



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102020003525-8 A2



(22) Data do Depósito: 19/02/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 31/08/2021

(54) **Título:** COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, RESPECTIVO PROCESSO DE OBTENÇÃO SUSTENTÁVEL E USOS

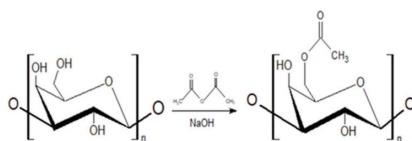
(51) **Int. Cl.:** A61K 38/22; A61K 38/28; A61K 9/00; A61K 9/48; A61K 9/24; (...).

(52) **CPC:** A61K 38/22; A61K 38/28; A61K 9/0024; A61K 9/4808; A61K 9/209; (...).

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** ELIADNA DE LEMOS VASCONCELOS SILVA; ANTÔNIA CARLA DE JESUS OLIVEIRA; YURI BASILIO GOMES PATRIOTA; ALMIR GONÇALVES WANDERLEY; MÔNICA FELTS DE LA ROCA SOARES; JOSÉ LAMARTINE SOARES SOBRINHO.

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, RESPECTIVO PROCESSO DE OBTENÇÃO SUSTENTÁVEL E USOS. A presente invenção descreve um produto, processo de obtenção e uso de uma composição farmacêutica. A composição farmacêutica consiste em um sistema nanoestruturado, a partir de um heteropolissacarídeo ácido ramificado, que apresenta a estrutura composta pela presença do grupo éster carbonílico, do grupamento acetil. O processo consiste na modificação (acetilação) da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*), sem a utilização de solventes tóxicos (processo sustentável). Este processo favorece a interação com polímeros catiônicos para formar nanopartículas. Seu uso é indicado para o transporte de hormônios preferencialmente preferencialmente insulina.



**COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO
OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, RESPECTIVO
PROCESSO DE OBTENÇÃO SUSTENTÁVEL E USOS**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente patente de invenção é pertencente ao campo das Ciências Farmacêuticas/Química.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] A goma de cajueiro (GC) é um polissacarídeo hidrofílico derivado do exsudado extraído da árvore *Anacardium occidentale*. Trata-se de um exsudato de fácil obtenção e isolamento é de baixo custo. É produzida pelas células epiteliais da casca do caule da planta em resposta a estímulos mecânicos ou contra-ataques de patógenos (KUMAR et al., 2012). A goma apresenta-se como um heteropolissacarídeo ácido ramificado e apresenta a estrutura composta por galactose (72-73%), glicose (11-14%), arabinose (4,6-5%), ramnose (3,2-4%) e ácido glucurônico (4,7-6,3%) (PAULA; RODRIGUES, 1995; RIBEIRO et al., 2016) (Figura 1).

[003] A goma de cajueiro tem sido utilizada tanto na área alimentícia (BR1020160278015; KUMAR et al., 2012) como na área farmacêutica com potenciais efeitos farmacológicos estudados tais como ação anti-inflamatória (YAMASSAKI et al., 2015); cicatrizante (SHIRATO et al., 2006); antitumoral (FLORÊNCIO et al., 2007); atividade antibacteriana (TORQUATO, 2004) e gastroprotetora (CARVALHO et al., 2015). Além de apresentar-se como material formador de filme podendo ser aplicada em dispositivos

nanobiomédicos (ARAÚJO et al., 2012), tem sido relatado seu uso como agente gelificante em formulação tópica (KUMAR, et al., 2009) e como agente aglutinante de comprimidos (GOWTHAMARAJAN et al., 2011). Ainda em comprimidos, o uso da goma foi capaz de aumentar a resistência mecânica dos mesmos, levando a uma desintegração tardia e promovendo a liberação controlada do fármaco (OFORI-KWAKYE et al., 2010). As gomas naturais têm sido utilizadas em sistemas de liberação de fármacos e seu uso apresenta vantagens devido o baixo custo de obtenção e disponibilidade, além da biocompatibilidade (RANA et al., 2011). Dentre as vantagens apresentadas para o uso das gomas naturais estão o baixo custo, baixo risco de efeitos colaterais, processamento ecologicamente sustentável e boa disponibilidade (RIBEIRO et al., 2016).

[004] A GC apresenta potencial aplicação em sistema de liberação prolongada (BR1020160183081; BR1020150273371; BR102014014009; BR102016006687; IN201103303-I1; GUILHERME et al., 2005; OKOYE et al., 2012; FURTADO et al., 2013). Por ser um biopolímero biodegradável, biocompatível, diversos estudos têm aplicado a goma de cajueiro na nanotecnologia, nanopartículas à base de goma de cajueiro e quitosana foram preparadas por complexação iônica em meio aquoso por Oliveira et al. (2009). Nanoesferas de goma de cajueiro, quitosana e o agente de reticulação tripolifosfato de sódio foram formadas por interações eletrostáticas, iônicas e ligações de hidrogênio resultando na formação de um complexo promissor para entrega de fármacos, sua aplicação com a insulina mostrou proteção da molécula no trânsito gastrointestinal bem como seu direcionamento para o sítio de ação (BEZERRA, 2016).

[005] A goma de cajueiro é considerada um polieletrólito fraco por apresentar poucos grupos ácidos cerca de 4,5% (RIBEIRO et al., 2016). Alguns processos para purificação de goma do cajueiro já foram descritos (PI0004114-9; RODRIGUES et al., 1993) incluindo a modificação química da goma (PI0404265-4; PITOMBEIRA et al., 2015; DIAS et al., 2016; SONG et al., 2013; LIMA et al., 2018; ZHANG et al., 2014). Polissacarídeos hidrofílicos podem ser modificados em biopolímeros anfílicos capazes de serem empregados como agentes encapsulantes em sistemas de liberação de princípios ativos (PITOMBEIRA et al., 2015).

[006] A acetilação da goma foi realizada com o objetivo de melhorar a estrutura para aplicação em sistemas nanoestruturados biodegradáveis, buscando uma liberação mais controlada de fármacos, bem como sua proteção gastrointestinal. A modificação química além de melhorar as propriedades funcionais, facilita as interações e a eficiência da associação de fármacos na matriz do biopolímero (RANA et al., 2011; ZHANG et al., 2009).

[007] A goma de cajueiro acetilada (GCA), (com grau de substituição de 2,8) foi sintetizada e utilizada na formação de nanopartículas (NPs) por automontagem para liberação controlada de indometacina que foi observada por até 72h (PITOMBEIRA et al., 2015). Nanopartículas de GCA têm sido aplicadas com eficácia em sistemas de liberação prolongada de fármacos, a goma modificada foi utilizada na síntese de sistema de liberação nanoestruturado para incorporação de tamoxifeno para o tratamento de queiloide (MACEDO, 2015). NPs utilizando a goma modificada foram desenvolvidas para incorporação de diclofenaco de dietilamina, apresentando-se como sistema de liberação controlada do fármaco, bem como promotor de permeação *in vitro* (DIAS et al., 2016).

[008] Em estudo realizado por Lima et al., 2018, a GCA (com grau de acetilação de 2,7) foi aplicada em NPs para encapsulação de anfotericina B, com perfil de incorporação de 70% do fármaco e liberação sustentada por até 72h. Apesar da melhora estrutural através da modificação, as metodologias anteriormente descritas para acetilação de polissacarídeos envolvem a presença de solventes tóxicos como piridina (PITOMBEIRA et al., 2015; DIAS et al., 2016), formamida (SONG et al., 2013; ZHANG et al., 2014) e ácido sulfúrico (LIMA et al., 2018). O tipo e a concentração dos catalizadores, bem como as variações de tempo e temperatura de reação, podem promover modificações nas hidroxilas livres das unidades monossacarídicas, resultando em polissacarídeos com baixo, médio e alto grau de substituição (COLUSSI et al., 2014). Devido ao fato do uso da goma de cajueiro na formação de complexos ser limitado por sua baixa carga aniônica, a goma foi acetilada com baixo grau de substituição, a fim de manter sua solubilização em água a pH neutro para a formação de nanopartículas por complexação de polieletrólitos. Outros estudos têm promovido uma alta hidrofobização da goma de cajueiro acetilada direcionando seu uso para o transporte de substâncias ativas hidrofóbicas (PITOMBEIRA et al., 2015, LIMA et al., 2018).

[009] As porções acetil foram introduzidas quimicamente no polissacarídeo utilizando uma metodologia livre de solvente tóxico, utilizando apenas NaOH e anidrido acético. A acetilação da GC conferiu um caráter aniônico maior do que o encontrado na goma nativa, permitindo melhor interação com polímeros catiônicos para formar nanopartículas.

[010] Atualmente a administração da insulina é realizada por via subcutânea sendo invasiva pela necessidade das várias injeções

diárias, além de não mimetizar a ação da insulina endógena e causar vários efeitos secundários. O tempo de ação da insulina regular administrada pela via subcutânea, em geral varia de 2-4 horas, este tempo curto de efeito resulta na necessidade de várias injeções ao longo do dia para controle glicêmico (CHIEN, 1996; TREHAN; ALI, 1998), com os valores basais de glicemia comumente retomados após 6 horas da administração, necessitando uma nova administração para controle glicêmico (SHENG et al., 2016; LOPES et al., 2015). Diante disso se faz necessário a aplicação de várias injeções diárias o que torna incômodo para o paciente, além disso, pela via subcutânea a insulina não é distribuída de forma adequada no organismo, por não ter o monitoramento hepático que ocorre com a distribuição da insulina endógena, isso acarreta, em alguns casos, efeitos de hiperinsulinemia periférica, além de causar alterações nos tecidos nos locais das injeções repetidas tais como lipodistrofia e lipoatrofia (OWENS et al, 2003; LAUTERBACH; GOYMANN, 2015; ZHANG et al., 2015).

