



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
DEPARTAMENTO DE BIOMEDICINA
CURSO BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

GABRIELLE COSTA SOUSA

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS A BASE DE GOMA DO
CAJUEIRO ACETILADA E GOMA DO ANGICO PARA INCORPORAÇÃO DO
ALENDRONATO DE SÓDIO**

**PARNAÍBA - PIAUÍ
2021**

GABRIELLE COSTA SOUSA

OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS A BASE DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA E GOMA DO ANGICO PARA INCORPORAÇÃO DO ALENDRONATO DE SÓDIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr, como requisito obrigatório para aprovação na disciplina de TCCIII.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba
Biblioteca Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba
Serviço de Processamento Técnico

S725o Sousa, Gabrielle Costa

Obtenção de nanopartículas poliméricas a base de goma do cajueiro acetilada e goma do angico para incorporação do alendronato de sódio [recurso eletrônico] / Gabrielle Costa Sousa. – 2021.

1 Arquivo em PDF

Monografia (Curso de Biomedicina) - Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

1. Goma do Cajueiro. 2. Nanopartículas Poliméricas. 3. Bifosfonatos. 4. Alendronato de Sódio. I. Título.

CDD: 615.321

GABRIELLE COSTA SOUSA

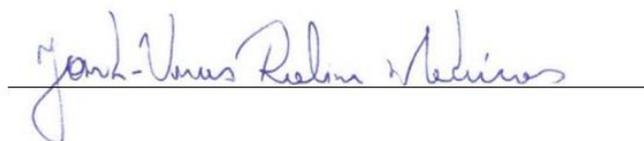
OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS A BASE DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA E GOMA DO ANGICO PARA INCORPORAÇÃO DO ALENDRONATO DE SÓDIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr, como requisito obrigatório para aprovação na disciplina de TCCIII.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

APROVADA em: 14/10/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros
Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr (Orientador)



Msc. Jessica Maria Teles Souza
Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPAr



Msc. Bruno Iles
Universidade de Brasília – UnB

Dedico à minha família, em especial à minha mãe Eliane Nunes Costa (In memoriam) por ter concedido todo amor e incentivo necessários para o meu desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por ter me permitido chegar nesse momento tão esperado, por me ajudar nos momentos difíceis e por me dar forças para vencer os meus limites;

Agradeço a minha mãe – **Eliane Nunes** (*In memoriam*), por ter sido minha base e força para que eu chegasse até aqui, por todo o amor e carinho e por sempre acreditar em mim, mesmo quando nem eu mesma acreditava e por ter lutado árduas batalhas para que eu realizasse esse sonho. Agradeço imensamente pela sorte em ser sua filha e por tudo o que você fez por mim enquanto em vida e que no céu ainda continua fazendo. Tudo o que conquistei e vier a conquistar sempre será dedicado à senhora;

Agradeço a minha irmã – **Erika Costa**, pela nossa convivência diária, por todo o cuidado, companheirismo e por todos os momentos vividos. Ao meu pai – **José Ailton**, que mesmo distante sempre se fez presente em nossas vidas. À minha avó paterna – **Maria dos Santos**, por toda ajuda, carinho e cuidado. À minha avó materna – **Maria das Neves** e minha tia – **Josilene Vasconcelos** por todo apoio dedicado;

Quero registrar meu agradecimento aos amigos de graduação e de vida – **Odnir Silva** e **Mariana Araújo**. Obrigada por estarem comigo durante essa jornada intensa que foi o curso de biomedicina, por estarem ao meu lado em diversos momentos, tanto os bons quanto os ruins, por me ajudarem nos estudos para as provas e trabalhos, pelas risadas... sou muito grata por tê-los em minha vida. Também deixo registrado meu agradecimento ao **Lineker Alberto**, obrigada pela sua amizade;

Ao mestre **Jand Venes**, por ter me aceitado como aluna de iniciação científica, por me possibilitar grandes oportunidades acadêmicas e pela confiança depositada. Obrigada por toda a compreensão e por ser um exemplo de pessoa e de pesquisador. Sou imensamente grata por fazer parte da família LAFIDG;

Ao Laboratório de Cultura de Células (LCC) – **Ayslan Barros**, **Jaiane Cruz** e **Dackson Douglas** por me ajudarem na realização do ensaio de hemólise, e em especial agradeço à **Jessica Teles** pela disponibilidade em me ajudar na realização do experimento de quantificação. Ao Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC), em especial ao **Fábio Ribeiro**, pela disponibilidade em explicar a realização da plotagem dos gráficos de FT-IR e ajudar com relação ao envio das amostras para as análises, ademais, também agradeço à professora **Durcilene Alves** por toda a atenção e auxílio para que fosse possível a realização das análises de FT-IR;

Não poderia deixar de mencionar essa pessoa incrível - **Bruno Iles**, por toda a confiança em mim depositada e por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu não acreditava que eu era capaz. Que mesmo distante, continuou me ajudando na realização dos

experimentos e me dando forças para seguir. Agradeço imensamente a Deus por ter colocado você em meu caminho;

Aos meus amigos do LAFIDG: **André Luis, Andreza Ketly, Ana Patrícia, Esley Silva, Francisca Beatriz, Gabriella Pacheco, Isabela Nolêto, Jelson Lina, Letícia Chaves, Nayara Alves e Priscila Costa**, especialmente, ao **André Luis**, que sempre foi um exemplo de inspiração e determinação para mim e ao qual foi essencial para o meu desenvolvimento na área da pesquisa, agradeço imensamente por você fazer parte da minha escolha em participar do LAFIDG. Além disso, registro meu agradecimento a **Francisca Beatriz** e a **Letícia Chaves** pela disponibilidade em ajudar no preparo das soluções para que fosse possível a realização do experimento de quantificação. Não poderia deixar de fazer um agradecimento aos meus grandes amigos de Iniciação Científica **Antonio Carlos, Katriane Carvalho e Samara Sousa**, por me proporcionarem momentos maravilhosos em suas companhias e pelos momentos de distração, saibam que vocês exerceram um papel muito importante em minha vida. Agradeço em especial à **Samara Sousa**, por sempre me ajudar e por estar presente em todos os momentos, o meu muito obrigada por tudo;

À Liga Acadêmica de Microbiologia (LAMIC), por me permitirem fazer parte dessa família e pelos momentos dedicados ao compartilhamento de conhecimentos;

Aos professores do curso de Biomedicina que foram fundamentais para o meu enriquecimento pessoal, acadêmico e profissional;

À Universidade Federal do Delta do Parnaíba, tenho imenso orgulho e gratidão por fazer parte desta instituição que tanto me proporcionou como pessoa, acadêmica e pesquisadora.

*“Comece fazendo o que é necessário,
Depois o que é possível,
E de repente você estará fazendo o impossível”.*

São Francisco de Assis.

RESUMO

A osteoporose é uma doença caracterizada pela baixa massa óssea e deterioração do tecido ósseo, tendo a ocorrência de fratura como sua principal manifestação clínica. Os bifosfonatos são considerados o tratamento farmacológico de primeira linha para esta patologia. Dentre os bifosfonatos, o alendronato de sódio (ALD) destaca-se como o fármaco comumente utilizado devido à eficácia na redução de incidência de fraturas. No entanto, o seu uso prolongado tem sido associado ao surgimento de efeitos colaterais, dentre os quais, problemas gastrointestinais. Nesse contexto, torna-se evidente a necessidade de novas alternativas terapêuticas que promovam o aumento dos benefícios do ALD aos pacientes. Diante disso, as nanopartículas poliméricas (NPPs) têm sido propostas como sistemas promissores para liberação de fármacos, atraindo a atenção devido as suas potencialidades terapêuticas. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo desenvolver nanopartículas poliméricas utilizando dois polímeros naturais, como veículo para incorporação do ALD, além de caracterizar e avaliar seus efeitos em eritrócitos. Para a caracterização das gomas e do fármaco foram realizadas leituras de espectroscopia de infravermelho (FT-IR). As nanopartículas foram sintetizadas em temperatura ambiente, sob agitação constante de 15000rpm durante 30 minutos, utilizando goma do cajueiro acetilada (GAC) a 0,1% e 0,05% e DMSO 5%, constituindo a fase orgânica. Para a fase aquosa foi utilizado 10mg de goma do angico (GA) como tensoativo e alendronato de sódio em diferentes concentrações: 5, 10 e 15mg, ambos diluídos em água destilada. Após formuladas, as partículas foram caracterizadas quanto ao tamanho, índice de polidispersão e potencial Zeta através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e quanto à quantificação do fármaco e eficiência de incorporação, através de espectrofotômetro de UV-visível com leituras em 260nm. A atividade hemolítica foi avaliada frente a eritrócitos humanos utilizando ALD nanoencapsulado, bem como, na sua forma livre (15mg). As análises de FT-IR demonstraram que a goma do cajueiro, modificada com anidrido acético, apresentou banda de absorção intensa na região 1750cm^{-1} , específica de acetilação. O espectro de GA, apresentou bandas em 1022cm^{-1} , características de polissacarídeos, confirmando a sua composição. Além disso, o FT-IR do ALD demonstrou bandas específicas do fármaco (grupos fosfatos em 1544cm^{-1} e P-OH em 1022cm^{-1}). Através da análise de DLS, observou-se que o diâmetro das NPPs formuladas variou entre 303,2nm – NPPs sem a presença de ALD – e 59,62nm – para as NPPs formuladas com 15mg de ALD. Além disso, o potencial Zeta das NPPs demonstrou valores entre -25,9mV e -28,9mV. O ensaio de eficiência de incorporação demonstrou que as NPPs GAC 0,05% contendo 5mg de ALD incorporaram um total de 68,47%, enquanto que as formulações GAC 0,1% contendo 5mg de ALD, incorporaram um total de 87,97%. O teste de hemólise revelou que as NPPs contendo ALD conseguiram reverter a atividade hemolítica ocasionada pelas nanoformulações contendo apenas os polímeros, bem como, a atividade hemolítica ocasionada pelo fármaco na sua forma livre. Entretanto, maiores investigações ainda se fazem necessárias para uma melhor caracterização das nanopartículas.

Palavras-chave: Goma do Cajueiro, Nanopartículas Poliméricas, Bifosfonatos, Alendronato de sódio.

ABSTRACT

Osteoporosis is a disease characterized by low bone mass and bone tissue deterioration, with the occurrence of fracture as its main clinical manifestation. Bisphosphonates are considered as the first-line pharmacological treatment for this condition. Among the bisphosphonates, alendronate sodium (ALD) stands out as the drug commonly used due to its effectiveness in reducing the incidence of fractures. However, its prolonged use has been associated with the emergence of side effects, particularly gastrointestinal problems. In this context, the need for new therapeutic alternatives that increase the benefits of ALD to patients becomes evident. Therefore, polymeric nanoparticles (NPPs) have been proposed as promising systems for drug delivery, drawing attention due to their therapeutic potential. Thus, the present study aimed to develop polymeric nanoparticles using two natural polymers as a vehicle for incorporation of ALD, in addition to characterizing and evaluating its effects on erythrocytes. For the characterization of the gums and the drug, infrared spectroscopy (FT-IR) readings were performed. The nanoparticles were synthesized at room temperature, under constant agitation at 15.000rpm for 30 minutes, using acetylated cashew gum (GAC) at 0.1% and 0.05% and DMSO 5%, forming the organic phase. For the aqueous phase, 10mg of angico gum (GA) was used as a surfactant and sodium alendronate at different concentrations: 5, 10 and 15mg, both diluted in distilled water. After formulated, the particles were characterized regarding size, polydispersion index and Zeta potential using the dynamic light scattering (DLS) technique and regarding drug quantification and incorporation efficiency using a UV-visible spectrophotometer with readings at 260nm. The hemolytic activity was evaluated against human erythrocytes using nanoencapsulated ALD, as well as in its free form (15mg). The FT-IR analyses showed that the cashew gum, modified with acetic anhydride, presented an intense absorption band in the 1750cm^{-1} region, specific for acetylation. The GA spectrum showed bands at 1022cm^{-1} , characteristic of polysaccharides, confirming its composition. In addition, the ALD FT-IR demonstrated drug-specific bands (phosphate groups at 1544cm^{-1} and P-OH at 1022cm^{-1}). Through the DLS analyses, it was observed that the diameter of the formulated NPPs varied between 303.2nm – NPPs without the presence of ALD – and 59.62nm – for the NPPs formulated with 15mg of ALD. Furthermore, the Zeta potential of NPPs showed values between -25.9mV and -28.9mV. The incorporation efficiency assay demonstrated that the 0.05% GAC NPPs containing 5mg of ALD incorporated a total of 68.47%, while the formulations 0.1% GAC containing 5mg of ALD incorporated a total of 87.97%. The hemolysis test revealed that NPPs containing ALD were able to reverse the hemolytic activity caused by nanoformulations containing only the polymers, as well as the hemolytic activity caused by the drug in its free form. However, further investigations must be made for a better characterization of nanoparticles.

Keywords: Cashew Gum, Polymeric Nanoparticles, Bisphosphonates, Alendronate Sodium.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALD	Alendronato de sódio
BFs	Bifosfonatos
CH₃COO-	Grupamento acetil
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
DMSO	Dimetilsulfóxido
FT-IR	Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier
GA	Goma do angico vermelho
GC	Goma do cajueiro
GAC	Goma do cajueiro acetilada
HClO₄	Ácido perclórico
IMC	Índice de massa corporal
IPD	Índice de polidispersão
NPPs	Nanopartículas poliméricas
UV-vis	Espectroscopia do ultravioleta-visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Comparação da estrutura química do bifosfonato com a do pirofosfato.	15
Figura 2: Estrutura química do alendronato de sódio (ALD). Presença do grupo amino (-NH ₂).	17
Figura 3: Esquema representando as nanoesferas e nanocápsulas.	19
Figura 4: Ilustração da Árvore do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.) e seu respectivo exsudato.	21
Figura 5: Representação da composição química da goma do cajueiro (GC).	21
Figura 6: Ilustração da árvore do angico vermelho (<i>Anadenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb.) Altschul) e seu respectivo exsudato.	23
Figura 7: Representação da estrutura química da goma do angico (GA).	23
Figura 8: Estrutura da goma do cajueiro após modificação química (acetilação) – adição do grupamento acetil (CH ₃ COO-).	25
Figura 9: Representação esquemática da síntese das nanopartículas poliméricas.	28
Figura 10: Espectros FT-IR correspondente à goma do cajueiro (GC) e goma do cajueiro acetilada (GAC).	31
Figura 11: Espectro FT-IR correspondente à goma do angico vermelho (GA).	33
Figura 12: Espectro FT-IR correspondente ao alendronato de sódio (ALD).	33
Figura 13: Representação gráfica da curva de detecção de alendronato nas nanopartículas.	35
Figura 14: Representação gráfica da atividade hemolítica das nanopartículas.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação entre os resultados obtidos a partir da caracterização das nanopartículas.....	34
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 OSTEOPOROSE	14
2.2 BIFOSFONATOS	15
2.3 ALENDRONATO DE SÓDIO.....	16
2.4 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	18
2.5 GOMAS NATURAIS.....	20
2.6 GOMA DO CAJUEIRO	20
2.7 GOMA DO ANGICO.....	22
2.8 MODIFICAÇÃO QUÍMICA DE POLISSACARÍDEOS GOMOSOS	24
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4 METODOLOGIA	27
4.1 DROGAS E REAGENTES.....	27
4.2 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO.....	27
4.2.1 Modificação da goma do cajueiro.....	27
4.3 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA DO ANGICO.....	27
4.4 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	28
4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS GOMAS E DO FÁRMACO	29
4.5.1 Espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR).....	29
4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	29
4.6.1 Tamanho médio das nanopartículas, IPD e potencial Zeta	29
4.6.2 Quantificação e eficiência de incorporação do fármaco	29
4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA.....	30
5 RESULTADOS	31
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS GOMAS ISOLADAS E DA GOMA DO CAJUEIRO MODIFICADA.....	31
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ALENDRONATO DE SÓDIO	33
5.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	34
5.4 ATIVIDADE HEMOLÍTICA.....	36
6 DISCUSSÃO.....	38
7 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

Em um ciclo normal de remodelação, a quantidade de osso perdido é igual à quantidade de osso novo formado, no entanto, quando nesse processo ocorre um desequilíbrio, tem-se uma perda da massa óssea (COUGHLAN; DOCKERY, 2014). A osteoporose que significa “osso poroso”, é uma enfermidade esquelética sistêmica crônica, multifatorial, muito relacionada ao envelhecimento, causada por uma redução e uma degeneração da microarquitetura óssea, acarretando em aumento da fragilidade e maior predisposição a fraturas (CAMARGOS; BOMFIM, 2017).

Os bifosfonatos (BFs) representam os principais fármacos utilizados no tratamento da osteoporose, demonstrando-se eficaz na redução do risco de fraturas (COUGHLAN; DOCKERY, 2014; CRANDALL et al., 2014; KHOSLA et al., 2012). O alendronato de sódio (ALD) é um dos BFs mais utilizados no tratamento da osteoporose, esse fármaco atua inibindo a reabsorção óssea mediada por osteoclastos devido a capacidade de fixação na matriz óssea, impedindo a sua ação. Além disso, atua impedindo a apoptose de osteoblastos, estimulando desse modo a sua atividade. Diante disso, pode ser utilizado na prevenção ou tratamento da osteoporose (NOBRE et al., 2016; PEREIRA CORDEIRO et al., 2009).

