

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA METALÚRGICA,
MATERIAIS E DE MINAS

Dissertação de Mestrado

MANTAS DE NANOFIBRAS DE GELATINA/POLICAPROLACTONA PARA
LIBERAÇÃO TÓPICA DE DICLOFENACO DE POTÁSSIO VISANDO
POTENCIAL AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA

Autor: Gabriella Onila do Nascimento Soares

Orientador: Prof. Rodrigo Lambert Oréfice

Junho/2021

Gabriella Onila do Nascimento Soares

**MANTAS DE NANOFIBRAS DE GELATINA/POLICAPROLACTONA PARA
LIBERAÇÃO TÓPICA DE DICLOFENACO DE POTÁSSIO VISANDO
POTENCIAL AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas.

Área de Concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Rodrigo Lambert Oréfice

Belo Horizonte
Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Engenharia

2021

S676m	<p>Soares, Gabriella Onila do Nascimento.</p> <p>Mantas de nanofibras de gelatina/policaprolactona para liberação tópica de diclofenaco de potássio visando potencial ação antiinflamatória [recurso eletrônico] / Gabriella Onila do Nascimento Soares. - 2021. 1 recurso online (102 f. : il., color.) : pdf.</p> <p>Orientador: Rodrigo Lambert Oréfice.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.</p> <p>Bibliografia: f. 89-102. Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.</p> <p>1. Materiais - Teses. 2. Ciência dos materiais - Teses. 3. Biomateriais - Teses. 4. Diclofenaco - Teses. 5. Eletrofição - Teses. 6. Gelatina - Teses. 7. Tecnologia de liberação controlada - Teses. I. Oréfice, Rodrigo Lambert, 1968-. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 620(043)</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pelo bibliotecário Reginaldo Cesar Vital dos Santos CRB/6 2165

Biblioteca Prof. Mário Werneck, Escola de Engenharia da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Metalúrgica, Materiais e de Minas



Dissertação intitulada "**Mantas de nanofibras de gelatina/policaprolactona para liberação tópica de diclofenaco de potássio visando potencial ação anti-inflamatória**", área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais, apresentada pela candidata **Gabriella Onila do Nascimento Soares**, para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas, aprovada pela comissão examinadora constituída pelos seguintes membros:

Rodrigo Lambert Oréfice

Prof. Rodrigo Lambert Oréfice
Orientador – Dr. (UFMG)

Aline Bruna da Silva

Prof^a Aline Bruna da Silva
Dr^a (CEFET/MG)

J. Villanova

Prof^a Janaína Cecília Oliveira Villanova
Dr^a (UFES)

Rodrigo Lambert Oréfice

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas/UFMG

Belo Horizonte, 21 de junho de 2021

AGRADECIMENTOS

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe”. É compartilhando desta ideia que não poderia deixar de agradecer às inúmeras pessoas que tiveram e me acompanharam nessa trajetória, pois, sem dúvidas, este projeto não foi uma conquista individual.

Agradeço à Deus pela luz em minha vida. Sua presença nos dias mais difíceis me deu força para continuar, mesmo que por muitas vezes não fosse capaz de O compreender e agradecer.

À minha mãe, a mulher mais extraordinária que conheço, que dedicou sua vida inteira para que eu conquistasse meus sonhos e que compartilhou de todo meu choro, aflição e sorriso. Agradeço ao meu pai por sempre acreditar que a educação era o bem mais valioso que poderia me dar e por lutar incessantemente por isso, sempre um modelo para mim. Agradeço ao meu irmão que não é capaz de imaginar a contribuição grandiosa que teve em minha vida, pois sempre quis ser exemplo e alguém que ele pudesse se orgulhar.

Ao meu esposo que esteve comigo desde o início da graduação, antes como amigo, mas sempre me apoiando perante as dificuldades e compartilhando das pequenas felicidades que a vida é capaz de oferecer. Seu amor e companheirismo foi muito além de palavras de força e não sou nem capaz de mensurar toda contribuição para este trabalho.

Ao professor Rodrigo que acreditou em mim muito antes de eu decidir por este caminho. Sou imensamente grata por ter abraçado meu jeito estranho e ter me orientado com tanto zelo e dedicação. Sua capacidade de depositar toda confiança no projeto e no pesquisador e acreditar, mesmo quando tudo parece estar dando errado, o faz um professor mais que excepcional, o faz raro. Sou imensamente grata por ter tido a oportunidade de tê-lo encontrado e por fazer parte do desenvolvimento da minha pesquisa, peça chave do resultado e da conclusão do projeto.

Aos colegas do LEPCom, por todo apoio e troca de experiências. Não raro deixavam meus dias no laboratório mais felizes e leves. Foram inúmeras contribuições a este trabalho e sou muitíssimo grata por toda colaboração, suporte e aprendizado que me proporcionaram.

Aos amigos que colaboraram ativamente para esta conquista, seja no laboratório me ajudando com as soluções, motivando-me ou mesmo antes, dando-me suporte no processo seletivo. Sou muito grata por dedicaram horas de suas vidas para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos funcionários do PPGEM, Cida, Patrícia e muitos outros que me auxiliaram e me ajudaram a realizar este projeto.

À CAPES e FAPEMIG pelo suporte financeiro, pois sem ele jamais conseguiria dar continuidade ao projeto ou mesmo seguir por este caminho. Espero retornar à sociedade toda a contribuição e oportunidade que me foi confiada.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	15
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos	18
CAPÍTULO 3: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 Biomateriais	19
3.2 Sistemas de liberação modificada de fármacos	20
3.3 Nanotecnologia	27
3.3.1 Nanofibras	29
3.4 Polímeros Naturais.....	33
3.5 Policaprolactona.....	35
3.6 Anti-inflamatórios não esteroides e o diclofenaco de potássio.....	37
3.7 Cinética de Liberação de Fármacos	41
CAPÍTULO 4: MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
4.1 Materiais	46
4.2 Métodos	46
4.2.1 Obtenção das nanofibras Ge/PCL (GP)	47
4.3 Caracterização	48
4.3.1 Caracterização morfológica Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise elementar por Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)	48
4.3.2 Caracterização estrutural por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	49
4.3.3 Análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG) e Termogravimetria Derivada (DTG)	49
4.3.4 Ensaio de Intumescimento	50
4.3.5 Ensaio de biodegradação in vitro.....	50

4.3.6 Eficiência de encapsulamento do fármaco	51
4.3.7 Ensaio de Liberação	52
4.3.8 Avaliação da cinética de liberação	53
4.3.9 Ensaio de permeação cutânea	54
4.3.10 Análise estatística	56
CAPÍTULO 5: RESULTADOS E DISCUSSÕES	57
5.1 Morfologia e análise elementar das nanofibras	57
5.2 Análise estrutural por FTIR	62
5.3 Análise térmica.....	65
5.4 Ensaio de Intumescimento	69
5.5 Ensaio de biodegradação <i>in vitro</i>	70
5.7 Ensaio de liberação <i>in vitro</i>	76
5.8 Análise de cinética de liberação	80
5.9 Ensaio de permeação cutânea	85
CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO	87
CAPÍTULO 7: SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	88
CAPÍTULO 8: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Esquema de concentração do fármaco no plasma. Adaptado de Fenton <i>et al.</i> , (2018).....	22
Figura 3.2 – Esquema resumido da pele. Adaptado de Diegel; Danilenko; Wojcinski (2018).....	23
Figura 3.3 – Esquema das técnicas de incorporação de fármaco nas nanofibras. Adaptado de Goonoo; Bhaw-Luximon; Jhurry (2014).....	29
Figura 3.4 – Esquema da eletrofiação. Adaptado de Li; Zhao; Song (2010).....	30
Figura 3.5 – Representação da Gelatina (KOMMAREDDY; SHENOY; AMIJI, 2005).....	33
Figura 3.6 – Representação do PCL. Adaptado de Kogikoski <i>et al.</i> (2017).....	36
Figura 3.7 – Representação do Diclofenaco de Potássio (DUNGARANI <i>et al.</i> , 2013).....	38
Figura 3.8 – Processo de intumescimento e liberação do fármaco a partir de uma matriz polimérica hidrofílica e sua configuração macromolecular em diferentes etapas. Adaptado de (Lopes; Lobo; Costa (2005) e Narasimhan; Peppas (1997).....	42
Figura 4.1 – Esquema da Metodologia do trabalho. Próprio autor.....	47
Figura 4.2 – (a) Espectros de UV-Vis para diferentes concentrações de DP, utilizando cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm (b) curva de calibração do DP em PBS. Próprio autor.....	52
Figura 4.3 – Esquema da célula de Franz utilizada no experimento de permeação cutânea. Adaptado de PermeGear (2021).....	54
Figura 4.4 – Esquema do experimento de permeação cutânea. Próprio autor.....	55
Figura 4.5 – Separação da epiderme da derme. Próprio autor.....	56
Figura 5.1 – MEV das nanofibras (a) GP0 (b) GP5 (c) GP10 e (d) GP15 com suas respectivas distribuições de diâmetros.....	58
Figura 5.2 – Diâmetro médio das nanofibras GP. O diâmetro médio foi expresso como média \pm desvio padrão (n = 100)	60
Figura 5.3 – EDS das nanofibras GP.....	62
Figura 5.4 – Espectro de FTIR das nanofibras GP e seus componentes.....	63

Figura 5.5 – Curvas de DSC (a), TGA (b) e DTG (c) das amostras e seus componentes.....	66
Figura 5.6 – Razão de intumescimento das nanofibras GP. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (n = 3)	69
Figura 5.7 – Índice de degradação em PBS (pH 7.4) das nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 (a) e FTIR dessas amostras após submersas em PBS por 28 dias (b). Os resultados de índice de degradação foram expressos como média \pm desvio padrão (n = 3)	71
Figura 5.8 – Análise elementar e morfológica das amostras submersas por 28 dias em PBS: EDS das amostras GP (a); MEV das nanofibras GP após submersas em PBS por 28 dias (b)	72
Figura 5.9 – Liberação acumulada (%) das amostras GP em diferentes temperaturas (a). Liberação acumulada (%) nas temperaturas ambiente, 37 e 60 °C das nanofibras com diferentes concentrações (% m/m) de DP (b). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (n = 3)	79
Figura 5.10 – Gráficos de modelo cinético de liberação de DP a partir das nanofibras a temperatura ambiente, 37 °C e 60 °C no primeiro estágio de liberação (entre 0 e 1 hora)	81
Figura 5.11 – Gráficos de modelo cinético de liberação de DP a partir das nanofibras a temperatura ambiente, 37 °C e 60 °C no segundo estágio de liberação (a partir de uma hora)	83
Figura 5.12 – Modelo cinético de Korsmeyer-Peppas ($f_t < 60$ %)	83
Figura 5.13 - Quantidade ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de DP retido na epiderme e derme da pele da orelha de porco após 24 horas de estudo de permeação <i>in vitro</i> . Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão (n = 5)	86

LISTA DE TABELA

Tabela 4.1 – Resumo da nomenclatura adotada para as amostras analisadas. Próprio autor.....	48
Tabela 5.1 – Picos principais dos componentes Ge, PCL e DP e suas principais posições no FTIR (AJMAL <i>et al.</i> , 2019; AYTAC <i>et al.</i> , 2019; BARROS <i>et al.</i> , 2015; HANA <i>et al.</i> , 2017; KANNAIYAN <i>et al.</i> , 2019; KHATTI; NADERI-MANESH; KALANTAR, 2019; MOAZZAMI GOUDARZI <i>et al.</i> , 2020; TARIQ <i>et al.</i> , 2012).....	64
Tabela 5.2 – Eficiência de encapsulamento do fármaco nas amostras GP5, GP10 e GP15. Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3)	75
Tabela 5.3 – Expoente de liberação (n) e coeficiente de determinação (R ²) para as amostras GP5, GP10 e GP15 em diferentes temperaturas	84

Lista de Notações

a – Constante relacionada às características estruturais e geométricas da matriz de liberação

AINE – Anti-inflamatório não esteroide

ATP – Adenosina Trifosfato

COX – Ciclooxigenase

D – Índice de degradação

DS – Diclofenaco de sódio

DMA – Análise Dinâmico-Mecânica

DMF – Dimetilformamida

DMF – Dimetilformamida

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DP – Diclofenaco de Potássio

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

DTG – Termogravimetria Derivada

EEF – Eficiência de encapsulamento do Fármaco

FDA – *Food and Drug Administrations*

f_t – Fração de fármaco dissolvido no tempo t

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Ge – Gelatina

GP – Nanofibras de Ge/PCL

GP0 – Nanofibras de Ge/PCL com 0 % m/m de DP

GP5 – Nanofibras de Ge/PCL com 5 % m/m de DP

GP10 – Nanofibras de Ge/PCL com 10 % m/m de DP

GP15 – Nanofibras de Ge/PCL com 15 % m/m de DP

K_0 – Constante de liberação do modelo ordem zero

K_1 – Constante de liberação do modelo primeira ordem

K_2HPO_4 – Fosfato de potássio bibásico anidro

KCl – Cloreto de potássio

K_H – Constante de liberação do modelo Higuchi

K_β – Constante de liberação do modelo Hixson-Crowell

LEPCom – Laboratório de Engenharia de Polímeros e Compósitos da UFMG

LLC – Mesofases liotróficas líquido-cristalinas

MEC – Matriz extracelular

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

n – Expoente de Liberação

Na_2HPO_4 – Fosfato de sódio bibásico anidro

NaCl – Cloreto de sódio

PBS – *PhosphateBuffered Saline* (Tampão fosfato-salino)

PCL – Policaprolactona

PLGA – Poli(ácido lático-co-glicólico)

PVA – Poli(álcool vinílico)

Q_0 – Quantidade inicial de fármaco na solução

Q_t – Quantidade de fármaco dissolvido no tempo t

RNA – Ácido Ribonucleico

SC – Estrato córneo

SLF – Sistema de Liberação de Fármacos

t – Tempo

TFE – 2,2,2 Trifluoroetanol

TG – Termogravimetria

T_g – Transição Vítrea

UV-Vis – Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) – visível (Vis)

W_0 – Peso inicial

W_t – Peso no tempo t

ϵ -CL – ϵ -caprolactona

$\bar{\delta}$ – Parâmetro de solubilidade para a mistura

δ_i – Parâmetro de solubilidade para cada solvente

φ_i – Fração volumétrica

Resumo

Sistemas de liberação controlada de uso tópico têm sido amplamente estudados como alternativa à administração convencional e buscam fornecer soluções inovadoras a diversas aplicações, bem como tratamentos. Tecnologias de liberação de fármacos baseadas em nanofibras são destaque neste cenário e a eletrofiação de blendas poliméricas, em particular, consagrou-se como forma moderna de criar materiais biocompatíveis visando aplicações biomédicas. Efeitos adversos no sistema circulatório, trato gastrointestinal, rins e fígado estão comumente relacionados à administração oral convencional de diclofenaco de potássio (DP), portanto, o estudo de uma nova via de administração baseada em nanofibras eletrofiadas de Gelatina / Policaprolactona carregadas com DP é um biomaterial de potencial aplicação tópica de DP, visando a melhora da qualidade de vida dos pacientes. O trabalho descreve o desenvolvimento de nanofibras de Gelatina/Policaprolactona incorporadas com DP (5, 10 e 15 % m/m) utilizando o método de eletrofiação. MEV-EDS evidenciou sucesso na incorporação do fármaco, enquanto FTIR e DSC indicaram possível interação gelatina e DP. O estudo de biodegradação *in vitro* evidenciou a dissolução da gelatina e a análise de liberação *in vitro* revelou uma dependência do perfil de liberação com a concentração de DP e temperatura. O estudo de permeação *in vitro* utilizando pele suína e realizado com as nanofibras % m/m de DP identificou a presença do fármaco na epiderme e derme, indicando o direcionamento dérmico do DP que pode resultar na melhora do efeito farmacológico desse medicamento.

Palavras-chave: Biomateriais, sistemas de liberação controlada, Gelatina, Policaprolactona, eletrofiação, administração tópica de fármacos, diclofenaco de potássio e estudo de permeação cutânea.

Abstract

Controlled release systems for topical use have been widely studied as an alternative to conventional administration and seek to provide innovative solutions for many applications as well as treatments. Nanofiber-based drug delivery technologies are highlighted in this scenario and the electrospinning of polymer blends, in particular, is a modern way to create biocompatible materials for biomedical applications. Adverse effects in the circulatory system, gastrointestinal tract, kidneys, and liver are commonly related to the conventional oral administration of diclofenac potassium (DP), therefore, the study of a new route of administration based on electrospun nanofibers of Gelatin / Polycaprolactone loaded with DP is a biomaterial with potential topical application of DP, aiming the patient's life quality improvement. The work describes the development of Gelatin/Polycaprolactone nanofibers incorporated with DP (5, 10, and 15 % m/m) using the electrospinning method. SEM-EDS evidenced success in the drug incorporation, while FTIR and DSC indicated a possible interaction between gelatin and DP. The in vitro biodegradation study showed gelatin dissolution and the in vitro release analysis revealed a dependence of the release profile on the DP concentration and temperature. The in vitro permeation study using porcine skin (nanofibers with 10 % m/m of DP) and identified the presence of the drug in the epidermis and dermis, indicating the dermal targeting of the DP, which can improve the pharmacological effect of this drug.

Keywords: Biomaterials, controlled release systems, gelatin, polycaprolactone, electrospinning, topical administration of drugs, diclofenac potassium and skin permeation study.