[011] A via oral seria a mais fisiológica e mais cômoda para o diabético, além de mimetizar a ação da insulina endógena tendo uma distribuição mais homogênea no organismo após efeito da primeira passagem hepática (OWENS et al., 2003). No entanto, a biodisponibilidade oral da insulina é baixa pela elevada atividade proteolítica e baixa permeabilidade no trato gastrointestinal (DELIE; BLANCO-PRIETO, 2005). Estudos *in vivo* com administração de solução de insulina não encapsulada por via oral em ratos diabéticos demonstrou que a insulina sozinha não pode ser absorvida de forma suficiente para induzir um efeito biológico, não reduzindo a glicemia dos animais (REIS et al., 2007; WOITISKI et al., 2010).

[012] O exsudato da goma de cajueiro é rico em fibras capazes de se ligar à água formando géis que resulta em uma camada superficial ao longo do epitélio intestinal capaz de estabilizar o metabolismo energético e controlar os aumentos bruscos dos níveis glicêmicos nos diabéticos (ANDRADE et al., 2013). CG em preparações solúveis em água apresentou propriedades antidiabéticas (LIMA et al., 2006; SILVA et al., 2018).

[013] Nanopartículas de alginato e sulfato de dextrano contendo insulina revestidas com quitosana e albumina quando administradas a ratos diabéticos na dose de 50 UI/kg, reduziram os níveis de glicemia para 40% do valor basal com efeito hipoglicemiante sustentado ao longo de 24 horas (WOITISKI et al., 2010).

[014] Estudo anterior realizado com nanopartículas de alginato revestidas com quitosana contendo insulina, na dose de 50 UI/kg, mostrou resultado de eficácia a partir de 2 horas após administração das nanopartículas, reduzindo de forma constante os níveis de glicemia, alcançando 36% da glicemia basal, 14 h após administração (REIS, 2007).

[015] As nanopartículas foram preparadas utilizando a técnica de complexação polieletrólítica de biopolímeros com cargas opostas. A utilização de polímeros catiônicos no preparo de nanopartículas potencializa a captação paracelular, possibilitando o transporte de macromoléculas (VAN DER MERWE et al., 2004). Estudos prévios com nanopartículas de biopolímero também preparadas por complexação de polieletrólito mostraram um perfil de liberação de insulina que atingiu a liberação máxima após 30 min em contato com o pH intestinal, alcançando equilíbrio após 150 min de estudo em

condições gastrointestinais sem liberação posterior (WOITISKI et al., 2009a).

[016] A quitosana é um polímero catiônico que possui grupamentos aminas na estrutura responsáveis por conferir carga positiva à molécula (ROBERTS, 1992; SHEPHERD et al., 1997). A influência da ação mucoadesivas da quitosana é capaz de conferir mucoadesividade das NPs em meio intestinal, aumentando o tempo de permanência das mesmas no epitélio intestinal favorecendo a absorção e o aumento da biodisponibilidade oral da insulina; além de ser utilizada para aumentar a estabilidade das nanoesferas por minimizar a perda de material incorporado (REIS et al., 2008b; HUGUET et al., 1994).

[017] Géis de GC e quitosana acetilada apresentaram liberação controlada de pilocarpina na presença da goma (MACIEL et al., 2006). Matrizes poliméricas compostas de quitosana e goma de cajueiro foram preparadas para encapsular o óleo essencial das folhas de *Lippia sidoides*, que mostrou ter efeito larvicida contra larvas de *Aedes aegypti* (PAULA et al., 2011; ABREU et al., 2012). Em outra abordagem também utilizando o óleo essencial de *Lippia sidoides*, a goma de cajueiro foi utilizada com alginato para formação de um sistema polimérico por gelificação ionotrópica apresentando potencial atividade larvicida (PAULA et al., 2012). Hidrogéis aplicados como curativos para absorção de exsudatos inflamatórios foram preparados à base de goma de cajueiro, quitosana e cloreto de cálcio, este último adicionado para favorecer a reticulação entre os polímeros (SOARES et al. 2014).

[018] O tamanho das nanopartículas é um fator importante para a absorção gastrintestinal (NORRIS et al., 1998; DESAI et al., 1996; SAEZ et al., 2000), além de influenciar outros fatores como a

distribuição corporal (JANI et al., 1990), mucoadesão (TAKEUCHI et al., 1996; GOTO et al., 2006) e perfil de liberação (RITGER; PEPPAS, 1987). O limite máximo de diâmetro para que as partículas possam ser absorvidas no meio intestinal é 10 μm (ELDRIDGE et al., 1986; DESAI et al., 1997; JUNG et al., 2000). Um estudo anterior relatou que nanopartículas menores que 1000 nm permitiram a absorção de insulina através da atividade de transcitose das placas de Peyer, que são ricas em células-M no epitélio intestinal (LOPES et al., 2014).

[019] A carga superficial da nanopartícula medida pelo potencial zeta também é um parâmetro importante para a caracterização dos sistemas de liberação de fármacos, pois determina a interação e penetração através das barreiras fisiológicas de absorção intestinal (KUMARI et al., 2010). O potencial zeta caracteriza a carga elétrica global da superfície de uma partícula, determinando a mobilidade eletroforética das partículas que é mensurada pela sua velocidade por unidade de campo elétrico que é aplicado sobre a dispersão de íons no diluente com força iônica. Os resultados do potencial zeta indicam a estabilidade eletrostática das nanopartículas com valores superiores a 30 mV ou inferiores a 30 mV, relacionados às nanopartículas com menor tendência de formação de agregados (BENITA; LEVY, 1993).

REFERÊNCIAS

[020] ABREU, F.O.M.S. et al. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, n. 4, p. 1277-1282, 2012.

[021] ARAÚJO, I. M. S. et al. Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. , *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. v. 32, n. 6, p. 1588-1593, 2012.

[022] BENITA, S.; LEVY, M.Y. Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 82, p. 1069–79, 1993.

[023] BERNSTEIN, M. A. et al. Optimization and Automation of Quantitative NMR Data Extraction. *Analytical Chemistry*, v. 85, p. 5778–5786, 2013.

[024] CARVALHO, N. S. et al. Gastroprotective Properties of Cashew Gum, a Complex Heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in Naproxen-Induced Gastrointestinal Damage in Rats. *Drug Development Research*, 76, 143-151, 2015.

[025] CHIEN, Y.W. Human insulin: Basic sciences to therapeutic uses. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, New York, v. 22, n. 8, p. 753-789, 1996.

[026] COLUSSI, R. et al. Acetylated rice starches films with different levels of amylose: Mechanical, water vapor barrier, thermal, and biodegradability properties. *Food Chemistry*, v. 221, p. 1614–1620, 2017.

[027] COLUSSI, R. et al. Structural, morphological, and physicochemical properties of acetylated high-, medium-, and low-

amylose rice starches. Carbohydrate Polymers, v. 103, n. 1, p. 405–413, 2014.

[028] DESAI, M. P. et al. Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. Pharmaceutical Research, v. 13, p. 1838-1845, 1996.

[029] DESAI, M.P. et al. The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in Caco-2 cells is size dependente. Pharmaceutical Research, v. 14, p. 1568-1573, 1997.

[030] DIAS, S. F. L. et al. Acetylated Cashew Gum-based Nanoparticles for Transdermal Delivery of Diclofenac Diethyl Amine. Carbohydrate Polymers, v. 143, p. 254-261, 2016.

[031] ELDRIDGE, J.H. et al. Polyalkyl cyanoacrylate nanocapsules. Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 38, n. 3, p. 216-218, 1986.

[032] FLORÊNCIO, A.P.S. et al. Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. Revista Eletrônica de. Farmácia. v. 4, 1, 61-65, 2007.

[033] FURTADO, R. et al. Modificação Química de Goma de Cajueiro: Novas Características e Potencialidades de Aplicações. (Vol. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 86). Fortaleza, Brazil: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Agroindústria Tropical Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013.

[034] GEORGE, M.; ABRAHAM, T.E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan-a review. Journal of Controlled Release, v. 114, p. 114, 2006.

[035] GOTO, M. et al. Gastrointestinal transit and mucoadhesive characteristics of complexation hydrogels in rats. Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 95, p.462-469, 2006.

[036] GOWTHAMARAJAN, K. et al. Preliminary study of *Anacardium occidentale* gum as binder in the formulation of paracetamol tablets. *Carbohydrate Polymers*. v. 83, p. 506–511, 2011.

[037] GUILHERME, M. R. et al. Morphology and water affinity of superabsorbent hydrogels composed of methacrylated cashew gum and acrylamide with good mechanical properties. *Polymer*, v. 46, p. 7867-7873, 2005.

[038] JANI, P. et al. Nanoparticle uptake by rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particles size dependency. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 42, p. 821-826, 1990.

[039] JUNG, T. et al. Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 50, p.147-160, 2000.

[040] KIM, S. et al. Solubilization of cashew gum from *Anacardium occidentale* in aqueous médium. *Carbohydrate Polymers*, v. 199, p. 205-209, 2018.

[041] KUMAR, A. et al. Cashew Gum A Versatile Hydrophyllic Polymer: A Review. *Current Drug Therapy*, v. 7, p. 2-12, 2012.

[042] KUMAR, R. et al. Evaluation of *Anacardium occidentale* gum as gelling agent in aceclofenac gel., *International Journal of PharmTech Research*. v.1, n. 3, p. 695–704, 2009.

[043] KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 75, n. 1, p. 1-18, 2010.

[044] LIMA, M.R. et al. Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin B encapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 108, p. 523-530, 2018.

[045] LOPES, M. A. et al. Intestinal absorption of insulin nanoparticles: contribution of M cells. *Nanomedicine*, v. 10, n. 6, p. 1139–1151, 2014.

[046] MACIEL, J. S. et al. Reacetylated chitosan/cashew gum gel: Preliminary study for potential utilization as drug release matrix. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 99, p. 326-334, 2006.

[047] MAGENHEIM, B.; BENITA, S. Nanoparticle characterization: a comprehensive physicochemical approach. *STP Pharma Sciences*, v.1, p. 221–41, 1991.

[048] MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles - A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 5, p. 561–573, 2006.

