

UNIVERSIDADE DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM MEDICINA
REGENERATIVA E QUÍMICA MEDICINAL

Jéssica Drielle Fodra

MICROESFERAS À BASE DE FIBROÍNA EXTRAÍDA DA SEDA PARA
ENCAPSULAMENTO DE FÁRMACOS: SÍNTESE E ESTUDO CINÉTICO DE
LIBERAÇÃO.

Araraquara, SP

2023

Jéssica Drielle Fodra

**MICROESFERAS À BASE DE FIBROÍNA EXTRAÍDA DA SEDA PARA
ENCAPSULAMENTO DE FÁRMACOS: SÍNTESE E ESTUDO CINÉTICO DE
LIBERAÇÃO.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal da Universidade de Araraquara –UNIARA – como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Cavicchioli

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Trovatti

Araraquara, SP

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

F678m Fodra, Jéssica Drielle

Microesferas à base de fibroína extraída da seda para encapsulamento de fármacos: síntese e estudo cinético de liberação/Jéssica Drielle Fodra. Araraquara: Universidade de Araraquara, 2023.
87f.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química medicinal – UNIARA

Orientador: Prof. Dr. Maurício Cavicchioli
Co-Orientador: Profa. Dra. Eliane Trovatti

1. Liberação de fármacos. 2. Micropartículas poliméricas.
3. Poli (álcool vinílico). 4. Ibuprofeno. I. Título.


CDU 577.4

JÉSSICA DRIELLE FODRA

Dissertação apresentada a Universidade de Araraquara UNIARA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal.

Araraquara, 29 de junho de 2023

BANCA
EXAMINADORA



Prof. Dr. MAURÍCIO CAVICCHIOLI (Orientador)
Universidade de Araraquara - UNIARA



Prof. Dr. WILTON ROGÉRIO LUSTRI
Universidade de Araraquara - UNIARA



Prof. Dr. RENAN LIRA DE FARIAS
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-Rio

DEDICATÓRIA

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida.

Aos meus pais Angela e Armando.

Dedico este trabalho ao senhor Antônio Fernando de Oliveira (*in memoriam*) com todo o meu amor e gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida,

Sonhos sendo realizados!

Aos meus pais Angela e Armando,

Mais um sonho realizado e novos sonhos serão realizados. Obrigada pela oportunidade dos estudos, por acreditarem em mim e nos meus sonhos. Todas as conquistas são por vocês. Obrigada!

Ao meu avô José Antônio,

Que ficou sentado ao meu lado todos os dias enquanto escrevia esse trabalho e por todo amor.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Maurício Cavicchioli,

Agradeço a Deus pelo privilégio em ser sua aluna. Sem você esse trabalho não existiria. E que os próximos sejam de muito sucesso.

“A influência de um bom professor jamais poderá ser apagada.”

A minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Eliane Trovatti,

Por todo esclarecimento prestado em cada etapa desse estudo.

Família,

Que sempre esteve ao meu lado e foram fundamentais para esse processo.

Aos meninos: José Alberto, Lucas e Igor,

Por todas as risadas e companheirismo durante tanto tempo. Com certeza vocês deixam essa fase bem mais leve.

Meu especial agradecimento a Marina Fontes pela ajuda e orientação na realização das análises de espectrofotômetro UV-Vis no Laboratório de BioPolímeros e Biomateriais (BioPolMat). A BioSmart Nanotechnology pelo espaço cedido. A Bruna Dorm e a Tatiane Araújo do Laboratório de Biomaterias e Biotecnologia pela ajuda na realização dos ensaios de microscopia óptica. A Sonia Zanetti do Laboratório de Microscopia Avançada (LMA) do Instituto de Química da UNESP pelas análises de microscopia eletrônica de varredura. A Lais Roncalho de Lima do Laboratório de BioPolímeros e Biomateriais (BioPolMat) pela ajuda e realização de TGA. Ao professor Dr. Wilton Rogério Lustri do Laboratório de Celulose Bacteriana e Química Medicinal (CBQuim) pela realização da

análise de infravermelho. Ao José Alberto, Lucas e Igor do Laboratório de Mutagênese e Toxicidade (LAMUT) pela ajuda durante todo o período dos ensaios cinéticos.

Aos meus professores da Universidade de Araraquara, que fazem parte mais uma vez de uma fase tão importante na minha vida.

Aos funcionários da Universidade de Araraquara por todo apoio prestado, principalmente Sandra e Rosana pela ajuda sempre que solicitadas, e em especial a Elisete e a Anita pelas conversas e paciência enquanto estão fazendo a limpeza do laboratório.

EPÍGRAFE

É sobre confiar naquilo que Deus mostrou em sonhos...

“Porque aos seus anjos dará ordem a teu respeito, para te guardarem em todos os teus caminhos”.

(Salmo 91:11)

RESUMO

A busca por novos biomateriais tem encontrado novas fontes na natureza. A fibroína de seda (FB), uma das duas proteínas constituintes da seda produzida pelo "bicho-da-seda" (*Bombyx mori*), vem sendo explorada como biomaterial devido a diversas características como biocompatibilidade, propriedades mecânicas adequadas, degradabilidade, processabilidade e indução do crescimento celular. As microesferas à base de proteína extraída da FB visam novos sistemas de entrega de medicamentos devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e suas propriedades ajustáveis de carregamento e liberação de medicamentos. Neste trabalho foram preparadas micropartículas esféricas de FB para encapsulação do fármaco ibuprofeno e realizados estudos cinéticos de liberação do fármaco em solução fisiológica. Primeiramente a FB foi extraída dos casulos do bicho-da-seda e obtida na forma de solução. O processo de preparação das microesferas foi realizado a partir da mistura de solução de FB (5% m/V) e PVA (5% m/V), na proporção 1 para 4 e deixando-se a solução secar para formação de um filme contendo as microesferas. Estas foram lavadas e centrifugadas. As partículas com fármacos foram preparadas pela mesma metodologia, mas adicionando-se o fármaco na mistura líquida. As microesferas obtidas foram caracterizadas através de microscopia óptica e eletrônica, espectrometria na região I.V e termogravimetria. As microesferas apresentaram formatos bem regulares com pouca variação no tamanho. Também se comprovou, qualitativamente, a incorporação do fármaco nas microesferas. A partir dos ensaios de cinética de liberação, verificou-se que o fármaco é liberado muito lentamente das microesferas, mesmo depois de vários dias de liberação. Tal comportamento provavelmente se deve às características químicas do fármaco e da FB. O ibuprofeno pode apresentar maior afinidade química com a estrutura proteica da FB, gerando um perfil de liberação mais lento. Uma outra característica observada nos gráficos foi a redução da concentração do fármaco antes de atingir aproximadamente 1000 minutos. Essa diminuição provavelmente ocorreu porque após o processo de lavagem das microesferas uma pequena quantidade do fármaco não encapsulado permaneceu e foi transferido para a solução utilizada no ensaio. Com base nisso, podemos concluir que esse fármaco livre na solução pode ter sido absorvido pelas microesferas. Esse fato reforça a ideia de que a proteína possui diversos grupos capazes de interagir de forma significativa com o fármaco. Devido ao fato de a cinética de liberação ser muito lenta os fármacos indicados para o uso com este sistema aqueles de baixa dosagem como hormônios, para um potencial uso em implantes intradérmicos de longa duração.

Palavras-chave: liberação de fármacos; micropartículas poliméricas; poli (álcool vinílico); ibuprofeno.

ABSTRACT

The search for new biomaterials has found new sources in nature. Silk fibroin (SF), one of the two proteins that constitute silk produced by the "silkworm" (*Bombyx mori*), has been explored as a biomaterial due to several characteristics such as biocompatibility, adequate mechanical properties, degradability, processability and induction of cell growth. SF extracted protein-based microbeads target new drug delivery systems due to their biocompatibility, biodegradability, and their adjustable drug loading and delivery properties. In this work, spherical microparticles of SF were prepared for encapsulation of the drug ibuprofen and kinetic studies of drug release in saline solution were performed. First, SF was extracted from the cocoons of the silkworm and obtained in the form of a solution. The microspheres were prepared from the mixture of SF (5% w/V) and PVA (5% m/V) solutions in the ratio 1 to 4 and drying the resulting solution to form a film containing the microspheres. The films were washed and centrifuged. The microspheres with encapsulated drug were prepared by the same method, but by adding the drug to the liquid mixture. The microspheres obtained were characterized by optical and electron microscopy, spectrometry in the I.R. region and thermogravimetry. The microspheres presented very regular shapes with little variation in size. The incorporation of the drug in the microspheres was also qualitatively proven. After the release kinetics assays, it was found that the drug is released very slowly from the microspheres, even after several days. Such behavior is probably due to the chemical characteristics of the drug and SF. Ibuprofen may have a higher chemical affinity with the protein structure of SF which contributes to a slower release profile. Another behaviour was the reduction of the concentration of the drug before approximately 1000 minutes. This decrease probably occurred because of the process of washing the microspheres in which a small amount of the non-encapsulated drug remained and was transferred to the buffer solution used in the assay. Based on this, we can conclude that this free drug in the solution may have been absorbed by the microspheres. This fact reinforces the idea that the protein has several groups capable of interacting strongly with the drug. Low dosage drugs, such as hormones, are indicated to be used with this system due to the fact that the release kinetics are very slow. A potential application for these microspheres is their addition in long-acting intradermal implants.

Keywords: drug release; polymeric microparticles; poly (vinyl alcohol); ibuprofen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura química do PVA obtido através da hidrólise alcalina do poli (acetato de vinila).....	20
Figura 2. Sistema de liberação	23
Figura 3. Sistemas de liberação por difusão, dissolução e osmose.....	26
Figura 4. Estrutura química do poli (acetato de vinila).	27
Figura 5. Mecanismo de liberação em matrizes hidrofílicas.	29
Figura 6. Mecanismo de liberação de matrizes hidrofóbicas	30
Figura 7. Microesferas poliméricas.....	31
Figura 8. Bicho-da-seda tecendo um casulo	32
Figura 9. Casulos e bicho-da-seda da espécie Bombyx mori.....	34
Figura 10. Filamentos de fibroína revestidos com sericina.....	34
Figura 11. Estrutura da fibroína composta por domínios repetitivos de aminoácidos.....	35
Figura 12. Estrutura da fibroína em conformação de Seda I (A) e Seda II (B).	36
Figura 13. Estrutura do ibuprofeno.....	43
Figura 14. Etapas do processo de extração da fibroína.....	48
Figura 15. Preparação do filme FB-PVA.....	49
Figura 16. Processo de preparação das microesferas FB-PVA	49
Figura 17. Filmes de FB-PVA contendo ibuprofeno.....	51
Figura 18. Curva calibração do Ibuprofeno	54
Figura 19. Processo de preparação liberação controlada.....	55
Figura 20. Agentes compatibilizantes testados.....	56
Figura 21. Estrutura química do ácido oleico	57
Figura 22. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA	58
Figura 23. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA- IBUP1000.....	58
Figura 24. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP80.	59
Figura 25. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP20.	59
Figura 26. Morfologia pelo MEV dos filmes e microesferas de FB-PVA.....	60

Figura 27. Morfologia pelo MEV dos filmes e microesferas de FB-PVA-IBUP80.	61
Figura 28. Morfologia pelo MEV dos filmes e microesferas de FB-PVA-IBUP20.	61
Figura 29. Espectros IV: FB, PVA e FB-PVA	62
Figura 30. Espectros IV: IBUP 20, IBUP80, IBUP1000 na forma de microesferas de FB-PVA	64
Figura 31. Curvas TGA das microesferas FB-PVA-IBUP1000; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20	65
Figura 32. Curvas termogravimétricas (TG; DTG e DTA) das microesferas de FB-PVA-IBUP1000, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP20	65
Figura 33. Gráfico da curva de liberação FB-PVA-IBUP1000	67
Figura 34. Gráfico da curva de liberação FB-PVA-IBUP80.....	68
Figura 35. Gráfico da curva de liberação FB-PVA-IBUP20.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração x Absorbância de Ibuprofeno.....	54
Tabela 2. Dados espectrais de FT-IR de FB, PVA, FB-PVA.....	63
Tabela 3. Dados espectrais de FT-IR de ibuprofeno	64
Tabela 4. Massa liberada FB-PVA-IBUP1000 x tempo	66
Tabela 5. Massa liberada FB-PVA-IBUP80 x tempo.....	68
Tabela 6. Massa liberada FB-PVA-IBUP20 x tempo.....	69

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AINES	Anti-inflamatórios não esteroides
COX	Ciclooxigenase
FB	Fibroína de seda
FB-PVA	Fibroína e PVA
FB-PVA-IBUP1000	Fibroína e PVA contendo 1000 mg de ibuprofeno
FB-PVA-IBUP20	Fibroína e PVA contendo 20 mg de ibuprofeno
FB-PVA-IBUP80	Fibroína e PVA contendo 80 mg de ibuprofeno
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
IBUP	Ibuprofeno
IV	Infravermelho
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
PG	Prostaglandinas
PVA	Poli (álcool vinílico)
SF	Silk fibroin
TGA	Análise termogravimétrica

Sumário

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 O uso de fibroína no encapsulamento de fármacos	19
1.2 Poli (álcool vinílico)	20
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3. REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1 Liberação controlada de fármacos	23
3.2 Tecnologia para produção de sistema de liberação controlada	25
3.3 Matrizes poliméricas em sistema de liberação controlada	27
3.3.1 Polímero	27
3.3.2 Matrizes poliméricas	28
3.3.3 Micropartículas	31
3.4 Fibroína da seda	32
3.4.1 História da seda	32
3.4.2 Fibroína extraída do bicho-da-seda	33
3.4.3 Fibroína da seda como biomaterial	36
3.5 Anti-inflamatório	39
3.5.1 Anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs)	41
3.5.2 Farmacologia	42
3.5.3 Ibuprofeno	42
4. MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 Materiais	46
4.2 Extração da fibroína de seda	46
4.2.1 Degumação dos casulos de bicho-da-seda (<i>Bombyx mori</i>)	46
4.2.2 Lavagem das fibras de fibroína	46
4.2.3 Solubilização da fibroína	47
4.2.4 Dialise	47
4.2.5 Centrifugação	47
4.2.6 Determinação da concentração de fibroína (m/v) e estocagem	47
4.3 Síntese das microesferas de fibroína e PVA	48
Etapa 1: Preparação do filme FB-PVA	48

Etapa 2: Preparação das microesferas FB-PVA.....	49
4.4 Carregamento de fármacos em microesferas de fibroína.....	50
Etapa 1: Ensaio de compatibilidade do fármaco.....	50
Etapa 2: Preparação dos filmes FB-PVA-ibuprofeno.....	50
Etapa 3: Preparação das microesferas fibroína-PVA-ibuprofeno.....	51
4.5 Caracterização das microesferas.....	52
4.5.1 Microscopia óptica.....	52
4.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	52
4.5.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).....	52
4.5.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	53
4.6 Ensaios de cinética de liberação.....	53
5. RESULTADOS.....	56
5.1 Carregamento de fármacos em microesferas de fibroína.....	56
5.1.1 Ensaio de compatibilidade do fármaco.....	56
5.2 Caracterização das microesferas.....	57
5.2.1 Microscopia óptica.....	57
5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	60
5.2.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).....	61
5.2.4 Análise termogravimétrica (TGA).....	64
5.3 Ensaio cinético de liberação.....	66
5.3.1 FB-PVA-IBUP1000.....	66
5.3.2 IBUP80.....	68
5.3.3 IBUP20.....	69
6. CONCLUSÕES.....	71
7. REFERÊNCIAS.....	72

1. INTRODUÇÃO

Um biomaterial que tem despertado grande interesse é a fibroína de seda (FB). A FB é uma proteína estrutural encontrada nos casulos de bichos-da-seda da espécie *Bombyx mori* L., constituída majoritariamente por alanina, glicina e serina, em menor quantidade, por tirosina, dispostas de maneira altamente organizada. A FB possui três tipos principais de conformações da estrutura secundária: hélice- α , enovelamento aleatório e folha- β . A FB, como tantas outras proteínas fibrosas, é insolúvel em água devido à alta concentração de aminoácidos hidrofóbicos em sua composição. A FB tem sido explorado como um potencial biopolímero para aplicações biomédicas. A biocompatibilidade, biodegradabilidade e natureza não tóxica da FB a torna de interesse para sistemas de administração de fármacos, cicatrização de feridas e regeneração de tecidos. Além disso, a FB pode ser processada em diferentes formas, incluindo filmes, géis e fibras, permitindo sua aplicação em diferentes contextos biomédicos (NOGUEIRA, 2009; NOGUEIRA *et al.*, 2010; PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015; KUNDU *et al.*, 2013).

A liberação controlada de fármacos é uma estratégia utilizada para administrar fármacos de forma gradativa e precisa no organismo, com o objetivo de otimizar sua eficácia e minimizar os efeitos adversos. Essa abordagem envolve o desenvolvimento de sistemas de liberação que permitem a liberação gradual e controlada do fármaco ao longo do tempo. Diversas tecnologias têm sido exploradas para alcançar a liberação controlada, como sistemas de liberação com base em polímeros. A liberação controlada de fármacos tem se mostrado uma estratégia promissora em diversas áreas da medicina, incluindo oncologia, doenças crônicas e terapias de longa duração. Este tipo de perfil de liberação pode ser terapeuticamente benéfico, uma vez que possuem a capacidade de controlar a velocidade e o local de liberação dos fármacos possibilitando um melhor direcionamento da terapia, maior segurança na utilização de fármacos, maior eficácia e aderência ao tratamento; minimização dos efeitos adversos; além da diminuição do número de administrações diárias (LYRA *et al.* 2007; COSTA, 2019; XU *et al.*, 2022).

As micropartículas poliméricas têm sido amplamente exploradas como sistemas de liberação de fármacos devido às suas propriedades versáteis e capacidade de controle da liberação. As micropartículas são compostas por polímeros biocompatíveis que podem ser produzidas de maneira a permitir a liberação gradual e controlada do fármaco. A escolha do polímero utilizado influencia diretamente as propriedades de liberação, como taxa de liberação, perfil de liberação e estabilidade do fármaco encapsulado. As micropartículas poliméricas oferecem diversas vantagens para a liberação, tais como, a proteção do fármaco contra degradação, aumento da estabilidade, redução de efeitos adversos e melhor direcionamento terapêutico. Além do mais, a formulação dessas micropartículas pode ser adaptada para atender às necessidades específicas de cada fármaco e doença, permitindo o desenvolvimento de terapias personalizadas e de longa duração (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; TOLEDO, 2008; XU *et al.*, 2022).

Os medicamentos anti-inflamatórios não esteroides (AINES) são uma classe de fármacos amplamente utilizada para o tratamento de inflamações e alívio de dor. Entre eles, destaca-se o ibuprofeno, que é um dos mais prescritos e este é disponível para uso sem prescrição médica. O ibuprofeno atua inibindo a enzima ciclooxigenase (COX), reduzindo a produção de prostaglandinas (PG), e substâncias químicas envolvidas na inflamação (SOUZA; SILVA, 2014). O ibuprofeno têm demonstrado eficácia no tratamento de condições inflamatórias, como artrite, dor muscular e febre. Além do que, o ibuprofeno também possui propriedades analgésicas, o que contribui para seu amplo uso no alívio da dor (JAROSZ *et al.*, 2017; MACKEIVICZ *et al.*, 2020). No entanto, o uso prolongado e indiscriminado do ibuprofeno pode estar associado a efeitos adversos, como irritação gastrointestinal, úlceras, sangramento e disfunção renal (SOSTRES *et al.*, 2010; PARK *et al.*, 2011).

O objetivo desta pesquisa foi preparar micropartículas esféricas de FB para encapsulamento do fármaco ibuprofeno e realizar estudos cinéticos de liberação do fármaco das microesferas FB e poli (álcool vinílico) (PVA) em solução fisiológica. Estes estudos de Wang e seu colaboradores foram conduzidos utilizando microesferas de FB e PVA (WANG *et al.*, 2010). Contudo, ainda não foram realizadas pesquisas com fármacos comercialmente

disponíveis, o que representa uma oportunidade a ser explorada neste trabalho. Nesse sentido, foram selecionado o anti-inflamatório ibuprofeno, um fármaco hidrofóbico que, teoricamente, apresentaria uma maior afinidade química com a estrutura protéica da FB, resultando em um perfil de liberação mais prolongado.

1.1 O uso de fibroína no encapsulamento de fármacos

A FB tem se mostrado um biomaterial promissor para o uso como suporte de fármacos para liberação controlada, sendo utilizada na forma pura ou em compósitos com outros biomateriais (CHENG *et al.*, 2020; MAGAZ *et al.*, 2020; PETERSEN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020; WANI *et al.*, 2020; WONGPINYOCHIT; JOHNSTON; SEIB, 2016).

Dentre os trabalhos destaca-se o de Kaplan e colaboradores que prepararam microesferas de FB através da adição de PVA para a formação micelar e, em seguida, investigaram a capacidade de encapsulamento das moléculas de Albumina bovina conjugada com tetrametilrodamina (TMR-BSA), Dextran conjugado com tetrametilrodamine (TMR-Dextran) e rodamina B (RhB) (WANG *et al.*, 2010). Estes conjugados servem como modelos de fármacos. Após a análise da capacidade de carregamento, os autores realizaram os estudos de liberação controlada destas moléculas conjugadas inseridos nas microesferas. Foi constatado que moléculas mais hidrofóbicas tiveram uma maior afinidade pela cadeia proteica formada pela FB e, conseqüentemente, apresentaram maior eficiência no carregamento. Os perfis de liberação dos modelos de fármacos foram variados e observou-se que a maior afinidade resulta em uma liberação mais lenta durante os testes.

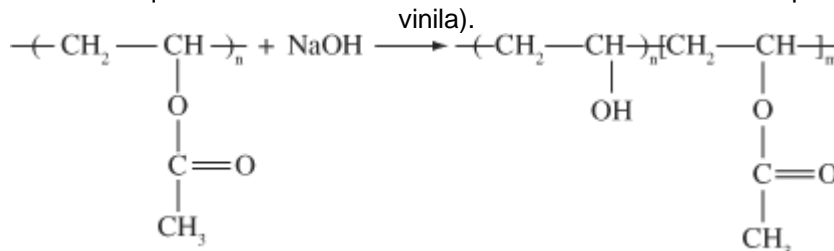
Esses estudos com microesferas de FB e PVA (WANG *et al.*, 2010), foram realizados apenas com esses modelos de fármacos. Ainda não existem estudos envolvendo fármacos disponíveis no mercado e esta é uma oportunidade que será abordada neste projeto de mestrado. Para isso, escolhemos fármacos os anti-inflamatórios ibuprofeno, um fármaco hidrofóbico e que, teoricamente, apresentaria maior afinidade química com a estrutura protéica da FB, que resultaria em um perfil de liberação mais lento.

1.2 Poli (álcool vinílico)

O poli (álcool vinílico) (PVA), foi obtido pela primeira vez em 1924, por Herrman e Haehnel, como um polímero sintético hidrofílico linear simples, contendo grupos de hidroxilas pendentes, é sintetizado a partir da reação de polimerização do poli (acetato de vinila) seguido de hidrólise (figura 1), sendo desenvolvido como o primeiro coloide sintético e utilizado para diversas aplicações (ARANHA, 2001).

Composto por unidades repetitivas de álcool vinílico, o PVA possui propriedades, como alta resistência à tração, boa aderência e solubilidade em água. Estas propriedades únicas o tornam adequado e versátil para a aplicação industriais e comerciais, especialmente nas áreas médica e farmacêutica, com destaque para a liberação controlada de fármacos. O PVA é biocompatível, biodegradável e apresenta uma alta capacidade de absorção de água, o que permite sua utilização em sistemas de liberação de fármacos hidrofílicos (TEODORESCU; BERCEA; MORARIU, 2019; RIVERA-HERNANDEZ *et al.*, 2021).

