



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Química

JACYARA MOREIRA MARTINS VIDART

**DESENVOLVIMENTO DE PARTÍCULAS À BASE DE SERICINA E ALGINATO
PARA INCORPORAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO E IBUPROFENO**

CAMPINAS

2019

JACYARA MOREIRA MARTINS VIDART

**DESENVOLVIMENTO DE PARTÍCULAS À BASE DE SERICINA E ALGINATO
PARA INCORPORAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO E IBUPROFENO**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Meuris Gurgel Carlos da Silva

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Melissa Gurgel Adeodato Vieira

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA
PELA ALUNA JACYARA MOREIRA
MARTINS VIDART, E ORIENTADA PELA
PROF^a DR^a MEURIS GURGEL CARLOS DA
SILVA.

CAMPINAS

2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Elizangela Aparecida dos Santos Souza - CRB 8/8098

V667d Vidart, Jacyara Moreira Martins, 1988-
Desenvolvimento de partículas à base de sericina e alginato para
incorporação de diclofenaco de sódio e ibuprofeno / Jacyara Moreira Martins
Vidart. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Meuris Gurgel Carlos da Silva.
Coorientador: Melissa Gurgel Adeodato Vieira.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Engenharia Química.

1. Alginatos. 2. Diclofenaco. 3. Ibuprofeno. 4. Liberação controlada. I. Silva,
Meuris Gurgel Carlos da, 1955-. II. Vieira, Melissa Gurgel Adeodato, 1979-. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV.
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Development of particles based on sericin and alginate for
incorporation of diclofenac sodium and ibuprofen

Palavras-chave em inglês:

Alginate

Diclofenac

Ibuprofen

Controlled release

Área de concentração: Engenharia Química

Titulação: Doutora em Engenharia Química

Banca examinadora:

Meuris Gurgel Carlos da Silva [Orientador]

Maria Regina Wolf Maciel

Roniérrik Pioli Vieira

João Jorge Ribeiro Damasceno

Marcelino Luiz Gimenes

Data de defesa: 22-04-2019

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-9113-7755>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5261433757314108>

Folha de Aprovação da Defesa de Tese de Doutorado defendida por Jacyara Moreira Martins Vidart aprovada em 22 de abril de 2019 pela banca examinadora constituída pelos seguintes doutores:

Profa. Dra. Meuris Gurgel Carlos da Silva
FEQ / UNICAMP

Profa. Dra. Maria Regina Wolf Maciel
FEQ / UNICAMP

Prof. Dr. Roniérík Pioli Vieira
FEQ / UNICAMP

Dr. João Jorge Ribeiro Damasceno
Universidade Federal de Uberlândia / UFU

Dr. Marcelino Luiz Gimenes
UEM

ATA da Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por mais uma conquista alcançada.

À minha mãe Fátima e minha irmã Aryse pelo amor, apoio e por sempre se fazerem presentes mesmo estando distantes.

Ao meu marido Cleiton por todo amor, paciência e companheirismo, sempre presente e me apoiando em cada passo.

À professora orientadora Dra. Meuris Gurgel Carlos da Silva e professora co-orientadora Dra. Melissa Gurgel Adeodato Vieira pelo acompanhamento, orientação e pela oportunidade.

Ao professor Dr. Marcelino Gimenes (UEM) pelo apoio ao trabalho com a sericina.

Ao professor Dr. Edson Silva (UNIOESTE) pelo apoio com as modelagens matemáticas.

Ao professor Dr. Paulo Rosa (Faculdade de Ciências Farmacêuticas / UNICAMP) pelo apoio com os estudos relacionados aos fármacos.

Aos professores que aceitaram participar das bancas de avaliação e que sempre contribuíram para o desenvolvimento do trabalho com suas sugestões.

Aos amigos do LEA/LEPA, especialmente ao Thiago, Manu, Gabi e Júlia por todo companheirismo e amizade, auxiliando em diversas etapas do trabalho.

À empresa de fiação BRATAC pela doação dos casulos utilizados nesse estudo.

À farmácia de manipulação Magis Pharma pela doação de alguns fármacos.

À Faculdade de Engenharia Química - UNICAMP e seus funcionários pela colaboração no desenvolvimento desse trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos, processo 140584/2014-5, e ao CNPq e FAPESP, processo 2015/13505-9, pelo suporte financeiro.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram na concretização desse trabalho.

RESUMO

A sericina é uma proteína globular presente nos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), sendo usualmente descartada nos efluentes do processo da manufatura e fiação da seda. O alginato é um polissacarídeo natural que pode ser extraído de algas marrons, abundantes nas costas marítimas em diferentes partes do mundo. A blenda entre sericina e alginato pode fornecer características adequadas para a incorporação de fármacos, sendo uma promissora matriz gastrorresistente e de liberação modificada para a encapsulação de diclofenaco de sódio e de ibuprofeno. O presente trabalho teve como objetivo a incorporação dos fármacos diclofenaco de sódio e ibuprofeno à blenda de sericina e alginato na forma de partículas esféricas. O desenvolvimento do projeto envolveu as etapas de extração da sericina dos casulos de bicho-da-seda por autoclave, sendo utilizada para a preparação destas partículas pelo método de gelificação iônica. Experimentos de incorporação dos fármacos foram realizados para determinar a eficiência de incorporação dos fármacos à blenda, e o perfil de liberação dos fármacos aprisionados na blenda foram investigados pelos ensaios de dissolução. A sericina aumentou a eficiência de incorporação dos fármacos, alcançando valores na faixa de 71,62 % a 90,40 % para o diclofenaco de sódio, e de 73,01 % a 94,15 % para o ibuprofeno. Essa eficiência de incorporação foi também aumentada pela utilização de polietilenoglicol como agente reticulante da blenda. O alginato afetou a liberação do fármaco, conferindo às formulações desenvolvidas a característica de gastrorresistência. A proporção de 2,5 % (m/V) de sericina, 2,8 % (m/V) de alginato e 2,0 % (m/V) de fármaco na composição da blenda, mostrou-se como a mais adequada para a incorporação e liberação controlada dos fármacos, atingindo liberação total em meio entérico simulado em 360 min para o diclofenaco de sódio e em 1400 min para o ibuprofeno. O mecanismo de liberação dos fármacos estudados foi avaliado utilizando modelos matemáticos, os quais indicaram que a liberação do diclofenaco de sódio das formulações desenvolvidas pode ser associada ao processo de intumescimento, erosão da matriz e uma mistura de difusão e mecanismos de relaxação das cadeias. Para as formulações contendo ibuprofeno, verificou-se que além das características de liberação obtidas para o diclofenaco de sódio, em algumas formulações o mecanismo de liberação é governado pela difusão Fickiana do fármaco ao longo da matriz, de forma a atingir uma liberação mais prolongada. O estudo de estabilidade em câmara climática revelou que as formulações desenvolvidas são estáveis quando submetidas a 40 °C e UR 75 % após 6 meses. A caracterização das partículas comprovou a incorporação dos fármacos na matriz de sericina e alginato. Além disso, a distribuição do tamanho das partículas indicou que a sericina

melhorou a reprodutibilidade das formulações, fornecendo partículas com diâmetros médios na faixa de 1,18 mm a 1,46 mm para as formulações contendo diclofenaco de sódio e 0,80 mm a 1,08 mm para as formulações contendo ibuprofeno. No desenvolvimento dessa tese foi possível definir as condições de processo mais adequadas para a incorporação dos fármacos à matriz de sericina e alginato, sendo essa uma matriz com potencial uso para a liberação modificada dos fármacos estudados.

Palavras-chave: sericina, alginato, diclofenaco de sódio, ibuprofeno, liberação controlada.

ABSTRACT

Sericin is a globular protein present in silkworm cocoons (*Bombyx mori*) and is usually discarded in the manufacturing and spinning process effluents. Alginate is a natural polysaccharide that can be extracted from brown algae, abundant on the sea coasts around the world. The blend between sericin and alginate may provide adequate characteristics for drug incorporation, being a promising gastroresistant and modified release matrix for the encapsulation of diclofenac sodium and ibuprofen. The aim of the present work was to incorporate diclofenac sodium and ibuprofen into the sericin and alginate blends in the form of spherical particles. The development of the project involved the extraction steps of sericin from silkworm cocoons by autoclaving, being used for the preparation of the particles of sericin and alginate by the ionic gelation method. Drug incorporation experiments were performed to determine the efficiency of drug incorporation into the blend, and the release profile of the drugs trapped in the blend were investigated by the dissolution assays. Sericin increased the efficiency of incorporation of the drugs, reaching values in the range of 71.62 % to 90.40 % for diclofenac sodium, and from 73.01 % to 94.15 % for ibuprofen. The use of polyethylene glycol as the crosslinking agent of the blend increased the efficiency of the drugs incorporation. Alginate affected the release of the drug, giving the developed formulations the characteristic of gastro-resistance. The proportion of 2.5 % (m/V) sericin, 2.8 % (m/V) alginate and 2.0 % (m/V) drug in the blend composition proved to be the most adequate for the incorporation and controlled release of the drugs, reaching total release in simulated enteric medium in 360 min for diclofenac sodium and in 1400 min for ibuprofen. The release mechanism of the studied drugs was evaluated using mathematical models, which indicated that the release of diclofenac sodium from the formulations developed can be associated to the process of swelling, matrix erosion and a mixture of diffusion and chain relaxation mechanisms. For formulations containing ibuprofen, it has been found that in addition to the release characteristics obtained for diclofenac sodium, in some formulations the release mechanism is governed by Fickian diffusion of the drug along the matrix, to achieve a longer release. The stability study in the climatic chamber revealed that the formulations developed are stable when subjected to 40 °C and 75 % RH after 6 months. Particle characterization confirmed the incorporation of the drugs into the sericin and alginate matrix. In addition, particle size distribution indicated that sericin improved the reproducibility of the formulations by providing particles with average diameters in the range of 1.18 mm to 1.46 mm for the formulations containing diclofenac sodium and 0.80 mm to 1.08 mm for

formulations containing ibuprofen. In the development of this thesis it was possible to define the most suitable process conditions for the incorporation of the drugs into the sericin and alginate matrix, being a matrix with potential use for the modified release of the drugs studied.

Key words: sericin, alginate, diclofenac sodium, ibuprofen, controlled release.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 2-1.** Metamorfose do *Bombyx mori* (BRANCALHÃO, 2005)..... 25
- Figura 2-2.** (a) Lagarta construindo casulo, (b) casulo, (c) pupa no interior do casulo (Adaptado de BRANCALHÃO, 2005). 25
- Figura 2-3.** Estrutura da fibra da seda. (Adaptado de HO *et al.*, 2002)..... 26
- Figura 2-4.** Características estruturais dos alginatos: (A) monômeros de alginato, (B) estrutura química dos monômeros, (C) conformação da cadeia, e (D) distribuição em blocos. (SILVA *et al.*, 2017)..... 33
- Figura 2-5.** Formação de gel de alginato de cálcio: (a) ligação entre as cadeias poliméricas através dos íons cálcio situados entre os grupos de carga negativa; (b) formação da rede gel das cadeias unidas pelos íons cálcio (adaptado de KAWAGUTI e SATO, 2008).. 34
- Figura 2-6.** Comparação ilustrativa das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais de multidosagem (a) e sistema de liberação controlada (b), sendo A a administração do fármaco (VULCANI, 2004). 37
- Figura 2-7.** Representação esquemática da quantidade acumulativa de fármaco cedido de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata (convencional), prolongada e retardada (AULTON, 2005)..... 38
- Figura 2-8.** Matriz insolúvel: após a administração, a água presente nos fluidos do trato gastrointestinal penetra na FF e dissolve o fármaco. Como consequência, são formados canais na estrutura da matriz, através dos quais o fármaco é gradualmente liberado por difusão (PEZZINI *et al.*, 2007). 40
- Figura 2-9.** Matriz hidrofílica: a água presente no trato gastrointestinal penetra na superfície da FF, hidrata o polímero, que intumescce e forma uma camada gelificada. O fármaco contido nessa camada dissolve e difunde a partir da matriz ou é liberado quando ela sofre erosão. Quando a camada gelificada erode, expõe a superfície da FF novamente e o processo se repete (PEZZINI *et al.*, 2007). 41

Figura 2-10. Sistema reservatório: a água penetra na FF e dissolve o fármaco, o qual difunde através da membrana de revestimento presente na superfície da FF (PEZZINI <i>et al.</i> , 2007).	42
Figura 2-11. Bomba osmótica “push-pull”: a água penetra na FF por osmose, desintegra o núcleo e intumescer o polímero hidrofílico. A expansão da camada osmótica (polímero hidrofílico) promove a liberação do fármaco através do orifício no revestimento (PEZZINI <i>et al.</i> , 2007).....	42
Figura 2-12. Representação esquemática de micropartículas com substância ativa: (a) adsorvida à parede polimérica (nanoesfera), e (b) dissolvida no núcleo oco ou oleoso (nanocápsula) (SCHMALTZ <i>et al.</i> , 2005).	45
Figura 2-13. Desenho esquemático do processo de gelificação por emulsão interna (adaptado de SACCHETIN, 2009).	46
Figura 2-14. Desenho esquemático do processo de gelificação por emulsão externa (adaptado de SACCHETIN, 2009).	47
Figura 2-15. Desenho esquemático do processo de encapsulação por gotejamento seguido de reticulação (SACCHETIN, 2009).	48
Figura 2-16. Desenho esquemático do processo de encapsulação por <i>spray drying</i> (SACCHETIN, 2009).	48
Figura 2-17. Fórmula estrutural do diclofenaco de sódio (ALBANEZ, 2012).....	57
Figura 2-18. Fórmula estrutural do ibuprofeno (ANDRIOLI <i>et al.</i> , 2014).	58
Figura 3-1. Casulos do bicho-da-seda na forma recebida.	61
Figura 3-2. Casulos limpos e cortados utilizados nos experimentos de degomagem.	62
Figura 3-3. Erlenmeyer preparado para a extração da sericina em autoclave.	63
Figura 3-4. Sistema de gotejamento seguido de reticulação para formação das partículas.	68
Figura 3-5. Formulações F5 a F12 (Tabela 3.2) encapsuladas e seladas.....	73
Figura 4-1. Eficiência de incorporação do diclofenaco de sódio das formulações 1 a 4.	76

Figura 4-2. Eficiência de incorporação de diclofenaco de sódio nas formulações F1 a F12.	78
Figura 4-3. Partículas produzidas para as formulações F1 a F12.....	79
Figura 4-4. Perfil de dissolução do diclofenaco de sódio em meio tamponado pH 6,8.....	82
Figura 4-5. Micrografias do Diclofenaco de Sódio puro (DS), partículas com DS incorporado (F5 a F12) e sem DS (SerAlg). (a) Partículas com ampliação de 150×. (b) Seção transversal das partículas com ampliação de 3000×.....	86
Figura 4-6. Efeito da composição da blenda na distribuição do tamanho de partícula.....	88
Figura 4-7. (a) Espectroscopia na região do infravermelho para diclofenaco de sódio puro (DS), partículas de sericina e alginato (Ser/Alg) e formulações produzidas (F5-F12) (b) Difrátogramas de raios X da sericina pura (Ser), do alginato puro (Alg), das partículas de sericina e alginato (Ser/Alg) e das formulações produzidas (F5-F12).....	90
Figura 4-8. Análises de DTA (1), TGA (2) e DTG (3) das formulações F5 a F12, partículas de sericina e alginato sem fármaco (Ser/Alg) e diclofenaco de sódio puro (DS).	92
Figura 4-9. Perfil de dissolução do DS nas formulações F5 a F12 após 3 e 6 meses.	94
Figura 4-10. Eficiência de incorporação de DS nas formulações P1 a P6.....	96
Figura 4-11. Perfil de dissolução de DS incorporado nas formulações P1 a P6.....	98
Figura 4-12. Eficiência de incorporação de Ibuprofeno nas formulações Ibu1 a Ibu5.	101
Figura 4-13. Perfil de dissolução de Ibuprofeno incorporado nas formulações Ibu1 a Ibu5.	103
Figura 4-14. Micrografias do Ibuprofeno puro (Ibu) e partículas com Ibuprofeno incorporado (Ibu1 a Ibu5). (a) Partículas com ampliação de 150×. (b) Seção transversal das partículas com ampliação de 1000×.....	107
Figura 4-15. Distribuição do tamanho de partículas das formulações contendo Ibuprofeno.	108
Figura 4.16. Espectroscopia na região do infravermelho para ibuprofeno puro (Ibu), partículas de sericina e alginato (Ser/Alg) e formulações produzidas (Ibu1-Ibu5).....	110

Figura 4.17. Análises de TGA (1), DTG (2) e DTA (3) das formulações IBU1 a IBU5, partículas de sericina e alginato sem fármaco (SerAlg) e ibuprofeno puro (IBU)..... 112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-1. Exemplos de fármacos encapsulados.	20
Tabela 3-1. Formulações com variação da concentração de fármaco na blenda.	66
Tabela 3-2. Formulações com variação da concentração de alginato na blenda	66
Tabela 3-3. Formulações contendo PEG na composição da blenda.	67
Tabela 3-4. Formulações desenvolvidas para o Ibuprofeno.	67
Tabela 4-1. Eficiência de incorporação das formulações com variação da concentração de fármaco na blenda.....	75
Tabela 4-2. Eficiência de incorporação de diclofenaco de sódio nas formulações com variação da concentração de alginato na blenda.	77
Tabela 4-3. Liberação de diclofenaco de sódio em meio ácido para as formulações F5 a F12.	80
Tabela 4-4. Modelagem matemática para o perfil de dissolução do diclofenaco de sódio. .	84
Tabela 4-5. Eficiência de incorporação de DS das formulações F5 a F12 após 3 e 6 meses.	93
Tabela 4-6. Eficiência de incorporação de DS das formulações P1 a P6.	96
Tabela 4-7. Liberação de diclofenaco de sódio em meio ácido para as formulações P1 a P6.	97
Tabela 4-8. Modelagem matemática para o perfil de dissolução do DS incorporado nas formulações P1 a P6.	99
Tabela 4-9. Eficiência de incorporação do Ibuprofeno nas formulações Ibu1 a Ibu5.....	100
Tabela 4.10. Modelagem matemática para o perfil de dissolução do Ibuprofeno incorporado nas formulações Ibu1 a Ibu5.....	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DRX – Difração de Raios X

DS – Diclofenaco de Sódio

DTA – Análise Térmica Diferencial

DTG – Termogravimetria Derivada

EC – Etilcelulose

FF – Forma farmacêutica

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

HA – Hidroxiapatita

HCl – Ácido Clorídrico

IBU – Ibuprofeno

LEA – Laboratório de Engenharia Ambiental

LEPA – Laboratório de Engenharia e Processos Ambientais

PEG – Éter polietilenoglicol diglicídico

PHB – Polihidroxibutirato

PHBV – Poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)

R_a² – Coeficiente de determinação ajustado

TGA – Termogravimetria

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1. MOTIVAÇÃO DA PESQUISA.....	19
1.2. OBJETIVOS.....	22
1.2.1. OBJETIVO GERAL.....	22
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1. SEDA E SERICICULTURA	24
2.2. COMPOSIÇÃO DA SEDA	26
2.2.1. FIBROÍNA	27
2.2.2. SERICINA.....	27
2.2.2.1. EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO DA SERICINA	30
2.3. ALGINATO	32
2.4. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	36
2.4.1. FÁRMACOS.....	36
2.4.2. SISTEMAS PORTADORES DE FÁRMACOS	43
2.5. MÉTODOS DE ENCAPSULAÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS.....	45
2.6. FARMACOCINÉTICA	49
2.6.1. PROCESSOS FARMACOCINÉTICOS	52
2.6.1.1. ABSORÇÃO	53
2.6.1.2. DISTRIBUIÇÃO.....	54
2.6.1.3. METABOLISMO	54
2.6.1.4. EXCREÇÃO.....	55
2.7. FÁRMACOS DE ESTUDO – ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES	55
2.7.1. DICLOFENACO DE SÓDIO	56
2.7.2. IBUPROFENO	58
3. MATERIAIS E MÉTODOS	60
3.1. EQUIPAMENTOS.....	60
3.2. CASULOS DO BICHO-DA-SEDA	61
3.3. PREPARAÇÃO DOS CASULOS PARA EXTRAÇÃO.....	61
3.4. PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA SERICINA	62
3.5. FRACIONAMENTO DA SERICINA	63
3.6. CONCENTRAÇÃO DA SERICINA NA SOLUÇÃO EXTRAÍDA.....	64
3.7. INCORPORAÇÃO DE FÁRMACOS À BLENDAS DE SERICINA E ALGINATO.....	64
3.8. PREPARAÇÃO DAS PARTÍCULAS	67
3.9. DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DO FÁRMACO	68

3.10.	ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS IN VITRO	69
3.11.	ESTUDO CINÉTICO DA LIBERAÇÃO	70
3.12.	CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS.....	70
3.12.1.	ANÁLISE MORFOLÓGICA E DE SUPERFÍCIE	71
3.12.2.	DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA POR MICROSCOPIA ÓTICA.....	71
3.12.3.	IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E LIGAÇÕES PRESENTES NAS AMOSTRAS (FT-IR)	71
3.12.4.	AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA (DRX)	71
3.12.5.	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E TERMODIFERENCIAL (TGA/DTA).....	72
3.13.	ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DESENVOLVIDAS.....	72
3.14.	DINÂMICA PARA DEFINIÇÃO DE AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE FÁRMACO... 73	
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	75
4.1.	FORMULAÇÕES CONTENDO DICLOFENACO DE SÓDIO	75
4.1.1.	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO	75
4.1.2.	AVALIAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO	80
4.1.3.	AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO	83
4.1.4.	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES COM DICLOFENACO DE SÓDIO (DS)	85
4.1.4.1.	ANÁLISE MORFOLÓGICA E DE SUPERFÍCIE (MEV).....	85
4.1.4.2.	DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA	86
4.1.4.3.	AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA (DRX) E IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E LIGAÇÕES PRESENTES NAS FORMULAÇÕES (FTIR).....	89
4.1.4.4.	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA – TGA/DTA	90
4.1.5.	ESTUDO DE ESTABILIDADE EM CÂMARA CLIMÁTICA	93
4.2.	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PEG NAS FORMULAÇÕES COM DS.....	95
4.2.1.	EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES P1 A P6	95
4.2.2.	PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE DS NAS FORMULAÇÕES P1 A P6	96
4.2.3.	CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE DS NAS FORMULAÇÕES P1 A P6.....	98
4.3.	FORMULAÇÕES CONTENDO IBUPROFENO	100
4.3.1.	EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DE IBUPROFENO.....	100
4.3.2.	PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE IBUPROFENO.....	102
4.3.3.	CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE IBUPROFENO.....	103
4.3.4.	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES COM IBUPROFENO	106
4.3.4.1.	ANÁLISE MORFOLÓGICA E DE SUPERFÍCIE (MEV) DAS FORMULAÇÕES COM IBUPROFENO.....	106
4.3.4.2.	DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA POR MICROSCOPIA ÓTICA	107
4.3.4.3.	IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E LIGAÇÕES PRESENTES (FTIR) NAS FORMULAÇÕES CONTENDO IBUPROFENO	109

4.3.4.4. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO IBUPROFENO – TGA/DTA	110
5. CONCLUSÕES.....	113
6. PRODUÇÃO CIENTÍFICA E TÉCNICA	117
6.1. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS	117
6.2. CAPÍTULOS DE LIVROS PUBLICADOS	118
6.3. TRABALHOS COMPLETOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS	118
6.4. RESUMOS EXPANDIDOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS.....	119
6.5. PATENTE	119
7. SUGESSTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	121
8. REFERÊNCIAS.....	122

1. INTRODUÇÃO

1.1. MOTIVAÇÃO DA PESQUISA

A sericina é uma proteína globular hidrossolúvel presente nos casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), usualmente descartada nos efluentes líquidos dos processos de degomagem e fiação da seda. Embora não apresente toxicidade, a alteração do meio causada pelo descarte da sericina pode impactar negativamente o meio ambiente, originando, por exemplo, um aumento da demanda química de oxigênio devido a presença de proteína. Esta proteína, por outro lado, apresenta excelentes propriedades antioxidantes, antibacterianas e resistência à radiação ultravioleta e umidade, atraindo a atenção de pesquisadores para diversos usos, sendo atualmente explorada em aplicações como cosméticos, suportes para enzimas imobilizadas, suplementação alimentar, materiais médicos e farmacêuticos, e fibras funcionais (ZHANG, 2002; KONGDEE *et al.*, 2004; MONDAL *et al.*, 2007; ARANWIT *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2019).

Uma alternativa para melhorar as propriedades estruturais da sericina é a formação de blendas a partir desta proteína. O biopolímero alginato, amplamente empregado nas indústrias farmacêutica, alimentícia, têxtil e de papel, apresenta algumas propriedades que o tornam adequado para a incorporação de fármacos, como a sua biocompatibilidade, bioadesividade, sensibilidade ao pH, condições brandas de gelificação e facilidade de modificação química. Desta forma, a produção da blenda entre sericina e alginato pode fornecer partículas com propriedades favoráveis para a incorporação de fármacos (ZHANG *et al.*, 2002; KHANDAI *et al.*, 2010).

O custo das pesquisas na área farmacêutica para o desenvolvimento de novas substâncias ativas é, em geral, muito elevado. Sendo assim, há um grande interesse das indústrias farmacêuticas no desenvolvimento de novas formas e diferentes sistemas de liberação de fármacos, com os princípios ativos já existentes. Com diferentes formas farmacêuticas, os medicamentos podem adquirir características diferenciadas que podem solucionar problemas presentes nos ativos, como a baixa absorção, efeitos colaterais e não adesão do paciente ao tratamento (ALLEN *et al.*, 2007).

A Tabela 1.1 apresenta alguns exemplos contidos na literatura de fármacos que foram encapsulados, sua finalidade, bem como o método empregado para obtenção das micropartículas.

Tabela 1-1. Exemplos de fármacos encapsulados.

Fármacos encapsulados	Material encapsulante	Método	Finalidade da Microencapsulação	Referência bibliográfica
Paracetamol	Acetato ftalato de celulose	Emulsificação/evaporação do solvente	Mascarar o sabor	Sprockel e Prapaitrakul, 1990
Ácido acetilsalicílico	EC	Emulsificação/evaporação do solvente	Mascarar o sabor, liberação prolongada, reduzir irritação gástrica	Dash et al., 2010
Dinitrato de isossorbida	PHB	<i>Spray drying</i>	Liberação prolongada	Kim et al., 2000
Levonogestrel	PHB	Emulsificação/evaporação do solvente	Contraceptivo de longa duração	Lu et al., 2001
Alendronato de sódio	PHBV/ hidroxiapatita	Emulsificação/evaporação do solvente	Reparação óssea/ liberação local prolongada	Huang et al., 2009
Gentamicina	PHBV/ hidroxiapatita	Emulsificação/evaporação do solvente	Sistema de liberação controlada de longa duração	Wang et al., 2007
Diclofenaco de sódio	EC	Coacervação/ Separação de Fases	Liberação prolongada	Ahmad et al., 2011
<i>Vibrio cholerae</i>	Eudragit® L30D-55 e FS30D	<i>Spray drying</i>	Estabilidade e liberação controlada de fármacos e outros agentes bioativos (e.g. antígenos)	Año et al., 2011
Ibuprofeno	Alginato de sódio	Gelificação iônica	Liberação controlada	Ballester et al., 2019

Sistemas matriciais poliméricos empregados como sistemas de liberação modificada de fármacos tem o propósito de modular a dissolução do princípio ativo de acordo com o efeito terapêutico necessário. Entre os diferentes tipos de sistemas de liberação modificada de fármacos, tem-se a forma farmacêutica gastrorresistente a qual impede a liberação de ativos no meio gástrico, fazendo com que este seja liberado somente no meio entérico, reduzindo os distúrbios gástricos provocados por determinados fármacos. Já os sistemas de liberação controlada, mantém a taxa de liberação do ativo praticamente constante, de forma que o ativo não atinja níveis tóxicos no organismo (COSTA e LOBO, 1999; KLEINUBING, 2013).

O presente estudo visou ao desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação modificada a partir da microencapsulação de fármacos em blenda de sericina e alginato, o que poderá permitir um melhor controle das taxas de liberação do fármaco no organismo e/ou retardamento da liberação do fármaco (formulações gastrorresistentes), quando administrado por via oral, resultando na redução dos efeitos colaterais causados pelos níveis tóxicos atingidos devido aos picos de liberação do fármaco na corrente sanguínea.

A sericina empregada neste estudo foi obtida pelo processo de extração do casulo da espécie *Bombyx mori*, enquanto que o alginato foi obtido comercialmente. Os fármacos estudados, foram o diclofenaco de sódio e o ibuprofeno. As partículas a base de sericina e alginato, contendo o fármaco incorporado em sua estrutura, foram desenvolvidas pela técnica de gotejamento seguido de reticulação conforme metodologia apresentada por Silva *et al.* (2013). Os perfis de liberação dos princípios ativos incorporados foram avaliados por ensaios de dissolução em soluções que simulavam os meios gástrico e entérico.

Assim, é possível destacar que as principais contribuições desta tese estão no emprego da sericina, que é um rejeito na indústria da seda, para fins de incorporação de fármacos, de maneira a agregar valor a este material, e no desenvolvimento de uma nova forma farmacêutica de liberação modificada à base da blenda entre sericina e alginato que poderá minimizar problemas relacionados aos fármacos que foram estudados, como a redução dos efeitos colaterais ainda existentes nas formas farmacêuticas usuais.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver biomateriais na forma de partículas esféricas geradas a partir de sericina e alginato, para a aplicação na incorporação dos fármacos diclofenaco de sódio e ibuprofeno, visando melhorar a incorporação e sua liberação.

O desenvolvimento do estudo foi dividido em quatro etapas. A primeira etapa consistiu na extração por via física da sericina de casulos de bicho-da-seda – *Bombyx mori* – por autoclave, seguida de uma etapa de fracionamento das soluções de sericina por congelamento e descongelamento. A sericina obtida foi utilizada na segunda etapa deste estudo, para a preparação das partículas de sericina e alginato pelo método de gelificação iônica, sendo reticuladas com cálcio. Na terceira etapa, foram realizados ensaios de incorporação dos fármacos, sendo possível determinar a eficiência de incorporação do fármaco à blenda de sericina e alginato. Por fim, foram realizados ensaios de dissolução, onde foram avaliados os perfis de liberação dos fármacos aprisionados na blenda de sericina e alginato.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O desenvolvimento das etapas envolveu a realização das seguintes atividades:

- A. Extração da sericina dos casulos do bicho-da-seda – *Bombyx mori* – por autoclave;
- B. Fracionamento por congelamento e descongelamento da sericina a partir da solução obtida na degomagem do casulo;
- C. Preparação da blenda de sericina e alginato seguida da incorporação do fármaco (diclofenaco de sódio e ibuprofeno);
- D. Preparação de partículas esféricas de sericina e alginato, contendo o fármaco, pelo método de gelificação iônica;
- E. Avaliação da eficiência de incorporação do diclofenaco de sódio à blenda de sericina e alginato;
- F. Avaliação do perfil de dissolução do Diclofenaco de Sódio (DS) conforme recomendado pela farmacopeia brasileira;

- G. Avaliação dos mecanismos de liberação do DS através da modelagem matemática aplicada ao perfil de dissolução;
- H. Caracterização das partículas com e sem o DS incorporado;
- I. Estudo da estabilidade em câmara climática das formulações desenvolvidas contendo DS;
- J. Avaliação da influência de éter polietilenoglicol diglicídico (PEG) nas formulações contendo DS;
- K. Avaliação da eficiência de incorporação do ibuprofeno à blenda de sericina e alginato;
- L. Avaliação do perfil de dissolução do ibuprofeno conforme recomendado pela farmacopeia brasileira;
- M. Avaliação dos mecanismos de liberação do ibuprofeno através da modelagem matemática aplicada ao perfil de dissolução, e
- N. Caracterização das partículas com e sem o ibuprofeno incorporado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo apresentará uma abordagem geral a respeito da sericina e do alginato, sendo estes os polímeros utilizados para a produção da blenda desenvolvida com a finalidade de incorporar fármacos em sistemas de liberação modificados. Ainda, discorrerá sobre os sistemas de liberação de fármacos bem como os métodos de encapsulação de agentes bioativos. Com a finalidade de esclarecer os mecanismos de incorporação dos fármacos e avaliar a sua eficiência, os processos farmacocinéticos serão apresentados, em particular, os fármacos avaliados neste trabalho.

2.1. SEDA E SERICICULTURA

A seda é uma fibra têxtil natural produzida por larvas de insetos e aranhas pertencentes ao filo *Arthropoda*. Porém, as fibras mais apropriadas para exploração comercial são produzidas por larvas pertencentes à ordem *Lepidóptera*, sendo que as mais utilizadas são as secretadas pelos insetos pertencentes à família *Bombycidae*, a qual inclui a domesticada mariposa *Bombyx mori*, conhecida popularmente como bicho-da-seda (MAUERSBERGER, 1954; MONDAL *et al.*, 2007).

O *Bombyx mori* é um inseto holometábola, ou seja, apresenta metamorfose completa, conforme apresentado na Figura 2.1, onde passa por quatro estágios morfológicos distintos durante seu ciclo de vida, o qual tem duração de 55 a 60 dias: ovo, lagarta ou larva, pupa ou crisálida e adulto, sendo o estágio adulto conhecido como mariposa. As lagartas passam por cinco estágios, classificados em 1^a, 2^a, 3^a, 4^a e 5^a idade. Após cinco semanas, quando a lagarta está na 5^a idade, ela para de se alimentar, e conforme mostrado pela Figura 2.2, inicia a fiação do casulo que dura de 3 a 6 dias, e se converte em pupa, que mais tarde se transformará em mariposa (BRANCALHÃO, 2005; TURBIANI, 2011).

A espécie *Bombyx mori*, a qual se alimenta exclusivamente da amoreira, contribui com 95 % do total da produção mundial de fios de seda utilizados na confecção de tecidos. As espécies de bicho-da-seda selvagens, produtores da seda Mouga, Eri e Tasar, alimentam-se de diversas outras espécies de plantas, como carvalho e mamoneira, e representam os 5 % restantes da produção mundial. Desta forma, a sericicultura abrange, além da criação dos bichos-da-seda, o cultivo da amoreira (*Morus sp.*). O comprimento dos fios de seda nos casulos varia, em geral, de 800 a 1500 metros, com espessura de 0,002 mm (HOLANDA *et al.*, 2004; BUSCH, 2010).



Figura 2-1. Metamorfose do *Bombyx mori* (BRANCALHÃO, 2005).

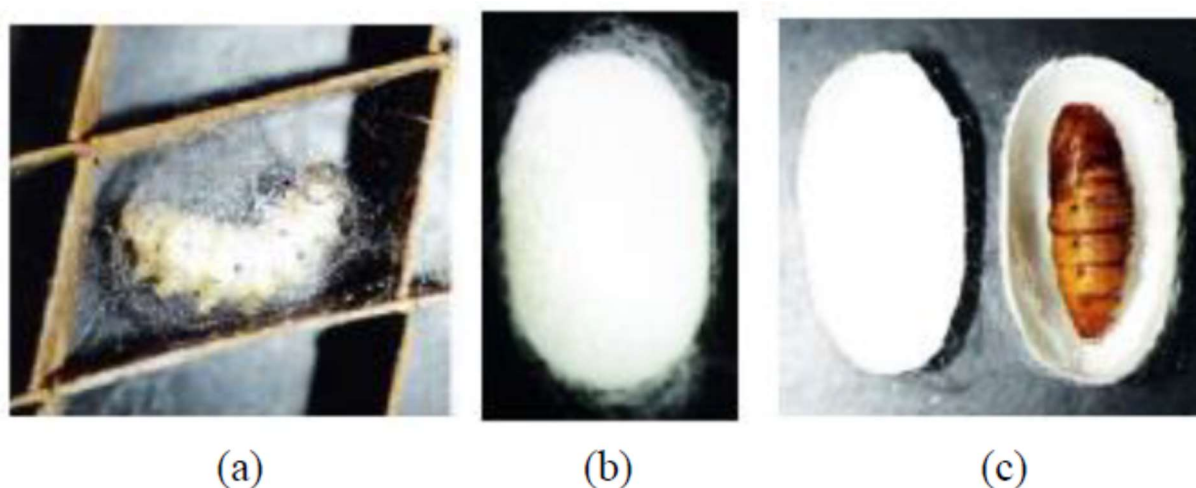


Figura 2-2. (a) Lagarta construindo casulo, (b) casulo, (c) pupa no interior do casulo
(Adaptado de BRANCALHÃO, 2005).

A sericultura trata-se de uma arte milenar, iniciada na China com o objetivo de produzir fibra têxtil. A partir da China, a criação do bicho-da-seda foi introduzida no Japão, no Turquestão e na Grécia. Em 1740, o bicho-da-seda passou a ser criado na Espanha, na França, na Itália e na Áustria. No Brasil, a sericultura foi introduzida no século XIX, durante o reinado de D. Pedro I, no estado do Rio de Janeiro, município de Itaguaí, onde foi instalada a primeira indústria de seda nacional (BRANCALHÃO, 2005; PÁDUA, 2005).

De acordo com a Comissão Internacional de Sericultura, a China é o maior produtor mundial de casulos de bicho-da-seda, seguida pela Índia, Uzbequistão, Brasil e Japão. O Brasil é o único produtor de fios da seda em escala comercial no ocidente, produzindo cerca de 600 toneladas de fios de seda crua por ano. São Paulo e Paraná são os principais estados brasileiros produtores de seda. O Paraná é responsável por 87,8 % da

produção de casulos, porém a industrialização do fio está dividida entre São Paulo (46,6 %) e Paraná (53,4 %) (BRANCALHÃO, 2005; GIACOMIM *et al.*, 2017).

2.2. COMPOSIÇÃO DA SEDA

O casulo do *Bombyx mori* é constituído principalmente por dois componentes proteicos: a sericina e a fibroína. A fibroína constitui 70 – 80 % da massa seca do casulo, sendo, portanto, o principal componente do fio da seda. A sericina compreendendo os 20 – 30 % restantes é uma proteína com propriedades adesivas, de fundamental importância para a manutenção das fibras de fibroína unidas, responsáveis pela resistência e proteção do casulo (ZHANG, 2002; PADAMWAR e PAWAR, 2004).

Iniciando a fiação do casulo, o bicho-da-seda tece fibras compostas, cada uma, por dois núcleos de fibroína rodeado por uma camada de sericina, conforme mostrado na Figura 2.3. Quando a sericina é removida da seda crua através do processo de degomagem, os dois núcleos de fibroína são descobertos, tornando a fibra de seda degomada muito mais fina e melhorando a sensação de seda têxtil, aumentando, inclusive, o brilho da fibra de seda. Embora fibroína e sericina sejam proteínas, suas composições são significativamente diferentes. A fibroína é de natureza hidrofóbica, enquanto a sericina é hidrofílica, o que facilita a sua separação. A remoção da sericina aumenta o valor da seda como fibra têxtil, sendo então considerada um resíduo da indústria da seda (RIGUEIRO *et al.*, 2001; HO *et al.*, 2012; PARK *et al.*, 2018).