[049] NORRIS, D. A.; PURI, N.; SINKO, P.J. Effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 34, p. 135-154, 1998.

[050] OFORI-KWAKYE, K.; ASANTEWAA, Y.; KIPO, S. Physicochemical and binding properties of cashew tree gum in metronidazole tablet formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 2, p. 105-109, 2010.

[051] OKOYE, E., ONYEKWELI, A.; KUNLE, O. Solid State Characterization of *Anacardium occidentale* Gum. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, v. 4, p. 3709-3716, 2012.

[052] OLIVEIRA, M.A. et al. Chitosan/angico gum nanoparticles: Synthesis and characterization *Materials Science Engineering C*, v. 29, p. 448-451, 2009.

[053] PAULA, H.C.B. et al. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. *Materials Science and Engineering: C*, v. 31, p. 173-178, 2011.

[054] PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum: the exudate polysaccharide from *Anacardium-Occidentale* L. Carbohydrate Polymers, v. 26, p. 177–181, 1995.

[055] PITOMBEIRA, N. A. O. et al. Self- assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. Carbohydrate Polymers, v. 117, p. 610-615, 2015.

[056] RANA, V. et al. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. Carbohydrate Polymers, v. 83, p. 1031–1047, 2011.

[057] RIBEIRO, A. C. et al. Synthesis and characterization of acetylated amylose and development of inclusion complexes with rifampicin. Carbohydrates Polymers, v. 157, p. 267-274, 2017.

[058] RIBEIRO, A.J. et al. Gums' based delivery systems: review on cashew gum and its derivatives. Carbohydrate Polymers, v. 147, p. 188-200, 2016.

[059] RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release i. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the from of slabs, spheres, cylinders or discs. Journal of Controlled Release, v. 5, p. 23-36, 1987.

[060] ROBERTS, G.A.F. Chitin Chemistry. The Mac Millan Press, London, v. 1-110, p.274-315,1992.

[061] RODRIGUES, J., DE PAULA, R.; COSTA, S. Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L). Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 3, p. 33-36, 1993.

[062] SAEZ, A. et al. Freese-drying of polycaprolactone and poly (D,L-lactic-glycolic) nanoparticles induce minor particle size changes affecting the oral pharmacokinetics of loaded drugs.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 50, p. 379-387, 2000.

[063] SHEPHERD, R.; S. READER; A. FALSHAW. Chitosan functional properties. Glycoconjugate Journal, v. 14, p. 535-542, 1997.

[064] SHIRATO, G. V. et al. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de camundongos. Ciência rural, v. 36, p. 149-154, 2006.

[065] SONG, Y. et al. Effect of acetylation on antioxidant and cytoprotective activity of polysaccharides isolated from pumpkin (*Cucurbita pepo*, lady godiva). Carbohydrate Polymers, v. 98, p. 686–691, 2013.

[066] TAKEUCHI, H. et al. Enteral absorption of insulin in rats from mucoadhesive chitosan-coated liposomes. *Pharmaceutical Research*, v. 13, p. 896-901, 1996.

[067] TORQUATO, D. S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. World Journal of Microbiology & Biotechnology. v. 20, p. 505-507, 2004.

[068] VAN DER MERWE, S.M. et al. Trimethylated chitosan as polymeric absorption enhancer for improved peroral delivery of peptide drugs. Eur J Pharm Biopharm, v. 58, n. 2, p. 225-35, 2004.

[069] WOITISKI, C.B. et al. Colloidal Carrier integrating biomaterials for oral insulin delivery: Influence of component formulation on physicochemical and biological parameters. Acta Biomaterialia, v. 5, p. 2475-2484, 2009.

[070] YAMASSAKI, F. T. et al. Effect of the native polysaccharide of cashew-nut tree gum exudate on murine peritoneal macrophage modulatory activities. Carbohydrate Polymers, v. 125, p. 241-248, 2015.

[071] ZHANG, H. Z. et al. Pullulan acetate nanoparticles prepared by solvent diffusion method for epirubicin chemotherapy. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*, v. 71, p. 19–26, 2009.

[072] ZHANG, J. et al. Synthesis of oxidized glycerol monooleate-chitosan polymer and its hydrogel formation for sustained release of trimetazidine hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 465, p.32-41, 2014.

[073] BR102014014009. Hidrogel a base de polissacarídeos naturais, processos e usos. 2014.

[074] BR1020150273371. Blenda polimérica mucoadesiva para liberação prolongada de fármacos. 2015.

[075] BR102016006687. Desenvolvimento de formulados analgésicos nanoestruturados a base de *anacardium occidentale linn*. 2016.

[076] BR1020160183081. Nanoencapsulados de resíduos da indústria de processamento de frutas em matriz polieletrólítica de goma de cajueiro e quitosana para uso como revestimento em frutas minimamente processadas. 2016.

[077] BR1020160278015. Composições alimentícias de chocolate contendo goma de cajueiro, em barra, bombom e chocolate em pó, úteis como alimento funcional e nutracêutico. 2016.

[078] IN201103303-I1. Bio-polymer isolated from the nuts of *Anacardium occidentale*, useful for formulating suitable drug delivery compositions used for reducing blood pressure

[079] PI0004114-9. Processo de obtenção de goma de cajueiro purificada e composição de goma de cajueiro purificada. 2000.

[080] PI0404265-4. Hidrogéis superabsorventes constituídos da goma do cajueiro modificada e acrilamida. 2004.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[081] A goma de cajueiro foi submetida a um processo de modificação química, onde os grupamentos acetil foram introduzidos em sua estrutura em um processo livre de solventes, utilizando apenas NaOH e anidrido acético, resultando na goma de cajueiro acetilada.

[082] Devido à alcalinidade do NaOH ocorre-se um enfraquecimento das ligações de hidrogênio intermoleculares, o que permite uma maior acessibilidade à estrutura do polímero, aumentando a área superficial e diminuindo o grau de polimerização. Isto facilita a reação de acetilação entre as hidroxilas reativas da goma e o anidrido acético.

[083] As nanopartículas foram formuladas pela adição gota a gota de solução aquosa de quitosana em solução contendo goma de cajueiro acetilada e insulina. As nanopartículas do complexo polieletrólítico foram formadas pela interação das cargas opostas dos biopolímeros.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[084] A figura 1 descreve o fragmento estrutural da goma de cajueiro. R representa D- manose, L-ramnose, L-arabinose ou 1,2-arabinose ligados às cadeias.

[085] A figura 2 demonstra a goma de cajueiro após acetilação.

[086] A figura 3 representa o esquema simplificado da reação de acetilação entre as hidroxilas reativas da goma de cajueiro e o anidrido acético que ocorre pelo enfraquecimento das ligações de hidrogênio intermoleculares devido à alcalinidade do NaOH.

[087] A figura 4 descreve o esquema de preparação das nanopartículas de goma de cajueiro acetilada. As nanopartículas foram formuladas pela adição gota a gota de solução aquosa de quitosana em solução contendo GCA e insulina, sob agitação a 800 rpm por 40 minutos.

[088] A figura 5 descreve a morfologia das nanopartículas de goma de cajueiro acetilada analisada por Microscopia de Força Atômica, na qual pode-se observar nanopartículas esféricas.

[089] A figura 6 descreve a morfologia das nanopartículas de goma de cajueiro acetilada contendo insulina analisada por Microscopia de Força Atômica, na qual pode-se observar nanopartículas esféricas.

[090] A figura 7 descreve a morfologia das nanopartículas de goma de cajueiro acetilada contendo insulina analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura, demonstrando nanopartículas esféricas.

[091] A figura 8 descreve os espectros de Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR) para goma de cajueiro in natura (α) e goma de cajueiro acetilada (β). O espectro de FTIR para goma não modificada (α) mostrou uma banda a 3336 cm^{-1} devido à vibração de alongamento de O-H, uma banda a 2916 cm^{-1} de vibrações de C-H e bandas a 1145 , 1070 e 1022 cm^{-1} devido a vibrações do C-O-C de ligações glicosídicas e O-H de álcoois. Em contraste com o espectro

da goma bruta, a goma de cajueiro acetilada (β) apresenta bandas de vibração nas regiões de 1729 cm^{-1} em relação a C=O e em 1239 cm^{-1} característica de C-O. Essas bandas são atribuídas ao grupo éster carbonílico do grupamento acetil e demonstram a acetilação do polímero.

[092] A figura 9 apresenta o espectro de ^1H NMR para goma de cajueiro. O espectro da goma mostra um sinal a 1,1 ppm característico da presença de CH_3 de ramnose. O espectro de ^1H NMR para a goma acetilada está apresentado na Figura 10. Os sinais a 3,0 e 5,5 ppm são característicos dos prótons H-1 a H-6 presentes no polissacarídeo (β). O espectro da goma modificada mostra um novo sinal em 1,8 a 2,4 ppm devido ao grupo acetil inserido (α).

[093] A figura 10 apresenta o espectro de ^1H NMR para goma de cajueiro acetilada. Os sinais a 3,0 e 5,5 ppm são característicos dos prótons H-1 a H-6 presentes no polissacarídeo (β). O espectro de GCA mostra um novo sinal em 1,8 a 2,4 ppm devido ao grupo acetil inserido (α).

[094] A figura 11 descreve o perfil de liberação de insulina das nanopartículas *in vitro* em fluido gástrico simulado de pH 1,2 por 120 minutos seguido de meio intestinal em pH 6,8 a 37°C .

[095] A figura 12 demonstra a porcentagem da viabilidade celular nas concentrações testadas até $50\text{ }\mu\text{g/mL}$, comprovado a ausência de efeito citotóxico da goma de cajueiro acetilada sobre a linhagem HT-29 após 72 h de tratamento, visto que manteve a viabilidade acima de 70%. A significância na redução da viabilidade foi calculada a partir da Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo

pós-teste de Bonferroni, sendo considerado significativo quando $p < 0,05$.