Figura 1. Estrutura química do PVA obtido através da hidrólise alcalina do poli (acetato de vinila).



Fonte: Extraído de GUERRINI *et al.*, 2006.

Nos últimos anos, houve um avanço significativo na pesquisa e desenvolvimento do PVA, resultando em novas formulações e aplicações. Um dos principais métodos de utilização do PVA na liberação controlada de fármacos e a preparação de hidrogéis. Esses hidrogéis podem ser fabricados incorporando-se o fármaco diretamente na matriz do PVA ou encapsulando-o em microesferas de PVA. Essas microesferas podem ser administradas oralmente, topicamente ou injetadas, liberando o fármaco de forma gradual e controlada ao

longo do tempo (CHO *et al.*, 2020; GHOLAMALI; ASNAASHARIISFAHANI; ALIPOUR, 2020).

Estudos têm demonstrado a eficácia do PVA na liberação controlada de diversos fármacos, como analgésicos, anti-inflamatórios, antibióticos e agentes anticancerígenos. O PVA também tem sido utilizado para a liberação de proteínas e peptídeos, mostrando-se promissor no campo da terapia de proteínas (AFSHAR *et al.*, 2020). Além disso, o PVA tem se mostrado promissor na área de engenharia de tecidos e medicina regenerativa. Em estudos mostram, filmes e hidrogéis de PVA têm sido utilizados como suporte para o crescimento e diferenciação de células, bem como para a liberação controlada de fármacos (GAJRA *et al.*, 2012).

Diversas estratégias têm sido exploradas para melhorar a liberação controlada de fármacos pelo PVA. Isso inclui a modificação química do PVA para controlar a taxa de degradação e a incorporação de agentes de liberação na matriz do polímero. Essas abordagens têm mostrado resultados promissores, proporcionando uma liberação mais prolongada e controlada dos fármacos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Foram preparadas e caracterizadas as micropartículas de FB-PVA para encapsulamento do fármaco ibuprofeno. As partículas foram caracterizadas e feitos experimentos para se determinar a velocidade de liberação do fármaco em solução fisiológica.

2.2 Objetivos específicos

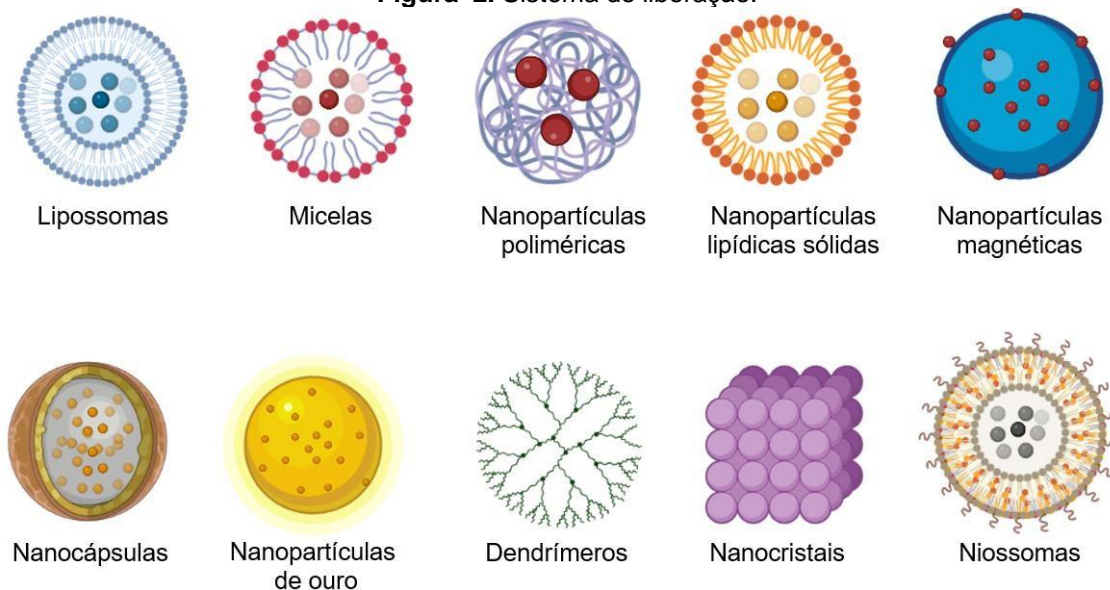
- ◆ Extração da proteína FB a partir dos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) através de métodos já estabelecidos na literatura e em nosso laboratório.
- ◆ Foram preparadas microesferas de FB e PVA com a inclusão do fármaco ibuprofeno em diferentes proporções.
- ◆ As microesferas obtidas foram caracterizadas utilizando-se técnicas que incluem: espectroscopia no infravermelho, análise termogravimétrica, microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura;
- ◆ Foram realizados ensaios de liberação controlada com as microesferas FB-PVA contendo o fármaco ibuprofeno.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Liberação controlada de fármacos

Uma das aplicações da tecnologia em pesquisas clínicas e farmacêuticas tem sido o uso de carreadores de fármacos. Os primeiros estudos realizados para a obtenção de sistemas carreadores tiveram como base o encapsulamento de moléculas, datado no início do século XX, com o primeiro estudo, quando Paul Ehrlich propôs o seu modelo, que ficou conhecido por “Bala Mágica de Ehrlich” (Ehrlich’s Magic Bullet) (LIMA, 2018). Seguindo a mesma ideia de Paul Ehrlich, atualmente podemos citar sistemas de liberação como: lipossomas, micelas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, niossomas, entre outros (figura 2), estes melhoram a farmacocinética das substâncias, prolongando sua ação e dirigem os fármacos aos sítios de ação, alterando a permeabilidade da substância, reduzindo os efeitos tóxicos, e ainda protegem suas estruturas de interferentes biológicos. Outra grande vantagem deste sistema é possuir tamanhos bastante reduzidos, podendo atravessar barreiras biológicas, o que facilita a terapia em muitas patologias (PRADO, 2019).

Figura 2. Sistema de liberação.



Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

No decorrer dos anos, o estudo sobre liberação de fármacos tem sido um importante assunto abordado, em razão do avanço da tecnologia, sistemas cada vez mais complexos tem sido desenvolvido. Segundo Prado, 2019, a liberação de fármacos refere-se ao processo no qual o fármaco migra da sua posição inicial no sistema para a superfície externa do sistema, no caso, o polímero, e posteriormente para o meio de liberação (PRADO, 2019).

Existem muitos sistemas de liberação de fármacos e para defini-los diversas expressões são usadas, como a liberação retardada, liberação repetida, liberação controlada, liberação sustentada, entre outras. Estas definições devem-se ao fato das suas classificações ligadas a ação farmacológica como ao processo tecnológico de obtenção dos medicamentos (LYRA *et al.*, 2007). Uma vez que, não há definição legal na legislação Brasileira, assim como não há nas legislações internacional. Dentre várias definições, segundo a maioria dos autores, o mais adequado, é liberação controlada, englobando todos os outros sem, no entanto, especificar exatamente o tipo de controle existente e de que maneira este sistema é alcançado (LYRA *et al.* 2007; COSTA, 2019).

Houve um avanço significativo na área com o surgimento de novos materiais e técnicas de administração (MACEDO, 2020). Encontram-se conjuntos de biomateriais que possui a capacidade de liberar fármacos de forma controlada no corpo humano, conhecidos também como *Drug Delivery Systems*. Esses sistemas podem ser baseados em diferentes tecnologias, como sistemas de liberação com base em polímeros, matrizes poliméricas, sistemas microparticulados, sistemas de liberação transdérmica, sistemas de liberação por meio de implantes, entre outros. Os sistemas de liberação controlada de agentes ativos podem ser preparados em diversas formas com destaque para filmes ou membranas, micro e nanopartículas, géis, soluções e comprimidos, sendo que a forma utilizada depende da sua aplicação (FU, KAO, 2010; COSTA, 2019; MACEDO, 2020).

Além disso, há certos aspectos nesta nova tecnologia que precisam ser aprimorados e considerados com cautela. Por exemplo, há desafios em interromper a ação farmacológica de um medicamento administrado por esses dispositivos, bem como o alto custo dos polímeros biodegradáveis. Também existe o risco de nanopatologia, que envolve a presença de nanopartículas

inorgânicas nos tecidos humanos, que não são metabolizadas e têm dificuldade de excreção, resultando em sintomas como febre, hepatomegalia e acidose metabólica. Isso nos obriga a rever os conceitos de biodisponibilidade nesses sistemas. Existem, ainda, questões éticas relacionadas à nanotecnologia e à nanociência, pois estes sistemas poderiam fugir ao nosso controle, resultando, por exemplo, nas armas biológicas mais destrutivas que poderiam ser construídas sob esta metodologia, o bioterrorismo.

3.2 Tecnologia para produção de sistema de liberação controlada

Os sistemas de liberação controlada utilizam dispositivos que formam uma barreira entre o fármaco e o ambiente externo, seja ela, química ou física, com o intuito de proteção contra os efeitos de temperatura, pH, oxidação, redução e tantos outros obstáculos que podem facilmente impedir a eficiência do tratamento terapêutico, além de proporcionar uma liberação lenta da dose. Essas barreiras podem ser empregadas por várias técnicas como a nano/microencapsulamento, revestimentos, por meio de dissolução ou adesão a superfície de uma matriz, como também por meio de dispositivos osmóticos (LYRA *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2022).

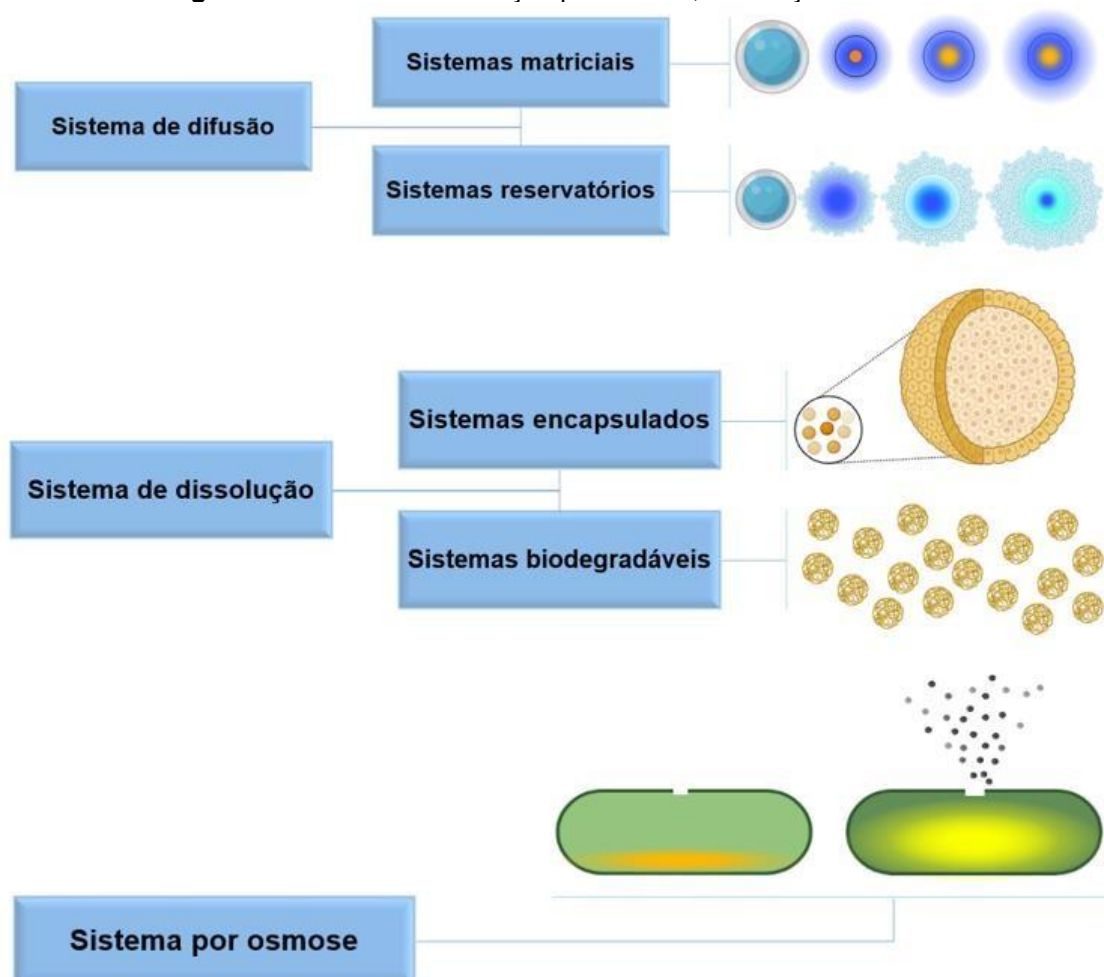
Esses sistemas carreadores de fármacos podem ser delineados para ter uma liberação constante, decrescente o que, necessariamente, não garante uma concentração plasmática constante, mas conseguem fornecer uma liberação sustentada, ou bimodal, caracterizada pela lenta liberação na fase inicial seguido por um aumento na liberação na fase posterior. Este tipo de perfil de liberação pode ser terapêuticamente benéfico para liberação regulada ou sítio-específico de fármacos (WEI *et al.*, 2006).

Diversas estratégias têm sido exploradas para alcançar a liberação controlada de fármacos destacando-se os sistemas de liberação baseados em polímeros biodegradáveis que, à medida que o polímero se degrada no organismo, permitem a liberação gradual do fármaco (PIMENTEL *et al.*, 2007).

Entre os sistemas poliméricos podemos citar: o sistema de liberação controlada por difusão, neste existem dois sistemas que se destacam, os sistemas matriciais e reservatórios. Outro sistema bastante conhecido é o

sistema de liberação controlada por dissolução, estes são divididos em duas classes: os sistemas encapsulados e os biodegradáveis, dos quais se destacam, respectivamente, as macromoléculas e ciclodextrinas e as biocerâmicas porosas, que são sistemas de difusão reservatório, e possuem a característica de ser biodegradável em meio plasmático (PEREIRA *et al.*, 2022). Um sistema não tão citado na literatura é o sistema de liberação controlada por osmose. Neste sistema, o fármaco encontra-se envolvido em uma membrana semipermeável, no entanto, terá uma pequena cavidade que facilitará, por pressão osmótica, a entrada do fluido fisiológico em seu interior, e logo após, começará a bombear, de forma controlada, o fármaco para o seu exterior. A figura 3 ilustra os sistemas de liberação por difusão, dissolução e osmose (LIMA, 2010).

Figura 3. Sistemas de liberação por difusão, dissolução e osmose.



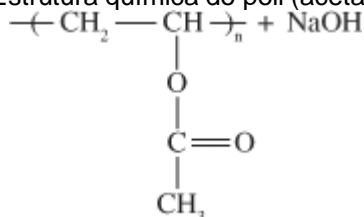
Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

3.3 Matrizes poliméricas em sistema de liberação controlada

3.3.1 Polímero

Polímeros são macromoléculas formadas pela repetição de unidades estruturais chamadas monômeros. Esses monômeros se ligam entre si por meio de reações químicas, formando longas cadeias ou redes tridimensionais. A palavra "polímero" vem do grego, onde "poli" significa muitos e "meros" significa partes, indicando a natureza da estrutura dos polímeros, como por exemplo, poli (acetato de vinila) (figura 4). Eles podem ser caracterizados de acordo com as espécies ligantes, com os tipos de ligações e número de monômeros em sua cadeia polimérica. A forma, as propriedades e as características dos polímeros podem variar, dependendo da composição química dos monômeros utilizados e das condições de processamento. Essas propriedades podem incluir a resistência mecânica, a flexibilidade, a transparência, a capacidade de isolamento elétrico, a resistência química, a biodegradabilidade, entre outras. Os polímeros estão presentes em uma variedade de materiais com os quais interagimos diariamente, entre eles estão os plásticos, fibras sintéticas, borrachas. Além disso, os polímeros naturais, como o DNA, proteínas e celulose (MACEDO, 2020).

Figura 4. Estrutura química do poli (acetato de vinila).



Fonte: Extraído GUERRINI *et al.*, 2006.

Os polímeros desempenham um papel essencial em muitas áreas da indústria, incluindo embalagens, automotiva, eletrônica, medicina, têxtil, construção civil e muitas outras. A capacidade de projetar e sintetizar polímeros com propriedades específicas permitiu o desenvolvimento de uma ampla gama de materiais com diversas aplicações. Os polímeros vem sendo a principal via de desenvolvimento dos sistemas de liberação de fármacos, pela sua biocompatibilidade, aplicabilidade, funcionalidade e flexibilidade. Sendo assim,

vários estudos têm explorado o potencial das matrizes poliméricas em sistemas de liberação. Tendo em vista a diversidade de polímeros, tanto naturais como sintéticos, as matrizes poliméricas podem ser projetadas para alcançar as propriedades desejadas, como um perfil de liberação controlada e/ou sustentada, bem como para permitir a liberação do fármaco durante um certo período (BORGES, 2018).

Os polímeros são classificados em naturais e sintéticos, assim como biodegradáveis e não biodegradáveis (LYRA *et al.*, 2007). Os polímeros sintéticos apresentam a grande vantagem de poderem ser manipulados e ajustados em sua estrutura, para atenderem os requisitos necessários e atuarem como um eficiente carreador de fármacos, atingindo assim os objetivos propostos (FONSECA, 2015; PEREIRA *et al.*, 2022).

3.3.2 Matrizes poliméricas

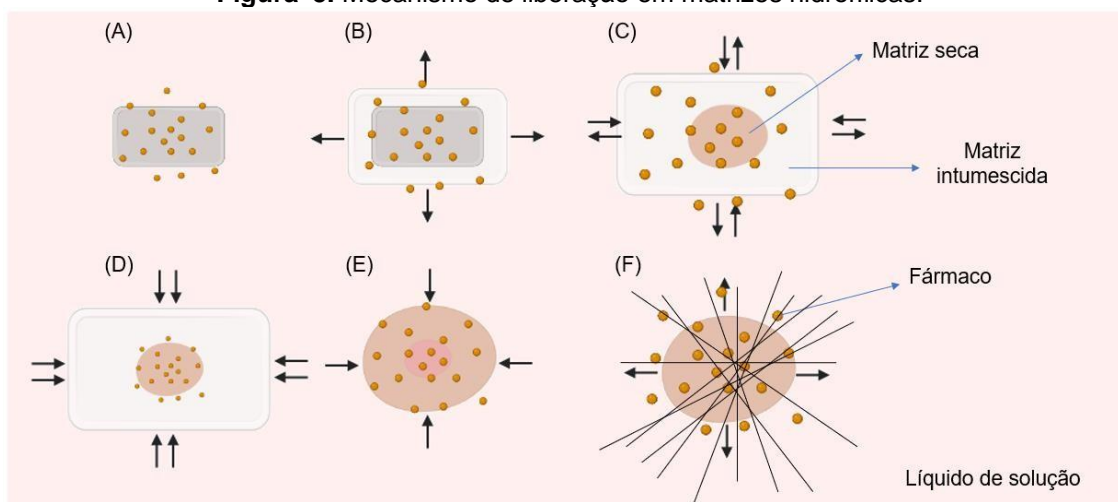
Os polímeros podem carrear grandes quantidades de fármacos em razão de suas características de produzir matrizes. Nos sistemas de matrizes poliméricas, o fármaco pode se encontrar homogeneamente dispersa na matriz polimérica, dentro de um reservatório ou adsorvido em sua superfície, e na sua liberação estão envolvidos processos físicos e químicos, incluindo penetração de água na matriz, difusão do fármaco pelos poros da matriz, por degradação do polímero ou por uma combinação dos dois mecanismos (TAJES *et al.*, 2014; LI *et al.* 2017; BORGES, 2018).

Um estudo publicado em 2015 por D'Souza e seus colaboradores, foi desenvolvida uma matriz polimérica de liberação prolongada para a entrega de insulina, utilizando polímeros. O sistema mostrou que as micropartículas contendo insulina oral foram capazes de reduzir os níveis de glicose em condições de doença e seriam uma via de administração favorável aos pacientes como alternativa às injeções subcutâneas diárias (D'SOUZA *et al.*, 2015). No mesmo ano, realizado por Olabisi, propôs o encapsulamento de células em microesferas poliméricas que permitiu o transplante de células em seres humanos e animais sem a necessidade de imunossupressores. Os polímeros sintéticos oferecem maior flexibilidade no design molecular, permitindo o ajuste fino das propriedades mecânicas, químicas e de transporte. Os polímeros

sintéticos são um meio promissor para alcançar futuros sistemas de encapsulamento celular (OLABISI, 2015).

As matrizes poliméricas mais utilizadas são as hidrofílicas (afinidade com a água) por apresentarem afinidade maior com o sistema do organismo e serem mais facilmente eliminadas. Dentre elas se destaca a matriz do polímero conhecida como hidroxipropilmetil-celulose (HPMC). Essas matrizes poliméricas atuam como eficientes carreadores de fármacos ao entrarem em contato com os líquidos gastrointestinais por meio dos complexos processos de gelificação (formação de camada de gel), intumescimento, difusão e erosão, como representado na figura 5 (PEREIRA *et al.*, 2022).

Figura 5. Mecanismo de liberação em matrizes hidrofílicas.



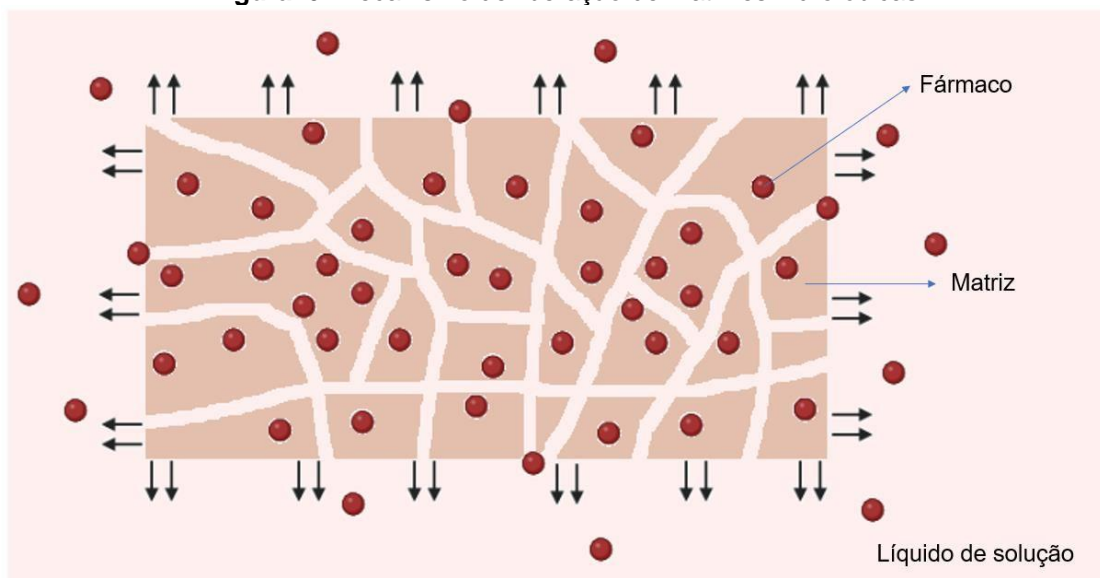
Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

Na vetorização dos fármacos até o sítio desejado, elas são administradas no estado seco, com a sua estrutura bem compactada (A); ao serem hidratadas pelo meio aquoso, as moléculas de água começam a interagir com as hidroxilas das cadeias poliméricas, passando por um processo de solvatação, conduzindo a um processo de gelificação da camada externa, que, por sua vez, permite o intumescimento da matriz, mas também forma uma barreira para a difusão do fármaco (B); todavia, haverá uma abertura nos poros da matriz, devido ao constante intumescimento, por intermédio do qual os fármacos se difundirão para o meio externo, como também as moléculas de água penetrarão em seus poros (C); contudo, a matriz chega ao seu limite de expansão, a dissolução passa a ser constante, e começa a haver erosões na estrutura da matriz (D); as quebras das ligações são constantes e a estrutura é desfeita, facilitando a

difusão do fármaco (E), até que há uma ruptura completa da matriz polimérica e a difusão do restante dos fármacos no meio se encerra (F) (PEREIRA *et al.*, 2022).