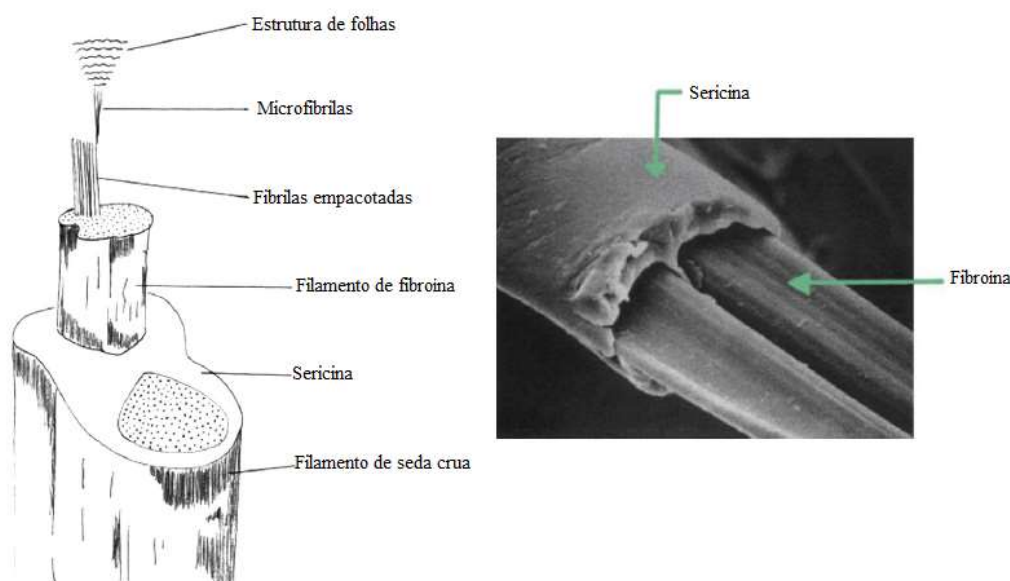


Figura 2-3. Estrutura da fibra da seda. (Adaptado de HO *et al.*, 2002).

2.2.1. FIBROÍNA

A fibroína é uma proteína fibrosa, hidrofóbica, com elevada massa molar, da ordem de 25 a 350 kDa. Sua estrutura é constituída por uma série de folhas- β antiparalelas, intercaladas com segmentos peptídicos irregulares, possuindo domínios cristalinos e amorfos. Sua unidade de repetição contém os aminoácidos glicina (Gli), alanina (Ala) e serina (Ser), dispostos na seguinte ordem: Gli-Ala-Gli-Ala-Gli-Ser, que se repetem ao longo da cadeia. Esta cadeia repetitiva confere à fibroína uma natureza cristalina. Os domínios amorfos caracterizam-se pela presença de aminoácidos com cadeias laterais mais volumosas. A estrutura secundária da fibroína inclui as formas α -hélice, folhas- β e folhas- β cruzadas. Após ser separada da sericina pelo processo de degomagem, a fibroína pode ser utilizada para fins têxteis, médicos, dentre outras aplicações industriais (RIGUEIRO *et al.*, 2001; ALTMAN *et al.*, 2003; PANDAMWAR e PAWAR, 2004).

A fibroína caracteriza-se por ser um material cujas propriedades podem ser personalizáveis dependendo do emprego que se deseja, sendo fácil a modificação de sua estrutura. Além disso, dentre suas principais características estão a biocompatibilidade, sendo muito utilizada nas aplicações biomédicas, facilidade de modificação química, biodegradação, baixa imunogenicidade e boas propriedades mecânicas (QUICENO *et al.*, 2017; MA *et al.*, 2018; FAROKHI *et al.*, 2018).

2.2.2. SERICINA

A sericina é uma proteína globular, hidrofílica, que apresenta uma faixa de distribuição de massa e tamanho bastante ampla, variando de 10 a 400 kDa dependendo do método de extração, pH, temperatura e tempo de processamento, sendo que as de menor massa molar são utilizadas em cosméticos e as de maior massa molar têm maiores aplicações nas áreas biomédicas, em compostos biodegradáveis, entre outros. É composta por 18 tipos de aminoácidos, cuja maioria apresenta grupos fortemente polares, como hidroxil, carboxil e grupos amino. Os principais aminoácidos presentes na sua cadeia são a serina e o ácido aspártico, que conferem uma elevada hidrofiliabilidade à sericina. A presença significativa de grupos polares na sua estrutura facilita a reticulação, copolimerização e formação de blends com outros polímeros para formar materiais biodegradáveis (ZHANG, 2002; PANDAMWAR e PAWAR, 2004; DASH *et al.*, 2009; MANDAL *et al.*, 2009; ARAMWIT *et al.*, 2012).

A estrutura química da sericina ocorre principalmente numa forma espiral aleatória amorfa e, numa menor proporção, em uma estrutura organizada folha- β . A estrutura amorfa facilmente se transforma em estrutura cristalina com a absorção repetida de umidade e estiramento mecânico. Como a sericina é disposta em camadas sobre fibroína, a solubilidade tende a diminuir quanto mais próxima da fibroína a camada de sericina se encontra. Isso ocorre devido ao fato de a quantidade de folhas- β na estrutura da sericina aumentar nessas camadas próximas a fibroína (PANDAMWAR e PAWAR, 2004; TURBIANI, 2011).

De acordo com a sua solubilidade, a sericina tem sido classificada por diversos autores. Tsubouchi *et al.* (2004) identificaram e quantificaram quatro frações de sericina: A (~400 kDa), B (~200 kDa), C (~35 kDa) e D (~250 kDa), sendo que as frações B e D são mais fáceis de serem dissolvidas em água e, portanto, são removidas nos primeiros estágios da degomagem. Pandamwar e Pawar (2004) classificam a sericina em três frações, sendo a fração A a camada mais externa de sericina e solúvel em água quente, a fração B a camada intermediária de sericina e a fração C a camada mais interna de sericina, adjacente à fibroína e insolúvel em água quente, podendo ser removida da fibroína por tratamento ácido ou alcalino diluído quente. Outros pesquisadores classificam as frações de sericina em I, II, III e IV, ou sericina S1, S2, S3 e S4, ou ainda, sericina α , β , ou γ modificada (TAKASU *et al.*, 2010; DAI *et al.*, 2018).

Como dito anteriormente, a sericina apresenta estrutura espiral aleatória amorfa e estrutura organizada folha- β . A estrutura espiral aleatória é solúvel em água quente, e a baixas temperaturas, se converte na estrutura organizada folha- β , resultando na formação de gel. A sericina apresenta propriedades de sol-gel, uma vez que se dissolve facilmente em água a 50 – 60 °C e gelifica-se reversivelmente com o arrefecimento. O ponto isoelétrico da sericina encontra-se ao redor de 4,0 (PANDAMWAR e PAWAR, 2004).

Durante a produção de seda crua, a maior quantidade de sericina deve ser removida. A sericina é removida do processamento da seda por um processo chamado degomagem, e a água residual é descartada. Durante os tratamentos de degomagem em água fervente ou em uma solução alcalina, a sericina é facilmente isolada da fibroína e degradada em peptídeos de sericina com grande variação de massa molar. Trata-se, portanto, de um resíduo da indústria da seda (TURBIANI, 2011; KONGDEE *et al.*, 2004).

A degomagem convencional baseia-se na utilização de soluções aquosas contendo ácidos, bases, sabões, detergentes sintéticos ou enzimas para hidrolisar a sericina. Tais métodos apresentam baixa eficiência, sendo necessário repeti-los diversas vezes para que a sericina possa ser completamente removida, ocasionando um alto consumo energético além

do descarte de grande quantidade de águas residuais contendo produtos químicos e sericina. Desta forma, diversos pesquisadores estão explorando outras formas de degomagem, de maneira a aumentar a eficiência do processo e minimizar os efluentes gerados, além de conseguir reciclar a sericina para outras aplicações (LI *et al.*, 2012; WANG E ZHANG, 2017).

Lin e Wang (2004) estudaram o processo de degomagem da seda em água quente, com recuperação da sericina por congelamento e descongelamento, sendo de baixo custo, livre de produtos químicos, porém causando alguns danos para a fibroína. Grupta *et al.* (2013) obtiveram sucesso na extração de sericina pelo método de aquecimento por infravermelho, não sendo utilizado nenhum produto químico. Porém, estudos técnico-econômicos devem ser realizados para avaliar a viabilidade comercial deste método, uma vez que o aquecimento por infravermelho ainda não está disponível comercialmente para a extração de sericina em grande escala. Wang e Zhang (2017) pesquisaram sobre os efeitos de surfactantes alquil poliglicosídicos na extração de sericina, e embora esses surfactantes sejam produzidos a partir de recursos renováveis, a adição de um produto químico dificulta o processo de recuperação da sericina. Zhao *et al.* (2018) utilizaram hidróxido de cálcio como agente de degomagem da seda e recuperação da sericina dos efluentes, atingindo a completa remoção da sericina das fibras de seda com baixo custo. Por outro lado, para a recuperação da sericina do efluente, foi necessária a adição de outros produtos químicos. Lu e Chao (2017) utilizaram o dióxido de carbono supercrítico para a degomagem da seda, sendo que o principal benefício atingido com este método foi o menor consumo de energia e menor geração de água residual. Wang *et al.* (2018) concluíram que o tratamento a vapor pode ser um método viável para a degomagem da seda, de baixo custo e alta eficiência, sendo possível reduzir a emissão de efluentes e destinar a sericina extraída para outras aplicações.

Embora a sericina ainda seja considerada um subproduto da indústria da seda, estudos recentes mostram diversas aplicações para este material, sendo importantes para agregar valor à sericina. Suas características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, fácil gelificação, bioadesão, baixa toxicidade, atividade bacteriana, hidroflicidade e resistência a oxidação, torna a sericina um material promissor para aplicações cosméticas e biomédicas. Para estas aplicações, a sericina pode ser fabricada em diversas formas, incluindo gel, filme, esponja, partícula e fibra. Sendo assim, estudos sobre a fabricação e propriedades das formas de sericina desenvolvidas estão sendo realizados extensivamente (CAO e ZHANG, 2016; HE *et al.*, 2017; JANG e UM, 2017; SPARKES e HOLLAND, 2018; PARK *et al.*, 2018).

Uma das principais desvantagens das formas de sericina para diversas aplicações são suas propriedades mecânicas frágeis. Porém, como apresentado anteriormente, as

características químicas da sericina facilitam a copolimerização e formação de blendas com outros polímeros, sendo possível melhorar as características do material produzido, adequando-o para o fim a que se deseja empregá-lo. Desta forma, diversos estudos vêm sendo realizados a fim de melhorar as propriedades mecânicas da sericina e destinar este subproduto da indústria da seda para uma aplicação mais nobre, reduzindo os impactos ambientais (YUN *et al.*, 2016; BAI *et al.*, 2018; PARK *et al.*, 2018).

Kwak *et al.* (2018) produziram filmes de sericina reforçados com nanofibras de celulose derivada de bambu a fim de reaproveitar ambos materiais que são descartados pela indústria. Como resultado, verificaram um melhoramento significativo das propriedades mecânicas do material, mantendo a atividade antioxidante da sericina, podendo empregar os filmes produzidos em embalagens de alimentos e nas indústrias farmacêutica e cosmética. Sapru *et al.* (2018) avaliaram o emprego de matrizes fibrosas de sericina na medicina regenerativa, obtendo cicatrização acelerada de feridas e minimização dos processos inflamatórios nos resultados *in vitro* e *in vivo*. Bari *et al.* (2018) pesquisaram a eficiência de um sistema terapêutico baseado na associação de micropartículas de sericina e produtos derivados de plaquetas para a regeneração do disco intervertebral, concluindo que as micropartículas podem ser uma ferramenta eficaz na medicina regenerativa.

2.2.2.1. EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO DA SERICINA

Durante a produção de tecidos de seda, a sericina torna-se um resíduo ao ser removida dos casulos do *Bombyx mori* pelo processo conhecido por degomagem. Este processo pode ser realizado por vias físicas, químicas, ou ainda, utilizando-se enzimas. Os processos por vias físicas são os mais conhecidos, baseando-se na dissolução da sericina em água quente, enquanto que os processos por vias químicas utilizam detergentes, solução ácidas ou básicas. Já os processos que utilizam enzimas apresentam maior eficiência, economia de água, energia e produtos químicos, porém as enzimas apresentam um elevado custo, inviabilizando seu uso em escala industrial (MARCELINO, 2008; MANDAL *et al.*, 2009; TOMADON JR, 2011).

Visando à utilização do efluente da degomagem para a recuperação da sericina, sabe-se que os processos de degomagem envolvendo produtos químicos geram grandes desvantagens, como a necessidade de remoção dos compostos químicos presentes no efluente, além de causarem degradação parcial da sericina, diminuindo sua qualidade e massa molar. Desta forma, sabendo-se ainda que a degomagem por enzimas apresenta um elevado custo, inviabilizando o processo, pode-se inferir que a extração por vias físicas é mais vantajosa

quando se deseja recuperar a sericina do efluente, visando desenvolver produtos que agreguem valor à sericina, sendo necessário, portanto, que essa apresente boa qualidade e elevadas massas moleculares para usos além dos cosméticos.

Tomadon Jr (2011) em seu estudo visando obter peptídeos de alta massa molar avaliou diferentes métodos de extração da sericina a partir dos casulos *Bombyx mori*. Realizando a extração da sericina em chapa de aquecimento, micro-ondas e em autoclave, e avaliando diferentes tempos de extração e pressão aplicada, o autor concluiu que a extração sob pressão, utilizando autoclave na pressão manométrica de 1 kgf.cm⁻² por 40 minutos apresenta melhores resultados de eficiência de extração e fornece peptídeos de elevada massa molar. Posteriormente, Silva *et al.* (2013) confirmou esse resultado.

Após o processo de degomagem, a sericina encontra-se na solução em baixa concentração, sendo necessário, portanto, concentrar ou separar a sericina da solução obtida para que a mesma possa ser empregada no desenvolvimento de produtos à base dessa proteína. Dependendo da concentração final que se deseja, diversos processos de separação ou concentração da sericina podem ser utilizados, como a concentração da sericina em solução por meio da filtração por membranas; concentração da solução por aquecimento; processos de liofilização; secagem por *spray-dryers*; concentração da sericina em rota- evaporadores operando em temperaturas moderadas; fracionamento por solventes nos quais a sericina é insolúvel como álcool etílico, metanol e isopropanol; fracionamento por congelamento e descongelamento da solução, entre outros (MARCELINO, 2008; TOMADON JR, 2011).

Khandai *et al.* (2010) utilizaram etanol para precipitar a sericina, sendo em seguida filtrada e seca. Kurioka *et al.* (2004) utilizaram a liofilização para obter sericina em pó, e em alguns experimentos também precipitaram a sericina utilizando etanol. Sothornvit *et al.* (2010) extraíram a sericina e a retiraram da solução por meio de um *spray-dryer*, obtendo a proteína em pó. Vaithanomsat e Kitpreechavanich (2008) concentraram a solução de sericina em membranas de ultra-filtração e obtiveram a sericina em pó por liofilização. Tomadon Jr (2011) estudou a precipitação da sericina por solventes orgânicos e por congelamento, verificando que a precipitação por congelamento foi mais vantajosa. Esse autor ainda estudou o fracionamento da sericina por módulos de membrana, o qual foi desfavorável, observando que a técnica de congelamento/descongelamento é eficaz também para o fracionamento da sericina.

É importante ressaltar que dependendo do método utilizado para a obtenção e concentração da sericina podem ocorrer diferentes mudanças nas estruturas secundárias da proteína. Tomadon Jr (2011) e Silva *et al.* (2013), investigando a estrutura secundária da

sericina, percebeu que o álcool induz a modificação da estrutura secundária da sericina de aleatória para folhas- β , constatou ainda que a estrutura beta se transforma em aleatória com aumentos no tempo de exposição a elevadas temperaturas, ou seja, causa desnaturação da proteína, demonstrando, assim, que quimicamente é possível alterar a configuração secundária da sericina.

2.3. ALGINATO

O alginato é comumente extraído da parede celular de três espécies de algas marrons comuns de regiões costeiras (*Laminaria hyperboream*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*) na forma de um sal sódico do ácido algínico. Dependendo do gênero da alga e das condições ambientais que estimulam a sua biossíntese, as quantidades de alginato podem variar entre 10 % e 40 % do peso seco da alga. O ácido algínico encontrado em todas as espécies de algas não está presente em outros tecidos vegetais, porém, é sintetizado por bactérias, como *Pseudomonas spp.* e *Azotobacter vinelandii*, como uma mucilagem extracelular (polissacarídeo capsular) e difere do ácido algínico presente nas algas apenas por ser mais acetilado (GARCIA-CRUZ *et al.*, 2008; SACCHETIN, 2009).

O alginato é um polissacarídeo linear, solúvel em água, composto de subunidades monoméricas de α -L-ácido gulurônico (G) e β -D-ácido manurônico (M), interligados por ligações 1,4-glicosídicas. Estes monômeros podem ser organizados em cadeia consecutivas de resíduos G (G)_n, de resíduos M (M)_n ou alternando resíduos M e G (MG)_n, conforme mostrado na Figura 2.4 (GARCIA-CRUZ *et al.*, 2008; SACCHETIN, 2009; KLEINUBING, 2009).

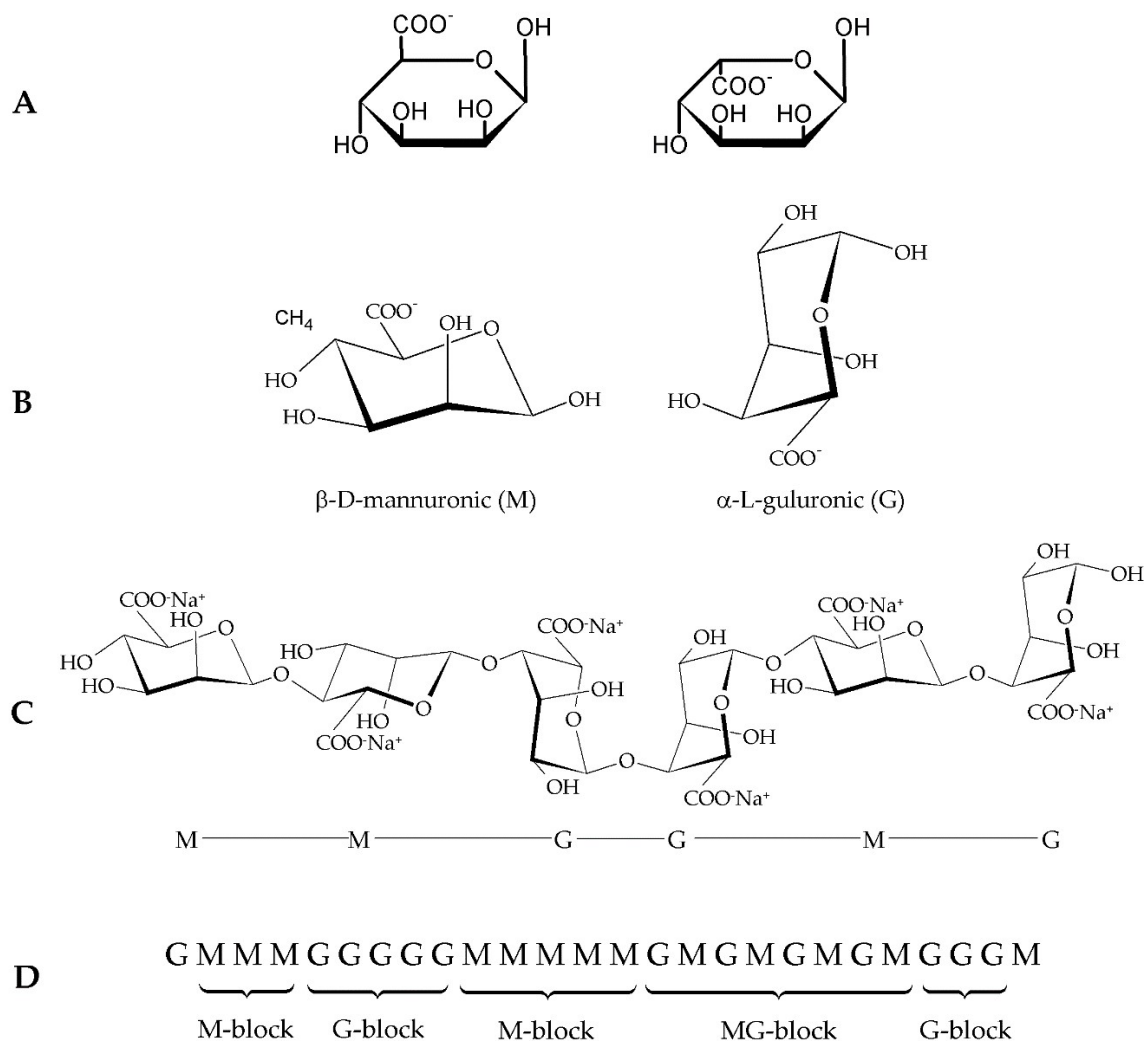


Figura 2-4. Características estruturais dos alginatos: (A) monômeros de alginato, (B) estrutura química dos monômeros, (C) conformação da cadeia, e (D) distribuição em blocos. (SILVA *et al.*, 2017).

A quantidade relativa de cada tipo de cadeia varia entre os diferentes alginatos, existindo diferenças estruturais entre os tipos de cadeias. Os (MG)_n formam as cadeias mais flexíveis e são mais solúveis em valores baixos de pH. Os (G)_n formam cadeias rígidas em que duas cadeias G, com mais de seis resíduos cada, podem ser ligados por íons bivalentes levando a formação de gel. A formação dessa estrutura pode ser observada na Figura 2.5, para o alginato em presença de íons cálcio. Em valores de pH baixos, alginatos de alta massa molar protonados podem formar géis ácidos fracos. Nestes géis, a maior parte são cadeias homopoliméricas as quais formam junções, mas a estabilidade depende do conteúdo de cadeias G. Géis com grande quantidade de (G)_n exibem alta porosidade, baixo encolhimento durante a formação do gel e menor inchamento após secagem, no entanto, têm maior

propensão em apresentar sinérese. Com o aumento da quantidade de $(M)_n$, os géis tornam-se mais macios e apresentam poros de menor tamanho (KAWAGUTI e SATO, 2008).

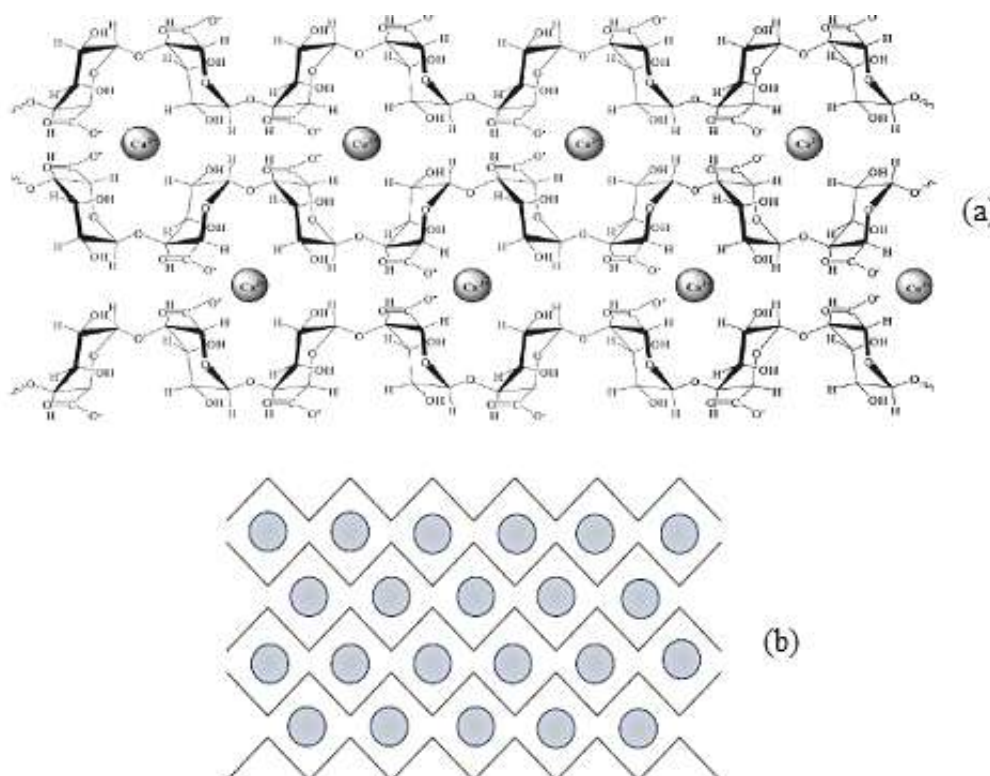


Figura 2-5. Formação de gel de alginato de cálcio: (a) ligação entre as cadeias poliméricas através dos íons cálcio situados entre os grupos de carga negativa; (b) formação da rede gel das cadeias unidas pelos íons cálcio (adaptado de KAWAGUTI e SATO, 2008).

A força de interação de importantes cátions reticulantes de alginato segue a ordem: $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Ba^{2+} > Sr^{2+} > Ca^{2+}$. Embora o Ca^{2+} não apresente a maior força de interação, é o mais empregado. Essa preferência pode estar associada à adequada formação da rede de gel de alginato de cálcio e a aceitabilidade do cálcio no organismo humano, devido ao seu papel como principal componente do sistema esquelético, bem como na regulação de vários processos do sistema fisiológico. Os cátions Sr^{2+} e Ba^{2+} também são considerados agentes reticulantes, porém o uso de Pb^{2+} , Cu^{2+} e Cd^{2+} é limitado por apresentarem toxicidade (SUN e TAN, 2013; AGUERO *et al.*, 2018).

O cloreto de cálcio é um agente gelificante muito efetivo, tendo a função de estabelecer a associação cooperativa dos segmentos poliméricos M e G, formando estruturas agregadas. Desta forma, estes íons estabelecem ligação entre as cadeias de alginato através de interações iônicas após terem ocorrido ligações de hidrogênio entre as mesmas, formando

uma estrutura reticulada tridimensional com grande capacidade de reter água. Sais formados por íons monovalentes (sódio, potássio, amônio) formam alginatos solúveis em água, enquanto que os formados por íons multivalentes (cálcio, magnésio, cromo, bário, alumínio) formam alginatos insolúveis em água (MANCINI *et al.*, 1996; KLEINUBING, 2009).

A quantidade de íons cálcio presente no sistema influencia na estabilidade da rede polimérica, podendo-se estabelecer associações inter-cadeias temporárias, ou até mesmo permanentes. Quando os níveis de cálcio nas cadeias de gel são pequenos, associações temporárias são obtidas, originando soluções altamente viscosas e tixotrópicas. Porém, quando a quantidade de íons de cálcio é elevada, ocorrem associações de cadeia permanentes, observando-se formação de gel ou até mesmo de precipitado (GEORGE e ABRAHAM, 2006).

Os grupos carboxílicos presentes nas unidades M e G trocam íons / ânions com facilidade, e reagem com diversos tipos de cátions. Por esta razão, os alginatos tem numerosas aplicações comerciais, como espessantes, agente gelificante, estabilizante de dispersão, anti-aglomerantes, encapsulantes, formadores de filmes, entre outras. A principal aplicação comercial do alginato é na forma de sal, sendo amplamente empregado nas indústrias farmacêutica, alimentícia, têxtil e de papel. Algumas propriedades do alginato que o tornam adequado para administração oral no que diz respeito à incorporação de fármacos são a sua biocompatibilidade, bioadesividade, sensibilidade ao pH, condições brandas de gelificação e facilidade de modificação química (MANCINI *et al.*, 1996; GEORGE e ABRAHAM, 2006; KLEINUBING, 2009).

Os biomateriais a base de alginato são desenvolvidos de diferentes formas, podendo-se obter esferas, fibras, esponjas, micropartículas e nanopartículas para variadas aplicações. Assim como a sericina, o alginato possibilita fácil modificação química, favorecendo a copolimerização e formação de blendas para a produção de materiais com características adequadas para a finalidade em que serão destinados. Atualmente, o alginato vêm sendo amplamente empregado como matéria prima para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos. Para sistemas de liberação de fármacos em sítios específicos, prevalece a forma de micropartículas, que são referidas como partículas aproximadamente esféricas na faixa de 1 a 1000 μm , contendo uma substância bioativa no interior de uma membrana polimérica semipermeável. Métodos de atomização, emulsificação, técnicas de gotejamento, gelificação iônica e coacervação complexa são os principais utilizados para a obtenção de micropartículas. Termos como microesferas, microcápsulas e micropellets

também são usuais para referenciar as micropartículas (AGUERO *et al.*, 2018; ASTRAIN e AVÉROUS, 2018, YUAN *et al.*, 2018).

Diversos pesquisadores estão empregando o alginato como matéria-prima para a aplicação em sistemas de liberação de fármacos. Joshy *et al.* (2018) desenvolveram nanopartículas de alginato funcionalizadas contendo o fármaco antiviral zidovudina encapsulado pelo método de emulsificação com evaporação do solvente. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que as nanopartículas produzidas são promissores vetores para a entrega deste fármaco. Kilicarslan *et al.* (2018) preparam filmes de alginato e quitosana contendo fosfato de clindamicina para liberação local em terapia periodontal, verificando que a concentração de alginato favoreceu a característica mucoadesiva dos filmes desenvolvidos. Unagolla e Jayasuriya (2018) produziram micropartículas de alginato e quitosana contendo cloridrato de vancomicina para sistemas de liberação controlada utilizando a técnica de coacervação. A característica de liberação de fármaco mais rápida atribuída ao alginato e mais lenta à quitosana, possibilitou desenvolver micropartículas com capacidade de controle do tempo de liberação ajustável pela alteração da concentração de quitosana e alginato nas micropartículas.

2.4. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

2.4.1. FÁRMACOS

Os medicamentos têm como finalidade ações profilática, terapêutica ou diagnóstica, possuindo uma ou mais substâncias ativas que podem ser veiculadas de forma sólida, semi-sólida ou líquida, sendo a forma sólida de uso oral a mais utilizada. Para o fármaco desenvolver a ação esperada precisa ser liberado e dissolvido pelo organismo para que seja absorvido (PEZZINI *et al.*, 2007).

O método convencional de liberação de fármacos proporciona grandes variações na concentração do fármaco no plasma sanguíneo, o que pode ocasionar intoxicação ou inefetividade farmacológica visto que há uma faixa de concentração efetiva para a ação no organismo, enquanto que o método de liberação controlada proporciona uma pequena variação na concentração do fármaco com o tempo. O sistema de liberação controlada de fármacos vem sendo utilizado a fim de obter uma resposta farmacológica constante evitando picos de liberação do fármaco na corrente sanguínea. A comparação entre o método

convencional de multidosagem e o sistema de liberação controlada é apresentada na Figura 2.6 (VULCANI, 2004).

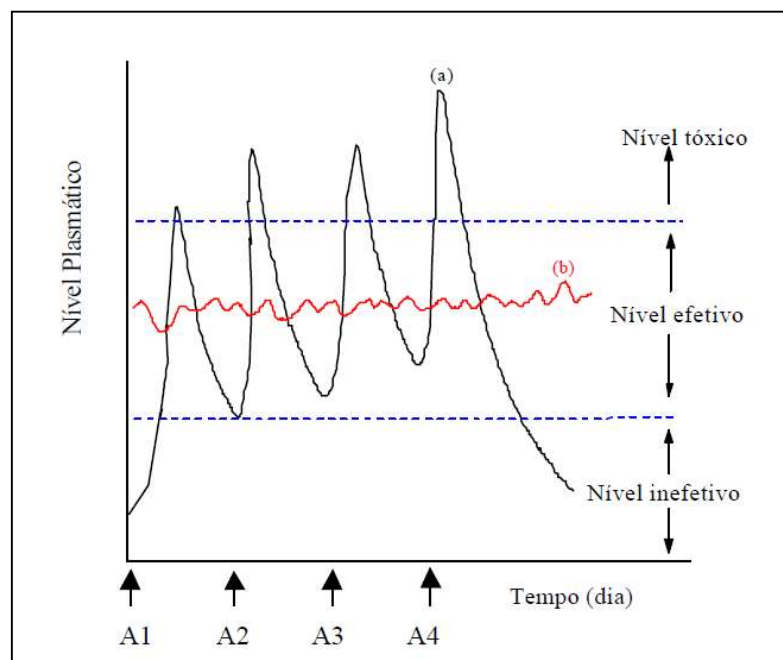


Figura 2-6. Comparação ilustrativa das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais de multidosagem (a) e sistema de liberação controlada (b), sendo A a administração do fármaco (VULCANI, 2004).

Nos últimos anos, liberação modificada tornou-se um termo geral para descrever formas farmacêuticas apresentando características de liberação com base no tempo, duração ou localização, desenvolvidas para alcançar os objetivos terapêuticos e conveniências não oferecidas pelas formas de liberação imediata ou convencional (ALLEN Jr *et al.*, 2007). Aulton (2005) diferencia as várias expressões utilizadas para descrever os sistemas de liberação modificada:

- Liberação retardada: indica que o fármaco não é liberado imediatamente após a administração, mas um tempo depois, como por exemplo, comprimidos com revestimento entérico;
- Liberação repetida: indica que uma dose individual é liberada regularmente logo após a administração, e uma segunda ou terceira dose é subsequentemente liberada, em intervalos intermitentes;
- Liberação prolongada: indica que o fármaco é disponibilizado para absorção por um período de tempo mais prolongado do que a partir de uma forma farmacêutica

convencional. Entretanto, fica implícito que o início da ação é retardado, por causa da velocidade de liberação global mais lenta a partir da forma farmacêutica;

- Liberação sustentada: indica uma liberação inicial de fármaco, suficiente para disponibilizar a dose terapêutica logo após a administração, a qual é seguida de uma liberação gradual do fármaco, por um período de tempo estendido;
- Liberação estendida: refere-se a formas farmacêuticas que liberam o fármaco lentamente de modo a manter as concentrações plasmáticas no nível terapêutico, por um período prolongado de tempo, em geral, entre 8 e 12 horas.

Desta forma, formas farmacêuticas modificadas para uso em liberação de fármacos consistem em sistemas que modificam a taxa ou o local onde as substâncias ativas serão liberadas. Entre as formas farmacêuticas de liberação modificada destacam-se a forma farmacêutica de liberação retardada e a de liberação prolongada. O esquema representativo da quantidade acumulativa de fármacos, liberados de formas farmacêuticas sólidas convencionais (ou imediata), prolongadas e retardadas, conforme Aulton (2005), pode ser visualizado na Figura 2.7 (KLEINUBING, 2013).

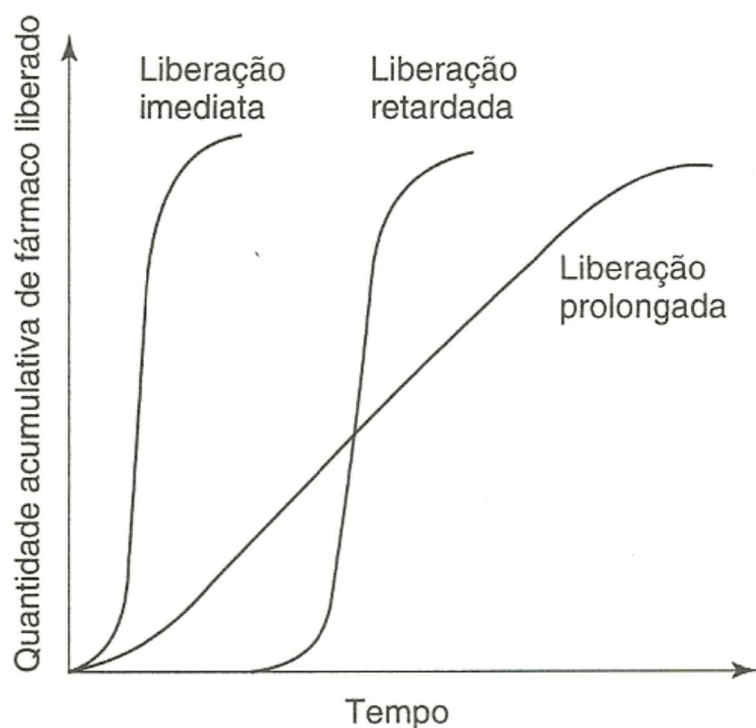


Figura 2-7. Representação esquemática da quantidade acumulativa de fármaco cedido de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata (convencional), prolongada e retardada (AULTON, 2005).

A obtenção dos sistemas de liberação modificada dos fármacos pode envolver sistemas monolíticos ou multiparticulados. Nos sistemas monolíticos a unidade funcional de liberação é única, e a dose do fármaco não é dividida, como em comprimidos e cápsulas. Já nos sistemas multiparticulados, o fármaco é dividido em várias subunidades funcionais de liberação, podendo estar em forma de grânulos, *pellets* ou esferas. Estas partículas são colocadas dentro de cápsulas de invólucro duro ou comprimidas diretamente por meio de um processo que garanta o mínimo de ruptura. Ao serem ingeridas, ocorre a liberação dos multiparticulados a partir do invólucro ou do comprimido e o fármaco passa a ser liberado, de forma predefinida, em função do tempo (AULTON, 2005).

Os sistemas multiparticulados apresentam uma série de vantagens em relação ao sistema monolítico, tais como: possibilidade de revestimento e de incorporar substâncias incompatíveis na mesma forma farmacêutica; facilidade de obtenção de dosagens diferentes para o mesmo produto e facilidade da passagem do fármaco pelo trato gastrointestinal. (PEZZINI *et al.*, 2007; KLEINUBING, 2013).

Para que seja proporcionada uma liberação lenta da dose do fármaco é necessária a utilização de uma “barreira” química ou física nas formulações de liberação controlada. Diversas técnicas têm sido utilizadas para se obter uma barreira eficaz para liberação controlada do fármaco, entre elas a utilização de revestimentos, manter o fármaco numa matriz de cera ou polimérica, microencapsulação, incorporação em bomba osmótica, entre outras (LYRA *et al.*, 2007).

Em relação à tecnologia utilizada para liberação dos fármacos, destacam-se os sistemas matriciais, reservatório e osmótico. Independente de qual sistema for utilizado e do tipo de forma farmacêutica, faz-se necessário o uso de excipientes específicos, que geralmente são polímeros que devem possuir: capacidade de formação de estruturas microporosas/semipermeáveis, sejam matrizes ou membranas; capacidade de expansão em contato com a água e capacidade de complexação com fármacos. Dependendo dos adjuvantes farmacêuticos utilizados, as formulações de sistemas de liberação controlada podem ser classificadas como hidrofílicas, lipofílicas e inertes (PEZZINI *et al.*, 2007).