[096] A figura 13 demonstra o gráfico da porcentagem da glicemia em relação ao valor basal após administração oral única de nanopartículas de goma de cajueiro acetilada contendo insulina (50 UI/kg, β) e sem insulina (α), até o período de 12h. Os valores representam as médias $\pm$ e.p.m. ($n = 6/\text{grupo}$). *Estatisticamente diferente das nanopartículas sem insulina, Teste t de Student para amostras não pareadas. As nanopartículas carregadas com insulina (50 UI/kg) diminuíram a glicemia de forma significativa quando comparadas com os ratos tratados com as nanopartículas vazias, apresentando diferença significativa a partir de 2 horas (-40%, $p < 0,05$), após esta fase inicial, os níveis de glicemia diminuíram até 12 h após administração das nanoesferas atingindo 49% da glicemia basal. Foi observado que a administração das nanopartículas sem insulina também reduziu a glicemia atingindo o valor de 67% da glicemia basal após 3 h de administração e 75% após 12 h.

[097] A figura 14 descreve os níveis de glicemia de ratos diabéticos recebendo nanopartículas com insulina (50 UI/kg, v.o., β); insulina regular – referência – INS (4 UI/kg, s.c., δ) ou veículo (controle diabético, α). Os dados representam as médias $\pm$ e.p.m. ($n=6/\text{grupo}$). *Estatisticamente diferente do grupo controle não tratado. ANOVA seguido pelo teste de Newman-keuls. O grupo controle não tratado, apresentou redução lenta da glicemia de 2 para 6 horas. Em contraste, um efeito de redução da glicose plasmática foi observado para a insulina injetada por via subcutânea a partir de meia hora após administração, alcançando maiores níveis de diminuição após 3 h atingindo 25% do valor inicial. Os valores basais de glicemia foram retomados após 6 horas. As NPs com insulina,

administradas por via oral, reduziram o aumento inicial dos níveis de glicemia observado nas primeiras horas de forma significativa quando comparado com o grupo diabético não tratado mantendo o controle dos níveis glicêmicos como observado até 12 h. A redução glicêmica atingida pelo sistema nanoestruturado foi de 51% após 12 horas.

[098] A figura 15 descreve os cortes histológicos dos fígados (HE, ampliação 10x) de ratos Wistar machos tratados oralmente por 15 dias. Controle sadio (α); Controle diabético (β), grupo tratado com nanopartículas de GCA sem insulina (δ) e grupo tratado com nanopartículas de GCA com insulina 50 UI/kg (ϵ). As setas indicam discreto infiltrado inflamatório.

[099] A figura 16 descreve os cortes histológicos dos rins (HE, ampliação 10x) de ratos Wistar machos tratados oralmente por 15 dias. Controle sadio (α); Controle diabético (β), grupo tratado com nanopartículas de GCA sem insulina (δ) e grupo tratado com nanopartículas de GCA com insulina 50 UI/kg (ϵ). As setas indicam discreto aumento do espaço da cápsula de Bowman.

[100] A tabela 3 descreve o efeito das nanopartículas administradas por via oral sobre os parâmetros hematológicos em ratos Wistar adultos tratados por 15 dias consecutivos. Os valores representam a média $\pm$ erro padrão da média (n = 6/grupo). VCM: Volume Corpuscular Médio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Média, CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média, RDW: Amplitude da Distribuição das Hemácias e VPM: Volume Plaquetário Médio.

[101] A tabela 4 descreve o efeito das nanopartículas administradas por via oral sobre os parâmetros bioquímicos em ratos

Wistar adultos tratados por 15 dias consecutivos. NPGCA: nanopartículas de GCA; NPGCA INS: nanopartículas de GCA com insulina. Valores representam a média $\pm$ erro padrão da média (n = 6/grupo). AST: aspartato aminotransferase, ALT: alanina-aminotransferase e GGT: Gama glutamil transferase. ^a Estatisticamente diferente do Controle Sadio; ^b estatisticamente diferente do Controle Diabético. (ANOVA seguido por Newman-Keuls, p <0,05).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[102] As porções acetil foram introduzidas quimicamente no polissacarídeo goma de cajueiro, utilizando uma metodologia livre de solvente onde 1 grama da goma foi suspenso em 8 mL de anidrido acético sob agitação magnética durante 5 min. Foi adicionado 6 mL de solução aquosa de NaOH a 50% sob agitação contínua por 90 min a 90 °C. A suspensão obtida como produto da reação foi dialisada utilizando uma membrana de acetato de celulose com um limite de peso molecular de 14000 Da, durante 48 horas a 25 °C, após foi congelada e liofilizada.

[103] Uma nova síntese de goma de cajueiro acetilada foi desenvolvida com a introdução de grupos acetil através de uma reação sem o uso de solventes tóxicos comumente utilizados para o método de acetilação da goma, conforme citado nos antecedentes da invenção.

[103] A acetilação do polímero foi confirmada por espectroscopia no infravermelho (FT-IR) utilizando um espectrofotômetro FT-IR PerkinElmer, espectro 400, no módulo ATR, na faixa de 4000 a 700 cm^{-1} . Os espectros das análises estão representados na Figura 8 confirmando a eficiência do processo de modificação química do biopolímero.

[104] Para avaliação por Ressonância Magnética Nuclear de próton (RMN ^1H), a amostra de goma de cajueiro foi dissolvida em óxido de deutério (D_2O), enquanto a goma acetilada foi dissolvida em uma mistura de D_2O (0,4 mL) e acetona- d_6 (0,3 mL). Os espectros foram obtidos no espectrômetro de RMN Agilent a 400 MHz a 50 °C. O sinal HDO foi usado como referência. O sinal foi deconvoluído e as integrações foram computadas de acordo com o protocolo GSD (BERNSTEIN et al., 2013), utilizando o software Mnova 11.04. O espectro de ^1H NMR para a goma bruta está representado na Figura 9, comprovando a modificação da goma.

[105] A análise elementar foi obtida usando um analisador Perkin Elmer 2400 usando o método Pregl-Dumas em atmosfera de oxigênio puro e um detector de condutividade térmica. Foi apresentado um pequeno aumento na razão C/H devido ao grupo acetil inserido e a presença de mais C promoveu pequenas alterações no grau de substituição e na solubilidade como podemos observar na Tabela 1.

[106] A solubilidade da goma acetilada e da goma bruta foi avaliada através do coeficiente de solubilidade. Ambos os polímeros foram dissolvidos em água ultrapura com pH 7,4. O grau de substituição foi medido para a GCA sendo igual a 0,33. Devido ao baixo grau de substituição, a goma modificada apresentou solubilidade em água menor que a goma não acetilada, porém

mantendo-se ainda com boa solubilidade aquosa. Tal característica é vantajosa para obtenção de sistemas nanoestruturados pelo método de complexação polieletrólítica utilizada no nosso trabalho.

[107] O baixo grau de substituição obtido no presente método inovador garante ao polímero boa solubilidade em água, permitindo assim o transporte e a liberação de fármacos solúveis em meio aquoso.

[108] Avaliando a carga superficial da goma acetilada, observou-se um aumento no potencial zeta (-22,8 mV), indicando que o modificado se comporta como bom polieletrólito, devido a presença dos grupamentos acetil, enquanto a goma sem modificação apresentou carga (-9,26 mV). A acetilação da GC conferiu um caráter aniônico maior do que o encontrado na goma nativa, permitindo melhor interação com polímeros catiônicos para formar nanopartículas. Com base nas suas características, a goma modificada apresentou-se como biopolímero promissor para a obtenção de sistemas de liberação de fármacos (**vantagem**).

[108] As nanopartículas foram formuladas pela adição gota a gota de solução aquosa de quitosana em solução contendo goma de cajueiro acetilada e insulina. As nanopartículas do complexo polieletrólítico foram formadas pela interação das cargas opostas dos biopolímeros.

[109] O tamanho médio de partícula do sistema nanoestruturado determinado por espalhamento de luz dinâmico foi de 470 nm para nanopartículas de goma de cajueiro acetilada sem insulina (NPGCA) e 460 nm para nanopartículas de goma de cajueiro acetilada com insulina (NPGCA INS). A confirmação da formação das nanopartículas foi dada pela presença do efeito de Tyndall, através da visualização da suspensão opalescente. Todas

as nanopartículas apresentaram tamanho ideal para absorção no meio intestinal, mantendo-se inferiores a 10 μm , conforme especificado nos antecedentes da invenção.

[110] As nanopartículas apresentaram índice de polidispersão de 0,3 e 0,2 para NPGCA e NPGCA INS, respectivamente, indicando boa distribuição do tamanho das partículas, que por se apresentar $\leq 0,3$ indica reduzida polidispersividade entre as partículas. A estabilidade coloidal das nanopartículas foi verificada por 4 meses, sem alterações estatísticas no tamanho das partículas, como visto na Tabela 2, confirmando a boa estabilidade das nanopartículas armazenadas (**vantagem**).

[111] Os resultados mostram que as nanopartículas são positivamente carregadas com valores de potencial zeta de 30,6 mV para as nanopartículas carregadas com insulina e 30,3 para as nanopartículas sem insulina, indicando um sistema estável (**vantagem**).

[112] O resultado indica uma elevada estabilidade, quando grandes forças repulsivas impedem a agregação pelo impacto aleatório de partículas adjacentes, ocasionando maior repulsão entre as mesmas. Devido à presença de cargas negativas no muco intestinal, é necessário que as nanopartículas tenham cargas opostas para que, através da interação, possa aumentar o tempo de permanência no local e conseqüentemente obter uma maior absorção do fármaco (GEORGE; ABRAHAM, 2006).

[113] A eficiência da retenção de insulina indica a quantidade de insulina aprisionada e retida no sistema de nanopartículas. O valor da eficiência de incorporação da insulina nas nanopartículas foi de 52,5%. A liberação de insulina *in vitro* a partir de nanopartículas

foi determinada em meio gástrico mimetizado, seguido de transferência para fluido intestinal mimetizado para melhor simular condições de correlação *in vitro/in vivo*. Como pode ser visto na Figura 11, a liberação de insulina das NPs a pH 1,2 após 2 horas foi de 34%. Neste pH, a insulina é carregada positivamente, e, portanto, as interações com os grupos carboxílicos da GCA impedem a liberação de insulina protegendo-a.