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação modificada têm recebido grande atenção no cenário atual por oferecerem uma estratégia robusta de liberação dos ingredientes farmacêuticos ativos por diferentes vias, inclusive, nas camadas mais profundas da pele bem como através da mesma. Novas estratégias buscam na nanotecnologia formas de superar as limitações da administração tópica e melhorar tanto a permeação quanto a absorção pela pele, uma vez que esta se comporta, naturalmente, como uma barreira protetora que controla a entrada e a saída de substâncias do organismo, além de desempenhar outras funções importantes (AMJADI *et al.*, 2018; YARIV *et al.*, 2010).

As dores crônicas e agudas afetam, hoje, milhares de indivíduos. O manejo da dor com desfecho favorável se baseia na administração oral, tópica ou transdérmica de fármacos de diferentes classes terapêuticas, como os analgésicos, anti-inflamatórios e anestésicos, principalmente (LEPPERT *et al.*, 2018). Quando administrados pela via oral, o sucesso da intervenção farmacológica pode ser comprometido, especialmente para os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), uma vez que estes causam desconforto gástrico e comprometem a adesão ao tratamento. Já a administração parenteral causa dor e desconforto nos pacientes, especialmente nos portadores de dor crônica (FLORES; CASTRO; NASCIMENTO, 2012; McCLEANE, 2007). AINES como o DP quando aplicados topicamente são pouco absorvidos pela circulação sistêmica sendo o principal mecanismo de ação relacionado à alta concentração nas camadas mais profundas da pele, nomeadamente, nas estruturas das articulações, exercendo marcante efeito anti-inflamatório local (LEPPERT *et al.*, 2018).

O diclofenaco de potássio (DP) é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) que atua como um inibidor da ciclooxigenase (COX) e conseqüentemente da biossíntese da prostaglandina, que juntamente com outros mediadores, é responsável pela resposta inflamatória. Efeitos adversos como desconforto gastrointestinal e disfunção renal estão comumente relacionadas à administração oral convencional de AINEs. Assim, a via de administração tópica de DP é uma alternativa para superar as limitações impostas pela via oral e parenteral e pode melhorar a adesão do paciente à farmacoterapia (ÇEBI *et al.*,

2018; VIJAYAKUMAR; SATHALI; ARUN, 2010; ZHANG *et al.*, 2014).

O DP é comumente incorporado em formas farmacêuticas convencionais para administração tópica, tais como soluções, géis ou cremes, o que acarreta desvantagens como a impossibilidade de controlar a liberação do fármaco e uma rápida remoção do produto do local de aplicação. Um desafio da nova geração de materiais voltados para a liberação controlada de fármacos se concentra, portanto, no desenvolvimento de sistemas de liberação capazes de superar as inconveniências originadas pela administração convencional. Neste contexto, os sistemas poliméricos de liberação têm suscitado grande interesse (AMJADI *et al.*, 2018; HOFFMAN, 2008; SOTO *et al.*, 2018).

Nanotecnologia tem se mostrado um campo promissor no desenvolvimento de novas pesquisas relacionadas à área farmacêutica. Neste cenário, têm-se ampliado a pesquisa e concepção de novos materiais, criados com o intuito de aprimorar tecnologias de administração já existentes e de desenvolver mecanismos de liberação de fármacos mais eficientes (NURHIDAYAH *et al.*, 2019; WEDER, 2011). Nessa perspectiva, os sistemas baseados em polímeros preparados por eletrofição é uma área de pesquisa de grande interesse em razão das características singulares dessa classe de materiais como biocompatibilidade, propriedades mecânicas e estabilidade térmica que tornam esses dispositivos ideais para a aplicação pretendida (AMJADI *et al.*, 2018; NAIR; LAURENCIN, 2007).

As nanofibras poliméricas ocupam uma posição de destaque no preparo de sistemas de liberação devido à relativa facilidade na incorporação dos AINEs e ao bom controle do perfil de liberação, que pode ser alcançado através da modificação da morfologia, porosidade, composição química das fibras e até mesmo da técnica de produção e sua configuração (GARG; BOWLIN, 2011). Existem diversas técnicas a partir das quais é possível obter nanofibras, incluindo a eletrofição, que se caracteriza por ser um método simples com excelente custo-benefício. Sua vasta aplicação tem gerado grande interesse entre os pesquisadores, principalmente no campo de biomateriais, que utilizam a técnica como meio de produzir *scaffolds*, biossensores, filtros, dispositivos de liberação controlada, entre outros (BHARDWAJ; KUNDU, 2010; LI *et al.*, 2016; STALDER;

ZUMBUEHL, 2017).

A produção de um sistema de liberação modificada do DP para uso tópico, baseado em nanofibras de gelatina/policaprolactona (GP) para liberação controlada de diclofenaco de potássio (DP) é o objetivo do presente estudo. A utilização da blenda GP no preparo da matriz é atraente em função da flexibilidade, propriedades mecânicas otimizadas, alta capacidade de incorporação do fármaco, baixa taxa de degradação e excelente biocompatibilidade(DAELEMANS *et al.*, 2018; GIL-CASTELL *et al.*, 2020). O estudo buscou avaliar a aplicação potencial das nanofibras como dispositivo de liberação, investigando os efeitos do DP na morfologia, estrutura química, comportamento térmico, biodegradação *in vitro*, perfil de liberação do fármaco, cinética de liberação e estudo de permeação cutânea *in vitro*, empregando pele de orelha suína como membrana permeadora.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Produzir um sistema de liberação modificada baseado em nanofibras de gelatina/policaprolactona (GP) contendo diclofenaco de potássio (DP) visando entrega local do fármaco nas camadas da pele.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Preparar nanofibras de Gelatina/Policaprolactona (GP) com 5, 10 e 15 % m/m de diclofenaco de potássio (DP) pelo método de eletrospiação;
- ✓ Caracterizar morfologia, estrutura e propriedades das mantas de nanofibras através de análises térmicas e técnicas de microscopia;
- ✓ Avaliar o intumescimento e a biodegradação *in vitro* das mantas de nanofibras;
- ✓ Analisar o perfil de liberação do fármaco a partir das mantas de nanofibras GP; através da espectroscopia de absorção de radiação na região ultravioleta-visível (UV-Vis) nas temperaturas ambiente, 37 e 60 °C,
- ✓ Determinar a cinética de liberação do fármaco a partir das matrizes;
- ✓ Avaliar a permeação *in vitro* do DP a partir das mantas de nanofibras em células do tipo de Franz utilizando pele de orelha suína como membrana permeadora.

CAPÍTULO 3: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biomateriais

O emprego dos biomateriais tem se sobressaído nas últimas décadas, mas o uso de materiais no corpo humano apresenta registros pré-históricos, apesar destes possuírem pouca semelhança com os conhecidos atualmente. O uso destes materiais na idade média, ou mesmo em civilizações antigas, suscitava uma série de reações toxicológicas, imunológicas e inflamatórias, além de perdas das funções fisiológicas/anatômicas do tecido. Ainda sim, as suturas, por exemplo, foram utilizadas por milhares de anos. Embora essa ciência tenha adquirido destaque após a segunda guerra mundial, os termos biomaterial e biocompatibilidade foram definidos por Williams apenas em 1987, sendo inseridos, então, ao meio acadêmico somente na conferência de Chester em 1991 (RATNER *et al.*, 2013).

O biomaterial passou a ser definido, portanto, como um dispositivo capaz de promover interações com os sistemas biológicos, no sentido de regenerar ou substituir um órgão, tecido ou função do organismo. É fundamental, entretanto, que este possua propriedades compatíveis com o tecido a qual é introduzido, de modo a estimular uma resposta efetiva com sua inserção (FRANZ *et al.*, 2011).

O estudo dos biomateriais apresentou um grande salto no que se refere ao comportamento esperado do mesmo quando inserido no tecido. A busca pelo material “bioinerte” foi cedendo espaço para um novo conceito, “bioativo”, material que procura não apenas minimizar as respostas do organismo, como atuar ativamente para a manutenção e reparo do tecido (GALLER; D’SOUZA; HARTGERINK, 2010; FRANZ *et al.*, 2011).

Importantes avanços foram realizados neste campo nos últimos anos, seja na busca pelo controle do processo de coagulação ou mesmo estímulo à fixação e retenção de células. Além disso, a bioatividade adquiriu nova perspectiva e o material ativo passou a ser projetado para se transformar diante de estímulos externos, tais como luz, temperatura ou composição química (RATNER *et al.*, 2013).

3.2 Sistemas de liberação modificada de fármacos

Com o avanço da medicina, diversas pesquisas têm se concentrado no desenvolvimento de novos materiais e maneiras para a entrega eficiente de medicamentos no organismo, buscando criar sistemas robustos capazes de distribuir o fármaco de maneira adequada e efetiva no combate de doenças agudas e crônicas (DAVOODI *et al.*, 2018). O foco dos estudos de distribuição de medicamentos normalmente se encontra, portanto, na otimização dos compostos comercializados pelo aprimoramento dos meios de administração. É nesse contexto que as tecnologias de liberação de fármacos entram em ação (MUHEEM *et al.*, 2016; ROSEN; ABRIBAT, 2005).

De fato, os novos sistemas de liberação de fármacos (SLF) representam uma revolução na biomedicina e progressos consideráveis já podem ser visualizados, avanços que integram ciências e colaborações interdisciplinares. Esses sistemas desempenham um papel importante no tratamento, uma vez que busca superar as deficiências das administrações convencionais, melhorando a adesão do paciente e conveniência (AI *et al.*, 2005; KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; SHI *et al.*, 2010). A necessidade de um novo olhar e novas tecnologias, embora seja um campo amadurecido, ainda é imprescindível. É preciso reexaminar os avanços, analisar as limitações e habilidades atuais e impulsionar novas tecnologias cada vez mais eficientes e condizentes com as novas realidades (YUN; LEE; PARK, 2014).

O estudo de liberação sustentada teve origem na década de 1960 e diversos pesquisadores renomados, incluindo Higuchi, Langer e Peppas contribuíram expressivamente para o crescimento desse campo. Entre as décadas de 1960 e 1980, período também retratado como a primeira geração as pesquisas nessa área se revelaram bastante produtivas. Vários dispositivos e implantes macroscópicos de liberação controlada foram projetados nesse intervalo, dentre eles, inserções para mucosa, adesivos tópicos, implantes subcutâneos e intramusculares e sendo posteriormente aprovados para uso clínico e comercializados nas décadas de 80 e 90. Nesse intervalo também surgiu o estudo de liberação por meio de nanotecnologia, inicialmente proposto na década de 1970 e atingindo maior relevância nos anos 2000 (DAVOODI *et al.*, 2018; HOFFMAN, 2008).

Embora os gastos da indústria farmacêutica com o desenvolvimento de novos medicamentos sejam exorbitantes, têm-se notado que o benefício terapêutico não está diretamente relacionado a potência do fármaco, mas sim à distribuição deste no organismo, à farmacocinética, à captação e metabolismo celular, à excreção e depuração, bem como à toxicidade. O modo de administração, portanto, é fundamental para garantir a eficácia terapêutica. (FENTON *et al.*, 2018). Com o aumento da consciência da importância da biodistribuição e farmacocinética para um tratamento eficaz, o design ideal e a aplicação tornaram-se ainda mais importantes. Nesse sentido, o estudo de novas tecnologias de distribuição continua sendo um desafio fundamental para superar as necessidades e limitações atuais que incluem: proteção dos agentes bioterapêuticos da degradação, distribuição específica do fármaco, biocompatibilidade do dispositivo, liberação a taxas controladas e melhora da qualidade do tratamento (MUHEEM *et al.*, 2016; ROSEN; ABRIBAT, 2005).

A liberação controlada de fármacos surgiu diante da necessidade de superar os problemas associados aos métodos convencionais de administração. Aplicações repetidas em determinado local para tratamentos prolongados é um fator a ser analisado nesse aspecto, visto que resultam em alta variabilidade das concentrações circulantes do medicamento durante todo o período de tratamento, podendo surgir efeitos colaterais quando atingem níveis não seguros (Figura 3.1). Ademais, é possível observar também uma redução rápida da concentração em níveis inferiores a valores efetivos, que pode ser resultado, dentro outros fatores, do metabolismo, degradação e deficiência no transporte. Nesse sentido, buscaram-se abordagens no campo de liberação sustentada para controlar a taxa de liberação, que foi amortecida pelo uso de revestimentos de celulose de dissolução lenta, manipulação da solubilidade dos fármacos, uso de emulsões etc. Essas formulações, no entanto, ainda eram fortemente influenciadas pelo organismo e ambiente, na qual ainda se fazia necessário aplicações periódicas. Assim, a liberação controlada surge como um meio de manter a concentração do fármaco em níveis desejáveis por um período prolongado de tempo, prevenindo efeitos colaterais e aplicações repetidas (FENTON *et al.*, 2018).

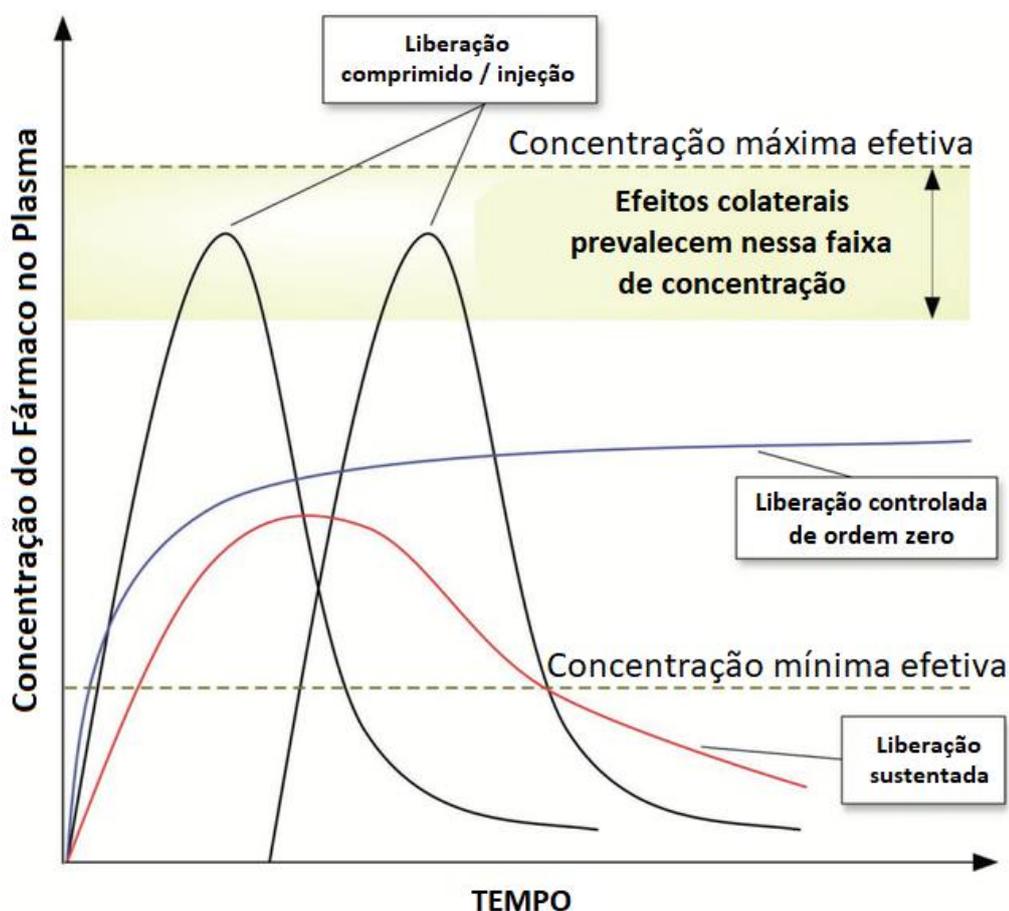


Figura 3.1 – Esquema de concentração do fármaco no plasma. Adaptado de Fenton *et al.*, (2018).

Os SLFs desenvolvidos inicialmente apresentavam significativa redução do risco de toxicidade sistêmica, uma vez que eram capazes de manter a concentração de medicamentos dentro de uma janela terapêutica. O emprego desses dispositivos, no entanto, apresentava uma aplicação limitada, visto que a liberação ocorria em um período restrito e o perfil sofria grande influência indesejável de fatores ambientais. As pesquisas evoluíram e os SLFs passaram a controlar a liberação dos agentes em taxas constantes e com alta reprodutibilidade *in vitro* e *in vivo*, sendo desenvolvidos, inclusive, para terapias locais. Esse campo está bastante avançado atualmente e encontra diversas aplicações importantes na medicina (DAVOODI *et al.*, 2018; HOFFMAN, 2008).

Apesar das conquistas significativas no campo de liberação de fármacos nas últimas décadas, essa área ainda apresenta um grande potencial de evolução. O desenvolvimento de SLF avançados com o perfil de liberação ajustado através da interação entre materiais inteligentes e mudanças em seu ambiente (ou seja, pH, oxidação, temperatura, força magnética, luz etc.) já é realidade. Além disso, a nanotecnologia impulsionou os interesses nesses dispositivos, dando suporte a estudos e pesquisas que buscam meios de aprimorar a administração dos fármacos. E, embora a liberação geralmente seja controlada por mecanismo de difusão, degradação e erosão superficial, mudanças na geometria e arquitetura de tais sistemas também podem fornecer oportunidade única para produzir carreadores com perfis de liberação de droga ajustáveis. Esses dispositivos de liberação flexível podem intensificar a eficácia de uma terapia por meio do controle do tempo, duração, dosagem, de forma previsível e confiável (DAVOODI *et al.*, 2018; KAMALY *et al.*, 2016).