No entanto, apesar dos efeitos benéficos apresentados pelos BFs no tratamento de doenças ósseas, alguns efeitos colaterais podem estar relacionados ao seu uso, tais como transtornos gastrointestinais, erosões e úlceras da mucosa oral, úlcera gástrica e esofagite (NOLÊTO et al., 2019; CARVALHO et al., 2016; AIEX; JIMENEZ; MILENA, 2015; NICOLAU et al., 2013; SOSA HENRÍQUEZ; GÓMEZ DE TEJADA ROMERO, 2009). Estudos também ressaltam que quando administrado em alta concentração, bifosfonatos ocasionam a apoptose em células osteoblásticas (ILES et al., 2021; IDRIS et al., 2008). Diante disso, novas alternativas terapêuticas mais eficientes e que promovam o aumento dos efeitos benéficos destes fármacos, fazem-se necessárias.

As nanopartículas poliméricas são partículas coloidais que variam de 10-1000nm (1 μ m), produzidas a partir de polímeros sintéticos ou naturais, as quais têm sido propostas como novas alternativas promissoras de tratamento, com liberação direcionada de fármacos, além de constituir uma possibilidade de resolução dos efeitos colaterais decorrentes do uso de alguns fármacos, como toxicidade, baixa biodisponibilidade e eficácia, promovendo desse modo, uma melhora das terapias atuais (SILVA, 2020; LUDWIG et al., 2018; FRANCO, 2013).

Substâncias naturais, como gomas de polissacarídeos, apresentam vantagem no desenvolvimento e formulação de sistemas de entrega de fármacos, sendo consideradas mais atrativas quando comparadas aos compostos sintéticos em decorrência de suas propriedades emulsificantes, acessibilidade, flexibilidade para realização de modificações químicas,

biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (PADIL et al., 2018; OLOGUNAGBA et al., 2017).

Nesse contexto, a goma do cajueiro (GC), um biopolímero obtida a partir do exsudato proveniente da árvore *Anacardium occidentale* L., popularmente conhecida como Cajueiro, possui potencial para aplicação como agente encapsulante em sistemas de liberação de princípios ativos em virtude das suas propriedades emulsificantes (RIBEIRO et al., 2016; PORTO; CRISTIANINI, 2014). Apesar de apresentar características favoráveis à utilização como biomaterial, suas características hidrofílicas dificultam sua manipulação quando, por exemplo, associada à síntese de nanopartículas (MACEDO et al., 2015).

Desse modo, algumas modificações podem ser realizadas na estrutura da GC objetivando a sua aplicabilidade em diversos setores. Dentre estas, a acetilação tem sido realizada com o objetivo de melhorar a estrutura da goma do cajueiro para aplicação em sistemas nanoestruturados biodegradáveis, visando uma liberação mais controlada do fármaco e sua proteção gastrointestinal (DIAS et al., 2016).

Um outro biopolímero, a goma do angico (GA) obtida através do exsudato de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul, popularmente conhecida como angico-vermelho, tem demonstrado potencial para aplicações biotecnológicas, seja por ser fonte de carboidratos complexos ou pelas suas propriedades funcionais, como, por exemplo, sua capacidade de formar filmes e géis (ARAÚJO et al., 2020; PEREIRA et al., 2013).

Mediante a este contexto e a relevância da busca por terapias alternativas tais como a incorporação de substâncias bioativas em sistemas de liberação de fármacos, o presente estudo teve como objetivo nanoformular o alendronato de sódio em um sistema polimérico a base da goma do cajueiro acetilada e goma do angico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 OSTEOPOROSE

A osteoporose é uma doença multifatorial caracterizada pela baixa massa óssea e deterioração do tecido ósseo, acometendo a resistência óssea, o que resulta em um aumento do risco de fraturas. Estas podem ocorrer em qualquer local do osso, no entanto, são mais comuns no quadril e nas vértebras. Também conhecida como doença silenciosa, a osteoporose normalmente evolui sem a presença de sintomas até a ocorrência da primeira fratura (JOHNSTON; DAGAR, 2020; MELTON et al., 2013).

Mundialmente, a osteoporose é responsável por mais de 8,9 milhões de fraturas anualmente, o que corresponde à uma fratura osteoporótica a cada 3 segundos (SINGH; RAGHUWANSHI, 2019). A prevalência de osteoporose aumenta com a idade e é geralmente elevada entre mulheres na pós-menopausa (ALEJANDRO; CONSTANTINESCU, 2017). Estatísticas da Fundação Internacional da Osteoporose indicam que uma em cada 3 mulheres com mais de 50 anos, assim como 1 em cada 5 homens com mais de 50 anos terão fraturas osteoporóticas (SÖZEN; ÖZİŞIK; BAŞARAN, 2017).

No Brasil, aproximadamente 121.700 fraturas de quadril em decorrência da osteoporose ocorrem por ano, e devem aumentar para 160.000 fraturas anuais até 2050 (ALBERGARIA et al., 2019; CLARK et al., 2009). Diferenças étnicas, genéticas, antropométricas, socioculturais e econômicas e outros hábitos de vida destacam-se entre os fatores relacionados com as diferenças observadas na incidência e prevalência da osteoporose (CABRAL et al., 2016).

Dentre os fatores de risco relacionados à osteoporose em homens e mulheres, destacam-se o tabagismo, histórico familiar de fratura, idade superior a 65 anos e índice de massa corporal (IMC) baixo, que também pode se apresentar alto em homens. As causas secundárias englobam o tratamento crônico com glicocorticóides, distúrbios gastrointestinais, diabetes mellitus (tipo 1 e tipo 2), artrite reumatoide, doença hepática, enteropatia por glúten, mieloma múltiplo e outros distúrbios hematológicos (ROSEN, 2020). O Brasil possui diferentes fatores de risco para osteoporose e fraturas, uma vez que apresenta ampla mistura racial e distribuição regional heterogênea (NETO et al., 2018).

O tratamento de fraturas osteoporóticas é muito dispendioso, desse modo, o foco deve ser o tratamento em um estágio inicial da doença (ZAKIR et al., 2020). Este, deve sempre incluir o aumento da atividade física (exercícios de resistência e levantamento de peso), ingestão adequada de cálcio na dieta, garantia da suficiência de vitamina D, cessação do tabagismo e limitação do álcool. Dentre os fármacos utilizados, destacam-se as drogas antirreabsortivas e drogas anabólicas (fortalecimento dos ossos) e aquelas que exercem ambas as funções (MATZKIN et al., 2020).

Os bifosfonatos são considerados o tratamento farmacológico de primeira linha para a osteoporose, visto que se mostram eficazes na redução de incidência de fraturas e até mesmo de mortalidade (ÁLVAREZ; NEYRO; CASTAÑEDA, 2016). Alendronato, risedronato e ibandronato são bifosfonatos categorizados como medicamento antirreabsortivo ósseo, comumente utilizados para a prevenção de fraturas (GREY et al., 2012).

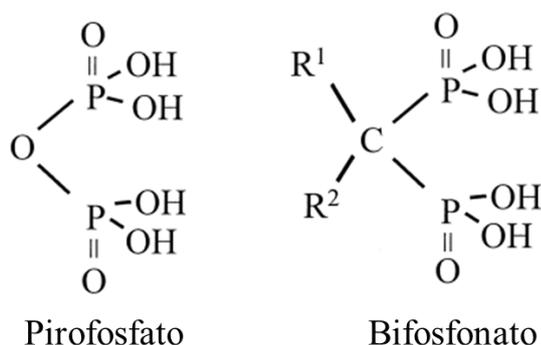
2.2 BIFOSFONATOS

Os bifosfonatos (BFs) são medicamentos considerados padrão ouro para o tratamento de doenças ósseas, apresentando eficácia e segurança comprovadas em vários estudos clínicos (ARGYRO et al., 2020).

Ensaio clínicos utilizando bifosfonatos revelaram que o alendronato de sódio mostrou-se eficaz na redução de 50% das fraturas vertebrais em indivíduos com uma fratura vertebral anterior ou com baixa densidade mineral óssea, o risedronato provou reduzir as fraturas vertebrais e não vertebrais (40-50% e 30-36%, respectivamente) e fraturas de quadril (apenas em mulheres de 70 a 79 anos) e o ibandronato reduziu o risco de fraturas vertebrais em 50 a 60% (KANIS et al., 2013).

Esses fármacos são análogos estruturais estáveis do pirofosfato inorgânico, um inibidor natural da reabsorção óssea, os quais possuem em sua estrutura a substituição do átomo central por um de carbono (FERNANDES; LEITE; LANÇAS, 2005) (figura 1). Os BFs são direcionados especificamente para os locais que apresentam atividade osteoclástica, o que sugere a sua atuação inibindo a reabsorção óssea através dos seus efeitos diretos nos osteoclastos, impedindo a atividade dessas células (REYES et al., 2016; JOBKE et al., 2014; ROGERS et al., 2000).

Figura 1: Comparação da estrutura química do bifosfonato com a do pirofosfato.



Fonte: Rogers et al. (2000).

De acordo com Enjuanes e colaboradores (2010), os BFs promovem a proliferação e maturação dos osteoblastos e inibem a apoptose dessas células. Tais observações, ressaltam

a concepção de que esses fármacos exerçam um efeito anabólico sobre os osteoblastos, estimulando, em seguida, a formação óssea. Desse modo, as células da linhagem osteoblástica também podem representar as células-alvos dos BFs (WEIGERT, 2016).

A capacidade dos bifosfonatos de ligação ao osso atribui-se à sua alta afinidade pela hidroxiapatita, o que a torna um excelente meio de entrega do fármaco (RAWAT et al., 2016). Esta capacidade de direcionamento foi investigada como uma forma de projetar e preparar pró-drogas conjugadas com bifosfonato para entregar uma grande variedade de droga de maneira seletiva aos ossos (YOUNG; GRYPAS, 2018).

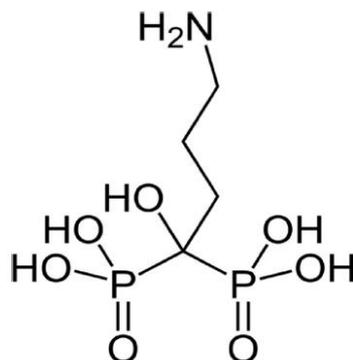
Compostos bifosfonatos possuem pouca absorção pelo intestino, apresentando uma biodisponibilidade que varia de 1 a 7% (TOUSSAINT; ELDER; KERR, 2009). Desse modo, recomenda-se que esses fármacos sejam ingeridos em jejum, acompanhado somente de água. Além disso, posteriormente, é necessário um jejum por mais um período entre 30 a 60 minutos (WATTS; DIAB, 2010). A supressão da reabsorção óssea ocorre por volta de três meses após o início da terapia oral, permanecendo constante com a continuidade do tratamento (SOUSA, 2018; KHAJURIA; RAZDAN; MAHAPATRA, 2011).

Dentre os bifosfonatos, o alendronato de sódio se destaca como um dos principais medicamentos utilizados no tratamento da osteoporose, sendo amplamente distribuído pelo Sistema Único de Saúde – SUS (ILES et al., 2021).

2.3 ALENDRONATO DE SÓDIO

O alendronato de sódio (ALD) é fabricado por diversas indústrias e está disponível no Brasil em várias especialidades farmacêuticas, podendo, inclusive, ser preparado como medicamento magistral. Encontra-se disponível para administração oral, em comprimidos de alendronato monossódico, na forma tri-hidratada ou não, apresentando doses de 5, 10 e 70mg de ácido alendrônico por comprimido (DEF, 2004). Trata-se de um aminobifosfonato, que possui estrutura análoga ao pirofosfato, substância endógena que regula o metabolismo de cálcio, além disso, a presença do grupo amino em sua estrutura, confere uma maior eficácia em relação a outras drogas da categoria (figura 2) (SCARPA et al., 2010). Este fármaco possui solubilidade em água e de modo geral é praticamente insolúvel em compostos orgânicos (SWEETMAN et al., 2009; KURKUMBH, 1999).

Figura 2: Estrutura química do alendronato de sódio (ALD). Presença do grupo amino (-NH₂).



Fonte: AZAB; FEKRY, 2017.

Seu mecanismo de ação pode estar relacionado à sua capacidade de fixação na matriz óssea, sendo assimilados pelos osteoclastos, para posteriormente, inibir sua ação; além de estimular a formação óssea, promovem a proliferação e maturação dos osteoblastos, inibindo desse modo, a apoptose dessas células. Por esse motivo, é indicado tanto para a prevenção quanto para o tratamento da osteoporose (EL-YAZBI; EMAN; YOUSSEF, 2019; CREMERS; PAPAPOULOS, 2011; MARCUS et al., 1996). Devido à sua alta afinidade com matriz óssea, cerca de 50% do fármaco absorvido permanece fixa na região óssea, sendo lentamente eliminado – apresentando uma meia vida longa de até 10 anos (GANGULI et al., 2002; NEVES et al., 2002).

A principal via de administração do alendronato de sódio é a via oral. No entanto, trata-se de um fármaco pouco absorvido pelo trato gastrointestinal, além disso, sua absorção é ainda mais prejudicada quando realizada concomitantemente com alguns alimentos que contêm cálcio ou outro cátion bivalente, devido à capacidade dessas moléculas em fragmentá-lo (KHAJURIA; RAZDAN; MAHAPATRA, 2011; BERRUTI et al., 2001). O alendronato de sódio é conhecido por causar dispepsia e lesões inflamatórias, tais como esofagite erosiva ocasionando anomalias quando em contato com a mucosa esofágica (WRIGHT et al., 2012; SOSA HENRÍQUEZ; GÓMEZ DE TEJADA ROMERO, 2009).

A literatura também relata que os bifosfonatos com cadeias laterais amino-primárias, como o alendronato de sódio e o pamidronato apresentam grande potencial para indução de lesões gástricas, o qual representa o efeito colateral mais comum relacionado ao tratamento prolongado, sendo os sintomas caracterizados por dor e desconforto na região abdominal (THOMSON et al., 2002; MACONI; BIANCHI PORRO, 1995). Estudos também indicam que quando administrado em alta concentração, o alendronato de sódio promove a inibição da atividade dos osteoblastos, diminuindo desse modo a formação da matriz mineralizada (PATNTIRAPONG; SINGHATANADGIT; ARPHAVASIN, 2014).

O mecanismo pelo qual o alendronato de sódio e outros bifosfonatos causam lesão da mucosa gástrica ainda não foi completamente elucidado. No entanto, os estudos ressaltam que o acúmulo de neutrófilos induzido por ALD e o aparecimento de edema na mucosa gástrica estão diretamente relacionados ao desenvolvimento de úlceras (NOLÊTO et al., 2019; CARVALHO et al., 2016; NICOLAU et al., 2013).

Desse modo, para assegurar uma maior eficácia durante o tratamento com ALD, algumas medidas são importantes de forma a evitar o contato prolongado do fármaco com a mucosa esofágica e assim diminuir a ocorrência de efeitos colaterais. Portanto, recomenda-se a sua ingestão com um copo cheio de água filtrada, logo após o paciente se levantar pela manhã. O paciente também deve fazer um intervalo de 30 minutos antes das refeições e manter-se de pé ou sentado por um período de 30 minutos após a ingestão do fármaco (KHAJURIA; RAZDAN; MAHAPATRA, 2011; KHAPRA; ROSE, 2006).

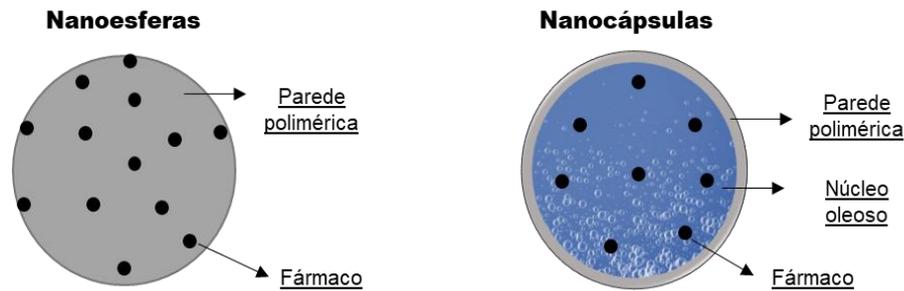
Diante disso e considerando o alto potencial do ALD no tratamento de doenças relacionados aos distúrbios ósseos e sua possível relação com lesões gástricas, torna-se evidente a necessidade de alternativas terapêuticas que promovam o aumento dos seus benefícios aos pacientes.