[114] Quando adicionado ao meio intestinal simulado, o aumento do efeito do pH desencadeou a liberação de insulina das nanopartículas. A liberação de insulina no meio intestinal está relacionada à dissolução da goma devido à repulsão eletrostática desestabilizadora da matriz de nanopartículas entre a goma carregada negativamente e a insulina em pH 6,8 também com carga negativa neste pH.

[115] Por outro lado, em pH 6,8, a quitosana se torna insolúvel, desestabilizando a estrutura das nanopartículas e a liberação de insulina das NPs ocorreu principalmente dentro de 2 horas em meio intestinal simulado, seguido por uma liberação lenta de até 24 horas, com 51% de liberação de insulina. As nanopartículas forneceram uma liberação sustentada de insulina apresentando-se como promissora formulação para administração oral.

[116] Dessa forma, foi obtido um sistema inovador nanoestruturado à base de goma de cajueiro acetilada e quitosana apresentando tamanho médio de 460 nm e potencial zeta de +30,6 mV, com eficiência de incorporação de insulina de 52,5% e liberação prolongada por até 24h.

[117] A atividade citotóxica foi determinada pelo método do MTT, pela redução do sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5 difenil tetrazol pela atividade de enzimas desidrogenases, resultando em cristais de formazan de cor púrpura. Em uma placa de 96 poços foram adicionados, em cada poço, 100µL de uma solução de meio de cultura contendo 3×10^5 células/mL e aguardado um período overnight para aderência das células à superfície da placa. Após a aderência, as amostras foram adicionadas aos poços em diferentes concentrações e as placas foram mantidas em estufa a 37 °C e 5% de CO₂ durante 72 h. Após o tempo de tratamento, foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) em cada poço e, após 3 h de incubação, todo o sobrenadante foi aspirado e adicionado 100 µL de DMSO a cada poço para a dissolução dos cristais de formazan. A absorbância foi obtida por espectrofotometria em leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm. Foram realizados dois experimentos independentes, sendo cada amostra testada em três replicatas. A goma modificada por acetilação não apresentou citotoxicidade nas concentrações testadas, mostrando-se segura e propícia para o desenvolvimento do sistema nanoestruturado (Figura 12) (**vantagem**). A avaliação da citotoxicidade demonstrou que tanto a goma acetilada quanto as nanopartículas obtidas não apresentaram efeito significativo sobre a viabilidade celular, verificando sua biocompatibilidade (**vantagem**).

[118] Para atividade biológica do sistema *in vivo*, o Diabetes *mellitus* foi induzido em ratos Wistar pela administração de estreptozotocina (STZ, 50 mg/kg, i.p.). Após a confirmação do diabetes, os animais foram alocados randomicamente em quatro grupos (n = 6/grupo):

Grupo I - Diabético tratado por via oral com água (Controle diabético).

Grupo II - Diabético tratado por via oral com nanopartículas de GCA sem insulina (NPGCA).

Grupo III - Diabético tratado por via oral com nanopartículas de GCA com insulina na dose de 50 UI/kg (NPGCA INS).

Grupo IV - Diabético tratado por via subcutânea com insulina regular na dose de 4 UI/kg (INS sc) – referência.

[119] As nanopartículas foram suspensas em água de modo a obter uma concentração de 50 UI/mL. No caso das nanopartículas sem insulina, utilizou-se uma concentração de NPGCA equivalente às correspondentes NPGCA contendo insulina. As nanopartículas com ou sem insulina foram administradas oralmente por meio de gavagem utilizando uma sonda endogástrica. As administrações foram realizadas após um período de 12 h de jejum e após confirmação do estado hiperglicêmico dos ratos diabéticos. Foram recolhidas amostras sanguíneas da ponta da cauda dos animais para determinação glicêmica em intervalos pré-determinados (0,5; 1; 2; 3; 6; 12 h após a administração das formulações).

[120] As nanopartículas carregadas com insulina (50 UI/kg) diminuíram a glicemia de forma significativa quando comparadas com os ratos tratados com as nanopartículas vazias, apresentando diferença significativa a partir de 2 horas (-40%, $p < 0,05$), após esta fase inicial, os níveis de glicemia diminuíram até 12 h após administração das nanoesferas atingindo 49% da glicemia basal. Foi observado que a administração das nanopartículas sem insulina também reduziu a glicemia atingindo o valor de 67% da glicemia

basal após 3 h de administração e 75% após 12 h, mostrando que o biopolímero também auxilia no controle glicêmico sendo eficaz no tratamento antidiabético (Figura 13) **(vantagem)**.

[121] O efeito das nanopartículas foi comparado ao efeito da insulina subcutânea utilizada comercialmente (Figura 14). Um efeito de redução da glicose plasmática foi observado para a insulina injetada por via subcutânea a partir de meia hora após administração, alcançando maiores níveis de diminuição após 3 h atingindo 25% do valor inicial, no entanto os valores basais de glicemia foram retomados após 6 horas conforme já observado nos antecedentes da invenção. De forma promissora para substituir a insulina subcutânea, as nanopartículas de goma de cajueiro acetilada com insulina, administradas por via oral, reduziram o aumento inicial dos níveis de glicemia observado nas primeiras horas de forma significativa mantendo o controle dos níveis glicêmicos até 12 h. A redução glicêmica atingida pelo sistema nanoestruturado foi de 51% após 12 horas. O sistema mostrou-se eficaz e estável ao longo do trato gastrointestinal, protegendo a insulina que pode ser liberada de forma sustentada. Tal característica torna o sistema vantajoso frente a formulação subcutânea utilizada atualmente, apresentando-se como um potencial sistema para administração de insulina por via oral, sem a necessidade das injeções subcutâneas, trazendo um tratamento mais cômodo e melhorando a qualidade de vida do diabético **(vantagem)**.

[122] Foi realizada uma avaliação toxicológica das nanopartículas *in vivo*. Os animais foram tratados durante 15 dias consecutivos. Durante o tratamento os sinais clínicos de toxicidade e mortalidade foram registrados. A formulação não produziu morte em

nenhum animal no período de 15 dias de observação. O tratamento com as nanopartículas não alterou o perfil hematológico dos animais quando comparados com animais saudáveis, comprovando a ausência de toxicidade da formulação. Para todos os grupos, nenhuma diferença clínica significativa foi registrada em qualquer um dos parâmetros analisados (Tabela 3) **(vantagem)**.

[123] Quanto a análise dos parâmetros bioquímicos, também não foi observada toxicidade da formulação. Uma tendência de efeito terapêutico foi observada com a administração das nanopartículas contendo insulina, sendo capaz de reduzir os níveis glicêmicos dos animais diabéticos de forma significativa. Em comparação com o grupo sadio observou-se um aumento no nível de fosfatase alcalina nos animais diabéticos, o aumento das enzimas hepáticas nos animais diabéticos está relacionado ao uso de estreptozotocina nos mesmos; pelos resultados obtidos, devido à ausência de resultados significativos em relação ao grupo diabético não tratado, é indicativo que o sistema nanoestruturado desenvolvido à base de GCA não apresentou hepatotoxicidade (Tabela 4) **(vantagem)**.

[124] O fígado e o rim são os principais órgãos associados ao metabolismo da insulina. A análise microscópica dos órgãos não mostrou alterações degenerativas, nem focos hemorrágicos ou necrose no fígado, foi observado um discreto infiltrado linfocitário no fígado dos ratos de todos os grupos diabéticos (grupo controle diabético não tratado e grupos tratados com as nanopartículas com e sem insulina), no entanto como tal alteração foi semelhante no grupo diabético não tratado com as nanopartículas, comprovando que a alteração é decorrente do estado diabético dos animais e não

do uso das nanopartículas, indicando que o tratamento não apresentou toxicidade (Figura 15) (**vantagem**).

[125] Em relação à observação microscópica dos rins, não foram observados sinais de necrose tubular aguda ou nefrite intersticial. Foi observado um discreto aumento do espaço capsular renal em todos os grupos diabéticos, no entanto como tal alteração esteve presente também nos animais diabéticos não tratados, comprovou-se que não está relacionada com o tratamento com as nanopartículas. Tal alteração foi independente do tipo de tratamento dos animais com diabetes o que indica que a formulação, por si só, não apresentou nefrotoxicidade (**vantagem**).

[126] A análise macroscópica externa dos órgãos dos animais não mostrou alterações significativas na cor ou textura em todos os grupos.

[127] A goma foi submetida a uma nova reação de acetilação utilizando uma metodologia rápida, simples, isenta de solventes tóxicos e de baixo custo comparada aos demais sistemas estudados utilizando outros polímeros conforme citado nos antecedentes da descrição (**vantagem**).

[128] Os resultados mostraram que o sistema nanoestruturado à base de goma de cajueiro acetilada (GCA) apresentou-se como potencial veículo para liberação sustentada de insulina por via oral (**vantagem**). E seu uso apresenta vantagens devido ao baixo custo de obtenção e disponibilidade, além da biocompatibilidade.