De acordo com Coimbra (2010), os sistemas de liberação modificada podem ser classificados em três grandes categorias, de acordo com o mecanismo que governa a liberação do fármaco, a saber:

- Sistemas de liberação controlados por difusão;
- Sistemas de liberação ativados pelo solvente;
- Sistemas de liberação controlados por ação química.

Os sistemas de liberação controlados por difusão são divididos em sistemas reservatório e sistemas matriciais. Os sistemas de liberação ativados por solvente são divididos em sistemas de liberação controlados pela pressão osmótica e sistemas controlados pela absorção de água. Os sistemas de liberação controlados por ação química são em geral divididos em sistemas de cadeias pendentes e em sistemas biodegradáveis (COIMBRA, 2010).

Os sistemas matriciais podem ser monolíticos (comprimidos ou cápsulas) ou particulados (minicomprimidos, grânulos ou *pellets*, incorporados em comprimidos ou cápsulas), podendo ser preparados a partir de polímeros solúveis em água, polímeros insolúveis erodíveis ou polímeros insolúveis inertes. Nas matrizes, o fármaco encontra-se disperso no polímero e o controle da liberação pode ocorrer por um ou mais dos seguintes mecanismos: difusão, dissolução, hidratação, precipitação, erosão e/ou degradação (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Em matrizes insolúveis, que podem ser constituídas de cera (matrizes hidrofóbicas) ou polímeros insolúveis (matrizes inertes), o fármaco inserido na matriz é liberado por um processo de difusão, conforme apresentado na Figura 2.8, podendo também haver um mecanismo de erosão associado (PEZZINI *et al.*, 2007).

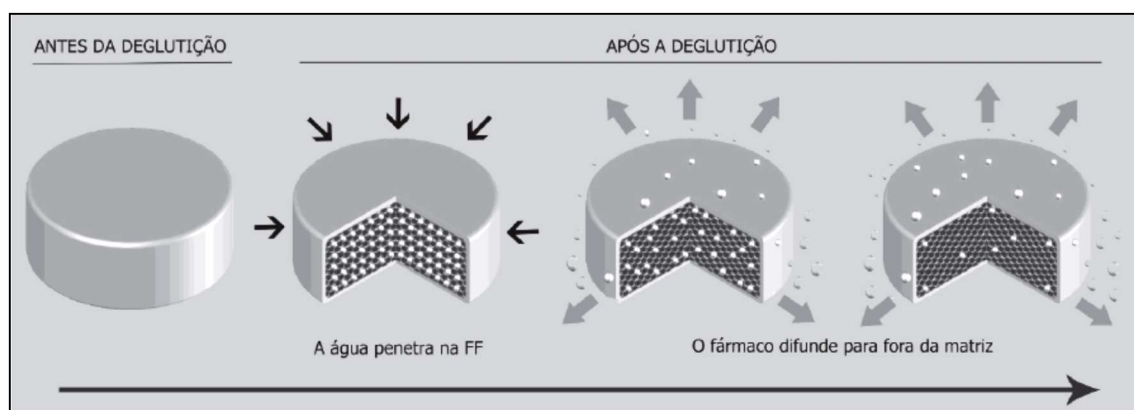


Figura 2-8. Matriz insolúvel: após a administração, a água presente nos fluidos do trato gastrointestinal penetra na FF e dissolve o fármaco. Como consequência, são formados canais na estrutura da matriz, através dos quais o fármaco é gradualmente liberado por difusão (PEZZINI *et al.*, 2007).

Já nas matrizes hidrofílicas, há uma liberação regulada do fármaco pelos processos de intumescimento, difusão e erosão, como representado na Figura 2.9. A superfície do polímero é hidratada e intumescce, iniciando a formação de uma camada gelificada que

posteriormente, é dissolvida promovendo a erosão do comprimido. Outras camadas de gel são formadas e dissolvidas sucessivamente (PEZZINI *et al.*, 2007).

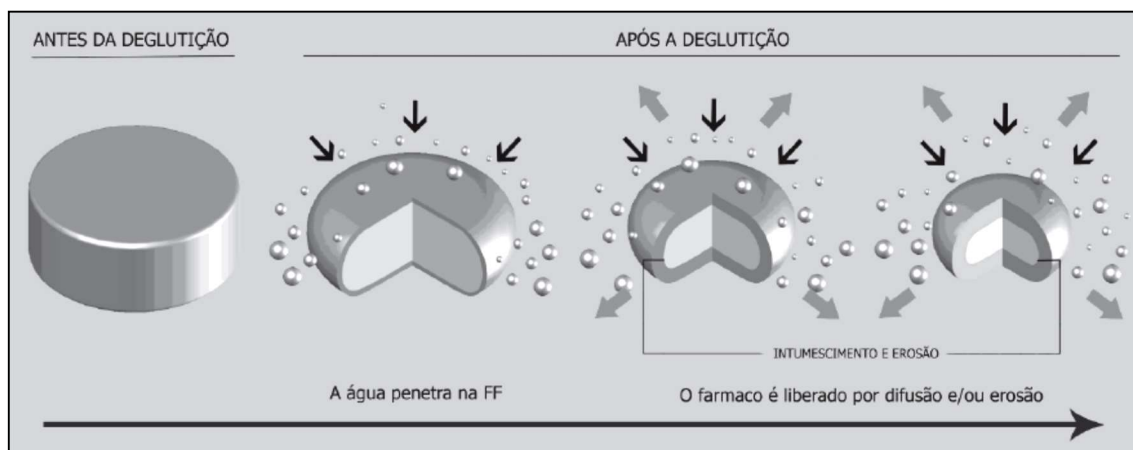


Figura 2-9. Matriz hidrofílica: a água presente no trato gastrointestinal penetra na superfície da FF, hidrata o polímero, que intumescce e forma uma camada gelificada. O fármaco contido nessa camada dissolve e difunde a partir da matriz ou é liberado quando ela sofre erosão. Quando a camada gelificada erode, expõe a superfície da FF novamente e o processo se repete (PEZZINI *et al.*, 2007).

Nos sistemas reservatórios, um reservatório contendo o fármaco é revestido por uma membrana polimérica, que pode ser microporosa ou não. O fármaco então é liberado por difusão através da membrana de revestimento, conforme apresentado na Figura 2.10. Se a membrana utilizada for não-porosa, a liberação do fármaco é pela difusão da substância ativa através do polímero (erosão/degradação do polímero), por outro lado se a membrana utilizada for microporosa, o processo de liberação será determinado pela difusão do fármaco no meio que preenche os poros (PEZZINI *et al.*, 2007; VILLANOVA *et al.*, 2010).

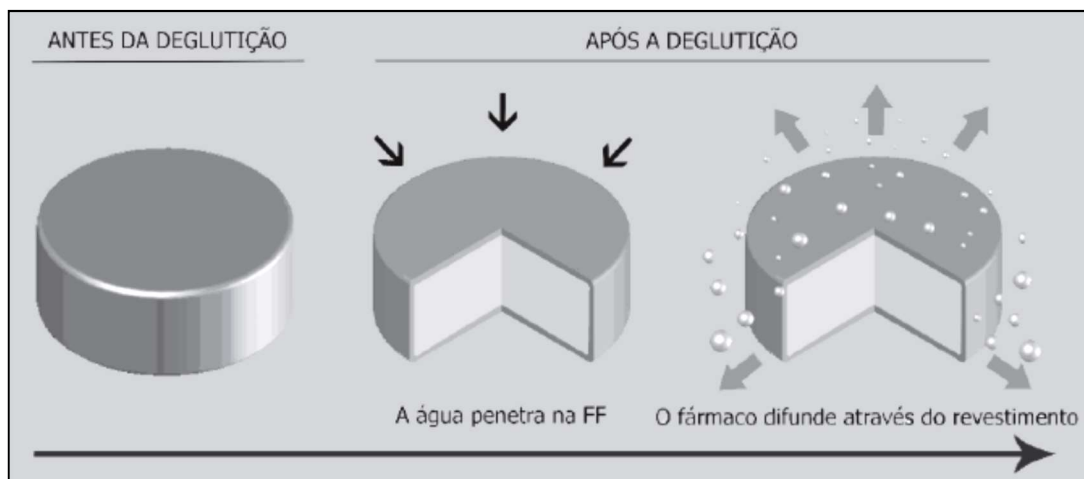


Figura 2-10. Sistema reservatório: a água penetra na FF e dissolve o fármaco, o qual difunde através da membrana de revestimento presente na superfície da FF (PEZZINI *et al.*, 2007).

Os sistemas de bomba osmótica utilizam pressão osmótica para modular a liberação do fármaco. A forma farmacêutica é constituída por um núcleo que possui um agente osmótico, o núcleo é revestido por uma membrana que possui um orifício feito a laser. Após a administração do fármaco o solvente atraído pelo agente osmótico, penetra no núcleo aumentando-se a pressão interna do mesmo, resultando na liberação do fármaco através do orifício da membrana, conforme Figura 2.11 (PEZZINI *et al.*, 2007).

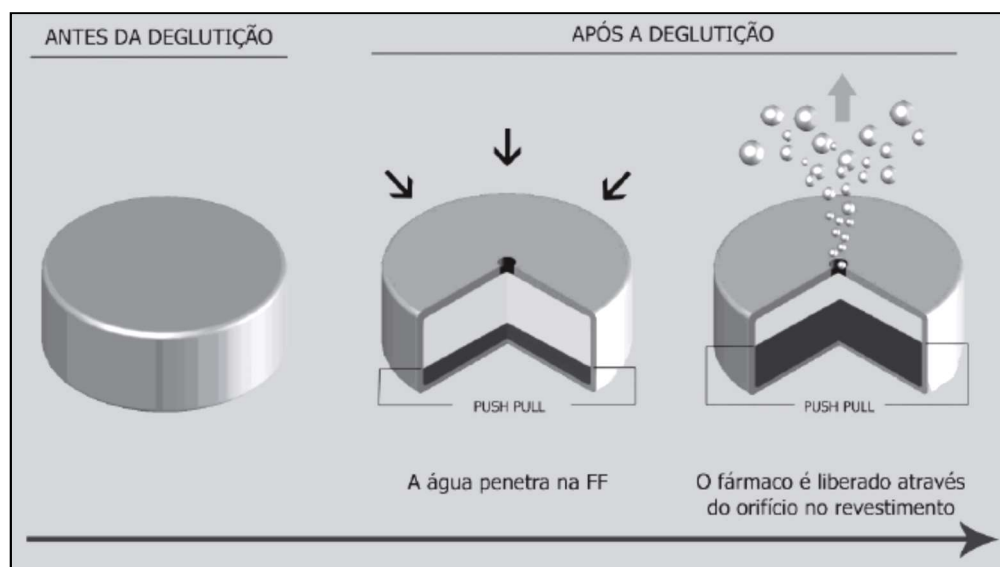


Figura 2-11. Bomba osmótica "push-pull": a água penetra na FF por osmose, desintegra o núcleo e intumescce o polímero hidrofílico. A expansão da camada osmótica (polímero hidrofílico) promove a liberação do fármaco através do orifício no revestimento (PEZZINI *et al.*, 2007).

O sistema de bomba osmótica trata-se, na realidade, de um sistema reservatório diferenciado, desenvolvido e patenteado pela Bayer. É utilizado na preparação de comprimidos empregados no tratamento da hipertensão, e a sua tecnologia emprega uma membrana semipermeável (hidroxipropilcelulose e acetofalato de celulose), a qual permite a entrada do meio de dissolução na forma farmacêutica que contém polímeros que intumescem. A pressão interna é aumentada mediante expansão dos polímeros hidrofílicos, forçando a saída do fármaco através de um orifício feito a laser (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Nos sistemas de liberação controlada pela absorção de água, o fármaco apresenta-se disperso ou dissolvido em uma matriz polimérica constituída por um polímero hidrofílico reticulado (hidrogel). Nestes sistemas, a taxa de liberação do fármaco é essencialmente controlada pela taxa de absorção de água da matriz polimérica, sendo que estas matrizes têm a capacidade de absorver uma grande quantidade de água sem se dissolverem (COIMBRA, 2010).

Nos sistemas de cadeias pendentes, também designados de pró-fármacos, as moléculas de fármaco encontram-se quimicamente ligadas à cadeia de polímero por ligações susceptíveis de degradação. *In vivo*, estas ligações são quebradas por hidrólise ou por ação enzimática, originando, assim, a liberação do fármaco a uma taxa controlada. Nos sistemas biodegradáveis, o fármaco é disperso ou dissolvido numa matriz polimérica biodegradável, desta forma, a taxa de liberação é controlada pela desintegração da matriz, provocada pela biodegradação do polímero (COIMBRA, 2010).

2.4.2. SISTEMAS PORTADORES DE FÁRMACOS

Os principais vetores carreadores de fármacos baseados em polímeros estudados na atualidade são os conjugados poliméricos, dendrímeros, micelas e lipossomas. As micropartículas e nanopartículas também são importantes vetores amplamente estudados (PIMENTEL *et al.*, 2007; VILLANOVA *et al.*, 2010).

Os conjugados poliméricos são sistemas obtidos pela polimerização direta do polímero e o fármaco, que é liberado após quebra hidrolítica ou enzimática do agregado. Os polímeros mais empregados para a preparação de sistemas conjugados poliméricos são o poli(óxido de etileno) (PEO), poli(acetato de vinila) (PVA), poliacrilamida (PAM) e poli(ácido láctico) (PLA). Quando a formação do conjugado envolve a presença de ligação covalente entre o ativo e a matriz polimérica, o sistema é vantajoso para administração

parenteral. Já no caso de simples mistura fármaco-polímero, a administração oral é privilegiada (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Dendrímeros são nanoestruturas formadas pela presença de cadeias e múltiplas ramificações a partir de um núcleo, possuindo arquitetura globular bem definida, massa molar controlada, baixa dispersividade, valências múltiplas e alto grau de ramificação e funcionalização superficial. A poli(amidoamina) (PAMAM), poli(imina propileno) (PPI) e a poli(éter hidroxilamina) (PEHAM) são os polímeros empregados na preparação de dendrímeros (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Também chamadas de sistemas autoestruturados, as micelas são partículas coloidais esféricas de compostos anfifílicos, formadas espontaneamente em solução. Os sistemas micelares contêm frações dos fármacos covalentemente ligadas ou encapsuladas, e apresentam como principal vantagem a preparação de medicamentos parenterais contendo ativos de baixa hidrossolubilidade (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Os lipossomas como sistemas de liberação controlada de fármacos, além de possibilitar a vetorização e proteção do fármaco, permitem também o possível direcionamento para sítios específicos de células ou órgãos. Este sistema trata-se de vesículas aquosas formadas por bicamadas concêntricas de fosfolípidios. Devido à sua flexibilidade estrutural e à sua capacidade de incorporar vários compostos hidrofílicos e hidrofóbicos, os lipossomas são uma excelente forma de liberação controlada de fármacos, sendo os sistemas nanométricos mais estabelecidos clinicamente para a entrega de fármacos citotóxicos, genes e vacinas (PIMENTEL *et al.*, 2007).

As micropartículas são sistemas carreadores de fármacos constituídos por polímeros biodegradáveis, referem-se a dois tipos de estruturas poliméricas esféricas matriciais diferentes, as microesferas e as microcápsulas, conforme apresentado na Figura 2.12. Estas micropartículas promovem a liberação controlada de fármacos ou substâncias biologicamente ativas hidrofílicas ou hidrofóbicas. A microencapsulação apresenta características de biocompatibilidade e biodegradabilidade, sendo, portanto, amplamente empregada industrialmente e utilizada no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas (PIMENTEL *et al.*, 2007; HUANG *et al.*, 2009).

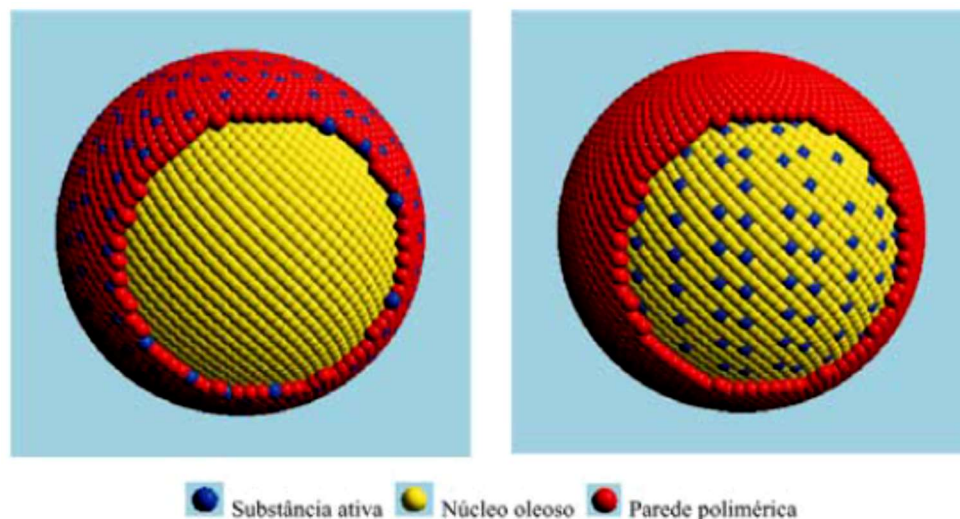


Figura 2-12. Representação esquemática de micropartículas com substância ativa: (a) adsorvida à parede polimérica (nanoesfera), e (b) dissolvida no núcleo oleoso (nanocápsula) (SCHMALTZ et al., 2005).

2.5. MÉTODOS DE ENCAPSULAÇÃO DE AGENTES BIOATIVOS

A microencapsulação é o processo de envolver substâncias ativas ou outros compostos em um sistema polimérico (cápsulas, esferas, filmes), liberando o seu conteúdo de forma controlada e sob condições específicas. A tecnologia da microencapsulação vem sendo utilizada em diversas indústrias, como a agrícola, alimentar, de produtos domésticos, médica, gráfica e cosmética. Na indústria farmacêutica, as aplicações são muito variadas, podendo-se citar o mascaramento de sabores ou odores, conversão de líquidos em sólidos, proteção em relação aos agentes atmosféricos, redução ou eliminação da irritação gástrica ou efeitos secundários provocados por alguns fármacos, administração de fármacos incompatíveis, melhoramento das características de escoamento de pós, auxílio à dispersão de substâncias insolúveis em água em meios aquosos e produção de formas farmacêuticas de liberação modificada (KAS e ONER, 2000; SILVA *et al.*, 2003; DASH *et al.*, 2010; AHMAD *et al.*, 2011).

As vantagens mais específicas da microencapsulação são a liberação precisa de baixas doses de fármacos potentes, redução da concentração do fármaco em outros locais que não os órgãos ou tecidos alvo e proteção dos compostos lábeis antes e após a administração, até exercerem a sua ação farmacológica. Desta forma, micro e nanopartículas poliméricas estão sendo cada vez mais investigadas por suas propriedades de liberação controlada e por

carrear fármacos ativos a sítios específicos no corpo humano (SPROCKEL e PRAPAITRAKUL, 1990; SILVA *et al.*, 2003; FREITAS e MARCHETTI, 2005).

Atualmente, existem diversos processos de obtenção de sistemas microparticulados, os quais podem envolver métodos físico-químicos e mecânicos. A diferença básica entre os métodos existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química (SUAVE *et al.*, 2006; CRUZ, 2004). Kas (1997) cita os métodos físico-químicos de coacervação simples, coacervação complexa, emulsão e evaporação do solvente, emulsão e difusão do solvente e a polimerização interfacial como os mais utilizados. Dentre os processos mecânicos, o *spray drying*, a extrusão/esferonização e a granulação em leito fluidizado e em leito de jorro são citados pelo autor. Rodrigues (2004) cita os métodos de gelificação de partículas obtidas por emulsão, gotejamento e *spray drying* como os principais para a preparação de micropartículas de alginato.

O método de gelificação por emulsão pode ser do tipo interna e externa. Na gelificação do tipo interna, ocorre a dispersão do agente ativo na solução polimérica, sendo esta solução posteriormente misturada com o agente reticulante. A mistura solução polimérica / reticulante é dispersa sob agitação vigorosa numa fase oleosa. Após a formação da emulsão, realiza-se o processo de gelificação das micropartículas pelo ajuste de pH, através de ácidos orgânicos solúveis na fase oleosa. As partículas formadas são recuperadas por filtração e consecutivas lavagens para a remoção do óleo residual. A Figura 2.13 ilustra esta técnica (REIS *et al.*, 2006).

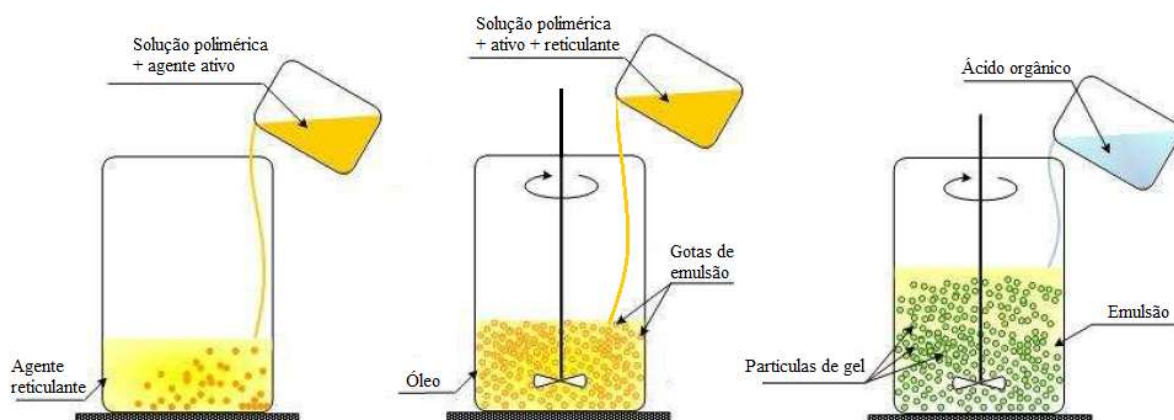


Figura 2-13. Desenho esquemático do processo de gelificação por emulsão interna (adaptado de SACCHETIN, 2009).

O método de gelificação externa consiste na dispersão do agente a ser encapsulado na solução polimérica, que é misturado à fase oleosa sob agitação. Uma vez formada a emulsão, e as gotículas possuem uma boa distribuição de tamanho, o processo de gelificação é iniciado, fazendo-se a adição de agente reticulante (cloreto de cálcio), e realizando-se o ajuste de pH da solução. Após o término do processo de gelificação, faz-se a inversão da solução, de modo a produzir uma dispersão do tipo óleo em água, levando à formação de duas fases distintas, uma que contém o óleo residual e uma outra fase aquosa onde se observa as micropartículas dispersas. A Figura 2.14 ilustra esta técnica (SACCHETIN, 2009).

O método do gotejamento seguido de reticulação consiste na rápida gelificação da solução polimérica quando gotejada em uma solução contendo um agente reticulante, normalmente cloreto de cálcio para o alginato. Pode-se empregar, em pequena escala, seringas e buretas para a etapa de gotejamento e, em maior escala, pode-se utilizar bombas peristálticas. Nesta abordagem, as partículas são formadas imediatamente pelo processo de gelificação externa, fundamentado na difusão dos cátions divalentes através da matriz, os quais induzem as ligações cruzadas dos resíduos de guluronato do alginato. Esta técnica se mostra muito eficiente para a encapsulação de agente bioativos, visto que possibilita a formação de micropartículas capazes de apresentar uma matriz contendo o agente encapsulado, além de ser uma técnica bastante simples, como mostrado na Figura 2.15 (RODRIGUES, 2004; SACCHETIN, 2009).

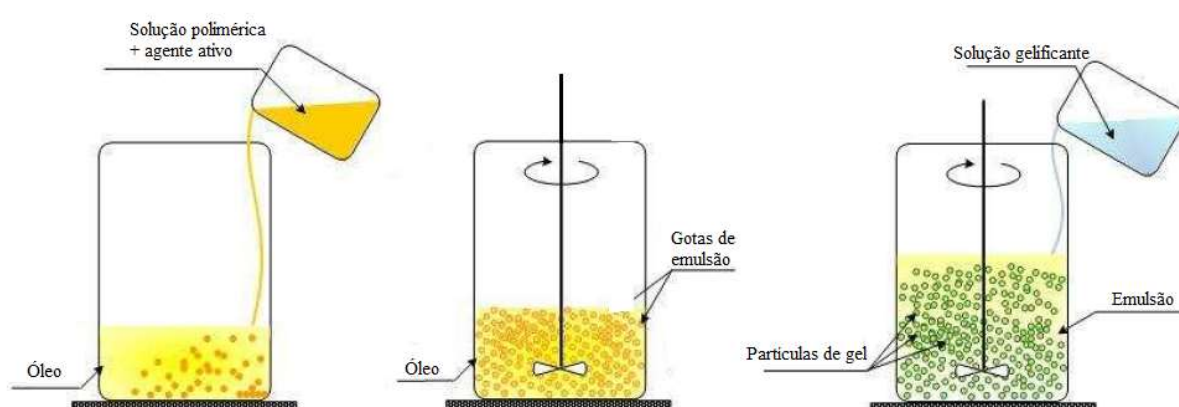


Figura 2-14. Desenho esquemático do processo de gelificação por emulsão externa (adaptado de SACCHETIN, 2009).

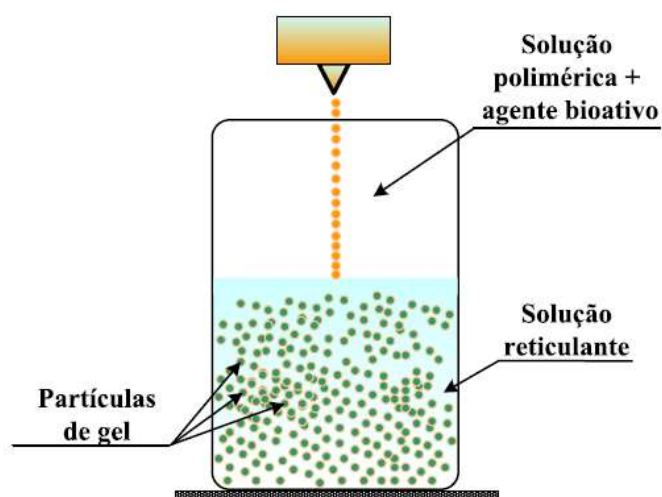


Figura 2-15. Desenho esquemático do processo de encapsulação por gotejamento seguido de reticulação (SACCHETIN, 2009).

No processo de microencapsulação por *spray drying*, o material ativo a ser encapsulado é disperso em uma solução aquosa contendo os polímeros formadores da matriz de encapsulação, que será usada como carreador. Ao ser atomizado dentro do secador spray, ocorre a evaporação do líquido da solução do agente encapsulante com a formação da membrana ao redor das gotas do material ativo. Este processo pode ser visualizado na Figura 2.16 (RODRIGUES, 2004; SACCHETIN, 2009; AÑO *et al.*, 2011).

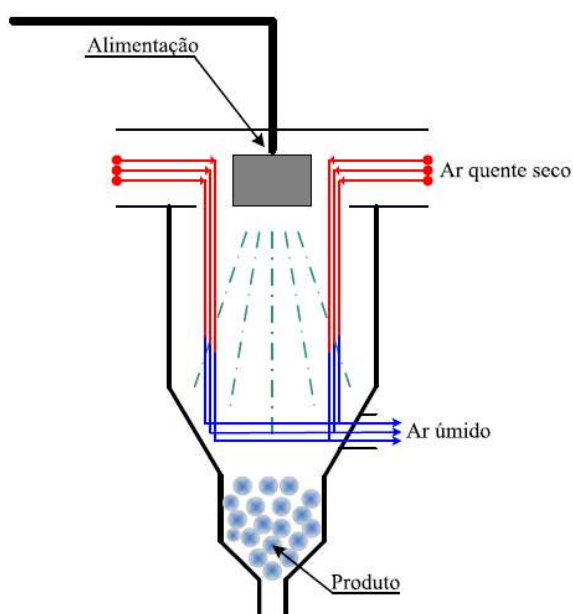


Figura 2-16. Desenho esquemático do processo de encapsulação por *spray drying* (SACCHETIN, 2009).

A seleção do método de microencapsulação depende de vários fatores, tais como, tamanho da partícula desejada, estabilidade térmica e química da substância ativa a ser incorporada, perfil cinético de liberação e estabilidade do produto final. Além destes fatores, o método ideal de microencapsulação deve ser simples, reprodutível, rápido, fácil de transpor à escala industrial e deve ser pouco dependente das características de solubilidade do fármaco e polímero (CRUZ, 2010; KLEINUBING, 2013).

De acordo com Aulton (2005), as propriedades mais importantes no delineamento de formas farmacêuticas são as seguintes:

- Tamanho de partícula e área superficial: tanto as velocidades de dissolução e de absorção do fármaco como a uniformidade do conteúdo e estabilidade da forma farmacêutica são dependentes do grau de variação do tamanho de partícula, da distribuição de tamanho e das interações entre as superfícies sólidas.
- Solubilidade: para se ter um efeito terapêutico eficaz, todo fármaco deve ter uma solubilidade em água, mesmo que limitada. Esse fator pode ser importante na absorção do fármaco já dissolvido em uma forma farmacêutica, uma vez que pode ocorrer a precipitação do fármaco no trato gastrointestinal.
- Dissolução: para que um fármaco seja absorvido, é necessário que esteja dissolvido no fluido do local de absorção. Os dados de velocidade de dissolução, quando combinados com dados de solubilidade, coeficiente de partição e pK_a , permitem ao formulador inferir antecipadamente aspectos sobre as potenciais características de absorção *in vivo* do fármaco. Testes de dissolução *in vitro* podem ser utilizados para prognosticar o comportamento *in vivo*.
- Coeficiente de partição e pK_a : o coeficiente de partição óleo-água é a medida do caráter lipofílico de uma molécula, ou seja, sua preferência pela fase hidrofílica ou lipofílica. Já o pK_a é definido como o valor do pH em que 50 % das moléculas encontram-se na forma não ionizada, onde será mais lipossolúvel e capaz de atravessar as membranas de mucosas absorventes.

2.6. FARMACOCINÉTICA

A farmacocinética estuda e caracteriza, em função do tempo, os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção, e sua relação com os efeitos terapêuticos e tóxicos no organismo. Os principais objetivos da farmacocinética são desenvolver modelos e expressões matemáticas que descrevam o destino dos fármacos no organismo, determinar

constantes de velocidade envolvidas nos processos cinéticos de transferência dos fármacos no organismo, quantificar parâmetros relacionados à quantidade de fármaco no organismo e efetuar previsões e extrapolações com base nos modelos farmacocinéticos (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Diversos métodos são empregados para avaliar a cinética de liberação do fármaco, incluindo métodos estatísticos, métodos dependentes e independentes de modelos matemáticos. A liberação do fármaco a partir de formas farmacêuticas sólidas tem sido descrita por vários modelos cinéticos, em que a quantidade de fármaco liberado (Q) é função do tempo decorrido de ensaio (t). A interpretação quantitativa dos valores obtidos em ensaios de dissolução é muito facilitada pela utilização de equações matemáticas que descrevam a curva de liberação em função de parâmetros relacionados com as formas farmacêuticas (COSTA, 2002). Alguns dos mais significativos e mais utilizados modelos matemáticos que descrevem a curva de dissolução serão descritos a seguir.

A cinética de ordem zero pode ser utilizada para descrever a liberação de fármacos por vários tipos de formas farmacêuticas de liberação modificada. As formas farmacêuticas que seguem este perfil liberam a mesma quantidade de fármaco por unidade de tempo, constituindo-se como uma das melhores formas de veicular fármacos para liberação prolongada. Este modelo pode ser expresso pela Equação 2.1 (VARELAS *et al.*, 1995).

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (2.1)$$

sendo Q_t a quantidade de fármaco liberada no tempo t , Q_0 a quantidade inicial de fármaco na solução e K_0 a constante de liberação de ordem zero.

Na cinética de primeira ordem, a velocidade do processo é diretamente proporcional à concentração ou quantidade de fármaco envolvido no processo. Sendo assim, as formas farmacêuticas que seguem este perfil de liberação liberam uma quantidade de fármaco proporcional à quantidade restante no seu interior, por unidade de tempo, de modo que a quantidade de fármaco liberada vai diminuindo. Este modelo pode ser expresso pela Equação 2.2 (GIBALDI e FELDMAN, 1967; WAGNER, 1969).

$$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t \quad (2.2)$$

sendo Q_t a quantidade de fármaco liberada no tempo t , Q_0 a quantidade inicial de fármaco na solução e K_1 a constante de liberação de ordem um.

O modelo de Weibull (1951) foi descrito por uma equação empírica, sendo adaptado ao processo de dissolução e liberação por Langenbucher (1972). Quando aplicado à

dissolução de fármacos a partir de formas farmacêuticas, a equação de Weibull exprime a fração acumulada de fármaco na solução ao fim do tempo t , sendo descrita pela Equação 2.3.

$$Q_w = 1 - e^{[-(t-T_i)^b/a]} \quad (2.3)$$

sendo Q_w a fração acumulada de fármaco na solução ao fim do tempo t , T_i é o parâmetro de localização, que representa o tempo de latência até que o processo de dissolução ocorra e, na maior parte dos casos, é igual a zero, b é o parâmetro de forma que caracteriza a curva como exponencial quando $b = 1$ (Caso 1), como sigmoideal, em forma de S com curvatura para cima, seguida de um ponto de viragem quando $b > 1$ (Caso 2), ou então parabólica, com uma inclinação inicial constante, sendo depois concordante com a exponencial quando $b < 1$ (Caso 3), e a é um parâmetro de escala relacionado ao tempo decorrido de ensaio de dissolução.

O modelo de Higuchi (1962) se aplica à liberação a partir de sistemas matriciais homogêneos esféricos, sistemas matriciais granulados planos e esféricos, descrevendo a liberação do fármaco como um processo de difusão baseado na lei de Fick, dependente da raiz quadrada do tempo. Este modelo tem sido muito utilizado para descrever a liberação de fármacos por vários tipos de formas farmacêuticas de liberação modificada, e é apresentado pela Equação 2.4 (HIGUCHI, 1962).

$$Q_t = K_H \sqrt{t} \quad (2.4)$$

sendo Q_t a quantidade de fármaco liberada no tempo t , e K_H a constante de liberação de Higuchi.

O modelo de Hixson-Crowell (1931) é aplicado à forma farmacêutica de comprimido, em que a dissolução decorre em planos paralelos à superfície de exposição se as dimensões dos comprimidos diminuírem proporcionalmente, de modo que a geometria inicial se mantenha durante todo o tempo. Ao utilizar este modelo, assume-se que a velocidade de liberação é limitada pela velocidade de dissolução das partículas do fármaco, e não pela difusão que possa ocorrer através da matriz polimérica. Este modelo pode ser expresso pela Equação 2.5 (COSTA e LOBO, 2001).

$$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_S t \quad (2.5)$$

sendo Q_t a quantidade que resta de fármaco na forma farmacêutica ao fim do tempo t , Q_0 a quantidade inicial de fármaco na forma farmacêutica e K_S uma constante que incorpora a relação superfície/volume.

O modelo de Korsmeyer-Peppas (1981) é utilizado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou

quando possa estar envolvido mais de um tipo de liberação, e é descrito pela Equação 2.6 (KORSMEYER *et al.*, 1983).

$$Q_t/Q_\infty = K_k t^n \quad (2.6)$$

sendo Q_t a quantidade absoluta de fármaco liberado no tempo t , e Q_∞ é a quantidade total de fármaco liberado num tempo infinito (o que corresponde a quantidade inicial de fármaco), K_k é uma constante cinética e n é o expoente de liberação que, de acordo com o valor numérico que assume, caracteriza o mecanismo de liberação do fármaco.

O modelo de Hopfenberg (1976) se emprega a formas farmacêuticas de matrizes planas, esféricas e cilíndricas, que apresentam erosão heterogênea, e é representado pela Equação 2.7 (KATZHENDLER *et al.*, 1997).

$$Q_t/Q_\infty = 1 - [1 - k_0 t / C_0 a_0]^n \quad (2.7)$$

sendo Q_t a quantidade de fármaco liberado no tempo t , e Q_∞ é a quantidade total de fármaco disponível para liberação (quando se atinge a exaustão do sistema), k_0 a constante de erosão, C_0 a concentração inicial do fármaco na matriz e a_0 o raio inicial para esferas e cilindros e metade da espessura para sistemas planos. O valor de n é 1, 2 e 3 para sistemas planos, cilíndricos e esféricos, respectivamente.

O modelo de Baker-Lonsdale (1974) descreve a liberação controlada a partir de uma matriz esférica, e tem sido utilizado para linearizar resultados de ensaios de liberação controlada de várias formulações de microesferas ou microcápsulas, e é descrito pela Equação 2.8 (COSTA e LOBO, 2001).

$$(3/2) \left[1 - (1 - (Q_t/Q_\infty))^{2/3} \right] - (Q_t/Q_\infty) = Kt \quad (2.8)$$

sendo Q_t a quantidade de fármaco liberado no tempo t , e Q_∞ é a quantidade total de fármaco disponível para liberação e K a constante de liberação.

2.6.1. PROCESSOS FARMACOCINÉTICOS

A farmacocinética pode ser compreendida como o estudo dos processos de absorção (A), distribuição (D), metabolismo (M) e excreção (E) de um fármaco e do modo pelo qual esses processos determinam seu destino no organismo. A absorção dos fármacos pode ocorrer através de vários mecanismos desenvolvidos para explorar ou romper essas barreiras. Uma vez absorvido, o fármaco utiliza sistemas de distribuição dentro do organismo,

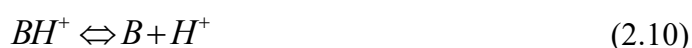
como os vasos sanguíneos e os vasos linfáticos, para alcançar o seu órgão-alvo numa concentração apropriada.

A capacidade do fármaco de ter acesso a seu alvo também é limitada por diversos processos que ocorrem no paciente. Esses processos são amplamente divididos em duas categorias: o metabolismo, em que o organismo inativa o fármaco através de degradação enzimática (primariamente no fígado), e a excreção, em que o fármaco é eliminado do corpo (principalmente pelos rins e pelo fígado, bem como pelas fezes) (GOLAN *et al.*, 2009; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

2.6.1.1. ABSORÇÃO

A absorção é definida como a transferência do fármaco do local da administração para a circulação. A absorção de um fármaco por via oral está relacionada à sua permeabilidade através das membranas do trato gastrointestinal. As principais propriedades moleculares que afetam a passagem de um fármaco através de uma dada membrana são o tamanho molecular, lipofilicidade e carga ou grau de ionização (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

A maioria dos fármacos empregados na terapêutica são moléculas orgânicas de massa molar relativamente baixa, podendo ser ácidos fracos ou bases fracas que, portanto, se ionizam em função do pH do meio. Assim, verifica-se que os fármacos ácidos (HA) liberam H^+ causando a formação de um ânion (A^-), enquanto as bases (BH^+) liberam H^+ e a base neutra (B), como demonstrado nas equações 2.9 e 2.10 (STORPIRTIS *et al.*, 2011).