2.4 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

A administração oral de fármacos é caracterizada por apresentar uma eficácia limitada, baixa biodistribuição e falta de seletividade, o que faz com que apenas uma fração da dose administrada alcance o alvo terapêutico (JAIN, 2008). Diante desse contexto, nanopartículas poliméricas têm atraído grande atenção nos últimos anos devido às suas propriedades únicas e comportamentos proporcionados pelo seu tamanho pequeno, sendo propostas como veículos para liberação controlada de fármacos (CRUCHO, 2015).

Nanopartículas poliméricas (NPPs) são sistemas carreadores de fármacos, que apresentam intervalo nanométrico de 10 a 1000nm (1 μ m), constituídos por materiais de natureza polimérica, biodegradáveis ou não (FRANCO, 2013; TEIXEIRA, 2008). As estruturas das NPPs dependem da composição e organização estrutural e variam de nanoesferas a nanocápsulas (figura 3). As nanoesferas são sistemas que possuem uma matriz polimérica onde o fármaco encontra-se disperso, já as nanocápsulas referem-se a sistemas vesiculares nas quais o fármaco encontra-se aprisionado no interior de uma cavidade aquosa ou oleosa, sendo ainda envolvida por uma monocamada de parede polimérica (PRABHU; PATRAVALE; JOSHI, 2015; FRANCO, 2013; PARVEEN; MISRA; SAHOO, 2012; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Figura 3: Esquema representando as nanoesferas e nanocápsulas.



Fonte: Autoria própria, 2021.

Além disso, outras formas de nanopartículas poliméricas são relatadas pela literatura, tais como: Micelas, Dendrímeros e Polímersomas (MARTINS, 2017). Diferentes métodos podem ser utilizados para a síntese de nanopartículas, e devem ser escolhidos de acordo com o tipo de fármaco a ser encapsulado e seus requisitos para uma determinada via de administração (JAWAHAR; MEYYANATHAN, 2012). De modo geral, duas estratégias são comumente utilizadas: a dispersão de polímeros pré-formados ou a polimerização de monômeros (AMGOTH et al., 2019; REIS et al., 2006). No entanto, independentemente do método de síntese utilizado, as nanopartículas são obtidas na forma de suspensões coloidais aquosas (JAWAHAR; MEYYANATHAN, 2012; SCHAFFAZICK et al., 2003).

As nanopartículas poliméricas apresentam diversas vantagens na liberação controlada de fármacos, uma vez que permitem o alcance ao sítio de ação com maior eficiência, além de protegê-los contra degradações frente ao pH, enzimas e alterações bioquímicas (JEEVANANDAM; SAN CHAN; DANQUAH, 2016). Ademais, são sistemas que possuem mais estabilidade no interior dos sistemas biológicos, e dessa forma, podem melhorar a meia-vida de circulação plasmática do fármaco, aumentar a sua biodisponibilidade e auxiliar a permanência das moléculas farmacêuticas por mais tempo nos tecidos-alvo (KARIM et al., 2016).

Em comparação com outros sistemas de entrega de fármacos, as nanopartículas poliméricas apresentam baixa toxicidade e imunogenicidade, síntese relativamente mais fácil, baixo custo— para obtenção de polímeros, solubilidade em água, além de apresentar uma melhor biodegradabilidade e biocompatibilidade (CHEN et al., 2015). Dessa forma, nanopartículas constituídas por polímeros biodegradáveis apresentam grande potencial como veículos de liberação de fármacos, atraindo a atenção devido às suas potencialidades terapêuticas.

2.5 GOMAS NATURAIS

As gomas são polímeros naturais formados por unidades de monossacarídeos em arranjos lineares ou ramificados, pertencentes à classe dos carboidratos (BOTELHO, 1999; FENNEMA, 1996). Esses polímeros podem ser obtidos através de diferentes origens, como algas (LEE et al., 2016), sementes (MUDGIL; BARAK; KHATKAR, 2016) e exsudados (HOSSEINI et al., 2015). São substâncias conhecidas também como hidrocolóides, uma vez que apresentam capacidade de dissolução parcial ou total em água fria ou quente, formando suspensões ou soluções viscosas (BOTELHO, 1999). Na indústria, as gomas são amplamente utilizadas como ingredientes funcionais, atuando como modificadores de textura, agentes gelificantes, espessantes, estabilizadores, emulsionantes, agentes de revestimento, fibras dietéticas e filmes biodegradáveis (HAMED; TAN, 2012).

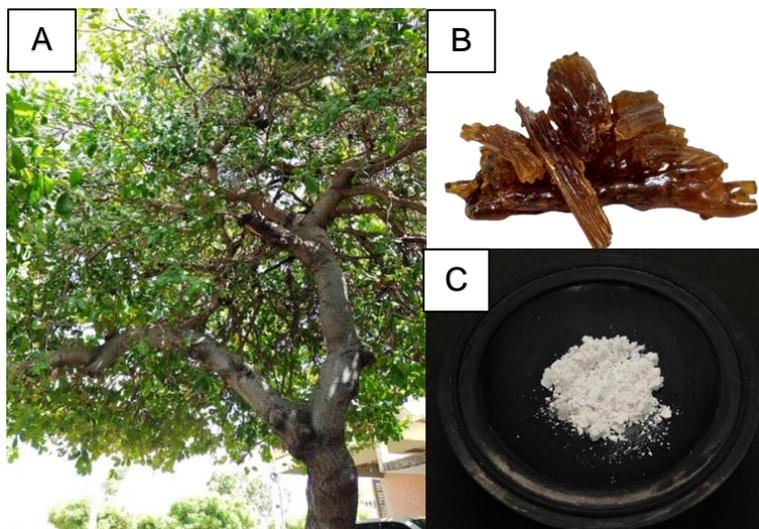
As principais famílias que incluem espécies que produzem gomas na forma de exsudatos são Leguminosae, Combretaceae e Anacardiaceae. Estas espécies exsudam goma principalmente no caule e galhos (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2009). As gomas exsudadas são polissacarídeos produzidos pelas células epiteliais de plantas quando o córtex é agredido por injúrias físicas ou ataque microbiano. Em outros casos, a produção do exsudado gomoso é um mecanismo de defesa das plantas que crescem em áreas semiáridas. Estas, caracterizam-se como substâncias translúcidas, inodoras, insípidas, não tóxicas, hidrofílicas e amorfas, com propriedades coloidais (ANDRADE et al., 2013).

As gomas naturais têm sido amplamente estudadas principalmente por serem biopolímeros que apresentam uma grande variedade de propriedades reológicas e de composição, o que torna esses materiais versáteis, com diversas opções de aplicações (RIBEIRO et al., 2016; KUMAR et al., 2012). Atualmente, as gomas naturais têm despertado interesse para a preparação de produtos farmacêuticos, devido sua solubilidade em água, não toxicidade, baixo custo e boa disponibilidade (PRAJAPATI et al., 2013).

2.6 GOMA DO CAJUEIRO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), é uma árvore pertencente à família *Anacardiaceae*, originariamente brasileira, típica de climas tropicais, sendo predominante nas regiões Norte e Nordeste como Rio Grande do Norte, Piauí e Ceará (RIBEIRO et al., 2016; SANCHO et al., 2007) (figura 4). Essa planta apresenta como principal produto a sua castanha, no entanto, sua goma exsudada demonstra grande potencial para a exploração comercial (KUMAR et al., 2012). Além disso, ressalta-se que a produção da goma do cajueiro não é dependente das condições ambientais ou de ataques de microrganismos, uma vez que há a possibilidade de realizar sua retirada apenas através da incisão da casca das árvores (OLIVEIRA, 2016; MOURA, 2009).

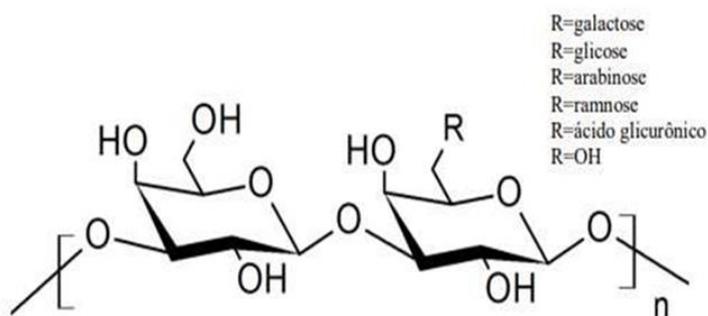
Figura 4: Ilustração da Árvore do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e seu respectivo exsudato.



Legenda: **A.** Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **B.** Exsudato extraído do cajueiro. **C.** Goma do cajueiro isolada e purificada. Fonte: Autoria própria, 2021.

A goma do cajueiro (GC) é um biopolímero hidrofílico, que possui como principais constituintes: galactose (72-73%), glicose (11-14%), arabinose (4,6-5%), ramnose (3,2-4%) e ácido glucurônico (4,7-6,3%) (figura 5) (RIBEIRO et al., 2016; DE PAULA; RODRIGUES, 1995). No entanto, a proporção destes pode variar de acordo com a fonte, a idade da árvore, o tempo de exsudação e as condições climáticas (SILVA et al., 2010).

Figura 5: Representação da composição química da goma do cajueiro (GC).



Fonte: Adaptado de Carvalho et al., 2015.

Com relação as suas características, a GC é um polissacarídeo de caráter ácido, baixo custo, atóxico, hidrofílico, biocompatível e biodegradável. Além disso, forma uma dispersão de baixa viscosidade, que precipita ao entrar em contato com solventes orgânicos polares como o etanol (OLIVEIRA, 2016; SILVA, 2013; ARAÚJO et al., 2012). Na área da indústria farmacêutica, destaca-se por apresentar propriedades como: proteção esofágica (NICOLAU

et al., 2019), proteção gástrica (CARVALHO et al., 2015), atividade anti-inflamatória (YAMASSAKI et al., 2015), curativa (MOREIRA et al., 2015) e atividade antidiarreica (ARAÚJO et al., 2015).

Estudos também têm demonstrado resultados promissores na utilização desse polissacarídeo na área de nanotecnologia (BONATTO; SILVA, 2014; ARAÚJO et al., 2012), na encapsulação de óleos essenciais (OLIVEIRA; PAULA; DE PAULA, 2014; ABREU et al., 2012), no desenvolvimento de géis (GUILHERME et al., 2005; PAULA; GOMES; DE PAULA, 2002), como agente formador de filmes (SILVA et al., 2016; MOREIRA et al., 2015) e como aglutinante na matriz de comprimidos (GOWTHAMARAJAN et al., 2011; GANESH et al., 2010). Além disso, modificações químicas podem ser realizadas na estrutura da goma do cajueiro, objetivando melhorias em suas propriedades biológicas (QUELEMES et al., 2017) ou físico-químicas (PITOMBEIRA et al., 2015).

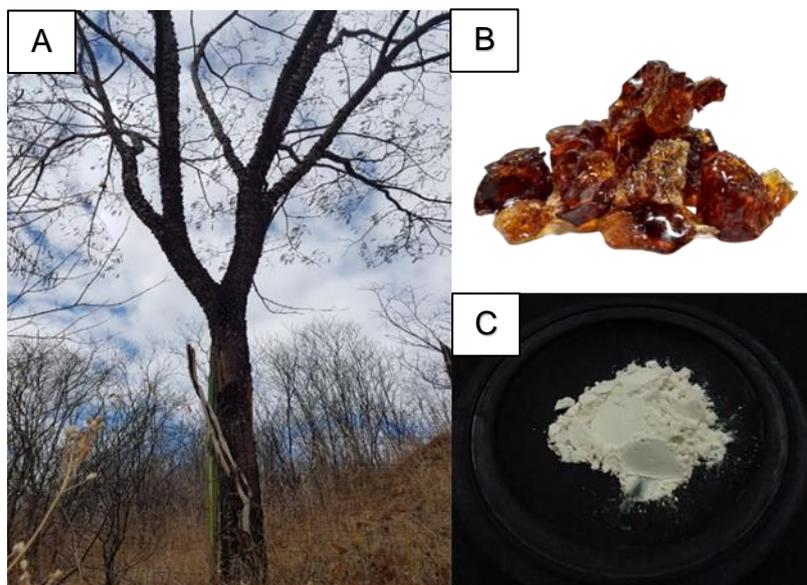
A utilização da goma do cajueiro como potencial agente encapsulante pode permitir a ampliação das possibilidades de uso desse polissacarídeo, assim como, promover a sua exploração comercial pelas comunidades relacionadas ao cultivo do caju (BOTREL et al., 2017). Desse modo, tendo em vista as potencialidades farmacológicas apresentadas pela goma do cajueiro, considera-se importante a investigação da potencialidade farmacológica deste produto natural.

2.7 GOMA DO ANGICO

A goma do angico vermelho (GA) é um biopolímero extraído do exsudato do tronco de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul, uma planta medicinal pertencente à família *Fabaceae*, popularmente conhecida como angico-vermelho, encontrada em todo o semiárido brasileiro (ARAÚJO et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2009). Os produtos derivados de *A. colubrina* (principalmente extratos e frações das folhas e raízes) apresentam várias propriedades, dentre as quais destacam-se: propriedade antimicrobiana (SILVA et al., 2019a), antioxidante (DAMASCENA et al., 2014), cicatrizante de feridas (PESSOA et al., 2015), anti-inflamatória (GUARNEIRE et al., 2019), antinociceptiva (SANTOS et al., 2013) e propriedades antiproliferativas (LIMA et al., 2014).

O angico-vermelho é uma espécie arbórea que pode atingir até 20 metros de altura. Esta árvore ao sofrer uma injúria produz no local da lesão uma resina natural de coloração amarela (exsudado) que depois de algum tempo torna-se avermelhada, cuja composição é rica em polissacarídeos. Este exsudato é também conhecido como goma do angico (figura 6) (LORENZI, 2008; PAULA; BUDD; RODRIGUES, 1997).

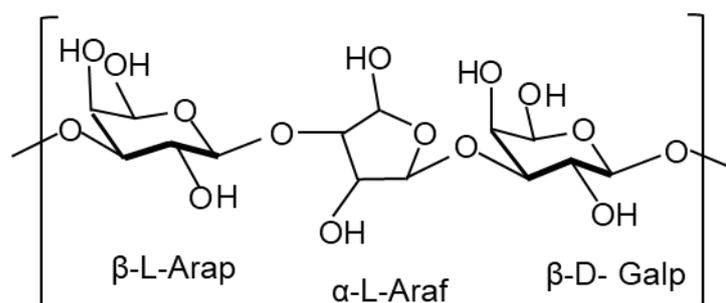
Figura 6: Ilustração da árvore do angico vermelho (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul) e seu respectivo exsudato.



Legenda: **A.** Angico vermelho (*Anadenanthera colubrina*). **B.** Exsudato extraído do angico vermelho. **C.** Goma do angico vermelho isolada e purificada. Fonte: Autoria própria, 2021.

A goma do angico possui características de um heteropolissacarídeo, sendo constituída por: arabinose (67,8%), galactose (24,1%) e uma pequena quantidade de ramnose (2,0%) (MORETÃO et al., 2003; DA SILVA; RODRIGUES; DE PAULA, 1998; DELGOBO et al., 1998). Um estudo anterior demonstra que a goma do angico também apresenta em sua composição uma cadeia principal constituída por β - D-Galp, incluindo α -L-Araf e β -L-Arap (figura 7) (DA SILVA; RODRIGUES; DE PAULA, 1998).

Figura 7: Representação da estrutura química da goma do angico (GA).



Fonte: Adaptado de Sousa et al., 2020.

De acordo com Da Silva, Rodrigues e De Paula (1998), a goma do angico vermelho possui capacidade para a formação de hidrogéis em virtude da sua hidratação e dispersões coloidais, apresentando grande potencial para aplicações biotecnológicas podendo atuar como agentes espessantes, gelificantes, emulsificantes, floculantes, clarificantes,

encapsuladores, controladores de calorias, adesivos, inibidores de cristalização, protetores coloidais, estabilizadores de espuma e de suspensão, além de formadores de filmes.

Do mesmo modo que a goma do cajueiro e a goma arábica, a GA apresenta baixa viscosidade e um menor grau de ramificação em comparação com outras gomas industriais (carboximetilcelulose, goma caraia, goma tragacanto, entre outras) (SOUSA, 2020; DA SILVA, RODRIGUES; DE PAULA, 1998). No entanto, apesar do potencial apresentado, pouca informação está disponível sobre suas propriedades químicas e atividades biológicas (ARAÚJO et al., 2020), o que torna relevante os estudos envolvendo a utilização desse polissacarídeo.

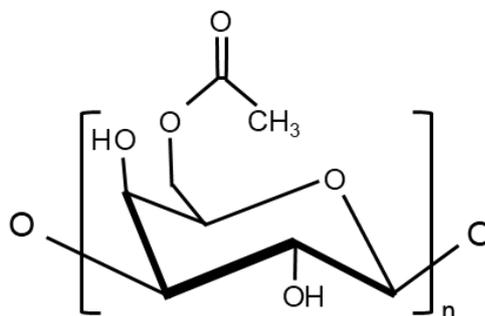
2.8 MODIFICAÇÃO QUÍMICA DE POLISSACARÍDEOS GOMOSOS

Alguns problemas são relacionados ao uso de polissacarídeos *in natura*, tais como: taxas descontroladas de hidratação, solubilidade dependente do pH, espessamento, queda de viscosidade sob armazenamento, e além disso, possível contaminação microbiana. Desse modo, a modificação química de gomas é utilizada como um meio de alterar suas propriedades originais, melhorando a estrutura para utilização em sistemas nanoestruturados, com o objetivo de minimizar as desvantagens associadas ao seu uso, o que possibilita a ampliação de suas aplicações, como adesivos, matrizes para liberação controlada de fármacos, flocculantes, entre outras (LIANG et al., 2011; RANA et al., 2011).