Além das matrizes poliméricas hidrofílicas, existem as matrizes poliméricas hidrofóbicas que também são muito utilizadas. As matrizes poliméricas hidrofóbicas (aversão à água), são constituídas por polímeros insolúveis em água, entre as quais, se destacam, a cera de abelha, parafina, cloreto de polivinila, fibroína, entre outros. Estas matrizes apresentam o fármaco disperso nas estruturas porosas. Após a administração o meio de liberação penetra nos poros da matriz e dissolve o fármaco. Posteriormente são formados canalículos como consequência do processo de dissolução, seguido da etapa de difusão gradual do fármaco. Nestes sistemas também é possível encontrar um mecanismo de erosão da matriz. A prevalência de um ou outro mecanismo depende das propriedades do fármaco e da natureza da matriz usada na liberação. A figura 6 mostra o esquema de mecanismos de dissolução de sistemas hidrofóbicos (SALAZAR, 2015).

Figura 6. Mecanismo de liberação de matrizes hidrofóbicas.



Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

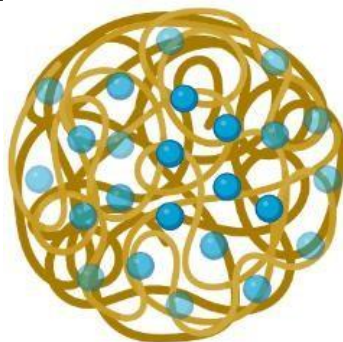
As matrizes poliméricas hidrofóbicas à base de quitosana, estão sendo fortemente estudadas para o tratamento de câncer. Pesquisadores, ao realizarem os testes em ratos, observaram que a taxa de desenvolvimento do câncer apresentou uma forte queda, como também houve uma visível diminuição

no espalhamento por metástases, e uma significativa redução da recorrência, revelando assim, a eficiência destes dispositivos no tratamento do câncer (BATISTA, 2015).

3.3.3 Micropartículas

A liberação de fármacos por meio de microesferas poliméricas é uma estratégia amplamente explorada na área de liberação controlada de fármacos (figura 7). As microesferas são partículas sólidas com tamanho na faixa de micrômetros (1–1000mm), geralmente compostas por polímeros biodegradáveis ou polímeros sintéticos que podem encapsular fármacos em sua estrutura. Essas microesferas podem ser administradas por diferentes vias, como oral, parenteral ou tópica, e permitem a liberação lenta e controlada do fármaco ao longo do tempo (WANG *et al.* 2010). (PRASAD *et al.*, 2014; CANO, *et al.* 2018).

Figura 7. Microesferas poliméricas.



Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

A caracterização microesferas poliméricas é importante, uma vez que auxilia o carreador a projetar adequadamente a entrega de fármaco. Portanto, estas microesferas têm diferentes microestruturas que determinam a liberação e a estabilidade do carreador. Os procedimentos mais utilizados para visualizar o tamanho e as formas das micropartículas são MEV e FTIR é usado para determinar a degradação de a matriz polimérica do sistema transportador (PRASAD *et al.*, 2014).

3.4 Fibroína da seda

3.4.1 História da seda

A sericultura é a prática de criar e cultivar bichos-da-seda para a produção de seda. A história da seda remonta a milhares de anos, tendo origem na China, há mais de 5.000 anos. Acredita-se que a produção de seda tenha começado durante a dinastia Xia, por volta do século XXV a.C. O processo de criação da seda envolve a domesticação de um inseto conhecido como bicho-da-seda, da espécie *Bombyx mori*. As sedas são definidas como uma classe única de biopolímeros que são produtos do processo de "fiação" de secreção de várias linhagens de artrópodes. O bicho-da-seda é uma larva que se alimenta exclusivamente de folhas de amoreira. Após cerca de um mês, a larva tece um casulo de seda ao seu redor (figura 8) usando um fio contínuo que é secretado pelas suas glândulas salivares. Esse fio pode chegar a uma extensão de cerca de 900 metros. O bicho-da-seda passa por uma transformação interna dentro do casulo, se tornando uma pupa (NGUYEN, *et al.* 2019).

Figura 8. Bicho-da-seda tecendo um casulo.



Fonte: Imagens Google.

Durante séculos, a produção de seda era um segredo bem guardado pelos chineses. O comércio da seda se expandiu ao longo da Rota da Seda, uma antiga rede de rotas comerciais que conectava o Oriente Médio, a Ásia Central e o Extremo Oriente. A demanda por seda era tão alta que os chineses conseguiram manter seu monopólio por muito tempo, protegendo seu segredo da criação do bicho-da-seda (NGUYEN, *et al.* 2019). Hoje, a produção de seda se espalhou por todo o mundo, mas a China ainda é um dos maiores produtores

destacando-se em primeiro lugar com uma produção de 142 mil toneladas de seda, já o Brasil está no posicionado ranking mundial em quinto lugar com produção de 600 toneladas de sedas, no Brasil, o Paraná destaca-se como o estado na produção de casulos verdes de seda, como uma produção de 2.505 toneladas produzidas na safra 2017/2018 (Secretária de Agricultura e Abastecimento (SEAB), e Departamento de Economia Rural (DERAL), 2021).

A história da seda e do bicho-da-seda é uma fascinante jornada que remonta a milênios e continua a encantar as pessoas com sua beleza atemporal. Entretanto, ninguém sabe ao certo a descoberta ou invenção da seda, contudo, existem várias lendas em torno do inseto que produz a seda. A invenção da seda é atribuída à imperatriz chinesa, Sra. Xiling (Sra. Xi Ling Shi), esposa do imperador Huang Ti, em 2.640 a.C., quando um casulo acidentalmente caiu em sua xícara de chá quente, enquanto descansava sob uma amoreira (*morus alba*). Ela observou que o fio de seda se desenovelou em sua xícara. A imperatriz é venerada na cultura Chinesa como a deusa da seda, por ter desenvolvido o primeiro tear utilizado para a fabricação de tecidos usando esse fio (PAPAVERO; PUJOL LUZ, 2011).

Além das aplicações na indústria têxtil o bicho-da-seda também é utilizado como um organismo modelo em estudos científicos; da mesma forma que seu casulo, onde suas proteínas constituintes, a FB e sericina são alvos de pesquisas na área de biomateriais, biopolímeros, cosméticos, indústria de alimentos e inúmeras outras aplicações na medicina e saúde.

3.4.2 Fibroína extraída do bicho-da-seda

A fibroína da seda (FB) é uma proteína produzida na natureza por diversas espécies de insetos e aranhas. Neste trabalho estudamos a FB provinda de casulos do bicho-da-seda da espécie domesticada *Bombyx mori* (figura 9). Essa proteína é composta por glicina, alanina, serina, tirosina e outros resíduos de aminoácidos. Glicina e alanina correspondem a 75% em mol da proteína, constituindo assim a maior parte de sua composição (NELSON *et al.*, 2011; MORI *et al.*, 2000).

Figura 9. Casulos e bicho-da-seda da espécie *Bombyx mori*.



Casulo do bicho-da-seda

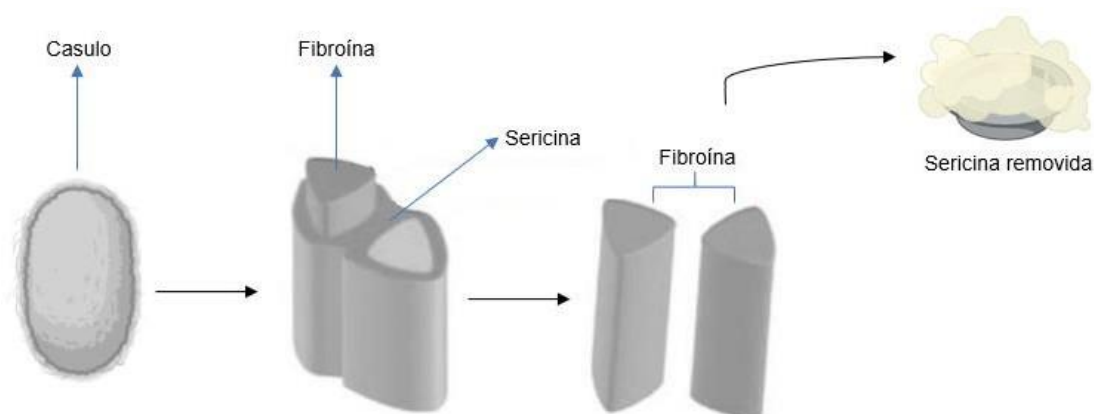
Bicho-da-seda espécie *Bombyx mori*.

Fonte: Imagens Google.

A FB, o principal componente da seda, atua como o núcleo interno e fornece resistência mecânica, enquanto a sericina é o revestimento externo semelhante a cola (KOH, *et al.* 2015; NGUYEN, *et al.* 2019). Essas proteínas permanecem armazenadas nas glândulas do bicho da seda como uma solução aquosa, que ao entrar em contato com o ar se solidificam (KOH, *et al.* 2015; NGUYEN, *et al.* 2019).

A FB apresenta dois componentes, com cadeias leves (25 kDa) e pesadas (325kDa), recobertas por sericina (figura 10) que é removida pelo tratamento dos casulos em solução de carbonato de sódio $0,02 \text{ mol. L}^{-1}$ sob aquecimento (NOGUEIRA, 2009).

Figura 10. Filamentos de fibroína revestidos com sericina.

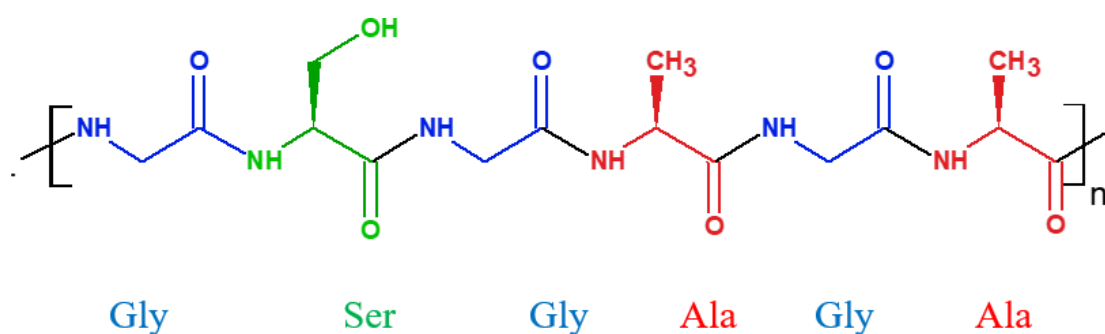


Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

Uma molécula de FB consiste em duas cadeias conectadas por uma ligação dissulfídrica. A cadeia com maior massa molecular ($\sim 350 \text{ kDa}$) é

composta por domínios repetitivos de Gly-Ala-Gly-Ala-Gly- Ser (figura 11). Ao lado do grande número de resíduos hidrofóbicos, esta cadeia apresenta resíduos de hidroxila (serina e tirosina) que promovem sua afinidade com a água. Esta cadeia ainda fornece uma característica polieletrólítica à FB devido à presença de resíduos de aminoácidos carregados, os ácidos glutâmico e aspártico, distribuídos no final das cadeias. A cadeia mais leve (~25 kDa) não apresenta regiões repetitivas, mas contém grande quantidade de ácido aspártico e ácido glutâmico (HOSSAIN *et al.*, 2003; NOGUEIRA, 2009; NGUYEN *et al.* 2019).

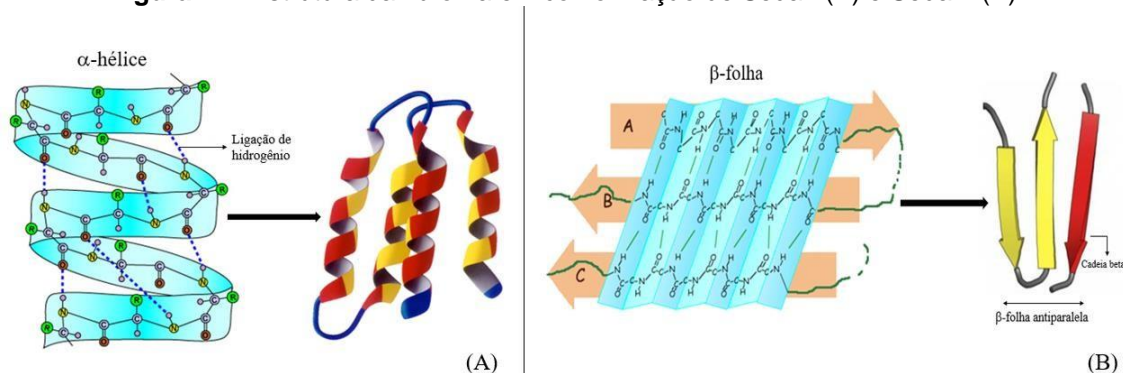
Figura 11. Estrutura da fibroína composta por domínios repetitivos de aminoácidos.



Fonte: Extraído de Kaplan *et al.*, 1998.

As conformações do tipo α -hélice e enovelamento aleatório também são chamadas de Seda I (figura 12A), sendo a conformação existente nas glândulas do bicho-da-seda antes da fiação (HU *et al.*, 2011). A Seda I apresenta solubilidade em água, metaestabilidade se convertendo facilmente em Seda II (MORAES, 2010; HU *et al.*, 2011). Enquanto, a conformação do tipo folha- β é denominada de Seda II (figura 12B), por ser composta por grande quantidade de Glicina e Alanina, a conformação β de sua estrutura é favorecida, já que é permitido um alto empacotamento entre suas folhas. A estrutura global dessa proteína é estabilizada por extensivas ligações de hidrogênio entre todas as ligações peptídicas dos polipeptídeos de cada cadeia β , assim como pela otimização das interações de Van der Waals entre as cadeias (NELSON *et al.*, 2011).

Figura 12. Estrutura da fibroína em conformação de Seda I (A) e Seda II (B).



Fonte: Extraído de Kaplan *et al.*, 1998.

A região cristalina contém várias repetições da sequência básica: [Gly-Ala-Gly-X]_n, em que X corresponde aos resíduos de aminoácidos tirosina e serina. A região amorfa contém a maioria dos resíduos de aminoácidos com uma cadeia lateral volumosa e polar. As propriedades de tensão das fibras da seda dependem principalmente da estrutura cristalina, enquanto outras propriedades como retenção de umidade e resistência química, dependem do estado da região amorfa (MORI *et al.*, 2000).

A FB, especialmente, é uma proteína fibrosa, biodegradável e apresenta um arranjo cristalino na conformação secundária de folhas- β nas fibras do casulo (MORAES; BEPPU, 2013). A Folha- β é um padrão estrutural encontrado em várias proteínas, nas quais regiões vizinhas da cadeia polipeptídica associam-se por meio de ligações de hidrogênio resultando em uma estrutura achatada e rígida. As pontes de hidrogênio são perpendiculares ao eixo das cadeias, e os grupos R dos aminoácidos projetam-se para cima e para baixo do plano da folha pregueada. Quando o número de cadeias associadas é grande, resulta uma estrutura flexível, mas não elástica. Uma das diferenças da FB, em relação a outras proteínas fibrosas é a ausência de enxofre em sua composição.

3.4.3 Fibroína da seda como biomaterial

A FB vem sendo largamente estudada no campo de biomateriais, pois apresenta compatibilidade com diversos tipos de células, boa resistência mecânica e microbiológica e pode gerar uma gama de materiais como por exemplo, hidrogéis, fibras, esponjas e filmes (Nogueira *et al.*, 2009; OMENETTO, 2010). A FB foi aprovada como biomaterial pela Food and Drug Administration

(FDA) dos EUA (OMENETTO; KAPLAN, 2010; KUNDU, et al., 2013; ZHAO; LI; XIE, 2015).

As propriedades destes sistemas (mecânicas, perfil de degradação e transparência óptica) podem ser modificadas a partir do método de processamento. A SF pura ou associada a outros materiais ainda atua na regeneração de tecidos vascular, nervoso, epitelial, ósseo, cartilaginoso, de tendões e ligamentos, cardíaco, oftálmico, hepático, medula espinhal, traqueia e tímpano (BARUD, 2014). Além da interface biológica, materiais derivados da SF também podem ser utilizados em aplicações de cunho tecnológico. Esses materiais possuem potencial para a utilização como sensores, filtros espectrais ou dispositivos emissores de luz (TAO; KAPLAN; OMENETTO, 2012).

Dentre as aplicações essa proteína também está sendo estudada para aplicação em biomateriais na área de oftalmologia. Várias complicações oculares, tais como infecções causadas por vírus e bactérias, queimaduras por produtos químicos e alta temperatura, uso inadequado de lentes de contato, entre outras, podem gerar destruição do tecido epitelial da córnea do olho humano. Membranas produzidas a partir da solução de FB da seda podem ser empregadas em reconstrução de tecido ocular, devido sua propriedade de crescimento de células da córnea do olho (CHIRILA *et al.*, 2008). A FB, na forma de filmes ultrafinos e transparentes, apresentou um bom potencial como biomaterial na reconstrução do tecido ocular (HARKIN *et al.*, 2011). Estes filmes foram introduzidos internamente na superfície ocular estudou-se a capacidade de regeneração dos tecidos: limbo córneo, estroma da córnea, endotélio corneano e barreira hemato-retiniana externa (Ruysch do complexo). Isso demonstra as boas propriedades ópticas da FB e sua biocompatibilidade com o tecido ocular, possibilitando a confecção de lentes de contato ou revestimento das membranas de celulose para aumentar a transparência das mesmas (NOGUEIRA *et al.*, 2010).

Nos últimos anos, os pesquisadores têm explorado o potencial da FB para aplicações biomédicas. A biocompatibilidade, biodegradabilidade e natureza não tóxica da FB a tornam uma candidata ideal para sistemas de administração de drogas, cicatrização de feridas e regeneração de tecidos. Vários estudos demonstraram que FB é interessante na preparação de stents vasculares a partir

de fios de seda degumada, que é a FB ainda não dissolvida, e revestidos com o filme de FB para proporcionar a rigidez necessária. Os stents foram implantados em cobaias e os resultados mostraram que a FB é lentamente degradada pelo organismo e é substituída pelo colágeno e por células de músculo liso e endoteliais (ENOMOTO *et al.*, 2010).

Dentro da área de crescimento de células, e devido à sua biocompatibilidade, a FB pode ser preparada na forma de materiais porosos, os quais podem ser empregados como “scaffolds” para crescimento celular. Esses moldes apresentam certa porosidade facilitando assim, a migração de células e a expansão (NAZAROV *et al.*; 2004). Esse tipo de scaffold é interessante para a engenharia de crescimento de tecido ósseo, já que devido à sua porosidade e biocompatibilidade pode gerar menos rejeição pelo corpo (NAZAROV *et al.*; 2004).

Na forma de hidrogéis ou filmes, a FB foi capaz de induzir o crescimento de uma cultura de células humanas da pele em até 80% em relação ao controle (TSUBOUCHI *et al.*, 2003; YAMADA *et al.*, 2004). Os autores também identificaram a sequência de peptídeos contidos na FB e que são responsáveis por essa propriedade indutora dos fibroblastos (MANDAL *et al.*, 2011).

A FB também pode ser aplicada em moldes para ligamentos como o menisco (MANDAL *et al.*, 2011), moldes para enxertos de vasos sanguíneos (ENOMOTO *et al.*, 2010). Outras propriedades importantes, como alta resistência mecânica e microbiana, possibilitam sua utilização como substratos para cultura celular, imobilização enzimática, lentes de contato com alta permeabilidade ao oxigênio, agentes de liberação de drogas e proteção de feridas (LIANG, HSIAO; CHU, 2007).

Além da utilização nas áreas biomédicas, a FB da seda é um biopolímero promissor para a preparação de dispositivos e filmes transparentes para aplicações em fotônica e biomedicina devido às suas propriedades ópticas e mecânicas, obtenção em meio aquoso, química relativamente fácil e funcionalização biológica (AMSDEN *et al.*, 2010; ALTMAN *et al.*, 2003). Filmes de FB podem encontrar várias aplicações também em óptica integrada e biofotônica. Eles são robustos mecanicamente, apresentam rugosidades baixas (<5nm) e são transparentes (>95%) na região do visível do espectro, além das

possibilidades de processamento, como será mostrado a seguir. Elementos ópticos 2D e 3D como padrões difrativos, hologramas, lentes e redes de difração baseados em FB são apresentados em (LAWRENCE *et al.*, 2008; PERRY *et al.*, 2008). Guias de luz foram propostos por PERRY *et al.*, utilizando técnicas de impressão por jato de tinta os autores construíram guias lineares, de dimensões da seção transversal de aproximadamente de 5 μm x 5 μm , na superfície de substratos de vidro e caracterizaram as propriedades de guia de luz destes canais (PERRY *et al.*, 2008). Também foram construídas estruturas similares contendo o corante rodamina 6G e as propriedades de emissão de luz ao longo do guia foram observadas (PARKER *et al.*, 2009).

Os filmes de FB podem ainda ser utilizados como substratos em processos de litografia. A perspectiva de se poder preparar materiais à base de proteínas para a gravação de padrões nas escalas micro e nanométrica abre um campo enorme de aplicações interessantes (AMSDEN *et al.*, 2010).

Na indústria de cosméticos, a SF tem sido utilizada devido às suas propriedades hidratantes, pois esta pode fixar-se sobre a queratina da pele, de forma a proporcionar proteção, suavizando, reparando e combatendo rugas. Além da hidratação, essa proteína natural possui efeito antibacteriano, protege a pele contra radiação ultravioleta e eletricidade estática (NOGUEIRA, 2009).

Por fim, o revestimento externo de sericina da seda pode levar a reações de hipersensibilidade tardias (JIAO *et al.*, 2017; NGUYEN *et al.*, 2019). No entanto, a remoção da sericina por meio de um processo de degumagem ainda é uma etapa essencial para o processamento de FB. A FB degumada induziu menor resposta imunogênica do que outros biomateriais comuns, como o poli (ácido lático-co-glicólico) sintético (PLGA) e até mesmo o colágeno, o que indicou sua biocompatibilidade aceitável (NGUYEN *et al.*, 2019).

3.5 Anti-inflamatório

Em todo o mundo, os medicamentos mais comumente utilizados são os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Eles são frequentemente prescritos para doenças musculoesqueléticas reumáticas e, muitas vezes, tomados sem

prescrição médica para queixas menos graves (RANG *et al.*, 2019; AOYAMA; DELMÃO, 2021).

Existem duas classes de anti-inflamatórios: os esteroides e os não esteroides. Os esteroides imitam a ação do cortisol, um hormônio produzido pela glândula adrenal que diminui os sinais protetores da resposta inflamatória. No entanto, suas ações acometem inúmeros efeitos adversos graves, e é justamente o que levou a indústria farmacêutica a buscar medicamentos mais seletivos, conhecidos como anti-inflamatórios não esteroides, os AINEs (PEDROSO; BATISTA, 2017; AOYAMA; DELMÃO, 2021). As principais características de um medicamento para ser considerado um anti-inflamatório não esteroide são possuir efeito analgésico, antipirético e anti-inflamatório (LIMA *et al.*, 2016; AOYAMA; DELMÃO, 2021).

Outros fármacos que se destacam pela sua potência, toxicidade e duração são os derivados do ácido propiônico, sendo o ibuprofeno o composto mais utilizado para tratar dor leve a moderada. Os derivados do indol e indeno são potentes inibidores das ciclooxigenases (COX) e possuem uma ação anti-inflamatória relevante, estando envolvidos em diversos processos bioquímicos da resposta inflamatória (AOYAMA; DELMÃO, 2021).