Um fármaco atravessa membranas mais facilmente quando se encontra na forma não ionizada (não carregada) que apresenta maior lipossolubilidade. A concentração da forma que permeia a membrana é determinada pelas concentrações relativas das formas carregadas e não carregadas, que é determinada, por sua vez, pelo pH local e pela força do ácido e da base. Essa força é representada pelo pK_a (definido como o valor do pH em que 50 % das moléculas encontram-se na forma não ionizada, mais lipossolúvel e capaz de atravessar a membrana). Quanto menor o valor do pK_a de um fármaco, mais forte é o ácido, e sua absorção

será favorecida em pH ácido, enquanto que quanto mais elevado for o pK_a , mais forte é a base. Fármacos altamente lipossolúveis atravessam rapidamente as membranas e, em geral, passam para os tecidos em velocidade determinada pelo fluxo sanguíneo (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

2.6.1.2. DISTRIBUIÇÃO

Entende-se por distribuição a transferência do fármaco dos líquidos de circulação (sangue e linfa) para os diversos tecidos e órgãos que compõem o organismo. Esse processo é sempre reversível e permite que o fármaco atinja o tecido alvo de sua ação terapêutica. A distribuição depende dos fluxos sanguíneos e linfático nos diferentes órgãos, bem como da ligação do fármaco às proteínas plasmáticas, das diferenças de pH nos vários tecidos e do coeficiente de partição óleo-água de cada fármaco (lipossolubilidade) (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Diversos fatores podem alterar a distribuição do fármaco no organismo, sendo tais fatores relacionados tanto ao fármaco quanto ao próprio organismo. Os principais fatores relativos ao fármaco são as suas características físico-químicas, como seu estado físico, solubilidade, tamanho molecular, grau de ionização, difusibilidade, estabilidade química, afinidade por proteínas e outros constituintes do organismo; outros fármacos administrados em associação ou presentes no organismo e a forma farmacêutica empregada. Quanto ao organismo, os fatores que podem alterar de modo mais significativo a distribuição do fármaco são as variações de pH, fluxo sanguíneo dos órgãos, fatores genéticos, idade, gravidez e enfermidades (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

2.6.1.3. METABOLISMO

O metabolismo ou biotransformação pode ser caracterizado como a conversão do fármaco em outra entidade química, o metabólito ou produto de biotransformação, o que ocorre no organismo, na maioria das vezes, em etapas sucessivas e por intermédio de várias enzimas. As reações de biotransformação são classificadas em dois tipos: as reações de oxidação/redução, as quais modificam a estrutura química de um fármaco através de oxidação ou redução e as reações de conjugação/hidrólise, que hidrolisam um fármaco ou conjugam o fármaco com uma molécula grande e polar para inativar o fármaco ou para aumentar a sua solubilidade e excreção na urina ou na bile (GOLAN *et al.*, 2009; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

2.6.1.4. EXCREÇÃO

A excreção é caracterizada como a remoção irreversível do fármaco do organismo e ocorre principalmente pela via urinária. Entretanto, há casos em que o fármaco também é excretado pelas fezes, bile, leite, suor, pelo ar exalado pelos pulmões ou por outras secreções, sob a forma inalterada ou modificada quimicamente. As reações de oxidação/redução e de conjugação/hidrólise aumentam a hidrofiliabilidade de um fármaco hidrofóbico e seus metabólitos, permitindo que esses fármacos sejam excretados através de uma via comum final com fármacos que são intrinsecamente hidrofílicos (GOLAN *et al.*, 2009; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

2.7. FÁRMACOS DE ESTUDO – ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDES

Os fármacos estudados no presente trabalho são o diclofenaco de sódio e o ibuprofeno, ambos anti-inflamatórios não esteroides. Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) são os agentes farmacêuticos mais prescritos em todo o mundo, com comprovada eficácia dos efeitos anti-inflamatórios, antipiréticos e analgésicos (KAPLAN *et al.*, 2018).

Em geral, os quadros inflamatórios surgem quando há um aumento da produção de prostaglandina, a qual é gerada através da ação da enzima ciclooxigenase (COX). A enzima ciclooxigenase apresenta duas isoformas: COX-1 e COX-2. A COX-1 está presente em quase todos os tecidos do organismo humano e é, por este motivo, denominada de enzima constitutiva, estando associada à produção de prostaglandinas e resultando em diversos efeitos fisiológicos, como a proteção gástrica e manutenção do fluxo sanguíneo renal. Já a COX-2 está presente nos locais de inflamação, sendo por isso, denominada de enzima indutiva (HILÁRIO *et al.*, 2006; THEKEN, 2018).

O mecanismo de ação dos anti-inflamatórios não esteroides é a inibição da enzima COX, com conseqüente diminuição da produção de prostaglandina. Os AINEs são classificados de duas formas: os AINEs inibidores não seletivos de COX, também designados tradicionais ou convencionais, e os AINEs inibidores seletivos da COX-2, também designados COXIBEs. Os AINEs tradicionais (não seletivos) podem apresentar padrão de seletividade COX-2 similar ao dos COXIBEs, como é o caso do diclofenaco de sódio, ou serem inibidores mais ativos da COX-1, como é o caso do ibuprofeno (BATLOUNI, 2010; BJARNASON *et al.*, 2018).

Os AINEs tradicionais, ao inibir a COX-1, fisiologicamente constitutiva, pode auxiliar o surgimento de efeitos adversos, causando danos gastrointestinais e renais. Por outro lado, a ideia de que os inibidores específicos da COX-2 impediriam o processo inflamatório sem os efeitos colaterais indesejáveis tornou-se questionável, uma vez que há evidências da presença de COX-2 em determinados tecidos humanos, podendo ocasionar outros efeitos adversos cardiovasculares, como trombose e acidente vascular cerebral. Nos últimos anos, a segurança do uso de AINEs inibidores seletivos da COX-2 tem sido questionada, o que levou a retirada de alguns desses fármacos do mercado (KUMMER e COELHO, 2002; BATLOUNI, 2010; SAYED *et al.*, 2018).

2.7.1. DICLOFENACO DE SÓDIO

O diclofenaco de sódio é uma substância anti-inflamatória não esteroideal, utilizado para reduzir a inflamação e aliviar a dor, funcionando como analgésico em situações de artrites e lesões agudas, amplamente empregado para o tratamento de artrite reumatoide, osteoartrite, lesões musculoesqueléticas, bursite, espondilite anquilosante e analgesia pós-cirúrgica. Após a administração oral, o diclofenaco é eliminado sob a forma de glucuronídeos e sulfatos conjugados dos metabólitos. Aproximadamente 65% da dose é excretada através da urina, sendo que menos de 1 % do fármaco é excretada sob a forma inalterada FERRARI *et al.*, 2003; ALBANEZ, 2012; LIU *et al.*, 2018).

O diclofenaco de sódio está disponível em 120 diferentes países, sendo provavelmente o anti-inflamatório não esteroideal mais utilizado no mundo, porém a incidência de efeitos colaterais com o uso do diclofenaco atinge cerca de 20 % dos pacientes. Os efeitos colaterais mais comuns são os relacionados com o trato gastrointestinal, incluindo hemorragia, erosão da mucosa e ulceração, podendo ainda apresentar efeitos relacionados ao sistema cardiovascular e renal. Além dos efeitos colaterais provocados por este fármaco, outro aspecto importante da molécula de diclofenaco de sódio é a mudança de sua molécula após o contato com meios ácidos, o que pode causar sua inativação. Desta forma, é importante proteger o diclofenaco de sódio do suco gástrico para evitar a perda de biodisponibilidade do fármaco e para diminuir os efeitos colaterais no trato gastrointestinal, sendo o desenvolvimento de cápsulas gastrorresistente uma boa alternativa (SANTOS *et al.*, 2007; KAITH *et al.*, 2011; ALBANEZ, 2012).

A fórmula estrutural do diclofenaco de sódio é apresentada na Figura 2.17. Trata-se de um medicamento derivado do ácido fenilacético e tem solubilidade parcial no ambiente

hidrofóbico devido à sua característica de ácido fraco. A característica estrutural da molécula consiste em um grupo ácido fenilacético e um anel fenólico contendo dois átomos de cloro, permitindo máxima rotação do anel fenólico, o que auxilia na inibição das enzimas COX. É referido como um anti-inflamatório não esteroideal tradicional, embora algumas pesquisas demonstrem maior seletividade para a inibição de COX-2 do que para COX-1 (ALTMAN *et al.*, 2015; ULUBAY *et al.*, 2018).

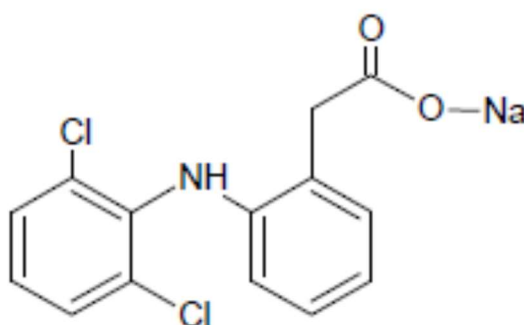


Figura 2-17. Fórmula estrutural do diclofenaco de sódio (ALBANEZ, 2012).

O diclofenaco de sódio apresenta um aspecto de pó cristalino, branco ou levemente amarelado, sendo amplamente solúvel em metanol, solúvel em etanol, praticamente insolúvel em clorofórmio e ácido diluído e pouco solúvel em água. Este composto apresenta pKa igual a 4,15 e coeficiente de partição n-octanol/água (log Kow) igual a 13,4, conforme FISPQ do produto, indicando solubilidade parcial em meios aquosos e hidrofóbicos. Sua biodisponibilidade oral é de 54 % com meia-vida biológica de 1 a 2 horas, portanto, requer múltiplas doses para manter o nível terapêutico do fármaco no plasma (ALTMAN *et al.*, 2015; NANDI *et al.*, 2018).

Devido à sua curta meia-vida biológica e rápida taxa de eliminação, a administração frequente de diclofenaco de sódio é geralmente necessária para manter sua concentração terapêutica, o que poderia aumentar o risco de efeitos adversos. Entretanto, a meia-vida farmacológica relativamente curta do diclofenaco pode ser prolongada, uma vez que, em doses terapêuticas, a concentração máxima de fármaco disponível é maior que a necessária para inibir a COX-2 em 80 %, indicando que a eficácia pode ser alcançada com doses mais baixas do fármaco. Sendo assim, o esforço para desenvolver formulações com liberação prolongada pode eliminar a necessidade de múltiplas dosagens com melhor adesão do paciente ao tratamento e menos efeitos colaterais, sendo foco de diversos estudos (ALTMAN *et al.*, 2015; NANDI *et al.*, 2018).

2.7.2. IBUPROFENO

O ibuprofeno pertence à classe dos fármacos anti-inflamatórios não esteroides. Atua como analgésico e supressor da inflamação, utilizando suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e antipiréticas. Esse fármaco apresenta meia-vida curta (cerca de 2 horas), exigindo administrações múltiplas durante o dia para manter concentrações plasmáticas efetivas. A necessidade de doses repetidas pode reduzir a adesão ao tratamento e, portanto, sua eficácia. O desenvolvimento de uma formulação de liberação modificada para o ibuprofeno pode ajudar a melhorar sua ação no organismo humano. Sua fórmula estrutural é apresentada na Figura 2.18 (BUSSON, 1986; KHALIFA *et al.*, 2014; ANDRIOLI *et al.*, 2014).

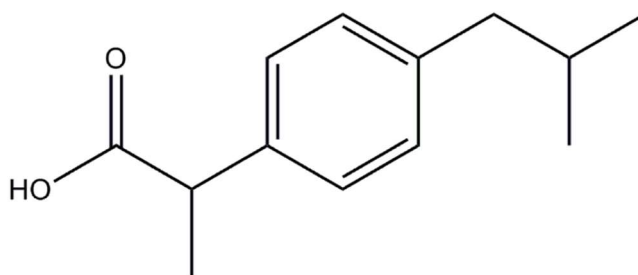


Figura 2-18. Fórmula estrutural do ibuprofeno (ANDRIOLI *et al.*, 2014).

O ibuprofeno apresenta um aspecto de pó cristalino branco, sendo praticamente insolúvel em água, levemente solúvel em acetona, metanol e cloreto de metileno. Dissolve-se em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos e carbonatos. Este composto apresenta pKa igual 4,9 e coeficiente de partição n-octanol/água (log Kow) igual a 3,5, conforme FISPQ do produto. Apesar de ser geralmente bem tolerado, o consumo desse fármaco pode desencadear dor de cabeça e de estômago, vômitos, diarreia, podendo também produzir diversas gastropatias, entre as quais, úlceras no estômago e duodeno. Trata-se de um dos anti-inflamatórios não esteroides mais vendidos em todo o mundo, sendo o seu consumo excessivo associado à úlceras gástricas e outros efeitos colaterais (SEABRA, 2015; CHÁVEZ *et al.*, 2018).

Diante dos tópicos apresentados neste capítulo, têm-se informações fundamentais para compreender as etapas que fizeram parte do desenvolvimento do presente estudo, incluindo as características dos materiais que compõem a matriz onde o fármaco foi encapsulado, os métodos de encapsulação de fármacos, os diferentes sistemas de liberação de

fármacos e os processos farmacocinéticos envolvidos. Ressalta-se a relevância e o ineditismo do presente estudo, uma vez que matrizes gastrorresistentes constituídas de sericina e alginato por gelificação iônica e reticuladas quimicamente com PEG para incorporação e liberação modificada dos fármacos diclofenaco de sódio e ibuprofeno foram pela primeira vez desenvolvidas nesta Tese de Doutorado.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo apresenta os materiais utilizados para o desenvolvimento do presente estudo e as metodologias empregadas na preparação dos casulos do bicho-da-seda, nos processos de extração, separação e fracionamento da sericina, concentração da sericina na solução extraída, na preparação e caracterização das partículas, incorporação dos fármacos à blenda de sericina e alginato, na determinação da eficiência de incorporação do fármaco, nos ensaios de dissolução *in vitro* dos fármacos estudados e no estudo cinético da liberação.

3.1. EQUIPAMENTOS

Os seguintes equipamentos foram utilizados ao longo desta tese:

- Agitador magnético com aquecimento, modelo TE 0851, marca Tecnal, Brasil;
- Analisador térmico, modelo DTG-60, marca Shimadzu, Japão;
- Aparelho dissolutor de cestos, modelo UDT-814-6, marca Logan, USA;
- Autoclave, modelo AV-18, marca Phoenix, Brasil;
- Balança analítica, modelo AUY220, marca Shimadzu, Japão;
- Banho ultrassônico, modelo 1510, marca Branson, USA;
- Bomba Peristáltica, modelo 77201-60, marca Masterflex L/S, USA;
- Câmara climática, modelo 420-CLDTS, marca Ethik, Brasil;
- Difratorômetro de Raios X, modelo X'Pert-MPD, marca Philips, Holanda;
- Espectrofotômetro UV-visível, modelo UVmini1240, marca Shimadzu, Japão;
- Espectrômetro FTIR, modelo Nicolet 6700, marca Thermo Scientific, USA;
- Estufa, modelo 400-TD, marca Ethik, Brasil;
- Estufa, modelo 515A, marca Fanem, Brasil;
- Homogeneizador Ultraturrax[®], modelo T18, marca IKA, USA;
- Medidor de pH de bancada microprocessado, modelo PG 1800, marca Gehaka, Brasil;
- Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo 440i, marca Microscope Electron LEO, Inglaterra;
- Microscópio Óptico, modelo DC4-456H, marca National, USA;
- Sistema Purificador de Água com Osmose Reversa, modelo OS 20 LXE, marca Gehaka, Brasil.

3.2. CASULOS DO BICHO-DA-SEDA

Os casulos do bicho-da-seda *Bombyx mori* utilizados nos experimentos foram obtidos na empresa de fiação de seda BRATAC, com sede na cidade de Londrina – PR. Os casulos fornecidos pela empresa são os empregados na classificação da produção dos sericultores no momento da entrega do material nos entrepostos da empresa em Nova Esperança - PR. A Figura 3.1 apresenta os casulos na forma como eram recebidos.



Figura 3-1. Casulos do bicho-da-seda na forma recebida.

3.3. PREPARAÇÃO DOS CASULOS PARA EXTRAÇÃO

Com a finalidade de remover as sujidades aderidas aos casulos para posterior realização dos experimentos de extração, conforme metodologia apresentada por Tomadon Jr (2011) e Silva *et al.* (2013), os casulos foram abertos e limpos com o auxílio de tesoura e pinça. Após esse processo, os casulos foram cortados em tamanho aproximado de 1 cm², lavados com água corrente e enxaguados três vezes com água deionizada. A Figura 3.2 apresenta a forma como os casulos foram utilizados nos experimentos de degomagem.

Após a limpeza, os casulos foram colocados em bandejas plásticas e conduzidos à estufa a 40 °C para a secagem por 12 h. Ao serem retirados da estufa, os casulos foram resfriados em dessecadores com sílica-gel e posteriormente pesados, em balança analítica, para serem utilizados nos experimentos de degomagem.



Figura 3-2. Casulos limpos e cortados utilizados nos experimentos de degomagem.

3.4. PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA SERICINA

Tomadon Jr (2011), em seu estudo sobre a obtenção da sericina com alta massa molar a partir de casulos *Bombyx mori*, avaliou diferentes métodos de extração (chapa de aquecimento, micro-ondas, autoclave) em diferentes condições. O autor concluiu que o método mais eficiente de extração de sericina para obter peptídeos com elevada massa molar é a extração em autoclave na pressão manométrica de 1 kgf.cm^{-2} a temperatura de $120 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 40 min, sendo este método ratificado por Silva *et al.* (2013). Desta forma, este método de extração foi adotado no presente trabalho.

Os casulos limpos e secos foram acondicionados em Erlenmeyers, sendo a proporção empregada equivalente a 40 g de casulos para 1 L de água deionizada. Com a finalidade de evitar que eventuais transbordamentos carregassem parte do material em solução, utilizou-se papel filtro para vedar o bocal do Erlenmeyer, como mostrado na Figura 3.3. O Erlenmeyer foi então conduzido à autoclave, onde permaneceu por 40 min sob pressão manométrica de 1 kgf.cm^{-2} e temperatura de $120 \text{ }^\circ\text{C}$. Após esse período, a solução de sericina extraída, ainda quente, foi separada das fibras de fibroína por filtração simples com papel de filtro qualitativo com porosidade média de $14 \text{ }\mu\text{m}$, sendo em seguida acondicionada em garrafas plásticas devidamente fechadas. Desta forma, cumpre-se totalmente o objetivo específico A, apresentado no tópico 1.2.2, que se refere à extração da sericina dos casulos do bicho-da-seda por autoclave.



Figura 3-3. Erlenmeyer preparado para a extração da sericina em autoclave.

3.5. FRACIONAMENTO DA SERICINA

Tomadon Jr (2011) e Silva *et al.* (2013) estudaram a precipitação da sericina através de solventes orgânicos e por congelamento, concluindo que a precipitação por congelamento é um método bastante favorável, sendo eficiente também para o fracionamento da sericina. Desta forma, a solução de sericina extraída e acondicionada nas garrafas plásticas fechadas permaneceu a temperatura ambiente por 12 h. Com a diminuição da temperatura, a solução extraída tornou-se mais viscosa, transformando-se em hidrogel. Esse período de 12 h foi necessário para que o gel se estabilizasse completamente, sendo os recipientes, contendo a solução de sericina, encaminhados posteriormente para congelador convencional, onde permaneceram por 24 h. Após este período, a solução foi descongelada à temperatura ambiente, ocorrendo, portanto, uma separação de fase com um sobrenadante contendo proteínas ainda insolubilizadas (peptídeos de maior massa molar). Para realizar a separação da proteína na fase sobrenadante da solução foi efetuada filtração com papel de filtro qualitativo com porosidade média de 14 μm . O sobrenadante obtido foi acondicionado em embalagem identificada e armazenado sob refrigeração para posterior análise da concentração de sericina. Sendo assim, o objetivo específico B, apresentado no tópico 1.2.2, referente ao fracionamento da solução de sericina, foi concluído.

3.6. CONCENTRAÇÃO DA SERICINA NA SOLUÇÃO EXTRAÍDA

A determinação da concentração de sericina na solução foi realizada pelo método das massas, de acordo com a metodologia utilizada por Li e Xie (2005). Para tanto, 5 mL de solução de sericina foi colocado em uma placa de petri, com massa previamente determinada, e após 24 h em estufa a 100 °C a massa da sericina constante na placa de petri foi medida. Desta forma, foi possível determinar a concentração da sericina em solução pela Equação 3.1.

$$C_S = \frac{m_2 - m_1}{V} \times 1000 \quad (3.1)$$

Sendo C_S a concentração de sericina (g/L), m_1 a massa da placa de petri (g), m_2 a massa da placa de petri + solução de sericina após 24 h em estufa a 100 °C (g) e V o volume da solução de sericina adicionada à placa de petri (5 mL).

Todas as medidas de determinação da concentração da sericina em solução foram realizadas em triplicata.

Conhecendo-se a concentração da solução de sericina extraída, foi possível realizar a diluição desta solução, utilizando água deionizada, a fim de atingir a concentração de 25 g/L (2,5 % m/V), conforme metodologia apresentada por Silva *et al* (2013), para a preparação da blenda entre sericina e alginato. Com a concentração ajustada, a solução de sericina foi mantida sob refrigeração para posteriormente ser utilizada nos procedimentos de formação da blenda com o alginato e incorporação do fármaco.

3.7. INCORPORAÇÃO DE FÁRMACOS À BLENDAS DE SERICINA E ALGINATO

Com o objetivo de produzir a blenda de sericina e alginato, a solução de sericina 2,5 % (m/V) foi aquecida até 120 °C por 10 minutos em autoclave, para que o máximo de proteína fosse solubilizada novamente e, em seguida, foi colocada sob agitação a 4000 rpm em homogeneizador Ultraturrax[®], seguindo metodologia adaptada de Khandai *et al.* (2010) e Silva *et al.* (2013). Quando a solução de sericina atingiu 55 °C, foi adicionado, sob agitação, alginato de sódio, sendo homogeneizado a 4000 rpm. Após a solubilização do alginato, adicionou-se o fármaco à blenda entre sericina e alginato e a solução obtida foi homogeneizada a 8000 rpm até a completa dissolução do fármaco, concluindo-se o objetivo

específico C, apresentado no tópico 1.2.2, relacionado à preparação da blenda e incorporação do fármaco.

Conforme destacado por Wang *et al.* (2007), o PEG é um polímero com excelente biocompatibilidade e não apresenta toxicidade, sendo utilizado em blendas com outros polímeros. A reticulação química pelo PEG promove mudanças na estrutura química do polímero que pode afetar as propriedades físico-químicas e mecânicas do material. Lee e Moneey (2012) sugerem que a reticulação do alginato com PEG pode promover um aumento da resistência do material em meios ácidos. Li e Xie (2005) prepararam estruturas 3D porosas a partir de sericina reticulada com PEG, obtendo resultados que demonstraram um aumento da quantidade de folhas- β na sericina reticulada, aumentando a sua cristalinidade e resistência mecânica em comparação com a sericina não reticulada com PEG. Desta forma, formulações contendo, sericina, alginato, fármaco e éter polietilenoglicol diglicídico (PEG) também foram desenvolvidas, a fim de avaliar a influência do PEG como agente reticulante, tanto da sericina quanto do alginato, na eficiência de incorporação do fármaco. Sendo assim, a preparação da blenda seguiu a mesma metodologia descrita acima, e após a homogeneização do fármaco, adicionou-se o PEG e manteve-se a agitação em Ultraturrax[®] a 8000 rpm por 30 min, conforme metodologia empregada por Silva (2016).

O fármaco também foi incorporado apenas ao alginato, para comparação nos ensaios posteriores de eficiência de incorporação e perfil de dissolução *in vitro*. Neste caso, o alginato foi dissolvido em água, sendo homogeneizado em Ultraturrax[®] a 4000 rpm, e o fármaco adicionado em seguida, sendo homogeneizado a 8000 rpm.

Os fármacos estudados neste trabalho foram o Diclofenaco de Sódio (DS) e o Ibuprofeno (Ibu). O Diclofenaco de Sódio foi estudado primeiramente, e após a obtenção das melhores formulações desenvolvidas para esse fármaco, procedeu-se aos estudos com o Ibuprofeno. Ambos os fármacos estudados possuem uma grande demanda no mercado mundial, e são classificados como antiinflamatórios não esteroidais (AINEs), sendo necessário que sejam gastrorresistentes a fim de minimizar os efeitos colaterais.

As Tabelas 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4 apresentam a composição de todas as formulações desenvolvidas.

Inicialmente, foram desenvolvidas 4 formulações de partículas contendo sericina, alginato e diclofenaco de sódio. O objetivo dessa investigação preliminar foi verificar a influência do fármaco na composição da blenda. Para tanto, baseado no estudo de Silva *et al.* (2013), fixou-se a quantidade de sericina em 2,5 % (m/V) e a quantidade de alginato em

2,0 % (m/V), enquanto que a quantidade de fármaco variou entre 2,0 e 6,0 % (m/V), conforme apresentado na Tabela 3.1.

Tabela 3-1. Formulações com variação da concentração de fármaco na blenda.

Formulação (ensaio)	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Diclofenaco de Sódio (% m/V)
1	2,5	2,0	2,0
2	2,5	2,0	3,0
3	2,5	2,0	4,0
4	2,5	2,0	6,0

Conhecendo-se a melhor formulação obtida no estudo anterior, no caso ensaio 1, outras 12 formulações foram desenvolvidas a fim de determinar a influência da quantidade de alginato na blenda. Desta forma, as formulações desenvolvidas são apresentadas na Tabela 3.2.

Tabela 3-2. Formulações com variação da concentração de alginato na blenda

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Diclofenaco de Sódio (% m/V)
F1	2,5	0,50	2,0
F2	2,5	1,00	2,0
F3	2,5	1,25	2,0
F4	2,5	1,50	2,0
F5	2,5	2,00	2,0
F6	2,5	2,50	2,0
F7	2,5	2,60	2,0
F8	2,5	2,80	2,0
F9	2,5	3,00	2,0
F10	2,5	3,30	2,0
F11	2,5	3,60	2,0
F12	-	4,00	2,0

A partir dos resultados obtidos para as 12 formulações desenvolvidas, selecionou-se a melhor formulação, no caso a F8, e avaliou-se a influência do éter polietilenoglicol

diglicídico (PEG) na composição da blenda. A Tabela 3.3 apresenta as formulações desenvolvidas contendo PEG na composição.

Tabela 3-3. Formulações contendo PEG na composição da blenda.

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Diclofenaco de Sódio (% m/V)	PEG (% m/V)
P1	2,5	2,8	2,0	0,0667
P2	2,5	2,8	2,0	0,1347
P3	2,5	2,8	2,0	0,2041
P4	2,5	2,8	2,0	0,3842
P5	2,5	2,8	2,0	0,8111
P6	2,5	2,8	2,0	1,825

A partir dos melhores resultados do comportamento das formulações desenvolvidas no estudo com o fármaco diclofenaco de sódio, iniciou-se uma investigação do comportamento da blenda de sericina e alginato com o fármaco Ibuprofeno. Sendo assim, 5 formulações representativas do estudo anterior foram desenvolvidas para a incorporação do ibuprofeno, e suas composições são apresentadas na Tabela 3.4.

Tabela 3-4. Formulações desenvolvidas para o Ibuprofeno.

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Ibuprofeno (% m/V)	PEG (% m/V)
Ibu1	2,5	1,0	2,0	-
Ibu2	2,5	1,5	2,0	-
Ibu3	2,5	2,8	2,0	-
Ibu4	2,5	2,8	2,0	0,3842
Ibu5	-	2,8	2,0	-

3.8. PREPARAÇÃO DAS PARTÍCULAS

As partículas foram preparadas utilizando-se a técnica de gelificação iônica, seguindo metodologia adaptada de Khandai *et al.* (2010) e Silva *et al.* (2013). Para tanto, a blenda entre sericina e alginato contendo o fármaco incorporado foi gotejada, com um sistema

de bomba peristáltica, sob agitação magnética, em solução aquosa de cloreto de cálcio 3 % (m/V), promovendo uma rápida gelificação da solução polimérica contendo o fármaco.

Após o gotejamento, as partículas foram mantidas em solução de cloreto de cálcio 3 % (m/V) sob agitação a 100 rpm em jar test por 30 minutos, a fim de garantir que a reticulação fosse completa. Em seguida, as partículas foram removidas da solução de cloreto de cálcio, lavadas com água deionizada e secas à temperatura ambiente em bandejas de papel filtro. A Figura 3.4 ilustra o sistema de preparação das partículas. Desta forma, o objetivo específico D, apresentado no tópico 1.2.2, referente à preparação das partículas pelo método de gelificação iônica foi concluído.



Figura 3-4. Sistema de gotejamento seguido de reticulação para formação das partículas.

3.9. DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DO FÁRMACO

A metodologia empregada por Sinha *et al.* (2015) foi utilizada para a determinação do teor de fármaco incorporado nas partículas de sericina e alginato. Para tanto, 0,1 g de cada formulação produzida foi colocada, juntamente com tampão fosfato pH 6,8, em balões volumétricos de 500 mL e mantida em repouso por 24 h. Após esse período, cada balão volumétrico foi colocado em banho ultrassônico, modelo Brason 1510-USA, por 15 min, a fim de que todo o fármaco presente na amostra fosse dissolvido. Em seguida, a solução foi filtrada com papel filtro qualitativo com porosidade de 14 μm e foi lida a sua absorvância por espectroscopia na região UV-visível nos comprimentos de onda $\lambda = 276 \text{ nm}$ para o diclofenaco de sódio, e $\lambda = 222 \text{ nm}$ para o Ibuprofeno. A partir dos valores de absorvância e

por meio da equação matemática obtida da curva de calibração, foi possível calcular os valores da concentração. Dessa forma, pode-se calcular a eficiência de incorporação de fármaco pela Equação 3.2.

$$\%incorporação = \frac{\text{concentração do fármaco obtido}}{\text{concentração do fármaco teórico}} \times 100 \quad (3.2)$$

Em que, *%incorporação* representa a eficiência de incorporação, *concentração do fármaco obtido* indica a concentração de fármaco obtida através da leitura espectrofotométrica, e *concentração do fármaco teórico* é a concentração teórica do fármaco introduzido na blenda durante o preparo das formulações.

3.10. ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS IN VITRO

Conforme metodologia recomendada pela Farmacopeia Brasileira (2010), foi realizado o ensaio de dissolução dos fármacos de forma a obter o perfil de liberação *in vitro* dos mesmos. Sendo assim, para as formulações contendo diclofenaco de sódio, uma quantidade de partículas equivalente a 50 mg de fármaco foi colocada em contato com 900 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 M (simulação do meio ácido) durante 2 h, em aparelho dissolutor de cestos Logan modelo UDT-814-6, a $37,0 \pm 0,5$ °C e velocidade de rotação de 50 rpm. Ao término das 2 h de experimento, coletou-se 5 mL da amostra para determinação da concentração de fármaco liberado em meio ácido por espectrofotometria UV-visível a 276 nm.

Imediatamente após a análise de dissolução em meio ácido das formulações contendo diclofenaco de sódio, o meio de dissolução foi substituído por tampão fosfato pH 6,8, responsável pela simulação da dissolução em meio entérico. As partículas submetidas ao ensaio em meio ácido foram recuperadas para que o ensaio fosse continuado em meio entérico. Desta forma, o ensaio prosseguiu nas mesmas condições apresentadas para o meio ácido, e em intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas de 5 mL foram coletadas ao longo do experimento, com reposição do meio de dissolução, para determinação da concentração do fármaco liberado por espectrofotometria UV-visível a 276 nm. Esta etapa do experimento durou 10 h, sendo o tempo necessário para que todo o fármaco fosse liberado e o equilíbrio atingido.

Para as formulações contendo ibuprofeno, uma quantidade de partículas equivalente a 200 mg de fármaco foi colocada em contato com 900 mL de solução tampão pH 7,2 em aparelho dissolutor de cestos Logan modelo UDT-814-6, a $37,0 \pm 0,5$ °C e

velocidade de rotação de 50 rpm. Em intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas de 5 mL foram coletadas ao longo do experimento, com reposição do meio de dissolução, para determinação da concentração do fármaco liberado por espectrofotometria UV-visível a 222 nm. Esta etapa do experimento durou 30 h, sendo o tempo necessário para que todo o fármaco fosse liberado e o equilíbrio atingido.

3.11. ESTUDO CINÉTICO DA LIBERAÇÃO

Os modelos matemáticos de ordem-zero, primeira-ordem, Weibull, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hopfenberg para sistemas cilíndricos ($n = 2$) e Hopfenberg para sistemas esféricos ($n = 3$) apresentados no item 2.6, foram utilizados para avaliar o comportamento de liberação do fármaco *in vitro* em meio entérico simulado. A adequação do modelo matemático ao perfil de liberação experimental foi avaliada pelo coeficiente de correlação ajustado (R^2_{aj}) e pelo critério de informação de Akaike (AIC). Embora o coeficiente de determinação (R^2) seja mais comum na comparação de diferentes modelos, ele tende a aumentar pela adição de mais parâmetros. Então, quando modelos com diferentes números de parâmetros são comparados, R^2_{aj} é mais apropriado. AIC fornece o melhor ajuste baseado na máxima verossimilhança. O modelo que apresenta o menor valor de AIC entre um conjunto de modelos é aquele que apresenta o melhor ajuste. Este estudo foi realizado utilizando rotinas desenvolvidas no *software* Maple®.

3.12. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

A morfologia e as características superficiais das partículas foram avaliadas através da técnica de microscopia eletrônica de varredura. Os diâmetros médios das partículas e suas distribuições de tamanho foram avaliados por microscopia ótica com o auxílio do *software* ImageJ.

As técnicas analíticas de espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica e termodiferencial (TGA/DTA) e difração de raios X (DRX), foram realizadas para caracterizar as partículas desenvolvidas para cada formulação.

3.12.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA E DE SUPERFÍCIE

A morfologia superficial de todas as formulações desenvolvidas e dos fármacos puros foi analisada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para tanto, as amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro. As fotomicrografias foram obtidas a uma tensão de aceleração de 10 kV em microscópio eletrônico (440i, Microscope Electron LEO, Inglaterra).

3.12.2. DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA POR MICROSCOPIA ÓTICA

A distribuição do tamanho de partículas de todas as formulações desenvolvidas foi realizada por microscopia ótica (DC4-456H, National, USA) utilizando o *software* ImageJ (1.47v, USA). O diâmetro de 500 partículas foi medido, e o diâmetro médio foi calculado para cada formulação. Além disso, a distribuição do tamanho de partícula foi analisada pelo ajuste do modelo de distribuição Gaussiana.

3.12.3. IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E LIGAÇÕES PRESENTES NAS AMOSTRAS (FT-IR)

A interação entre o fármaco e a blenda de sericina e alginato foi avaliada por análise de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando um espectrômetro da marca Thermo Scientific, modelo Nicolet 6700. As medidas foram realizadas no modo de transmitância, utilizando o acessório *snap-in baseplate* (método KBr), na faixa de 4000 - 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans.

3.12.4. AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA (DRX)

A técnica de difração de raios X foi empregada com a finalidade de avaliar a estrutura cristalina das partículas desenvolvidas. Quando os raios X interagem com um material cristalino, eles geram um padrão de difração intenso, com picos pontiagudos e estreitos, enquanto que as partes amorfas geram picos mais largos e menores. Sendo assim, para avaliar a cristalinidade das formulações, utilizou-se um equipamento da marca Philips, modelo X'Pert-MPD, radiação $K\alpha$ do cobre com comprimento de onda de 1,54 Å, voltagem de 40 kV, corrente de 40 mA, 2θ na faixa de 5 a 50°, com passo de 0,02° e velocidade de 0,02°/s.

3.12.5. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E TERMODIFERENCIAL (TGA/DTA)

A estabilidade térmica das formulações desenvolvidas e dos fármacos puros foi avaliada por análise termogravimétrica (TGA), enquanto que a identificação das transformações endotérmicas ou exotérmicas presentes foi avaliada pela análise térmica diferencial (DTA). Para tanto, utilizou-se um equipamento da marca Shimadzu, modelo DTG-60, o qual realiza simultaneamente as análises de TGA e DTA, sob atmosfera inerte de nitrogênio, fluxo de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 20 °C/min. As amostras foram aquecidas de 30 °C a 1000 °C.

3.13. ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DESENVOLVIDAS

As formulações F5 a F12 apresentadas na Tabela 3.2 foram avaliadas quanto à estabilidade. Sendo assim, para cada formulação, uma quantidade de partículas equivalente a 50 mg de diclofenaco de sódio foi adicionado em cápsulas tamanho 0 e seladas em blíster, conforme mostra a Figura 3.5. Foram preparadas 16 cápsulas para cada formulação. Após esta preparação, os blísteres contendo as cápsulas de cada formulação foram acondicionados em câmara climática (Ethik, 420-CLDTS) a 40 °C e UR de 75 %, onde permaneceram por 6 meses. A cada intervalo de 3 meses, as amostras foram retiradas da câmara climática e avaliadas quanto à eficiência de incorporação e perfil de dissolução do fármaco, sendo cada análise realizada em triplicata.



Figura 3-5. Formulações F5 a F12 (Tabela 3.2) encapsuladas e seladas.

3.14. DINÂMICA PARA DEFINIÇÃO DE AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE FÁRMACO

O presente estudo realizou etapas de testes iniciais, seguindo metodologias científicas, a fim de determinar a capacidade da blenda de sericina e alginato em incorporar fármacos, até ser possível obter a incorporação dos fármacos à blenda e avaliação desta incorporação de maneira satisfatória. Inicialmente, a preparação da blenda e incorporação dos fármacos foram desenvolvidas com agitação mecânica simples, percebendo-se que as partículas formadas não apresentavam a característica e forma desejada de partícula esférica, apresentando muitas bolhas de ar incorporadas pelo processo de agitação. Sendo assim, após inúmeros ensaios de avaliação, chegou-se ao método de preparação da blenda e incorporação de fármacos à blenda por Ultraturrax® descrito no item 3.7 e utilizado até o término deste trabalho.