Dentre os procedimentos de modificação química mais comumente utilizados, destacam-se a carboximetilação, a ligação cruzada, a ligação covalente com unidades de açúcar e unidades proteicas e a acetilação (KARIMI; MOHAMMADIFAR, 2014; KUMAR; AHUJA, 2012; OLIVEIRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2007). A acetilação consiste em uma reação que promove a substituição de sítios hidroxil dos polissacarídeos por grupos funcionais acetil, comumente derivados de um anidrido (figura 8). A substituição ocorre nas hidroxilas livres pertencentes as unidades monossacarídicas, promovendo diversos efeitos nas propriedades funcionais da molécula (CARDIAL, 2019; LIMA et al., 2018).

Essa modificação química tem como finalidade controlar a solubilidade de polissacarídeos, uma vez que atua alterando a hidrofobicidade e as propriedades físicas das gomas, como a absorção de água e o poder de intumescimento/inchamento, o que possibilita uma melhor interação entre fármaco e goma no processo de formulação de nanopartículas por emulsão, proporcionando uma liberação mais controlada do fármaco e sua proteção gastrointestinal (DIAS et al., 2016; PITOMBEIRA et al., 2015; XU et al., 2010).

Figura 8: Estrutura da goma do cajueiro após modificação química (acetilação) – adição do grupamento acetil ($\text{CH}_3\text{COO}-$).



Fonte: Adaptado de Silva et al., 2019c.

Apesar de apresentar características favoráveis para a sua utilização como biomaterial, a goma do cajueiro possui comportamento hidrofílico, o que dificulta a manipulação no processo de síntese de nanopartículas. Desse modo, a modificação química da goma do cajueiro em um biopolímero hidrofóbico, permite o desenvolvimento de sistemas coloidais mais estáveis e resistentes, solucionando as limitações relacionadas à sua utilização (SILVA et al., 2019c).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sistema nanoestruturado constituído pelos polímeros goma do cajueiro acetilada e goma do angico para incorporação do fármaco alendronato de sódio.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar e purificar o polissacarídeo obtido do exsudato de *Anacardium occidentale* L. e *Anadenanthera colubrina*;
- Modificar quimicamente a goma do cajueiro pelo processo de acetilação;
- Caracterizar a goma do cajueiro e seu derivado – goma do cajueiro acetilada, goma do angico e o alendronato de sódio, por meio da técnica de espectroscopia da região do infravermelho (FT-IR);
- Utilizar a goma do cajueiro acetilada e a goma do angico para desenvolver nanopartículas para incorporação do fármaco alendronato de sódio;
- Caracterizar as nanopartículas de acordo com o espectro de absorbância, o tamanho hidrodinâmico médio, índice de polidispersão (IPD), potencial Zeta, e eficiência de incorporação;
- Verificar a interferência da razão polímero/fármaco sobre o tamanho das nanopartículas na incorporação por nanoemulsão;
- Realizar e avaliar a atividade hemolítica após tratamento das células vermelhas com as nanopartículas.

4 METODOLOGIA

4.1 DROGAS E REAGENTES

O alendronato de sódio foi manipulado na farmácia Farmafórmula e os outros reagentes químicos de grau analítico também foram obtidos a partir de fornecedores locais em Parnaíba-Piauí.

4.2 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO

O polissacarídeo de exsudato, goma do cajueiro (GC), utilizado neste trabalho foi obtido da árvore *Anacardium occidentale* L. (cajueiro). A goma foi purificada pelo método de precipitação em etanol descrito por Rodrigues, De Paula e Costa (1993). Para o isolamento, 30 g do exsudato bruto foram dissolvidos em água Mili-Q, e deixados sob agitação durante 24 horas para completa solubilização. Após a solubilização, NaCl (2g/100mL) foi adicionado à solução em agitação. Posteriormente, a goma foi precipitada em etanol e refrigerada por 24 horas. Em seguida, o precipitado foi separado e lavado duas vezes com etanol, seguido de acetona. O precipitado lavado foi macerado sob fluxo de ar quente constante para completa evaporação da acetona, obtendo-se a goma.

4.2.1 Modificação da goma do cajueiro

A modificação química da goma do cajueiro foi realizada pelo método de acetilação proposto por Motozato et al. (1986), com adaptações, como descrito por Pitombeira et al. (2015). Neste processo, a goma de cajueiro (1g) foi suspensa em 20ml de formamida, e deixados sob agitação vigorosa. Piridina (3g) e anidrido acético (7g) foram adicionados e a mistura foi colocada sob agitação durante 24 h a 50 °C. A goma modificada passou pelo processo de precipitação com 400mL de água. Em seguida, o produto obtido (goma do cajueiro acetilada – GAC) foi filtrado, lavado com água filtrada e, então, seco sob fluxo de ar quente.

4.3 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA DO ANGICO

O polissacarídeo de exsudato, goma do angico (GA), utilizado neste trabalho foi obtido no Município de Simplício Mendes – Piauí, de árvores da espécie *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.). A goma foi purificada conforme descrito na literatura, de acordo com o método de precipitação em etanol utilizado por Da Silva, Rodrigues e De Paula (1998). Para o isolamento, foi preparada uma solução da goma bruta, onde 12g do exsudato foram diluídos em 100ml de água Mili-Q e deixados sob constante agitação durante 24 horas para que ocorresse a solubilização. Posteriormente, essa mistura foi filtrada, para remoção de impurezas e o pH da solução ajustado para 7, utilizando-se uma solução de NaOH. Em

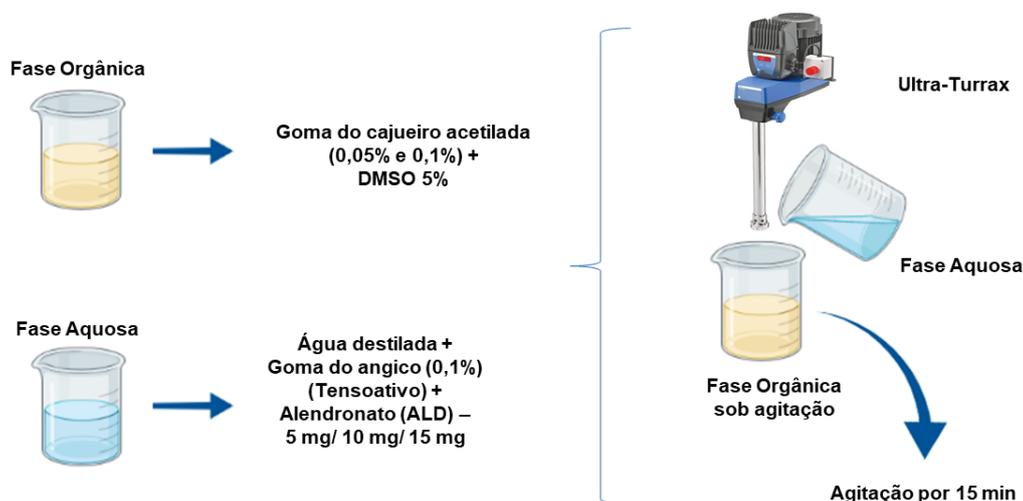
seguida, para a purificação, o conteúdo foi adicionado em um béquer contendo 30ml de etanol, e deixado durante o período de 24h na geladeira. O precipitado formado no fundo foi separado do líquido e lavado 2 vezes com etanol para a remoção de água. O produto foi macerado e lavado novamente com etanol e logo após com acetona para a remoção de impurezas e água. O precipitado lavado foi seco e macerado sob fluxo de ar quente frequente até a obtenção da goma com coloração bege claro.

4.4 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Para o desenvolvimento das nanopartículas contendo alendronato de sódio foi realizado o método de deslocamento de solvente. Dessa maneira, duas fases foram utilizadas para formulação das nanopartículas: uma fase orgânica, composta por goma do cajueiro acetilada (GAC) e DMSO 5% (utilizado como solvente para GAC); e uma fase aquosa, composta por goma do angico (GA), água destilada e alendronato de sódio. Inicialmente as fases (orgânica e aquosa) foram preparadas isoladamente. Os conteúdos das respectivas fases foram misturados com auxílio de um vortex até a completa solubilização e posteriormente adicionados ao béquer. Após a preparação de cada fase, a fase orgânica foi submetida a agitação (15.000rpm, com auxílio de um ULTRA-TURRAX®-IKA T10) e em seguida foi adicionada a fase aquosa – a agitação perdurou por 15 min (figura 9). Passados os 15 minutos de agitação, as amostras foram centrifugadas a 12.000rpm por 15 min, e então o sobrenadante foi coletado e o “*pellet*” descartado.

É importante ressaltar que foram utilizadas duas concentrações diferentes da goma do cajueiro acetilada (0,05% e 0,1%) e uma concentração única da goma do angico - tensoativo (0,1%); e três concentrações diferentes de alendronato de sódio (5, 10 e 15mg) – afim de compreender a interação entre polissacarídeo e o fármaco.

Figura 9: Representação esquemática da síntese das nanopartículas poliméricas.



Fonte: Adaptado de Iles, 2017.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS GOMAS E DO FÁRMACO

4.5.1 Espectroscopia na região do Infravermelho (FT-IR)

A espectroscopia de infravermelho (IR) é um recurso analítico que baseia-se no fato de que os diferentes grupos funcionais que compõem as moléculas absorvem a radiação na região do infravermelho do espectro eletromagnético em comprimentos de onda característicos. Trata-se de uma das técnicas comumente utilizadas para a identificação de materiais poliméricos (QUINTO, 2019; MAGNO, 2013). A técnica de ATR possibilita com que as amostras tenham seu espectro medido diretamente, sem a necessidade do preparo de pastilhas. Desse modo, as análises são mais rápidas e apresentam menor custo (PEREIRA, 2018).

Os espectros de FT-IR das gomas (natural e modificada) em pó e do alendronato de sódio em pó, foram registrados por Cristal ATR (Reflexão Total Atenuada) em um espectrofotômetro Thermo Scientific iD7 ATR, modelo Nicolet iS5, no intervalo de número de onda de $4000\text{-}700\text{cm}^{-1}$, em modo de absorbância. As análises de FT-IR foram realizadas no Centroflora Anidro do Brasil (Vegeflora) em Parnaíba-Piauí.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

4.6.1 Tamanho médio das nanopartículas, IPD e potencial Zeta

As medidas de tamanho das nanopartículas poliméricas, índice de polidispersão (IPD) e potencial Zeta foram obtidas em triplicata através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (*Dynamic Light Scattering* – DLS) em equipamento Malvern Zetasizer Nano. A dispersão de luz foi realizada utilizando as seguintes condições: dispersante: água (25°C), temperatura: 25°C ; calibração: 60; medição: 173; runs: 20 min.

4.6.2 Quantificação e eficiência de incorporação do fármaco

A quantificação do alendronato de sódio (ALD) foi realizada de acordo com o método descrito por Kuljanin e colaboradores (2002), com adaptações conforme Iles e colaboradores (2021). Após a síntese das nanopartículas, as amostras foram centrifugadas por 15 min à 15.000rpm – para que ocorresse a separação da fração não incorporada nas nanopartículas. Em seguida, o *pellet* foi separado do sobrenadante para que leituras isoladas fossem realizadas e comparadas.

A eficiência de incorporação de fármaco pelas nanopartículas, foi determinada por espectroscopia do ultravioleta-visível (UV-vis), em um espectrofotômetro Shimadzu UV -1800, acoplado a um computador e operado através do software UVProbe 2.33, pelo método indireto. A quantidade de alendronato (ALD) encapsulado foi determinada no sobrenadante,

através do método desenvolvido por Ostović, Stelmach e Hulshizer (1993) e utilizado por Miladi e colaboradores (2015), com modificações. De forma breve, a quantidade foi determinada em um comprimento de onda de 220nm, sob adição de reagente de cloreto de ferro (III) (cloreto de ferro III 5mM em 17,5mL de HClO₄ 11,5M) para formação de um complexo entre o alendronato e os íons de ferro.

A quantidade de droga encapsulada foi obtida por meio da subtração da quantidade de molécula ativa no sobrenadante da quantidade inicial de ALD. A eficiência de encapsulamento foi expressa com a diferença do medicamento encapsulado da quantidade inicial do fármaco.

4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA

A atividade hemolítica das amostras foi testada utilizando células vermelhas de acordo com Marani e colaboradores (2015). Eritrócitos humanos foram coletados em tubos contendo EDTA, lavados três vezes e ressuspensos em solução salina (0,85%). Triton-X (0.1% v/v) e solução salina (0,85%) foram utilizados como controle de hemólise positivo (100% de lise celular) e negativo (0% de lise celular), respectivamente. Além disso, também foi avaliada a atividade hemolítica utilizando somente o alendronato de sódio (15mg). A leitura do resultado foi realizada em leitor de microplacas a 492nm. Para obtenção do percentual de hemólise, foi realizado o cálculo com base na fórmula abaixo:

$$\%atividade\ hemolítica = \frac{A_{amostra} - A_{salina}}{A_{Triton} - A_{salina}} \times 100$$

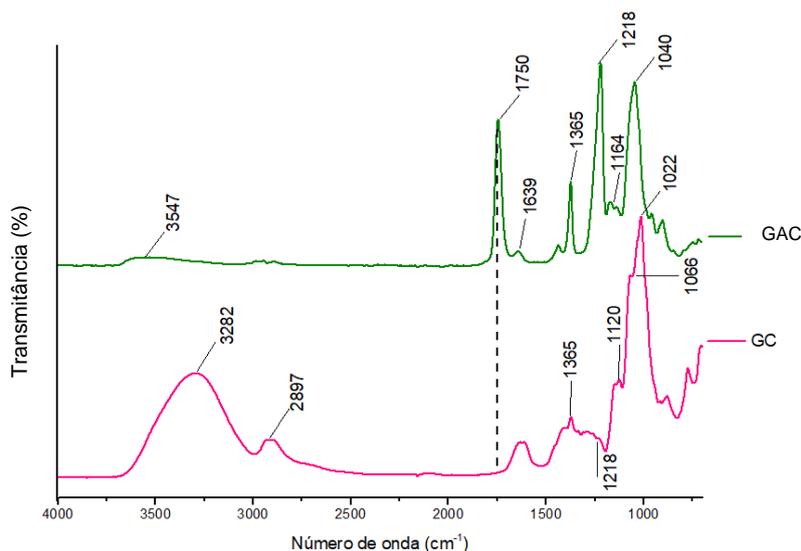
A análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do programa GraphPad Prism 5.0, sendo aplicado o teste ANOVA de duas vias com pós teste de Tukey estabelecendo-se $p < 0,05$ para diferenças estatisticamente significativas.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS GOMAS ISOLADAS E DA GOMA DO CAJUEIRO MODIFICADA

Após isoladas e purificadas, foram realizadas as análises de FT-IR da goma do cajueiro e da goma do angico, bem como da goma do cajueiro após as modificações estruturais. É possível observar que a goma do cajueiro quando sujeita a modificação com anidrido acético apresentou diferenças em relação aos seus espectros de FT-IR. A figura 10, exibe o espectro de FT-IR da goma do cajueiro e goma do cajueiro acetilada utilizadas para a formação de nanopartículas.

Figura 10: Espectros FT-IR correspondente à goma do cajueiro (GC) e goma do cajueiro acetilada (GAC).



Legenda: Estudos das mudanças estruturais ocasionadas na goma do cajueiro em decorrência do processo de acetilação. Espectros de FT-IR da goma do cajueiro em rosa, demonstrando espectros específicos de polissacarídeos em 1120cm^{-1} , 1066cm^{-1} e 1022cm^{-1} ; e espectros da modificação por acetilação da goma do cajueiro em verde apresentando bandas de modificação em 1750cm^{-1} e 1164cm^{-1} .