A resposta do organismo a uma lesão ou agente agressor é caracterizada pelo processo inflamatório. A fosfolipase A2 presente na membrana celular produz ácido araquidônico, que, por sua vez, é convertido em prostaglandinas (PG) pelas enzimas COX1, COX2 e COX3. As PGs são responsáveis pelos cinco sinais característicos da inflamação: dor, edema, calor, rubor e perda de função. Os AINEs inibem as enzimas COX, bloqueando a ação das PGs no organismo (RANG *et al.*, 2019).

O efeito adverso é definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como "uma reação a um medicamento que é prejudicial e não intencional e ocorre nas doses normalmente utilizadas em seres humanos para profilaxia, diagnóstico ou tratamento de doenças, ou para modificação de funções fisiológicas". Os efeitos adversos associados aos AINEs incluem insuficiência renal, problemas cardiovasculares, hematológicos, gastrointestinais e hipertensão arterial (TEIXEIRA, 2013; AOYAMA; DELMÃO, 2021).

3.5.1 Anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs)

Os AINES, possuem uma história que remonta às antigas civilizações. Há relatos em textos sobre o uso da casca do salgueiro como um meio de aliviar dores e reduzir a febre. O médico grego Hipócrates, considerado o pai da medicina científica, mencionou o chá feito a partir do pó da casca do salgueiro como um recurso para o alívio da dor e redução da febre. Somente em 1763, no Reino Unido, que as propriedades antipiréticas da casca do salgueiro, cujo nome científico é *Salix alba*, foram redescobertas e descritas de forma científica. O farmacêutico francês Henri Leroux e o químico italiano Raffaele Piria, em 1828, conseguiram isolar de maneira cristalina o princípio ativo da casca do salgueiro, ao qual deram o nome de salicina ou ácido salicílico. Posteriormente, em 1859, o químico alemão Herman Kolbe descobriu a estrutura química desse ácido e encontrou a forma de sintetizá-lo artificialmente em laboratório. Em 1874, a Companhia Heyden começou a produzir o ácido salicílico como um agente para aliviar a dor. Embora o medicamento fosse eficaz, apresentava efeitos adversos, como irritação estomacal, o que muitas pessoas não conseguiam tolerar (RAINSFORD, 2009; MARKIEWICZ; PASENKIEWICZ-GIERULA, 2011; SCHRÖR, 2012).

No entanto, em 1899, o desenvolvimento da aspirina despertou o interesse dos farmacologistas em medicamentos AINES (MARKIEWICZ; PASENKIEWICZ-GIERULA, 2011). O século XX marca o início da procura por novos fármacos, tencionando a encontrar uma molécula mais eficaz e com menos efeitos adversos, principalmente para os efeitos gastrointestinais, entre os fármacos pesquisados estão: a família Oxicam, que é uma classe de AINES que se ligam fortemente a proteína do plasma (SEABRA, 2015).

No ano de 1971, Sir John Vane e sua equipe de pesquisadores realizaram estudos sobre a atividade anti-inflamatória da aspirina e conseguiram demonstrar que seu mecanismo de ação estava associado à inibição da produção de PGs. Essa descoberta levou à suposição de que a aspirina competia com o sítio ativo da enzima COX. No entanto, somente em 1990, foi possível comprovar que a COX é composta por duas isoformas distintas, cada uma com características químicas e fisiológicas bem definidas. Essas isoformas

foram denominadas de COX-1 (constitucional ou fisiológica) e COX-2 (induzida ou inflamatória) (SEABRA, 2015; FREITAS *et al.*, 2019).

3.5.2 Farmacologia

A ação farmacológica dos AINEs baseia-se na inibição das isoformas da enzima COX, em especial a COX-1, COX-2 e COX-3 (FREITAS *et al.*, 2019). A enzima COX1 está presente em praticamente todos os tecidos, desempenhando importantes funções fisiológicas, o que a torna conhecida como enzima constitutiva (BREGANÓ *et al.*, 2014). A enzima COX-2 é induzida durante processos inflamatórios por citocinas e fatores de crescimento, desempenhando um papel significativo no desenvolvimento dos sinais clínicos característicos (FREITAS *et al.*, 2019). Quanto à COX3, embora compartilhe algumas características com a COX1, ainda há muito a ser descoberto sobre sua atuação. Notavelmente, o córtex cerebral e a medula espinhal são os locais onde a COX3 é mais abundante (BREGANÓ *et al.*, 2014). Dessa forma, o efeito terapêutico dos AINEs está principalmente relacionado à inibição da produção de PG inflamatórias, como a PGE2. Por outro lado, a inibição da produção de tromboxanos e PG envolvidas em funções fisiológicas relevantes (como a PGI2) contribui para a ocorrência de efeitos adversos. Esses efeitos adversos estão associados à ação dos AINEs em outras isoformas da COX, além da COX-2, e podem afetar a homeostase de processos fisiológicos (FREITAS *et al.*, 2019).

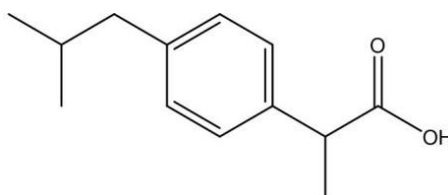
Embora os AINEs sejam amplamente utilizados e considerados seguros quando administrados corretamente, é importante destacar que eles também podem apresentar efeitos adversos significativos. Alguns dos efeitos adversos mais comuns incluem irritação gastrointestinal, úlceras pépticas, aumento do risco de sangramento e disfunção renal. Portanto, é importante seguir as recomendações médicas quanto à dose e duração do tratamento (DERRY *et al.*, 2015; LANAS *et al.*, 2015).

3.5.3 Ibuprofeno

O ibuprofeno (figura 13), descoberto em 1961 pelo pesquisador britânico Stewart Adams, no Reino Unido, surgiu a partir do objetivo de desenvolver uma nova classe de medicamentos anti-inflamatórios que fossem mais seguros e

eficazes do que os disponíveis na época. Durante os testes de laboratório, Adams e sua equipe sintetizaram diversos compostos químicos e avaliaram suas propriedades farmacológicas. O ibuprofeno destacou-se por sua atividade anti-inflamatória e analgésica, demonstrando ser potente na redução da inflamação e alívio da dor, com menor toxicidade gastrointestinal em comparação com outros medicamentos da época, como o ácido acetilsalicílico. Com base nessa descoberta, o ibuprofeno foi submetido a testes clínicos e posteriormente lançado no mercado como um medicamento anti-inflamatório e analgésico amplamente utilizado. Desde então, o ibuprofeno tornou-se um dos AINEs mais populares e prescritos em todo o mundo (RAINSFORD, 2009; BRUNE, PATRIGNANI, 2015).

Figura 13. Estrutura do ibuprofeno.



Fonte: Imagens Google.

O ibuprofeno é um fármaco derivado do ácido fenilpropionico e é uma das opções de AINES. Atua como um inibidor não seletivo das enzimas COX-1 e COX-2. Embora suas propriedades anti-inflamatórias possam ser menos potentes em comparação a outros AINEs (BUSHRA; ASLAM, 2010). Moriarty e Carroll (2016) ressaltam que, embora o ibuprofeno possua um efeito anti-inflamatório mais fraco em comparação a outros AINEs, suas propriedades analgésicas e antipiréticas o tornam um dos medicamentos mais utilizados e prescritos pelos médicos (MORIARTY; CARROLL, 2016).

Possui ação anti-inflamatória, analgésica e antipirética e tem a capacidade de combater a inflamação, a dor e a febre, sendo muito utilizados no tratamento sintomático de artrite reumatoide, osteoartrite, tendinite e bursite aguda principalmente em pacientes com intolerância gastrointestinal a outros AINES (GELLER *et al.*, 2012; SEABRA, 2015; FREITAS *et al.*, 2019). Seus efeitos são atribuídos à sua capacidade de inibir as COX, enzimas envolvidas na

síntese das PGs. As PGs desempenham um papel importante na geração de dor, inflamação e febre (BUSHRA; ASLAM, 2010).

Essas propriedades são resultado da inibição reversível e não seletiva das enzimas COX-1 e COX-2, o que reduz a síntese de prostaglandinas. Essas substâncias desempenham um papel crucial na origem da inflamação, dor e febre, e quando sua síntese é impedida, ocorrem os efeitos terapêuticos do ibuprofeno. No entanto, a inibição excessiva da COX-1 pode levar a anomalias hematológicas, como a alteração do tempo de protrombina, afetando a agregação plaquetária (LIMA *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*, 2022).

3.5.3.1 Farmacologia clínica do Ibuprofeno

O ibuprofeno é um composto cristalino incolor, com odor leve e característico. É pouco solúvel em água com pKa de 5,3, porém solúvel em soluções aquosas alcalinas, assim como em solventes orgânicos como metanol e acetona (SEABRA, 2015; VARRASSI *et al.*, 2020).

O ibuprofeno é disponibilizado na forma de comprimidos com potências variando de 200 a 800 mg. A dose comumente recomendada é de 400 a 800 mg, três vezes ao dia. Quando administrado por via oral, é prontamente absorvido, alcançando concentrações máximas no sangue entre 1 e 2 horas após a administração. O ibuprofeno passa por uma rápida biotransformação, apresentando uma meia-vida sérica de 1,8 a 2 horas. O fármaco é completamente eliminado em 24 horas após a última dose, principalmente por meio do metabolismo (BUSHRA; ASLAM, 2010). É rapidamente e extensamente absorvido no trato gastrointestinal apresentando uma porcentagem de ligação às proteínas plasmáticas superior a 98% com um volume de distribuição até 0,2 L/kg. Acumula-se em quantidades apreciáveis nos tecidos inflamados onde haja necessidade de atividade anti-inflamatória e ou analgésica. A maior parte do ibuprofeno é metabolizada no fígado, principalmente através da enzima CYP2C9. Os metabólitos resultantes, incluindo glucuronídeos e outros conjugados, são excretados na urina. No entanto, apenas cerca de 1% do ibuprofeno é eliminado sem sofrer alterações, ou seja, na forma original (BUSHRA; ASLAM, 2010; SEABRA, 2015; SHIN *et al.*, 2017; VARRASSI *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*, 2022).

Prescrito para o tratamento da febre e alívio da dor aguda ou crônica associada a processos inflamatórios. Também é utilizado para o alívio sintomático da dor de cabeça, artrite reumatoide, osteoartrite, mialgias, dismenorreia primária e traumatismos como entorses, luxações e fraturas. A intensidade dos processos de absorção, distribuição, metabolização e excreção variam ao longo do tempo; o que resulta em variações na quantidade do fármaco presente no organismo. Isso ocorre devido a um tempo de semivida relativamente curto e que é diferente para os seus dois isômeros e uma cinética de absorção linear (SEABRA, 2015; VARRASSI *et al.*, 2020).

Estudos farmacocinéticos que avaliam a variação da concentração do fármaco e seus metabólitos ao longo do tempo e local permitem construir modelos adequados para interpretar a cinética do ibuprofeno, bem como sua eficácia e toxicidade. É preocupante o uso indiscriminado de ibuprofeno, pois estudos revelaram que o consumo regular desse fármaco está associado a um aumento de cerca de 38% no risco de desenvolvimento da doença de Parkinson em comparação com pessoas que não o utilizam. Por outro lado, estudos também mostram que o uso prolongado de ibuprofeno pode diminuir a probabilidade de desenvolver a doença de Alzheimer (SEABRA, 2015).

Segundo os pesquisadores BUSHRA; ASLAM (2010), o ibuprofeno é adequado para automedicação no que diz respeito ao seu espectro relativamente amplo de indicação, boa tolerância e segurança. No geral, foi classificado como o AINE convencional mais seguro pelo sistema de notificação espontânea de reações adversas a medicamentos no Reino Unido (BUSHRA; ASLAM, 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Ibuprofeno (SM Empreendedorismo Farmacêuticos LTDA); poli (álcool vinílico) (SIGMA-ALDRICH); hidróxido de sódio (Neon); ácido oleico (Grupo Braido); carbonato de sódio (SIGMA-ALDRICH); brometo de lítio (SIGMA-ALDRICH); foram utilizados na forma que foram adquiridos, sem tratamento posterior. Os casulos dos bichos-da-seda utilizados nos experimentos foram adquiridos da empresa Bratac S.A.

4.2 Extração da fibroína de seda

A solução de FB foi preparada segundo procedimento descrito por Rockwood, *et al.* 2011 (figura 14).

4.2.1 Degumação dos casulos de bicho-da-seda (*Bombyx mori*)

Preparou-se uma solução de Na_2CO_3 , com a seguinte proporção: 4L de água destilada e 8,48 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3). Aqueceu-se a solução até ebulição, por aproximadamente 15 minutos. Em seguida, adicionou-se 10,00 g de casulos do bicho-da-seda cortados manualmente com tesoura. Os casulos formam mergulhados nesta solução e deixou-se a solução em ebulição por 35 min, sob agitação constante.

Esta etapa envolve a remoção de sericina e outras proteínas presentes em torno dos fios de FB, por meio de aquecimento em solução de Na_2CO_3 , uma vez que são solúveis. Após fervura, o banho é desligado e as fibras de FB apresentam uma aparência semelhante ao algodão.

4.2.2 Lavagem das fibras de fibroína

A fim de se esfriar as fibras de FB, elas foram colocadas em um béquer com pequena quantidade de água destilada até o esfriamento. Já em temperatura ambiente, as fibras de FB foram imersas em um béquer com 2L de água destilada e deixadas em agitação mecânica por 20 minutos, sem

aquecimento. Repetiu-se esse processo por mais 2 vezes. Em seguida, deixou-se a água escorrer, e as fibras foram secas em estufa à 50°C por 24h.

4.2.3 Solubilização da fibroína

Para realizar a etapa de dissolução da fibroína, adicionou-se 1g de fibra de FB seca para cada 4,0 ml de de uma solução 9,3 M de LiBr Deixou-se em aquecimento até uma temperatura de 80°C, a qual as fibras foram solubilizadas por completo. Uma solução viscosa amarelada foi obtida e deixada em repouso.

4.2.4 Dialise

O processo de diálise, é fundamental para a remoção do sal (Na_2CO_3 ou LiBr) e outras impurezas contidas na solução de FB.

A solução amarelada e viscosa foi colocada em uma membrana de diálise de celulose que foi hidratada em água destilada (para cada 15 cm de membrana, aproximadamente, inseriu-se 12 mL de solução), e deixada sob agitação em um béquer com 4 L de água destilada. A água foi trocada depois de 1 hora do início, 4 horas, à noite do mesmo dia, na manhã e na noite do próximo dia, e na manhã do dia seguinte, completando 48 horas de diálise e 6 trocas de água.

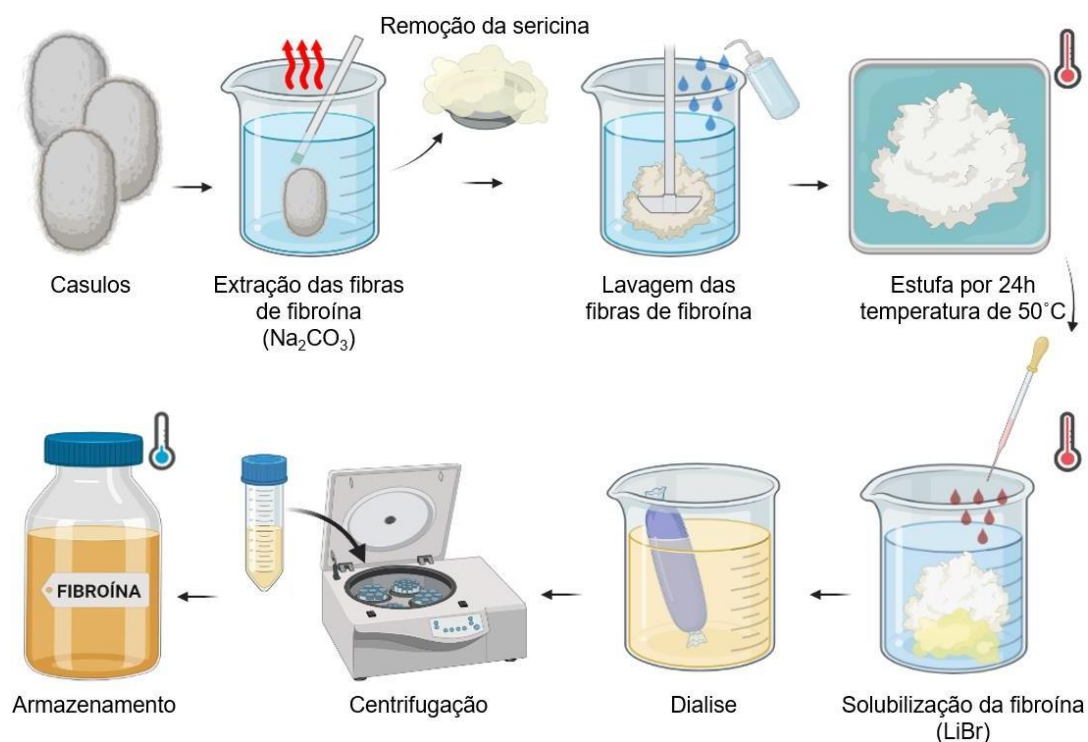
4.2.5 Centrifugação

A solução de FB obtida na etapa anterior foi colocada em tubos falcon de 60ml, os quais foram para uma centrífuga Ohaus (Frontier™ Recursos Multi Pro Série 5000) a 13000 rpm a 4°C por 30 minutos. Após esse tempo formou-se um precipitado que é removido dos tubos. A solução é novamente centrifugada nas mesmas condições. A solução foi armazenada em geladeira.

4.2.6 Determinação da concentração de fibroína (m/v) e estocagem

Após a diálise, a solução de FB foi mantida sob refrigeração (5° C). Uma amostra dessa solução foi colocada em estufa a 37°C para a secagem da água e assim determinar a concentração (m/m) da proteína na solução obtida.

Figura 14. Etapas do processo de extração da fibroína.

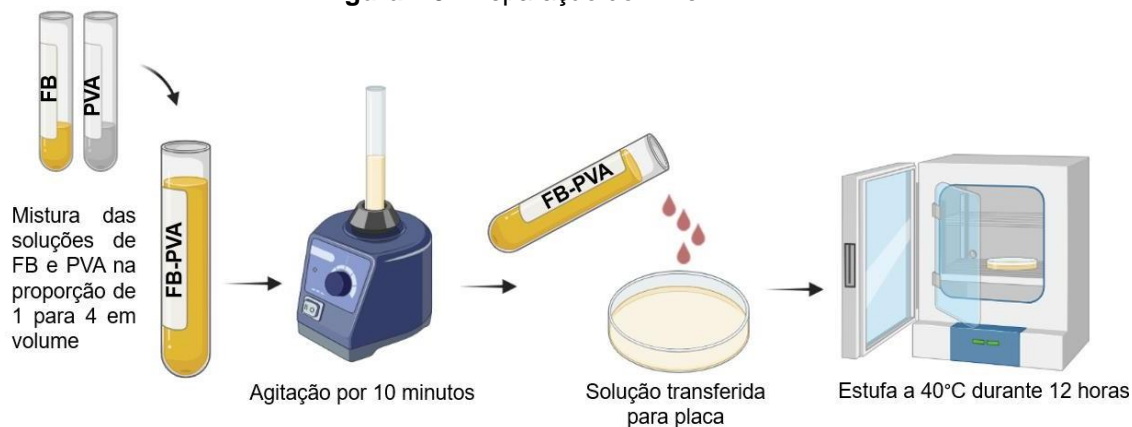


Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

4.3 Síntese das microesferas de fibroína e PVA

Etapa 1: Preparação do filme FB-PVA

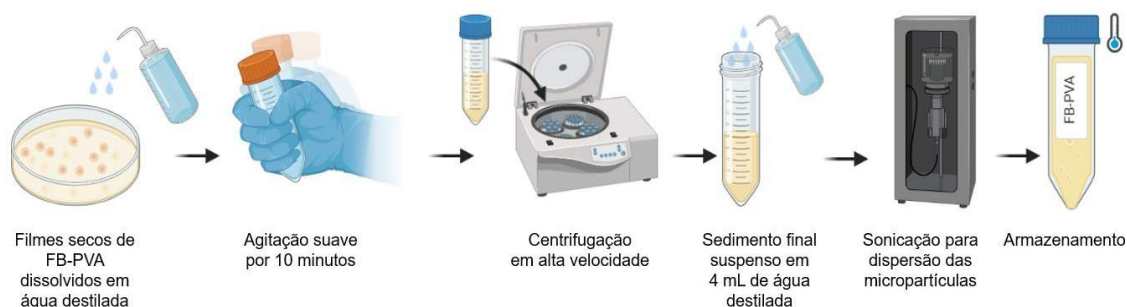
A primeira etapa da síntese das microesferas consiste na mistura das soluções de FB (5% m/V) e PVA (5% m/V) na proporção de 1 para 4 em volume, e colocadas em agitação por 10 minutos. Foi preparado um volume de 10 mL da mistura. Em seguida esta solução resultante foi transferida para placas de Petri de poliestireno abertas com diâmetros 90x15mm (Olen). As amostras na placa de Petri de poliestireno foram colocadas em estufa a 40°C para secar durante 12 horas. Os filmes secos foram armazenados em um recipiente selado à temperatura ambiente antes do uso. A figura 15 ilustra o processo de preparação do filme de FB-PVA.

Figura 15. Preparação do filme FB-PVA.

Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

Etapa 2: Preparação das microesferas FB-PVA

Os filmes secos preparados da mistura de FB-PVA foram dissolvidos em 60 ml de água destilada e transferidos para tubos de centrífuga e deixados em agitação suave no moinho de bolas (Kinematica (POLYMIX® PX-IG 2000) por 10 minutos na velocidade 4 em temperatura ambiente. Após isso, os tubos com a mistura de FB-PVA foram centrifugados em uma centrífuga Ohaus (Frontier™ Recursos Multi Pro Série 5000) em alta velocidade a 13.000 rpm a 4°C por 20 minutos. O sobrenadante foi cuidadosamente descartado, e o sedimento suspenso em 60 mL de água destilada e centrifugados novamente. O sedimento final foi suspenso em 4 mL de água destilada, e sonicado em um sonicador de Ponteira Ultrassônico com gabinete acústico e 550 watts Eco-Sonics com a amplitude de 10% por 15 segundos para dispersão das microesferas (que ficaram armazenadas em geladeira). A figura 16 ilustra o processo de preparação das microesferas de FB-PVA. A suspensão de microesferas de FB foi caracterizada conforme descrito nos parágrafos seguintes.

Figura 16. Processo de preparação das microesferas FB-PVA.

Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração BioRender.

4.4 Carregamento de fármacos em microesferas de fibroína

O fármaco anti-inflamatório ibuprofeno foi usado para estudar o carregamento de fármacos nas microesferas de FB-PVA. Foram preparadas microesferas contendo diferentes massas de ibuprofeno incorporadas: 20mg (FB-PVA-IBUP20), 80 mg (FB-PVA-IBUP80) e 1000 mg (FB-PVA-IBUP1000).

Etapa 1: Ensaio de compatibilidade do fármaco

Antes do preparo das microesferas de FB-PVA, foram realizados testes de compatibilidade para o fármaco de escolha, uma vez sendo pouco solúvel em água, o fármaco ibuprofeno foi testado com diversos agentes compatibilizantes e surfactantes para aumentar a solubilidade em água e facilitar a dispersão para formação dos filmes de FB e PVA.