Além disso, o método de determinação da eficiência de incorporação do fármaco à blenda apresentado no item 3.9 foi empregado após terem sido realizados outros testes preliminares de incorporação. Um dos métodos utilizados foi a dissolução do diclofenaco de sódio presente na partícula em solução de metanol, devido à alta solubilidade deste fármaco no metanol. Porém, os resultados obtidos não foram satisfatórios, visto que as partículas contendo o fármaco apresentavam elevada dureza, não sendo possível dissolver o fármaco que estava presente nas camadas mais internas da partícula. Sendo assim, o tampão fosfato foi utilizado ao longo deste trabalho não somente como meio de dissolução simulado para os ensaios de dissolução *in vitro* como também foi utilizado para a determinação da eficiência de incorporação do fármaco, uma vez que a solução tampão é capaz de romper a partícula e permitir que o fármaco presente na mesma seja dissolvido na solução.

A metodologia de dissolução *in vitro* do fármaco descrita no item 3.10 também foi utilizada após várias tentativas de dissolução do fármaco em solução de metanol e em banho orbital, porém esta metodologia científica não representava de maneira adequada os sistemas gástrico e entérico. Desta forma, verificou-se a necessidade de realizar os testes de dissolução *in vitro* em aparelho dissolutor conforme recomendado pela farmacopeia. Para tanto, um teste de dissolução *in vitro* foi realizado no equipamento dissolutor da Faculdade de Farmácia da Universidade Estadual de Campinas e posteriormente, com o sucesso dos resultados, um projeto para aquisição do equipamento foi submetido e aprovado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo para que fosse possível o prosseguimento dos estudos de dissolução dos fármacos nos laboratórios LEA / LEPA de desenvolvimento desta tese.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados referentes à eficiência de incorporação dos fármacos à blenda de sericina e alginato para todas as formulações desenvolvidas. Ainda, será apresentado o perfil de dissolução das formulações e o estudo cinético da liberação dos fármacos, além da caracterização das partículas e estudo de estabilidade.

4.1. FORMULAÇÕES CONTENDO DICLOFENACO DE SÓDIO

4.1.1. AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO

As 4 formulações desenvolvidas inicialmente, contendo sericina, alginato e diclofenaco de sódio, as quais possuíam como fator variável a concentração de fármaco na composição, foram avaliadas quanto à eficiência de incorporação do fármaco à blenda. À blenda formada adicionou-se o fármaco, nas devidas proporções, e as partículas foram produzidas por gelificação iônica em solução de cálcio com posterior secagem, de acordo com a metodologia apresentada nos tópicos 3.7 e 3.8. A Tabela 4.1 e a Figura 4.1 apresentam os resultados de eficiência de incorporação de fármaco nas partículas produzidas a partir de diferentes concentrações de fármacos na blenda formada entre sericina e alginato. A eficiência de incorporação foi determinada de acordo com a metodologia descrita no tópico 3.9.

Tabela 4-1. Eficiência de incorporação das formulações com variação da concentração de fármaco na blenda.

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Diclofenaco de Sódio (% m/V)	Eficiência de incorporação (%)
1	2,5	2,0	2,0	77,34 ± 1,95
2	2,5	2,0	3,0	58,72 ± 2,21
3	2,5	2,0	4,0	51,87 ± 2,31
4	2,5	2,0	6,0	33,31 ± 3,18

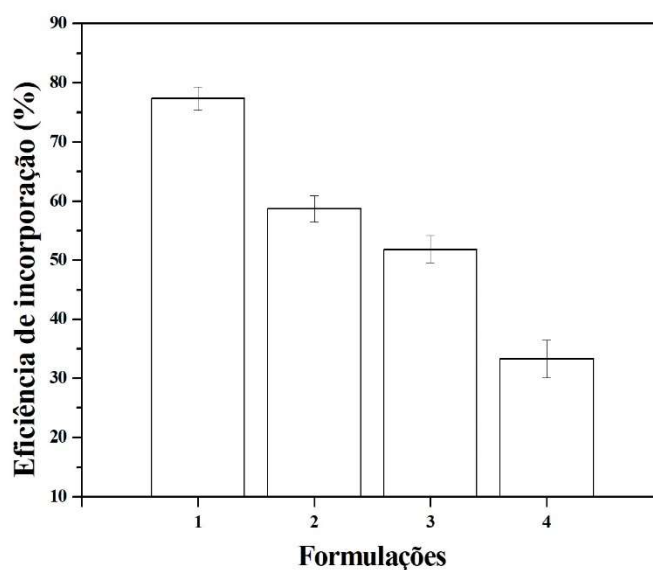


Figura 4-1. Eficiência de incorporação do diclofenaco de sódio das formulações 1 a 4.

Inicialmente, o objetivo deste estudo era verificar a capacidade da matriz de sericina e alginato, estudada por Silva *et al.* (2013), em incorporar fármacos. Por este motivo, a composição da blenda estudada foi fixada nos valores apresentados na Tabela 4.1, enquanto que a concentração de fármaco variou de 2 a 6 % (m/V). Os resultados apresentados na Tabela 4.1 e na Figura 4.1 comprovam a capacidade da blenda estudada em incorporar o fármaco diclofenaco de sódio.

A formulação 1 apresentou uma eficiência de incorporação de 77,34 %, sendo a maior incorporação obtida entre as formulações 1 a 4. Verificou-se um decréscimo na eficiência de incorporação proporcional ao aumento de fármaco na matriz, indicando uma saturação da matriz, causando a redução na capacidade de aprisionar o fármaco. Valores inferiores a 2,0 % (m/V) de diclofenaco de sódio na composição da formulação não foram investigados, pois a grande quantidade de partículas necessária para atingir a dosagem de DS para administração oral seria inviável.

Proporcional à baixa eficiência de incorporação, a elevada perda de diclofenaco de sódio nas formulações 2, 3 e 4, sendo de 41,28 %, 48,13 % e 66,69 %, respectivamente, inviabilizam a utilização dessas formulações para fins industriais. A perda de diclofenaco de sódio se refere ao fármaco desprendido da partícula durante o processo de reticulação iônica da blenda, na formação da partícula úmida, sendo esse fármaco dissolvido na solução reticulante de cálcio. Esse fato pode ser atribuído a dois problemas relacionados à produção das partículas: a elevada perda de matéria prima, e a geração de efluente com alta

concentração de fármaco, que demandaria tratamento específico para sua estabilização. Desta forma, considerando a eficiência de incorporação e as perdas de matéria-prima, verifica-se que a formulação 1 apresenta as melhores características.

Comprovada a capacidade da matriz de sericina e alginato em aprisionar o fármaco diclofenaco de sódio em sua estrutura, e sabendo-se que a concentração de 2,0 % (m/V) de DS seria a ideal para obter elevadas eficiências de incorporação com menores perdas de matéria-prima, procedeu-se à alteração da composição da matriz de sericina e alginato, a fim de aumentar a eficiência de incorporação e melhorar as características das partículas produzidas. Assim, a concentração de sericina foi fixada em 2,5 % (m/V), a concentração de alginato variou de 0,5 % (m/V) a 4,0 % (m/V) e a concentração de DS foi fixada em 2,0 % (m/V).

A Tabela 4.2 apresenta as eficiências de incorporação obtidas para as 12 formulações desenvolvidas, F1 a F12, com variação de alginato na composição. Devido a elevada viscosidade da solução e dificuldade de preparação de partículas causada pela adição de alginato, adotou-se o intervalo de concentração de alginato de 0,5 a 4,0 % m/V. Para melhor visualização, este resultado também pode ser observado na Figura 4.2.

Tabela 4-2. Eficiência de incorporação de diclofenaco de sódio nas formulações com variação da concentração de alginato na blenda.

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Diclofenaco de Sódio (% m/V)	Eficiência de incorporação (%)
F1	2,5	0,5	2,0	89,45 ± 4,40
F2	2,5	1,0	2,0	90,40 ± 4,61
F3	2,5	1,25	2,0	89,03 ± 4,11
F4	2,5	1,5	2,0	83,71 ± 3,92
F5	2,5	2,0	2,0	79,22 ± 1,67
F6	2,5	2,5	2,0	78,09 ± 1,89
F7	2,5	2,6	2,0	79,93 ± 3,87
F8	2,5	2,8	2,0	81,06 ± 1,71
F9	2,5	3,0	2,0	78,61 ± 1,44
F10	2,5	3,3	2,0	73,96 ± 2,15
F11	2,5	3,6	2,0	77,77 ± 2,28
F12	-	4,0	2,0	71,62 ± 7,17

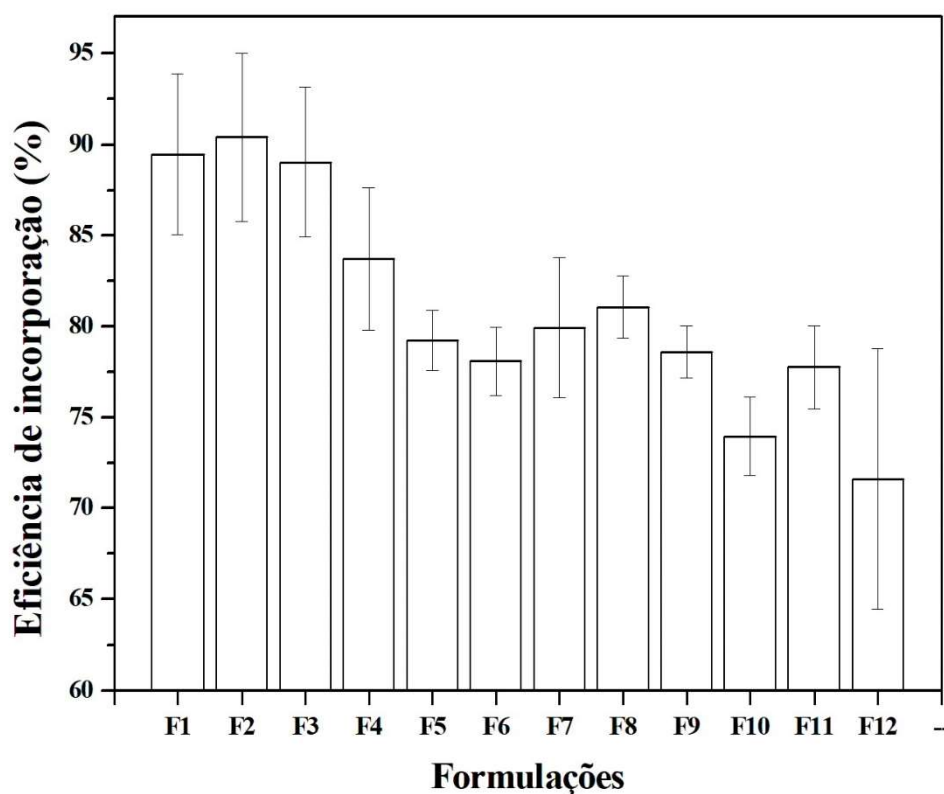


Figura 4-2. Eficiência de incorporação de diclofenaco de sódio nas formulações F1 a F12.

As eficiências de incorporação das 12 formulações desenvolvidas variaram entre 90,40 % e 71,62 %. Verificou-se que a sericina contribui para o aumento da eficiência de incorporação do fármaco à blenda. Nota-se também o maior desvio da formulação F12, a qual não contém sericina em sua composição, o que pode indicar uma maior reprodutibilidade das formulações contendo sericina. A presença de sericina na composição da formulação, sendo uma proteína que contém 18 tipos de aminoácidos, a maioria deles com grupos polares, possibilita maior reticulação entre as cadeias de sericina e alginato durante o processo de gelificação iônica, o que pode impedir a liberação indesejada do fármaco da blenda durante o processo de reticulação com cálcio.

A Figura 4.3 mostra as imagens das partículas desenvolvidas para as 12 formulações. As formulações F1 a F4, com as mais baixas concentrações de alginato, embora apresentem uma boa eficiência de incorporação, não formaram partículas bem definidas e apresentaram grande fragilidade em sua forma úmida, o que dificultou o manuseio no processo de secagem. Por outro lado, altas dosagens de alginato na formulação (acima de 3,0 % m/V) tornam o processo de gotejamento da mistura em solução de CaCl_2 difícil, devido

à alta viscosidade da mistura e dificuldade de formação de partículas (formação de gotas) durante o processo de gotejamento para a produção de partículas reticuladas em solução de cálcio. A importância da concentração de alginato no preparo da blenda e produção das partículas está relacionada, portanto, a eficiência de incorporação e a estabilidade física das partículas. Nas formulações F1, F2, F3 e F4 não foi possível obter partículas independentes. A baixa quantidade de alginato fez com que a blenda reticulada com cálcio se aglomerasse uma as outras impedindo dessa forma sua utilização em sistemas multi-particulados.

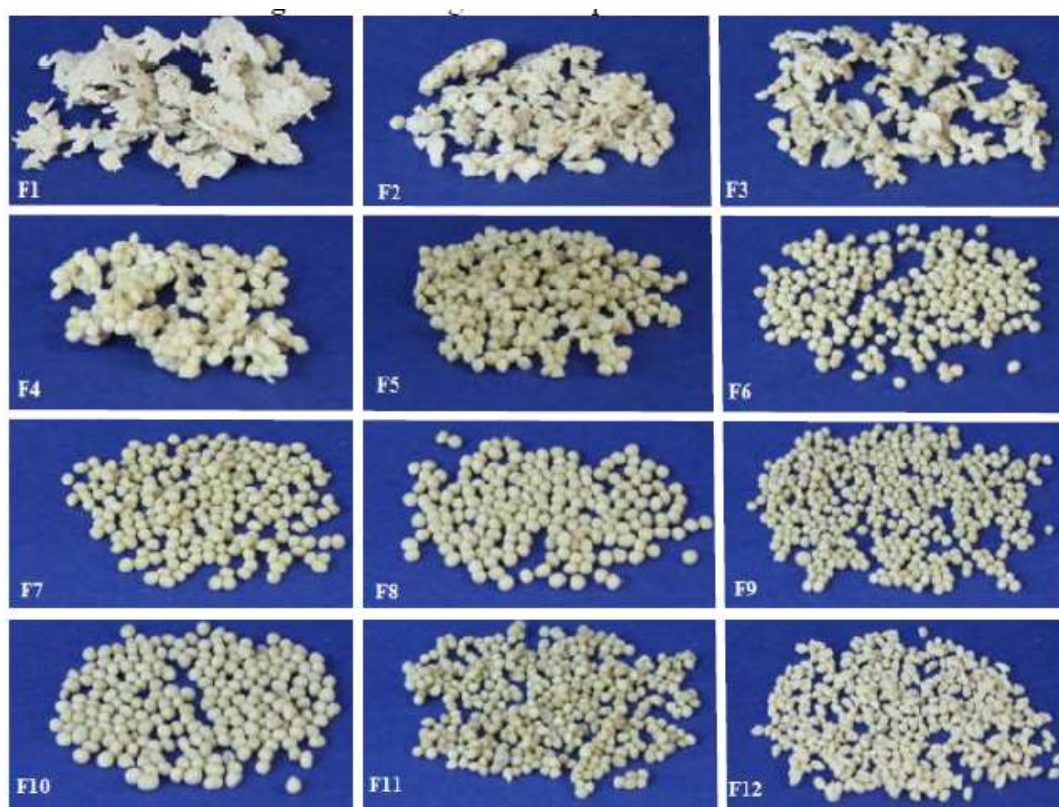


Figura 4-3. Partículas produzidas para as formulações F1 a F12.

Os resultados obtidos nesta etapa, referentes à preparação da blenda entre sericina e alginato, incorporação de diclofenaco de sódio, preparação de partículas e avaliação da eficiência de incorporação do DS à blenda cumprem os objetivos específicos C, D e E apresentados no tópico 1.2.2.

4.1.2. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO

A determinação da formulação mais adequada para a entrega de fármacos depende da avaliação do perfil de liberação em meio gastrointestinal, além da eficiência de incorporação do fármaco à blenda. O perfil de liberação em meio gastrointestinal simula, de maneira artificial, a liberação do fármaco contido nas partículas quando este é ingerido pelo corpo humano sendo importante para prever os locais de preservação e absorção do fármaco no organismo. O perfil de dissolução do diclofenaco de sódio incorporado à blenda de sericina e alginato foi avaliado em meios de dissolução que simulavam o meio gástrico e entérico, conforme metodologia recomendada pela Farmacopeia Brasileira, tópico 3.10.

Considerando que as formulações F1 a F4 não formaram partículas adequadas para a continuação dos ensaios experimentais, apenas as formulações F5 a F12 foram avaliadas quanto ao perfil de dissolução do fármaco. A Tabela 4.3 apresenta a porcentagem de fármaco liberado após 2 h do teste de dissolução *in vitro* em meio ácido, HCl 0,1 M, enquanto que a Figura 4.4 apresenta os perfis de dissolução obtidos nos ensaios de dissolução *in vitro* em meio entérico simulado (Tampão Fosfato pH 6,8).

Tabela 4-3. Liberação de diclofenaco de sódio em meio ácido para as formulações F5 a F12.

Formulação	Liberação de fármaco em meio ácido (%)
F5	1,51 ± 0,28
F6	1,75 ± 0,26
F7	2,63 ± 0,66
F8	1,77 ± 0,06
F9	2,35 ± 0,34
F10	1,92 ± 0,36
F11	1,92 ± 0,28
F12	1,49 ± 0,26

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.3, verificou-se que a liberação do fármaco em meio ácido atingiu valores próximos a 2 %, indicando que as partículas desenvolvidas apresentam gastrorresistência, ou seja, resistência ao pH ácido do estômago. A característica gastrorresistente das formulações desenvolvidas foi atribuída à

presença de alginato na blenda, visto que a formulação sem sericina (F12) também apresentou baixa liberação do fármaco em meio ácido. Conforme a Farmacopeia Brasileira, a liberação em meio ácido de até 10 % de diclofenaco de sódio declarado na formulação é considerada aceitável para uma formulação gastrorresistente.

A gastrorresistência em materiais particulados produzidos com alginato foi observada em outros trabalhos científicos. Tiourina e Sukhorukov (2002) utilizaram alginato de sódio e protamina como polímeros na produção de micropartículas com a proteína quimotripsina encapsulada e observaram que não houve nenhuma liberação da proteína em meio ácido (pH 1,7); porém, em meio entérico simulado (pH 8,0) 85 % da proteína foi liberada após 6 h e 95 % após 12 h. Nogueira *et al.* (2017) investigaram a produção, caracterização e resistência de partículas produzidas com alginato e proteína *whey* ao pH, força iônica e aos fluidos gástricos e intestinais artificiais. Neste trabalho, a liberação em meio ácido atingiu valores de 85,8 % e em meio intestinal artificial liberação de 99,2 % do nitrogênio referente à proteína encapsulada nas camadas da partícula.

A Figura 4.4 apresenta os perfis de dissolução do diclofenaco de sódio em tampão fosfato pH 6,8 para cada formulação desenvolvida. É possível verificar que a presença de sericina nas formulações causa uma liberação de fármaco mais prolongada quando comparada à formulação sem a presença de sericina (F12), a qual libera todo o fármaco incorporado em 45 min. Todas as formulações contendo sericina na composição apresentaram liberação total do fármaco entre 240 e 360 min de dissolução em meio tamponado, pH 6,8, simulando o meio entérico. As formulações F8 e F10 liberaram todo o fármaco presente na formulação em 360 min, sendo o período mais longo comparado às demais formulações.

A liberação controlada do diclofenaco de sódio pode implicar em menos dosagens e melhor adesão do paciente ao tratamento, além da proteção ao fármaco que a incorporação à blenda proporciona. A solubilidade do diclofenaco depende do pH do meio, sendo menor que 1 mg.mL^{-1} em condições ácidas e, além disso, sob essas condições a molécula de diclofenaco de sódio sofre ciclização intramolecular com a perda do sódio para o meio, podendo ocorrer, dessa forma, sua inativação (PALOMO *et al.*, 1999).

Desta forma, considera-se a formulação F8 mais adequada para este fim, uma vez que possui elevado valor de eficiência de incorporação e liberação mais lenta do fármaco em meio entérico simulado. A formulação F10, embora apresente características de incorporação e liberação semelhantes a F8, possui a sua preparação mais complicada devido à alta viscosidade da mistura de sericina, alginato e fármaco, causada pelo alto teor de alginato, conforme comentado anteriormente.

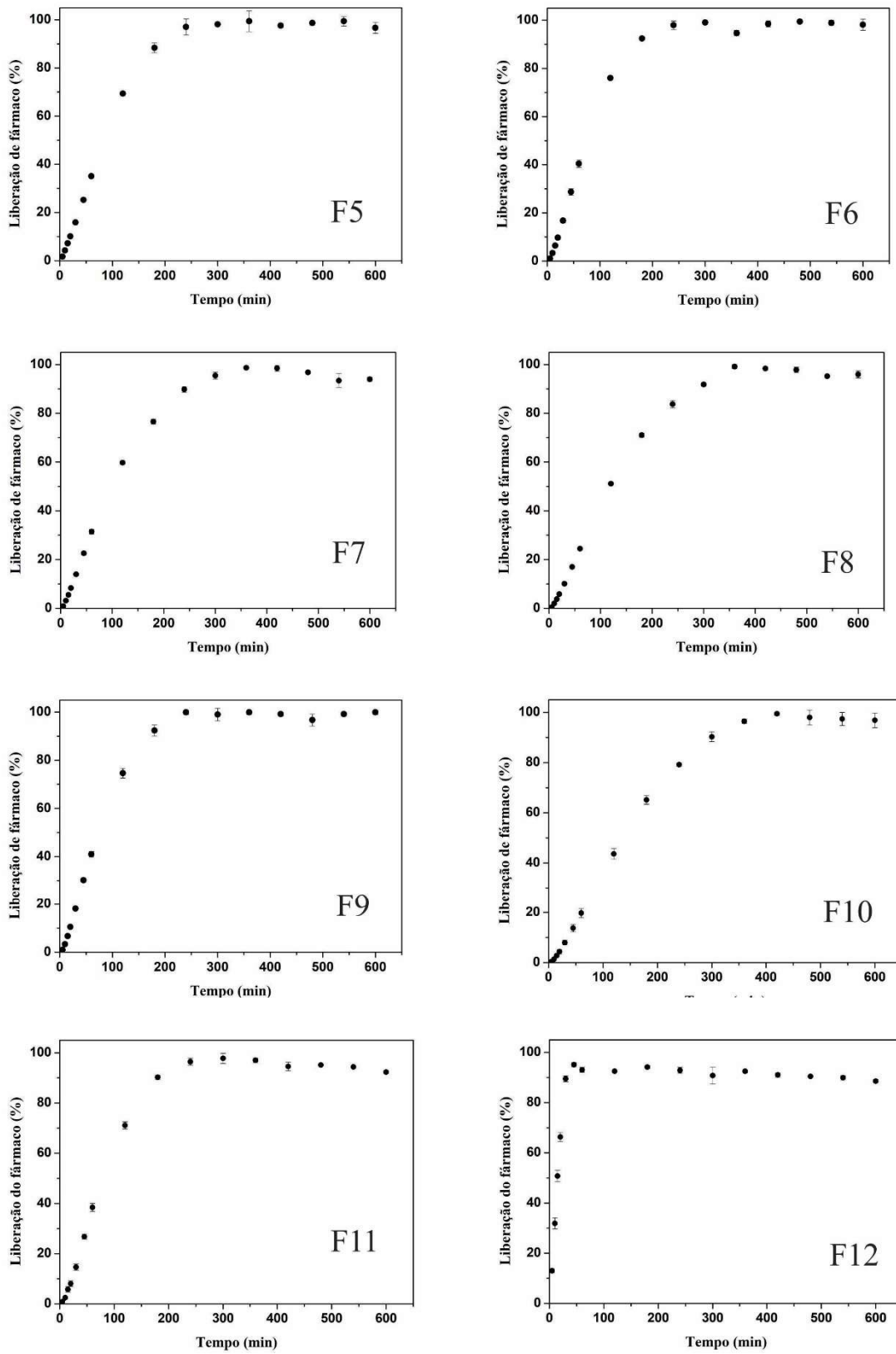


Figura 4-4. Perfil de dissolução do diclofenaco de sódio em meio tamponado pH 6,8.

Os resultados obtidos nesta etapa cumprem o objetivo específico F apresentado no tópico 1.2.2 desta tese, relacionado à avaliação do perfil de dissolução do DS.

4.1.3. AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO

A Tabela 4.4 apresenta os resultados obtidos com a modelagem matemática, sendo possível observar, conforme resultados destacados, que o modelo de Weibull apresenta melhor ajuste aos resultados experimentais, visto que os valores de R^2_{aj} para esse modelo são maiores e que os valores de AIC são menores quando comparado aos outros modelos. Além disso, valores de R^2_{aj} acima de 0,99 indicam um bom ajuste do modelo aos resultados experimentais. Ainda, para o modelo de Weibull, o parâmetro de forma b apresentou valores maiores que 1,0 para todas as formulações desenvolvidas, indicando que a forma da curva de dissolução é sigmoideal, em forma de S, com curvatura ascendente seguida por um ponto de viragem.

A falta de ajuste do modelo de Higuchi aos resultados experimentais indica que a liberação do fármaco não está relacionada ao processo de difusão baseado na Lei de Fick. Esta hipótese é confirmada pelo modelo de Korsmeyer-Peppas, que apresentou valores de n entre 0,5 e 1,0 para todas as formulações, indicando que a liberação do fármaco é governada por um processo de difusão anômala (não-Fickiana). O ajuste do modelo de Ordem-Zero sugere que pode haver influência da relaxação polimérica no movimento das moléculas do fármaco dentro da matriz, portanto, a liberação do fármaco pode estar associada a um processo misto de difusão e mecanismos de relaxação de cadeias, como sugerido pelo modelo de Korsmeyer-Peppas.

O modelo de Hopfenberg, que considera a geometria das partículas, também apresentou ajuste tanto para sistemas cilíndricos ($n = 2$) como para sistemas esféricos ($n = 3$), assumindo que o processo limitante para a liberação do fármaco é a erosão da matriz. Pela análise dos modelos apresentados, presume-se que o mecanismo de liberação do fármaco presente nas formulações desenvolvidas está associado aos processos de intumescimento, erosão da matriz e uma mistura de difusão e mecanismos de relaxação das cadeias, onde haverá uma deformação das cadeias poliméricas quando submetidas a uma tensão, facilitando a liberação do fármaco.

Os resultados aqui apresentados cumprem o objetivo específico G do tópico 1.2.2, referente à avaliação dos mecanismos de liberação do DS através da modelagem matemática aplicada ao perfil de dissolução do fármaco.

Tabela 4-4. Resultados da modelagem matemática para o perfil de dissolução do diclofenaco de sódio.

Modelo Parâmetro		Formulações							
		F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
Ordem-zero	K	0,4605	0,4819	0,3706	0,3169	0,4859	0,3001	0,4646	2,5551
	R^2_{aj}	0,9285	0,8847	0,9100	0,9234	0,8954	0,9520	0,9042	0,7797
	AIC	63,62	69,69	74,18	80,64	68,80	73,43	66,92	43,07
Primeira-ordem	K	0,0086	0,0096	0,0074	0,0063	0,0098	0,0055	0,0088	0,0507
	R^2_{aj}	0,9043	0,8960	0,9508	0,9316	0,9040	0,9027	0,8852	0,8175
	AIC	62,58	64,08	63,22	74,87	63,29	78,33	64,70	36,72
Weibull	A	773,97	797,43	542,55	1069,7	665,02	2234,5	936,25	91,72
	B	1,4242	1,4700	1,2935	1,3871	1,4301	1,4941	1,4771	1,5378
	R^2_{aj}	0,9990	0,9999	0,9991	0,9986	0,9987	0,9933	0,9984	0,9939
	AIC	20,36	-10,38	21,88	31,69	23,97	22,44	25,43	19,39
Higuchi	K	5,5819	5,8893	5,1394	4,8290	5,9436	4,5118	5,6267	13,925 3
	R^2_{aj}	0,6330	0,6444	0,7226	0,7169	0,6642	0,6421	0,6004	0,6193
	AIC	75,56	76,14	81,17	91,10	75,51	93,44	77,02	41,24
Korsmeyer- Peppas	K	1,1537	1,5000	1,3055	1,0187	1,5371	0,5997	1,1642	7,3167
	N	0,8227	0,7807	0,7671	0,7912	0,7776	0,8763	0,8228	0,6969
	R^2_{aj}	0,9488	0,9131	0,9496	0,9507	0,9296	0,9574	0,9178	0,8144
	AIC	59,40	65,42	66,12	74,01	63,33	92,20	64,54	39,37
Hopfenberg; n = 2	K	0,0034	0,0038	0,0028	0,0024	0,0038	0,0021	0,0035	0,0199
	R^2_{aj}	0,9831	0,9762	0,9924	0,9886	0,9830	0,9759	0,9680	0,9537
	AIC	46,91	51,12	44,71	55,25	47,77	63,16	53,63	30,02
Hopfenberg; n = 3	K	0,0025	0,0028	0,0021	0,0018	0,0028	0,0016	0,0025	0,0144
	R^2_{aj}	0,9661	0,9596	0,9874	0,9780	0,9669	0,9585	0,9500	0,9271
	AIC	53,22	55,73	49,53	62,45	53,74	69,09	57,43	32,11

4.1.4. ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES COM DICLOFENACO DE SÓDIO (DS)

4.1.4.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA E DE SUPERFÍCIE (MEV)

A Figura 4.5 mostra a morfologia da superfície do DS puro, das partículas de sericina e alginato sem a presença de fármaco (SerAlg) e das formulações F5 a F12. É possível observar que a presença de sericina na composição das formulações favorece a esfericidade das partículas, visto que a formulação F12, que não possui sericina em sua composição, apresenta forma ovalada.

Com exceção das partículas sem o fármaco (SerAlg), que apresentou uma morfologia de superfície lisa, todas as formulações desenvolvidas (F5 a F12) apresentaram uma superfície rugosa, o que pode ser um indicativo de que o fármaco está, de fato, incorporado à matriz.

Os cristais de DS podem ser facilmente identificados nas imagens das seções transversais das partículas com ampliação de 3000× de todas as formulações. Observa-se, ainda, que a partícula de F12 apresenta uma superfície muito mais rugosa quando comparada às demais formulações, o que pode favorecer a liberação do fármaco mais rápida, quando em meio de dissolução, fato este confirmado pelo ensaio do perfil dissolução apresentado na seção 4.1.2. Sendo assim, as partículas que contêm sericina podem contribuir para a liberação prolongada do DS presente na matriz e, talvez, reduzir os efeitos colaterais causados pelo fármaco.

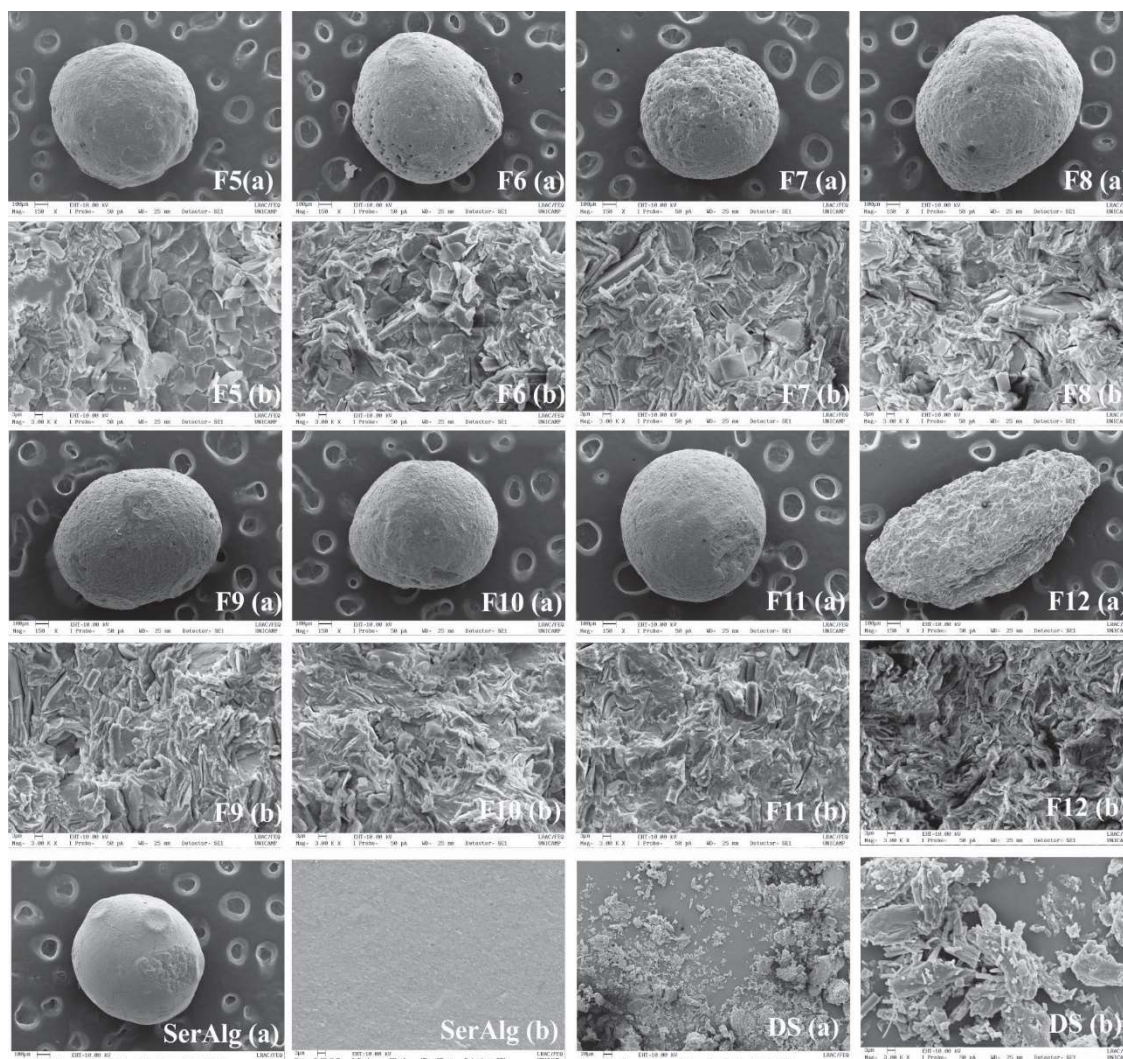


Figura 4-5. Micrografias do Diclofenaco de Sódio puro (DS), partículas com DS incorporado (F5 a F12) e sem DS (SerAlg). (a) Partículas com ampliação de 150×. (b) Seção transversal das partículas com ampliação de 3000×.

4.1.4.2. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA

O efeito da composição da blenda na distribuição do tamanho de partículas é mostrado na Figura 4.6. Além disso, é possível observar o diâmetro médio das partículas obtido para cada formulação, além do coeficiente de determinação ajustado para o ajuste da distribuição Gaussiana (normal). Os diâmetros médios observados variaram entre $1,18 \pm 0,14$ mm e $1,46 \pm 0,20$ mm. Verificou-se que todas as formulações produzidas apresentaram uma distribuição de tamanho de partículas normal, porém, a formulação que apresentou melhor ajuste ao modelo de Gauss foi a F8, com R_a^2 igual a 0,9904. Esse resultado pode indicar uma melhor reprodutibilidade das partículas de F8 quando comparada às outras,

uma vez que sua distribuição é mais simétrica. Nesse sentido, sugere-se que formulações contendo uma proporção de alginato ligeiramente maior que a proporção de sericina em sua composição, melhoram as características de reprodutibilidade das partículas.

Confirmando as observações realizadas experimentalmente durante o preparo das formulações, as quais foram comentadas no item 4.1.1, nota-se que partículas com menos alginato não são tão uniformes, devido à menor quantidade de sódio disponível para a reticulação, enquanto que as partículas com muito alginato também não são muito uniformes, devido à alta viscosidade da blenda, que dificulta a formação das partículas. Sendo assim, salienta-se a importância da adequada concentração de alginato na blenda para a obtenção de partículas com características apropriadas para a liberação de fármacos, como é o caso da formulação F8.

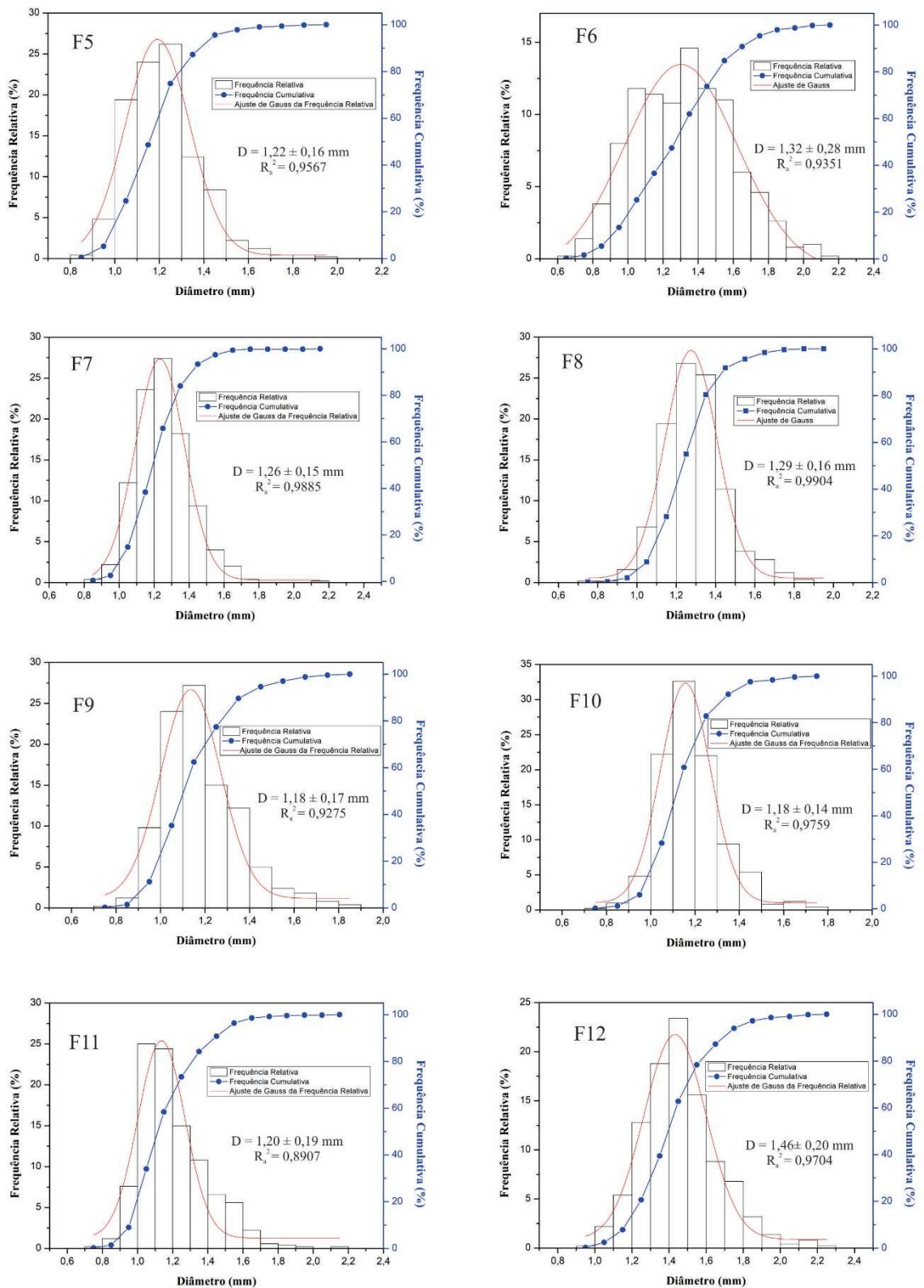


Figura 4-6. Efeito da composição da blenda na distribuição do tamanho de partícula.