O espectro na região do infravermelho da goma do cajueiro demonstrou absorção em 3282cm^{-1} , atribuída a vibração de alongamento OH (RIBEIRO et al., 2021) e em 2897cm^{-1} , atribuída ao alongamento C-H (AMORIM et al., 2019). Ambas as gomas apresentaram absorções nas regiões 1365cm^{-1} e 1218cm^{-1} , sendo estas mais acentuadas para a goma do cajueiro acetilada, as quais são referentes a vibração da carbonila éster (MACIEL et al., 2005; SEKKAL et al., 2003) e deformação axial de C-O, respectivamente (ARAÚJO, 2011; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

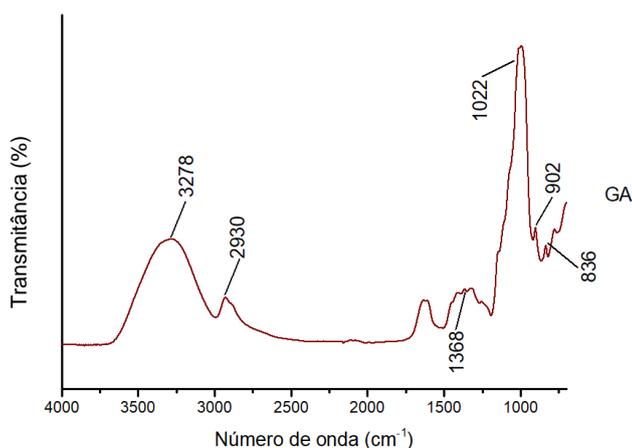
O espectro na região do infravermelho da goma do cajueiro também demonstrou absorções específicas de polissacarídeos nas regiões 1120cm^{-1} , 1066cm^{-1} e 1022cm^{-1} , que correspondem às vibrações de estiramento das ligações glicosídeas C-O-C e dobramentos O-H de álcoois (LUSTOSA, 2017; PITOMBEIRA et al., 2015; DA SILVA et al., 2009).

Para a goma do cajueiro acetilada (GAC) observa-se a presença de banda em 3547cm^{-1} , indicando a presença de vibrações de estiramento O-H (EDDY et al., 2019; CUNHA et al., 2007). Além disso, há uma nova banda de absorção intensa na região 1750cm^{-1} , devido às vibrações de alongamento de C=O (DOURADO, 2019; LIMA et al., 2018; PITOMBEIRA et al., 2015; PARK et al., 2007). A goma do cajueiro acetilada evidenciou uma nova banda de absorção em 1639cm^{-1} , comumente associada aos polissacarídeos, que corresponde às vibrações do tipo O-H das moléculas de água ligadas (SILVA et al., 2019b; SILVA et al., 2016). Também observa-se a formação de novo picos para a goma do cajueiro acetilada nas regiões 1164cm^{-1} devido às vibrações de alongamento C-O e C-O-C (KLEIN et al., 2019); e 1040cm^{-1} atribuído ao alongamento C-O-C das ligações glicosídicas e dobramento O-H de álcoois (QUELEMES et al., 2017; PITOMBEIRA et al., 2015).

A figura 11 apresenta os espectros da goma do angico. A partir da análise desses espectros, é possível observar bandas de absorção nas regiões 3278cm^{-1} , correspondente a estiramentos de grupos hidroxilas (-OH) (BOTELHO, 2018) e em 2930cm^{-1} , atribuída à vibração de alongamento C-H (SOUSA et al., 2020; MELO, 2015; REN et al., 2007).

A goma do angico vermelho também apresentou bandas na faixa de absorção em 1368cm^{-1} , referentes às vibrações da deformação simétrica da ligação éster C-O das ligações glicosídicas (ARAÚJO et al., 2020; SOUSA et al., 2020; REN et al., 2007). Além disso, observa-se a presença de bandas de absorção nas regiões 836cm^{-1} e 902cm^{-1} , referentes a grupamentos aromáticos (PAVIA et al., 2015) e bandas em 1022cm^{-1} , relacionadas ao alongamento de C-O-C e a deformações de grupos O-H pertencentes às unidades glicosídicas (ARAÚJO et al., 2020; MELO, 2015; MOURA, 2009).

Figura 11: Espectro FT-IR correspondente à goma do angico vermelho (GA).

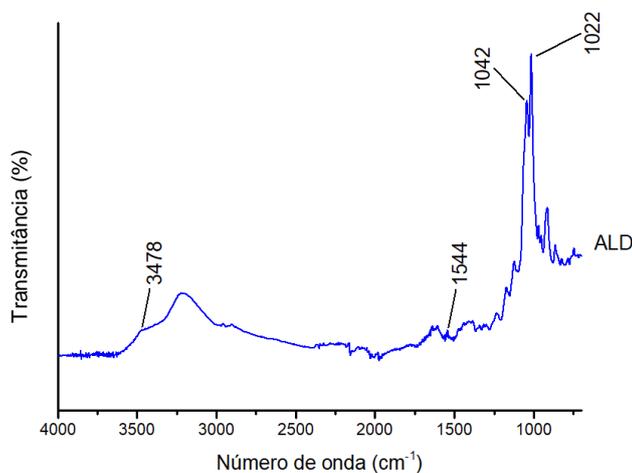


Legenda: Espectros de FT-IR em marrom, demonstrando banda característica de polissacarídeos em 1022cm^{-1} .

5.2 CARACTERIZAÇÃO DO ALENDRONATO DE SÓDIO

A figura 12, exibe o espectro de FT-IR para o alendronato de sódio (ALD), com presença de absorção nas regiões de 3478 cm^{-1} que corresponde ao alongamento N-H; e em 1042cm^{-1} , atribuída aos alongamentos dos grupos P-O, P-C e P=O, respectivamente (OZ et al., 2019). Além disso, há a formação de bandas de absorção em 1544cm^{-1} , correspondendo à presença de grupos fosfatos (IBRAHIM; KHALIVULLA; AKOWUAH, 2017). Ademais, observam-se bandas de absorção na região de 1022cm^{-1} , que também se trata de um pico característico para o alendronato de sódio, atribuído a vibração assimétrica de P-OH (HUR et al., 2016; WANG et al., 2011).

Figura 12: Espectro FT-IR correspondente ao alendronato de sódio (ALD).



Legenda: Espectros de FT-IR em azul, demonstrando bandas de absorção características do alendronato de sódio em 1544cm^{-1} e 1022cm^{-1} .

5.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Medidas utilizando a técnica de DLS foram realizadas para determinação da diferença entre o tamanho das partículas obtidas nas formulações, sua dispersão na solução coloidal, bem como a carga superficial. As análises obtidas por DLS, evidenciaram uma relação entre a concentração de fármaco utilizado na síntese, exercendo influência no tamanho das nanopartículas (NPPs) obtidas. O tamanho das NPPs, índice de polidispersividade e o potencial Zeta, estão demonstrados na tabela 1.

Os resultados acerca dos tamanhos hidrodinâmicos médios das nanopartículas formuladas com 0,05% de polímero variaram de 182,3 a 303,2nm; apresentando um índice de polidispersão (IPD) de 0,3 a 0,4. Para as NPPs formuladas com 0,1% de polímero, os tamanhos obtidos variaram entre 59,62 a 160,2nm, com IPD entre 0,6 a 0,4. O potencial Zeta apresentou valores que variaram de -21,5 a -25,9mV para as NPPs contendo 0,05% de polímero no sistema. Para as NPPs contendo 0,1% de polímero na formulação, os valores obtidos variaram entre -28,9 e -28,0mV.

Tabela 1: Comparação entre os resultados obtidos a partir da caracterização das nanopartículas.

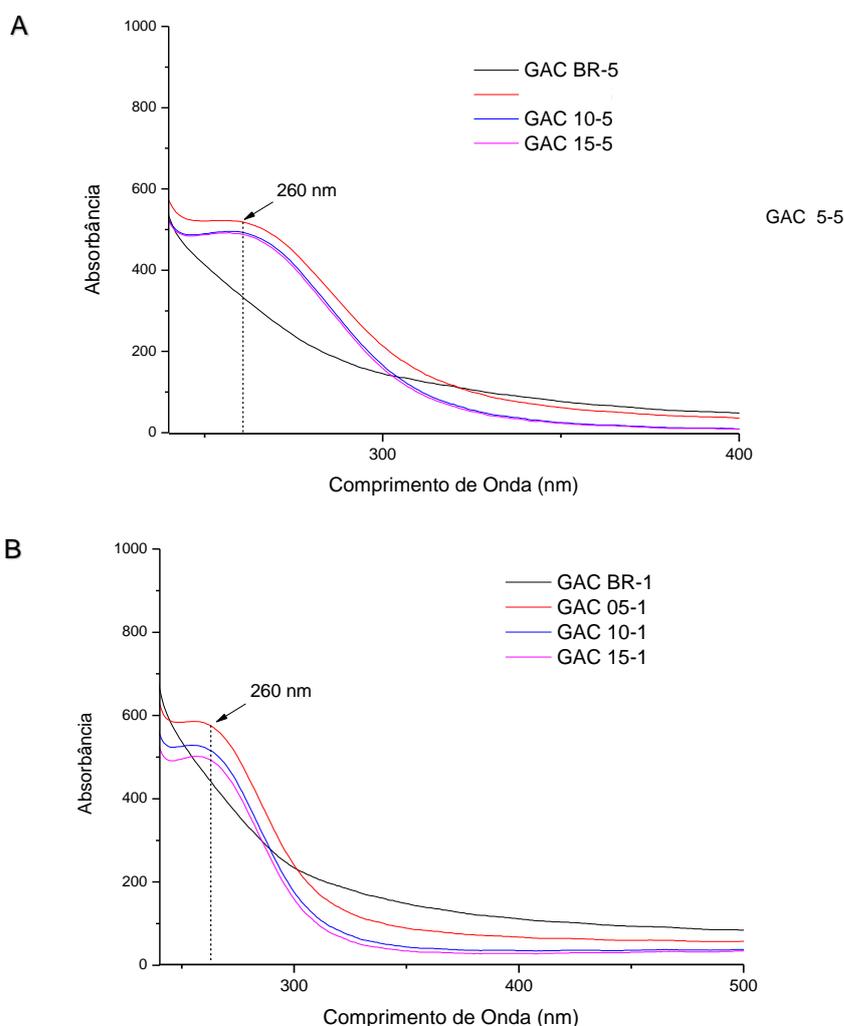
NANOPARTÍCULAS	TAMANHO (nm)	IPD	ZETA (mV)	EE (%)
GACBR5	303,2	0,44±0,03	-25,9	-
GAC55	222,1	0,26±0,01	-30,1	68,47%
GAC105	193,86	0,38±0,01	-30,2	21,12%
GAC155	182,3	0,32±0,01	-21,5	2,63%
GACBR1	160,2	0,47±0,01	-28,0	-
GAC051	161,73	0,45±0,02	-22,8	87,97%
GAC101	111,26	0,60±0,01	-18,7	6,95%
GAC151	59,62	0,68±0,01	-28,9	5,51%

Legenda: Tamanho médio, IPD, Zeta – obtidos pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) e eficiência de incorporação (EE) pela técnica de espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis). GACBR5 e GACBR1: nanopartícula sem alendronato, em uma concentração de 0,05% e 0,01% de goma do cajueiro acetilada e goma do angico vermelho, respectivamente. GAC55, GAC105, GAC155, GAC051, GAC101, GAC151: nanopartícula obtida com alendronato de sódio nas concentrações de 05, 10 e 15mg do fármaco. As terminações 5 e 1 determinam as concentrações de goma – sendo 5 atribuído a 0,05%, e 1 correspondendo a 0,1% das gomas utilizadas.

A espectrofotometria na região do Ultravioleta-visível representa uma das técnicas comumente utilizadas para observar a formação e confirmar a síntese de nanopartículas, sendo considerada uma técnica de fácil execução e sensível o suficiente para esta finalidade

(SOUZA, 2018; NAGAJYOTHI et al., 2013). Os resultados referentes às leituras das nanopartículas utilizando a técnica de UV-vis estão representados na figura 13.

Figura 13: Representação gráfica da curva de detecção de alendronato nas nanopartículas.



Legenda: As nanopartículas quando complexionadas com íons de ferro, apresentaram leituras em 260nm. As curvas demonstram diferenças de leitura para as diferentes concentrações de ALD. (A) detecção de alendronato de sódio nas amostras de GAC 0,05% e (B) amostras de GAC 0,1%.

A figura 13 demonstra que houve interação das nanopartículas com íons de Fe^{3+} . Os gráficos representados na figura 13, evidenciam que há uma diferença de absorbância nas bandas de leitura em 260nm para ambas as nanopartículas, o que confirma uma diferença de incorporação quando há uma diminuição da razão fármaco/polímero.

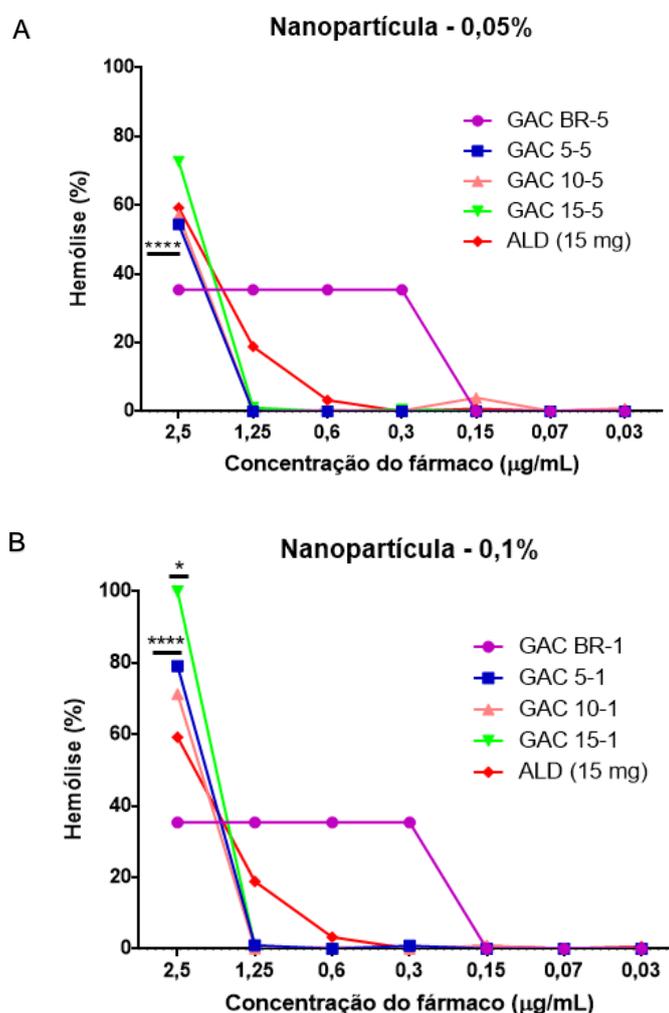
Para as nanopartículas GAC 0,05% formuladas com 5mg de ALD, houve uma eficiência de incorporação de 68,47%. Em contrapartida, as amostras contendo 10 e 15mg, demonstraram uma eficiência de 21,12% e 2,63%, respectivamente. As nanopartículas GAC 0,1% formuladas com 5mg de ALD, obtiveram uma eficiência de incorporação de 87,97%. Já

as amostras contendo 10 e 15mg, demonstraram uma eficiência de 6,95% e 5,51%, respectivamente. Os valores de eficiência de incorporação (EE) para ambas as nanoformulações aumentaram conforme a diminuição do fármaco no sistema, como demonstrado na tabela 1.

5.4 ATIVIDADE HEMOLÍTICA

Os gráficos representados na figura 14, apresentam os resultados obtidos no teste de hemólise para NPP 0,05% e NPP 0,1% formuladas sem a presença do fármaco e para as nanoformulações contendo diferentes concentrações de ALD (5, 10 e 15mg), bem como, os resultados obtidos utilizando apenas o fármaco na sua forma livre (15mg).

Figura 14: Representação gráfica da atividade hemolítica das nanopartículas.



Legenda: Tratamento de hemácias com nanopartículas poliméricas. (A) Atividade hemolítica de nanopartículas formuladas com GAC 0,05%. **** $P < 0,0001$ quando comparado com o grupo GAC 0,05% e (B) nanopartículas formuladas com GAC 0,1%. **** $P < 0,0001$ quando comparado com o grupo GAC 0,1%.

Os resultados apresentados na figura 14, demonstram que não há atividade hemolítica para as nanopartículas nas menores concentrações testadas. A hemólise observada foi menor para as formulações GAC 0,05% quando comparada com as formulações GAC 0,1%. A figura 15 também demonstra que conforme há uma diminuição da concentração de ALD nas formulações, é possível observar um decréscimo na atividade hemolítica.

Além disso, quando nanoencapsulado, observa-se uma redução do perfil hemolítico do fármaco a partir da segunda concentração, o que não foi observado para o alendronato na sua forma livre (15mg), uma vez que essa redução é observada apenas a partir da sua quarta concentração, resultado semelhante foi observado com as nanopartículas utilizando apenas as gomas, as quais apresentaram redução da atividade hemolítica apenas a partir da quinta concentração.

6 DISCUSSÃO

As gomas naturais, em geral, constituem umas das mais numerosas matérias-primas existentes. Com relação à composição química, as gomas são polissacarídeos, que correspondem a múltiplas unidades de açúcares associados através de ligações glicosídicas, de modo a formar um polímero com longa cadeia e alta massa molecular (RANA et al., 2011). O termo “goma” é utilizado para descrever um grupo de polissacarídeos de ocorrência natural, que tem apresentado destaque em aplicações industriais em virtude da sua capacidade para formação de gel, aumentar a viscosidade das soluções ou permitir com que os sistemas de emulsões sejam estáveis (ARAÚJO, 2017; MARTINETTI et al., 2014).