3.3 Administração tópica no controle da dor

A pele constitui uma via potencial de aplicação de fármacos devido a seu acesso fácil e elevada área superficial, sendo composta, basicamente, pela epiderme (face externa) e pela derme (face interna), sendo esta última responsável pela resistência física e fornecimento de nutrientes à epiderme. Já a epiderme se caracteriza por apresentar uma estrutura multilamelar, cuja camada mais externa é composta pelo estrato córneo (SC), formado pelos corneócitos compostos principalmente por filamento de queratina e as funções vitais do SC são fortemente dependentes do seu conteúdo aquoso. As rotas de permeação de fármacos através da pele íntegra incluem, principalmente, a difusão através do SC, que pode ser subdividida em três etapas: liberação do fármaco a partir do veículo para a superfície do SC; seguida pela passagem do fármaco para o interior do SC, orientada pelo coeficiente de partição; e, por fim, difusão do fármaco através do SC (BOUWSTRA *et al.*, 2003; CHIEN, 1987; MINGHETTI *et al.*, 2007; MORGANTI *et al.*, 2001).

As limitações e as dificuldades em cruzar a barreira do SC (Figura 3.2) por várias moléculas podem ser superadas por técnicas específicas (YARIV *et al.*, 2010). Entre as

vias disponíveis para administração de anti-inflamatórios destinados ao controle da dor, se destacam a oral, a parenteral e a tópica. Um dos fatores que asseguram o sucesso da farmacoterapia a adesão do paciente ao tratamento, o que está relacionado, entre outros fatores, à aceitação do medicamento (LEPPERT *et al.*, 2018). Na administração tópica na pele, o fármaco pode agir local ou sistemicamente, consoante a forma farmacêutica e os tipos e quantidades de componentes presentes na mesma. A ação sistêmica de fármacos administrados topicamente é conseguida após passagem do fármaco através de todas as camadas da pele, até a microcirculação e à corrente circulatória. Tal absorção é dita transdérmica, transcutânea ou percutânea. O fármaco administrado topicamente pode, também, alcançar as camadas mais profundas da pele (epiderme e derme), sem chegar na corrente circulatória, exercendo sua ação localmente. Neste caso, o fármaco penetra e permeia entre as camadas, sem ser absorvido (LEPPERT *et al.*, 2018; SCHROEDER *et al.*, 2007).

O estado da arte atual em produtos aprovados pela FDA para entrega de medicamentos tópicos e transdérmicos comumente mostra métodos físicos capazes de comprometer a integridade da barreira da pele. Sonoforese, laser, termoablação, tratamento por radiofrequência e microagulhas são algumas das técnicas aplicadas hoje que se mostraram invasivas e capazes de produzir irritação cutânea em situações específicas. Assim, novos estudos buscam na nanotecnologia formas de superar os limites da administração tópica e transdérmica típica. A taxa de penetração do fármaco na pele pode variar em função de fatores como as propriedades do medicamento (lipofilicidade, massa molecular e carga), o veículo e a forma de dosagem, a técnica de aplicação e o estado da pele (CILURZO *et al.*, 2008; KOŁODZIEJSKA; KOŁODZIEJCZYK, 2018).

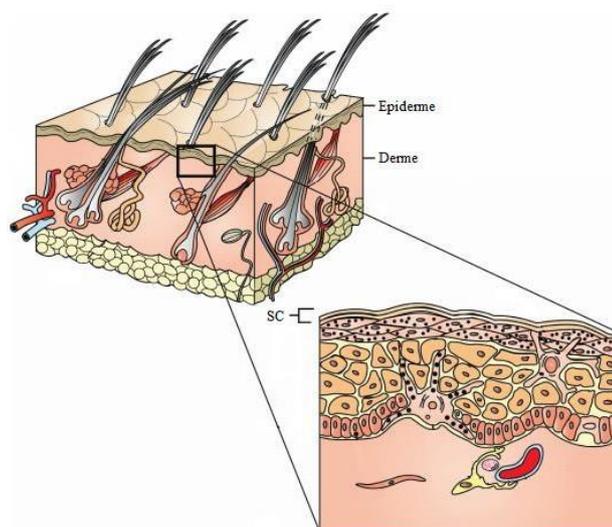


Figura 3.2 – Esquema resumido da pele. Adaptado de Diegel; Danilenko; Wojcinski (2018).

Aplicações repetidas em determinado local para tratamentos prolongados e prevenção de efeitos colaterais nocivos gastrointestinais também se constituem como benefícios da administração tópica. Além disso, é possível aplicar dosagens inferiores do fármaco por esse método, uma vez que não há degradação enzimática química de primeira passagem e metabolismo hepático do fármaco. Essa técnica, contudo, apresenta algumas dificuldades inerentes da aplicação, como a camada do estrato córneo (SC) que se configura como barreira principal ao transporte de fármaco à derme (Figura 3.1). Ademais, a determinação do intervalo de tempo entre a administração e o alcance de concentração terapêutica, definido como *lag-time*, e a possibilidade de desencadeamento de tolerância e/ou resistência também são contratempos deste método de ministração de fármacos (LEPPERT *et al.*, 2018; SILVA, CARINA PORTILHO; PERASSOLO; SUYENAGA, 2010; SCHROEDER *et al.*, 2007).

Dado que as vantagens superam em muito as desvantagens das demais vias, os estudos de liberação tópica e transdérmica prosseguem evoluindo e grandes avanços já podem ser observados. Esta evolução pode ser subdividida em gerações, que se destacam quanto ao foco e método estudado. A primeira geração dedicou-se em adaptar as propriedades físico-

químicas dos fármacos como meio de facilitar a difusão pela pele. Buscando uma nova vertente, a pesquisa de segunda geração focou em melhorar a permeabilidade do fármaco à pele por meio de estimuladores acionados por forças motrizes externas, tais como temperatura, forças mecânicas etc. Deste modo, a liberação de fármacos pôde ser facilmente ativada e desativada, controlando-se estes estímulos externos. Já a terceira geração concentrou-se na pele e adotou métodos que pudessem causar a destruição microscópica da epiderme para favorecer a entrega de drogas, como exemplo as microagulhas. Embora os avanços na administração dessas gerações buscassem maximizar a eficiência da administração de medicamentos, a geração atual mira um ponto a mais, a liberação controlada e induzida por feedback, por meio de sensores e dispositivos eletrônicos capazes de monitorarem e controlarem o tratamento de forma individualizada (LEE *et al.*, 2018).

Uma classe de fármacos de grande interesse para o manejo da dor é a dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). A administração oral de AINES é regularmente associada à efeitos adversos, entre os quais, o desconforto gastrointestinal. Por outro lado, a administração parenteral, especialmente para controle da dor crônica, não é confortável para os pacientes. A administração de AINES por uma via alternativa, como a tópica, é objeto de inúmeros estudos (LEPPERT *et al.*, 2018).

Somente uma pequena porcentagem da dose dos AINES aplicados topicamente alcançam a circulação sistêmica. A ação dos mesmos quando administrados por esta via se deve à grande concentração nas junções dérmicas, exercendo ação anti-inflamatória local (LEPPERT *et al.*, 2018). Esta via agrega inúmeras vantagens para administração de AINES quando comparada à parenteral e oral, pois, é não invasiva, é indolor, é cômoda para o paciente e permite autoadministração, favorecendo a adesão ao tratamento. Do ponto de vista da estabilidade e biodisponibilidade do fármaco, evita o efeito de primeira passagem, reduzindo a degradação e, não desencadeia efeitos gastrointestinais adversos, o que também aumenta o conforto e melhora a adesão ao tratamento (SILVA *et al.*, 2010).

As formas farmacêuticas usualmente empregadas para administração tópica de anti-inflamatórios, visando obtenção de ação local ou sistêmica são as convencionais:

soluções, suspensões, cremes, pomadas, pastas e géis. Adesivos ou patches vêm sendo desenvolvidos com sucesso. Uma forma farmacêutica que vem ganhando destaque para administração tópica, com vistas à liberação local e sistêmica de anti-inflamatórios, é o filme polimérico (KATHE; KATHPALIA, 2017; SCHROEDER *et al.*, 2007).

3.3 Nanotecnologia

A nanotecnologia é um campo multidisciplinar que vem ganhando notoriedade dentro do contexto dos biomateriais devido seu enorme potencial de desenvolvimento de novos materiais com aplicações avançadas. A superfície destes nanomateriais promove um comportamento mecânico, químico e biológico interessante e distinto dos macromateriais, o que torna seu desempenho rentável e singular. Em função da vasta empregabilidade, a nanomedicina constitui-se como um ramo de destaque dentro da nanotecnologia (EMERICH; THANOS, 2003; SUBBIAH *et al.*, 2005).

As aplicações da nanotecnologia dentro da medicina se estendem de nanorrobôs para eliminação de patógenos a biossensores e sistemas de liberação controlada de fármacos. Em suma, a nanotecnologia está abrindo espaço para novas oportunidades terapêuticas que se contrapõem às formulações convencionais na tentativa de superar obstáculos impostos pelos tratamentos tradicionais. Lipossomas, micelas poliméricas, nanofibras dentre outros materiais nanoestruturados têm provocado grande interesse neste cenário de investigação de sistemas de distribuição não-convencionais na última década (EMERICH; THANOS, 2003; HU *et al.*, 2014).

As nanofibras poliméricas, emergente dessa nova era nanotecnológica, têm atraído especial atenção nas últimas décadas, em virtude de características únicas como elevada área superficial e porosidade, encontrando aplicações em filtros, nanosensores, engenharia de tecidos e dispositivos para liberação controlada de fármacos e agentes como proteínas, DNA e RNA (HU *et al.*, 2014; PAUL; ROBESON, 2008; SUBBIAH *et al.*, 2005; SUN *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2005).

No que se refere a entrega sustentada de fármacos, as nanofibras têm recebido atenção especial devido às vantagens como a fácil modulação do perfil de liberação do fármaco, por meio do controle da morfologia, porosidade, composição química das fibras e até mesmo da técnica de produção e sua configuração (GIL-CASTELL *et al.*, 2020; THAKKAR; MISRA, 2017). Extrusão, rotofiação e separação de fases são algumas das técnicas existentes para obtenção de nanofibras. A eletrofiação, em comparação com outras técnicas, destaca-se por se caracterizar como um procedimento simples, seguro e com elevado custo-benefício, apresentando, ainda, vasta flexibilidade na seleção de materiais e fármacos, bem como alta eficiência de encapsulação para dispositivos de liberação controlada. Além disso, essa técnica permite a produção de nanofibras a partir de diversos polímeros e misturas de polímeros. Esta última (misturas) é capaz de criar materiais biocompatíveis inovadores com propriedades mecânicas adequadas para aplicações biomédicas. Nos últimos anos foram realizadas diversas modificações no procedimento básico e a eletrofiação coaxial surgiu nessa conjuntura como uma maneira de refinar as propriedades mecânicas, controlar a degradação do material, entre outros propósitos (GARG; BOWLIN, 2011; KHATTI; NADERI-MANESH; KALANTAR, 2019).

O processo de eletrofiação foi patenteado em 1934, mas foi especialmente na década de 1990 que uso da tecnologia passou a ter mais destaque, sendo amplamente utilizado como meio de obter nanofibras para várias aplicações, como engenharia de tecidos ou liberação controlada de fármacos. Os *scaffolds* produzidos a partir desta técnica possuem propriedades singulares, que tornam sua aplicação na biomedicina extremamente atraente. A porosidade das mantas, por exemplo, é grande aliada na adesão e conseqüentemente proliferação celular e no transporte de nutrientes, podendo facilitar, também, a difusão dos fármacos fixados na matriz polimérica. Ademais, essas mantas são capazes de mimetizarem a matriz extracelular nativa (MEC), tornando-as ainda mais interessantes para aplicações no campo da engenharia de tecidos e em cicatrização de feridas (MWIIRI; DANIELS, 2020).

O fármaco ou outros agentes terapêuticos podem ser incorporados nas nanofibras eletrofiadas por: eletrofiação coaxial, eletrofiação de mistura, imobilização química, adsorção

física e eletrofiação de emulsão, como é esquematizado na Figura 3.3. Dessa forma, é possível obter quatro prováveis modos do fármaco nas nanoestruturas resultantes (GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2014), podendo estes estarem ligados à superfície da fibra ou encapsulados no núcleo da fibra. A escolha da técnica, entretanto depende de fatores como: aplicação e taxa de liberação desejada, propriedades físico-químicas do fármaco bem como características dos polímeros (MWIIRI; DANIELS, 2020).

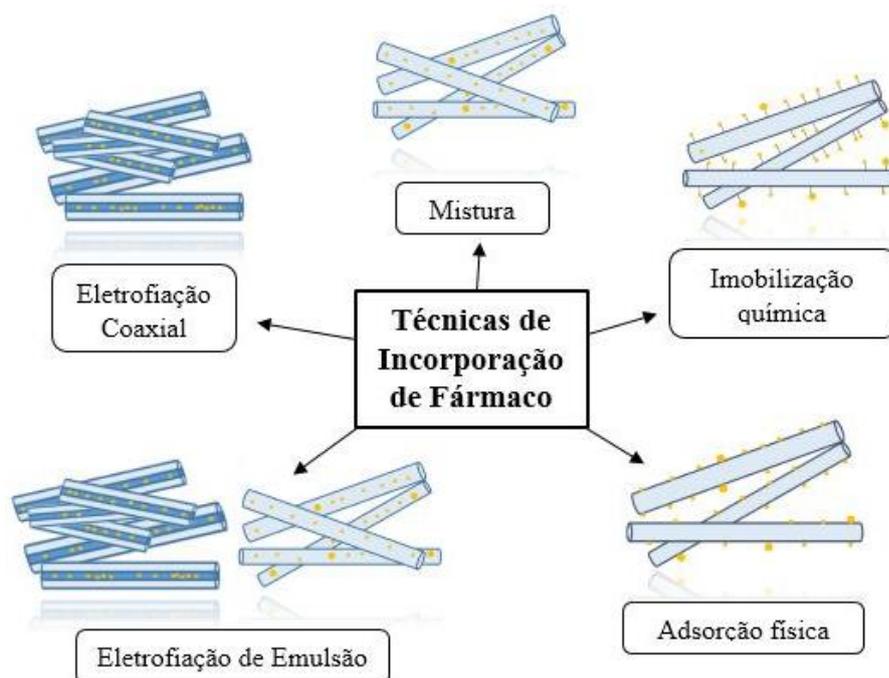


Figura 3.3 – Esquema das técnicas de incorporação de fármaco nas nanofibras. Adaptado de Goonoo; Bhaw-Luximon; Jhurry (2014).

3.3.1 Nanofibras

A configuração típica da eletrofiação inclui uma fonte de alta tensão, uma bomba de vazão, seringa contendo a solução polimérica (contendo ou não o fármaco) e um coletor (Figura 3.4). O processo consiste em três estágios principais: iniciação do jato, alongamento do jato seguido pela consolidação dos jatos para formar nanofibras. A técnica fundamenta-se na geração de um campo elétrico a partir da aplicação de alta tensão, assim a gota pendente na ponta da seringa é estirada, produzindo o cone de Taylor. Em síntese, a aplicação do campo elétrico resulta na indução de carga na superfície da

gota, resultando no alongamento do jato, formando, assim, o cone de Taylor. Neste momento, atua um balanço de forças: força gravitacional, tensão aplicada pelo campo elétrico, tensão superficial e uma força oposta a tensão elétrica normal. Assim, quando a força de repulsão da carga excede a tensão superficial, o jato líquido é ejetado da ponta do cone de Taylor em direção ao anteparo metálico. Conforme o jato viaja, ele se alonga antes de atingir o coletor e, em seu caminho, o solvente evapora, depositando sobre o coletor fibras não tecidas (GARG; BOWLIN, 2011; GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2014; GOYAL *et al.*, 2016; SIGMUND *et al.*, 2006).

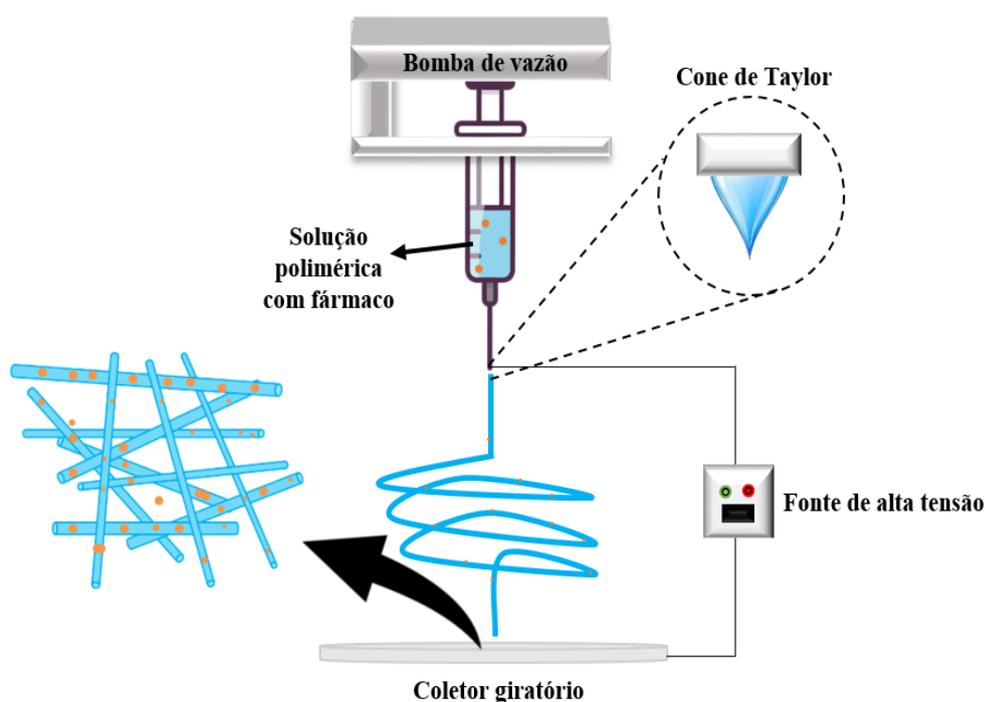


Figura 3.4 – Esquema da eletrospiação. Adaptado de Li; Zhao; Song (2010).