REIVINDICAÇÕES

1 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, **caracterizada por** ser obtida a partir de gomas quimicamente modificadas, incluindo: goma xantana, goma do chichá, goma arábica, goma de mandioca/macaxeira/tapioca, goma moringa, preferencialmente a goma de cajueiro, heteropolissacarídeo ácido ramificado que apresenta a estrutura composta pela presença do grupo éster carbonílico do grupamento acetil

2 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme a reivindicação 1, **caracterizada por** ser acetilada com qualquer grau de substituição, preferencialmente, mantendo a solubilidade em meio aquoso

3 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1 e 2, **caracterizada por** ser constituída de polissacarídeo e biopolímeros na proporção entre 0,01% (p/v) a 99%, preferencialmente quitosana na proporção de 0,07% (p/v)

4 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2 e 3, **caracterizada por** ter tamanho médio entre 100 a 1000 nm

5 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3 e 4, **caracterizada por** ter potencial zeta entre 1 a 100 mV

6 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, **caracterizada por** ter eficiência de incorporação de insulina de 20% a 100%

7 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5 e 6, **caracterizada por** ter liberação prolongada de 6 a 35 horas

8 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, **caracterizada por** ser livre de citotoxicidade

9 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, **caracterizada por** ser biocompatível

10 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, **caracterizada por** ser eficaz e efetiva para administração de insulina pela via subcutânea, preferencialmente por via oral

11 COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, **caracterizada por** ser veiculada por meio de formas farmacêuticas aceitáveis, tais como hidrogéis, lipossomas, nanocápsulas, emulsões, microcápsulas, ciclodextrinas, complexos de inclusão, suspensões, preferencialmente nanopartículas

12 PROCESSO DE OBTENÇÃO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, referente às reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, **caracterizado por** conter as seguintes etapas:

- a) Obtenção da solução de goma de cajueiro acetilada;
- b) Adição da insulina à solução de goma de cajueiro acetilada;
- c) Obtenção da solução de quitosana;
- d) Adição gota a gota da solução de quitosana à primeira solução contendo goma de cajueiro acetilada e insulina;
- e) Agitação magnética da formulação à temperatura ambiente a 800 rpm durante 40 min

13 PROCESSO DE OBTENÇÃO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme a reivindicação 12, **caracterizado pela** natureza sustentável consistir no uso de solventes livres de formamida, piridina e ácido sulfúrico

14 PROCESSO DE OBTENÇÃO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, conforme as reivindicações 11, 12 e 13, **caracterizado por** utilizar anidrido acético e/ou hidróxido de sódio

15 USO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, conforme as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, **caracterizado pela** aplicação ocorrer de maneira conjunta ou isolada de um hormônio

16 USO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, descrita nas reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11, **caracterizado por** ser indicado para o tratamento em humanos e animais

17 USO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, descrita as reivindicações 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 **caracterizado por** ser indicado para o tratamento de distúrbios hormonais, distúrbios circulatórios, distúrbios do sistema nervoso central, preferencialmente o tratamento de hiperglicemias