A goma de cajueiro é um heteropolissacarídeo ácido ramificado, que apresenta em sua composição um maior conteúdo de galactose, além de glicose, arabinose, raminose e ácido glicurônico (BARBOSA, 2015; ARAÚJO et al., 2012). Trata-se de um polissacarídeo que possui alta solubilidade em água, mesmo à temperatura ambiente (PAULA; PAULA; FEITOSA, 2018). Por apresentar semelhanças em relação às propriedades emulsificantes, a goma do cajueiro tem sido apontada como uma alternativa à goma arábica (ARAÚJO, 2018).

O resultado de FT-IR da goma do cajueiro (GC), demonstrou a presença de bandas na região característica de grupamento OH e alongamento de alcanos (RIBEIRO et al., 2021; AMORIM et al., 2019) (figura 10). Bem como também apresentou bandas referentes aos grupamentos -CHO, HCH, -CCH e deformações de grupos C-O (ARAÚJO, 2011; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

Além disso, é observado em GC, bandas de absorção nas regiões 1120cm^{-1} , 1066cm^{-1} e 1022cm^{-1} . Pitombeira e colaboradores (2015) e Da Silva e colaboradores (2009), também encontraram valores de absorção semelhantes para as regiões descritas, ao realizar o FT-IR da goma do cajueiro. De acordo com os autores, os espectros de absorção nessas regiões são referentes às vibrações de estiramento das ligações glicosídeas C-O-C e dobramento O-H de álcoois. A observação das bandas sugere que o material em questão trata-se de um polissacarídeo.

Apesar de apresentar características favoráveis para sua utilização como biomaterial, o comportamento hidrofílico da goma do cajueiro dificulta a sua manipulação no processo de síntese de nanopartículas. No entanto, modificações químicas podem ser realizadas na estrutura desse polissacarídeo no intuito de alterar a sua polaridade (MACEDO, 2015).

Comumente, modificações hidrofóbicas têm sido realizadas em polissacarídeos objetivando a obtenção de derivados hidrofóbicos. Desta maneira, grupos hidrofóbicos podem ser ligados de forma covalente à estrutura química desses materiais. Modificações na goma do cajueiro utilizando anidrido acético foram realizadas por Cardial (2019), Lima e colaboradores (2018), Dias e colaboradores (2016) e Pitombeira e colaboradores (2015),

promovendo, desse modo, a inserção de grupamentos acetila, para a obtenção de um polissacarídeo hidrofóbico.

Neste estudo, realizou-se uma modificação para a obtenção do caráter hidrofóbico da goma do cajueiro utilizando anidrido acético e piridina (agente catalisador da reação de modificação). O espectro de FT-IR da goma do cajueiro modificada com anidrido acético (GAC) apresentou bandas que podem ser relacionadas ao processo de modificação (figura 10). Ademais, no espectro de GAC observa-se a presença da banda de absorção intensa na região 1750cm^{-1} , que pode ser referente às vibrações de alongamento de $\text{C}=\text{O}$.

Lima e colaboradores (2018) relatam o surgimento de bandas na mesma região ao realizar o FT-IR da GAC. De acordo com os autores, a presença da referida banda na região 1750cm^{-1} , evidencia a inserção do grupo acetil na estrutura polissacarídica, confirmando a ocorrência do processo de acetilação. Além disso, os autores relatam que é possível observar o aumento da banda de absorção referente ao grupo acetil, enquanto a banda do trecho O-H diminui, sugerindo a redução do caráter hidrofílico do polissacarídeo modificado, o que corrobora com o espectro de FT-IR da GAC obtido neste estudo.

Para o outro polímero utilizado na nanoformulação também foi realizado o FT-IR. A goma do angico (GA), é um polissacarídeo que possui um alto teor de arabinose, sendo constituída também por galactose, ramnose e proteína. Além de possuir um alto caráter hidrofílico, este polímero destaca-se com relação às suas propriedades reológicas, apresentando baixa viscosidade, semelhante a goma do cajueiro e a goma arábica (SOUSA, 2017; DA SILVA; RODRIGUES; DE PAULA, 1998).

Com relação ao espectro, a GA apresentou bandas sugestivas de grupos hidroxilas (-OH), características da estrutura de polissacarídeos naturais (figura 11). Bem como, apresentou bandas de absorção relacionadas ao alongamento de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ e a deformações de grupos O-H pertencentes às unidades glicosídicas, características de arabinogalactanas (principal componente da goma do angico). Os resultados encontrados corroboram com Araújo e colaboradores (2020) e Melo (2015) que ao realizarem o FT-IR de GA encontraram bandas nas mesmas regiões descritas.

O resultado de FT-IR do alendronato de sódio (ALD) demonstrou bandas de absorção na região de grupamentos fosfatos (IBRAHIM; KHALIVULLA; AKOWUAH, 2017) e bandas atribuídas a vibração assimétrica de P-OH (HUR et al., 2016; WANG et al., 2011). Os resultados descritos sugerem tratar-se de bandas características do fármaco.

Devido as suas diversas aplicações e funcionalidades, polímeros naturais, modificados e sintéticos, vêm ganhando notável destaque no âmbito científico e biotecnológico. Dentre as aplicações biomédicas mais relevantes desses materiais, destacam-se a sua utilização em nanopartículas poliméricas (NPPs) visando a incorporação/entrega de fármacos. De acordo

com Banik, Fattahi e Brown (2015), o intenso interesse em nanopartículas constituídas por polímeros baseia-se no seu potencial em revolucionar a nanomedicina.

Uma das maiores vantagens da utilização de transportadores coloidais, isto é, as nanopartículas poliméricas, consiste na possibilidade desses sistemas em modificar a distribuição corporal de vários princípios ativos (RAMTOOLA et al., 2011; RAVAL; PATEL; PATEL, 2010), assim como, aumentar sua captação celular por parte das células do sistema fagocítico mononuclear, particularmente dos macrófagos (HE et al., 2010). Além disso, outras vantagens estão associadas à utilização de polímeros naturais, dentre as quais incluem a bioadesão a mucosas, tais como ocular, nasal, urinária, gastrointestinal e vaginal, possibilitando biocompatibilidade, biodegradabilidade e conseqüentemente uma maior biodisponibilidade dos princípios ativos administrados (SEVERINO et al., 2011; OLIVEIRA; LIMA, 2006).

Sistemas de carreamento e liberação de fármacos visando a melhora da sua eficácia terapêutica, constituem um dos setores da nanotecnologia com maior potencial de aplicação (MOREIRA, 2013; ROSSI-BERGMANN, 2008). As pesquisas utilizando esses sistemas têm sido voltadas especialmente para a diminuição dos efeitos colaterais de fármacos responsáveis por causar danos à mucosa gastrointestinal, tais como anti-inflamatórios não esteroides de segunda geração (AINEs) (BALLEÑO et al., 2018), medicamentos anticâncer (PIEPER et al., 2019) e bifosfonatos (STEINMETZ et al., 2019).

Dentre os fármacos conhecidos por causar irritação à mucosa gástrica e distúrbios intestinais graves, destacam-se os bifosfonatos. Estes representam o tratamento de primeira escolha em doenças ósseas, tais como a osteoporose, em virtude dos seus efeitos à cerca da diminuição da função dos osteoclastos e, portanto, a reabsorção óssea, estabilizando desse modo o processo osteoporótico (PAIVA et al., 2021). Em contrapartida, a alta carga e volume apresentados pelos bifosfonatos limita sua entrada na membrana celular, o que resulta em uma baixa absorção intestinal, variando de 1 a 7% (PARK et al., 2021; TOUSSAINT; ELDER; KERR, 2009)

Desse modo, a busca por moléculas que diminuam os efeitos colaterais e/ou promovam o aumento dos efeitos terapêuticos dos bifosfonatos deve ser realizada constantemente, visto que a ocorrência de distúrbios gastrointestinais tem sido associada à utilização desses fármacos. Nesse contexto, as nanopartículas poliméricas constituem um potencial sistema de carreamento de moléculas devido às diversas vantagens que apresentam, atraindo grande atenção devido as suas propriedades terapêuticas como diminuição dos efeitos colaterais, liberação controlada do fármaco, entrega específica do fármaco nas células alvo, aumento da biodisponibilidade, dentre outras.

Nanopartículas a base de goma do cajueiro acetilada e goma do angico contendo alendronato de sódio foram obtidas de modo eficiente. Com relação à caracterização, os

resultados demonstraram que as nanopartículas na concentração de 0,05% de polímero apresentaram tamanhos mais expressivos quando comparado com as nanopartículas na concentração de 0,1% de polímero. Além disso, é possível observar que o tamanho das nanoestruturas está diretamente relacionado à quantidade de fármaco no sistema, uma vez que ao aumentar a sua concentração na formulação houve uma diminuição do tamanho médio das partículas, conforme demonstrado na tabela 1.

Dolatabadi e colaboradores (2014), demonstraram uma relação direta entre a concentração de ALD no sistema e o tamanho das partículas obtidas, onde o aumento da quantidade de ALD no sistema resultou em uma diminuição do tamanho, corroborando com os resultados apresentados neste estudo. A diminuição do tamanho das nanopartículas pode estar associada à uma interação entre os polímeros e os grupamentos aminas (NH_2) presentes na estrutura química do ALD. Li e colaboradores (2016) ao realizar nanoformulações com ALD, ressaltam que o fármaco pode interagir facilmente com as cadeias poliméricas, o que sugere a influência no tamanho das partículas sintetizadas.

Miladi e colaboradores (2015) realizaram a encapsulação do alendronato de sódio por dupla emulsão utilizando a policaprolactona (PCL) como material polimérico. Os autores observaram que o aumento da concentração do polímero no sistema ocasionou um aumento da viscosidade na fase orgânica, dificultando a dispersão do solvente, e, portanto, resultou em nanopartículas com tamanhos maiores, diferente do resultado obtido no presente estudo.

Resultados semelhantes ao encontrado no presente estudo foram obtidos por Moura, Aouada e Mattoso (2008) para nanopartículas de quitosana e ácido metacrílico, aos quais os autores verificaram que o aumento da proporção de polímero no sistema promoveu a diminuição do tamanho das nanopartículas formuladas. Schaffazick e colaboradores (2003) relatam que a presença do polímero pode conduzir à diminuição de tamanho de partícula em relação à emulsão devido, provavelmente, à um efeito estabilizador causado também pelo polímero ao redor das gotículas.

Além das análises de tamanho médio das nanopartículas, foram realizadas medidas do potencial Zeta de cada amostra (tabela 1). O potencial Zeta corresponde ao potencial elétrico criado pela presença de cargas na superfície das partículas, e pode ser representado com polaridade positiva ou negativa, indicando desse modo, o grau de repulsão entre partículas com a mesma carga na amostra. As forças de repulsão são responsáveis por evitar a agregação das partículas durante o período em que ficam armazenadas (SHAH et al., 2014). A literatura ressalta que nanopartículas com valor negativo de potencial Zeta são mais ideais para sistema de liberação de fármacos, uma vez que são menos expostas à opsonização de macrófagos, bem como agregação com outras proteínas plasmáticas (AKBARIAN et al., 2020).

Quanto a este parâmetro, todas as nanopartículas caracterizaram-se por apresentar potencial Zeta negativo. Os resultados corroboram com os achados de Li e colaboradores (2016), que, ao sintetizar nanopartículas envolvendo o alendronato de sódio, obtiveram um potencial Zeta de -27mV. Em suma, o valor de potencial Zeta relativamente alto (em torno de -30mV) indicam uma boa estabilidade coloidal na solução, sugerindo a permanência das partículas em suspensão durante um período mais longo, visto que, grandes forças repulsivas tendem a evitar a agregação devido às colisões ocasionais com partículas adjacentes (BASU et al., 2012; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Em contrapartida, Mishra e colaboradores (2009) relatam que a obtenção de um potencial Zeta menor pode ser resultante do deslocamento do plano de cisalhamento realizado por camadas adsorvidas de polímeros/moléculas grandes para um plano maior da superfície, levando à diminuição do potencial Zeta medido. Diante disso, mesmo no caso de superfícies de partículas altamente carregadas um potencial Zeta relativamente baixo será medido. Nesse caso, apesar do baixo potencial Zeta, a suspensão é considerada estável.

As dispersões ou suspensões de nanopartículas podem ser monodispersas, quando a distribuição de tamanhos de partícula é muito pequena, ou seja, possuem índices de polidispersão muito baixos. Assim como também, quando o índice é muito elevado, podem ser polidispersas, indicando que existe uma alta variabilidade entre o tamanho das partículas na dispersão, caracterizando-se como heterogêneas. (FRANCO, 2013).

Diante disso, as NPPs 0,05% indicam tratar-se de partículas homogêneas, uma vez que os valores de IPD para essas nanoformulações variaram entre 0,3 para NPP 15 e 0,2 para NPP 05. Tais evidências também ressaltam-se em virtude das NPPs contendo 10 e 15mg de fármaco, respectivamente, apresentarem o valor de IPD de 0,3. A uniformidade do tamanho também se confirma devido ao baixo IPD apresentado pela GAC 5 0,05%, com um valor de 0,2.

Já os valores de IPD encontrados para as NPPs 0,1% variaram entre 0,6 para NPP 15 e 0,4 para NPP 05. O IPD de 0,4 encontrado para a NPP contendo 5mg de fármaco, confirma que não houve tanta variação na distribuição do tamanho da partícula, e que portanto, esta pode ser considerada homogênea. Já as nanoformulações GAC 10 0,1% e GAC 15 0,1% indicam tratar-se de amostras polidispersas. De acordo com Shah e colaboradores (2014), valores $\leq 0,5$ são aceitáveis, enquanto medidas $\leq 0,3$ são consideradas ótimas, já índices de polidispersão $\leq 0,1$ indicam a mais alta qualidade de dispersão de partículas.

O alendronato de sódio não apresenta grupos cromóforos em sua estrutura, dificultando sua dosagem através de técnicas espectrofotométricas convencionais, especificamente na região do visível (GONZAGA, 2015; HAGE; CARR, 2012). Diante disso, como uma alternativa e viabilização das leituras por espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-vis), o fármaco foi complexionado com íons férricos (Fe^{3+}) (OSTOVIĆ,

STELMACH e HULSHIZER 1993). Os resultados apresentados na figura 13 demonstram que as nanopartículas ao serem complexionadas com íons de ferro apresentaram leituras em 260nm. Ademais, observa-se uma diferença de tamanho nas bandas de leitura, a qual pode estar associada à eficiência de incorporação do fármaco nas nanopartículas.

Quanto a eficiência de incorporação do fármaco, os resultados obtidos demonstraram que as nanopartículas com maior concentração de polímero e menor concentração de fármaco apresentaram uma maior eficiência de incorporação, conforme demonstrado na tabela 1. Tais resultados corroboram com Miladi e colaboradores (2015), que relatam um aumento na eficiência de incorporação seguido do aumento da concentração de polímero. Segundo o autor, uma maior eficiência de incorporação do fármaco pode estar associada ao aumento do peso molecular do polímero utilizado na emulsão. Miladi também ressalta que o peso molecular do polímero pode promover um aumento da viscosidade da fase orgânica, tornando a difusão do solvente mais difícil, e portanto, formando partículas com um encapsulamento de fármaco mais eficiente.

Na tabela 1 também observa-se uma diminuição da eficiência de incorporação em decorrência do aumento da concentração de fármaco no sistema para ambas as nanopartículas. Esses resultados podem estar relacionados às propriedades físico-químicas do ALD. Sweetman (2009) relata que o alendronato de sódio é uma molécula insolúvel em quase todos os solventes orgânicos, entre eles, o DMSO. Além disso, quando em altas concentrações, o ALD pode saturar a formulação e desestabilizar o sistema em virtude da sua insolubilidade em solventes orgânicos, o que resulta em uma redução da eficiência de incorporação (ILES et al., 2021; DIAS et al., 2016).

Ao propor o desenvolvimento de sistemas para entrega de fármacos, deve-se levar em consideração que estes materiais podem entrar em contato com o sangue, e como resultado podem afetar de forma negativa as células sanguíneas, causando hemólise. O ensaio de hemólise tem como finalidade mensurar o vazamento de hemoglobina em decorrência dos danos causados nas membranas dos glóbulos vermelhos (QUELEMES et al., 2017). Com isso, a determinação da atividade hemolítica das NPPs com e sem o fármaco, bem como, do fármaco na sua forma livre (15mg) foram realizadas.

Conforme demonstrado na figura 14, as nanopartículas sem a presença do fármaco apresentaram uma atividade hemolítica nas maiores concentrações. Quelemes e colaboradores (2017) relata que o aumento da hidrofobicidade do polissacarídeo pode estar relacionado com a atividade apresentada pela nanopartícula polimérica. Entretanto, os mecanismos pelos quais polissacarídeos causam hemólise ainda não foram elucidados pela literatura.

A figura 14 também demonstra que de acordo com a diminuição da concentração de ALD nas formulações, é possível observar um decréscimo na atividade hemolítica. A literatura

relata ainda, que o alendronato de sódio não causa grandes danos a eritrócitos. Kopka e colaboradores (2011), em seus estudos, demonstraram que o ALD mesmo em concentrações relativamente altas, não apresenta atividade hemolítica significativa. Demonstrando também, que mesmo altas concentrações de alendronato de sódio não causam mudanças estatisticamente significativas na morfologia dos eritrócitos.