Existe uma série de outros parâmetros e condições, além da massa molar do polímero, que influencia a formação e o aspecto do material nanoestrutural resultante. Parâmetros de solução (viscosidade, tensão superficial e condutividade elétrica), do processo (vazão da solução, temperatura, tensão (elétrica) aplicada, coletor, diâmetro da agulha e distância de trabalho) e do ambiente (umidade, temperatura do ambiente e composição da atmosfera) devem ser bem administrados na tentativa de se obter melhor controle sobre o aspecto das nanofibras (DEITZEL *et al.*, 2001; HU *et al.*, 2014; HUANG *et al.*, 2003; LI; XIA, 2004).

A presença de interações intermoleculares bem como sua densidade são fatores essenciais para realização do procedimento, uma vez que abaixo do valor crítico, o jato se rompe devido à baixa resistência ao campo eletrostático. Esse fenômeno, também conhecido como instabilidade de Rayleigh, é responsável pela formação de fibras com aspecto frisado ou formação de gotas no anteparo. Em resumo, a área superficial do jato tende a aumentar devido à repulsão eletrostática das cargas, enquanto a tensão superficial tende a reduzi-la, resultando, assim, na instabilidade. Em geral, polímeros com elevada massa molar tendem a ser mais eficientes quando submetidos ao processo, no entanto, essa condição não é um fator determinante. A estabilidade do cone não está relacionada apenas à viscosidade e concentração da solução, como também às propriedades físico-químicas do solvente. Por exemplo, se a viscosidade do fluido for alta, o diâmetro do jato diminuirá continuamente até que seja depositado no coletor. Por outro lado, se o fluido tiver baixa viscosidade, o jato tenderá a se fragmentar em gotículas, resultando na eletropulverização da solução, uma vez que não será capaz de resistir à instabilidade de Rayleigh (DEITZEL *et al.*, 2001; GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2014; HU *et al.*, 2014; LI; ZHAO; SONG, 2010).

Nesse sentido, a concentração na qual é possível se obter nanofibras é um balanço dos efeitos da viscosidade e tensão superficial do polímero. A gota eletrostaticamente carregada é mantida na ponta da agulha em virtude da tensão superficial, no entanto, elevadas concentrações impedem a formação dessa gota, e o cone de Taylor, portanto, não é gerado, conseqüentemente a nanofibra não é formada. Dessa maneira, existe uma concentração mínima em que se tem a formação dos emaranhados e máxima na qual essa não prevalece sobre o efeito da tensão superficial. Ademais, a concentração também possui efeito sobre o diâmetro das nanofibras, visto que o aumento da concentração tende a aumentar o diâmetro da fibra formada (LI, 2013; SUBBIAH *et al.*, 2005).

A viscosidade, portanto, possui estreita relação com o diâmetro da fibra, visto que o aumento desta amplifica a intensidade da força viscoelástica que se opõe a coulomb, aumentando, assim, o diâmetro. O aumento crescente da viscosidade acima de um valor crítico, dificulta a ejeção do fluxo, visto que o cisalhamento entre a solução e a parede da agulha aumenta consideravelmente (LI, 2013).

O processo de eletrofiação envolve a separação de fases em virtude do afinamento do jato e evaporação do solvente durante a trajetória entre a agulha e anteparo. Dessa forma, a pressão de vapor do solvente terá efeito sobre a taxa de evaporação e o tempo de secagem, desempenhando papel fundamental na formação das nanofibras, bem como influenciando o processo de separação de fases. O tipo de solvente usado pode ter efeito, ainda, sobre a estrutura resultante. Vale ressaltar que a distância de trabalho é também função importante neste panorama, visto que deve ser suficiente para que o processo de evaporação do solvente ocorra por completo. Além disso, a distância de trabalho também possui influência no diâmetro das nanofibras obtidas, como já foi reportado na literatura (LI, 2013; SUBBIAH *et al.*, 2005). A vazão da solução também está intimamente relacionada com as dimensões das nanofibras. De modo geral, o aumento da taxa de alimentação aumenta o diâmetro final (HUANG *et al.*, 2003; LI, 2013).

A seleção do solvente a ser usado no processo pode ser realizada levando-se em consideração os parâmetros de solubilidade de Hansen, que buscam prever as propriedades do material, como afinidade e habilidade de solubilização do polímero, bem como eficiência de encapsulamento de fármacos. A temperatura e o grau de polimerização também terão grande influência sobre a dissolução de um determinado polímero (MWIIRI; DANIELS, 2020).

Não apenas responsável pela geração do campo elétrico, a aplicação da tensão (elétrica), bem como sua intensidade também tem efeitos sobre as nanoestruturas obtidas. Em geral, maiores voltagens resultam na maior alongação da solução em razão da acentuação das forças eletrostáticas, reduzindo, assim, o diâmetro das nanofibras. Ademais, para soluções altamente condutoras, o aumento da tensão (elétrica) aplicada produz fluxos instáveis, formando fibras com distribuição mais amplas de diâmetro. Em baixas voltagens não raro tem-se o gotejamento da solução e conseqüente intermitência do jato (LI; ZHAO; SONG, 2010; LI, 2013; SUBBIAH *et al.*, 2005).

3.4 Polímeros Naturais

Os polímeros naturais são considerados candidatos atrativos na atualidade, pois combinam propriedades biológicas e físicas únicas, incluindo a biocompatibilidade e capacidade de mimetizar a matriz extracelular. Além disso, possuem propriedades mecânicas ajustáveis, tais como os níveis de inchaço e taxa de degradação (HUANG *et al.*, 2004; ZHAO *et al.*, 2016).

Entre os polímeros naturais, o colágeno é altamente popular, pois é o principal componente da membrana basal. Possui, no entanto, algumas limitações que incluem baixas propriedades mecânicas, elevada taxa de degradação e potenciais toxicidades oriundas dos agentes químicos de reticulação (ZHAO *et al.*, 2016).

Como alternativa ao colágeno, a gelatina (Ge) (Figura 3.5) (proteína natural resultante da hidrólise parcial do colágeno) tem atraído atenção crescente, visto que dispõe de baixo custo, alergenicidade e viscosidade em solução aquosa. Apresenta, ainda, propriedades emulsificantes e estabilizantes, além de características como odor neutro e transparência que viabiliza inúmeras aplicações (SOUZA, 2016).

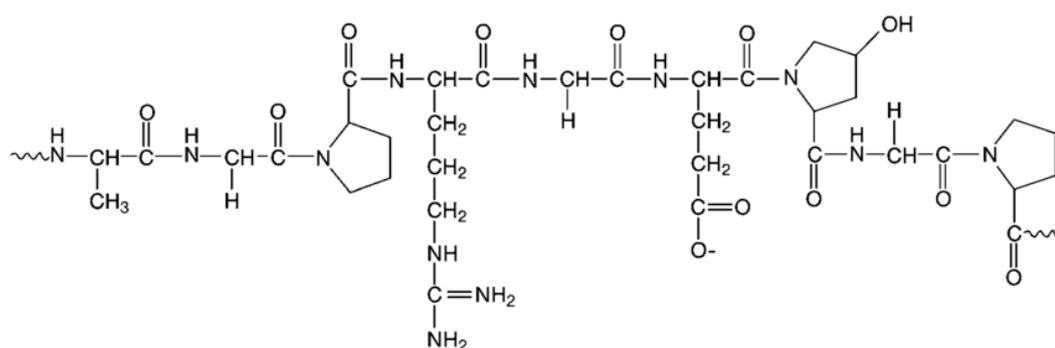


Figura 3.5 – Exemplo de segmento da Gelatina (KOMMAREDDY; SHENOY; AMIJI, 2005).

A gelatina, em função de seus inúmeros benefícios e de sua capacidade de ser eletrofiada, tem sido amplamente empregada no campo farmacêutico: curativos para cicatrização de feridas, biomimetização em *scaffold* para engenharia de tecidos, liberação controlada de fármacos, dentre outros dispositivos biomédicos. No entanto, a estrutura da gelatina é

solúvel em água e mecanicamente pobre, podendo restringir ou mesmo limitar seu uso em algumas aplicações. Uma forma de contornar este fator é combinar a gelatina com outro polímero, através da geração de blendas (HUANG *et al.*, 2004; ZHANG *et al.*, 2006).

As blendas são capazes de criar materiais inovadores, com propriedades únicas e otimizadas. A combinação da gelatina com inúmeros polímeros para a formação de nanofibras é alvo de diversos estudos nos últimos anos, que buscam criar materiais ideais para aplicações biomédicas (GOYAL *et al.*, 2016). Meng *et al.* (2010) produziram *scaffolds* de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) e PLGA/gelatina e verificaram que a mistura de PLGA com a Ge aumentou a hidrofiliabilidade, diminuiu o diâmetro médio das fibras e as propriedades mecânicas dos *scaffolds*. Os resultados da cultura de células, alinhado aos demais, indicaram potencial aplicação da estrutura na regeneração óssea. Em outro trabalho, Meng *et al.* (2011) também combinaram PLGA com a Ge com o intuito de atender a uma nova vertente: liberação controlada. Neste estudo, febufem foi incorporado nas estruturas nanofibrosas e avaliou-se a liberação em função da influência do conteúdo de Ge, bem como do tempo de reticulação. Dhandayuthapani; Krishnan e Sethuraman (2010), visando obter *scaffolds* para engenharia de tecidos, produziram nanofibras de quitosana/Ge e avaliaram os aspectos relacionados a essa combinação. Observaram que a resistência à tração das nanofibras quitosana/Ge era significativamente maior do que as nanofibras de Ge, sendo, ainda, comparável à da pele humana. Concluíram, assim, que o novo sistema apresentava ter potencial aplicação na regeneração de pele. Em um trabalho mais recente, Deng *et al.* (2018) desenvolveram nanofibras de Ge/zeína por eletrospinning e avaliaram a compatibilidade dessa mistura. Resultados indicaram interação entre os componentes e os testes mecânicos evidenciaram que a mistura deu origem a um alongamento na ruptura muito maior, indicando elevadas capacidade de deformação e flexibilidade.

Dentre as inúmeras combinações possíveis, a mistura da Ge com o PCL tem adquirido especial destaque neste cenário. Visando aplicação na engenharia de tecidos, Ghasemi-Mobarakeh *et al.* (2008) produziram *scaffolds* de Ge/PCL e os resultados indicaram que a combinação aumentou a diferenciação e proliferação de células nervosas em

comparação às nanofibras de PCL, provando ser um biomaterial promissor e adequado para regeneração nervosa. Ainda no campo de regeneração, *scaffolds* de Ge/PCL foram desenvolvidos por Kuppam, Sethuraman e Krishna (2013) com o objetivo de regenerar tecidos do esôfago, decorrente de doenças que comumente requerem intervenção cirúrgica. Os resultados demonstraram que as células epiteliais aderiram e proliferaram mais na estrutura nanofibrosa de Ge/PCL quando comparado com as nanofibras de PCL puro. Ren *et al.* (2017) desenvolveram membranas de regeneração óssea guiada baseadas em nanofibras de Ge/PCL, seguida de reticulação com genipina. Os testes mecânicos mostraram que essas nanofibras exibiam propriedades de tração e resistência adequadas para a engenharia de tecido ósseo e as caracterizações de osteogênese *in vitro*, indicaram que as nanofibras podem promover a formação óssea. Yuelong *et al.* (2018) incorporam icariin nas nanofibras de Ge/PCL, visando a liberação controlada desse fármaco com o intuito de evitar complicações clínicas graves decorrentes da adesão epidural após uma laminectomia bem-sucedida. As membranas carregadas com icariin exibiram um perfil de liberação sustentado que poderia prevenir significativamente a adesão e proliferação de fibroblastos. Ademais, estudos *in vivo* demonstraram que estas membranas reduziram efetivamente a adesão epidural. Dando continuidade às combinações eletrofiadas Ge/PCL, a pesquisa de GOUDARZI *et al.* (2020) teve como objetivo explorar a incorporação de nanofibras de celulose nas blendas Ge/PCL. A adição de nanofibras de celulose levou à redução da deformação da estrutura além de reduzir a taxa de degradação das blendas. Ajamal *et al.* (2019) desenvolveram nanofibras de Ge/PCL carregadas com cloridrato de ciprofloxacina e quercetina, visando potencial aplicação como curativo antibacteriano e antioxidante para a cicatrização acelerada de ferida. Os resultados confirmaram a efetiva aplicação direta da estrutura na área ferida. Além disso, observaram o fechamento completo da ferida de espessura total em 16 dias.

3.5 Policaprolactona

A policaprolactona (PCL) (Figura 3.6) pode ser obtida a partir de duas rotas principais, bastante descritas na literatura. A primeira via consiste na policondensação do ácido 6-hidroxihexanoico, enquanto que a segunda estaria associada à polimerização de abertura do anel da ϵ -caprolactona (ϵ -CL) (LABET; THIELEMANS, 2009).

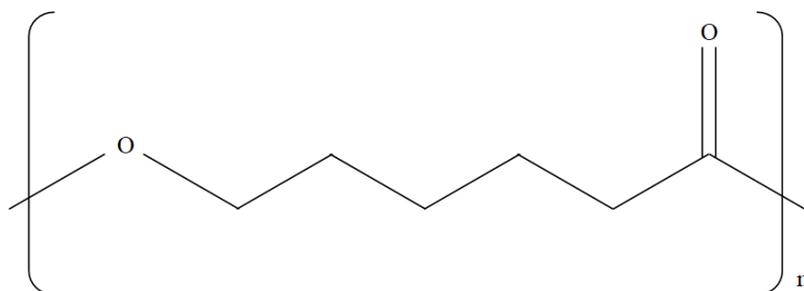


Figura 3.6 – Representação do PCL. Adaptado de Kogikoski *et al.* (2017).

Aprovado pela *Food and Drug Administrations* (FDA), o PCL é utilizado em inúmeras aplicações biomédicas devido sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (KARUPPUSWAMY *et al.*, 2015), que ocorre em detrimento da suscetibilidade da função éster à hidrólise. Os produtos deste processo de degradação são metabolizados ou diretamente eliminados por excreção renal. A aplicação do PCL em alguns campos, no entanto, pode ser limitada, visto que a cinética de degradação e reabsorção é significativamente mais lenta se comparada a outros poliésteres alifáticos. Esta característica se deve, principalmente, ao caráter hidrofóbico e à alta cristalinidade que apresenta (KWEON *et al.*, 2003).

Outras características como estabilidade química e térmica, boa miscibilidade em outros polímeros, propriedades mecânicas e compatibilidade com os tecidos asseguraram ao PCL um patamar de destaque em diversos estudos e diferentes aplicações. Dentre os empregos tradicionais, destaca-se os sistemas de administração de medicamentos e suturas reabsorvíveis (KARUPPUSWAMY *et al.*, 2015). O uso deste polímero, todavia, tem-se ampliado e estudos mais recentes visam a confecção de *scaffolds* para regeneração de ossos danificados pela osteoporose, por exemplo (GÓMEZ-CEREZO *et al.*, 2019).

O PCL é um polímero hidrofóbico com alto grau de cristalinidade, como resultado possui cinética de degradação e reabsorção do PCL consideravelmente lenta, limitando seu emprego em determinadas aplicações (KWEON *et al.*, 2003). A mistura do PCL com outro polímero pode ser, portanto, uma estratégia interessante e eficiente para contornar

essas adversidades. A incorporação da gelatina ao polímero, por exemplo, pode aumentar a taxa de degradação do mesmo e melhorar o perfil de liberação do fármaco (MONDAL; GRIFFITH; VENKATRAMAN, 2016).

A taxa de degradação do PCL está intimamente relacionada ao grau de cristalinidade, peso molecular e às condições de degradação. No corpo humano (ou animal), por exemplo, não há enzimas capazes de promover a degradação do PCL, no entanto, por possuir ligações éster hidrolisáveis, pode ser degradado por microrganismos ou mesmo em condições *in vitro* abióticas. Em resumo, a degradação do PCL em meio aquoso pode ser descrita em duas etapas. Em um primeiro momento ocorre a difusão de água nas regiões amorfas e cisão hidrolítica das ligações ésteres, resultando em redução de massa molar (com o conseqüentemente aumento da cristalinidade), seguida de redução de massa. Uma vez degradada grande parte das regiões amorfas, tem-se o início da segunda etapa que consiste na degradação hidrolítica dos domínios cristalinos (MONDAL; GRIFFITH; VENKATRAMAN, 2016).

3.6 Anti-inflamatórios não esteroides e o diclofenaco de potássio

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) atuam na enzima ciclooxigenase (COX) por diferentes formas e mecanismos, diminuindo a inflamação e aliviando a dor em condições específicas (ÇEBI *et al.*, 2018; MOORE *et al.*, 2019). O diclofenaco (ácido 2-[2,6-dicloranilino] fenilacético) é um AINE disponível nas formas de sódio, potássio, sódio/misoprostol, dietilamina e hidroxietilpirrolidina. Esses medicamentos atuam como inibidores de COX, controlando a dor e a inflamação em pacientes que sofrem de dor crônica, doenças reumatóides como artrite, lúpus, espondilite anquilosante, dor pós-operatória (ATZENI; MASALA; SARZI-PUTTINI, 2018; ÇEBI *et al.*, 2018; CILURZO *et al.*, 2008; KOŁODZIEJSKA; KOŁODZIEJCZYK, 2018) dor de cabeça (AFFAITATI *et al.*, 2016) etc. As formas comerciais mais comuns são o diclofenaco de sódio (DS), indicado no tratamento de doenças reumatóides e o diclofenaco de potássio (DP), recomendado para o tratamento que requer ação de início rápido, devido às suas propriedades analgésicas e à dissolução e absorção mais rápidas em comparação ao sal

sódico. Embora apresentem diferenças nas propriedades, estudos indicam que ambas são semelhantes em termos de farmacocinética (BARROS *et al.*, 2015).

