trasportatori ed enzimi

Correlazione *In Vitro – In Vivo*

Artursson P. and Karlsson J., Biochem. and Biophys. Res. Comm .(1991)

Valutazione dell'efficacia

ASSORBIMENTO

SECREZIONE

Valutazione dell'efficacia

- ✓ **Quantificazione della sostanza nei compartimenti apicale e basolaterale**
- ✓ **Permeabilità apparente (P_{app})**
- ✓ **Assorbimento/diffusione/secrezione**
- ✓ **Effetto sulle tight junction**
- ✓ **Substrato P-gp**
- ✓ **Localizzazione e trafficking**

Efficacia e Sicurezza

Valutazione della sicurezza

TEER

P_{app}

Integrità di membrana

Vitalità cellulare

Rilascio di molecole dell'infiammazione

Genotossicità

Stress ossidativo

Espressione genica

Modelli per la valutazione *in vitro* di efficacia e sicurezza

Modello	Efficacia	Sicurezza
Caco-2	Assorbimento	Integrità di barriera Citotossicità Meccanismi molecolari
Caco-2 e cellule caliciformi mucipare	Assorbimento, mucopenetrazione	
Caco-2 e cellule associate all' epitelio follicolare (cellule M)	Assorbimento, trasporto trans-citosi mediato da cellule M	
Tripla coltura (Caco-2 con cellule caliciformi e cellule M)	Assorbimento, mucopenetrazione e trasporto trans-citosi	

Funzionalità

Fun

Capa di espletare la sua funzione su un
orgar to biologico, alla concentrazione
prese o.

Biotrasformazione e Modello Epatico *in vitro*

Ecam Ricert
Innovation in research

ecsin
european center
for the sustainable impact
of nanotechnology

Assorbimento Orale

ASSORBIMENTO ORALE

ASSORBIMENTO INTESTINALE

"…market for drug products in oral thin film formulations was valued of $500 million in 2007 and could reach $2 billion in 2012. Based on upward global growth trends of the past decade, the fast dissolving dosage market could produce revenues of $13 billion by 2015…"

Nair et al., 2015

Vantaggi del modello orale e sublinguale

Modello Orale e Sublinguale

Assenza strato corneo

In Vivo

In Vitro

Membrana semipermeabile

Valutazione dell'efficacia

- ✓ **Quantificazione della sostanza nei compartimenti apicale e basolaterale**
- ✓ **Permeabilità apparente (P_{app})**
- ✓ **Assorbimento/diffusione/secrezione**
- ✓ **Effetto sulle tight junction**
- ✓ **Localizzazione e trafficking**

Valutazione della sicurezza

TEER

P_{app}

Integrità di membrana

Vitalità cellulare

Rilascio di molecole dell'infiammazione

Stress ossidativo

Genotossicità

Espressione genica

Microbiota Intestinale

Microbiota e impatto sulla salute umana

di organismi
corpo umano)

Inibizione crescita batteri patogeni

Sviluppo della Barriera Mucosa

Attivazione sistema immunitario

Sintesi di vitamine

osto da almeno
ecie (identificate)

Riduzione del pH nell'intestino crasso

Metabolismo dei succhi biliari

Degradazione composti proteici

Produzione di acidi grassi a catena corta

a: Ileo distale e colon

Effetti Disbiosi del Microbiota Intestinale

Probiotici

"organismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite"

Prebiotici

«un ingrediente fermentato selettivamente che permette modifiche specifiche, sia in composizione e/o attività della microflora gastrointestinale, che conferiscono beneficio alla salute del'ospite»

Limiti Probiotici

Numero adeguato «....somministrati in quantità adeguata....» **Funzionalità**

Microincapsulazione e *delivery systems*

Alginati

Gomme

Proteine

Polimeri Sintetici

Microincapsulazione e *delivery systems*

Tecnologia Core-Shell

Rivestimenti multistrato

Multiparticolato

Rivestimento enterico

Composito

FAST

Ecam Ricert

ecsin
european center
for the sustainable impact
of nanotechnology

Simbiotico

«Miscela di probiotico + prebiotico. Questa formulazione consente di aumentare la sopravvivenza dell'organismo probiotico, perché rende immediatamente disponibile il suo substrato per la fermentazione.»

Valutazione Efficacia, Funzionalità e Sicurezza

Ecam Ricert
Innovation in research

ecsin
european center
for the sustainable impact
of nanotechnology

ECSIN LAB
Viale Porta Adige, 45 45100 Rovigo (Italy)
+39 0425 377 501 | ecsin@ecamricert.com

f.benetti@ecamricert.com

Tel.: 0425377501