FIGURAS

Figura 1

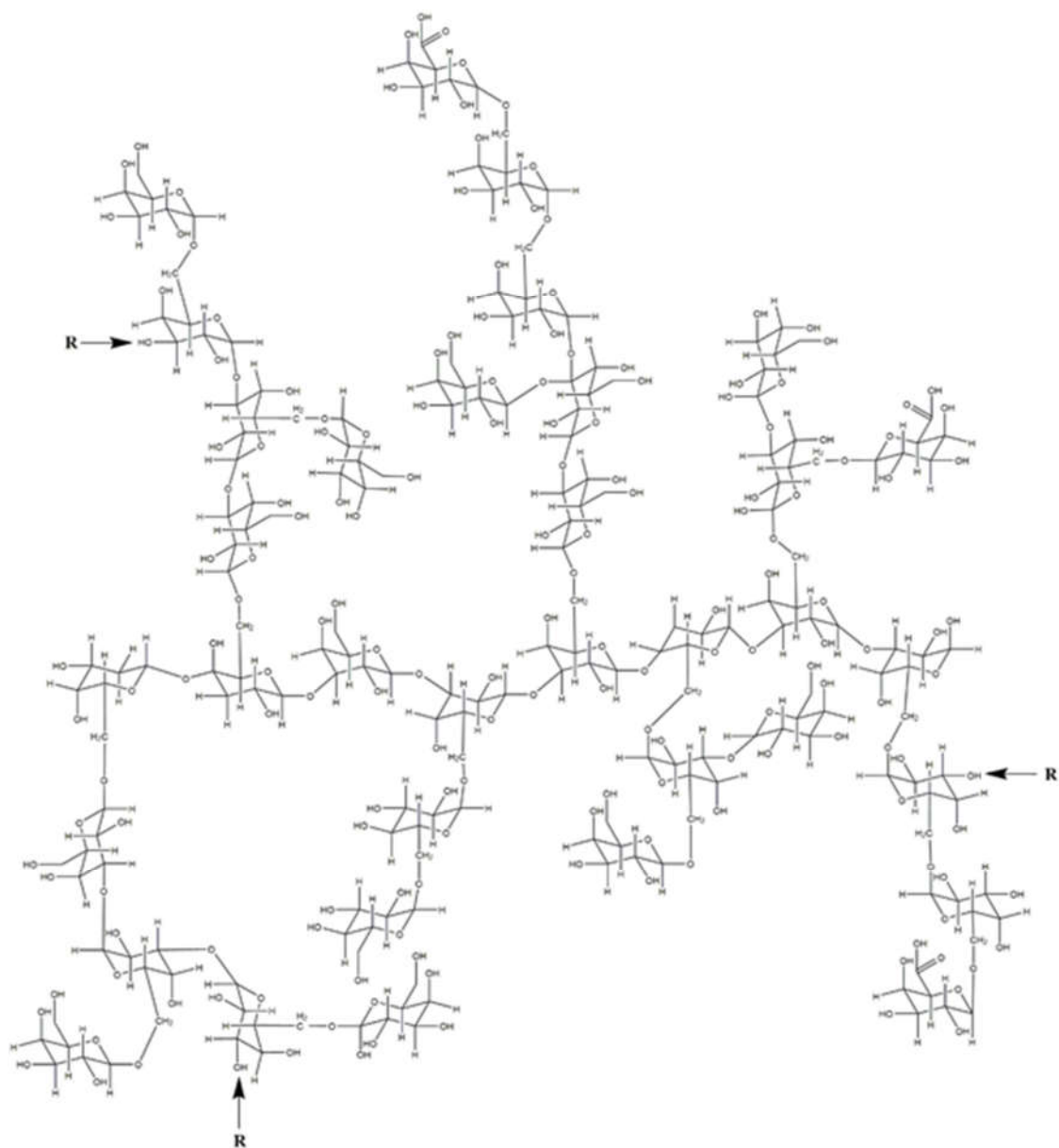


Figura 2



Figura 3

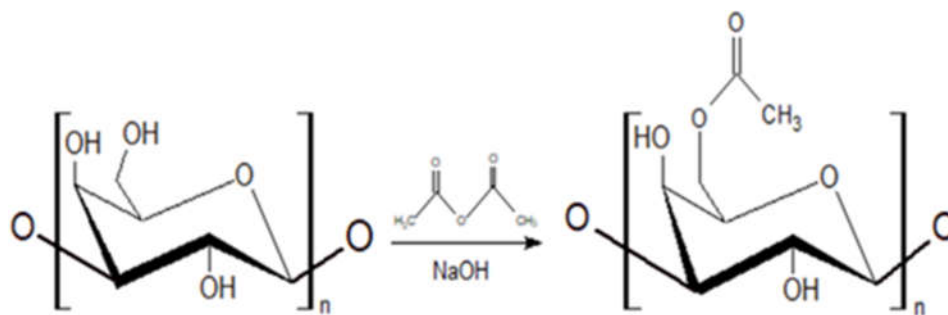


Figura 4

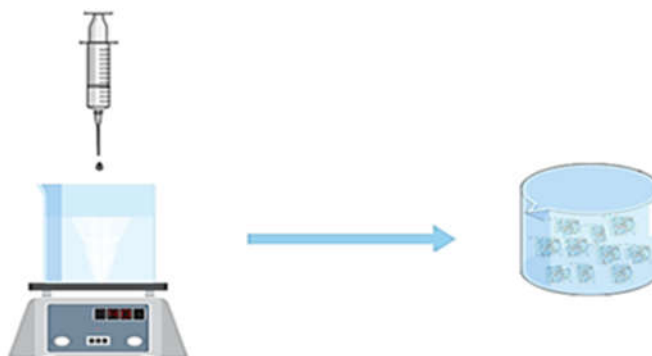


Figura 5

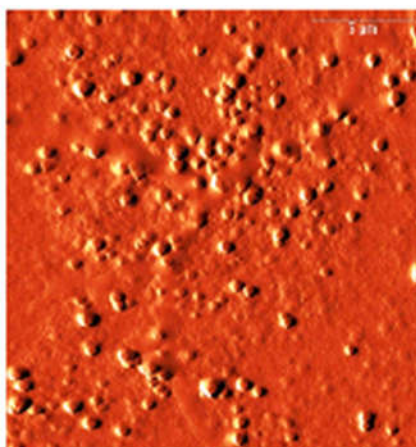


Figura 6

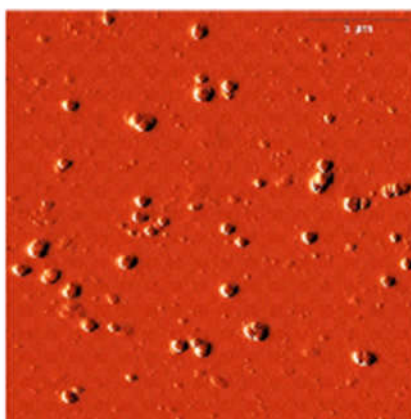


Figura 7

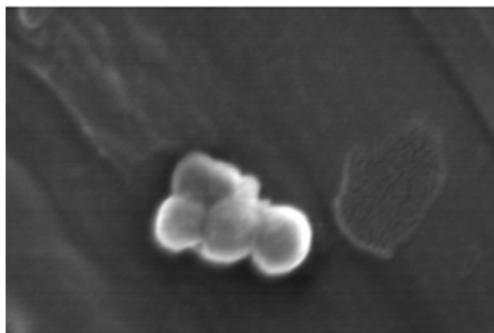


Figura 8

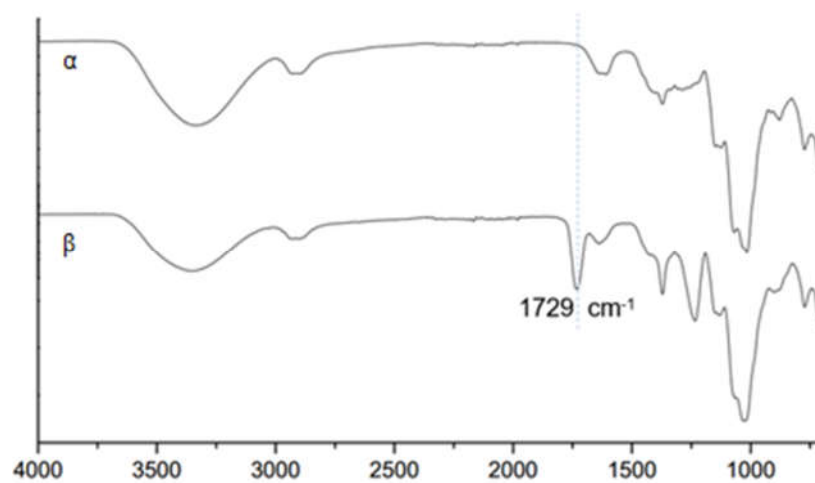


Figura 9

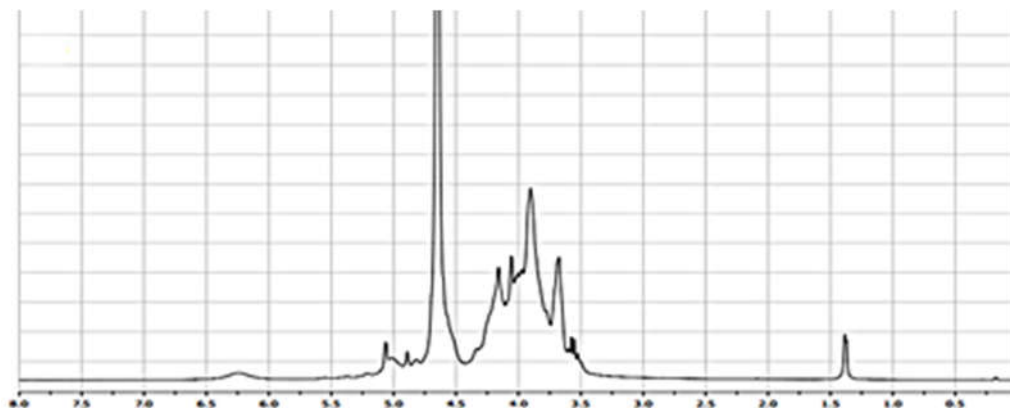


Figura 10

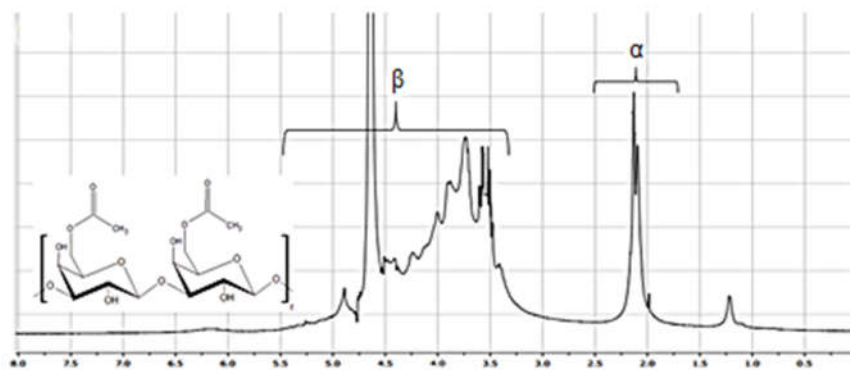


Figura 11

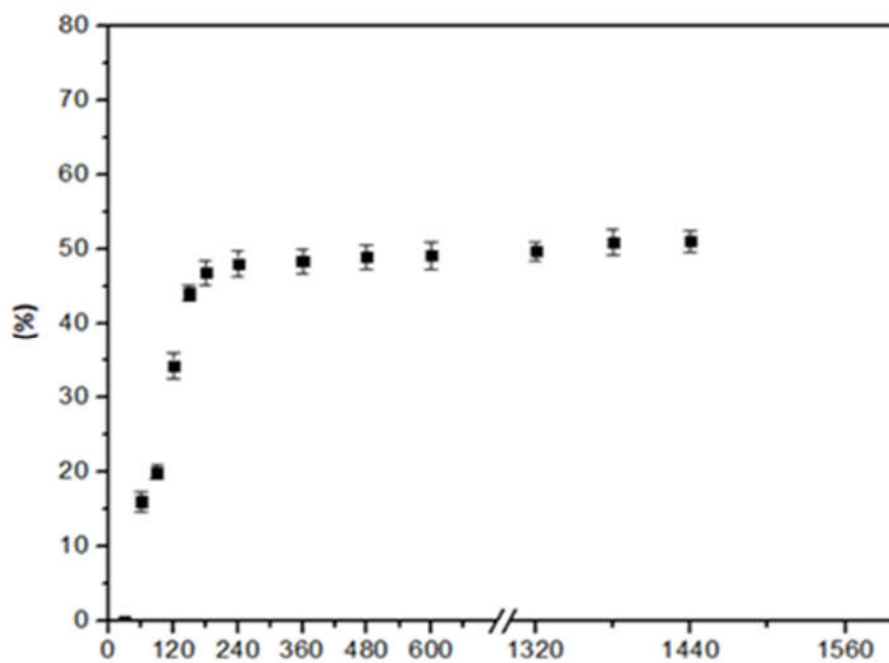


Figura 12

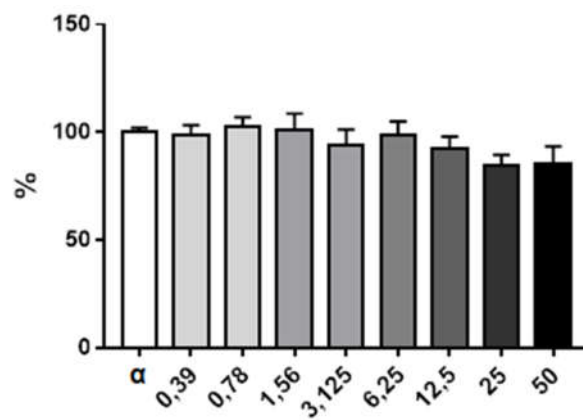


Figura 13

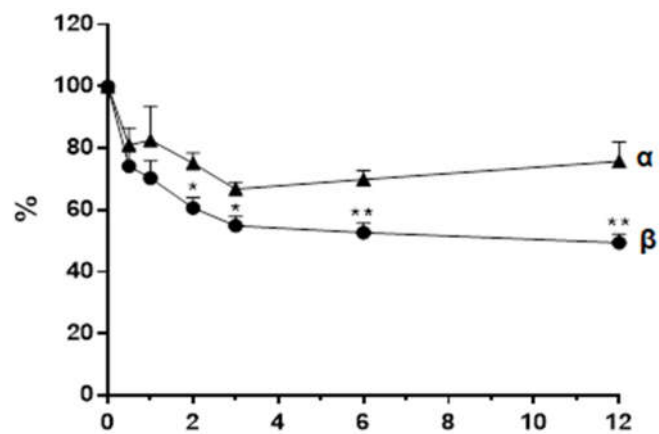


Figura 14

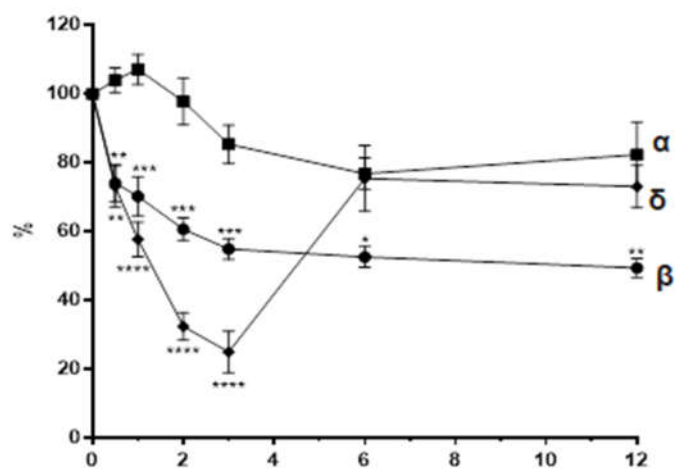


Figura 15

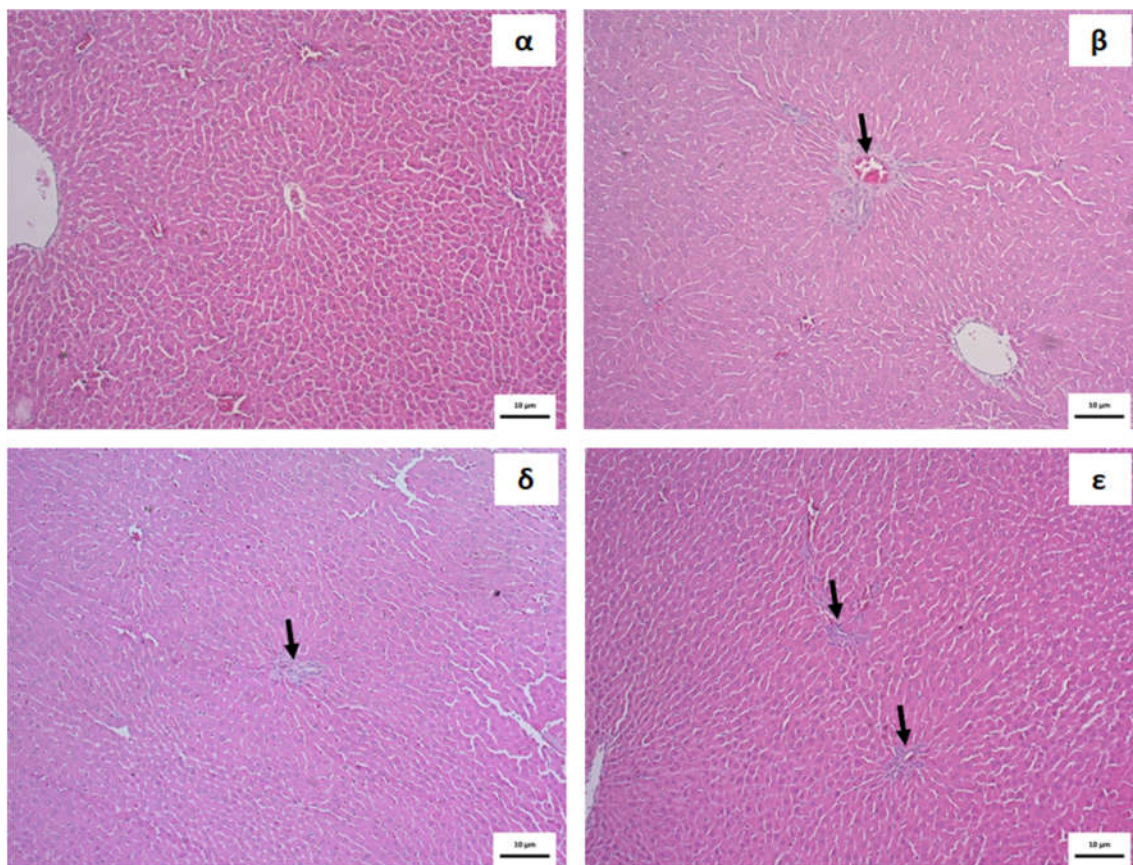


Figura 16

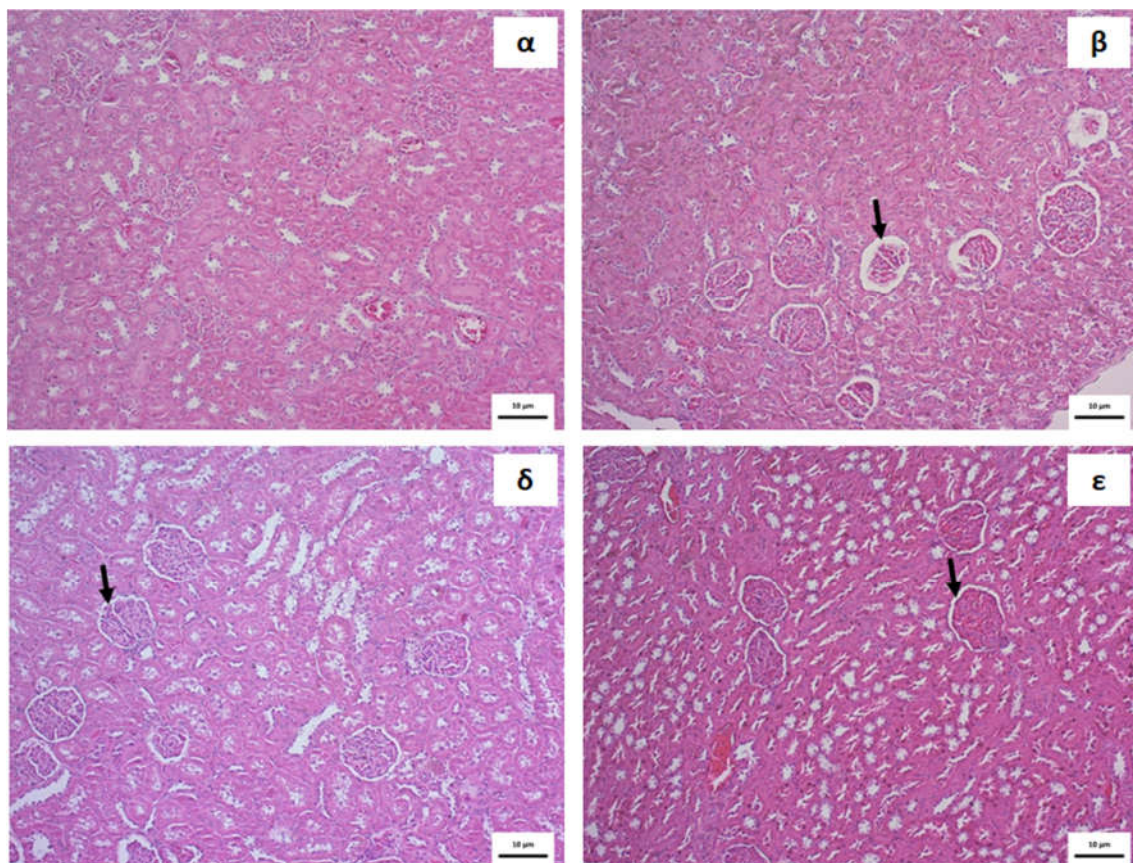


Tabela 1

	C (%)	H (%)	mmol (C)	mmol (H)	C/H	Solubilidade (g/100g H₂O)
GC	39,01	6,60	32,51	66,0	0,49	97,7 (± 0,42)
GCA	40,09	6,67	33,41	66,7	0,50	82,3 (± 2,52)

Tabela 2

Tempo (meses)	Tamanho Média (nm)	Índice de Polidispersão (pdl)	Potencial zeta (mV)
0	460 ± 11,0	0,2 ± 0,021	30,6 ± 0,48
1	447 ± 8,3	0,2 ± 0,009	30,3 ± 0,95
2	442 ± 14,8	0,2 ± 0,010	30,0 ± 0,14
3	434 ± 7,3	0,3 ± 0,026	30,2 ± 0,82
4	385 ± 6,5	0,3 ± 0,054	30,5 ± 0,34

Tabela 3

Parâmetros	Controle Sadio	Controle Diabético	NPGCA	NPGCA INS
Eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$)	$6,03 \pm 0,35$	$7,48 \pm 0,68$	$6,05 \pm 1,68$	$7,79 \pm 0,10$
Hemoglobina (g/dL)	$10,06 \pm 0,64$	$12,34 \pm 0,86$	$9,77 \pm 2,63$	$12,38 \pm 0,15$
Hematócrito (%)	$32,46 \pm 2,17$	$40,86 \pm 3,88$	$32,73 \pm 5,92$	$41,97 \pm 0,71$
VCM (fL)	$53,80 \pm 0,80$	$54,40 \pm 0,60$	$53,67 \pm 0,56$	$53,83 \pm 0,48$
HCM (pg)	$16,62 \pm 0,14$	$16,68 \pm 0,42$	$16,23 \pm 0,13$	$15,92 \pm 0,12$
CHCM (g/dL)	$30,94 \pm 0,34$	$30,58 \pm 0,94$	$30,20 \pm 0,51$	$29,55 \pm 0,26$
RDW (%)	$13,20 \pm 0,18$	$13,92 \pm 0,45$	$13,30 \pm 0,20$	$13,55 \pm 0,19$
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	$215,6 \pm 46,2$	$399,4 \pm 138,4$	$371,7 \pm 89,9$	$390,0 \pm 45,0$