O diclofenaco de potássio (Figura 3.7) é um AINE com efeitos antipirético, analgésico e antirreumático, comumente aplicado no tratamento de artrite reumatoide e osteoartrite, bem como no alívio de dor em casos de pós-operatório e pós-traumático, inflamações e edemas (DAVIES; ANDERSEN, 1997; LEÓN-REYES; CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ; ORTIZ, 2009). Caracteriza-se por ser um pó cristalino branco, ligeiramente higroscópico e solúvel em água, apresentando boa solubilidade em metanol e etanol (SILVA; RUFINO; NERY, 2018).

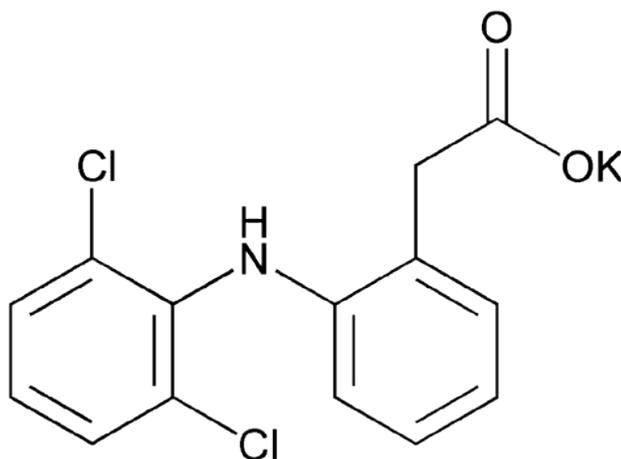


Figura 3.7 – Representação do diclofenaco de potássio (DUNGARANI *et al.*, 2013).

O controle da dor pós-operatória é uma questão essencial e possui grande influência no êxito da recuperação do paciente cirúrgico, visto que o tratamento inadequado da dor pode levar a alterações fisiológicas que podem prolongar ou complicar o período de recuperação pós-operatória. Função muscular restrita, aumento da pressão arterial e do consumo de oxigênio do miocárdio, entre outros problemas clínicos como trombose venosa, embolia pulmonar e isquemia coronária são alguns dos efeitos indesejáveis que podem surgir diante de um mau gerenciamento da dor pós-operatória. Em contraste, o controle da dor pode resultar em um pós-operatório menos complicado, alta hospitalar precoce, diminuição da utilização de recursos e menores custos diretos e indiretos. O

diclofenaco é um dos AINEs mais comumente utilizados nessas situações. Embora a administração oral seja escolha comum, esta pode se tornar impraticável em algumas situações, sobretudo em função da elevada degradação enzimática química de primeira passagem e metabolismo hepático do fármaco. A aplicação parenteral também apresenta adversidades, além de ser muito dolorosa, assim, novas rotas de entrega de drogas estão sendo estudadas com o objetivo de tentar bloquear a dor em locais periféricos e o tratamento tópico (ou transdérmico) surge como resultado satisfatório neste cenário (ALESSANDRI *et al.*, 2006; BHARGAVA *et al.*, 2015).

O envelhecimento populacional é uma questão crítica muito debatida nos últimos anos. A melhora do bem-estar do indivíduo, sob perspectiva geral, aumentou a expectativa de vida da população, instaurando alguns contratempos, dentre eles a manutenção da qualidade de vida dos idosos. Projeções das Nações Unidas no Brasil estipulam que a população mundial de idosos será numerosa, alcançando 2 bilhões de indivíduos até 2050 (SOUZA *et al.*, 2017). Nessa perspectiva, as doenças reumatológicas surgem como uma das grandes preocupações do novo século. A artrite reumatoide afeta, atualmente, cerca de 1 % da população mundial, com elevada incidência em idosos. É uma doença inflamatória sistêmica responsável pelo comprometimento das articulações comumente tratada com diclofenaco e repercute negativamente sobre a capacidade funcional e autonomia do paciente. “As deformidades físicas e a dor prejudicam a realização de atividades profissionais, sociais e de vida diária, afetando a qualidade de vida, a saúde mental e aumentando os riscos de mudanças negativas nos parâmetros psicológicos” (NAGAYOSHI *et al.*, 2018).

A inflamação é uma reação do organismo frente a uma agressão, como infecção ou lesão tecidual. O processo inflamatório envolve uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido lesionado, no qual atuam uma série de mediadores químicos (prostaglandinas, cininas, histamina etc.) em colaboração sinérgica com componentes do complemento (citocinas, plaquetas etc.) (KUMMER; COELHO, 2002; WALKER, 2018). Os AINEs atuam, portanto, inibindo reversivelmente a COX e, conseqüentemente, a síntese de prostaglandinas, que juntamente com outros mediadores químicos, gerenciam a resposta inflamatória (MOORE *et al.*, 2019). Sabe-se que assim como os demais AINEs,

o diclofenaco atua na inibição da síntese de prostaglandinas, gerenciando, assim, o processo inflamatório.

Alguns estudos sugerem, no entanto, que este não seria o único mecanismo de atuação. A antinocicepção induzida pelo diclofenaco também poderia ser resultado da modulação de alguns canais de K^+ em nível sistêmico (ATZENI; MASALA; SARZI-PUTTINI, 2018; LEÓN-REYES; CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ; ORTIZ, 2009). Alguns pesquisadores relataram que, mesmo em uma dosagem baixa, o DP é um analgésico muito eficaz (XU *et al.*, 2017). No entanto, a meia-vida biológica do DP é curta, cerca de 1-2 horas, e dependendo da via de administração é necessário administrá-lo com maior frequência doses para induzir a atividade terapêutica necessária (BALDE *et al.*, 2020).

Os benefícios muito bem conhecidos dos AINEs, como alívio da dor (e febre) e redução da inflamação, não devem ser considerados isoladamente. Existem alguns problemas associados ao uso dos AINEs que se tornaram alvo de grande preocupação. Dentre eles, destacam-se algumas reações adversas que podem ocorrer, tais como toxicidade gastrointestinal, hepatotoxicidade, insuficiência renal entre outros (DAVIES; ANDERSEN, 1997; MOORE *et al.*, 2019). Essas adversidades como desconforto gastrointestinal e disfunção renal estão comumente relacionadas à administração oral convencional de AINEs. No entanto, os efeitos da administração tópica de AINEs atingem um baixo percentual dos pacientes tratados, que geralmente apresentam erupção cutânea leve e coceira no local da aplicação (KOŁODZIEJSKA; KOŁODZIEJCZYK, 2018). Assim, as vias de administração tópica e transdérmica de DP surgem como uma alternativa para superar as limitações impostas pela via oral (VIJAYAKUMAR; SATHALI; ARUN, 2010) e melhorar a adesão do paciente (ZHANG *et al.*, 2014). Embora os efeitos da aplicação tópica do diclofenaco não sejam totalmente compreendidos, alguns estudos indicam que altas concentrações da droga no tecido podem atuar bloqueando os canais de sódio, resultando em efeito analgésico local (KOŁODZIEJSKA; KOŁODZIEJCZYK, 2018).

Diversas tecnologias de liberação de fármaco têm sido propostas, especificamente com base em nanopartículas e nanofibras, para melhorar as aplicações transdérmicas (GOYAL

et al., 2016; LARRAÑETA *et al.*, 2016; MITRAGOTRI, 2017). Vijayakumar; Sathali; Arun (2010) desenvolveram nanovesículas elásticas baseadas em fosfolipídios (etosomas) para entrega transdérmica de moléculas. O estudo confirmou que os etosomas são transportadores muito promissores de DP, apresentando boa capacidade de carga e ação anti-inflamatória eficiente. Nanofibras eletrofiadas de carboximetilcelulose misturadas com poli(álcool vinílico) (PVA) e carregadas com DS foram produzidas e analisadas por El-Newehy *et al.* (2016) e apresentaram uma liberação controlada sustentada, bem como biocompatibilidade de mistura e baixo custo. (Ghalei; Asadi e Ghalei (2018) produziram um curativo bioativo de PVA e nanopartículas de zeína carregadas com diclofenaco por método de eletrofiação que teria aplicações potenciais como um sistema de liberação de droga tópica. Mendes *et al.* (2016) estudaram nanofibras híbridas de quitosana e fosfolipídios como plataformas para a liberação transdérmica de curcumina, diclofenaco e vitamina B12, enquanto o estudo desenvolvido por Alqahtani *et al.* (2019) objetivou preparar material antibacteriano não antibiótico de nanopartículas de quitosana carregadas com DS. Arias *et al.* (2009) criou um nanocompósito a partir de diclofenaco de sódio carregado com partículas magnéticas, composto por um núcleo magnético (ferro) e um invólucro polimérico biocompatível (etilcelulose) para administração parenteral. As nanopartículas apresentaram características como alta carga do fármaco e liberação prolongada do fármaco.

3.7 Cinética de Liberação de Fármacos

Os mecanismos gerais de liberação de fármaco a partir de matrizes poliméricas podem envolver os processos de difusão, desorção, degradação e intumescimento. A ocorrência destes processos está intimamente relacionada às características do polímero que compõe a matriz e, no caso particular de nanofibras, da geometria e diâmetro. Fibras de menor diâmetro, por exemplo, tendem a apresentar uma liberação inicial mais acelerada (“*burst*”) quando comparadas àquelas com diâmetros maiores (MWIIRI; DANIELS, 2020). Esse fenômeno pode estar relacionado ao fato que menores diâmetros implicam em uma maior área superficial, aumentando, deste modo, a penetração e a exposição da água, beneficiando, assim, o transporte do fármaco (GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2014).

A difusão do fármaco e/ou erosão da matriz são fenômenos típicos do processo de liberação de fármaco a partir de um polímero hidrofílico em meio aquoso. Neste caso, o ambiente propicia a transição do estado vítreo do polímero para gel, estimulando o inchaço da matriz polimérica e favorecendo o transporte do fármaco através da rede gel dilatada para o meio (Figura 3.8) (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; NAGARAJAN *et al.*, 2019).

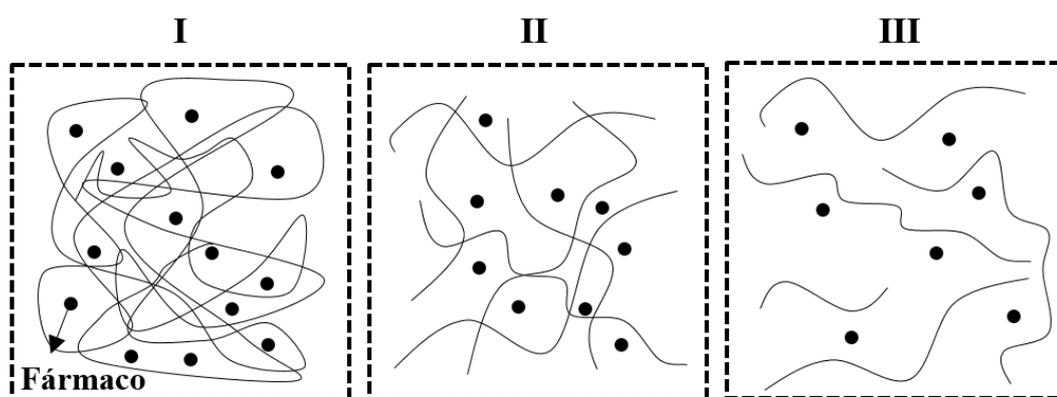


Figura 3.8 – Processo de intumescimento e liberação do fármaco a partir de uma matriz polimérica hidrofílica e sua configuração macromolecular em diferentes etapas. Adaptado de Lopes; Lobo; Costa (2005) e Narasimhan; Peppas (1997).

Antes da dissolução, como cadeias estão compactadas e integradas, há uma maior concentração do fármaco na matriz (Etapa I), com o tempo tem-se um aumento da interação água-polímero, mas ainda se observa a presença de algumas interações entre cadeias. Neste momento, tem-se um estado semidiluído do sistema (Etapa II). Por fim, no sistema diluído, as cadeias estão completamente dispersas, completando, assim, o transporte do medicamento para o meio (Etapa III). A taxa de liberação, portanto, dependerá do grau de intumescimento e da difusão do medicamento através da rede intumescida. No caso de polímeros com baixa ou nenhuma capacidade de intumescimento, a administração estará relacionada a degradabilidade deste material. Para polímeros degradáveis, a liberação é impulsionada pela erosão da superfície da matriz, enquanto que para os não degradáveis, o transporte do medicamento é controlado

pela difusão deste através da estrutura polimérica (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; NAGARAJAN *et al.*, 2019).

A degradação de materiais pode ser um fator preocupante em inúmeros empregos, uma vez que pode afetar significativamente o desempenho de determinados dispositivos. Para aplicações envolvendo liberação de fármacos, no entanto, este cenário é diferente. A degradação passa a ser fundamental e deve ser ajustada considerando a finalidade desejada e possíveis adversidades causadas pelos produtos de degradação. Hidrólise, oxidação, degradação enzimática e física são os principais mecanismos de degradação dos dispositivos biomédicos poliméricos. Polímeros como poliésteres, por exemplo, degradam-se principalmente por hidrólise (GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2014).

A análise da cinética de liberação torna-se fundamental para o entendimento do mecanismo de liberação dos agentes farmacêuticos (PEPPAS; NARASIMHAN, 2014). Existem vários modelos cinéticos que descrevem a liberação de fármacos *in vitro* na tentativa de prever o desempenho biológico *in vivo*. Existem três diferentes macro-abordagens para investigação da cinética de liberação, que são elas: estatística (método exploratório de análise de dados, análise de medidas repetidas, abordagem multivariada), modelo-dependente (ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson Crowell, Baker-Lonsdale, Weibull, etc.), por fim, métodos independentes do modelo (fator de diferença, fator de similaridade) (DASH *et al.*, 2010).

Dentre os métodos de avaliação da cinética de liberação, vale descartar alguns, entre eles, o primeiro modelo, também conhecido como cinética de ordem zero equação (3.1) que se fundamenta na liberação lenta do agente a partir de suportes que não apresentam características biodegradáveis. Os modelos cinéticos de primeira ordem equação (3.2) e de Hixson-Crowell equação (3.3), também são comumente utilizados para descrever a liberação de medicamentos. Já o modelo de Higuchi equação (3.4) é geralmente usado para descrever a velocidade liberação a partir de um sistema matricial (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

$$f_t = K_0 t \quad (3.1)$$

$$\log Q_t = \log Q_0 + \frac{K_1 t}{2.303} \quad (3.2)$$

$$(1 - f_t)^{1/3} = 1 - K_\beta t \quad (3.3)$$

$$f_t = K_H t^{1/2} \quad (3.4)$$

Em que f_t e Q_t representa, respectivamente, a fração e a quantidade de fármaco dissolvido no tempo t . K_0 , K_1 , K_β e K_H é a constante de liberação dos modelos ordem zero, primeira ordem, Hixson-Crowell e Higuchi. Q_0 é a quantidade inicial de fármaco na solução (COSTA; LOBO, 2001).

Korsmeyer *et al.* (1983) também desenvolveram uma relação simples para descrever a liberação do fármaco a partir de um sistema polimérico, modelo de Korsmeyer-Peppas equação (3.5):

$$f_t = at^n \quad (3.5)$$

Onde f_t corresponde à porcentagem de fármaco liberado em função do tempo t , a é uma constante relacionada às características estruturais e geométricas da matriz de liberação e n é o expoente de liberação (KORSMEYER *et al.*, 1983).

Esta equação de Korsmeyer *et al.* (1983) descreve a liberação do agente quando há combinação dos mecanismos de transporte Fickiano e não-Fickiano. O transporte Fickiano está relacionado à difusão do fármaco devido ao gradiente químico, enquanto que o não-Fickiano, também conhecido como transporte Caso-II, é consequência do intumescimento e relaxamento das cadeias poliméricas que incham em bons solventes. Esse método é comumente utilizado para avaliar o mecanismo liberação quando não se tem conhecimento específico sobre o tipo de transporte que prevalece no sistema (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; SINGHVI; SINGH, 2011).

O expoente n , dependente da geometria do dispositivo, determina o tipo de mecanismo de liberação que prevalecerá no sistema (PEPPAS; NARASIMHAN, 2014). Em síntese, valores menores de n indicam predomínio do mecanismo de difusão de Fick sobre o sistema. Para filmes poliméricos, se $n < 0,5$, a liberação do fármaco segue a difusão de Fickiana. Para valores de n entre 0,5 e 1 a liberação do fármaco segue um modelo de difusão não-Fickiana devido à combinação de erosão e difusão. Já para valores maiores que 1, prevalece o transporte Caso-II (relaxamento). Vale ressaltar que para determinar este expoente, a análise deve ser realizada na porção da curva em que a porcentagem acumulada de fármaco liberada é menor que 60% (DASH *et al.*, 2010; NAGARAJAN *et al.*, 2019).

CAPÍTULO 4: MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os materiais utilizados foram: gelatina (Ge) de pele suína em pó (Tipo A; ~300 g Bloom) e policaprolactona (PCL) em pó massa molar 80.000~90.000 g mol⁻¹ da Sigma – Aldrich, cloreto de sódio (NaCl, P.M = 58,44 g/mol), cloreto de potássio (KCl, P.M = 74,55 g/mol), fosfato de sódio bibásico anidro (Na₂HPO₄, P.M = 141,96 g/mol) e fosfato de potássio bibásico anidro (K₂HPO₄, P.M = 174,18 g/mol) da Labsynth. Ácido acético (CH₃COOH, P.M = 60,05 g/mol) e 2,2,2 trifluoroetanol (TFE) (CF₃CH₂OH, P.M = 100,04 g/mol) da Sigma – Aldrich. Água deionizada e diclofenaco de potássio (DP) sintético (C₁₄H₁₀Cl₂KNO₂, P.M = 334,24g/mol) da China com pureza 99,95%.