Para realizar testes de compatibilidade, colocou-se 20 mg de ibuprofeno em 10 mL da solução FB-PVA e adicionou-se 1mL do agente compatibilizante para verificar se há formação de uma suspensão estável, seguindo as etapas descritas anteriormente. Os agentes compatibilizantes testados nesta etapa foram: óleo de semente de uva, óleo de mamona, ácido ricinoleico e ácido oleico, além de Tween 80, Triton® X-100 e SDS (do inglês sodium dodecyl sulfate).

Etapa 2: Preparação dos filmes FB-PVA-ibuprofeno

A preparação dos filmes de FB-PVA com a incorporação do fármaco ibuprofeno correspondendo a 1000, 80 e 20 mg foram realizados em tubos de ensaios, nestes foram adicionados 2 mL de ácido oleico para 1000 mg de ibuprofeno, enquanto para 80 e 20 mg foram adicionados 1 mL de ácido oleico. Os tubos são levados ao agitador vortex (Vortex Basic 2.800 Rpm, K45-2810 - Kasvi) para obter uma suspensão homogênea. Em seguida, essa dispersão do fármaco foi adicionada à mistura de FB-PVA que foi preparada na mesma proporção que aquela utilizada na preparação do filme puro FB-PVA (etapa 1 do item 4.3), ou seja, uma mistura das soluções de FB (5%*m/V*) e PVA(5%*m/V*) na proporção de 1 para 4 em volume. Foi preparado um volume de 10 mL da mistura e adicionada a suspensão ácido oleico/ibuprofeno.

Após a mistura, a solução FB-PVA-ibuprofeno foi agitada por 10 minutos em temperatura ambiente e, em seguida, transferida para placas de Petri de poliestireno abertas com diâmetros 90x15mm (Olen). As amostras na placa de Petri foram colocadas em estufa a 40°C para secar durante 12 horas. Os filmes secos foram armazenados em um recipiente selado à temperatura ambiente antes do uso. A figura 17 ilustra os filmes quando são transferidos em placa de poliestireno.



Etapa 3: Preparação das microesferas fibroína-PVA-ibuprofeno

Foram adicionados 60 mL de água destilada nos filmes secos obtidos na etapa 2 e as misturas foram transferidas para tubos de centrifuga, e em seguida, foi realizada uma agitação suave em moinho de bolas Kinematica (POLYMIX® PX-IG 2000) por 10 minutos na velocidade 4 em temperatura ambiente. Os tubos com as misturas de FB-PVA-ibuprofeno foram centrifugados em uma centrifuga Ohaus (Frontier™ Recursos Multi Pro Série 5000) em alta velocidade de 13.000 rpm a 4°C por 20 minutos. Os sobrenadantes foram cuidadosamente descartados, e os sedimentos suspensos em 60 mL de água destilada e centrifugados novamente na mesma condição.

Os sedimentos finais foram suspensos em 4 mL de água destilada, e levados em um sonicador de Ponteira Ultrassônico gabinete acústico 550 watts Eco-Sonics com a amplitude de 10% por 15 segundos para dispersão das microesferas. Gerando assim, as três amostras, FB-PVA-IBUP20, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP1000. O processo de preparação das microesferas de FB-PVA contendo o fármaco ibuprofeno repete o mesmo processo ilustrado na figura 16.

4.5 Caracterização das microesferas

4.5.1 Microscopia óptica

Para a realização da microscopia óptica dos filmes e as microesferas de FB-PVA, FB-PVA-IBUP20, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP1000 foram fixadas em lâmina e lamínula e observadas na objetiva de 10x, conduzidas em um microscópio óptico (Leica MDi8, Germany) no Laboratório de Biomaterias e Biotecnologia da Universidade de Araraquara (Uniar).

4.5.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos filmes e as microesferas de FB-PVA, FB-PVA-IBUP20, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP1000 foram analisadas em um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (marca FEI, modelo Helios NonoLab 600i.), instalado no Laboratório de Microscopia Avançada (LMA) dentro do Laboratório Interdisciplinar de Eletroquímica e Cerâmica (LIEC) do Instituto de Química da UNESP- Araraquara.

Para isto, as amostras das microesferas foram depositadas em portas-amostra de silício, de forma a expor as superfícies dos filmes e das micropartículas. Também foi realizado recobrimento com carbono para garantir a condutividade elétrica de sua superfície de observação.

4.5.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

As amostras dos filmes e as microesferas de FB-PVA, FB-PVA-IBUP20, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP1000, foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) no Laboratório de Celulose Bacteriana e Química Medicinal (CBQuim) da Universidade de Araraquara (UNIARA). Os espectros de infravermelho (IR) foram registrados em um espectrofotômetro FT-IR Cary 630 Agilent, equipado com aparelho de amostragem de refletância total atenuada (ATR). A resolução foi fixada em 4 cm^{-1} e a faixa de medição foi de 4000cm^{-1} até 400cm^{-1} .

4.5.4 Análise termogravimétrica (TGA)

As amostras dos filmes e as microesferas de FB-PVA, FB-PVA-IBUP20, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP1000, foram caracterizadas por análise termogravimétrica (TGA) no Laboratório de Biopolímeros e Biomaterias (BioPolMat) da Universidade de Araraquara (UNIARA) em um Thermoanalyzer TG / DTA SDT Q-600 TA Instruments simultâneo sob as seguintes condições: cadinho de α -alumina. (condições)

4.6 Ensaio de cinética de liberação

As curvas de liberação foram obtidas no espectrofotômetro UV-Vis (Perkin Elmer LAMBDA 365 UV/Vis Double-Beam Spectrophotometer 190-1100nm), no Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais (BioPolMat) da Universidade de Araraquara (UNIARA).

Esta técnica de caracterização foi usada no estudo da liberação *in vitro* do ibuprofeno, incorporado nas microesferas de FB-PVA, que envolveu duas etapas:

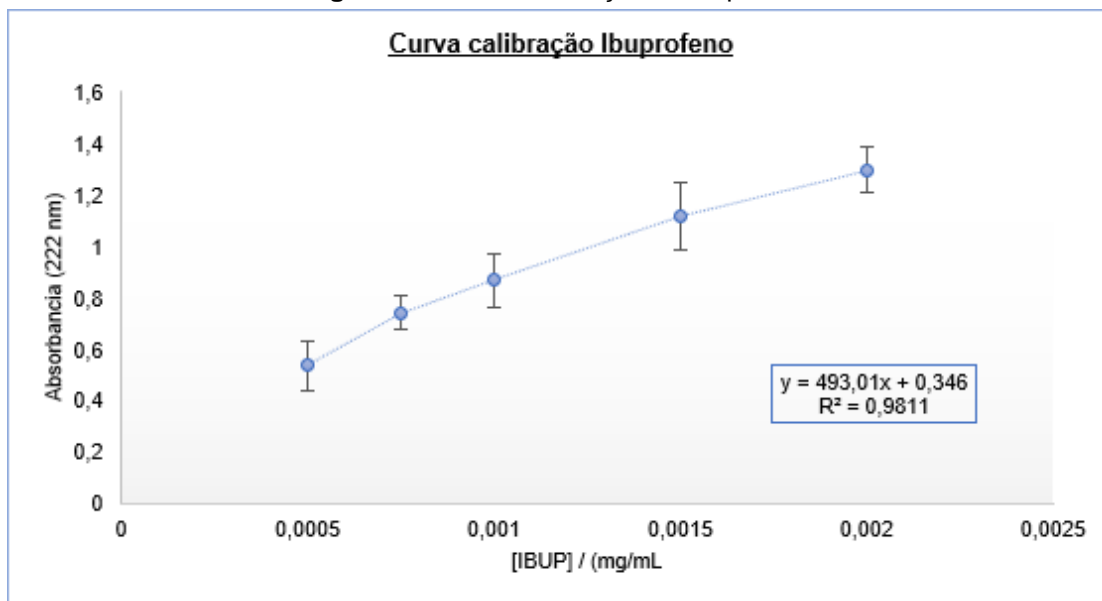
1ª) Preparo da curva padrão de calibração do ibuprofeno

Para a preparação da curva de calibração foi preparada uma solução de 50 mg ibuprofeno para 100 mL de tampão PBS (pH 7,4). Foram preparadas cinco soluções com concentrações, 0,0020 mg/mL; 0,0015 mg/mL; 0,0010 mg/mL; 0,00075 mg/mL; 0,00050 mg/mL, respectivamente. Estas soluções foram analisadas por espectrofotômetro UV-Visível (Perkin Elmer LAMBDA 365 UV/Vis Double-Beam Spectrophotometer 190-1100nm) a 222 nm.

Utilizando-se o programa Microsoft Excel 2016 os resultados obtidos foram relacionados em gráficos, e foram também determinados a equação da reta e o coeficiente de relação de Pearson (R^2). Os valores de absorvância são dados na tabela 1. Os valores de absorvância foram traçados em função das concentrações e desenvolveu-se um declive como indicado na figura 18.

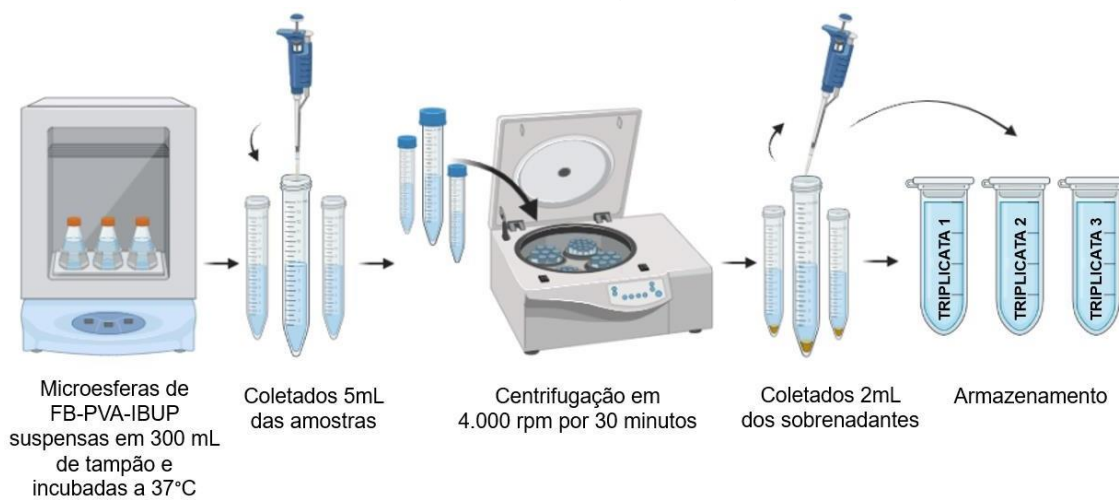
Tabela 1. Concentração x Absorbância de Ibuprofeno.

10mL	[IBUP] / mg/mL	Duplicata 1	Duplicata 2	Média	Desvio padrão
1	0,002	1,358	1,2339	1,29595	0,087751952
2	0,0015	1,2114	1,0246	1,118	0,132087547
3	0,001	0,9411	0,7967	0,8689	0,102106219
4	0,00075	0,7886	0,6968	0,7427	0,064912403
5	0,0005	0,6071	0,4716	0,53935	0,095812969

Figura 18. Curva calibração do Ibuprofeno.

2ª) determinação da quantidade de fármaco liberada pelas microesferas

As três amostras de microesferas, FB-PVA-IBUP20, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP1000 foram sintetizadas em triplicata, gerando nove amostras para este ensaio. As nove amostras das microesferas de FB-PVA-IBUP foram suspensas em 300 mL de tampão PBS, pH 7,4 e incubadas a 37°C no shaker (Solab – SL-222/E) com agitação de 12 rpm. Em pontos pré-determinados de tempo, foram coletados 5mL da amostra e centrifugados (centrifuga KASVI (K14-0815C) a 4.000 rpm por 30 min. Cuidadosamente, foram coletados 2mL dos sobrenadantes e transferidos para um microtubo de centrifugação e armazenadas em geladeira a -20°C. Os sobrenadantes foram submetidos as medições de absorbância a 222 nm em um espectrofotômetro UV-vis (Perkin Elmer LAMBDA 365 UV/Vis Double-Beam Spectrophotometer 190-1100nm). A figura 19 ilustra o processo de liberação. A quantidade de fármaco foi então calculada com base na curva padrão para o ibuprofeno obtida no item anterior.

Figura 19. Processo de preparação liberação controlada.

Fonte: Elaborado pela autora (2023). Ilustração no aplicativo BioRender.

5. RESULTADOS

5.1 Carregamento de fármacos em microesferas de fibroína

5.1.1 Ensaio de compatibilidade do fármaco

Pode-se concluir que dentre estes agentes compatibilizantes o que melhor formou uma dispersão contendo FB-PVA-Ibuprofeno foi o ácido ricinoleico e o ácido oleico, uma vez que os outros agentes não formaram uma dispersão estável (figura 20).

Figura 20. Agentes compatibilizantes testados.

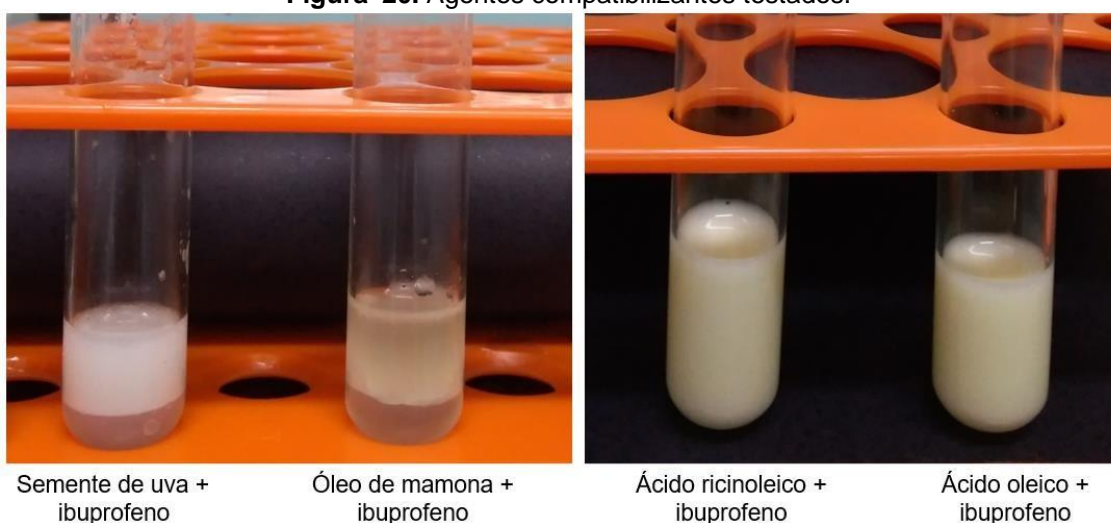
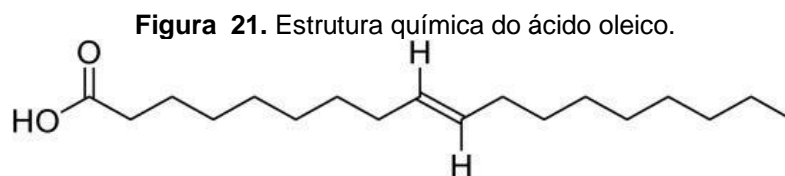


Foto: Arquivo pessoal.

O ácido oleico foi o escolhido como o agente compatibilizante para o estudo do carregamento de fármacos nas microesferas. Uma vez que, o ácido oleico é um composto orgânico insaturado pertencente à família dos ácidos graxos ômega-9. É chamado de ácido graxo ômega 9 devido à presença de uma única ligação dupla posicionada no carbono 9 (figura 21). Ele tem sido amplamente estudado e utilizado em diversas aplicações, incluindo na indústria de alimentos, cosméticos e farmacêutica. Em relação à área farmacêutica, o ácido oleico tem mostrado potencial como veículo de entrega de fármacos devido às suas propriedades emulsificantes e solubilizantes. Além disso, o ácido oleico pode melhorar a permeabilidade dos fármacos através das membranas celulares, aumentando assim sua eficácia terapêutica. O ácido oleico tem explorado novas formulações e estratégias de utilização do ácido oleico visando

otimizar a entrega de fármacos, resultando em avanços significativos nessa área (ATEF *et al.*, 2022; ZHANG; WANG; LIU, 2015).



Fonte: Extraído de ATEF *et al.*, 2022.

O ácido oleico também tem despertado interesse na área da nanotecnologia e sistemas de liberação controlada de fármacos. Explorado sua utilização na formulação de nanopartículas lipídicas, micelas e sistemas de nanoprecipitação, visando melhorar a solubilidade e estabilidade de fármacos lipofílicos. Além disso, o ácido oleico tem sido empregado na modificação de superfícies de nanopartículas, permitindo a incorporação seletiva de fármacos e o direcionamento específico para tecidos ou células-alvo. Essas abordagens têm demonstrado promissoras perspectivas para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos mais eficientes e direcionados, contribuindo para o avanço do conhecimento nessa área, fornecendo informações importantes sobre as propriedades e aplicações do ácido oleico em sistemas de liberação de fármacos (ATEF *et al.*, 2022; ZHANG; WANG; LIU, 2015).

5.2 Caracterização das microesferas

5.2.1 Microscopia óptica

Foram realizados a microscopia óptica das microesferas FB-PVA; FB-PVA-IBUP1000; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20 e, além disso, foram obtidas as microscopias dos filmes FB-PVA; FB-PVA-IBUP1000; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20 que são formados durante o processo de síntese das microesferas, obtidos no item 4.3 (etapa 2: Preparação dos filmes) de matérias e métodos.

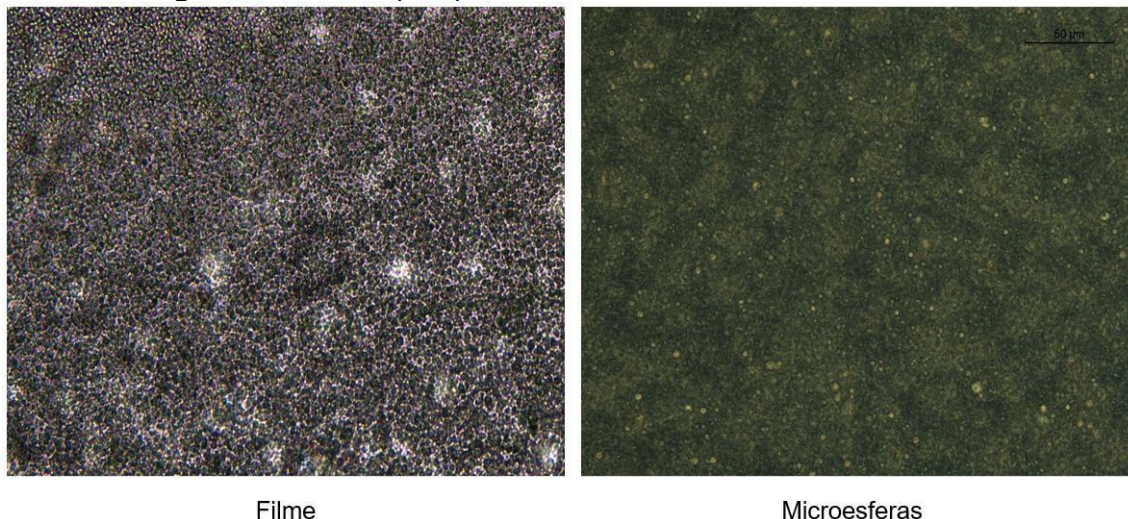
Abaixo descrevemos os resultados obtidos separadamente:

5.1.1.a Laboratório de Biomateriais e Biotecnologia

As imagens da microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA foram obtidas no aumento de 10x (figura 22), a imagem do filme FB-PVA mostra

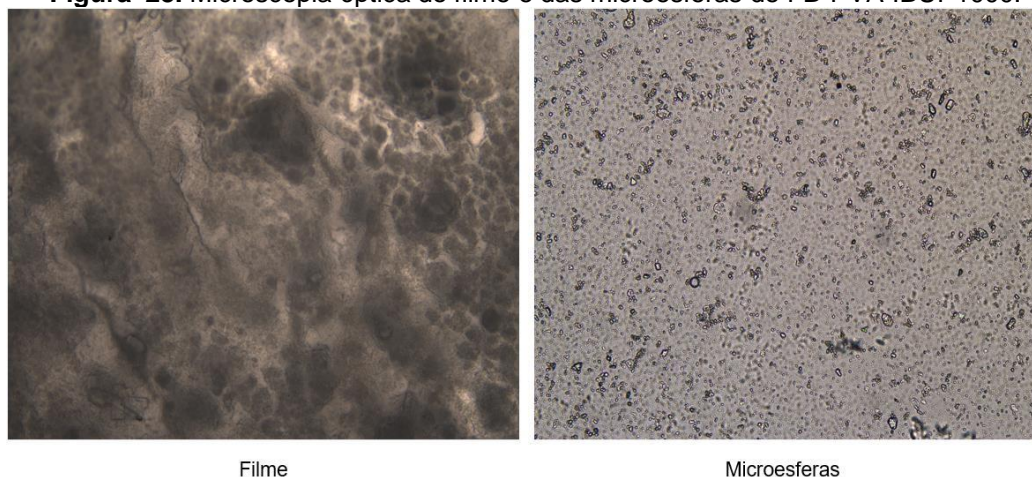
que no filme houve a formação muitas microesferas com formatos regulares com algumas esferas achatadas e pouca variação de tamanho. Já a imagem da microscopia óptica das microesferas de FB-PVA mostra, microesferas com formatos regulares e esféricas com pouca no tamanho.

Figura 22. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA.



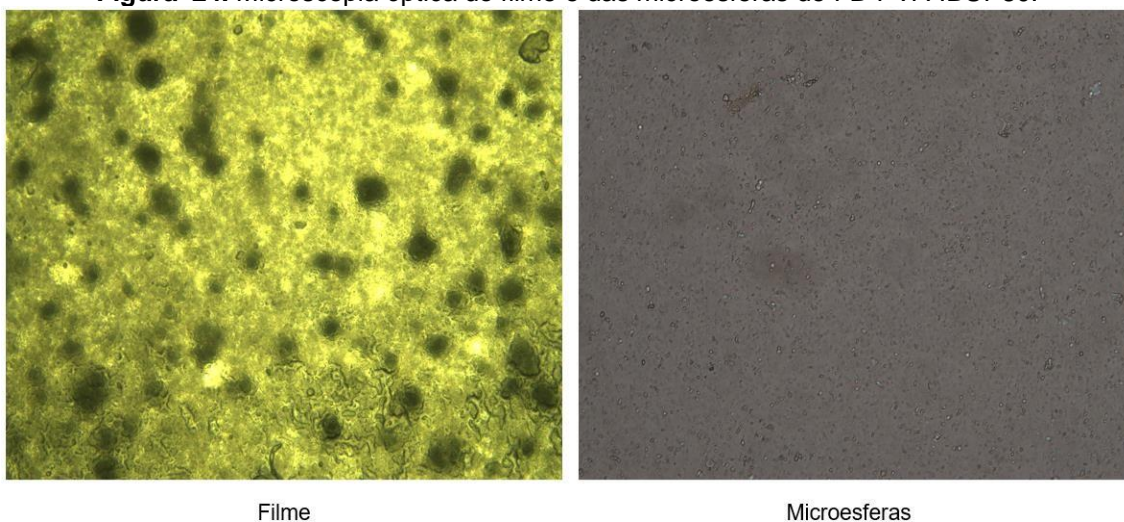
As imagens da microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP1000 foi obtida no aumento de 10x (figura 23), a imagem do filme FB-PVA-IBUP1000 mostra que houve a formação de um filme espesso e com microesferas com alguns aglomerados, formatos regulares com algumas esferas achatadas e pouca variação de tamanho. Já a imagem da microscopia óptica das microesferas de FB-PVA-IBUP1000 mostra, microesferas com formatos regulares e esféricas, com pouca no tamanho.

Figura 23. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP1000.