4.1.4.3. AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA CRISTALINA (DRX) E IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E LIGAÇÕES PRESENTES NAS FORMULAÇÕES (FTIR)

A Figura 4.7 (a) apresenta os espectros de FTIR de todas as formulações produzidas, da blenda entre sericina e alginato (Ser/Alg) e do diclofenaco de sódio puro (DS). Em todas as formulações produzidas verifica-se a presença de bandas em 1530 cm^{-1} , correspondente ao grupo NH, presente no DS puro (TERAMOTO *et al.*, 2008). Em 1510 cm^{-1} e 1580 cm^{-1} , verificam-se as bandas correspondentes ao estiramento C=C e C=O do grupo carboxílico, respectivamente (TERAMOTO E MIYAZAWA, 2005). Evidencia-se ainda a banda em 723 cm^{-1} correspondente ao grupo alquila do DS, e em 746 cm^{-1} correspondente à ligação C-H proveniente do anel aromático da molécula de DS (GIL *et al.*, 2011). Essas bandas não estão presentes na blenda de sericina e alginato, assim, constata-se que ocorreu a incorporação do fármaco à estrutura da blenda. Portanto, as formulações desenvolvidas apresentaram características significativas do DS puro no espectro de FTIR, confirmando a compatibilidade do diclofenaco de sódio com a blenda de sericina e alginato.

Os difratogramas de raios X de todas as formulações produzidas, bem como da sericina, do alginato e do DS puros, e da blenda entre sericina e alginato são apresentados na Figura 4.7 (b). É possível observar a característica estrutural predominantemente amorfa apresentada pela sericina e alginato puros, embora o alginato apresente um pico de cristalinidade em 13° e a sericina um pico em 19° referente à sua estrutura cristalina folhas- β (PATEL *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2004). Sendo assim, a estrutura da partícula formada pela blenda entre sericina e alginato é predominantemente amorfa, devido ao estado amorfo da sericina e do alginato puros. O difratograma do DS indica uma estrutura cristalina para esse fármaco. Picos em $6,38^\circ$, $8,26^\circ$, $14,90^\circ$, $19,23^\circ$, $20,74^\circ$, $25,96^\circ$, $26,82^\circ$ e $27,70^\circ$ são característicos da estrutura cristalina do diclofenaco de sódio (PATEL *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2004).

Importantes picos característicos do DS, em diferentes ângulos de dispersão conforme destacado, e com diferentes intensidades de sinal, foram observados em todas as formulações analisadas (F5 a F12). A intensidade de alguns picos característicos do DS diminuiu significativamente nos difratogramas das formulações F5 a F12 (picos $< 20^\circ$), sugerindo uma amorfização progressiva e/ou dissolução do fármaco na blenda durante a preparação das formulações. No entanto, além da dissolução do fármaco na matriz de sericina e alginato, os difratogramas sugerem que as formulações F5 a F12 apresentam uma maior cristalinidade quando comparadas às partículas de sericina e alginato sem a presença de

fármaco, provavelmente devido à presença do diclofenaco de sódio na sua forma microcristalina dentro da partícula de sericina e alginato, como sugerido nas imagens de MEV. Além da presença do DS na matriz, os difratogramas das formulações desenvolvidas indicam que o DS intercalou de forma satisfatória na matriz de sericina e alginato.

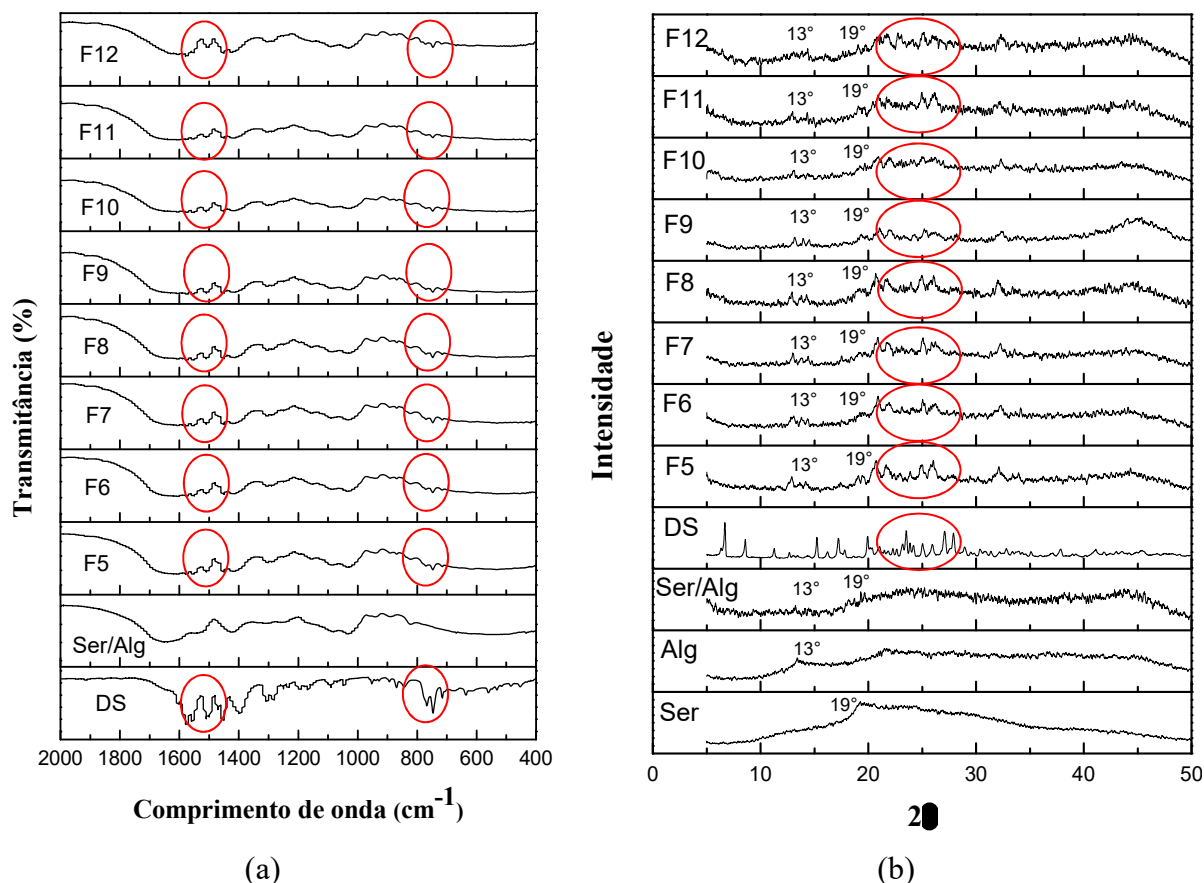


Figura 4-7. (a) Espectroscopia na região do infravermelho para diclofenaco de sódio puro (DS), partículas de sericina e alginato (Ser/Alg) e formulações produzidas (F5-F12) (b) Difratogramas de raios X da sericina pura (Ser), do alginato puro (Alg), das partículas de sericina e alginato (Ser/Alg) e das formulações produzidas (F5-F12).

4.1.4.4. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA – TGA/DTA

A Figura 4.8 apresenta os resultados de DTA, TGA e DTG para todas as formulações, do diclofenaco de sódio (DS) e das partículas de sericina e alginato sem o DS (Ser/Alg). As curvas decorrentes da análise de TGA apresentam a perda de massa de cada amostra que ocorre com o aquecimento, enquanto as curvas de DTG (derivada do TGA) permitem determinar a temperatura em que as perdas de massa são mais acentuadas. Já a

análise de DTA permite identificar o carácter endotérmico ou exotérmico das transformações que ocorrem durante o aquecimento da amostra, sendo, portanto, informações complementares.

Na amostra de Ser/Alg e nas formulações F5 a F12, observa-se que ocorre uma perda constante de massa na faixa de 202-585 °C, a qual refere-se à decomposição do alginato, conforme evidenciado por Soares *et al.* (2004), sendo que na faixa de 246-319 °C ocorre a decomposição da sericina, como observado por Jo *et al.* (2015). Na faixa de 588-751 °C, observa-se a característica exotérmica da transformação ocorrida no material, que pode ser atribuída a formação de carbonato de cálcio de acordo com Soares *et al.* (2004). As curvas obtidas para o DS demonstram que ocorre uma primeira perda de massa na faixa de 80-100 °C que é referente à perda de água presente na amostra e que é desprendida do sólido durante o aquecimento, sendo este um processo endotérmico. A segunda perda de massa do DS ocorre na faixa entre 260 e 400 °C e indica a eliminação de HCl, NH e CH, CO e formação de Na₂CO₃. Já entre 400 e 545 °C a perda de massa observada ocorre provavelmente à oxidação do anel benzênico presente na fórmula molecular do DS, de acordo com Ribeiro *et al.* (1995). Próximo a 800 °C observa-se um evento exotérmico, que pode ser atribuído a perda de massa referente à pirólise de resíduos carbonáceos e a perda parcial de cloreto de sódio (Ribeiro *et al.*, 1995). Em todas as formulações (F5-F12) pode-se verificar que ocorreram eventos, alguns mais pronunciados que outros, na faixa de 850-1000 °C, que pode ser observado também na amostra de DS pura e que é ausente na amostra de Ser/Alg. Desta forma, pode-se inferir que tais eventos provieram do fármaco incorporado, confirmando sua presença nas formulações.

As análises de caracterização apresentadas neste tópico cumprem o objetivo específico H do tópico 1.2.2.

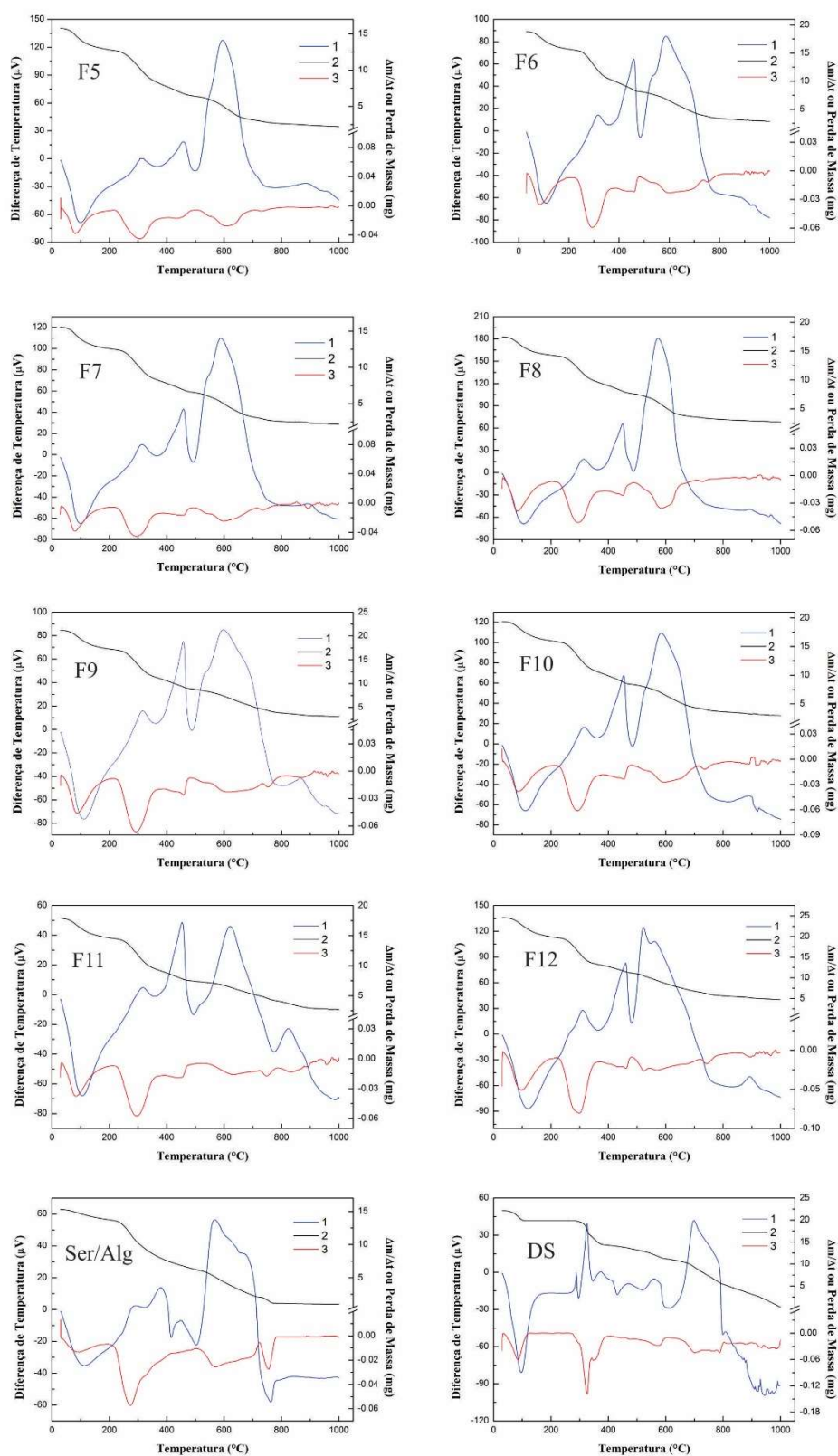


Figura 4-8. Análises de DTA (1), TGA (2) e DTG (3) das formulações F5 a F12, partículas de sericina e alginato sem fármaco (Ser/Alg) e diclofenaco de sódio puro (DS).

4.1.5. ESTUDO DE ESTABILIDADE EM CÂMARA CLIMÁTICA

As formulações F5 a F12 foram avaliadas quanto à sua estabilidade em câmara climática a 40 °C e Umidade Relativa (UR) de 75 %. As partículas de sericina e alginato com fármaco incorporado em sua matriz foram avaliadas em condições comerciais, ou seja, encapsuladas em cápsulas de gelatina e acondicionadas em blísteres de plástico vedados com alumínio. A estabilidade foi avaliada pela comparação dos testes iniciais de eficiência de incorporação do fármaco e perfil de dissolução, com os resultados obtidos nos mesmos testes após 3 e 6 meses na câmara climática.

A Tabela 4.5 apresenta os valores obtidos para a eficiência de incorporação das formulações F5 a F12 após 3 e 6 meses em câmara climática a 40 °C e UR 75 %. Não foram observadas variações significativas nos valores de eficiência de incorporação do fármaco após os períodos de 3 e 6 meses de exposição nas condições descritas, quando comparados aos valores obtidos inicialmente. O perfil de dissolução das formulações F5 a F12 após 3 e 6 meses em câmara climática a 40 °C e UR 75 %, é apresentado na Figura 4.9. Assim como nos ensaios de eficiência de incorporação, não foram verificadas variações significativas no perfil de dissolução do fármaco presente nas formulações, quando comparados aos valores obtidos inicialmente. Desta forma, observa-se que as formulações desenvolvidas são estáveis, quando submetidas às condições estudadas.

Os resultados aqui apresentados satisfazem o objetivo específico I do tópico 1.2.2.

Tabela 4-5. Eficiência de incorporação de DS das formulações F5 a F12 após 3 e 6 meses.

Formulação	Eficiência de incorporação inicial (%)	Eficiência de incorporação após 3 meses (%)	Eficiência de incorporação após 6 meses (%)
F5	79,22 ± 1,67	79,34 ± 1,51	80,33 ± 1,63
F6	78,09 ± 1,89	80,60 ± 2,06	79,21 ± 1,91
F7	79,93 ± 3,87	81,75 ± 2,54	80,11 ± 2,41
F8	81,06 ± 1,71	78,44 ± 2,32	82,93 ± 1,79
F9	78,61 ± 1,44	80,32 ± 2,43	81,20 ± 2,15
F10	73,96 ± 2,15	77,82 ± 2,48	76,12 ± 2,37
F11	77,77 ± 2,28	80,19 ± 1,98	80,53 ± 2,36
F12	71,62 ± 7,17	65,39 ± 5,74	67,24 ± 6,49

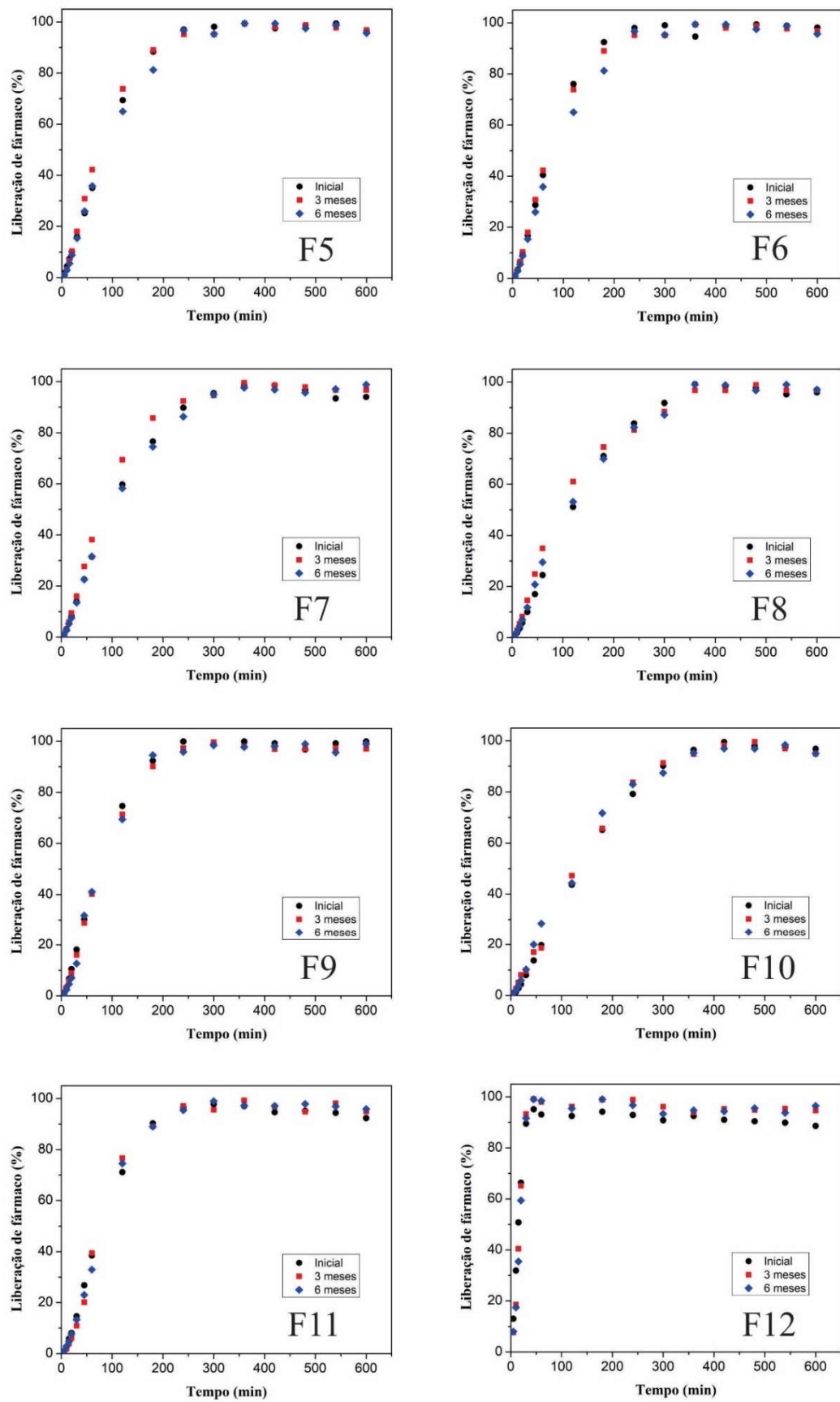


Figura 4-9. Perfil de dissolução do DS nas formulações F5 a F12 após 3 e 6 meses.

4.2. AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PEG NAS FORMULAÇÕES COM DS

4.2.1. EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES P1 A P6

Conhecendo-se os resultados obtidos para as formulações 1 a 4 e F1 a F12, apresentadas anteriormente, verificou-se que a formulação F8 foi a que apresentou melhores características para a incorporação e liberação de fármacos. Dessa forma, a fim de avaliar a influência do éter polietilenoglicol diglicídico (PEG) nas características e propriedades das partículas, a concentração de sericina foi fixada em 2,5 % (m/V), a concentração de alginato foi fixada em 2,8 % (m/V), a concentração de DS foi fixada em 2,0 % (m/V) e a concentração de PEG variou de 0,0667 % (m/V) a 1,825 % (m/V).

Considerando que o PEG tem uma ação reticulante tanto para a sericina como para o alginato, a intenção de adicionar este material à blenda foi de aumentar a eficiência de incorporação do fármaco. Isto porque o PEG sendo adicionado antes da preparação das partículas, ou seja, antes da reticulação com cálcio, poderia aprisionar ainda mais o fármaco à matriz, evitando que o fármaco fosse perdido na solução de cálcio durante o gotejamento. A Tabela 4.6 e a Figura 4.10 apresentam os resultados obtidos para a eficiência de incorporação do DS nas formulações P1 a P6. Observa-se um aumento da eficiência de incorporação com o aumento da concentração de PEG, conforme o esperado, sendo que se atingiu uma eficiência de incorporação próxima a 100 % para as formulações P4, P5 e P6. Deve-se salientar que a adição de PEG à formulação aumenta a viscosidade da mistura, o que dificulta o gotejamento para a preparação das partículas. Sendo assim, a formulação P4, que apresenta máxima incorporação de fármaco e menor concentração de PEG quando comparada à P5 e P6, seria a melhor formulação para se desenvolver com o objetivo de obter uma eficiência de incorporação próxima a 100 %.

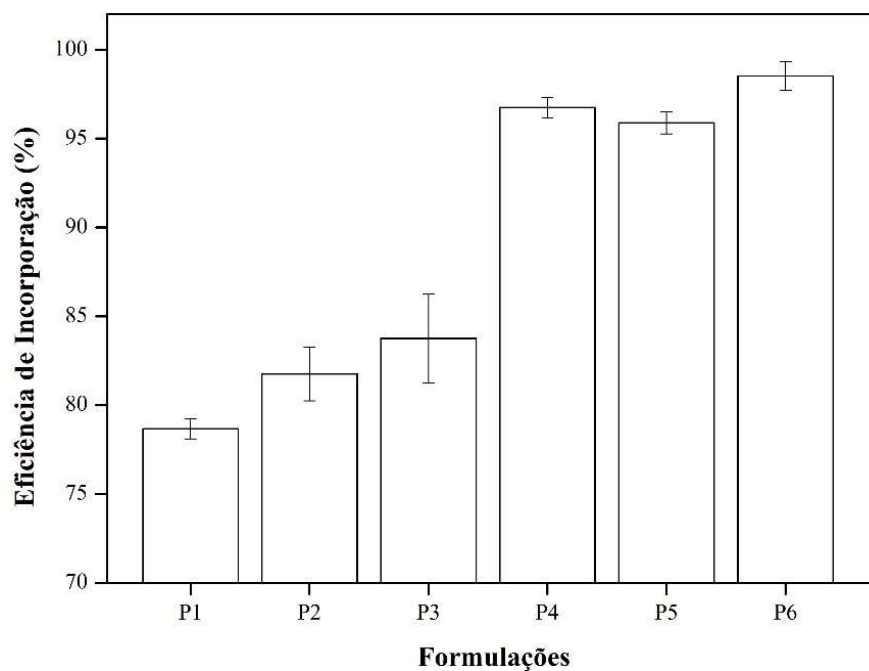


Figura 4-10. Eficiência de incorporação de DS nas formulações P1 a P6.

Tabela 4-6. Eficiência de incorporação de DS das formulações P1 a P6.

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Diclofenaco de Sódio (% m/V)	PEG (% m/V)	Eficiência de incorporação (%)
P1	2,5	2,8	2,0	0,0667	78,67 ± 0,57
P2	2,5	2,8	2,0	0,1347	81,76 ± 1,51
P3	2,5	2,8	2,0	0,2041	83,76 ± 2,52
P4	2,5	2,8	2,0	0,3842	96,74 ± 0,59
P5	2,5	2,8	2,0	0,8111	95,88 ± 0,62
P6	2,5	2,8	2,0	1,8250	98,52 ± 0,81

4.2.2. PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE DS NAS FORMULAÇÕES P1 A P6

Assim como avaliado para as formulações F5 a F12, o perfil de dissolução do diclofenaco de sódio presente nas formulações P1 a P6 também foi estudado. A Tabela 4.7

apresenta a porcentagem de fármaco liberado após 2 h do teste de dissolução *in vitro* em HCl 0,1 M, enquanto que a Figura 4.11 apresenta os perfis de dissolução obtidos nos ensaios de dissolução *in vitro* em meio entérico simulado (Tampão Fosfato pH 6,8).

Tabela 4-7. Liberação de diclofenaco de sódio em meio ácido para as formulações P1 a P6.

Formulação	Liberação de fármaco em meio ácido (%)
P1	1,12 ± 0,42
P2	1,12 ± 0,67
P3	1,29 ± 0,37
P4	1,20 ± 0,78
P5	1,26 ± 0,82
P6	1,40 ± 0,91

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.7, verificou-se que a liberação do fármaco em meio ácido atingiu valores entre 1,12 % e 1,40 %, indicando que as formulações P1 a P6 também apresentam gastrorresistência. Desta forma, a presença de PEG nas formulações não alterou essa característica da blenda.

A Figura 4.11 apresenta os perfis de dissolução do diclofenaco de sódio em tampão fosfato pH 6,8 para as formulações P1 a P6. Todas as formulações estudadas nesta etapa apresentaram liberação total do fármaco em 360 min de experimento. Não foi verificada nenhuma alteração no perfil de dissolução do fármaco quando comparado ao perfil apresentado pela formulação F8. Sendo assim, verificou-se que a presença de PEG na blenda não alterou o perfil de dissolução do fármaco.

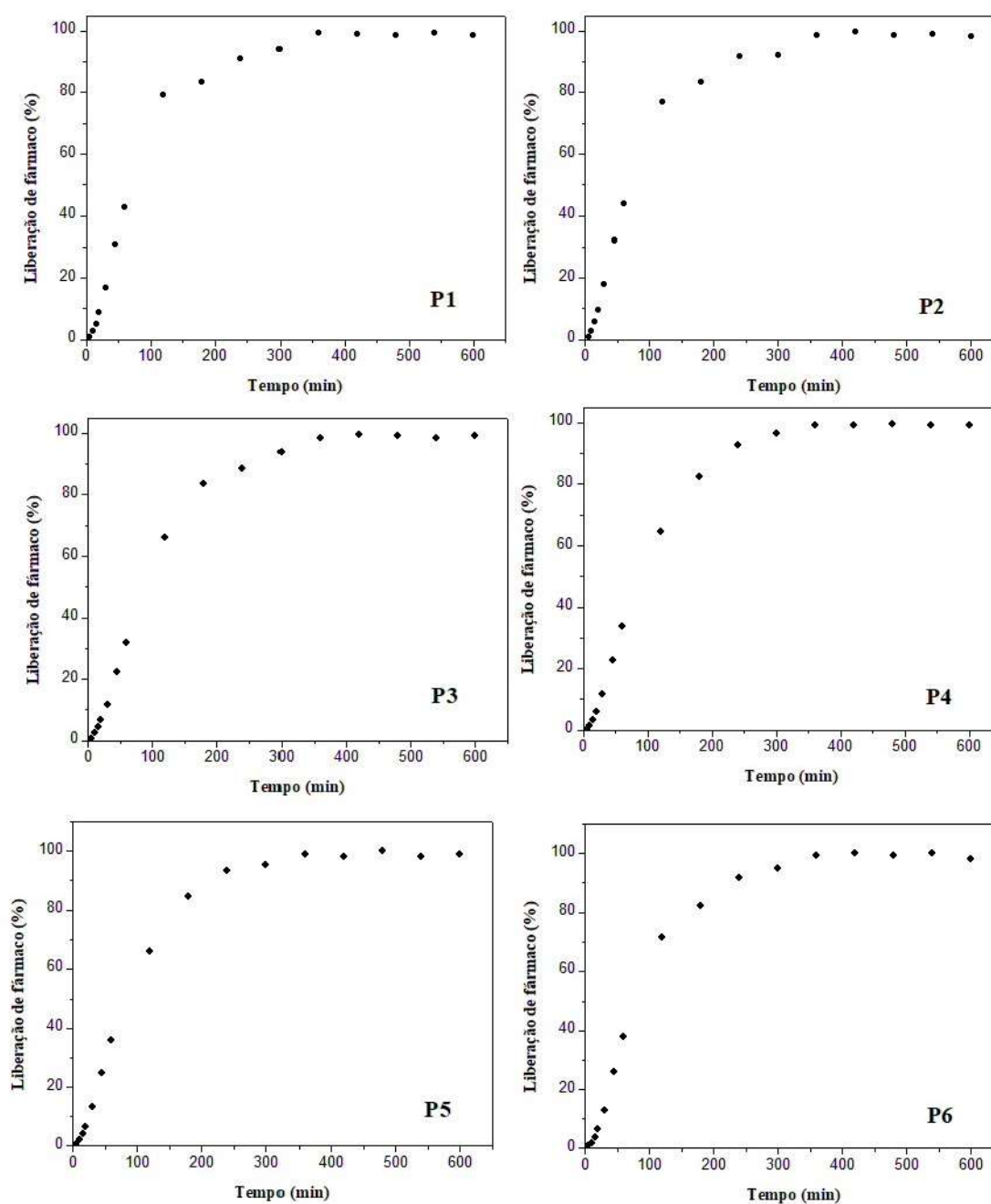


Figura 4-11. Perfil de dissolução de DS incorporado nas formulações P1 a P6.

4.2.3. CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE DS NAS FORMULAÇÕES P1 A P6

Embora o perfil de dissolução das formulações P1 a P6 sejam bastante semelhantes ao perfil de dissolução da formulação F8, a fim de verificar se a cinética de liberação do fármaco nas formulações P1 a P6 segue os mesmos mecanismos sugeridos para a formulação F8, realizou-se a modelagem matemática pelo *software* Maple[®], avaliando os modelos de ordem-zero, primeira-ordem, Weibull, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hopfenberg

para sistemas cilíndricos ($n = 2$) e Hopfenberg para sistemas esféricos ($n = 3$), apresentados no item 2.6.

A Tabela 4.8 apresenta os resultados obtidos com a modelagem matemática, sendo possível observar, conforme os resultados destacados, que assim como para a formulação F8, o modelo de Weibull apresentou melhor ajuste aos resultados experimentais de todas as formulações, visto que os valores de R^2_{aj} para esse modelo são maiores e que os valores de AIC são menores quando comparado aos outros modelos. Além disso, todos os outros modelos apresentaram resultados semelhantes aos obtidos para a formulação F8. Sendo assim, sugere-se que o mecanismo de liberação do fármaco presente nas formulações P1 a P6 também está associado aos processos de intumescimento, erosão da matriz e uma mistura de difusão e mecanismos de relaxação das cadeias que o modelo empírico de Weibull preconiza (FREITAS *et al.*, 2018).

Tabela 4-8. Resultados da modelagem matemática para o perfil de dissolução do DS incorporado nas formulações P1 a P6.

Modelo Parâmetro		Formulações					
		P1	P2	P3	P4	P5	P6
Ordem-zero	k	0,5746	0,5598	0,4269	0,4334	0,4388	0,4710
	R^2_{aj}	0,9306	0,9143	0,9102	0,9318	0,9249	0,9211
	AIC	54,50	55,95	64,53	61,91	63,16	65,10
Primeira-ordem	k	0,0098	0,0096	0,0076	0,0077	0,0079	0,0088
	R^2_{aj}	0,8442	0,8879	0,9027	0,8927	0,8974	0,8415
	AIC	58,43	55,02	61,94	63,09	62,79	68,27
Weibull	a	947,80	569,10	811,21	912,61	825,11	1515,01
	b	1,5270	1,4028	1,3999	1,4274	1,4137	1,5812
	R^2_{aj}	0,9982	0,9942	0,9934	0,9966	0,9960	0,9960
	AIC	21,81	31,80	38,63	32,28	33,93	35,31
Higuchi	k	5,8187	5,7189	5,1487	5,2062	5,2808	5,6498
	R^2_{aj}	0,4881	0,5256	0,5772	0,5678	0,5798	0,5550
	AIC	69,32	67,75	76,13	76,76	76,59	78,88
Korsmeyer-Peppas	k	0,9482	1,1289	0,9559	0,8530	0,9343	0,9260
	n	0,8975	0,8563	0,8445	0,8696	0,8542	0,8696
	R^2_{aj}	0,9283	0,9203	0,9168	0,9362	0,9323	0,9230
	AIC	54,63	54,79	63,19	60,95	61,65	64,57
Hopfenberg; $n = 2$	k	0,0040	0,0039	0,0030	0,0031	0,0031	0,0035
	R^2_{aj}	0,9489	0,9613	0,9634	0,9669	0,9687	0,9501
	AIC	49,74	46,95	53,76	52,86	52,50	58,19
Hopfenberg; $n = 3$	k	0,0029	0,0028	0,0022	0,0022	0,0023	0,0025
	R^2_{aj}	0,9226	0,9462	0,9520	0,9506	0,9537	0,9228
	AIC	52,94	49,33	55,76	56,28	55,81	61,97

A partir dos resultados apresentados neste tópico, os objetivos específicos J, do tópico 1.2.2, referentes à avaliação da influência do PEG nas formulações contendo DS, foram concluídos.

4.3. FORMULAÇÕES CONTENDO IBUPROFENO

4.3.1. EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO DE IBUPROFENO

A fim de avaliar o comportamento da matriz de sericina e alginato para o fármaco ibuprofeno, 5 formulações do estudo com o diclofenaco de sódio foram desenvolvidas para a incorporação do ibuprofeno e avaliadas pela eficiência de incorporação e dissolução do fármaco. A Tabela 4.9 e Figura 4.12 apresentam os resultados obtidos nos ensaios de eficiência de incorporação do ibuprofeno nas formulações Ibu1 a Ibu5.

Tabela 4-9. Eficiência de incorporação do Ibuprofeno nas formulações Ibu1 a Ibu5.

Formulação	Sericina (% m/V)	Alginato (% m/V)	Ibuprofeno (% m/V)	PEG (% m/V)	Eficiência de incorporação (%)
Ibu1	2,5	1,0	2,0	-	92,18 ± 1,78
Ibu2	2,5	1,5	2,0	-	94,15 ± 4,21
Ibu3	2,5	2,8	2,0	-	73,01 ± 1,70
Ibu4	2,5	2,8	2,0	0,3842	76,72 ± 3,25
Ibu5	-	2,8	2,0	-	57,86 ± 1,74

A incorporação de ibuprofeno na matriz de sericina e alginato foi satisfatória, apresentando resultados entre 73,01 % e 94,15 %. Pode-se observar que a formulação Ibu5, a qual não possui sericina em sua composição, apresentou a menor eficiência de incorporação (57,86 %), evidenciando a importância da sericina para aumentar a incorporação do ibuprofeno na matriz, o que também foi verificado nas formulações com o fármaco diclofenaco de sódio. A presença da sericina que é composta por 18 tipos de aminoácidos que apresentam fortes grupos polares (ZHANG, 2002) pode contribuir para a melhor incorporação do fármaco na blenda de sericina e alginato.

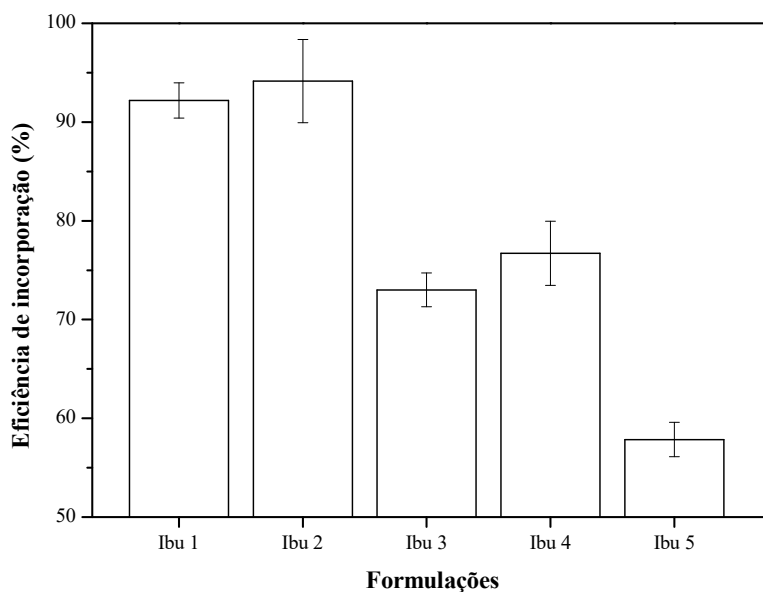


Figura 4-12. Eficiência de incorporação de Ibuprofeno nas formulações Ibu1 a Ibu5.

Ao comparar as formulações Ibu1, Ibu2 e Ibu3, a formulação com maior quantidade de alginato na composição (Ibu3), apresentou a menor eficiência de incorporação. Sendo assim, quando trabalhando com o ibuprofeno incorporado na matriz, o aumento de alginato na composição pode prejudicar a incorporação, considerando ainda que o aumento da viscosidade da solução causada pelo alginato dificulta o processo de gotejamento da mistura em solução de CaCl_2 . Já as formulações Ibu3 e Ibu4 diferem pela presença de PEG em Ibu4, verificando-se um ligeiro aumento da eficiência de incorporação em Ibu4, que pode ser devida a ação reticulante do PEG conforme discutido no item 4.2.1 quando realizada a avaliação da influência do PEG na matriz. De acordo com Lee e Yuk (2007) o PEG é um agente reticulante capaz de promover ligações químicas covalentes entre as cadeias polipeptídicas e os grupos polares presentes nas proteínas, melhorando as características mecânicas da blenda e, como observado, melhorando o aprisionamento do fármaco na matriz polimérica.