4.2 Métodos

O fluxograma abaixo (Figura 4.1) resume a metodologia de produção e caracterização das nanofibras, bem como os passos do trabalho.

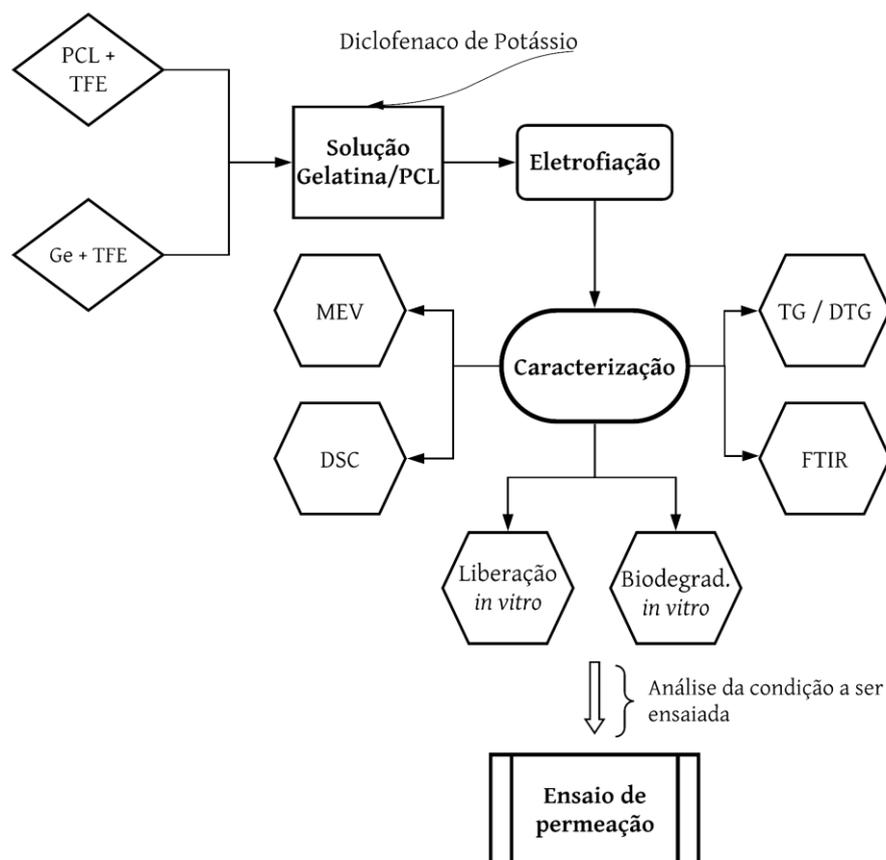


Figura 4.1 – Esquema da Metodologia do trabalho. Próprio autor.

4.2.1 Obtenção das nanofibras Ge/PCL (GP)

A solução polimérica de GP foi preparada misturando 10 % m/v de PCL/TFE e 10 % m/v de Ge/TFE na proporção em volume igual (1:1). As soluções foram mantidas sob agitação suave a 30 °C durante 3 horas. Foi adicionado ácido acético glacial (0,2 % v/v de TFE) à mistura, não apenas para auxiliar a solubilização da gelatina, mas também para evitar a separação de fases durante a eletrofição (AJMAL *et al.*, 2019; ZHOU *et al.*, 2017). A esta solução foi adicionada diferentes concentrações de DP (% m/m em relação à massa Ge/PCL). Assim, foram obtidas soluções com 0, 5, 10 e 15 % m/m de DP para a produção das respectivas amostras: GP0, GP5, GP10 e GP15. Um resumo das nomenclaturas das nanofibras estudadas é descrito na Tabela (4.1).

Nomeclatura	Descrição
GP0	Nanofibras de Ge/PCL carregadas com 0 % m/m de DP
GP5	Nanofibras de Ge/PCL carregadas com 5 % m/m de DP
GP10	Nanofibras de Ge/PCL carregadas com 10 % m/m de DP
GP15	Nanofibras de Ge/PCL carregadas com 15 % m/m de DP

Tabela 4.1 – Resumo da nomenclatura adotada para as amostras analisadas. Próprio autor

O equipamento de eletrofiação (INSTOR - Sistemas de Inspeção Robótica) do laboratório LEPCOM da UFMG foi utilizado no preparo das nanofibras. Para a eletrofiação das nanofibras GP, a solução polimérica foi transferida para seringas de vidro de 10 mL acopladas a uma agulha metálica 24G 3/4” (diâmetro 0,55 mm) e uma bomba de seringa foi usada para regular a taxa de fluxo da solução de eletrofiação. A tensão aplicada foi ajustada para 15 kV e a distância entre a agulha e o coletor foi definida em 7 cm. O coletor metálico foi coberto com papel alumínio para coletar as nanofibras. As nanofibras foram, então, colocadas em placa petri e armazenadas em um dessecador a vácuo para seguirem para a etapa de caracterização e ensaios.

4.3 Caracterização

4.3.1 Caracterização morfológica Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise elementar por Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)

A morfologia das amostras GP0, GP5, GP10 e GP15 foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para a obtenção dessas imagens, foi utilizado o aparelho de Microscopia Eletrônica de Varredura (FEI, INSPECT S50) e Metalizadora (SPI Supplies – Sputtercoater) do laboratório de Microscopia Eletrônica (LAB MEV) da UFMG. A partir das imagens obtidas, foi analisada a distribuição de diâmetros das nanofibras utilizando o software *ImageJ*, realizando 100 medições de diâmetro das nanofibras. Os dados foram exportados para o OriginPro 8 para plotagem dos gráficos.

A porosidade aparente das amostras também foi determinada através do programa ImageJ, utilizando um método semelhante relatado anteriormente por Yang *et al.* (2009). Em síntese, a função de *threshold* foi usada para separar a área referente aos poros da imagem inteira. Em seguida, a função de fração de área foi aplicada para calcular a porosidade aparente. Para análise elementar das amostras, espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS) da marca EDAX, acoplado ao MEV, foi utilizado. Os ensaios de MEV e EDS também foram realizados para as amostras de nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 depois de submersas em solução de PBS por 28 dias.

4.3.2 Caracterização estrutural por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Análise de funcionalidades químicas da Ge, PCL, DP, bem como das nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 antes e depois submersas em solução de PBS por 28 dias, foi realizada por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os espectros foram registrados no modo ATR-FTIR usando o espectrofotômetro Thermo Scientific Nicolet6700 do laboratório LEPCoM da UFMG. As amostras foram varridas na faixa de 500 – 4000 cm^{-1} com resolução de digitalização de 4 cm^{-1} . O software OriginPro 8.0 foi utilizado para analisar os dados e plotar os gráficos.

4.3.3 Análise térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG) e Termogravimetria Derivada (DTG)

O comportamento térmico das amostras foi examinado por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA). As medidas de DSC foram realizadas com o Exstar DSC 7020 do laboratório LEPCoM da UFMG sob atmosfera de nitrogênio (fluxo = 50 mL min^{-1}). As medições foram realizadas a uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ de 30 a 250 $^{\circ}\text{C}$. A análise de TGA foi avaliada usando Exstar TG/DTA 720 na faixa de temperatura 20 – 700 $^{\circ}\text{C}$, a uma taxa de aquecimento de 20 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ sob atmosfera de nitrogênio (fluxo = 30 mL min^{-1}). O software OriginPro 8.0 foi usado para plotar os gráficos. DSC também foi utilizado para determinar o grau de cristalinidade (X_c) das amostras, estimado a partir das entalpias de fusão das nanofibras

(ΔH_m) e amostra teórica 100 % cristalina de PCL ($\Delta H_m^0 = 148$ J/g), usando a fração de peso do PCL nas mantas (W_{PCL}) através da equação (4.1) (GIL-CASTELL *et al.*, 2020):

$$X_C = \frac{\Delta H_m}{W_{PCL} \times \Delta H_m^0} \times 100 \quad (4.1)$$

4.3.4 Ensaio de Intumescimento

Para a realização do ensaio foi produzido uma solução tampão fosfato-salino (PBS) pH 7,4, conforme descrito por Souza (2016). Para tanto, foram adicionados 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na_2HPO_4 e 0,24 g K_2HPO_4 em 1 L água deionizada. A razão de intumescimento das nanofibras foi definida a partir da comparação entre o peso das amostras secas (W_0) e intumescidas (W_s), segundo a equação (4.2). As nanofibras foram submersas em uma solução de PBS (pH 7.4) a 37 °C por 1, 3, 5 e 24 h. Antes de cada pesagem, o excesso de água na superfície foi removido por filtro de papel (MIRAFTAB; SAIFULLAH; ÇAY, 2015). As amostras foram mantidas em banho-maria com auxílio do equipamento *Dubnoff microprocessed bath - Q226M*, utilizado para o controle da temperatura e agitação vigorosa das amostras. O experimento foi realizado em triplicata.

$$\text{Razão de intumescimento (mg/mg)} = \frac{(W_s - W_0)}{W_0} \quad (4.2)$$

4.3.5 Ensaio de biodegradação *in vitro*

O estudo de biodegradação *in vitro* das nanofibras eletrofiadas foi realizado de acordo com a norma ASTM F 1635. As nanofibras foram submersas em PBS pH 7,4 a 37 °C em banho maria (*Dubnoff microprocessed bath - Q226M*) por 1, 3, 5, 7, 14, 21 e 28 dias para simular a degradação fisiológica. O peso inicial (W_0) foi registrado para todas as amostras. Em seguida, em cada período pré-determinado, as mantas foram lavadas com água deionizada e secas em temperatura ambiente para determinar o peso (W_t) e, portanto, o índice de degradação (D). O valor de D foi calculado usando a equação (4.3) e foi plotado em função do tempo para determinar o perfil de degradação das mantas. O experimento foi realizado em triplicata (GOUDARZI *et al.*, 2020). Morfologia,

composição elementar e análise química das amostras foram observadas a partir do MEV-EDS e FTIR, como descritos anteriormente.

$$D = (W_0 - W_t)/W_0 \quad (4.3)$$

4.3.6 Eficiência de incorporação do fármaco

Para avaliar a eficiência de incorporação do fármaco, cerca de 10 mg das amostras foram pesadas e adicionadas a 2 mL de TFE e a solução foi agitada vigorosamente até a solubilização completa. Em seguida, 1 mL da solução foi transferida para um tubo falcon e foram adicionados 9 mL de PBS (pH 7,4) usando uma micropipeta volumétrica Biohit. As soluções foram centrifugadas a 3600 RPM por 20 minutos na centrífuga Quimis, modelo Q222T do Laboratório de Troca Iônica da UFMG e, a seguir, filtradas em papel filtro ($\phi_{\text{poro}} = 8 \mu\text{m}$). As soluções foram avaliadas por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda_{\text{máx}} = 276 \text{ nm}$). A curva de calibração do DP em PBS foi obtida calibração utilizando o espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-2600. Partindo-se da solução-mãe (concentração 150 mg/L), foram realizadas diluições seriadas com PBS e, em seguida, foi avaliado a absorvância destas soluções em 276 nm, pico que se observou ser dependente da concentração de DP, como mostra a Figura 4.2a. A partir das absorvâncias, traçou-se a curva de calibração (Figura 4.2b), utilizada, então, para mensurar a quantidade de fármaco presente na amostragem. A equação da curva foi determinada por regressão linear e foi equivalente a $y = 0,0292x + 0,1006$, em que x corresponde a concentração (mg/L) e y a absorvância (u.a). Obteve-se uma resposta linear na faixa de 0,5 mg/L a 150 mg/L, com erro R^2 de 0,995 e coeficiente de correlação de pearson de 0,9975. O experimento para determinar a eficiência de encapsulamento do fármaco foi realizado em triplicata. A eficiência de encapsulamento do fármaco (EEF) foi calculada usando a Equação (4.4) (DAWES *et al.*, 2009).

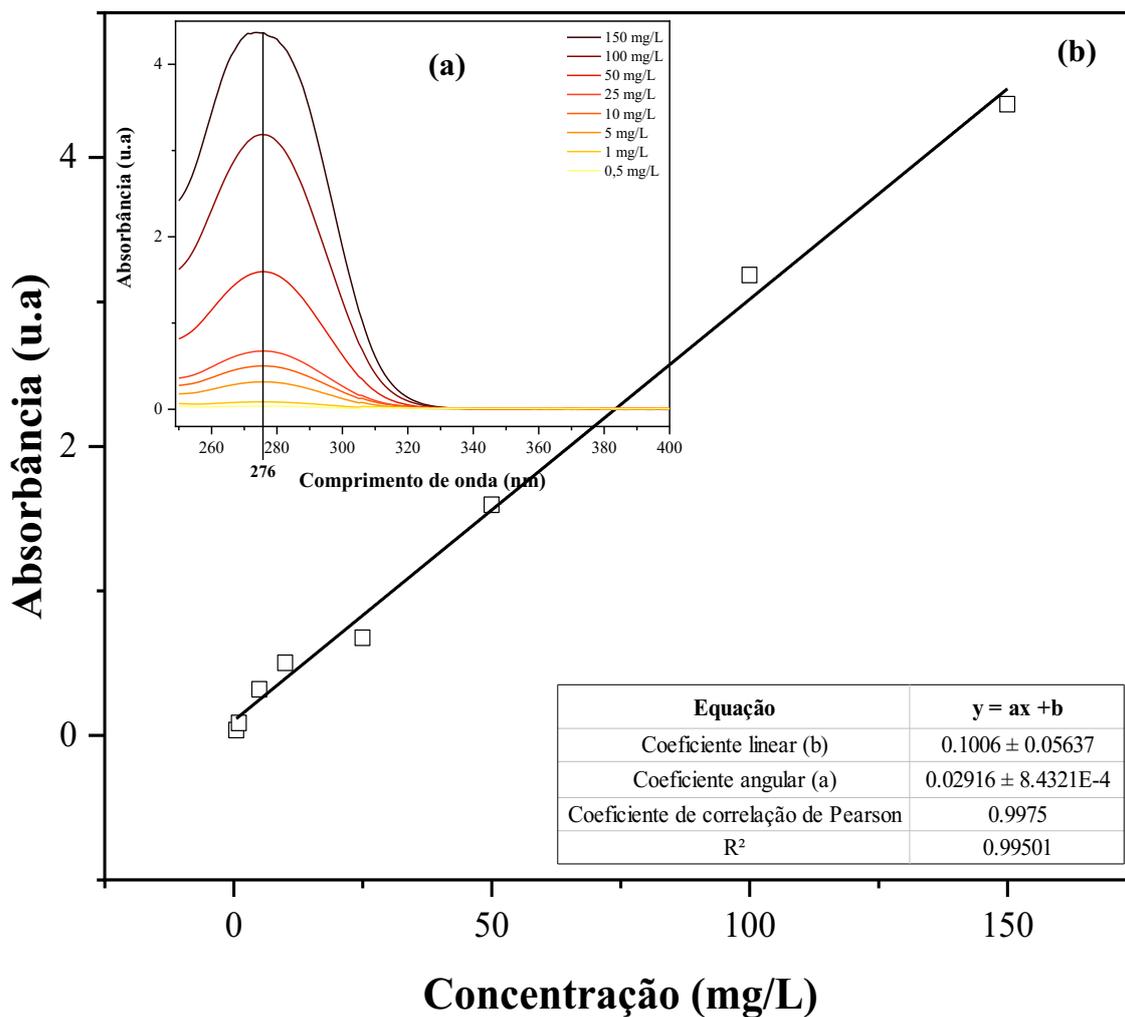


Figura 4.2 – (a) Espectros de UV-Vis para diferentes concentrações de DP, utilizando cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm (b) curva de calibração do DP em PBS. Próprio autor.

$$\text{EIF} = \frac{\text{Fármaco incorporado}}{\text{Incorporação máxima}} \times 100 \quad (4.4)$$

4.3.7 Ensaio de Liberação

Primeiramente, a solubilidade máxima de DP em PBS (pH 7,4) (condição de *sink*) foi determinada equilibrando um grande excesso de soluto em PBS por 24 h. Aproximadamente 1,0 g de DP foi adicionado a 10 mL de PBS (pH 7,4) e a solução foi agitada vigorosamente com uma barra magnética durante todo o experimento à temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi filtrada em papel filtro (ϕ poro = 8 μ m)

e, 1 mL do filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL por meio de uma micropipeta volumétrica Biohit. O volume do frasco foi então preenchido com PBS, a solução foi homogeneizada e a concentração de DP foi avaliada por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda_{\text{máx}} = 276 \text{ nm}$). O experimento foi realizado em triplicata.

Para estudos de liberação de fármacos *in vitro*, cerca de 10 mg de nanofibras foram pesados e colocados em 20 mL de PBS pH 7,4. As amostras foram colocadas em tubos de ensaio fechados para evitar perda por evaporação durante os ensaios. Os estudos foram conduzidos à temperatura ambiente, 37 °C e 60 °C, e em intervalos pré-determinados amostras de 3 mL foram retiradas das soluções e a concentração de DP avaliada por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda_{\text{máx}} = 276 \text{ nm}$). Para cada amostra, três repetições foram realizadas e alíquotas foram retiradas por uma semana. Assumiu-se grau de encapsulamento de 100 % e a porcentagem cumulativa de fármaco liberada das nanofibras sob diferentes condições de teste foi calculada e plotada em função do tempo utilizando o software OriginPro 8.0.