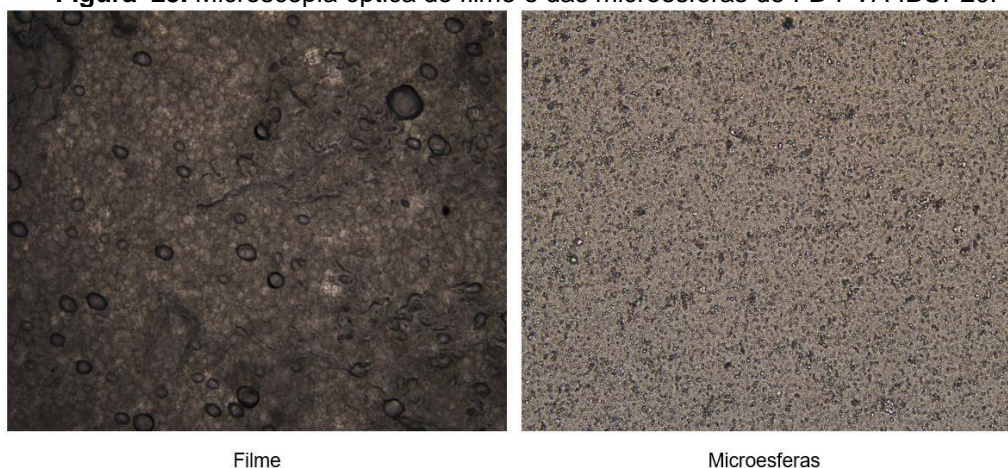
As imagens da microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP80 foi obtida no aumento de 10x (figura 24), a imagem do filme mostra que houve a formação de um filme espesso com microesferas e alguns aglomerados, formatos regulares e pouca variação de tamanho. Já a imagem da microscopia óptica das microesferas mostra, microesferas com formatos regulares, esferas achatadas e outras ovaladas, com pouca no tamanho.

Figura 24. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP80.



As imagens da microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP20 foi obtida no aumento de 10x (figura 25), a imagem do filme mostra que houve a formação de um filme com muitas microesferas, formatos regulares e pouca variação de tamanho. Já a imagem da microscopia óptica das microesferas mostra, microesferas com formatos regulares, esferas achatadas e outras ovaladas, com pouca no tamanho.

Figura 25. Microscopia óptica do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP20.

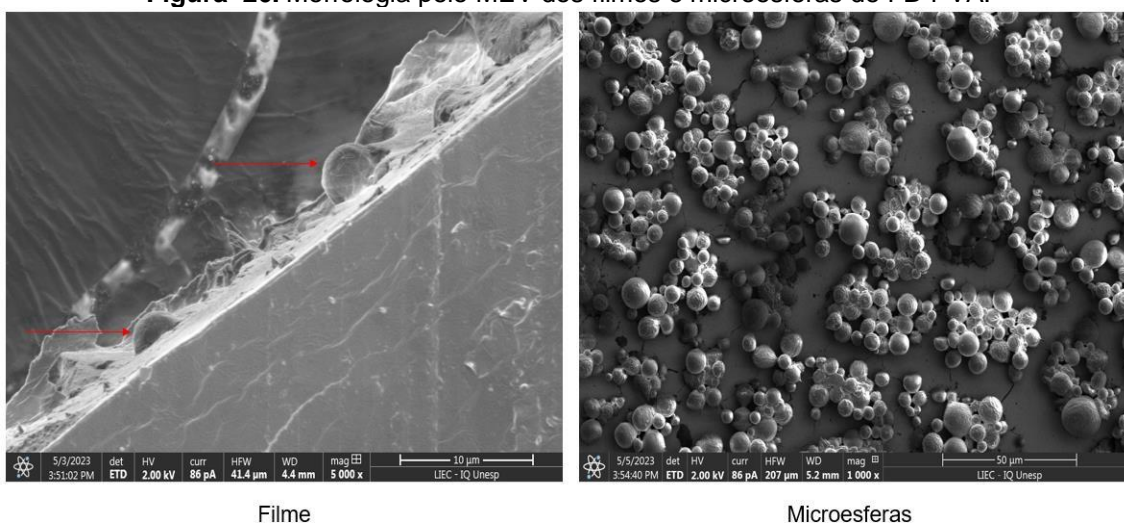


5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foram realizadas a microscopia eletrônica de varredura (MEV) das microesferas FB-PVA; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20 e, além disso, foram obtidas MEV dos filmes FB-PVA; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20 que são formados durante o processo de síntese das microesferas, obtidos no item 4.3 (etapa 2: Preparação dos filmes) de matérias e métodos.

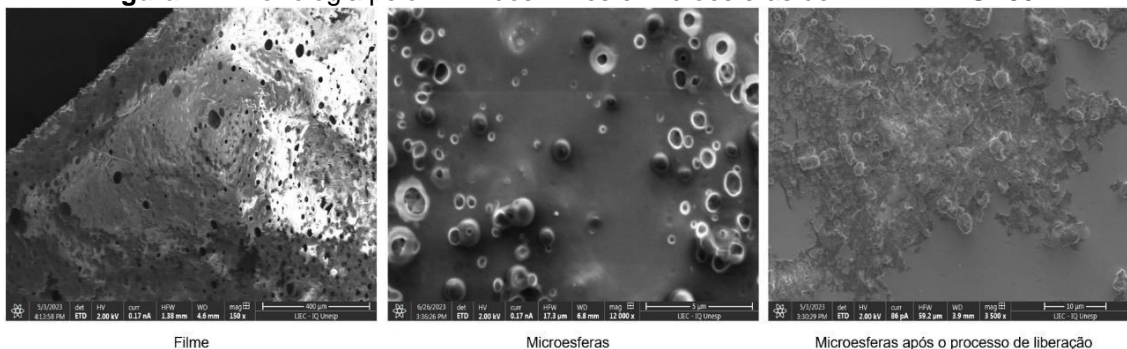
A morfologia pelo MEV do filme e das microesferas de FB-PVA (figura 26), mostram que as microesferas foram obtidas e estão incrustado no filme, apresentando formatos bem regulares como indicando nas setas, e a morfologia das amostras das microesferas de FB-PVA depositadas no silício após recobrimento com carbono mostraram que as microesferas foram obtidas e apresentam formatos bem regulares, algumas lisas e outras rugosas; e pouca variação no tamanho das microesferas.

Figura 26. Morfologia pelo MEV dos filmes e microesferas de FB-PVA.



A morfologia pelo MEV do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP80 (figura 27), observamos a morfologia do filme em que as microesferas foram obtidas e estão presentes no filme, apresentando formatos regulares. A morfologia das microesferas mostrou formatos regulares, esféricas e pouca variação no tamanho das microesferas. Já a morfologia das microesferas após o processo de liberação mostrou que estas formaram um aglomerado, é possível observar algum as micropartículas com formatos regulares.

Figura 27. Morfologia pelo MEV dos filmes e microesferas de FB-PVA-IBUP80.



A morfologia pelo MEV do filme e das microesferas de FB-PVA-IBUP20 (figura 28), observamos a morfologia do filme em que as microesferas foram obtidas e estão presentes no filme, apresentando formatos regulares e sem variações de tamanho. A morfologia das microesferas mostrou formatos irregulares onde apresentam esferas achatadas e outras esféricas e variação no tamanho das microesferas. Já a morfologia das microesferas após o processo de liberação mostrou que estas formaram um aglomerado, é possível observar algumas micropartículas com formatos regulares.

Figura 28. Morfologia pelo MEV dos filmes e microesferas de FB-PVA-IBUP20.



5.2.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

O espectro do infravermelho (IV) para a FB, PVA e FB-PVA estão representados nos gráficos (figura 29) e a tabela 2, descrevendo as principais atribuições e números de onda para cada material.

O espectro da FB pura apresenta duas bandas características atribuídas à amida I ($1700-1600\text{ cm}^{-1}$) e amida II ($1600-1500\text{ cm}^{-1}$) dos seus esqueletos peptídicos e são utilizadas para a análise de diferentes estruturas secundárias da FB (JIN *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2010).

O espectro do filme da FB pura apresenta as bandas de amida I e amida II em 1634 e 1511 cm^{-1} que são característica de uma estrutura secundária randômica. Já nas microesferas de FB-PVA essas bandas aparecem em 1654 e 1530 cm^{-1} indicando uma estrutura α -hélice. Deduz-se que o PVA é o responsável pela mudança estrutural da FB durante a formação das microesferas.

O espectro do PVA apresenta bandas relacionadas aos grupos hidroxila e acetato presente neste material. As bandas atribuídas ao estiramento O-H das ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares estão em 3550 e 3200 cm^{-1} , as bandas vibracionais refere-se ao estiramento C-H de grupos alquil estão em 2840 e 3000 cm^{-1} , e o estiramento C=O e C-O do grupo acetato remanescente estão em 1720–1740 cm^{-1} . A banda atribuída ao grupo carbonila estão em 1720 cm^{-1} . E a banda do grau de cristalinidade foi obtido em 1141 cm^{-1} influenciada pela porção cristalina das cadeias poliméricas (MANSUR *et al.*, 2008).

O espectro IV das microesferas de FB-PVA apresentam as bandas características da FB e do PVA indicando que os dois materiais formam as microesferas. Além disso, as bandas de Amida I e Amida II da FB estão deslocadas em relação a FB pura, indicando uma mudança na conformação da estrutura terciária da proteína. Essas duas bandas aparecem em 1654 e 1530 cm^{-1} .

Figura 29. Espectros IV: FB, PVA e FB-PVA.

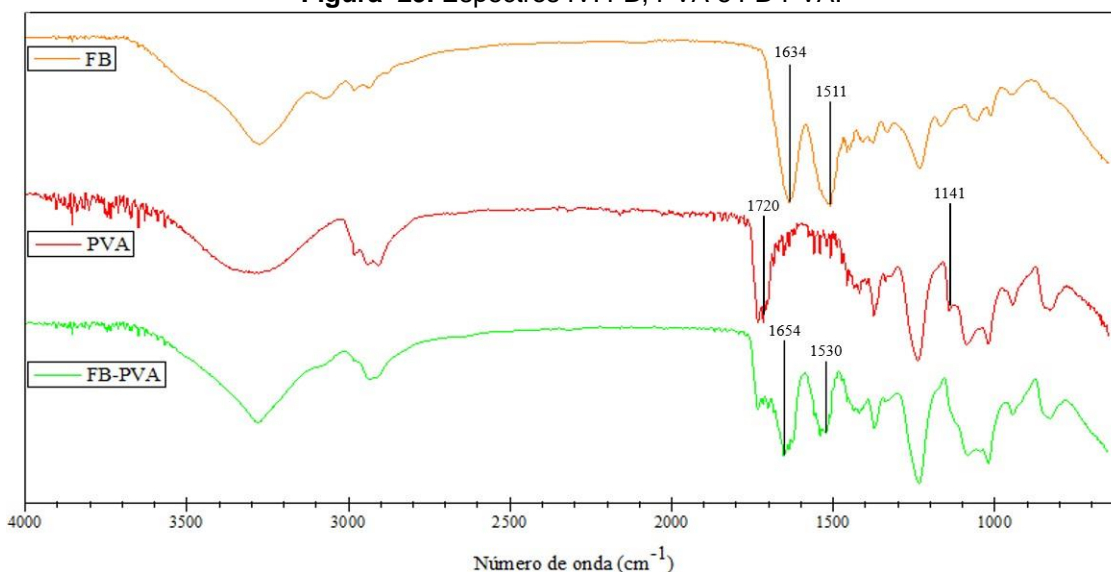


Tabela 2. Dados espectrais de FT-IR de FB, PVA, FB-PVA.

Atribuição	Número de onda (cm ⁻¹)		
	FB	PVA	FB-PVA
O-H do intermolecular e ligações de hidrogênio intramoleculares		3400 - 3100 w	3550 w
C-H de grupos alquil		2840 - 3000 w	2937 w
C=O		1750 - 1735 s	1731 s
C-O (cristalinidade)		1141 m	1090 m
C-O-C		1150 - 1085 w	1025 w
CH ₂		1461 - 1417 w	1412 w
N-H estiramento	3281 m		3280 m
Amida I	1634 vs		1654 vs
Amida II	1511 m		1530 vs
CH ₂ , CH ₃	1509 vs		1510 vs
Amida III	1231 m		1233 m

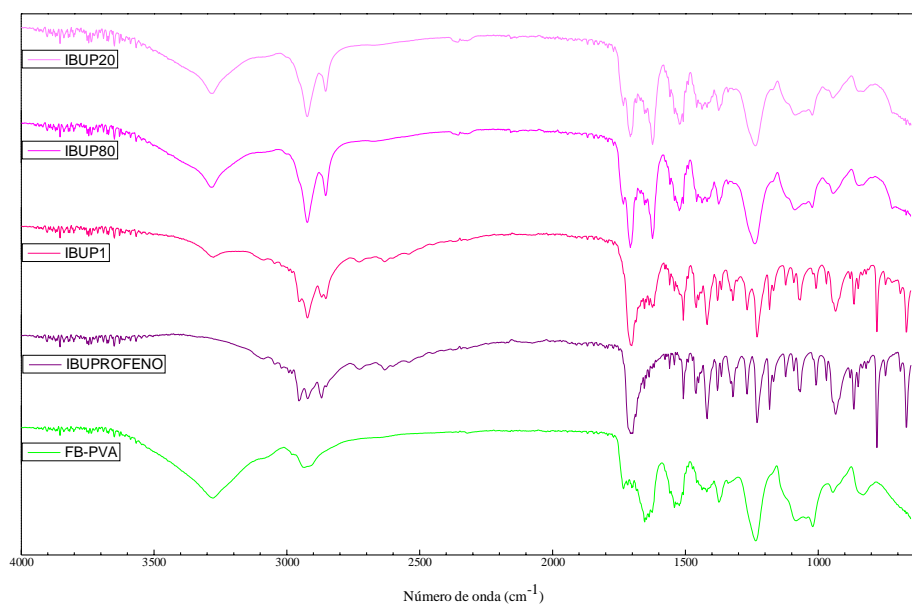
(s- forte; w- fraco; m- médio)

Foi realizada também uma comparação dos espectros IV das microesferas de FB-PBA pura com aquelas incorporadas com o fármaco.

A banda em 2958 cm⁻¹ no espectro de ibuprofeno é atribuído ao estiramento assimétrico de CH₃. O ibuprofeno também mostrou a presença de ácido carboxílico livre na banda 1722 cm⁻¹ com alta estiramento (ACHARYA *et al.*, 2017). O espectro do IV figura 30 e a tabela 3 descreve as principais atribuições e números de onda para este fármaco.

O espectro IV das microesferas de FB-PVA-IBUP1000, FB-PVA-IBUP80, FB-PVA-IBUP20 apresentam as bandas características da FB e do PVA indicando que os dois materiais formam as microesferas. Além disso, o espectro das microesferas contendo o ibuprofeno apresentam bandas características do fármaco indicando que este foi incorporado.

O espectro das microesferas com maior massa de ibuprofeno (IBUP1000) apresenta as bandas do ibuprofeno bem intensas, além das bandas de FB-PVA. Já nos espectros das microesferas (IBUP20 e IBUP80), nas quais as massas de ibuprofeno incorporadas são bem menores, as bandas do ibuprofeno são menos intensas e muitas bandas de FB-PVA se sobrepõe as bandas do fármaco. A banda em 3278 cm⁻¹ no espectro de FB-PVA também está presente em todos os espectros das microesferas.

Figura 30. Espectros IV: IBUP 20, IBUP80, IBUP1000 na forma de microesferas de FB-PVA.**Tabela 3.** Dados espectrais de FT-IR de ibuprofeno.

Atribuição	Número de onda (cm ⁻¹)
CH ₂ estiramento assimétrico	3093 m
CH ₃ estiramento assimétrico	2953 vs
CH ₂ C estiramento simétrico	2868 m
O-H...O estiramento	2732 m
O-H...O estiramento	2627 m
C=O estiramento	1703 vs
C=C estiramento aromático	1505 s
CH ₃ deformação assimétrica, CH ₂ dobramento angular	1464 s
CH-CO deformação	1414 s
CH ₃ estiramento simétrico	1377 s
OH deformação plana	1319 s
=C-H deformação plana	1265 s
C...C estiramento	1230 s
C-O estiramento	1193 s
=C-H deformação plana	1120 w
=C-H deformação plana	1067 m
C-H deformação plana	1010 m
C-O-C estiramento	970 m
CH ₃ balanço	933 s
C-H vibração fora do plano	866 s
CH ₂ balanço	779 s
C=C estiramento anel, C...C vibração	756 w
C-H deformação	667 s

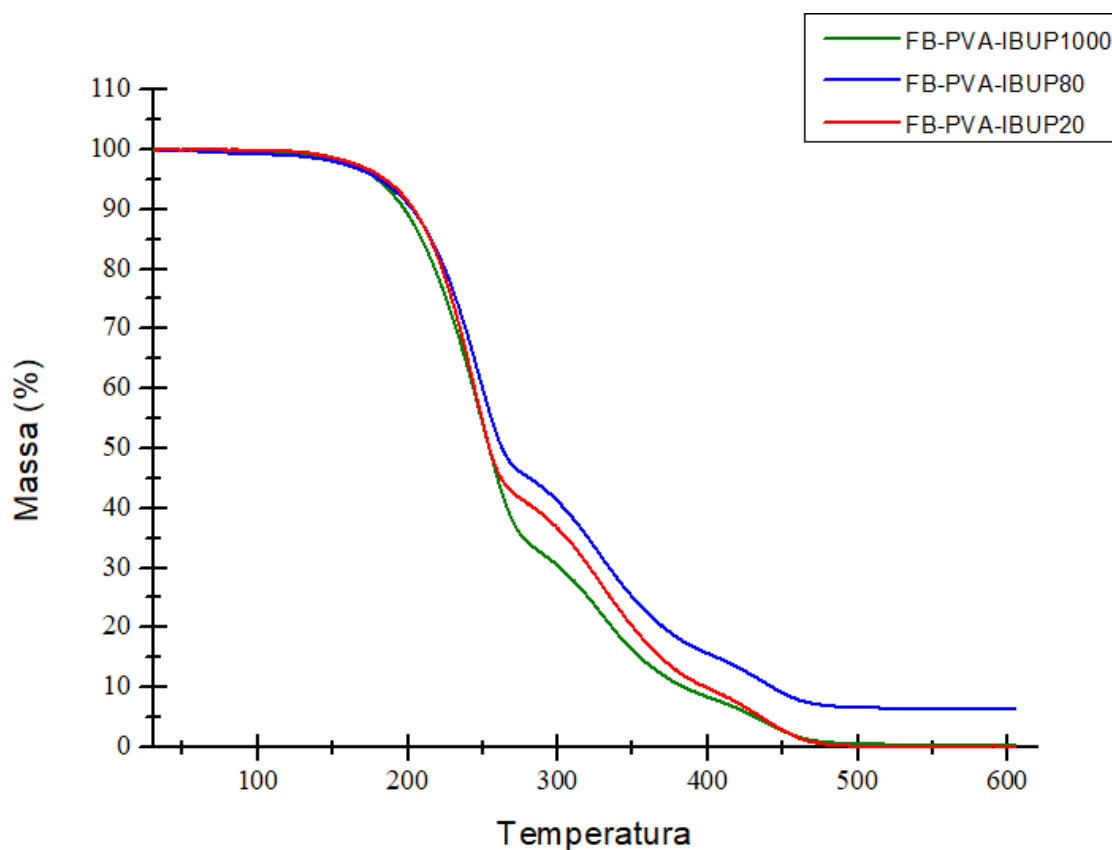
(s- forte; w- fraco; m- médio; vs- muito forte)

5.2.4 Análise termogravimétrica (TGA)

Foram realizadas as análises das curvas TGA das microesferas FB-PVA-IBUP1000; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20 (figura 31).

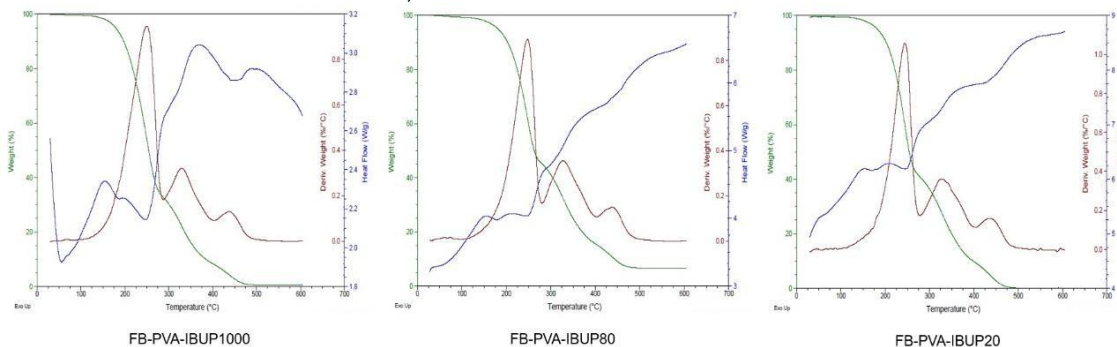
As temperaturas de degradação de todas as microesferas foram equivalentes e a variação da massa de ibuprofeno adicionadas as partículas não influenciou nas características térmicas das microesferas.

Figura 31. Curvas TGA das microesferas FB-PVA-IBUP1000; FB-PVA-IBUP80; FB-PVA-IBUP20.



As curvas termogravimétricas (TG; DTG e DTA) para as microesferas de FB-PVA-IBUP são representadas na figura 32.

Figura 32. Curvas termogravimétricas (TG; DTG e DTA) das microesferas de FB-PVA-IBUP1000, FB-PVA-IBUP80 e FB-PVA-IBUP20.



Legenda: TG: verde; DTG: vermelha; DTA: azul.

5.3 Ensaio cinético de liberação

Para se calcular a concentração de cada amostra foi utilizada a equação da reta obtida a partir da curva padrão para o ibuprofeno.

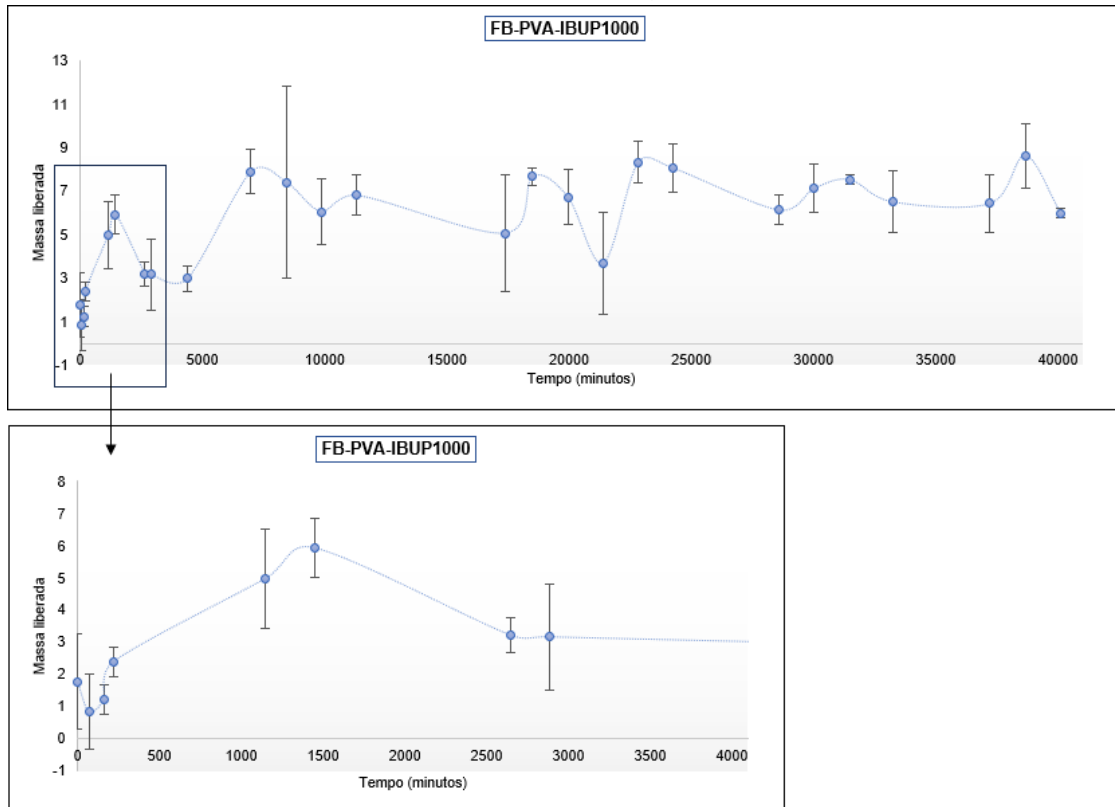
Os ensaios foram feitos em espectrofotômetro UV-VIS no comprimento de onda de 222 nm com todas as amostras para cada tempo pré-determinado.