Nagpal *et al.* (2012) investigaram a incorporação do ibuprofeno em comprimidos do polissacarídeo alginato e estearato de magnésio, que possui função lubrificante a mistura de fármaco e polissacarídeo e aumenta o tempo de desintegração do comprimido. No material desenvolvido pelos pesquisadores com concentração de alginato similar ao aplicado nesta tese obteve-se valores próximos a 40 % de incorporação, valor este menor que a faixa obtida nas

partículas formadas a partir da blenda de sericina e alginato (73,01 a 94,15%) e menor também ao obtido com a partícula produzida somente com alginato reticulado com cálcio (57,86%). Resultados de incorporação abaixo do alcançado neste presente estudo foram obtidos por Aricaet *et al.* (2005) que avaliaram a eficiência de incorporação de ibuprofeno em partículas de alginato. Os valores obtidos por Aricaet e colaboradores variaram entre 6,5% e 14,8%, o que indica que o processo de produção das partículas desenvolvido e aplicado nesta tese é eficiente em comparação aos estudos apresentados.

A partir dos resultados apresentados para a eficiência de incorporação do ibuprofeno à blenda de sericina e alginato, concluiu-se o objetivo específico K do tópico 1.2.2.

4.3.2. PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE IBUPROFENO

A Figura 4.13 apresenta os resultados obtidos para o perfil de dissolução do ibuprofeno, presente em todas as formulações desenvolvidas (Ibu1 a Ibu5), em meio de dissolução recomendado pela Farmacopeia Brasileira, tampão fosfato pH 7,2.

A partir da análise da Figura 4.13, pode-se observar que as formulações Ibu1 e Ibu2 atingiram o equilíbrio após 120 min de dissolução, enquanto que para as formulações Ibu3, Ibu4 e Ibu5 foram necessários cerca de 1400 min de dissolução para atingir o equilíbrio e liberar todo o fármaco presente na matriz. Sendo assim, percebe-se que maiores quantidades de alginato na matriz com ibuprofeno incorporado prolongam o tempo de liberação do fármaco, levando a uma entrega prolongada da droga. Tal fato pode estar relacionado ao alto grau de reticulação alcançado por essa quantidade maior de alginato na matriz. Desta forma, com as partículas de fármaco mais aprisionadas na matriz de sericina e alginato, a presença do meio de dissolução causa um menor intumescimento das partículas, o que irá retardar a erosão da matriz e consequente liberação do fármaco no meio. Nenhuma diferença significativa foi observada no perfil de dissolução pela adição de PEG à formulação Ibu4. Com estes resultados, o objetivo específico L do tópico 1.2.2 foi concluído.

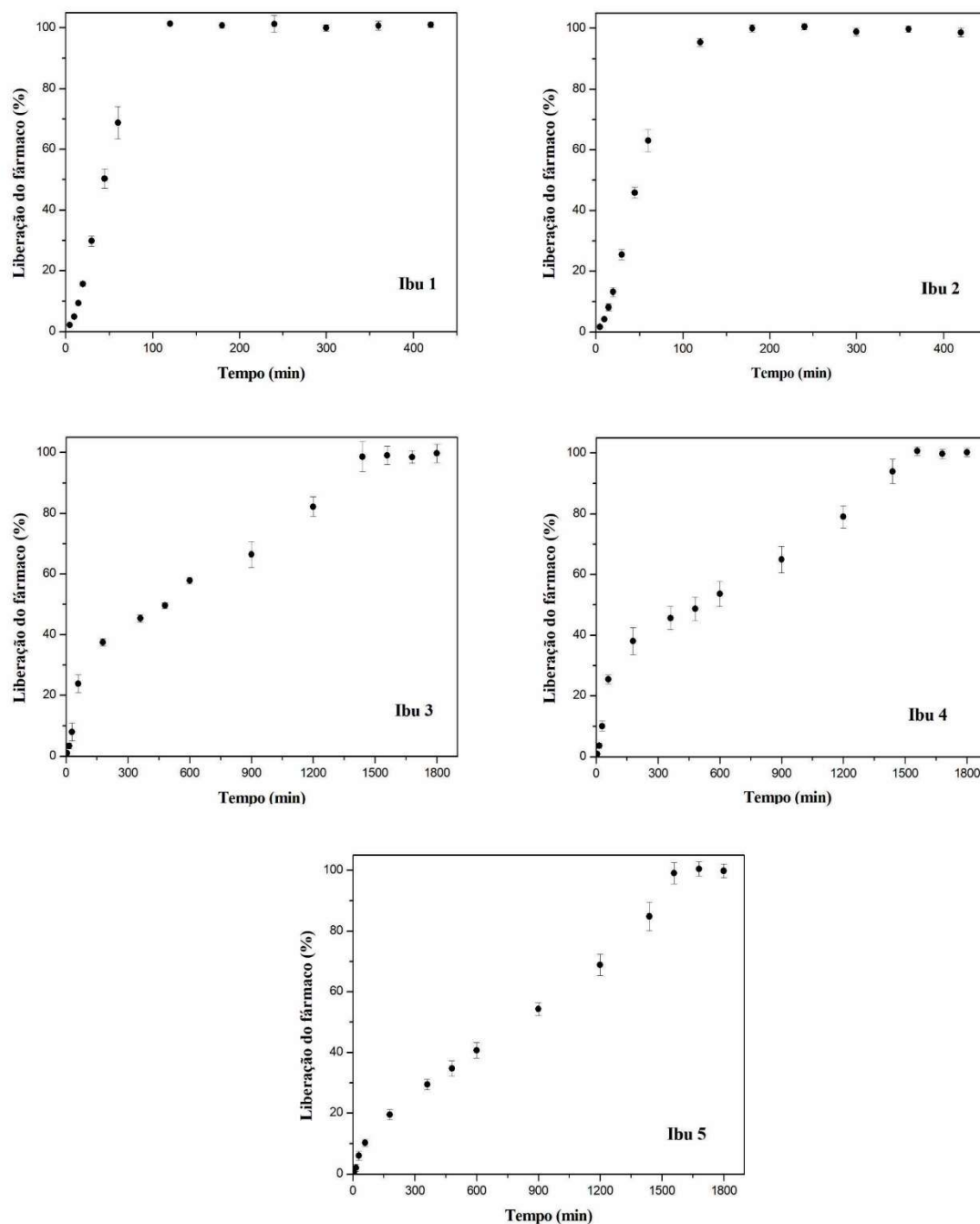


Figura 4-13. Perfil de dissolução de Ibuprofeno incorporado nas formulações Ibu1 a Ibu5.

4.3.3. CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DE IBUPROFENO

Os modelos cinéticos de ordem-zero, primeira-ordem, Weibull, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hopfenberg para sistemas cilíndricos ($n = 2$) e Hopfenberg para sistemas esféricos ($n=3$) foram ajustados aos resultados experimentais. A Tabela 4.10 apresenta os parâmetros obtidos para cada modelo, o coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}) e o

critério de informação de Akaike (AIC), que foram aplicados como critérios para selecionar o melhor ajuste do modelo aos resultados experimentais.

Tabela 4.10. Resultados da modelagem matemática para o perfil de dissolução do Ibuprofeno incorporado nas formulações Ibu1 a Ibu5.

Modelo Parâmetro		Formulações				
		Ibu1	Ibu2	Ibu3	Ibu4	Ibu5
Ordem-zero	k	0,921	0,675	0,076	0,070	0,062
	R ² _{aj}	0,912	0,806	0,796	0,806	0,961
	AIC	49,99	67,57	84,60	93,80	69,48
Primeira-ordem	k	0,015	0,014	0,002	0,002	0,001
	R ² _{aj}	0,739	0,827	0,907	0,894	0,907
	AIC	55,25	69,62	72,29	82,39	77,47
Weibull	a	1273,83	1246,75	140,85	148,02	4296,26
	b	1,788	1,739	0,768	0,775	1,225
	R ² _{aj}	0,997	0,999	0,912	0,949	0,925
	AIC	23,13	10,47	70,18	81,18	77,01
Higuchi	k	7,444	7,072	2,410	2,380	2,028
	R ² _{aj}	0,415	0,580	0,952	0,951	0,818
	AIC	62,33	69,62	61,91	69,99	83,47
Korsmeyer-Peppas	k	1,412	2,313	1,946	2,009	0,225
	n	1,380	1,419	0,505	0,457	0,671
	R ² _{aj}	0,903	0,831	0,953	0,950	0,976
	AIC	50,68	64,36	63,19	71,57	63,30
Hopfenberg; n = 2	k	0,006	0,006	0,0006	0,0005	0,0004
	R ² _{aj}	0,899	0,939	0,882	0,879	0,954
	AIC	48,59	53,43	76,58	85,80	70,12
Hopfenberg; n = 3	k	0,005	0,004	0,0004	0,0004	0,0003
	R ² _{aj}	0,853	0,912	0,894	0,888	0,941
	AIC	51,20	56,15	74,75	84,18	72,58

A partir da Tabela 4.10, pode-se observar que, dependendo da formulação, diferentes modelos obtiveram o melhor ajuste aos resultados experimentais.

O modelo de Weibull apresentou o melhor ajuste aos resultados experimentais das formulações Ibu1 e Ibu2, as quais apresentaram menor tempo para atingir o equilíbrio quando comparadas às demais, assim como as formulações estudadas para o diclofenaco de sódio e para as formulações de sericina e alginato contendo cetoprofeno desenvolvidas por Freitas *et al.*, 2018. O parâmetro de forma *b* apresentou valores maiores que 1,0, indicando que a forma da curva de dissolução é sigmoidal, em forma de S, com curvatura ascendente seguida por um ponto de viragem. A falta de ajuste do modelo de Higuchi aos resultados experimentais de Ibu1 e Ibu2 indica que a liberação do fármaco não está relacionada ao processo de difusão

baseado na Lei de Fick. Por outro lado, os valores de $n > 1$ no modelo de Korsmeyer-Peppas indicam que a liberação do fármaco é governada pelo processo de erosão controlada da matriz. O ajuste do modelo de Ordem-Zero sugere que pode haver influência da relaxação polimérica no movimento das moléculas do fármaco dentro da matriz, enquanto que o ajuste do modelo de Hopfenberg, assume que o processo limitante para a liberação do fármaco é a erosão da matriz. Sendo assim, pela análise dos modelos apresentados para as formulações Ibu1 e Ibu2, presume-se que o mecanismo de liberação do fármaco presente na matriz está relacionado, principalmente, com a erosão controlada da matriz associada à relaxação das cadeias poliméricas.

O modelo de Higuchi apresentou o melhor ajuste aos resultados experimentais das formulações Ibu3 e Ibu4, indicando que o mecanismo de liberação do fármaco nessas formulações está governado por um processo de difusão baseado na Lei de Fick, conforme descrito por Paul (2011). O ajuste do modelo de Korsmeyer-Peppas com valores de n muito próximos a 0,5 confirmam o resultado obtido pelo modelo de Higuchi. Já o ajuste do modelo de Weibull com valores de $b < 1$, indicam que a curva de dissolução é parabólica, com uma inclinação inicial mais acentuada e depois disso consistente com a exponencial. Assim como para as formulações Ibu1 e Ibu2, o ajuste do modelo de Ordem-Zero sugere que pode haver influência da relaxação polimérica no movimento das moléculas do fármaco dentro da matriz, enquanto que o ajuste do modelo de Hopfenberg, sugere que o processo limitante para a liberação do fármaco é a erosão da matriz. Desta forma, pela análise dos modelos apresentados para as formulações Ibu3 e Ibu4, presume-se que o mecanismo de liberação do fármaco é governado pela difusão Fickiana do fármaco ao longo da matriz, atingindo, portanto, uma liberação mais prolongada.

Já para a formulação Ibu5, o modelo com melhor ajuste aos resultados experimentais foi o de Korsmeyer-Peppas, com valor de n entre 0,5 e 1,0, indicando que o principal mecanismo de liberação do fármaco é a difusão não-Fickiana. Além disso, o bom ajuste do modelo de Ordem-Zero indica que há influência da relaxação polimérica no movimento das moléculas do fármaco dentro da matriz. O ajuste do modelo de Weibull com valores do parâmetro de forma b maiores que 1,0 indica que a forma da curva de dissolução é sigmoideal, enquanto que o ajuste do modelo de Hopfenberg, sugere que o processo limitante para a liberação do fármaco é a erosão da matriz. Diante do exposto, sugere-se que o principal mecanismo de liberação do fármaco na formulação Ibu5 é a difusão anômala (não-Fickiana) associada à relaxação das cadeias poliméricas.

Com estes resultados apresentados, o objetivo específico M do tópico 1.2.2, referente à avaliação dos mecanismos de liberação do ibuprofeno através da modelagem matemática aplicada ao perfil de dissolução, foi cumprido.

4.3.4. ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES COM IBUPROFENO

4.3.4.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA E DE SUPERFÍCIE (MEV) DAS FORMULAÇÕES COM IBUPROFENO

A Figura 4.14 apresenta as micrografias obtidas para as partículas das formulações Ibu1 a Ibu5, para o fármaco puro (Ibu) e para as partículas de sericina e alginato sem fármaco incorporado (SerAlg), em ampliações de 150× (a) e 1000× (b). Pode-se observar que, de forma geral, as partículas produzidas apresentam formato esférico, sendo que as formulações Ibu1 (com menor concentração de alginato) e Ibu5 (sem a presença de sericina), apresentam uma forma ligeiramente alongada quando comparadas às demais, sugerindo que o equilíbrio entre a concentração de sericina e alginato favorece a esfericidade das partículas.

Assim como nas formulações desenvolvidas para a incorporação do diclofenaco de sódio, com exceção das partículas sem o fármaco (SerAlg), a qual apresentou uma morfologia de superfície lisa, todas as formulações desenvolvidas (Ibu1 a Ibu5) apresentaram uma superfície rugosa, indicando que o fármaco está efetivamente incorporado à matriz.

Os cristais de Ibuprofeno apresentados em Ibu (b) podem ser identificados nas imagens das seções transversais das formulações Ibu1 a Ibu5 com ampliação de 1000 vezes, além de serem notados nas superfícies das partículas com ampliação de 150 vezes, o que confirma a incorporação do fármaco à matriz.

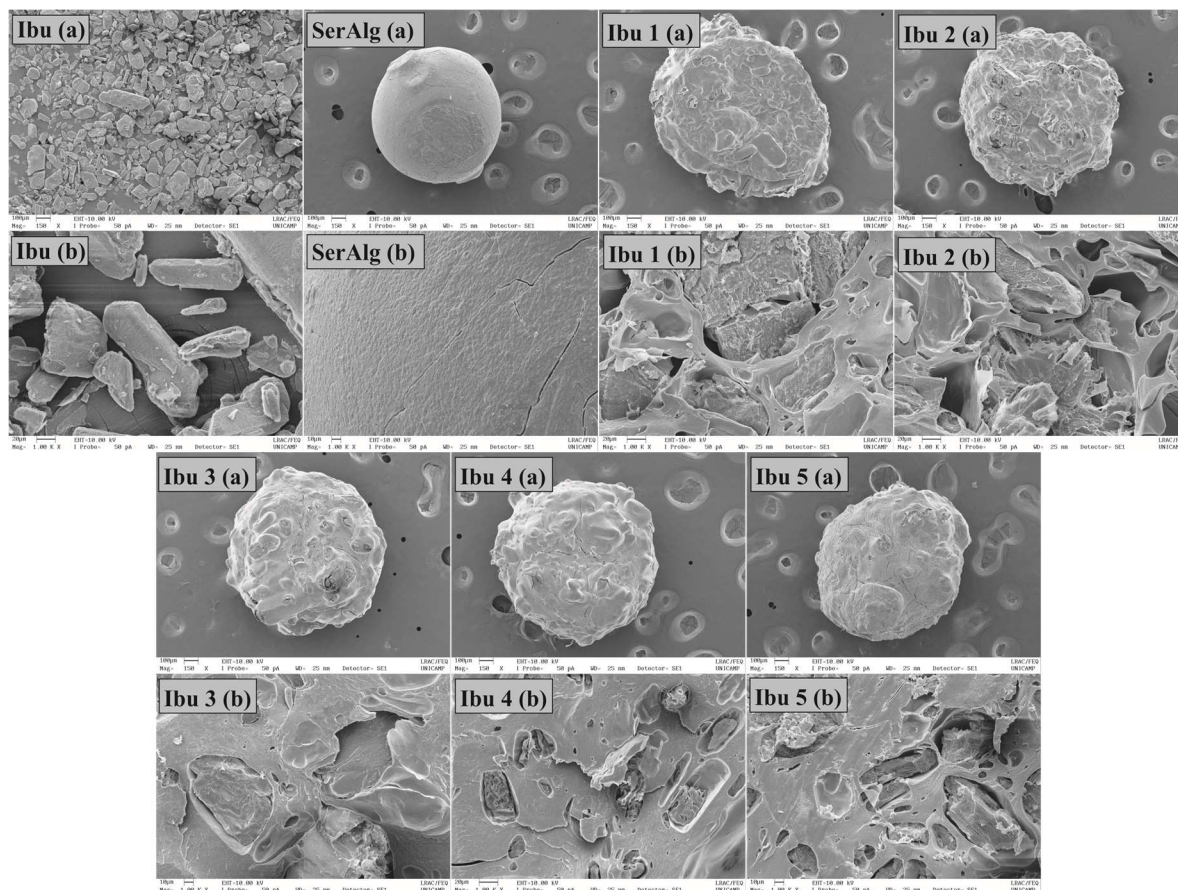


Figura 4-14. Micrografias do Ibuprofeno puro (Ibu) e partículas com Ibuprofeno incorporado (Ibu1 a Ibu5). (a) Partículas com ampliação de 150×. (b) Seção transversal das partículas com ampliação de 1000×.

4.3.4.2. DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA POR MICROSCOPIA ÓTICA

Os tamanhos das partículas obtidas para cada formulação contendo ibuprofeno (Ibu1 a Ibu5) foram analisados por microscopia óptica, sendo possível obter o diâmetro médio e a distribuição de tamanho de partículas pela medida do diâmetro de 500 partículas utilizando o *software* ImageJ. A Figura 4.15 apresenta a distribuição de tamanho das partículas, bem como o diâmetro médio e o coeficiente de determinação ajustado (R_a^2) para o ajuste da distribuição normal (Gaussiana) das formulações Ibu1 a Ibu5.

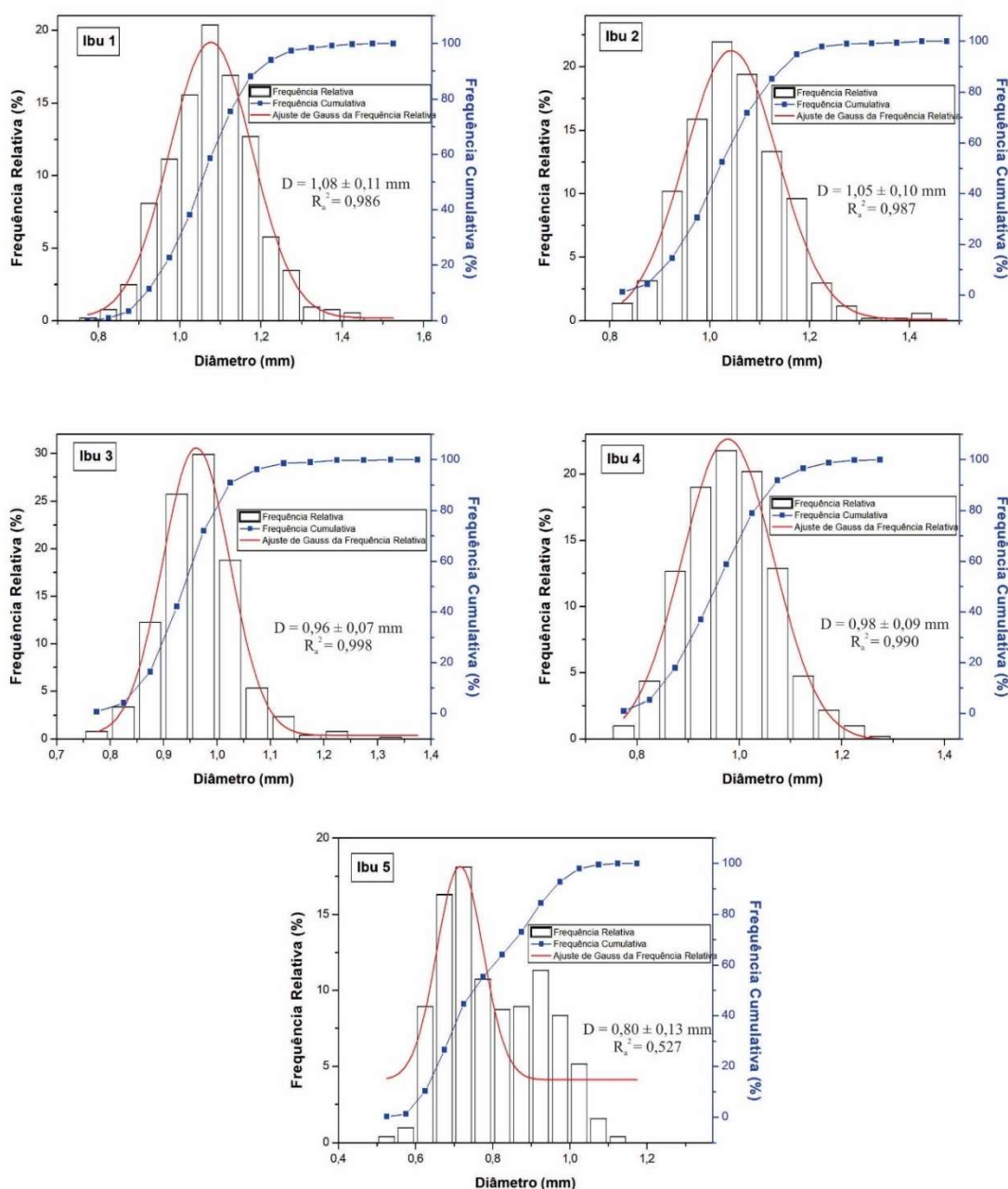


Figura 4-15. Distribuição do tamanho de partículas das formulações contendo Ibuprofeno.

Os diâmetros médios observados variaram entre $0,80 \pm 0,13$ mm a $1,08 \pm 0,11$ mm, sendo bastante próximos. No entanto, verifica-se um decréscimo do tamanho da partícula com o aumento da quantidade de alginato na composição da formulação. Isso pode indicar que o alginato afeta o tamanho das partículas, reduzindo-as devido ao elevado grau de reticulação que agrega fortemente as moléculas, transformando-as em partículas menores. Além disso, as partículas com os menores diâmetros médios apresentaram as menores eficiências de incorporação do fármaco e o comportamento de liberação mais

prolongada, indicando que esse parâmetro pode afetar tanto a incorporação quanto a dissolução do fármaco presente na matriz.

Com exceção da formulação Ibu5, todas as formulações produzidas apresentaram uma distribuição de tamanho de partículas normal, porém, a formulação que apresentou melhor ajuste ao modelo de Gauss foi a Ibu3, com R_a^2 igual a 0,998. Desta forma, observa-se que a formulações Ibu3 pode apresentar maior reprodutibilidade quando comparadas às demais formulações. Além disso, as mesmas conclusões obtidas para as formulações contendo diclofenaco de sódio podem ser obtidas para as formulações contendo ibuprofeno, ou seja, formulações contendo uma proporção de alginato ligeiramente maior que a proporção de sericina em sua composição, melhoram as características de reprodutibilidade das partículas. Ainda, a presença de sericina contribui positivamente para a reprodutibilidade das partículas, uma vez que a formulação sem a presença de sericina (Ibu5) não apresenta uma distribuição normal de tamanho de partícula, indicando menor reprodutibilidade.

4.3.4.3. IDENTIFICAÇÃO DE GRUPOS FUNCIONAIS E LIGAÇÕES PRESENTES (FTIR) NAS FORMULAÇÕES CONTENDO IBUPROFENO

Os espectros de FTIR obtidos para o fármaco puro (Ibu), para a blenda de sericina e alginato sem o fármaco (SerAlg) e para todas as formulações contendo ibuprofeno são apresentados na Figura 4.16.

Pela análise da Figura 4.16, verifica-se a similaridade entre os espectros das formulações Ibu1 a Ibu5 com os espectros do fármaco puro, confirmando a incorporação do fármaco, além de indicar que o ibuprofeno está estável nas formulações preparadas e é compatível com os componentes da matriz. Diversas bandas características do ibuprofeno são observadas nos espectros de todas as formulações, como em 1721 cm^{-1} e 1231 cm^{-1} que são atribuídas ao estiramento C=O e C-O, respectivamente. O intervalo de 1460 cm^{-1} a 1550 cm^{-1} corresponde a ligações aromáticas C=C. Em 779 cm^{-1} , outra banda intensa, pode ser relacionada às vibrações do CH_2 , sendo esta a impressão digital do ibuprofeno.

Os resultados obtidos indicam que, assim como para o diclofenaco de sódio, a matriz polimérica das partículas produzidas com sericina e alginato podem ser consideradas como um meio eficiente e capaz de incorporar tais fármacos e liberar o fármaco de maneira prolongada nos meios gastrointestinais. A utilização das partículas desenvolvidas em sistemas farmacêuticos particulados se mostrou viável para aplicação farmacêutica.

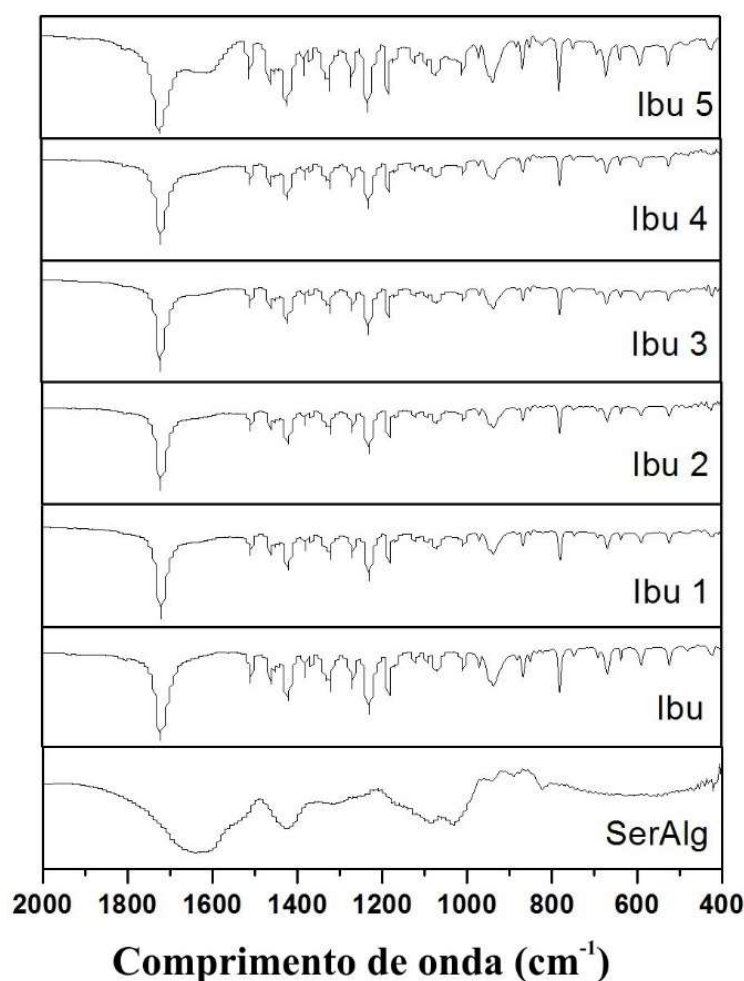


Figura 4.16. Espectroscopia na região do infravermelho para ibuprofeno puro (Ibu), partículas de sericina e alginato (Ser/Alg) e formulações produzidas (Ibu1-Ibu5).

4.3.4.4. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DAS FORMULAÇÕES CONTENDO IBUPROFENO – TGA/DTA

A Figura 4.17 apresenta os resultados das análises de TGA, DTG e DTA das formulações Ibu1 a Ibu5, do ibuprofeno puro (IBU) e das partículas de sericina e alginato sem o fármaco incorporado (SerAlg). As curvas decorrentes da análise de TGA apresentam a perda de massa de cada amostra que ocorre com o aquecimento, enquanto as curvas de DTG (derivada do TGA) permitem determinar a temperatura em que as perdas de massa são mais acentuadas. Já a análise de DTA permite identificar o carácter endotérmico ou exotérmico das transformações que ocorrem durante o aquecimento da amostra, sendo, portanto, informações complementares.

As curvas de TGA e DTG das amostras de Ser/Alg e das formulações Ibu1 a Ibu5,

indicam a ocorrência de uma perda constante de massa na faixa de 202-585 °C, a qual refere-se à decomposição do alginato, conforme evidenciado por Soares *et al.* (2004). As curvas de DTA das formulações Ibu1 a Ibu4 e das partículas de SerAlg sem o fármaco apresentam eventos endotérmicos próximos a 319 °C referentes à decomposição da sericina, como observado por Jo *et al.* (2015), sendo que a formulação Ibu5 não apresenta este pico devido à ausência de sericina em sua composição. Na faixa de 588-751 °C, observa-se nas curvas de DTA de todas as formulações e das amostras de Ser/Alg a característica exotérmica da transformação ocorrida no material, que pode ser atribuída a formação de carbonato de cálcio como resultado da decomposição do alginato de acordo com Soares *et al.* (2004).

Pela análise das curvas de TGA e DTG do fármaco puro, verifica-se que o ibuprofeno apresenta perda de massa em apenas uma etapa, atribuída à decomposição térmica que ocorre entre 125 °C e 255 °C, conforme evidenciado por Safi *et al.* (2018). Já a curva de DTA do fármaco puro apresenta dois eventos endotérmicos, sendo o primeiro evento correspondente ao ponto de fusão do ibuprofeno em 76 °C, onde não se observa variação de massa da amostra, e o segundo evento correspondente à decomposição térmica do fármaco, com pico em 240 °C, como também observado por Holanda (2015). As curvas de TGA e DTG de todas as formulações Ibu1 a Ibu5 indicam a perda de massa na faixa de 125 °C e 255 °C referente à decomposição térmica do ibuprofeno, enquanto que as curvas de DTA destas formulações indicam a fusão do fármaco em 76 °C e a sua degradação em 240 °C, o que confirma a presença do ibuprofeno em todas as formulações Ibu1 a Ibu5, além de indicar que a matriz de sericina e alginato não alterou a estabilidade térmica do ibuprofeno.

Os resultados obtidos nesta etapa, relativos à caracterização das partículas com e sem o ibuprofeno incorporado, cumprem o objetivo específico N do tópico 1.2.2.

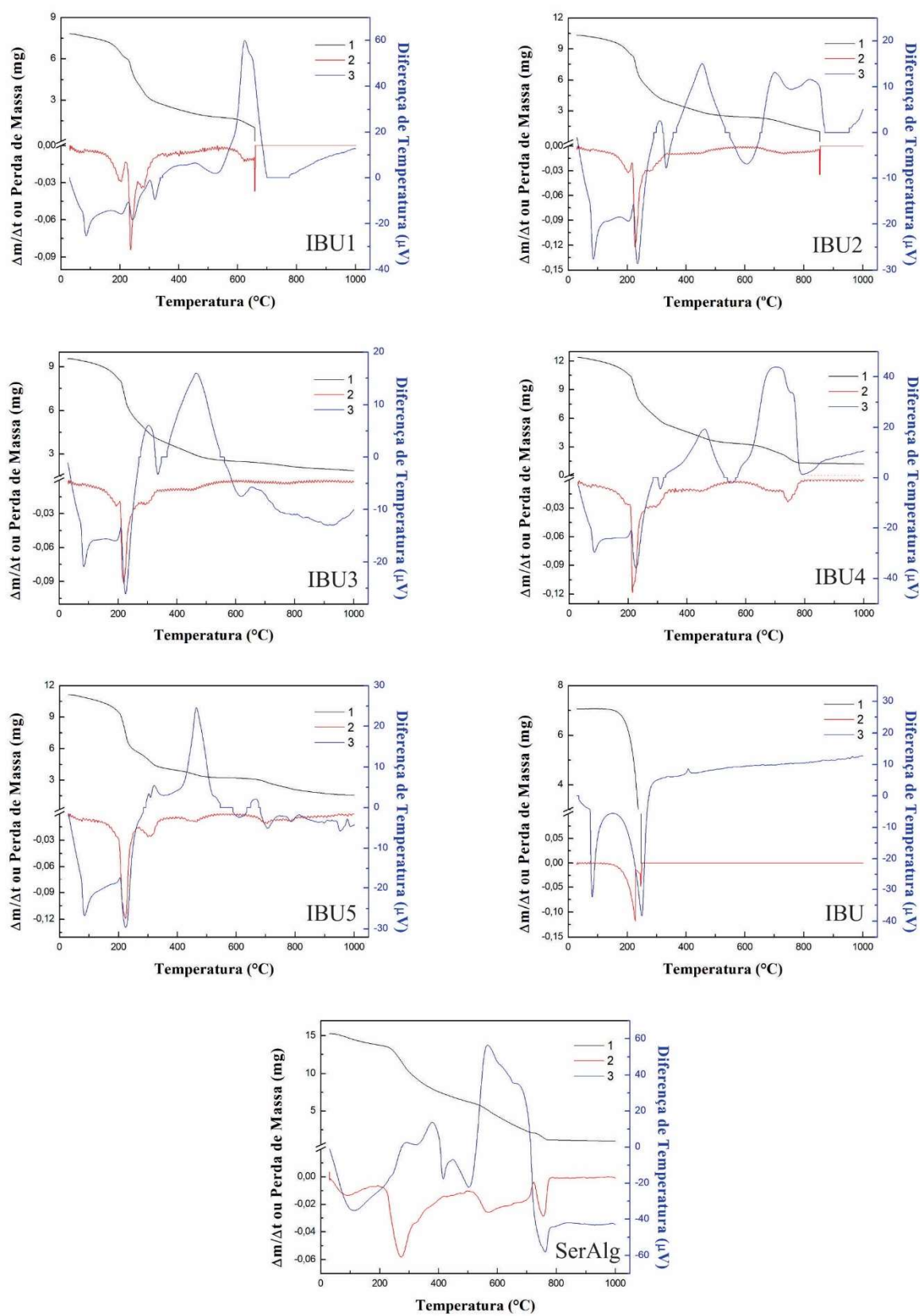


Figura 4.17. Análises de TGA (1), DTG (2) e DTA (3) das formulações IBU1 a IBU5, partículas de sericina e alginato sem fármaco (SerAlg) e ibuprofeno puro (IBU).

5. CONCLUSÕES

A extração da sericina dos casulos do bicho-da-seda, *Bombyx mori*, realizada por autoclave, seguida do seu fracionamento por congelamento e descongelamento, forneceu um biomaterial adequado para a preparação da blenda de sericina e alginato.

O processo de desenvolvimento de partículas à base de sericina e alginato para a incorporação dos fármacos diclofenaco de sódio e ibuprofeno, utilizando a técnica de gelificação iônica, foi concluído com sucesso, frente a todos os resultados apresentados no presente trabalho.

Das 4 formulações desenvolvidas inicialmente, contendo sericina, alginato e diclofenaco de sódio, as quais possuíam como fator variável a concentração de fármaco na composição, sendo de 2 a 6 % (m/V), a formulação com 2 % (m/V) de fármaco foi a que apresentou maior eficiência de incorporação, equivalente a 77,34 %. Foi observado um decréscimo na eficiência de incorporação proporcional ao aumento de fármaco na matriz, indicando uma saturação da matriz, causando a redução na capacidade de aprisionar o fármaco.

Com a alteração da composição da matriz de sericina e alginato pela produção das formulações F1 a F12, onde a concentração de sericina foi fixada em 2,5 % (m/V), a concentração de alginato variou de 0,5 % (m/V) a 4,0 % (m/V) e a concentração de DS foi fixada em 2,0 % (m/V), verificou-se que a composição da blenda de sericina e alginato influencia significativamente nas propriedades das partículas formadas. A sericina contribui para a incorporação do fármaco, enquanto que o alginato contribui para a formação de partículas. Desta forma, formulações contendo baixa concentração de alginato não formam partículas esféricas bem estruturadas devido à menor quantidade de sódio disponível para a reticulação, enquanto que formulações contendo baixa concentração de sericina não incorporam o fármaco com tanta eficiência, além de apresentarem alta viscosidade da blenda, o que dificulta a formação das partículas.

O perfil de dissolução do diclofenaco de sódio incorporado à blenda de sericina e alginato foi avaliado em meios de dissolução que simulavam o meio gástrico e entérico, concluindo-se que todas as formulações desenvolvidas apresentaram resistência ao pH ácido devido à presença do alginato sendo, portanto, gastrorresistentes. Por outro lado, a liberação mais prolongada do diclofenaco de sódio no meio entérico foi atribuída à presença de sericina.

Com os estudos de eficiência de incorporação e perfil de dissolução *in vitro* do diclofenaco de sódio, sugere-se que a formulação F8, contendo 2,5 % (m/V) de sericina, 2,8 % (m/V) de alginato e 2,0 % (m/V) de fármaco em sua composição, é a mais adequada para a liberação controlada do diclofenaco de sódio, pois atingiu uma eficiência de incorporação de 81,06 % e liberação total do fármaco em meio entérico em 360 min.

A avaliação da cinética de liberação do diclofenaco de sódio presente nas formulações, realizada pela modelagem matemática, indicou que o mecanismo de liberação do fármaco presente nas formulações desenvolvidas pode estar associado aos processos de intumescimento, erosão da matriz e uma mistura de difusão e mecanismos de relaxação das cadeias.

As caracterizações por MEV, FTIR, DRX e TGA/DTA das formulações contendo diclofenaco de sódio confirmaram a incorporação do fármaco na matriz de sericina e alginato. A distribuição de tamanho das partículas dessas formulações mostrou uma distribuição normal (Gaussiana), porém, a formulação que apresentou melhor ajuste ao modelo de Gauss foi a F8, com R_a^2 igual a 0,9904, podendo indicar uma melhor reprodutibilidade das partículas de F8 quando comparada às demais, uma vez que sua distribuição é mais simétrica. Os diâmetros médios observados para as partículas dessas formulações variaram entre $1,18 \pm 0,14$ mm e $1,46 \pm 0,20$ mm.

Com relação ao estudo de estabilidade das formulações contendo diclofenaco de sódio, realizado em câmara climática a 40 °C e UR 75 % após 3 e 6 meses, não foram observadas variações significativas nos valores de eficiência de incorporação do fármaco e nem no perfil de dissolução do fármaco presente nas formulações. Tal fato indica que as formulações desenvolvidas são estáveis, quando submetidas às condições estudadas.