Conforme demonstrado nos resultados do presente estudo, as nanopartículas incorporadas com o fármaco alendronato de sódio conseguiram reverter a atividade hemolítica ocasionada pelas nanopartículas contendo apenas os polímeros e pelo fármaco na sua forma livre, indicando portanto, uma excelente biocompatibilidade com as células sanguíneas. Desse modo, sugere-se uma melhora da biocompatibilidade do fármaco ao ser incorporado em nanopartículas contendo goma do cajueiro acetilada e goma do angico.

7 CONCLUSÃO

A caracterização da goma do cajueiro modificada realizada por FT-IR demonstrou que houve modificação na estrutura polissacarídica através da identificação da presença do grupo funcional acetil. Também foi possível a identificação dos grupos funcionais presentes na goma do angico, bem como no alendronato de sódio, utilizados para a formulação das nanopartículas.

Ademais, os resultados obtidos até o presente momento mostram-se promissores, uma vez que foi possível a realização da síntese de nanoformulações para incorporação do alendronato de sódio utilizando os polímeros naturais – goma do cajueiro acetilada e goma do angico, as quais apresentaram características adequadas em termos de tamanho, potencial Zeta, índice de polidispersão e eficiência de incorporação. Além disso, os resultados demonstraram que as nanopartículas contendo o fármaco conseguiram reverter a atividade hemolítica ocasionada pelas nanoformulações contendo apenas os polímeros, bem como, a atividade hemolítica ocasionada pelo fármaco na sua forma livre (15mg). Entretanto, sugere-se a realização de mais experimentos *in vitro* com o intuito de realizar caracterizações adicionais das nanopartículas, além de experimentos *in vivo* para avaliação dos seus efeitos biológicos no trato gastrointestinal de animais.

REFERÊNCIAS

- 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.
- AIEX, L. S.; JIMENEZ, M. V. J.; MILENA, A. P. Osteonecrose mandibular relacionada com bifosfonatos orais em paciente idosa polimedicada. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 10, n. 36, 2015.
- AKBARIAN, A. *et al.* Folate receptor alpha targeted delivery of artemether to breast cancer cells with folate-decorated human serum albumin nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 152, p. 90-101, 2020.
- ALBERGARIA, B. H. *et al.* Consensus statement: osteoporosis prevention and treatment in Latin America—current structure and future directions. **Archives of Osteoporosis**, v. 13, n. 90, p. 1-8, 2018.
- ALEJANDRO, P.; CONSTANTINESCU, F. A review of osteoporosis in the older adult. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 33, n. 1, p. 27-40, 2017.
- ÁLVAREZ, M. J. M.; NEYRO, J. L.; CASTAÑEDA, S. Vacaciones terapéuticas en osteoporosis: estrategia en el tratamiento a largo plazo con bifosfonatos. **Medicina Clínica**, v. 146, n. 1, p. 24-29, 2016.
- AMGOTH, C. *et al.* Polymer Properties: Functionalization and Surface Modified Nanoparticles. *In: Role of Novel Drug Delivery Vehicles in Nanobiomedicine*. IntechOpen, 2019.
- AMORIM, A. *et al.* Copper nanoparticles stabilized with cashew gum: Antimicrobial activity and cytotoxicity against 4T1 mouse mammary tumor cell line. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 34, n. 2, p. 188-197, 2019.
- ANDRADE, K. *et al.* Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*): avaliação das modificações químicas e físicas por extrusão termoplástica. **Polímeros**, v. 23, n. 5, p. 667-671, 2013.
- ARAÚJO, A. B. D. C. **Purificação de Goma de Cajueiro**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- ARAÚJO, C. R. R. **Composição química, potencial antioxidante e hipolipidêmico da farinha da casca de *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.
- 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 and Engineering: C**, v. 32, n. 6, p. 1588-1593, 2012.
- ARAÚJO, J. F. A. **Caracterização do potencial antimicrobiano da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2017.
- ARAÚJO, T. S. L. *et al.* Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 299–307, 2015.

ARAÚJO, T. S. L. *et al.* Biopolymer extracted from *Anadenanthera colubrina* (Red angico gum) exerts therapeutic potential in mice: Antidiarrheal activity and safety assessment. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 1, p. 1-27, 2020.

ARGYRO, P. *et al.* Extra-skeletal effects of bisphosphonates. **Metabolism**, v. 110, p. 154264, 2020.

AZAB, S. M.; FEKRY, A. M. A novel electrochemical determination for the anti-osteoporosis drug (alendronate sodium) and its application for corrosion monitoring of surgical 316 L SS bone implant. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 717, p. 25-30, 2017.

BALLEÑO, J. A. *et al.* Ibuprofen Release from Poly (ethyl cyanoacrylate) Nanoparticles Prepared by Semicontinuous Heterophase Polymerization. **International Journal of Polymer Science**, v. 2018, 2018.

BANIK, B. L.; FATTAHI, P.; BROWN, J. L. Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 8, n. 2, p. 271-299, 2016.

BARBOSA, M. M. **Processo de purificação da goma de cajueiro: aspectos técnicos e ambientais.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

BASU, S. *et al.* Colloidal gold-loaded, biodegradable, polymer-based stavudine nanoparticle uptake by macrophages: an in vitro study. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 6049-6061, 2012.

BERRUTI, A. *et al.* Metabolic bone disease induced by prostate cancer: rationale for the use of bisphosphonates. **The Journal of Urology**, v. 166, n. 6, p. 2023-2031, 2001.

BONATTO, C. C.; SILVA, L. P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 46-54, 2014.

BOTELHO, M. L. **Propriedades físico-químicas do exsudado de *Anacardium occidentale* L. para a indústria de alimentos.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

BOTELHO, P. D. S. **Caracterização estrutural de dois exopolissacarídeos obtidos dos fermentados de leite.** 2018. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

BOTREL, D. A. *et al.* Application of cashew tree gum on the production and stability of spray-dried fish oil. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1522-1529, 2017.

CABRAL, H. W. S. *et al.* The use of biomarkers in clinical osteoporosis. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 62, n. 4, p. 368-376, 2016.

CAMARGOS, M. C. S.; BOMFIM, W. C. Osteoporose e Expectativa de Vida Saudável: estimativas para o Brasil em 2008. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 25, n. 1, p. 106-112, 2017.

CARDIAL, M. R. L. **Nanopartículas auto-organizadas de goma de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) hidrofobizada para o desenvolvimento de sistemas de carregamento de fármacos**. 2019. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

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**, v. 76, n. 3, p. 143-151, 2015.

CARVALHO, N. S. *et al.* Protective effects of simvastatin against alendronate-induced gastric mucosal injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 61, p. 400-409, 2016.

CHEN, C. H. *et al.* Application of nanoparticles in urothelial cancer of the urinary bladder. **Journal of Medical and Biological Engineering**, v. 35, p. 419-427, 2015.

CLARK, P. *et al.* The prevalence of radiographic vertebral fractures in Latin American countries: the Latin American Vertebral Osteoporosis Study (LAVOS). **Osteoporosis International**, v. 20, p. 275-282, 2009.

COUGHLAN, T.; DOCKERY, F. Osteoporosis and fracture risk in older people. **Clinical Medicine**, v. 14, n. 2, p. 187-191, 2014.

CRANDALL, C. J. *et al.* Comparative effectiveness of pharmacologic treatments to prevent fractures: an updated systematic review. **Annals of Internal Medicine**, v. 161, n. 10, p. 711-723, 2014.

CREMERS, S.; PAPAPOULOS, S. Pharmacology of bisphosphonates. **Bone**, v. 49, n. 1, p. 42-49, 2011.

CRUCHO, C. I. C. **Synthesis of Polymeric Nanoparticles for biomedical delivery applications**. 2015. Dissertação (Doutorado em Química) - Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2015.

CUNHA, P. L. R. *et al.* Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 85-92, 2007.

CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 649-660, 2009.

DA SILVA, A. G.; RODRIGUES, J. F.; DE PAULA, R. C. M. Composição e propriedades reológicas da goma do Angico (*Anadenanthera Macrocarpa* Benth). **Polímeros**, v. 8, n. 2, p. 34-40, 1998.

DA SILVA, D. A. *et al.* Synthesis and characterization of cashew gum/acrylic acid nanoparticles. **Materials Science and Engineering**, v. 29, n. 2, p. 437-441, 2009.

DAMASCENA, N. P. *et al.* Antioxidant and orofacial anti-nociceptive activities of the stem bark aqueous extract of *Anadenanthera colubrina* (Velloso) Brenan (Fabaceae). **Natural Product Research**, v. 28, n. 10, p. 753-756, 2014.

DE 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, n. 3, p. 177-181, 1995.

DEF. **Dicionário de Especialidades Farmacêuticas**. 2003/2004. 32.ed. Rio de Janeiro: Ed. Publicações Científicas, p. 88, 2004.

DELGOBO, C. L. *et al.* Gum heteropolysaccharide and free reducing mono-and oligosaccharides of *Anadenanthera colubrina*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 7, p. 1207-1214, 1998.

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.

DOLATABADI, J. E. N. *et al.* Formulation, characterization and cytotoxicity studies of alendronate sodium-loaded solid lipid nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 117, p. 21-28, 2014.

DOURADO, F. D. F. **Modificação química de polissacarídeo obtido a partir de exsudato com anidrido propiônico**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2019.

EDDY, N. O. *et al.* Physicochemical, Spectroscopic and Rheological Characterization of *Anacardium occidentale* gum Exudates. **Advances in Research**, v. 19, n. 1, p. 1-15, 2019.

EL-YAZBI, A. F.; EMAN, I.; YOUSSEF, R. M. Hantzsch pre-column derivatization for simultaneous determination of alendronate sodium and its pharmacopoeial related impurity: Comparative study with synchronous fluorometry using fluorecamine. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 27, n. 1, p. 208-220, 2019.

ENJUANES, A. *et al.* The effect of the alendronate on OPG/RANKL system in differentiated primary human osteoblasts. **Endocrine**, v. 37, p. 180-186, 2010.

FENNEMA, O. R. Dispersed systems: basic considerations, carbohydrates & food aditives In: **Food Chemistry**. University of Wisconsin – Madison. Marcel Dekker Inc. caps. 3, 4 e 12. New York, 1996.

FERNANDES, C.; LEITE, R. S.; LANÇAS, F. M. Bisfosfonatos: síntese, análises químicas e aplicações farmacológicas. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 274-280, 2005.

FRANCO, N. A. **Nanopartículas e suas aplicações em Ciências Farmacêuticas: o estado da arte**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

GANESH, G. N. K. *et al.* Preparation and evaluation of sustained release matrix tablet of diclofenac sodium using natural polymer. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 6, p. 360-368, 2010.

GANGULI, A. *et al.* The interactions of bisphosphonates in solution and as coatings on hydroxyapatite with osteoblasts. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, n. 10, p. 923-931, 2002.

GONZAGA, E. V. **Estudo físico-químico das formas cristalinas do alendronato de sódio**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, 2015.

GOWTHAMARAJAN, K. *et al.* Preliminary study of *Anacardium occidentale* gum as binder in formulation of paracetamol tablets. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 506-511, 2011.

- GREY, A. *et al.* Low-dose zoledronate in osteopenic postmenopausal women: a randomized controlled trial. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 1, p. 286-292, 2012.
- GUARNEIRE, G. J. *et al.* Effect of *Anadenanthera colubrina* protease inhibitors a Paulinos an inflammatory mediator. **Natural Product Research**, p. 1-6, 2019.
- GUILHERME, M. R. *et al.* Synthesis of a novel superabsorbent hydrogel by copolymerization of acrylamide and cashew gum modified with glycidyl methacrylate. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, n. 4, p. 464-471, 2005.
- HAGE, D. S.; CARR, J. D. **Química analítica e análise quantitativa**. 1.ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, p. 460, 2012.
- HAMED, M.; TAN, C. P. Effect of various hydrocolloids on physicochemical characteristics of orange beverage emulsion. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 8, n. 2, p. 308-313, 2010.
- HE, C. *et al.* Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. **Biomaterials**, v. 31, n. 13, p. 3657-3666, 2010.
- HOSSEINI, A. *et al.* Application of image processing to assess emulsion stability and emulsification properties of Arabic gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 126, p. 1-8, 2015.
- HUR, W. *et al.* Bioabsorbable bone plates enabled with local, sustained delivery of alendronate for bone regeneration. **Journal of Controlled Release**, v. 222, p. 97-106, 2016.
- IBRAHIM, S.; KHALIVULLA, S. I.; AKOWUAH, G. A. Determination of alendronate sodium in tablets by attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. **Current Bioactive Compounds**, v. 13, n. 1, p. 71-77, 2017.
- IDRIS, A. I. *et al.* Aminobisphosphonates cause osteoblast apoptosis and inhibit bone nodule formation in vitro. **Calcified Tissue International**, v. 82, n. 3, p. 191-201, 2008.
- ILES, B. **Desenvolvimento de sistema nanoestruturado a base de goma do cajueiro para incorporação do fármaco alendronato de sódio**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Tecnológica Federal do Piauí, Parnaíba, 2017.
- ILES, B. *et al.* Alendronate sodium-polymeric nanoparticles display low toxicity in gastric mucosal of rats and Ofcol II cells. **NanoImpact**, v. 24, p. 100355, 2021.
- JAIN, K. K. Drug Delivery Systems - An Overview. *In*: Jain K.K. (eds). **Drug Delivery Systems**. Methods in Molecular Biology™. Totowa: Humana Press, 2008. p. 1-50.
- JAWAHAR, N.; MEYYANATHAN, S. N. Polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting: A comprehensive review. **International Journal of Health & Allied Sciences**, v. 1, n. 4, p. 217-223, 2012.
- JEEVANANDAM, J.; SAN CHAN, Y.; DANQUAH, M. K. Nano-formulations of drugs: recent developments, impact and challenges. **Biochimie**, v. 128-129, p. 99-112, 2016.
- JOBKE, B. *et al.* Bisphosphonate-osteoclasts: Changes in osteoclast morphology and function induced by antiresorptive nitrogen-containing bisphosphonate treatment in osteoporosis patients. **Bone**, v. 59, p. 37-43, 2014.

JOHNSTON, C. B.; DAGAR, M. Osteoporosis in Older Adults. **The Medical Clinics of North America**, v. 104, n. 5, p. 873-884, 2020.

KANIS, J. A. *et al.* European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. **Osteoporosis International**, v. 24, n. 1, p. 23-57, 2013.

KARIM, R. *et al.* Nanocarriers for the treatment of glioblastoma multiforme: current state-of-the-art. **Journal of Controlled Release**, v. 227, p. 23-37, 2016.

KARIMI, N.; MOHAMMADIFAR, M. A. Role of water soluble and water swellable fractions of gum tragacanth on stability and characteristic of model oil in water emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 124-133, 2014.

KHAJURIA, D. K.; RAZDAN, R.; MAHAPATRA, D. R. Medicamentos para o tratamento da osteoporose: revisão. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 4, p. 372-382, 2011.

KHAPRA, A. P., ROSE, S. Drug injury in the upper gastrointestinal tract: effects of alendronate. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics**, v. 16, n. 1, p. 99-110, 2006.

KHOSLA, S. *et al.* Benefits and risks of bisphosphonate therapy for osteoporosis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 7, p. 2272-2282, 2012.

KLEIN, J. M. *et al.* Amino-acid-modified-cashew gum flocculant: synthesis, characterization, and application. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, n. 7, p. 1465-1474, 2019.

KOPKA, A. *et al.* The effect of alendronate sodium on human erythrocytes. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 32, n. 2, p. 306-314, 2011.

KULJANIN, J. *et al.* Spectrophotometric determination of alendronate in pharmaceutical formulations via complex formation with Fe (III) ions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, n. 6, p. 1215-1220, 2002.

KUMAR, A. *et al.* Cashew gum a versatile hydrophilic polymer: A review. **Current Drug Therapy**, v. 7, n. 1, p. 2-12, 2012.

KUMAR, A.; AHUJA, M. Carboxymethyl gum kondagogu: synthesis, characterization and evaluation as mucoadhesive polymer. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 1, p. 637-643, 2012.

KURKUMBH, C. Finished Product Specification. **Test and methods. Alendronate sodium trihydrate**, 1999.

LEE, W. K. *et al.* Agar properties of *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta) collected from different natural habitats in Malaysia. **Regional Studies in Marine Science**, v. 7, p. 123-128, 2016.

LI, N. *et al.* Alendronate conjugated nanoparticles for calcification targeting. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 142, p. 344-350, 2016.

LIANG, S. *et al.* Comparative investigation of the molecular interactions in konjac gum/hydrocolloid blends: Concentration addition method (CAM) versus viscosity addition method (VAM). **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 3, p. 1062-1067, 2011.

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.

LIMA, R. F. *et al.* Antimicrobial and antiproliferative potential of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1-7, 2014.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, v.1, 5.ed. p.194, 2008.