VPM (fL)	$8,64 \pm 0,21$	$8,34 \pm 0,76$	$8,03 \pm 0,35$	$7,93 \pm 0,25$
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	$3,36 \pm 0,67$	$4,48 \pm 1,05$	$2,90 \pm 0,06$	$3,45 \pm 0,81$
Linfócito (%)	$69,54 \pm 2,19$	$65,80 \pm 1,46$	$64,65 \pm 2,40$	$61,98 \pm 4,13$
Monócito (%)	$12,56 \pm 2,54$	$12,86 \pm 1,13$	$12,60 \pm 1,73$	$17,22 \pm 1,47$
Granulócito (%)	$17,90 \pm 0,73$	$21,34 \pm 1,42$	$22,75 \pm 0,66$	$20,80 \pm 3,11$

Tabela 4

Parâmetros	Controle Sadio	Controle Diabético	NPGCA	NPGCA INS
Glicose (mg/dL)	81,8 ± 1,8	514,4 ± 44,6^a	501,0 ± 46,4^a	285,2 ± 11,0^{ab}
Ureia (mg/dL)	9,75 ± 1,11	45,26 ± 15,26	28,33 ± 13,45	47,00 ± 13,3
Creatinina (mg/dL)	0,50 ± 0,03	0,60 ± 0,06	0,51 ± 0,003	0,60 ± 0,05
AST (U/L)	247,63 ± 25,10	210,58 ± 27,46	207,23 ± 33,77	211,27 ± 50,11
ALT (U/L)	60,71 ± 9,78	76,89 ± 13,99	82,47 ± 32,66	85,33 ± 24,62
Colesterol total (mg/dL)	91,00 ± 13,44	79,20 ± 22,26	87,67 ± 15,97	54,50 ± 5,90
Triglicerídeos (mg/dL)	50,17 ± 5,84	127,20 ± 27,73	59,67 ± 20,20	62,67 ± 23,52
Fosfatase alcalina (U/L)	224,7 ± 29,37	548,8 ± 36,07^a	542,2 ± 31,47^a	566,6 ± 46,12^a
GGT (U/L)	7,15 ± 1,71	15,37 ± 3,49	13,98 ± 4,88	18,90 ± 6,97

**COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA VEICULAÇÃO DE ATIVO
OU HORMÔNIO E LIBERAÇÃO CONTROLADA, RESPECTIVO
PROCESSO DE OBTENÇÃO SUSTENTÁVEL E USOS**

RESUMO

A presente invenção descreve um produto, processo de obtenção e uso de uma composição farmacêutica. A composição farmacêutica consiste em um sistema nanoestruturado a partir de um heteropolissacarídeo ácido ramificado que apresenta a estrutura composta pela presença do grupo éster carbonílico do grupamento acetil. O processo consiste na modificação (acetilação) da goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*) sem a utilização de solventes tóxicos, (processo sustentável). Este processo, favorece a interação com polímeros catiônicos para formar nanopartículas. Seu uso é indicado para o transporte de hormônios, preferencialmente insulina.