Para avaliar a influência do PEG na composição da blenda, considerando que a formulação F8 apresentou os melhores resultados nos estudos anteriores, 6 formulações, P1 a P6, foram desenvolvidas com a concentração de sericina fixada em 2,5 % (m/V), a concentração de alginato fixada em 2,8 % (m/V), a concentração de DS fixada em 2,0 % (m/V) e a concentração de PEG variando de 0,0667 % (m/V) a 1,825 % (m/V). Observou-se um aumento da eficiência de incorporação com o aumento da concentração de PEG, atingindo valores próximos a 100 % de incorporação, porém não foram verificadas alterações significativas no perfil de dissolução do fármaco. Além disso, a adição de PEG à formulação aumentou a viscosidade da mistura, o que dificultou o gotejamento para a preparação das partículas.

Com relação aos estudos das formulações contendo ibuprofeno, concluiu-se que a incorporação do ibuprofeno à matriz de sericina e alginato foi satisfatória, apresentando comportamento similar ao estudo com diclofenaco de sódio no que tange à eficiência de incorporação do fármaco. As eficiências de incorporação das formulações Ibu1 a Ibu5 variaram entre 57,86 % a 94,15 %, sendo maiores para as formulações com menor concentração de alginato. Sendo assim, ficou evidenciada a importância da sericina para aumentar a incorporação desse fármaco na matriz.

O perfil de dissolução das formulações Ibu1 e Ibu2 mostrou que são necessários 120 min de dissolução para que o ibuprofeno seja totalmente liberado no meio de dissolução, enquanto que para Ibu3, Ibu4 e Ibu5 são necessários cerca de 1400 min de dissolução para atingir o equilíbrio e liberar todo o fármaco presente na matriz. Desta forma, quando o fármaco presente na matriz é o ibuprofeno, notou-se que a maior quantidade de alginato na matriz prolongou o tempo de liberação do fármaco, levando a uma entrega prolongada do mesmo. Além disso, nenhuma diferença significativa foi observada no perfil de dissolução pela adição de PEG à formulação Ibu4.

A avaliação da cinética de liberação do ibuprofeno indicou que, para as formulações Ibu1 e Ibu2, o mecanismo de liberação do fármaco presente na matriz pode estar associado, principalmente, à erosão controlada da matriz e à relaxação das cadeias poliméricas. Já para as formulações Ibu3 e Ibu4, a avaliação da cinética de liberação sugere que o mecanismo de liberação do fármaco é governado pela difusão Fickiana do fármaco ao longo da matriz, atingindo, portanto, uma liberação mais prolongada, enquanto que para a formulação Ibu5 o principal mecanismo de liberação do fármaco é a difusão anômala (não-Fickiana) associada à relaxação das cadeias poliméricas.

As caracterizações por MEV, FTIR e TGA/DTA das formulações Ibu1 a Ibu5 confirmaram a incorporação do fármaco na matriz de sericina e alginato. A avaliação da distribuição de tamanho das partículas mostrou que a formulação que apresentou melhor ajuste ao modelo de Gauss foi a Ibu3, com R_a^2 igual a 0,998, indicando maior reprodutibilidade dessa formulação quando comparada às demais. Por outro lado, a formulação Ibu5 (sem sericina) não apresenta distribuição Gaussiana de tamanho de partículas, indicando que a presença de sericina contribui positivamente para a reprodutibilidade das partículas. Os diâmetros médios observados variaram entre $0,80 \pm 0,13$ mm a $1,08 \pm 0,11$ mm, sendo observado um decréscimo do tamanho da partícula com o aumento da quantidade de alginato na composição da formulação.

Com base nos estudos de eficiência de incorporação e perfil de dissolução do ibuprofeno, sugere-se que a formulação Ibu3, contendo as mesmas quantidades de sericina, alginato e fármaco da melhor formulação com diclofenaco de sódio (F8), é a mais adequada para a liberação controlada do ibuprofeno, pois atingiu uma eficiência de incorporação de 73,01 % e liberação total do fármaco em 1400 min, além de apresentar ótimas características de reprodutibilidade.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram o potencial que a matriz de sericina e alginato apresenta para a incorporação de fármacos e para a liberação controlada dos fármacos incorporados. Considerando que a sericina é tratada como um resíduo da indústria da seda e que o alginato é um biopolímero abundante, a utilização desses materiais como matriz de incorporação de fármacos agrega valor aos mesmos, além de poder ser uma alternativa para aumentar a adesão do paciente ao tratamento por se tratar de uma medicação com liberação controlada e possivelmente reduzir os efeitos colaterais.

6. PRODUÇÃO CIENTÍFICA E TÉCNICA

6.1. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

- VIDART, J. M. M.; SILVA, T. L.; ROSA, P. C. P.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Development of sericin/alginate particles by ionic gelation technique for the controlled release of diclofenac sodium. *Journal of Applied Polymer Science*, v.135, p.45919, 2018.
- FREITAS, E. D.; VIDART, J.M. M.; SILVA, E. A.; SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Development of mucoadhesive sericin/alginate particles loaded with ibuprofen for sustained drug delivery. *Particuology*, v.41, p.65-73, 2018.
- SILVA, T. L.; MEINERZ, V. H.; VIDART, J. M. M.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M.G.A.; SILVA, M. G. C. Metallic Affinity of Toxic and Noble Metals by Particles Produced from Sericin, Alginate and Poly-(ethylene Glycol). *Chemical Engineering Transactions*, v. 56, p. 1903-1908, 2017.
- VIDART, J. M. M.; FREITAS, E. D.; NAKASHIMA, M.; SANTOS, R. D. J.; ROSA, P. C. P.; GIMENES, M. L.; SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Evaluation of Incorporation Efficiency of Drugs in Sericin/Alginate Particles. *Chemical Engineering Transactions*, v. 57, p. 1429-1434, 2017.
- VIDART, J. M. M.; NAKASHIMA, M.; SILVA, T. L.; ROSA, P. C. P.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A; SILVA, M. G. C. Sericin and Alginate Blend as Matrix for Incorporation of Diclofenac Sodium. *Chemical Engineering Transactions*, v. 52, p.343-348, 2016.
- SILVA, T. L.; da SILVA JUNIOR, A. C.; VIDART, J. M. M.; VIEIRA, M. G. A.; GIMENES, M. L.; SILVA, M. G. C. Evaluation of Drug Delivery of Diclofenac Sodium in Simulated Gastric and Enteric Systems by Mucoadhesive Sericin-Alginate Particles. *Chemical Engineering Transactions*, v. 43, p. 823-828, 2015.
- SILVA, T. L.; VIDART, J. M. M.; da SILVA JUNIOR, A. C.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Evaluation of Incorporation of Diclofenac Sodium in Dried Sericin-Alginate Particles Prepared by Ionic Gelation Technique. *Chemical Engineering Transactions*, v. 43, p. 829-834, 2015.

6.2. CAPÍTULOS DE LIVROS PUBLICADOS

- SILVA, T. L.; VIDART, J. M. M.; SILVA, M. G. C.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A. Chapter 4: Alginate and Sericin: Environmental and Pharmaceutical Applications. In: Emad A. Shalaby. (Org.). Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides. 1ed. In Tech, 2017, v. 1, p. 57-85.

6.3. TRABALHOS COMPLETOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS

- NAKASHIMA, M. E.; VIDART, J. M.; SILVA, M. G. C.; Vieira, M. G. A. Perfil De Liberação In Vitro de Diclofenaco de Sódio Incorporado em Partículas de Sericina e Alginato. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2017, São Carlos. Blucher Chemical Engineering Proceedings. São Paulo: Editora Blucher, 2016. v. 1. p. 254.
- VIDART, J. M. M.; NAKASHIMA, M.; SILVA, T. L.; ROSA, P. C. P.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Avaliação de propriedades de partículas de sericina e alginato contendo diclofenaco de sódio. In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza-CE. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Campinas-SP: Galoá, 2016. p. 1-8.
- SILVA, T. L.; MEINERZ, V. H.; VIDART, J. M. M.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Estudo cinético da remoção de prata por bioadsorvente produzido por sericina, alginato e polietilenoglicol (PEG). In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Fortaleza-CE. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Campinas-SP: Galoá, 2016. p. 1-8.
- SOARES, T. A.; VIDART, J. M. M.; DA SILVA, T. L.; GIMENES, M. L.; DA SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Obtenção de Micropartículas a Base de Sericina e Alginato para Incorporação de Diclofenaco de Sódio. In: XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2015, Campinas. Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica - Cobeq IC 2015. São Paulo: Editora Edgard Blücher. v. 1. p. 550-555.

- VIDART, J. M. M.; SOARES, T. A.; SILVA, T. L.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Avaliação da Eficiência de Incorporação de Diclofenaco de Sódio em Partículas de Sericina e Alginato. In: XXXVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados, 2015, São Carlos. Anais do XXXVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2015. v. 2. p. 1926-1933.

6.4. RESUMOS EXPANDIDOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS

- NAKASHIMA, M. E.; VIEIRA, M. G. A.; VIDART, J. M. M.; SILVA, T. L.; GIMENES, M. L.; ROSA, P. C P.; SILVA, M. G. C. Incorporação de ibuprofeno em partículas de sericina e alginato e avaliação da liberação in vitro. In: XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp, 2017, Campinas-SP. Campinas-SP: Galoá, 2017.
- MARZOLA, G. A.; SILVA, R. B.; DELDOTTI, S. R.; VIEIRA, M. G. A.; FREITAS, E. D.; VIDART, J. M. M. Preparação e Caracterização de Micropartículas de Blenda de Sericina-Alginato para Aplicação Farmacêutica. In: XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp, 2017, Campinas-SP. Campinas-SP: Galoá, 2017.
- NAKASHIMA, M. E.; VIEIRA, M. G. A.; VIDART, J. M. M.; SILVA, T. L.; ROSA, P. C. P.; GIMENES, M. L.; SILVA, M. G. C. Incorporação e Liberação de Fármaco em Partículas de Sericina e Alginato. In: XXIV Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP 2016, 2016, 2016. v. 2.
- CARVALHO, R. B. V.; FERREIRA, L. A.; ARAÚJO, G. A.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, T. L.; VIDART, J. M. M. Preparação de Biomateriais para Uso na Área Ambiental e Farmacêutica. In: XXIV Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP 2016, 2016, v. 2.

6.5. PATENTE

- FREITAS, E. D.; SILVA, T. L.; VIDART, J. M. M.; SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Processo de obtenção de partículas gastrorresistentes, partículas gastrorresistentes e seu uso. 2017, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020170182622, título: "Processo de obtenção de partículas gastrorresistentes, partículas gastrorresistentes e

seu uso", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.
Depósito: 25/08/2017 Instituição(ões) financiadora(s): FAPESP.

7. SUGESSTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como forma de aprimorar e dar continuidade aos estudos desenvolvidos nesta tese, sugere-se para trabalhos futuros a realização de:

- planejamento experimental para avaliar a influência da composição da blenda na incorporação e liberação de fármacos;
- estudos de afinidade de outros fármacos com a blenda de sericina e alginato;
- estudos para avaliação de outros agentes reticulantes para a blenda de sericina e alginato;
- estudos de outros métodos para o desenvolvimento de partículas de sericina e alginato;
- estudos de liberação dos fármacos *in vivo*;
- avaliação da viabilidade econômica do processo de produção de partículas.

8. REFERÊNCIAS

AGUERO, L.; SILVA, D. Z.; PENA, L.; DIAS, M. L. Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review. *Carbohydrate Polymers*. v. 168, p.32-43, 2017.

AHMAD, M.; MADNI, A.; USMAN, M.; MUNIR, A.; AKHTAR, N. E; KHAN, H. M. S. Pharmaceutical microencapsulation technology for development of controlled release drug delivery systems. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, v.75, n.66, p. 384-387, 2011.

ALBANEZ, R. Recobrimento gastrorresistente de pellets de diclofenaco de sódio em leite fluidizado tipo Wurster. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2012. 159p. Dissertação (Mestrado).

ALLEN Jr, L. V.; POPOVICH, N. C.; ANSEL, H. C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8ª ed, Porto Alegre: Ed. Artmed, 2007, 776p.

ALTMAN, G. H.; DIAZ, F.; JAKUBA, C.; CALABRO, T.; HORAN, R. L.; CHEN, J.; LU, H.; RICHMOND, J.; KAPLAN, D. L. Silk-based biomaterials. *Biomaterials*. v.24, p.401–416, 2003.

ALTMAN, R.; BOSCH, B.; BRUNE, K.; PATRIGNANI, P.; YOUNG, C. Advances in NSAID Development: Evolution of Diclofenac Products Using Pharmaceutical Technology. *Drugs*. v. 75, p. 859-877, 2015.

ANDRIOLI, A.; PRADO, L. D.; COSTA, M. A.; ROCHA, H. V. A. Caracterização do insumo ibuprofeno e a correlação com propriedades de dissolução e de fluxo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.35, n.3, p.401-411, 2014.

AÑO, G.; ESQUISABEL, A.; PASTOR, M.; TALAVERA, A.; CEDRÉ, B.; FERNÁNDEZ, S.; SIFONTES, S.; ARANGUREN, Y.; FALERO, G.; GARCÍA, L.; SOLÍS, R. L.; PEDRAZ, J. L. A new oral vaccine candidate based on the microencapsulation by spray-drying of inactivated *Vibrio cholera*. *Vaccine*, v.29, n.34, p.5758-5764, 2011.

ARAMWIT, P.; SIRTIENTONG, T.; SRICHNA, T. Potencial applications of silk sericin a natural protein from textile industry by-products. *Waste management and Research*. v.30, n.3, p.217-224, 2012.

ASTRAIN, C. G.; AVÉROUS, L. Synthesis and evaluation of functional alginate hydrogels based on click chemistry for drug delivery applications. *Carbohydrate Polymers*. v. 190, p. 271-280, 2018.

AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2º ed, Porto Alegre: Ed. Artmed, 2005, 678p.

BAI, M. Y.; WANG, D. T.; SIN, J. Sericin-based wound dressing with wound moisture indicator: In vitro and in vivo comparison study. *Materialia*. v. 1, p. 37-45, 2018.

BALLESTER, N. M. S.; SOULAIROL, I.; BATAILLE, B.; SHARKAWI, T. Flexible heteroionic calcium-magnesium alginate beads for controlled drug release. *Carbohydrate Polymers*. v. 207, p. 224-229, 2019.

BARI, E.; PERTEGHELLA, S.; MARRUBINI, G.; SORRENTI, M.; CATENACCI, L.; TRIPODO, G.; MASTROGIACOMO, M.; MANDRACCHIA, D.; TRAPANI, A.; FARAGO, S.; GAETANI, P.; TORRE, M. L. *In vitro* efficacy of silk sericin microparticles and platelet lysate for intervertebral disk regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 118, p. 792-799, 2018.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. v. 94, p. 556-563, 2010.

BJARNASON, I.; SCARPIGNATO, C.; HOLMGREN, E.; OLSZEWSKI, M.; RAINSFORD, K. D.; LANAS, A. Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology*. v. 154, p. 500-514, 2018.

BRANCALHÃO, R. M. C. Bicho-da-seda. 2005. Disponível em: < http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/complexo_da_seda/b_mori.pdf > Acesso em: 26/08/2014.

BUSCH, A. P. B. Análise da conjuntura agropecuária – Sericicultura. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural, Paraná, 2010. Disponível em: < [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/se da_2010_11.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/se_da_2010_11.pdf) > Acesso em: 26/08/2014.

BUSSON, M. Update on Ibuprofen: review article. *Journal of International Medical Research*, v.14, n.2, p.53-62, 1986.

CAO, T. T.; ZHANK, Y. Q. Processing and characterization of silk sericin from *Bombyx mori* and its application in biomaterials and biomedicines. *Materials Science and Engineering C*. v.61, p. 940-952, 2016.

CHÁVEZ, M. M. R.; URBINA, K. P.; PÉREZ, D. J.; BENICIO, F. O.; PARRA, F. A.; SANDOVAL, Z. G.; ORGANILLO, A. R. Organotin (IV) compounds derived from ibuprofen and cinnamic acids, na alternative into design of anti-inflammatory by the cyclooxygenases (COX-1 and COX-2) pathway. *Journal of Organometallic Chemistry*, v.862, p. 58-70, 2018.

COIMBRA, P. M. A. Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural. Coimbra: Universidade de Coimbra, 2010. 268 p. Tese (Doutorado).

COSTA, F. J. C. Avaliação *in vitro* da bioequivalência de formulações farmacêuticas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.38, n.2, p.141-153, 2002.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Formas farmacêuticas de liberação modificada. *Revista portuguesa de farmácia*, v.99, n.4, 1999.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.13, p.123-133, 2001.

CRUZ, A. C. Síntese e caracterização de partículas de acetato de celulose, a partir do caroço de manga, para produção de matrizes de liberação controlada de drogas. Minas Gerais: Universidade Federal de Uberlândia, 2010. 72p. Dissertação (Mestrado).

CRUZ, M. C. P. Influência do Poli(etileno glicol) (PEG) no processo de microencapsulação da oxitetraciclina no sistema alginato/quitosana: modelamento “*in vitro*” da liberação oral. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, 2004. 157p. Tese (Doutorado).

DAI, Z. J.; SUN, W.; ZHANG, Z. Comparative analysis of iTRAQ-based proteomes for cocoons between the domestic silkworm (*Bombyx mori*) and wild silkworm (*Bombyx mandarina*). *Journal of Proteomics. In Press*, 2018.

DASH, B. C., MANDAL, B. B., KUNDU, S. C. Silk gland sericina protein membranes: Fabrication and characterization for potencial biotechnological applications. *Journal of Biotechnology*. v.144, p.321–329, 2009.

DASH, V.; MISHRA, S. K.; SINGH, M.; GOYAL, A. K.; RATH, G. Release kinetic studies of aspirin microcapsules from ethyl cellulose, cellulose acetate phthalate and their mixtures by emulsion solvent evaporation method. *Scientia Pharmaceutica*, v. 78, n.1, p. 93-101, 2010.

FAROKHI, M.; MOTTAGHITALAB, F.; FATAHI, Y.; KHADEMHOSEINI, A.; KAPLAN, D. L. Overview of silk fibroin use in wound dressings. *Trends in Biotechnology*. v. 36, p. 907-922, 2018.

FERRARI, B.; PAXÉUS, N.; GIUDICE, R. L. POLLIO, A.; GARRIC, J. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.55, p.359-370, 2003.

FREITAS, M. N.; MARCHETTI, J. M. Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, v.295, p.201-211, 2005.

FREITAS, E. D.; ROSA, P. C. P.; SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Development of sericin/alginate beads of ketoprofen using experimental design: Formulation and *in vitro* dissolution evaluation. *Powder Technology*, v.335, p.315-326, 2018.

GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. *Química Nova*, v.31, n.7, p.1800-1806, 2008.

GEORGE, M.; ABRAHAM, T. E. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan – a review. *Journal of Controlled Release*. v.114, p. 1-14, 2006.

GIACOMIM, A. M.; GARCIA JR, J. B.; ZONATTI, W. F.; SANTOS, M. C. S.; LAKTIM, M. C.; RAMOS, J. B. Brazilian silk production: economic and sustainability aspects. *Procedia Engineering*. v. 200, p. 89-95, 2017.

GIBALDI, M.; FELDMAN, S. Establishment of sink conditions in dissolution rate determinations – theoretical considerations and application to nondisintegrating dosage forms. *Journal of Pharmaceuticals Science*, v.56, p.1238-1242, 1967.

GIL, E. S.; KLUGE, J. A.; ROCHWOOD, D. N.; RAJKHOWA, R.; WANG, L.; WANG, X.; KAPLAN, D. Mechanical improvements to reinforce porous silk scaffolds. *Society for Biomaterials*. v.1, p.16-28, 2011.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. *Princípios de farmacologia – A base fisiopatológica da farmacoterapia*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GRUPTA, D.; AGRAWAL, A.; CHAUDHARY, H.; GULRAJANI, M.; GRUPTA, C. Cleaner process for extraction of sericin using infrared. *Journal of Cleaner Production*. v. 52, p. 488-494, 2013.

HE, H.; TAO, G.; WANG, Y.; CAI, R.; GUO, P.; CHEN, L.; ZUO, H.; ZHAO, P.; XIA, Q. *In situ* green synthesis and characterization of sericin-silver nanoparticle composite with effective antibacterial activity and good biocompatibility. *Materials and Engineering C*. v. 80, p. 509-516, 2017.

HIGUCHI, W. I. Analysis of data on the medicament release from ointments. *Journal of Pharmaceuticals Science*, v.51, p.802-804, 1962.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxygenase 2. *Jornal de Pediatria*. v. 82, p. 206-212, 2006.

HIXSON, A. W.; CROWELL, J. H. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Industrial and Engineering Chemistry*, v.23, p.923-931, 1931.

HO, M.; WANG, H.; LEE, J. H.; HO, C. K.; LAU, K. T.; LENG, J.; HUI, D. Critical factors on manufacturing processes of natural fibre composites. *Composites: Part B*. v.43, p.3549–3862, 2012.

HOLANDA, P. R. H.; MATA, S. F.; LIMA, A. G. B. Propriedades físicas e secagem de casulos do bicho-da-seda em leito fixo: uma investigação teórica e experimental. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande*, v.6, n.2, p.101–114, 2004.

HOLANDA, B. B. C. Síntese e caracterização de complexos de lantanídeos pesados e ítrio (III) com o fármaco ibuprofeno no estado sólido. São Paulo: Universidade Estadual Paulista. 2015. 84 p. Dissertação (Mestrado).

HUANG, W.; WANG, Y. J.; REN, L.; DU, C.; SHI, X. T. A novel PHBV/HA microsphere releasing system loaded with alendronate. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, v.29, n.7, p. 2221-2225, 2009.

JANG, M. J.; UM, I. C. Effect of sericin concentration and ethanol content on gelation behavior, rheological properties, and sponge characteristics of silk sericin. *European Polymer Journal*. v. 93, p. 761-774, 2017.

JO, Y. N.; PARK, B. D.; UM, I. C. Effect of storage and drying temperature on the gelation behavior and structural characteristics of sericin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.81, p.936-941, 2015.

JOSHY, K. S.; SUSAN, M. A.; SNIGDHA, S.; NANDAKUMAR, K.; LALY, A. P.; SABU, T. Encapsulation of zidovudine in PF-68 coated alginate conjugate nanoparticles for anti-HIV drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 107, p. 929-937, 2018.

KAITH, B. S.; MITTAL, H.; JINDAL, R.; MAITI, M.; KALIA, S. Environment Benvolent Biodegradable Polymers: Syntesis, Biodegradability and Applications, in: KALIA, S.; KAITH, B. S.; KAUR, I. Cellulose Fibers: Bio-and Nano-Polymer Composites: Green Chemistry and Technology, New York, p.425-446, 2011.

KAPLAN, A. A.; YURT, K. K.; DENIZ, O. G.; A, G. Peripheral nerve and diclofenac sodium: Molecular and clinical approaches. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. v. 87, p. 2-11, 2018.

KAS, H.S. Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. *J. Microencapsulation*, v.14, n.6, p.689 – 711, 1997.

KAS, H. S.; ONER, L. Microencapsulation using coacervation / phase separation: an overview of the technique and applications. In: WISE, D. L., *Handbook of Pharmaceutical controlled release technology*. New York: Marcel-Dekker, p. 301-328, 2000.

KATZHENDLER, I.; HOFMAN, A.; GOLDBERGER, A.; FRIEDMAN, M. Modeling of drug release from erodible tablets. *Journal of Pharmaceuicals Science*. v.86, p.110-115, 1997.

KAWAGUTI, H. Y.; SATO, H. H. Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana. *Química Nova*, v.31, n.1, p.134-143, 2008.

KHALIFA, N.; EL-HUSSEIN, T.; MORRAH, A.; MOSTAFA, E.; HAMOUD, H. Use of ibuprofen sustained release for treating osteoarthritic pain: findings from 15 general medical practices in Egypt. *Open Access Rheumatology*, v.6, p.49-56, 2014.

KHANDAI, M.; CHAKRABORTY, S.; SHARMA, A.; PATTNAIK, S.; PATRA, C. N.; DINDA, S. C.; SEM, K. K. Preparation and evaluation of algino-sericin mucoadhesive microspheres: An approach for sustained drug delivery. *Journal of Advanced Pharmaceutical Research*, v.1, p.48–60, 2010.

KILICARSLAN, M.; ILHAN, M.; INAL, O.; ORHAN, K. Preparation and evaluation of clindamycin phosphate loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complex film as

mucoadhesive drug delivery system for periodontal therapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.123, p. 441-451, 2018.

KIM, G. J.; BANG, K. H.; KIM, Y. B.; RHEE, Y. H. Preparation and characterization of native poly(3-hydroxybutyrate) microspheres from *Ralstonia eutropha*. *Biotechnology Letters*, v. 22, n.18, p. 1487-1492, 2000.

KLEINUBING, S. A. Liberação controlada da oxitetraciclina encapsulada em matriz de alginato/quitosana recoberta com Acril-EZE® MP em leite fluidizado. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2013. 119 p. Dissertação (Mestrado).

KLEINUBING, S. J. Bioadsorção competitiva dos íons níquel e cobre em alginato e alga marinha *Sargassum Filipedula*. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2009. 149 p. Tese (Doutorado).

KONGDEE, A., BECHTOLD, T., TEUFEL, L. Modification of cellulose fiber with silk sericin. *Journal of Applied Polymer Science*. v.96, p.1421-1428, 2004.

KORSMEYER, R. W.; GURNY, R.; DOELKER, E. M.; BURI, P.; PEPPAS, N. A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*. v.12, p.25-35, 1983.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. v. 52, p. 498-512, 2002.

KURIOKA, A., KURIOKA, F., YAMAZAKI, M. Characterization of sericin powder prepared from citric acid-degraded sericin polypeptides of silkworm, *Bombyx mori*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v.68, n.4, p.774-780, 2004.

KWAK, H. W.; LEE, H.; LEE, M. E.; JIN, H. J. Facile and green fabrication of silk sericin films reinforced with bamboo-derived cellulose nanofibrils. *Journal of Cleaner Production*. v. 200, p. 1034-1042, 2018.

LANGENBUCHER, F. Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.24, p.979-981, 1972.

LEE, K. Y.; YUK, S. H. Polymeric protein delivery systems. *Progress in Polymer Science*, v.32, p.669-697, 2007.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, v.37, p.106-126, 2012.

LI, G.; LIU, H.; LI, T.; WANG, J. Surface modification and functionalization of silk fibroin fibers/fabric toward high performance applications. *Materials Science and Engineering C*. v.32, p.627-636, 2012.

LIE, M., XIE, R. Preparation and structure of porous silk sericin materials. *Macromolecular materials and Engineering*, v.290, p.188-194, 2005.

LIN, J. X.; WANG, L. Studies on silk degumming process in water at high temperature and sericin recovery by freezing and unfreezing method. *Science of Sericulture*. v.30, p.280-284, 2004.

LIU, T.; XIE, Z.; LIU, Q. Determination of diclofenac sodium by resonance light scattering method using silver nanoparticles as probe. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. v. 200, p. 63-69, 2018.

LO, C. H.; CHAO, Y. Degumming of silk fibers by CO₂ supercritical fluid. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*. v. 5, p. 1-8, 2017.

LU, B.; WANG, Z. R.; YANG, H., Long-acting delivery microspheres of levo-norgestrel-poly(3-hydroxybutyrate): their preparation, characterization and contraceptive tests on mice. *Journal of Microencapsulation*, v. 18, n.1, p. 55-64, 2001.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; LA ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas matriciais hidrofílicos e

mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.26, n.5, p.784-793, 2007.

MA, D.; WANG, Y.; DAI, W. Silk fibroin-based biomaterials for musculoskeletal tissue engineering. *Materials Science & Engineering C*. v. 89, p. 456-469, 2018.

MANCINI, M.; MORESI, M.; SAPPINO, F. Rheological behaviour of aqueous dispersions of alga sodium alginates. *Journal of Food Engineering*, v.28, p.283-295, 1996.

MANDAL, B. B.; PRIYA, A. S.; KUNDU, S. C. Novel silk sericin/gelatin 3-D scaffolds and 2-D films: Fabrication and characterization for potential tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, v.5, p. 3007-3020, 2009.

MARCELINO, A. G. Desenvolvimento tecnológico da extração da sericina e preparação de nanopartículas para aplicação em cosméticos. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2008. 146 p. Dissertação (Mestrado).

MAUERSBERGER, H. R. Matthews' textile fibers: Their Physical, Microscopic, and Chemical Properties. 6^o ed. Chapman & Hall, Londres, 1954.

MONDAL, M.; TRIVEDY, K.; KUMAR, N. The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn. - A review. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, v.5, n.2, p.63-76, 2007.

NANDI, G.; NANDI, A. K.; KHAN, N. S.; PAL, S.; DEY, S. Tamarind seed gum-hydrolyzed polymethacrylamide-g-gellan beads for extended release of diclofenac sodium using 3² full factorial design. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 114, p. 214-225, 2018.

PADAMWAR, M. N.; PAWAR, A. P. Silk sericin and its application: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*. v.63, p.323-329, 2004.

PÁDUA, O. S. A Origem da Sericicultura. EMATER – Paraná, Unidade Municipal de Nova Esperança, 2005.

PARK, C. J.; RYOO, J.; KI, C. S.; KIM, J. W.; KIM, I. S.; BAE, D. G.; UM, I. C. Effect of molecular weight on the structure and mechanical properties of silk sericin gel, film, and sponge. *International Journal of Biological Macromolecules*. v.119, p.821-832, 2018.

PATEL, N.; LALWANI, D.; GOLMER, S.; INJETI, Y.; NESAMONY, J. Development and evaluation of a calcium alginate based oral ceftriaxone sodium formulation. *Progress in Biomaterials*. v.5, p.117-123, 2016.

PATEL, R.; MODASIYA, M. Sericin: Pharmaceutical Applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. v.2, p.913-917, 2011.

PAUL, D. R. Elaborations on the Higuchi model for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. v.418, p.13-17, 2011.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n.4, p. 491-502, 2007.

PIMENTEL, L. F.; JÚNIOR, A. T. J.; MOSQUEIRA, V. C. F.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n.4, p. 503-514, 2007.

QUICENO, N. J.; LÓPEZ, C. A.; OSORIO, A. R. Structural and thermal properties of silk fibroin films obtained from cocoon and waste silk fibers as raw materials. *Procedia Engineering*. v. 200, p. 384-388, 2017.

REIS, C. P.; NEUFELD, R. J.; VILELA, S.; RIBEIRO, A. J.; VEIGA, F. Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles. *Journal of Microencapsulation*, v.23, n.3, p.245-257, 2006.

RIGUEIRO, J. P.; ELICES, M.; LLORCA, J.; VINEY, C. Tensile properties of silkworm silk obtained by forced silking. *Journal of Applied Polymer Science*, v.82, p.1928-1935, 2001.

RODRIGUES, A. P. Produção e caracterização de micropartículas de alginato incorporando *Aeromonas Hydrophila* inativada para imunização de tilápia do Nilo por via oral. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2004. 95p. Dissertação (Mestrado).

SACCHETIN, P. S. C. Incorporação de *Flavobacterium Columnare* inativado em micropartículas de alginato e quitosana para a imunização de Tilápia do Nilo (*Oreochromis Niloticus*) por via oral. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2009. 138 p. Dissertação (Mestrado).

SAFI, S.; KARIMZADEH, F.; LABBAF, S. Mesoporous and hollow hydroxyapatite nanostructured particles as a drug delivery vehicle for the local release of ibuprofen. *Materials Science & Engineering C*, v.92, p.712-719, 2018.

SANTOS, L.; GUTERRES, S.; BERGOLD, A. M. Preparação e Avaliação de Cápsulas Gastro-Resistentes de Diclofenaco de Sódio. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.26, n.3, p.355-361, 2007.

SAPRU, S.; DAS, S.; MANDAL, M.; GHOSH, A. K.; KUNDU, S. C. Prospects of nonmulberry silk protein sericin-based nanofibrous matrices for wound healing – In vitro and in vivo investigations. *Acta Biomaterialia*. v. 78, p. 137-150, 2018.

SAYED, M. T. E.; SHARIEF, A. M. S. E.; ZARIE, E. S.; MORSY, N. M.; ELSHEAKH, A. R.; NAYEL, M.; VORONKOV, A.; BERISHVILI, V.; SABRY, N. M.; HASSAN, G. S.; ABDEL-AZIZ, H. A. Design, synthesis, anti-inflammatory antitumor activities, molecular modeling and molecular dynamics simulations of potential Naprosyn® analogs as COX-1 and/or COX-2 inhibitors. *Bioorganic Chemistry*. v. 76, p. 188-201, 2018.

SCHMALTZ, C.; SANTOS, J. V.; GUTERRES, S. S. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. *Infarma*, Brasília, v. 16, n. 13-14, p. 80-85, 2005.

SEABRA, C. I. R. Farmacocinética do Ibuprofeno. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2015. 89 p. Dissertação (Mestrado).

SILVA, T. L. Desenvolvimento e avaliação de partículas à base de blendas entre sericina e alginato para aplicação ambiental. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2016. 193 p. Tese (Doutorado).

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.3, n.1, 2003.

SILVA, T. L.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. G. C. Extração de sericina de casulos do bicho da seda (*bombyx mori*) e formação de partículas a base de sericina e alginato. XXXVI Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados. Maceió, 2013.

SILVA, T. L.; VIDART, J. M. M.; SILVA, M. G. C.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A. Chapter 4 – Alginate and Sericin: Environmental and Pharmaceutical Applications. In: *Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides*, 1st ed.; Shalaby, E.A., Ed.; InTech, p. 57-85, 2017.

SINHA, P.; UBAIDULLA, U.; HASNAIN, M. S.; NAYAK, A. K.; RAMA, B. Alginate-okra gum blend beads of diclofenac sodium from aqueous template using ZnSO₄ as a cross-linker. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.79, p.555-563, 2015.

SOARES, J. P.; SANTOS, J. E.; CHIERICE, G. O.; CAVALHEIRO, E. T. G. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *Eclética Química*, v.29, p.57-63, 2004.

SOTHORNVIT, R., CHOLLAKUP, R., SUWANRUJI, P. Extracted sericina silk waste for film formation. *Songklanakarin Journal Science and Technology*. v.32, n.1, p.17-22, 2010.

SPARKES, J.; HOLLAND, C. The rheological properties of native sericin. *Acta Biomaterialia*. v. 69, p. 234-242, 2018.

SPROCKEL, O. L.; PRAPAITRAKUL, W. A comparison of microencapsulation by various emulsion techniques. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 58, n.2, p.123- 127, 1990.

STORPIRTIS, S.; GAI, M. N.; CAMPOS, D. R.; GONÇALVES, J. E. Farmacocinética Básica e Aplicada. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E. C.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Health and Environment Journal*, v.7, n.2, p.12-20, 2006.

SUN, J.; TAN, H. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials*. v. 6, p. 1285-1309, 2013.

TAKASU, Y.; HATA, T.; UCHINO, K.; ZHANG, Q. Identification of Ser2 proteins as major sericin components in the non-cocoon silk of *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. v. 40, p.339-344, 2010.

TERAMOTO, H.; KAMEDA, T.; TAMADA, Y. Preparation of gel film from *Bombyx mori* silk sericin and its characterization as a wound dressing. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. V.12, p.3189-3196, 2008.

TERAMOTO, J.; MIYAZAWA, M. Molecular orientation behavior of silk sericin film as revealed by ATR infrared spectroscopy. *Biomacromolecules*. v.6, p. 2049-2057, 2005.

THEKEN, K. N. Variability in analgesic response to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*. v. 139, p. 63-70, 2018.

TOMADON JR, J. Obtenção da proteína sericina, com alta massa molar, a partir de casulos *Bombyx mori*. Paraná: Universidade Estadual de Maringá, 2011. 172 p. Dissertação (Mestrado).

TSUBOUCHI, K.I.; TSUKUBA, H.Y.; TSUKUBA, Y.T. Sericin containing material process for producing the same method of using the same. United States Patent nº 6.815.427, 2004.

TURBIANI, F. R. B. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de sericina e pva reticulados com dimetiloluréia. Paraná: Universidade Estadual de Maringá, 2011. 147 p. Tese (Doutorado).

ULUBAY, M.; YURT, K. K.; KAPLAN, A. A.; ATILLA, M. K. The use of diclofenac sodium in urological practice: A structural and neurochemical based review. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. v. 87, p. 32-36, 2018.

UNAGOLLA, J. M.; JAYASURIA, A. C. Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 114, p. 199-209, 2018.

VAITHANOMSAT, P., KITPREECHVANITH, V. Sericin separation from silk degumming wastewater. *Separation and Purification Technology*. v.59, p.129-133, 2008.

VARELAS, C. G.; DIXON, D. G.; CAROL, S. Zero-order release from biphasic polymer hydrogels. *Journal of Controlled Release*, v.34, p.185-192, 1995.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. v.20, n.1, p.51-64, 2010.

VULCANI, V. A. S. Matrizes de colágeno para liberação controlada de progesterona. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2004. 77 p. Dissertação (Mestrado).

ZHANG, Y. Q. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biothchnology Advances*. v.20, p.91-100, 2002.

ZHAO, Z. L.; LI, W. W.; WANG, F.; ZHANG, Y. Q. Using of hydrated lime water as a novel degumming agent of silk and sericin recycling from wastewater. *Journal of Cleaner Production*. v.172, p. 2090-2096, 2018.

WAGNER, J. G. Interpretation of percent dissolved-time plots derived from In vitro testing of conventional tablets and capsules. *Journal of Pharmaceutical Science*, v.58, p.1253-1257, 1969.

WANG, Y.; WANG, X.; WEI, K.; ZHAO, N.; ZHANG, S.; CHEN, J. Fabrication, characterization and long-term in vitro release of hydrophilic drug using PHBV/HA composite microspheres. *Materials Letters*, v.61, p.1071-1076, 2007.

WANG, F.; ZHANG, Y. Effects of alkyl polyglycoside (APG) on *Bombyx mori* silk degumming and the mechanical properties of silk fibroin fibre. *Materials Science and Engineering: C*. v.74, p.152-158, 2017.

WANG, R.; ZHU, Y.; SHI, Z.; JIANG, W.; LIU, X.; NI, Q. Degumming of raw silk via steam treatment. *Journal of Cleaner Production*. v.203, p.492-497, 2018.

WANG, P.; HE, H.; CAI, R.; TAO, G.; YANG, M.; ZUO, H.; UMAR, A.; WANG, Y. Cross-linking of dialdehyde carboxymethyl cellulose with silk sericin to reinforce sericin film for potential biomedical application. *Carbohydrate Polymers*, 2019.

WEIBULL, W. A statistical distribution function of wide applicability. *Journal of Applied Mechanics*, v.103, p.293-297, 1951.

YUAN, N. N.; LI, S. J.; LI, G. Q. Sodium alginate coated mesoporous silica for dual bio-responsive controlled drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. v. 46, p. 348-353, 2018.

YUN, H.; KIM, M. K.; KWAK, H. W.; LEE, J. Y.; KIM, M. H.; LEE, K. H. The role of glycerol and water in flexible silk sericin film. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 82, p. 945-951, 2016.