LUDWIG, D. B. *et al.* Antifungal activity of chitosan-coated poly (lactic-co-glycolic) acid nanoparticles containing amphotericin B. **Mycopathologia**, v. 183, n. 4, p. 659-668, 2018.

LUSTOSA, A. K. M. F. 2017. **Desenvolvimento de géis formulados com nanopartículas de prata sintetizadas in situ contendo goma de cajueiro fitalada ou natural para aplicação como agente antimicrobiano e cicatrizante**. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

MACEDO, K. C. M. D. **Obtenção de nanopartículas de goma do cajueiro acetilada com incorporação de tamoxifeno para o tratamento de queiloide**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2015.

MACIEL, J. S. *et al.* Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability. **European Polymer Journal**, v. 41, n. 11, p. 2726-2733, 2005.

MACONI, G.; BIANCHI PORRO, G. Multiple ulcerative esophagitis caused by alendronate. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 90, n. 10, p. 1889-1890, 1995.

MAGNO, L. N. **Látex de mangabeira para aplicações biomédicas e tecnológicas**. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

MARANI, M. M. *et al.* Characterization and biological activities of ocellatin peptides from the skin secretion of the frog *Leptodactylus pustulatus*. **Journal of Natural Products**, v. 78, n. 7, p. 1495-1504, 2015.

MARCUS, R. E. *et al.* **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 1996.

MARTINETTI, L. *et al.* A critical gel fluid with high extensibility: The rheology of chewing gum. **Journal of Rheology**, v. 58, n. 4, p. 821-838, 2014.

MARTINS, R. C. **Nanotecnologia no diagnóstico e tratamento do cancro oral**. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária) – Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2017.

MATZKIN, E. G. *et al.* Diagnosis and treatment of osteoporosis: what orthopaedic surgeons need to know. **JAAOS-Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 27, n. 20, p. e902-e912, 2019.

MELTON, L. J. *et al.* Long-term mortality following fractures at different skeletal sites: a population-based cohort study. **Osteoporosis International**, v. 24, p. 1689-1696, 2013.

MILADI, K. *et al.* Encapsulation of alendronate sodium by nanoprecipitation and double emulsion: From preparation to *in vitro* studies. **Industrial Crops and Products**, v. 72, p. 24-33, 2015.

- MISHRA, P. R. *et al.* Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 371, n. 1-2, p. 182-189, 2009.
- MOREIRA, B. R. *et al.* A bioactive film based on cashew gum polysaccharide for wound dressing applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 69-76, 2015.
- MOREIRA, J. R. L. **A nanotecnologia na liberação controlada de fármacos no tratamento do câncer de mama**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- MORETÃO, M. P. *et al.* Effect of an acidic heteropolysaccharide (ARAGAL) from the gum of *Anadenanthera colubrina* (Angico branco) on peritoneal macrophage functions. **Immunology Letters**, v. 89, n. 2-3, p. 175-185, 2003.
- MOTHÉ, C. G.; CORREIA, D. Z.; CARESTIAO, T. **Potencialidades do Cajueiro: caracterização tecnológica e aplicação**. Publitz Soluções Editoriais Ltda, Rio de Janeiro, 2006. 194p.
- MOTOZATO, Y. *et al.* Preparation and gel permeation chromatographic properties of pullulan spheres. **Journal of Chromatography A**, v. 355, p. 434-437, 1986.
- MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Preparation of chitosan nanoparticles using methacrylic acid. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 321, n. 2, p. 477-483, 2008.
- MOURA, R. E. **Síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- MUDGIL, D.; BARAK, S.; KHATKAR, B. S. Effect of partially hydrolyzed guar gum on pasting, thermo-mechanical and rheological properties of wheat dough. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 131-135, 2016.
- NAGAJYOTHI, P. C. *et al.* Green route biosynthesis: Characterization and catalytic activity of ZnO nanoparticles. **Materials Letters**, v. 108, p. 160-163, 2013.
- NETO, L. S. S. *et al.* Associação de força de preensão palmar e osteoporose avaliada por densitometria óssea (DXA) em idosos quilombolas: um estudo seccional. **Acta Fisiátrica**, v. 25, n. 4, p. 179-184, 2018.
- NEVES, M. *et al.* Synthesis, characterization and biodistribution of bisphosphonates Sm-153 complexes: correlation with molecular modeling interaction studies. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 29, n. 3, p. 329-338, 2002.
- NICOLAU, L. A. D. *et al.* Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in non erosive reflux disease: A promising translational study. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, p. 1-11, 2019.
- NICOLAU, L. A. D. *et al.* The hydrogen sulfide donor, Lawesson's reagent, prevents alendronate-induced gastric damage in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, n. 8, p. 708-714, 2013.

- NOBRE, C. A. *et al.* Caracterização do uso do alendronato para osteoporose na Atenção Primária à Saúde. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 11, n. 38, p. 1-9, 2016.
- NOLÊTO, I. R. S. G. *et al.* Alendronate-induced gastric damage in normoglycemic and hyperglycemic rats is reversed by metformin. **European Journal of Pharmacology**, v. 856, p. 172410, 2019.
- OLIVEIRA, A. C. **Avaliação do polissacarídeo da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) como agente mucoadesivo e controlador da liberação em comprimidos matriciais**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.
- OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146-151, 2014.
- OLIVEIRA, M. A. *et al.* Chitosan/"angico" gum nanoparticles: synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 2, p. 448-451, 2009.
- OLIVEIRA, M. A. *et al.* Synthesis and characterization of carboxymethylated red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) exudate polysaccharide. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, n. 5, p. 2985-2991, 2007.
- OLIVEIRA, R. B.; LIMA, E. M. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 1, 29-35, 2006.
- OLOGUNAGBA, M. O. *et al.* Extraction and Characterization of the Gum Exudate of *Anacardium occidentale* for its potential as an Excipient in Drug Delivery Systems. **Tropical Journal of Natural Product Research**, v. 1, n. 2, p. 76-83, 2017.
- OSTOVIĆ, D.; STELMACH, C.; HULSHIZER, B. Formation of a chromophoric complex between alendronate and copper (II) ions. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 3, p. 470-472, 1993.
- OZ, U. C. *et al.* Development and optimization of alendronate sodium loaded PLGA nanoparticles by central composite design. **Macromolecular Research**, v. 27, n. 9, p. 857-866, 2019.
- PADIL, V. *et al.* Tree gum-based renewable materials: Sustainable applications in nanotechnology, biomedical and environmental fields. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 7, p. 1984-2016, 2018.
- PAIVA, C. L. D. O. C. *et al.* Osteonecrose dos maxilares relacionada ao uso de medicamentos: revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. 1-11, 2021.
- PARK, J. *et al.* Phosphonate and Bisphosphonate Inhibitors of Farnesyl Pyrophosphate Synthases: A Structure-Guided Perspective. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, p. 1-20, 2021.
- PARK, K. H. *et al.* Ionic strength-sensitive pullulan acetate nanoparticles (PAN) for intratumoral administration of radioisotope: Ionic strength-dependent aggregation behavior and ^{99m}Tc retention property. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 59, n. 1, p. 16-23, 2007.

PARVEEN, S.; MISRA, R.; SAHOO, S. K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, n. 2, p. 147-166, 2012.

PATNTIRAPONG, S.; SINGHATANADGIT, W.; ARPHAVASIN, S. Alendronate-induced atypical bone fracture: evidence that the drug inhibits osteogenesis. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 39, n. 4, p. 349-353, 2014.

PAULA, H. C. B.; GOMES, F. J. S.; DE PAULA, R. C. M. Swelling studies of chitosan/cashew nut gum physical gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 313-318, 2002.

PAULA, R. C. M. D.; PAULA, H. C. B. D.; FEITOSA, J. P. D. A. (org.). **Polissacarídeos da biodiversidade brasileira**. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 2018. 336 p. *E-book*. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/30349>. Acesso em: 27 jul. 2021.

PAULA, R. C. M.; BUDD, P. M.; RODRIGUES, J. F. Characterization of *Anadenanthera macrocarpa* exudate polysaccharide. **Polymer International**, v. 44, n. 1, p. 55-60, 1997.

PAVIA, D. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PEREIRA CORDEIRO, M. *et al.* O uso do alendronato de sódio na osteoporose. **ConScientiae Saúde**, v. 8, n. 2, p. 309-315, 2009.

PEREIRA, L. S. A. **Análise multivariada e espectroscopia no infravermelho aplicadas em análises forenses: drogas e medicamentos**. Tese (Doutorado em Ciências – Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.

PEREIRA, W. J. Uso de goma de angico em substituição ao ágar em meio de cultura. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 2 n. 2, 2013.

PESSOA, W. S. *et al.* Fibrogenesis and epithelial coating of skin wounds in rats treated with angico extract (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*). **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 353-358, 2015.

PIEPER, S. *et al.* Incorporation of doxorubicin in different polymer nanoparticles and their anticancer activity. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 10, n. 1, p. 2062-2072, 2019.

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.

PORTO, B. C.; CRISTIANINI, M. Evaluation of cashew tree gum (*Anacardium occidentale* L.) emulsifying properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1325-1331, 2014.

PRABHU, R. H.; PATRAVALE, V. B.; JOSHI, M. D. Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: current insights. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 1001-1018, 2015.

PRAJAPATI, V. D. *et al.* Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. **Carbohydrate polymers**, v. 92, n. 2, p. 1685-1699, 2013.

QUELEMES, P. V. *et al.* Quaternized cashew gum: An anti-staphylococcal and biocompatible cationic polymer for biotechnological applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 567-575, 2017.

QUINTO, J. P. **Desenvolvimento e caracterização de blendas poliméricas**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química Bacharelado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

RAMTOOLA, Z. *et al.* Investigation of the interaction of biodegradable micro-and nanoparticulate drug delivery systems with platelets. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, n. 1, p. 26-32, 2011.

RANA, V. *et al.* Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 3, p. 1031-1047, 2011.

RAVAL, J. A.; PATEL, J. K.; PATEL, M. M. Formulation and in vitro characterization of spray-dried microspheres of amoxicillin. **Acta Pharmaceutica**, v. 60, n. 4, p. 455-465, 2010.

RAWAT, P. *et al.* Revisiting bone targeting potential of novel hydroxyapatite based surface modified PLGA nanoparticles of risedronate: Pharmacokinetic and biochemical assessment. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 506, n. 1-2, p. 253-261, 2016.

REIS, C. P. *et al.* Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 8-21, 2006.

REN, J. L. *et al.* Acetylation of wheat straw hemicelluloses in ionic liquid using iodine as a catalyst. **Carbohydrate Polymers**, v. 70, n. 4, p. 406-414, 2007.

REYES, C. *et al.* Risks and benefits of bisphosphonate therapies. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 117, n. 1, p. 20-28, 2016.

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

RIBEIRO, I. S. *et al.* Poly (ϵ -caprolactone) grafted cashew gum nanoparticles as an epirubicin delivery system. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 179, p. 314-323, 2021.

RODRIGUES, J. F.; DE PAULA, R. C. M.; COSTA, S. M. O. Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 1, p. 31-36, 1993.

ROGERS, M. J. *et al.* Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. **Cancer**, v. 15, n. S12, p. 2961-2978, 2000.

ROSEN, C. J. The epidemiology and pathogenesis of osteoporosis. **Endotext [Internet]**, 2020.

ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. **Ciência e Cultura**, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.

SANCHO, S. D. O. *et al.* Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 878-882, 2007.

SANTOS, J. S. *et al.* Beneficial effects of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan extract on the inflammatory and nociceptive responses in rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 218-222, 2013.

SCARPA, L. C. A. *et al.* Osteonecrose nos ossos da maxila e mandíbula associada ao uso do bifosfonato de sódio. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 12, n. 1, p. 86-92, 2010.

SCHAFFAZICK, S. R. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SEKKAL, N. *et al.* Harmonic dynamics of α - and β -methyl-D-galactopyranoside in the crystalline state. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 59, n. 12, p. 2883-2896, 2003.

SEVERINO, Patrícia *et al.* Polímeros usados como sistemas de transporte de princípios ativos. **Polímeros**, v. 21, n. 5, p. 361-368, 2011.

SHAH, R. *et al.* Optimisation and stability assessment of solid lipid nanoparticles using particle size and zeta potential. **Journal of Physical Science**, v. 25, n. 1, 2014.

SILVA, D. R. *et al.* *Anadenanthera Colubrina* vell Brenan: Anti-Candida and antibiofilm activities, toxicity and therapeutical action. **Brazilian Oral Research**, v. 33, p. 1-11, 2019a.

SILVA, D. R. **Obtenção e caracterização de micropartículas utilizando goma de cajueiro**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

SILVA, E. D. L. V. *et al.* Nanostructured polymeric system based of cashew gum for oral administration of insulin. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 24, n. 3, 2019b.

SILVA, E. D. L. V. *et al.* Solvent-free synthesis of acetylated cashew gum for oral delivery system of insulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 601-608, 2019c.

SILVA, F. E. F. *et al.* A stimuli-responsive and bioactive film based on blended polyvinyl alcohol and cashew gum polysaccharide. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 927-934, 2016.

SILVA, J. T. **Fluconazol e própolis co-encapsulados em nanopartículas mucoadesivas para o tratamento da candidíase vulvovaginal**. 2020. Dissertação (Mestrado em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.

SILVA, T. M. *et al.* Study of the cashew gum polysaccharide for the horseradish peroxidase immobilization—structural characteristics, stability and recovery. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, n. 4, p. 526-530, 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro. LTC, 2007. 490 p.

SINGH, A.; RAGHUWANSHI, R. S. Role of vitamin D in controlling postmenopausal osteoporosis. **International Journal of Chemistry Studies**, v. 3, n. 4, p. 27-32, 2019.

SOSA HENRÍQUEZ, M.; GÓMEZ DE TEJADA ROMERO, M. J. La medicina basada en la evidencia y los fármacos aprobados para el tratamiento de la osteoporosis. Papel del calcio y la vitamina D. **Revista Clínica Española**, v. 209, n. 1, p. 25-36, 2009.

SOUSA, A. K. A. *et al.* Quaternization of angico gum and evaluation of anti-staphylococcal effect and toxicity of their derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1175-1183, 2020.

SOUSA, A. K. A. **Quaternização da goma do angico (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb.) Altschul: avaliação da atividade antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2017.

SOUSA, R. E. S. **O uso de bifosfonato por pacientes submetidos a cirurgia de implantes**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Implantodontia) – Faculdade de Sete Lagoas, Sete Lagoas, 2018.

SOUZA, J. M. T. **Síntese, caracterização e aplicações biotecnológicas de nanopartículas de óxido de zinco à base de goma do cajueiro e goma do cajueiro carboximetilada**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2018.

SÖZEN, T.; ÖZİŞİK, L.; BAŞARAN, N. Ç. An overview and management of osteoporosis. **European Journal of Rheumatology**, v. 4, n. 1, p. 46-56, 2017.

STEINMETZ, H. P. *et al.* Poly (styryl bisphosphonate) nanoparticles with a narrow size distribution: synthesis, characterization and antibacterial applications. **European Polymer Journal**, v. 116, p. 65-73, 2019.

SWEETMAN, S. C. *et al.* (Ed.). **Martindale: the complete drug reference**. London: Pharmaceutical Press, 2009.

TEIXEIRA, C. M. B. **Nanopartículas poliméricas de derivados xantônicos**. 2008. Dissertação (Doutorado em Tecnologia Farmacêutica) – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2008.

THOMSON, A. B. R. *et al.* 14 day endoscopy study comparing risedronate and alendronate in postmenopausal women stratified by Helicobacter pylori status. **The Journal of Rheumatology**, v. 29, n. 9, p. 1965-1974, 2002.

TOUSSAINT, N. D.; ELDER, G. J.; KERR, P. G. Bisphosphonates in chronic kidney disease; balancing potential benefits and adverse effects on bone and soft tissue. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 4, n. 1, p. 221-233, 2009.

WANG, C. Y. *et al.* The study of using TiO₂ nanotube arrays as a drug delivery for alendronate. **Advanced Materials Research**, v. 335-336, p. 1469-1472, 2011.

WATTS, N. B.; DIAB, D. L. Long-term use of bisphosphonates in osteoporosis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 4, p. 1555-1565, 2010.

WEIGERT, N. M. **Uso do alendronato de sódio tópico associado ao bio-oss® no reparo de defeitos ósseos em calvária de ratos-estudo microtomográfico.** Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2016.

WRIGHT, E. *et al.* Bisphosphonates and risk of upper gastrointestinal cancer—a case control study using the General Practice Research Database (GPRD). **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e47616, 2012.

XU, C. *et al.* Acetylation and characterization of spruce (*Picea abies*) galactoglucomannans. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 6, p. 810-816, 2010.

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.

YOUNG, R. N.; GRYNPAS, M. D. Targeting therapeutics to bone by conjugation with bisphosphonates. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 40, p. 87-94, 2018.

ZAKIR, F. *et al.* Insights into Transdermal Drug Delivery: Approaches for Redressal of a Burgeoning Issue of Osteoporosis. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets**, v. 20, n. 10, 2020.