5.3.1 FB-PVA-IBUP1000

A partir dos dados obtidos no ensaio de UV-VIS (tabela 4) foi plotado um gráfico de massa liberada x tempo (figura 33).

Tabela 4. Massa liberada FB-PVA-IBUP1000 x tempo.

Tempo	Minutos	Triplícata 1		Triplícata 2		Triplícata 3		Média	Desvio padrão
		222nm (mg/mL)	Massa liberada	222nm (mg/mL)	Massa liberada	222nm (mg/mL)	Massa liberada		
t0	0	0,5992	2,006132019	1,0076	4,461344235	0,0721	-1,162678851	1,768265801	1,490934763
t1	70	0,5443	1,68945934	0,1519	-0,653196265	0,5121	1,474754519	0,837005865	1,185707566
t2	160	0,3477	0,505342471	0,3291	0,377796481	0,7307	2,806564867	1,229901273	0,459589675
t3	220	0,7307	2,799975953	0,582	1,905278346	0,6707	2,454619053	2,386624451	0,447779214
t4	1150	1,5106	7,503915675	1,0472	4,712095708	0,713	2,706512765	4,974174716	1,541781083
t5	1450	0,9811	4,35193379	0,9811	4,333361388	1,7749	9,092120556	5,925805245	0,914083669
t6	2650	0,6739	2,483892429	0,6131	2,118376017	1,092	5,029233297	3,210500581	0,555922314
t7	2890	1,0018	4,442843974	0,4566	1,162783055	0,9037	3,869844896	3,158490642	1,652836546
t8	4390	0,9037	3,86622981	0,9401	4,063207887	0,4273	0,998284638	2,975907445	0,57932382
t9	7000	1,8246	9,398549156	1,8967	9,833457577	1,0001	4,422740572	7,884915768	1,022826684
t10	8440	1,9943	10,45565709	0,5437	1,737854194	1,9239	9,99938279	7,397631357	4,423133998
t11	9880	1,3545	6,616119594	0,8835	3,726431806	1,5481	7,777179271	6,039910224	1,529405938
t12	11320	1,2898	6,201514969	1,0918	4,992304918	1,7882	9,205546872	6,79978892	0,920789434
t13	17390	1,583	7,96157669	0,6972	2,628403671	1,0189	4,590304998	5,06009512	2,670032867
t14	18520	1,4901	7,414833073	1,4069	6,879151136	1,7106	8,717822933	7,670602381	0,403891105
t15	19960	1,4948	7,439365156	1,0842	4,967592481	1,5434	7,740375135	6,715777591	1,270786521
t16	21400	0,5557	1,793888021	0,0877	-1,036082722	1,9639	10,26162879	3,673144697	2,370554188
t17	22840	1,48	7,312941365	1,3367	6,432696084	2,1217	11,2271412	8,324259549	0,946538304
t18	24280	1,5013	7,478036952	1,238	5,889391207	2,0409	10,74771352	8,038380559	1,114744776
t19	28600	1,121	5,192609515	1,0545	4,782273256	1,6485	8,385451485	6,120111418	0,685376609
t20	30040	1,1989	5,645685544	1,5596	7,811470482	1,5706	7,901406757	7,119520928	1,106165247
t21	31480	1,4451	7,128908661	1,4669	7,274421867	1,6147	8,163404272	7,522244933	0,198873406
t22	33250	1,1355	5,277527955	1,6087	8,123177428	1,2673	6,076678289	6,492461224	1,427878327
t23	37240	1,4228	6,992304918	0,9972	4,452655204	1,5631	7,841040439	6,428666854	1,333674784
t24	38680	1,4038	6,889595607	1,8984	9,845966094	1,7722	9,109959521	8,615173741	1,485069929
t25	40120	1,177	5,525361709	1,2305	5,866814957	1,3468	6,560927418	5,984368028	0,238430929

Figura 33. Gráfico da curva de liberação FB-PVA-IBUP1000.

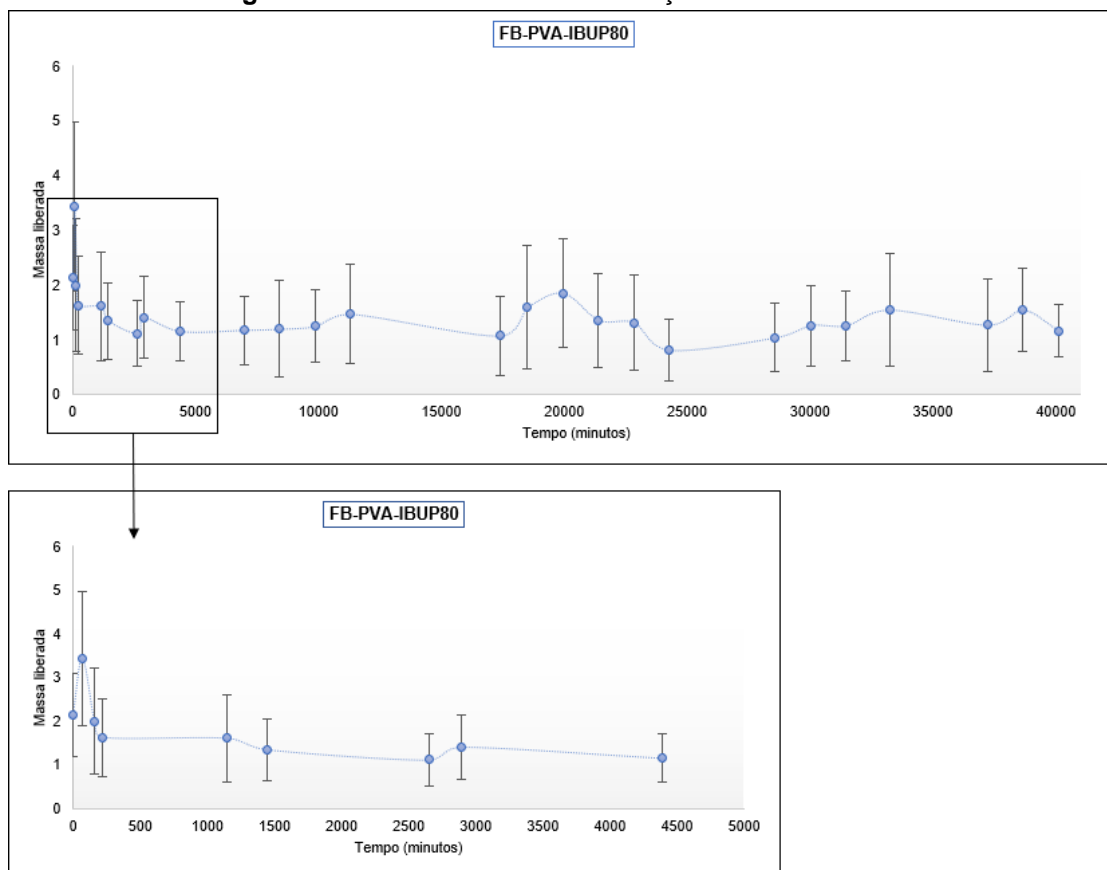
5.3.2 IBUP80

A partir dos dados obtidos no ensaio de UV-VIS (tabela 5) um gráfico de massa liberada x tempo, e foram plotados, a figura 34 representa o gráfico de FB-PVA-IBUP80.

Tabela 5. Massa liberada FB-PVA-IBUP80 x tempo.

Tempo	Minutos	Triplicata 1		Triplicata 2		Triplicata 3		Média	Desvio padrão
		222nm (mg/mL)	Massa liberada	222nm (mg/mL)	Massa liberada	222nm (mg/mL)	Massa liberada		
t0	0	1,1002	2,509017675	1,1944	2,792172658	0,6318	1,101058074	2,134082802	0,947103042
t1	70	1,581	3,970977115	1,7365	4,440280951	0,8881	1,878808465	3,430022177	1,537945623
t2	160	0,6174	1,084134904	1,4963	3,729129093	0,6508	1,170646467	1,994636822	1,213667328
t3	220	0,6671	1,214217867	1,2019	2,839381187	0,5439	0,844561134	1,632720131	0,889050517
t4	1150	0,8553	1,780922608	1,1592	2,705130055	0,3816	0,354562943	1,613538536	0,994987312
t5	1450	0,6704	1,228904653	0,9997	2,224834676	0,463	0,595990141	1,349909823	0,698515137
t6	2650	0,5522	0,86990301	0,9078	1,945396978	0,4406	0,530289367	1,115196452	0,598754843
t7	2890	0,9836	2,164275981	0,7742	1,541968258	0,4372	0,519620456	1,408621565	0,743223058
t8	4390	0,6353	1,125968899	0,8639	1,808919482	0,4426	0,535784137	1,156890839	0,548863101
t9	7000	0,7836	1,564762935	0,8048	1,633068815	0,3771	0,339006453	1,178946068	0,625885688
t10	8440	0,4146	0,458560779	1,1058	2,536657849	0,4643	0,599807623	1,198342084	0,881382793
t11	9880	0,7025	1,316562462	0,9212	1,987802092	0,4116	0,443144563	1,249169706	0,659011918
t12	11320	0,6297	1,103502866	1,1666	2,721748627	0,4573	0,579457737	1,46823641	0,903141522
t13	17390	0,694	1,295322833	0,8736	1,845940042	0,291	0,080493768	1,073918881	0,723130031
t14	18520	0,6632	1,204029899	1,3156	3,168672598	0,4018	0,410214019	1,594305505	1,129144943
t15	19960	0,5834	0,963542543	1,3321	3,227127169	0,7197	1,368007294	1,852892336	0,990302277
t16	21400	0,7995	1,611516572	1,0081	2,253548956	0,3359	0,220716605	1,361927378	0,859763339
t17	22840	0,7322	1,413550559	1,0355	2,329417659	0,3327	0,203406677	1,315458298	0,865981288
t18	24280	0,39	0,383585828	0,8232	1,691815959	0,39	0,375580137	0,816993975	0,568979826
t19	28600	0,6778	1,241823975	0,8214	1,682151016	0,3331	0,205693159	1,043222717	0,61824403
t20	30040	0,5501	0,863738928	1,0333	2,319063364	0,4697	0,615157709	1,265986667	0,736683518
t21	31480	0,6861	1,269981163	0,9273	2,004685183	0,4355	0,515093583	1,26325331	0,639669253
t22	33250	0,8081	1,639425274	1,1736	2,742912108	0,3501	0,257705102	1,546680828	1,022161517
t23	37240	0,7014	1,321141437	1,0226	2,293958158	0,3303	0,196477095	1,270525563	0,846567618
t24	38680	0,9352	2,02178069	0,9349	2,027315538	0,4618	0,591355056	1,546817095	0,765696477
t25	40120	0,6552	1,18481624	0,8221	1,686493527	0,4757	0,635772113	1,169027293	0,483998203

Figura 34. Gráfico da curva de liberação FB-PVA-IBUP80.



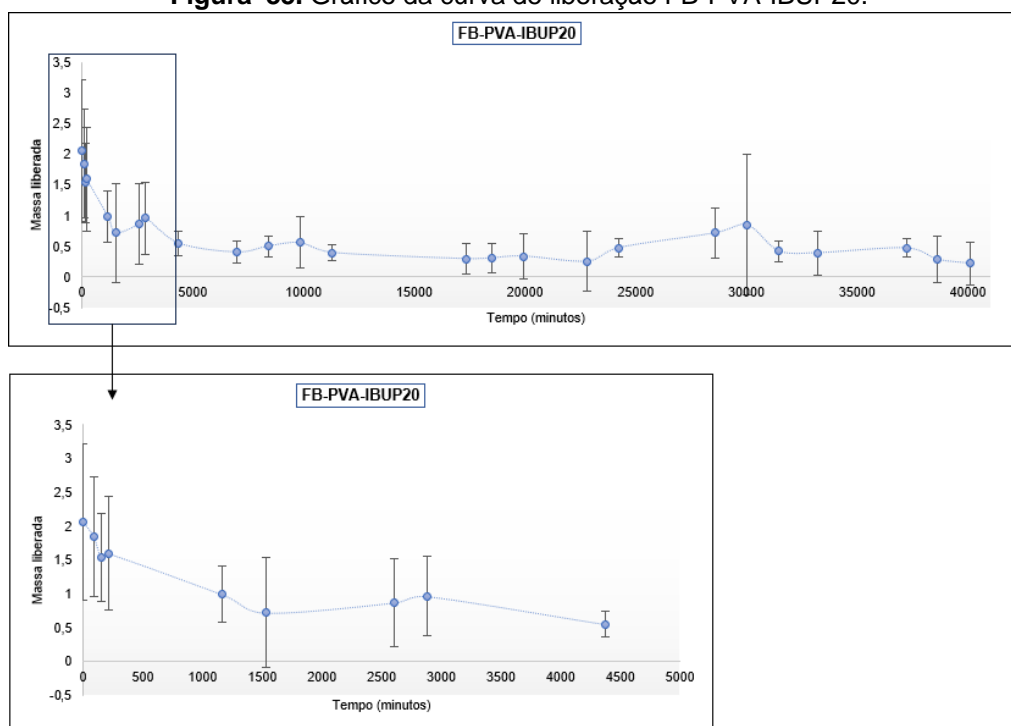
5.3.3 IBUP20

A partir dos dados obtidos no ensaio de UV-VIS (tabela 6) um gráfico de massa liberada x tempo, e foram plotados, a figura 35 representa o gráfico de FB-PVA-IBUP80.

Tabela 6. Massa liberada FB-PVA-IBUP20 x tempo.

Tempo	Minutos	Triplícata 1		Triplícata 2		Triplícata 3		Média	Desvio padrão
		222nm (mg/mL)	Massa liberada	222nm (mg/mL)	Massa liberada	222nm (mg/mL)	Massa liberada		
t0	0	1,4293	3,498256583	1,2811	3,052783456	0,8209	1,669472165	2,064502441	1,156359118
t1	90	1,01	2,214564547	1,3036	3,140767905	0,8425	1,745529237	1,849392338	0,883672818
t2	150	0,9629	2,081389523	0,7673	1,529159152	1,021	2,282513727	1,53627248	0,654007567
t3	210	0,9901	2,164093624	1,178	2,752931746	0,6656	1,217796882	1,59568445	0,843301057
t4	1170	0,8056	1,608961565	0,5884	0,988888221	0,6326	1,111480502	0,986066057	0,414370639
t5	1530	0,3451	0,228445754	0,9454	2,050176346	0,2891	0,078295459	0,718283512	0,815359529
t6	2610	0,5095	0,731842411	0,9117	1,956031822	0,3818	0,350058114	0,866286469	0,653624774
t7	2880	0,4197	0,458618893	0,9079	1,943934111	0,5722	0,924237506	0,961378102	0,586063576
t8	4380	0,397	0,392184682	0,4276	0,500128251	0,5526	0,86913751	0,548330089	0,189879036
t9	6990	0,4471	0,54323474	0,4545	0,571361869	0,3099	0,139214861	0,403642294	0,179521516
t10	8430	0,3517	0,255468719	0,4648	0,602861609	0,4961	0,694048335	0,502655732	0,165264787
t11	9870	0,2566	-0,02847982	0,4584	0,583830307	0,6428	1,138743938	0,559058885	0,418029574
t12	11310	0,3239	0,175722416	0,42	0,468275821	0,4265	0,491509358	0,396401519	0,126859656
t13	17370	0,2184	-0,142747786	0,4098	0,436846219	0,3903	0,378361589	0,294512004	0,245434598
t14	18510	0,2428	-0,067289888	0,346	0,244865937	0,4522	0,563700854	0,307895381	0,241064785
t15	19950	0,1727	-0,278491844	0,488	0,670424031	0,3987	0,404126087	0,336551655	0,360941336
t16	21390	0,2346	-0,091022404	4,3644	12,3253076	0,6905	1,280173139	3,713871668	5,101982449
t17	22830	0,1343	-0,393753757	0,5278	0,870584345	0,2613	-0,004108052	0,252364507	0,485125578
t18	24270	0,5097	0,736667869	0,3955	0,396022204	0,4135	0,444787784	0,477295571	0,146369819
t19	28590	0,5272	0,781748227	0,7156	1,355556892	0,3824	0,354354535	0,717931931	0,404788138
t20	30030	0,1946	-0,218361989	0,3524	0,270231654	1,1615	2,695621418	0,852278217	1,143291209
t21	31470	0,4394	0,524145325	0,4654	0,602619134	0,3222	0,188389243	0,42055074	0,165426738
t22	33240	0,3625	0,28808665	0,565	0,90427037	0,2499	-0,045755681	0,392300268	0,35880702
t23	37230	0,4178	0,455853473	0,4989	0,707576851	0,3726	0,321618372	0,471309739	0,149142034
t24	38640	0,2634	-0,009364354	0,528	0,793723698	0,224	-0,122598293	0,28275221	0,378923238
t25	40110	0,2486	-0,050757485	0,4819	0,655735241	0,2025	-0,190202797	0,219834992	0,353673181

Figura 35. Gráfico da curva de liberação FB-PVA-IBUP20.



Nos gráficos de cinética de liberação para as três amostras observou-se uma liberação do fármaco bastante lenta e gradual durante todo o período de estudo. Observou-se a que a liberação continuou até mesmo depois de 668 horas. Podemos atribuir essa liberação lenta ao fato de a FB ser uma proteína e possuir muitos grupos funcionais que podem interagir com o fármaco de forma mais forte, não permitindo a liberação do mesmo na solução.

Outra característica observada nos gráficos foi a diminuição da concentração de fármaco antes de aproximadamente 1000 minutos. A ocorrência dessa diminuição da concentração ocorreu provavelmente devido a lavagem das microesferas, no qual uma pequena quantidade de fármaco que não encapsulado foi transferido para solução tampão usada no ensaio, com isso, concluímos que esse fármaco livre na solução pode ter sido absorvido pelas microesferas. Esse fato corrobora com o fato de a proteína possuir muitos grupos funcionais que podem interagir fortemente com a fármaco.

6. CONCLUSÕES

Os processos de extração de FB e obtenção das micropartículas esféricas de FB através da adição de PVA, foram realizados com sucesso. Também foram preparadas microesferas de FB-PVA encapsulando-se o fármaco ibuprofeno.

As microesferas preparadas usando PVA como uma fase contínua para separar a solução de seda em microesferas em filmes de mistura de FB-PVA em uma proporção de peso 1/4, resultando em microesferas. Estas podem ser facilmente obtidas por dissolução do filme e subsequente centrifugação para remover o PVA.

As microesferas foram caracterizadas e foram realizados ensaios de liberação controlada para determinar a massa total de liberação do fármaco. Assim foram feitos experimentos para se determinar a velocidade de liberação do fármaco em solução fisiológica.

Nos gráficos, notamos uma redução na concentração do fármaco antes de aproximadamente 1000 minutos. Essa diminuição ocorreu possivelmente devido à lavagem das microesferas, onde uma pequena quantidade do fármaco não encapsulado foi transferida para a solução tampão usada no ensaio. Concluímos, então, que esse fármaco livre na solução pode ter sido absorvido pelas microesferas. Esse fato está em acordo com a presença de muitos grupos funcionais na proteína, os quais podem interagir fortemente com o fármaco.

O método de preparação relatado é fácil e seguro de manipular, eficiente em termos de tempo e passível de uma ampla gama de fármacos e, portanto, útil para sistemas de entrega de fármacos à base de FB, por fim, a FB facilita o encapsulamento de fármacos, tornando a liberação de fármacos controlável, uma vez que, os resultados obtidos foram satisfatórios e indica uma liberação lenta.

Devido ao fato ter sido muito lenta, não são todos os fármacos que serão indicados para o uso com este sistema. Como exemplo, fármacos de baixa dosagem poderão ser utilizados em futuros estudos utilizando estes sistemas de liberação. Este sistema ainda pode ser usado para implantes de liberação de longa duração para hormônios.

7. REFERÊNCIAS

ACHARYA, M., MISHRA, S., SAHOO, R. N, MALLICK, S. Infrared spectroscopy for analysis of co-processed ibuprofen and magnesium trisilicate at milling and freeze drying. **Acta Chimica Slovenica**, v. 64, n. 1, p. 45-54, 2017. DOI: <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2772>

AFSHAR, M., DINI, G., VAEZIFAR, S., MEHDIKHANI, M., MOVAHEDI, B. Preparation and characterization of sodium alginate/polyvinyl alcohol hydrogel containing drug-loaded chitosan nanoparticles as drug delivery system. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, p. 101530, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101530>

AMSDEN, J. J, DOMACHUK, P., GOPINATH, A., WHITE, R. D, NEGRO, L. D, KAPLAN, D. L., OMENETTO, F. G. Rapid Nanoimprinting of Silk Fibroin Films for Biophotonic Applications. **Materiais Avançados**, v. 22, n. 15, pág. 1746-1749, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.200903166>

AOYAMA, E. A.; DELMÃO, F. M. Anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) mais vendidos em farmácias comunitárias: Revisão de literatura. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, ReBIS. 2021; 3(2):29-35. Disponível em: <https://revistarebis.rebis.com.br/index.php/rebis/article/view/199>. Acesso em: 15 jul 2023.

ARANHA, I. B. Poli (Álcool Vinílico) Modificado com Cadeias Hidrocarbônicas: Avaliação do Balanço Hidrófilo/Lipófilo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 11, nº 4, pp. p. 174-181. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282001000400007>

ATEF, B.; ISHAK, R. A.; BADAWY, S. S.; OSMAN, R. Exploring the potential of oleic acid in nanotechnology-mediated dermal drug delivery: An up-to-date review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 67, p. 103032, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.103032>

BARUD, H. G. O. **Caracterização e avaliação da citocompatibilidade de nanocompositos baseados em celulose bacteriana e fibroína para aplicação em regeneração tecidual.** Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara – SP. 2014.

BATISTA, J. G. dos S. **Desenvolvimento de matrizes poliméricas biodegradáveis à base de quitosana e possíveis blendas como sistemas de liberação controlada de fármacos.** 2015. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2015. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85134/tde-18022016-145449/publico/2015BatistaDesenvolvimento.pdf>. Acesso em 20 mai 2023.

BORGES, C. D. L. T. **Aplicação Terapêutica de Nanossistemas no Tratamento da Epilepsia.** 2018. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra. Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/84689/1/Documento%20u%cc%81nico%20%282%29.pdf>. Acesso em 07 jan 2023.