4.3.8 Avaliação da cinética de liberação

As análises foram ajustadas aos seguintes modelos cinéticos: modelo cinético de ordem zero (Equação 3.1), modelo cinético de primeira ordem (Equação 3.2), cinética Hixson-Crowell (Equação 3.3) e modelo cinético Higuchi (Equação 3.4). A partir da avaliação dos modelos cinéticos no perfil de liberação do diclofenaco, os coeficientes de determinação (R^2) foram estabelecidos utilizando o OriginPro 8.0 e apresentados neste estudo para cada amostra, com o intuito de avaliar a qual modelo melhor se encaixa os perfis. Por fim, as amostras foram ajustadas ao modelo semi-empírico de Korsmeyer-Peppas (Equação 3.5) na parte da curva em que $f_t < 60 \%$ para entender o mecanismo de liberação do sistema a partir da determinação do expoente n . Valores até $n = 0,5$ indicam uma difusão clássica de Fick, entre 0,5 e 1,0, um modelo não-fickiano e acima de 1,0 um mecanismo de transporte do caso II (DASH *et al.*, 2010; NAGARAJAN *et al.*, 2019).

4.3.9 Ensaio de permeação cutânea

O estudo de permeação cutânea *in vitro* foi realizado utilizando-se células de difusão de Franz (área de permeação: 3,14 cm², volume do receptor: 10 mL, PermeGear # 4G-01-00-20-10, Bethel, EUA), conforme representado pelo esquema na Figura (4.3).

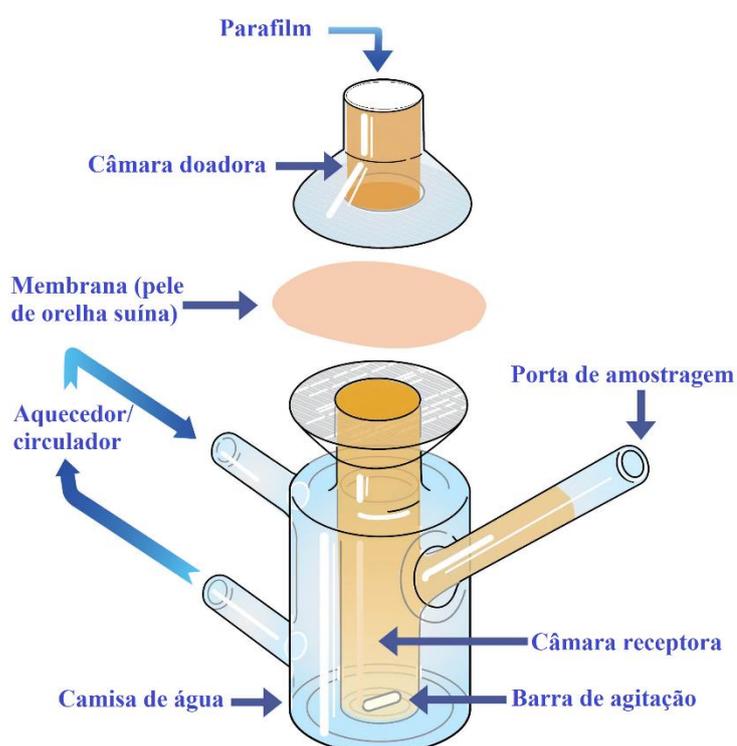


Figura 4.3 – Esquema da célula de Franz utilizada no experimento de permeação cutânea.

Adaptado de PermeGear (2021).

As peles de orelhas de porco obtidas em um matadouro local foram utilizadas como membranas biológicas. Para obtenção das membranas, as orelhas foram lavadas com água abundante e com auxílio de um tricotomizador, os pelos foram cuidadosamente cortados próximo à superfície. Em seguida, foi realizada a separação da cartilagem e do tecido muscular descartando as áreas com lesões, manchas ou arranhões.

Uma solução de PBS (pH 7,4) foi usada como meio receptor, o qual foi continuamente agitado, garantindo a condição *sink*. A temperatura da pele foi mantida constante a 32 °

C por recirculação de água a 37 °C através dos revestimentos de células Franz. As mantas de nanofibras de GP (10 % m/m, 68 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$) com área de 2,98 cm^2 foram previamente cortados com um punção de biópsia e aplicados em cada célula (n = 5), sob oclusão (a célula doadora estava selado com Parafilm). O esquema do ensaio é representado pela Figura (4.4).



Figura 4.4 – Esquema do experimento de permeação cutânea. Próprio autor.

Após 24 h, a pele foi removida do aparelho. As mantas foram retiradas e a epiderme e a derme separadas com bisturi e transferidas para um tubo Falcon, conforme mostrado na Figura (4.5). Para extrair o fármaco da epiderme, foram adicionados 3 mL de PBS pH 7,4 e deixados em contato por 2 horas. As amostras foram agitadas por 5 min e centrifugadas por 50 min a 14.000 RPM, usando Espresso Personal Microcentrifuge da Thermo Scientific. Para extrair o DP da derme, um procedimento semelhante foi usado. O sobrenadante, bem como a concentração de DP no fluido receptor e nas mantas, foi analisado por espectrofotometria UV-Vis, conforme descrito nos tópicos de estudos de liberação de fármacos *in vitro*.



Figura 4.5 – Separação da epiderme da derme. Próprio autor.

4.3.10 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão e comparações estatísticas foram realizadas pelo software Past 4.0, utilizando o teste ANOVA. O resultado experimental com 95% de confiança nível $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Para o estudo de permeação cutânea *in vitro*, os testes de *Shapiro-Wilk* e *F Test* acessaram a normalidade e homocedasticidade dos dados, respectivamente. Para as comparações de dois grupos, o teste t não pareado foi usado $p < 0,05$.

CAPÍTULO 5: RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Morfologia e análise elementar das nanofibras

O preparo de blendas Ge/ PCL em TFE têm sido amplamente relatado para a obtenção de *scaffolds* e de matrizes para SLF, inclusive, contendo fármacos anti-inflamatórios, como o DP. Para contornar a baixa miscibilidade entre ambos os polímeros nas blendas, um artifício é a adição de ácido acético na mistura, o que leva à formação de uma solução homogênea, contribuindo para a formação de fibras íntegras e contínuas (LI *et al.*, 2016). Embora o PCL e a Ge possam ser dissolvidos em TFE para formar uma solução transparente, ao serem misturados, a solução mista se torna opaca, transformando-se em uma emulsão. O sedimento formado foi identificado pela literatura como sendo o componente Ge, ao passo que o PCL se apresentava principalmente na camada superior. No entanto, ao variar o pH da solução para longe do ponto isoelétrico da Ge ($\approx 6,14$) é mais provável que a molécula se dissocie e, portanto, seja mais solúvel (LI *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2017). Deste modo, a adição de uma pequena quantidade de ácido acético glacial reduz o pH da solução abaixo do ponto isoelétrico da gelatina, resultando na miscibilidade completa dos componentes e eletrofiação homogênea, evitando a separação de fases durante o processo (AJMAL *et al.*, 2019). A nível macroscópico observa-se que a solução torna-se visualmente se límpida e transparente (ZHOU *et al.*, 2017). A nível molecular, a introdução de uma pequena quantidade de ácido acético à solução é responsável por carregar positivamente as moléculas de Ge, tornando-as mutuamente exclusivas. Assim, as cadeias moleculares de Ge esticadas podem penetrar em na fase PCL e se emaranhar com as cadeias PCL, formando uma solução miscível e transparente (REN *et al.*, 2017).

A morfologia das nanofibras GP com diferentes concentrações (% m/m) de DP foram analisadas por MEV e são mostradas na Figura (5.1) com sua respectiva distribuição de diâmetro. Para todas as condições, foi possível produzir mantas não tecidas de nanofibras, brancas e opacas, devido ao espalhamento da luz pelas próprias fibras. As soluções de GP livres de DP, sob condições ótimas de processamento, possibilitaram a produção de nanofibras sem “*beads*”, contínuas, interconectadas e orientadas aleatoriamente.

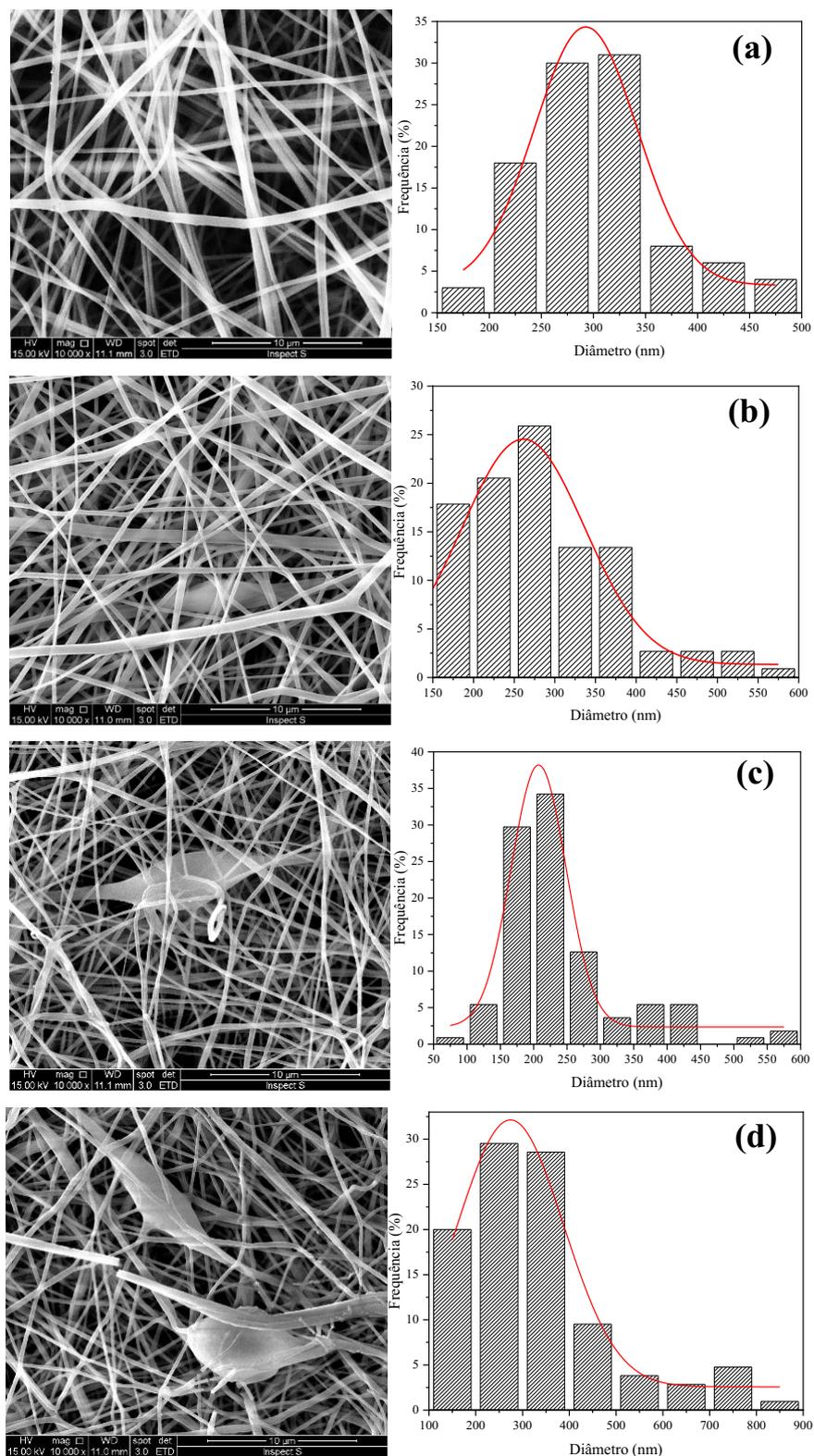


Figura 5.1 – Imagens por MEV das nanofibras (a) GP0 (b) GP5 (c) GP10 e (d) GP15 com suas respectivas distribuições de diâmetros.

A morfologia das nanofibras de GP, no entanto, apresentou mudanças em função da incorporação de DP. Nas composições GP5, GP10 e GP15, algumas nanofibras se fundem, criando “bolsas” esporádicas na manta. Esta estrutura particular se torna maior para amostras com concentrações mais altas de DP. Apesar da presença dessas irregularidades, não há indícios da presença de DP na superfície das nanofibras na forma de precipitados ou cristais. Este fato pode indicar que o fármaco foi incorporado com sucesso às nanofibras (CHONG *et al.*, 2007; EL-NEWEHY *et al.*, 2016; NIKKOLA *et al.*, 2015).

Estas estruturas (“bolsas”) se diferem em alguns aspectos das morfologias dos *beads* (ou contas) amplamente relatadas na literatura para nanofibras, uma vez que a formação de contas geralmente está associada a eletrofição de soluções poliméricas de baixa concentração (VERRECK *et al.*, 2003). A presença dessas estruturas (“bolsas”) também foi visualizada por Soares *et al.* (2020) que identificara alterações na morfologia das nanofibras de acetato de celulose com a incorporação de progesterona. Estes “pacotes”, segundo os autores, podem estar relacionados a presença de aglomerados do fármaco na estrutura. Foi possível observar, ainda, algumas nanofibras quebradas na amostra GP15, o que pode indicar que maiores concentrações de DP podem tornar as nanofibras mais quebradiças e fracas.

A relação entre o diâmetro médio das nanofibras GP carregadas com DP é mostrada na Figura 5.2. O diâmetro médio das nanofibras de GP0 foi de $303,2 \pm 65,4$ nm. Notou-se que a incorporação de DP reduziu o diâmetro médio das nanofibras GP5 e GP10, que se tornou mais significativo ($p < 0,05$) para a amostra GP10 (10 % m/m DP), cujo diâmetro médio foi de $227,4 \pm 73,5$ nm. O diâmetro médio cresceu a partir desta concentração e para as nanofibras carregadas com 15 % m/m de DP (GP15) o diâmetro médio foi igual a $330,3 \pm 156,2$ nm. Esta condição apresentou maior desvio padrão, indicando uma possível heterogeneidade da manta, que pode ser confirmada com a análise de distribuição (Figura 5.1d), enquanto a amostra GP10 apresentou uma distribuição mais estreita. Goudarzi *et al.* (2020) associou o aumento do diâmetro médio das nanofibras de Ge/PCL com a adição de nanofibras de celulose à formação de uma emulsão intensificada pela incorporação destas. Uma analogia pode ser realizada no presente trabalho, visto que a incorporação de

DP em concentrações elevadas torna a solução opaca, acentuando seu caráter de emulsão. Verreck *et al.* (2003) em seus estudos também associou a elevada concentração do fármaco na solução a maior heterogeneidade na distribuição de diâmetro das nanofibras formadas.

A incorporação de fármacos às soluções poliméricas definitivamente afeta as propriedades das nanofibras eletrofiadas. Piras *et al.* (2006) identificaram que a adição de DS a uma solução de n-butil hemiéster de poli(anidrido maleico-alt-2-metoxietilviniléter) alterou a condutividade elétrica da solução, reduzindo os diâmetros das fibras. Ajmal *et al.* (2019), contudo, visualizaram um aumento do diâmetro médio das nanofibras de Ge/PCL com a incorporação de cloridrato de ciprofloxacina e quercetina.

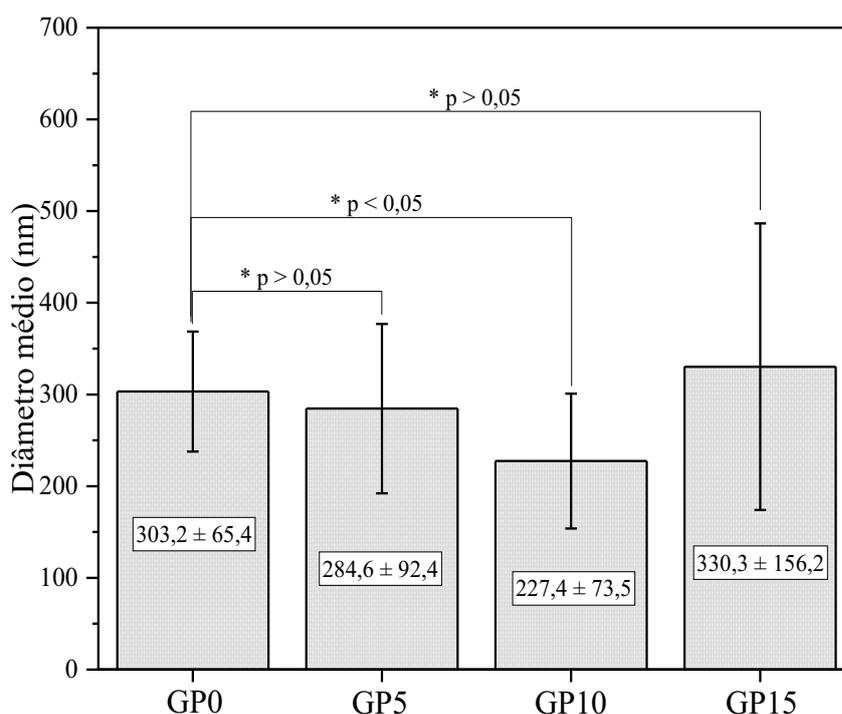


Figura 5.2 – Diâmetro médio das nanofibras GP. O diâmetro médio foi expresso como média \pm desvio padrão (n=100).

A morfologia das nanofibras é diretamente influenciada pela condutividade elétrica das soluções. A adição de sal como o diclofenaco de potássio pode melhorar a condutividade da solução, uma vez que aumenta a densidade de carga na superfície do jato,

possibilitando o maior alongamento da gota e conseqüentemente a diminuição do diâmetro das nanofibras (SHEN *et al.*, 2011).