BREGANÓ, J. W.; BARBOSA, D. S.; KADRI, M. Z. E.; RODRIGUES, M. A.; CECCHINI, R.; DICHI, I. Comparison of selective and non selective cyclooxygenase 2 inhibitors in experimental colitis exacerbation: role of leukotriene B4 and superoxide dismutase. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 51, p. 226-234, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-28032014000300012>

BRUNE, K., PATRIGNANI, P. New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Journal of pain research**, p. 105-118, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/JPR.S75160>

BUSHRA, Rabia; ASLAM, Nousheen. An overview of clinical pharmacology of Ibuprofen. **Oman medical journal**, v. 25, n. 3, p. 155, 2010. DOI: <http://doi.org/10.5001/omj.2010.49>

CANO, A., ETTCHETO, M., ESPINA, M., AULADELL, C., CALPENA, A. C., FOLCH, J., BARENYS, M., SÁNCHEZ-LÓPEZ, E., CAMINS, A., GARCÍA, M. L. Epigallocatechin-3-gallate loaded PEGylated-PLGA nanoparticles: a new anti-seizure strategy for temporal lobe epilepsy. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 14, n. 4, p. 1073-1085, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2018.01.019>

CHENG, X; DENG, D; CHEN, L; JANSEN, J. A.; LEEUWENBURGH, S. G; YANG, F. Electrodeposited assembly of additive-free silk fibroin coating from pre-assembled nanospheres for drug delivery. **ACS applied materials & interfaces**, v. 12, n. 10, p. 12018-12029, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1021/acsami.9b21808>

CHO, H., YOO, W. J., AHN, J., CHUN, S. J., LEE, SY, GWON, J. Preparation and characterization of cellulose nanocrystals reinforced poly (vinyl alcohol) based hydrogels for drug delivery system. **Journal of the Korean Wood Science and Technology**, v. 48, n. 4, pág. 431-449, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5658/WOOD.2020.48.4.431>

COSTA, E. F. D. **Alumina porosa para liberação controlada de fármacos**. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4508/1/LD_PPGCEM_M_Costa%2c_Eduardo_Fabiano_da_2019.pdf. Acesso em 07 jan 2023.

D'SOUZA, B., BHOWMIK, T., UDDIN, M. N., OETTINGER, C., D'SOUZA, M. Development of β cyclodextrin-based sustained release microparticles for oral insulin delivery. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 41, n. 8, p. 1288-1293, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3109/03639045.2014.947507>

DA SILVA, G. C., TEIXEIRA, K. M., MARQUES, H. C. L, JUNIOR, O. M. R. Uma comparação por intoxicação no uso indiscriminado do paracetamol versus ibuprofeno em crianças menores de 5 anos: uma revisão integrativa. **Pesquisa**,

Sociedade e Desenvolvimento, v. 11, n. 7, pág. e41911730280-e41911730280, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30280>

DE SOUZA, F. C. B., DA SILVA, M. Z. M. Controle do processo inflamatório na odontologia com anti-inflamatorios não-esteroidais. **Uningá Review**, v. 20, n. 2, 2014. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1587/1197>. Acesso em 08 mar 2022.

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL (DERAL). Cultura do Bicho-da-Seda volta a atrair produtores no Paraná, 2016. Disponível em: <https://www.agricultura.pr.gov.br/Noticia/Cultura-do-bicho-da-seda-volta-atrairprodutores-no-Parana>. Acesso em: 02 mai 2022.

DERRY, S., WIFFEN, P. J., MOORE, R. A., BENDTSEN, L. Ibuprofen for acute treatment of episodic tension-type headache in adults. **Cochrane database of systematic reviews**, n. 7, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011474.pub2>

ENOMOTO, S., SUMI, M., KAJIMOTO, K., NAKAZAWA, Y., TAKAHASHI, R., TAKABAYASHI, C., ASAKURA, T., SATA, M. Long-term patency of small-diameter vascular graft made from fibroin, a silk-based biodegradable material. **Journal of vascular surgery**, v. 51, n. 1, p. 155-164, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2009.09.005>

FONSECA, M. S. B. **Sistemas multiparticulados sólidos para a administração oral de fármacos**. Dissertação (mestrado) Universidade Fernando Pessoa. Porto, Portugal. 2015. Disponível em: https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5151/1/PPG_26036.pdf. Acesso em 20 mai 2023.

FREITAS, P. R., MENDES, J. W. D. S., DIAS, K. J. D. O., CARVALHO FILHO, M. A. N. D., ARAÚJO, A. C. J. D., RIBEIRO FILHO, J. Abordagens terapêuticas nas

doenças inflamatórias: uma revisão. **Revista Interfaces**, v. 7, n. 2, p. 318-324, 2019. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/37034>. Acesso em 24 mai 2022.

FU, Y., KAO, W. J. Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. **Expert opinion on drug delivery**, v. 7, n. 4, p. 429-444, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1517/17425241003602259>

GAJRA, B., PANDYA, S. S., VIDYASAGAR, G., RABARI, H., DEDANIA, R. R., RAO, S. Poly vinyl alcohol hydrogel and its pharmaceutical and biomedical applications: A review. **Int. J. Pharm. Res**, v. 4, p. 2026, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Balaram-Gajra-2/publication/257654387_Poly_vinyl_alcohol_Hydrogel_and_its_Pharmaceutical_and_Biomedical_Applications_A_Review/links/00b7d539b4ab4cd6ed000000/Poly-vinyl-alcohol-Hydrogel-and-its-Pharmaceutical-and-Biomedical-Applications-A-Review.pdf. Acesso em 20 mai 2022.

GARRETT, R. H., GRISHAM, C. M. **Biochemistry**. Cengage Learning, 2016.

GELLER, M., KRYMCHANTOWSKI, A. V., STEINBRUCH, M., KARIN, S. C., RIBEIRO, M. G. Utilização do diclofenaco na prática clínica: revisão das evidências terapêuticas e ações farmacológicas. **Rev Bras Clin Med**, v. 10, n. 1, p. 29-38, 2012. Disponível em: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/37859557/a2677-libre.pdf?1433801502=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DUse_of_diclofenac_in_clinical_practice_r.pdf&Expires=1684949504&Signature=PhPpTD-mEhYZupgGhRC8XH5N~V-1GcJmP9K6RgHMhijWM9Y0fndGTVDtZV5QFt1VoqiXpV4L98KoMaPto92B~Ilr3pJbOTVFBSe0DDspzi9gFj-UEh1ebSbUlp1jtY6xIHozT9iW~UA2JMP~MhcDbns9vorJiTj0KMB-KQxZssiO3f~JyL6S5eal36Mofy26wXOZFPaqdQi-0NQZ2QN-s0C8t9TPNuXHASsVcGno6psWydkc~w0yGuFB1VPGPSdKltc0X2uHScIbHYiM

zSeRua4hWQeDYa~1k38ejsVPvetReImLMqglkxPfehWxH1Y323T10VbcCYiMJ-q0Sb0BLg__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA. Acesso em 24 mai 2022.

GHOLAMALI, I., ASNAASHARIISFAHANI, M., ALIPOUR, E. Silver nanoparticles incorporated in pH-sensitive nanocomposite hydrogels based on carboxymethyl chitosan poly (vinyl alcohol) for use in a drug delivery system. **Regenerative Engineering and Translational Medicine**, v. 6, p. 138-153, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00120-7>

HARKIN, D. G., GEORGE, K. A., MADDEN, P. W., SCHWAB, I. R., HUTMACHER, D. W., CHIRILA, T. V. Silk fibroin in ocular tissue reconstruction. **Biomaterials**, v. 32, n. 10, p. 2445-2458, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.12.041>

HASSAN, C. M; WARD, J. H; PEPPAS, N. A. Modeling of crystal dissolution of poly (vinyl alcohol) gels produced by freezing/thawing processes. **Polymer**, v. 41, n. 18, p. 6729-6739, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00031-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00031-8)

HU, X.; SHMELEV, K.; SUN, L.; GIL, E. S.; PARK, S. H.; CEBE, P.; KAPLAN, D. L. HU, Regulation of silk material structure by temperature-controlled water vapor annealing. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 5, p. 1686-1696, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1021/bm200062a>

JAROSZ, M; SZKARADEK, N; MARONA, H; NOWAK, G; MŁYNIĘC, K; LIBROWSKI, T. Evaluation of anti-inflammatory and ulcerogenic potential of zinc ibuprofen and zinc–naproxen complexes in rats. **Inflammopharmacology**, v. 25, n. 6, p. 653-663, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0361-0>

JIAO, Z; SONG, Y; JIN, Y; ZHANG, C; PENG, D; CHEN, Z; CHANG, P; KUNDU, S. C; WANG, G; WANG, Z; WANG, L. In vivo characterizations of the immune Properties of sericin: an ancient material with emerging value in biomedical

applications. **Macromolecular Bioscience**, v. 17, n. 12, p. 1700229, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/mabi.201700229>

JIN, H. J., PARK, J., KARAGEORGIU, V., KIM, U. J., VALLUZZI, R., CEBE, P., KAPLAN, D. L. Water-stable silk films with reduced β -sheet content. **Advanced Functional Materials**, v. 15, n. 8, p. 1241-1247, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.200400405>

KOH, L. D., CHENG, Y., TENG, C. P., KHIN, Y. W., LOH, X. J., TEE, S. Y., LOWA, M., YE, E., YU, H. D., ZHANG, Y. W., HAN, M. Y. Structures, mechanical properties and applications of silk fibroin materials. **Progress in Polymer Science**, v. 46, p. 86-110, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.001>

KUBO, S., KADLA, J. F. The formation of strong intermolecular interactions in immiscible blends of poly (vinyl alcohol) (PVA) and lignin. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 3, p. 561-567, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm025727p>

KUNDU, B., RAJKHOWA, R., KUNDU, S.C., WANG, X. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 4, p. 457-470, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.043>

LANAS, Á., CARRERA-LASFUENTES, P., ARGUEDAS, Y., GARCÍA, S., BUJANDA, L., CALVET, X., PONCE, J., PEREZ-AÍSA, Á., CASTRO, M., MUÑOZ, M., SOSTRES, C. S., GARCÍA-RODRÍGUEZ, L. A. Risk of upper and lower gastrointestinal bleeding in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, or anticoagulants. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 13, n. 5, p. 906-912. e2, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.11.007>

LAWRENCE, B. D., CRONIN-GOLOMB, M., GEORGAKOUDI, I., KAPLAN, D. L., OMENETTO, F. G. Bioactive silk protein biomaterial systems for optical

devices. **Biomacromolecules**, v. 9, n. 4, p. 1214-1220, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm701235f>

LI, X., TSIBOUKLIS, J., WENG, T., ZHANG, B., YIN, G., FENG, G., CUI, Y., SAVINA, I. N., MIKHALOVSKA, L. I., SANDEMAN, S. R., HOWEL, C. A., MIKHALOVSKY, S. V. Nano carriers for drug transport across the blood–brain barrier. **Journal of drug targeting**, v. 25, n. 1, p. 17-28, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/1061186X.2016.1184272>

LIMA, C. P., DE OLIVEIRA SILVA, H. R., POGIAN, V. B., SANTOS, V. G. Avaliação farmacêutica dos riscos do uso dos anti-inflamatórios não esteroidais. **Unisanta Health Science**, v. 4, n. 1, p. 1-20, 2020. Disponível em: <https://periodicos.unisanta.br/index.php/hea/article/view/2217>. Acesso em 16 jun 2023.

LIMA, R. S. C. Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos: quitosana/insulina. 2010. 112 f. Tese (doutorado) Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2010. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/1692>. Acesso em 20 mai 2023.

LIMA, T. A. M. D.; FURINI, A. A. D. C.; ATIQUE, T. S. C.; DI DONE, P., MACHADO, R. L. D.; GODOY, M. F. D. Análise de potenciais interações medicamentosas e reações adversas a anti-inflamatórios não esteroides em idosos. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 19, p. 533-544, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-98232016019.150062>

LOPES, C. M., LOBO, J. M. S., COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, p. 143-154, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000200003>

LYRA, M. A. M., SOARES-SOBRINHO, J. L., BRASILEIRO, M. T., ROCA, M. F. D. L., BARRAZA, J. A., VIANA, O. D. S., ROLIN-NETO, P. J. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784-93, 2007. Disponível em: http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/5/LAJOP_26_5_5_1_5NH237W57Y.pdf. Acesso em: 18 de mai de 2022.

MACEDO, K. R. M. Sistemas poliméricos aplicados em liberação controlada de princípios ativos. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2020. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/21789>. Acesso em 20 mai 2023.

MACKEVICZ, G. A. O., CASTRO, F. F. D., ROSSI, J. M. D., ESMERINO, L. A., SANTOS, F. A., POCHAPSKI, M. T. Influência do ibuprofeno arginina sobre a concentração plasmática e tecidual da amoxicilina em ratos com lesão periapical induzida. **RGO-Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 68, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-86372020000403589>

MAGAZ, A; ASHTON, M. D; HATHOUT, R. M; LI, X; HARDY, J. G; BLAKER, J. J. Electroresponsive silk-based biohybrid composites for electrochemically controlled growth factor delivery. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 742, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080742>

MANDAL, B. B., PARK, S. H., GIL, E. S., KAPLAN, D. L. Multilayered silk scaffolds for meniscus tissue engineering. **Biomaterials**, v. 32, n. 2, p. 639-651, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.115>

MANSUR, H. S., SADAHIRA, C. M., SOUZA, A. N., MANSUR, A. A. FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. **Materials Science and Engineering: C**, v. 28, n. 4, p. 539-548, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.10.088>

MARKIEWICZ, M; PASENKIEWICZ-GIERULA, M. Comparative model studies of gastric toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Langmuir**, v. 27, n. 11, p. 6950-6961, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/la200499p>

MORAES, M. A. **Obtenção e caracterização de materiais micro e nanoestruturados contendo fibroína de seda combinada a outros polímeros biocompatíveis para contato com células.** Tese (doutorado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 2014. 124 f. DOI: <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2014.923161>

MORIARTY, C., CARROLL, W. Ibuprofen in paediatrics: pharmacology, prescribing and controversies. **Archives of Disease in Childhood-Education and Practice**, v. 101, n. 6, p. 327-330, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2014-307288>

NGUYEN, T. P, *et al.* Silk fibroin-based biomaterials for biomedical applications: a review. **Polymers**, v. 11, n. 12, p. 1933, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym11121933>

NOGUEIRA, G. M. **Hidrogéis e Filmes de Fibroína de Seda para Fabricação ou Recobrimento de Biomateriais.** 2009. 137 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. DOI: <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2009.43563>

NOGUEIRA, G. M., RODAS, A. C., LEITE, C. A., GILES, C., HIGA, O. Z., POLAKIEWICZ, B., BEPPU, M. M. Preparation and characterization of ethanol-treated silk fibroin dense membranes for biomaterials application using waste silk fibers as raw material. **Bioresource technology**, v. 101, n. 21, p. 8446-8451, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.064>

OLABISI, R. M. Cell microencapsulation with synthetic polymers. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 103, n. 2, p. 846-859, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35205>

OMENETTO, F. G., KAPLAN, D. L. New opportunities for an ancient material. **Science**, v. 329, n. 5991, p. 528-531, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1188936>

PAPAVERO, N.; PUJOL-LUZ, J. R. Notas sobre o bicho-da-seda no folclore Chinês. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, p. 141-142, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262011000100024>

PARK, S. C; CHUN, H. J; KANG, C. D; SUL, D. Prevention and management of non steroidal anti-inflammatory drugs-induced small intestinal injury. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 17, n. 42, p. 4647, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i42.4647>

PARKER, S. T., DOMACHUK, P., AMSDEN, J., BRESSNER, J., LEWIS, J. A., KAPLAN, D. L., OMENETTO, F. G. Biocompatible silk printed optical waveguides. **Advanced Materials**, v. 21, n. 23, p. 2411-2415, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.200801580>

PEDROSO, C. R.; BATISTA, F. L. O uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais. **Saúde & ciência em ação**, v. 3, n. 1, p. 48-69, 2017. Disponível em: <http://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/332/250>. Acesso em: 15 jul 2023.

PEREIRA, D. T. D., OLIVEIRA, T. M., DENADAI, A. M. L. Uma visão geral dos sistemas de liberação controlada de fármacos. **Journal of Exact Sciences** V.35, n.1. pp.11-16, 2022. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20221105_084006.pdf. Acesso em 20 mai 2023.

PERRY, H., GOPINATH, A., KAPLAN, D. L., DAL NEGRO, L., OMENETTO, F. G. Nano-and micropatterning of optically transparent, mechanically robust, biocompatible silk fibroin films. **Advanced Materials**, v. 20, n. 16, p. 3070-3072, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.200800011>

PETERSEN, R. S, NIELSEN, L. H., RINDZEVICIUS, T., BOISEN, A., KELLER, S. S. Controlled drug release from biodegradable polymer matrix loaded in microcontainers using hot punching. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 11, p. 1050, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111050>

PIMENTEL, L. F., JÁCOME JÚNIOR, A. T., MOSQUEIRA, V. C. F., SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 503-514, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000400003>

PIRES, A. L. R., BIERHALZ, A. C., MORAES, Â. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química nova**, v. 38, p. 957-971, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>

PRADO, F. K. **Desenvolvimento de método analítico para quantificação de antineoplásico em sistemas de liberação controlada de fármacos.** Dissertação (mestrado) Universidade de São Paulo. São Paulo. 2019. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/08/1008520/fernando_kaneko_prado_m_e_corrigida.pdf. Acesso em 26 mai 2022.

PRASAD, B. S., GUPTA, V. R. M., DEVANNA, N., JAYASURYA, K. Microspheres as drug delivery system-a review. **J Glob Trends Pharm Sci**, v. 5, n. 3, p. 1961-72, 2014. Disponível em: <https://jgtps.com/admin/uploads/Yqxl0h.pdf>. Acesso em: 27 de set 2022.

RAINSFORD, K. D. Ibuprofeno: farmacologia, eficácia e segurança. **Inflammopharmacology**, v. 17, p. 275-342, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10787-009-0016-x>

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Farmacologia. 8a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

RIVERA-HERNANDEZ, G., ANTUNES-RICARDO, M., MARTÍNEZ-MORALES, P., SANCHEZ, M. L. Polyvinyl alcohol based-drug delivery systems for cancer treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 600, p. 120478, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120478>

ROCKWOOD, D. N., PREDA, R. C., YÜCEL, T., WANG, X., LOVETT, M. L., KAPLAN, D. L. Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin. **Nature protocols**, v. 6, n. 10, p. 1612-1631, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2011.379>.

SALAZAR, M. J. C. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana-gelatina e quitosana-colágeno visando a liberação de fármacos**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75133/tde-22052015-092217/publico/MaxJorgeCarlosSalazarrevisada.pdf>. Acesso em 12 jan 2023.

SCHRÖR, K. **Acetylsalicylic acid**. John Wiley & Sons, 2016.

SEABRA, C. I. R. Farmacocinética do ibuprofeno. Dissertação (mestrado) Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2015. Disponível em: https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5305/1/PPG_19606.pdf. Acesso em 10 de jan de 2020.

SECRETÁRIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO (SEAB). Paraná assume protagonismo global na rede que incentiva a produção de seda, 2021. Disponível em: <https://www.agricultura.pr.gov.br/Noticia/Parana->

assumeprotagonismo-global-na-rede-que-incentiva-producao-de-seda. Acesso em: 2 mai 2022.

SHIN, D., LEE, S. J., HA, Y. M., CHOI, Y. S., KIM, J. W., PARK, S. R., PARK, M. K. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation according to absorption differences in three formulations of ibuprofen. **Drug design, development and therapy**, p. 135-141, 2017. DOI: <http://doi.org/10.2147/DDDT.S121633>

SOSTRES, C.; GARGALLO, C. J; ARROYO, M. T; LANAS, A. Adverse effects of non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best practice & research Clinical gastroenterology**, v. 24, n. 2, p. 121-132, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2009.11.005>

TAJES, M., RAMOS-FERNÁNDEZ, E., WENG-JIANG, X., BOSCH-MORATÓ, M., GUIVERNAU, B., ERASO-PICHOT, A., SALVADOR, B., FERNÁNDEZ BUSQUETS, X., ROQUER, J., MUÑOZ, F. J. The blood-brain barrier: structure, function and therapeutic approaches to cross it. **Molecular membrane biology**, v. 31, n. 5, p. 152-167, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3109/09687688.2014.937468>

TAO, H; KAPLAN, D. L; OMENETTO, F.G. Silk materials—a road to sustainable high technology. **Advanced materials**, v. 24, n. 21, p. 2824-2837, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.201104477>

TEIXEIRA, M. Z. Efeito rebote dos fármacos modernos: evento adverso grave desconhecido pelos profissionais da saúde. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 6, p. 629-638, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ramb.2013.05.003>

TEODORESCU, M; BERCEA, M; MORARIU, S. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: Perspectives and challenges. **Biotechnology advances**, v. 37, n. 1, p. 109-131, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.008>

TOLEDO, V. F. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de alginato/quitosana contendo ácido retinóico e óleo de babaçu**. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Pernambuco. 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/2946>. Acesso em: 28 mai 2023.

TSUBOUCHI, K., NAKAO, H., IGARASHI, Y., TAKASU, Y., YAMADA, H. *Bombyx mori* fibroin enhanced the proliferation of cultured human skin fibroblasts. **Journal of Insect Biotechnology and Sericology**, v. 72, n. 1, p. 65-69, 2003. DOI: <https://doi.org/10.11416/jibs.72.65>

VARRASSI, G., PERGOLIZZI, JV, DOWLING, P., PALADINI, A. Segurança do ibuprofeno nas bodas de ouro: todos os AINEs são iguais? Uma revisão narrativa. **Avanços na terapia**, v. 37, p. 61-82, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01144-9>

VERDASCA, A. C. R. S. Utilização dos Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINES) em Medicina Dentária: Indicações, Contraindicações e Efeitos Adversos. **Faculdade de Medicina Dentaria**. UNI. Porto 2015. Disponível em: file:///C:/Users/Gleicielle/Downloads/Ana_Clara_Verdasca. Acesso em: 18 mar 2023.

WANG, K; MA, Q; ZHANG, Y. M; HAN, G. T; QU, C. X; WANG, S. D. Preparation of bacterial cellulose/silk fibroin double-network hydrogel with high mechanical strength and biocompatibility for artificial cartilage. **Cellulose**, v. 27, n. 4, p. 1845-1852, 2020/03/01 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02869-0>

WANG, X.; YUCEL, T.; LU, Q.; HU, X.; KAPLAN, D. L. Silk nanospheres and microspheres from silk/pva blend films for drug delivery. **Biomaterials**, v. 31, n. 6, p. 1025-1035, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.002>

WANI, S. U. D; GAUTAM, S. P; QADRIE, Z. L; GANGADHARAPPA, H. V. Silk fibroin as a natural polymeric based bio-material for tissue engineering and drug

delivery systems - A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 2145-2161, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.057>

WEI, X; SUN, N; WU, B; YIN, C; WU, W. Sigmoidal release of indomethacin from pectin matrix tablets: effect of in situ crosslinking by calcium cations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, n. 1-2, p. 132-138, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.03.024>

WONGPINYOCHIT, T.; JOHNSTON, B. F.; SEIB, F. P. Manufacture and Drug Delivery Applications of Silk Nanoparticles. **J Vis Exp**, n. 116, Oct 8, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3791/54669>

XU, L., WANG, X., LIU, Y., YANG, G., FALCONER, R. J., ZHAO, C. X. Lipid nanoparticles for drug delivery. **Advanced NanoBiomed Research**, v. 2, n. 2, p. 2100109, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/anbr.202100109>

YAMADA, H., IGARASHI, Y., TAKASU, Y., SAITO, H., TSUBOUCHI, K. Identification of fibroin-derived peptides enhancing the proliferation of cultured human skin fibroblasts. **Biomaterials**, v. 25, n. 3, p. 467-472, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00540-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00540-4)

ZHANG, H.; WANG, Z.; LIU, O. Development and validation of a GC-FID method for quantitative analysis of oleic acid and related fatty acids. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 5, n. 4, p. 223-230, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.01.005>

ZHAO, Z., LI, Y., XIE, M. B. Silk fibroin-based nanoparticles for drug delivery. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 3, p. 4880-4903, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms16034880>