Em geral, os diâmetros das nanofibras GP carregadas com o fármaco foram menores em comparação às amostras livres de DP. Nas amostras GP5 e GP10 (Figura 5.2) foi possível notar essa tendência. No entanto, com o aumento da concentração de DP um efeito oposto foi observado: o diâmetro das nanofibras também aumentou. Isso porque a incorporação de DP levou ao aumento da viscosidade das soluções e o aumento da viscosidade tornou-se mais relevante do que a condutividade da solução, afetando o diâmetro das nanofibras GP15 (HAIDER; HAIDER; KANG, 2018).

Para as nanofibras de GP, exceto a amostra GP15 (15 % m/m de DP), foi visualizado nanofibras com até 600 nm de diâmetro. Resultado similar foi encontrado por Chong *et al.* (2007), que em seus estudos identificaram que o diâmetro médio das nanofibras de Ge/PCL encontrava-se na faixa de 300 – 600 nm para 90% das nanofibras.

Ressalta-se, ainda, que nenhuma fibra micrométrica foi obtida para nenhuma das amostras GP, que pode corroborar a miscibilidade da Ge/PCL, visto que a formação simultânea de micro e nanofibras foi associada por Samadian *et al.* (2020) à imiscibilidade e separação de fases da Ge e PCL. A porosidade aparente destas mantas também foi calculada a partir das imagens MEV e foram determinados valores próximos a 24 – 27% para todas as amostras.

A presença de DP nas nanofibras GP foi confirmada por EDS (Figura 5.3). Foi possível observar os picos de cloro e potássio no espectro de EDS e a intensidade destes picos pode estar associada à concentração de DP, uma vez que picos com maiores intensidades foram observados em amostras com maiores concentrações de DP.

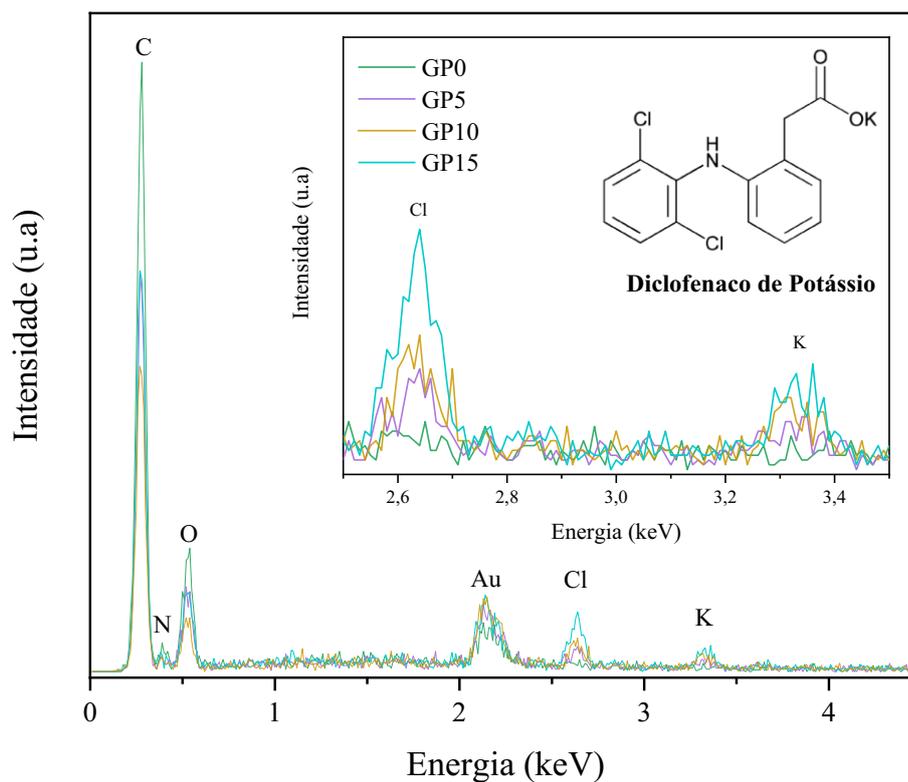


Figura 5.3 – EDS das nanofibras GP.

5.2 Análise estrutural por FTIR

A espectroscopia FTIR foi utilizada para a caracterização química das nanofibras e seus componentes. Os espectros de FTIR dos componentes Ge, PCL, DP e das nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 são mostrados na Figura (5.4). As principais bandas de absorção desses componentes estão listadas na Tabela (5.1), juntamente com as atribuições moleculares correspondentes.

A natureza da blenda física das nanofibras GP foi verificada, uma vez que as bandas características dos componentes são claramente observadas nos espectros das nanofibras. Observações como essas, nas quais o espectro de FTIR da mistura é a combinação dos espectros dos componentes puros já foram relatadas anteriormente para blendas poliméricas (KUPPAN; SETHURAMAN, 2013).

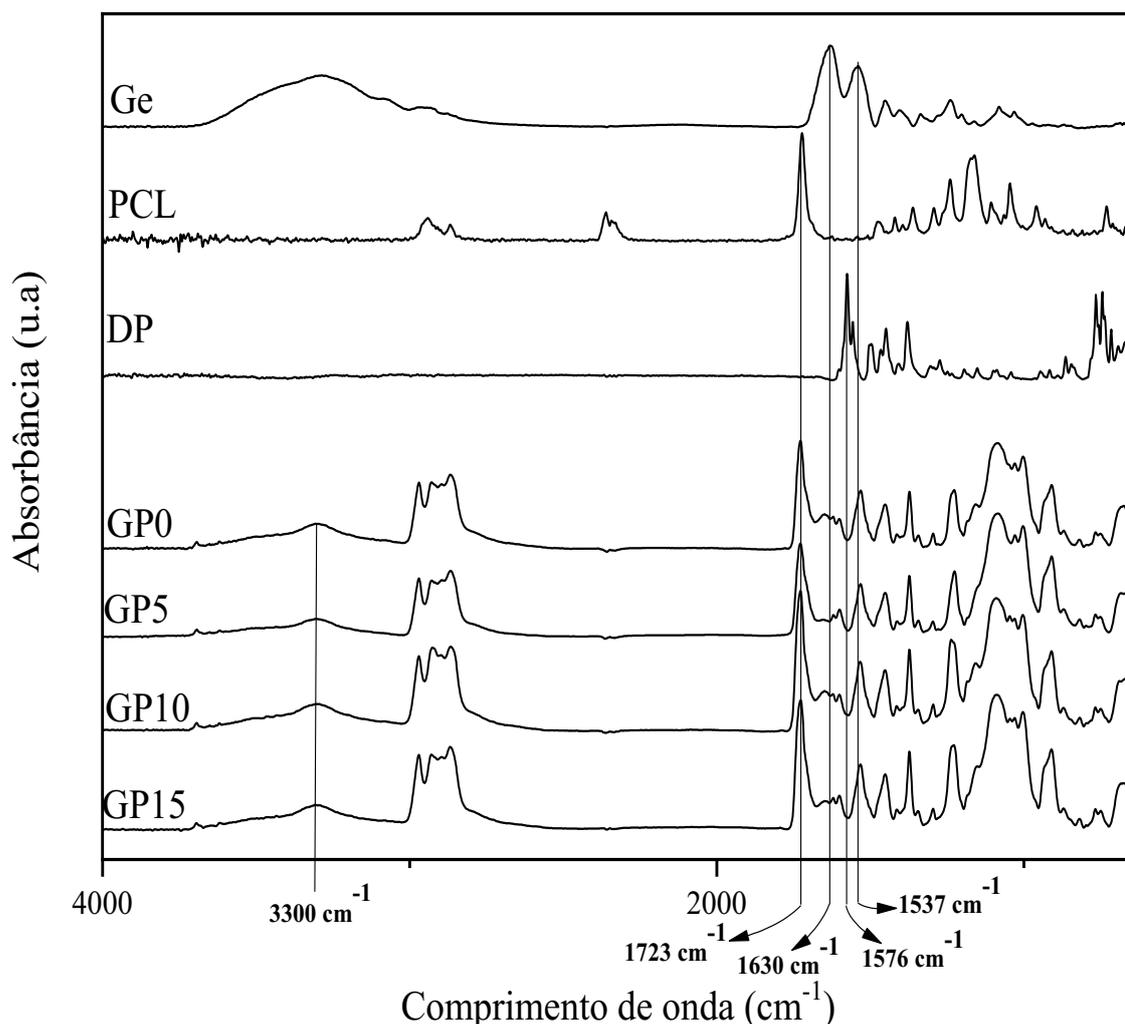


Figura 5.4 – Espectros de FTIR das nanofibras GP e seus componentes.

Mudanças nas bandas de absorção de FTIR, como aumento ou diminuição nas intensidades e alargamento dos picos podem indicar possíveis interações entre os constituintes da blenda polimérica. A banda de 1537 cm^{-1} característica da amida II foi significativamente enfraquecida após a incorporação de DP. A razão relativa entre as intensidades das bandas em 1723 cm^{-1} (estiramento carbonila do PCL) e 1537 cm^{-1} (amida II, estiramento CN) foi de 1,14; 1,14; 1,39; 1,85 para GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. Além disso, houve uma redução aparente da intensidade da banda relacionada à amida I em 1630 cm^{-1} com a presença do DP, que foi confirmada com a razão relativa entre as intensidades das bandas em 1723 cm^{-1} (estiramento carbonila do PCL) e 1630 cm^{-1} (amida I). As razões foram equivalentes a 1,19; 1,23; 1,50 e 2,07 para GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. A presença de grupos amida no espectro

confirmou a presença de gelatina nas nanofibras mesmo após a mistura do polímero e o processo de eletrofiação. Além disso, esses grupos específicos podem estabelecer ligações de hidrogênio com moléculas de água, ou seja, a gelatina pode favorecer o aumento da hidrofília de materiais à base de PCL (KANNAIYAN *et al.*, 2019).

	Posição (cm⁻¹)	Atribuição
PCL	2941	Estiramento assimétrico CH ₂
	2867	Estiramento simétrico CH ₂
	1723	Estiramento carbonila
	1293	Estiramento C–O e C–C em fase cristalina
	1240	Estiramento assimétrico COC
	1161	Estiramento C–O e C–C em fase amorfa
	Posição (cm⁻¹)	Atribuição
Ge	3300	Estiramento N–H
	1630	Amida I, estiramento CO e CN
	1537	Amida II, estiramento CN
	1336	Dobramento CH ₂
	1239	Amida III, estiramento CN
	1031	Grupo amida CH ₃
	Posição (cm⁻¹)	Atribuição
DP	1576	Estiramento C=O do grupo carboxílico
	1498	Estiramento C=C (anel aromático)
	1273	Estiramento C–N
	765	Grupo C–Cl
	744	Estiramento C–Cl

Tabela 5.1 – Bandas de absorção principais dos componentes Ge, PCL e DP e suas principais posições no FTIR (AJMAL *et al.*, 2019; AYTAC *et al.*, 2019; BARROS *et al.*, 2015; HANA *et al.*, 2017; KANNAIYAN *et al.*, 2019; KHATTI; NADERI-MANESH; KALANTAR, 2019; GOUDARZI *et al.*, 2020; TARIQ *et al.*, 2012).

Embora os espectros das nanofibras tenham mudado devido à incorporação do DP, o pico relativo ao alongamento C = O, presente no espectro do fármaco, não foi observado nas nanofibras. As modificações relatadas nos picos de absorção de FTIR das nanofibras devido à incorporação de DP podem estar relacionadas à presença de grupos carboxila e amina na Ge e grupo carboxila no DP, e uma possível formação de ligação de hidrogênio entre esses grupos (GOUDARZI *et al.*, 2020), sugerindo que o DP esteja interagindo quimicamente com a blenda polimérica.

5.3 Análise térmica

A análise de DSC dos componentes Ge, PCL e das nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 é mostrada na Figura (5.5a). O DP não apresentou alterações térmicas na faixa de temperatura testada, portanto, não foi apresentado na Figura (5.5a). A Figura (5.5b) e a Figura (5.5c) exibem perfis termogravimétricos (TGA) e termogravimétricos diferenciais (DTG) para nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 DP e seus componentes.

As propriedades térmicas da blenda podem ser afetadas pelas interações entre os componentes do polímero dessa mistura. A temperatura de fusão ou cristalinidade da blenda, por exemplo, muitas vezes apresentam mudanças quando comparadas aos seus componentes puros (DAELEMANS *et al.*, 2018). As curvas de DSC exibiram um pico endotérmico em torno de 52 °C para o componente PCL que mudou ligeiramente para temperaturas mais baixas com a incorporação de gelatina (47 °C), e nenhuma transição adicional foi observada (REN *et al.*, 2017; ZHOU *et al.*, 2017).

A cristalinidade do PCL diminuiu com a incorporação da gelatina (DAELEMANS *et al.*, 2018; GIL-CASTELL *et al.*, 2020). A cristalização do PCL foi prejudicada devido à interação entre as moléculas de Ge e PCL, resultando em uma estrutura geral menos cristalina (GIL-CASTELL *et al.*, 2020). O grau de cristalinidade (X_C) foi estimado usando a Equação (4.1) para GP0, GP5, GP10 e GP15 que exibiram cristalinidade de 39,0; 42,5; 44,4 e 45,8 %, respectivamente, enquanto o PCL apresentou valor correspondente a 45,7 %. A incorporação de DP, no entanto, aumentou a cristalinidade das nanofibras GP. Este comportamento pode estar associado a possíveis ligações de hidrogênio entre as moléculas de Ge e DP, voltando a favorecer a cristalização do PCL. O pico endotérmico de 226 °C na amostra de gelatina pode estar associado à decomposição da gelatina, que costuma estar acima de 200 °C, como apontado por alguns autores (KI *et al.*, 2005).

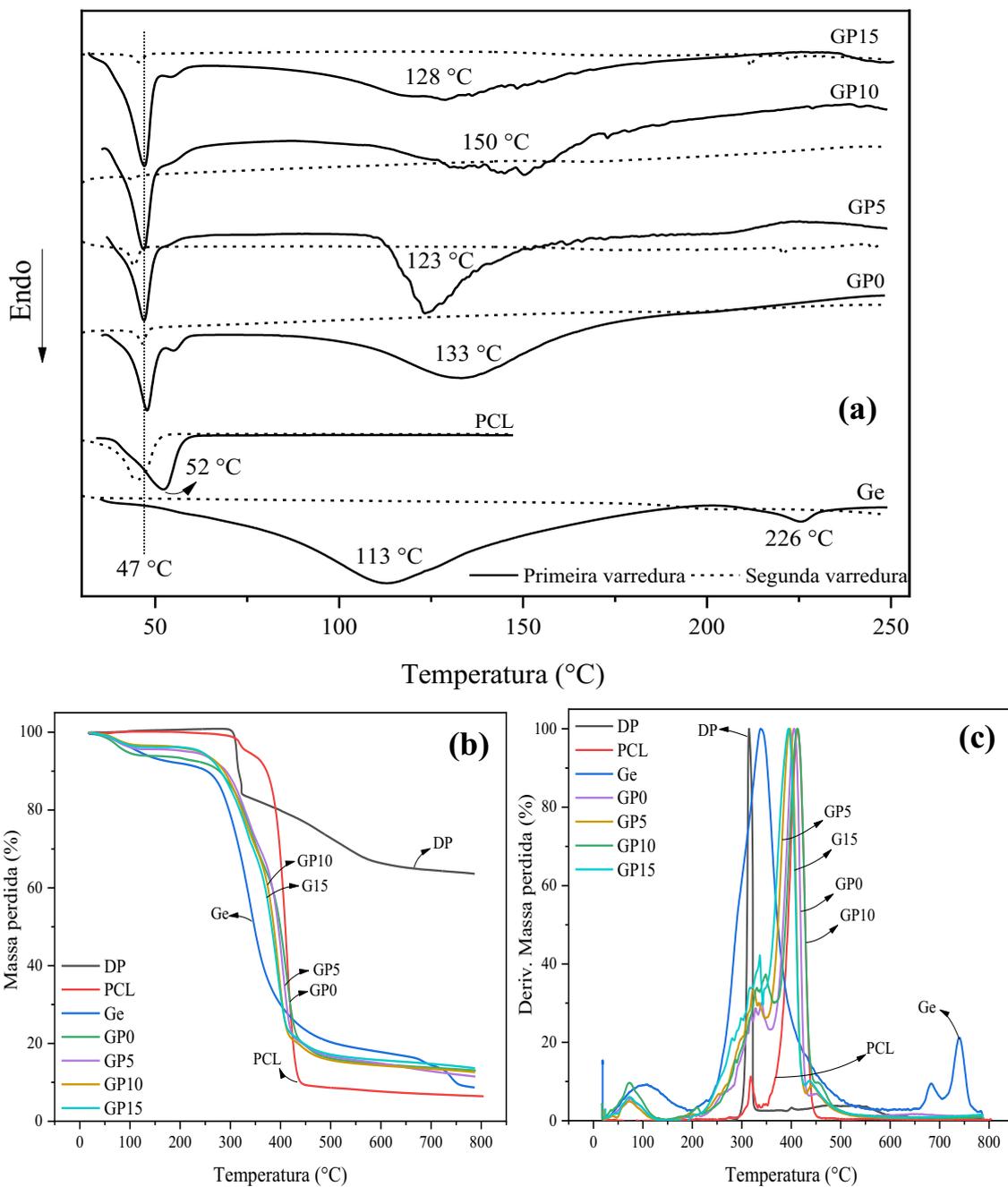


Figura 5.5 – Curvas DSC (a), TGA (b) e DTG (c) das amostras e seus componentes.

A Ge é obtida a partir da desnaturação do colágeno, processo que envolve a ruptura da estrutura de tripla hélice por quebra de ligações de hidrogênio. Uma vez quebradas, as cadeias são capazes de se reorganizar, em condições adequadas, para recuperar a estrutura de tripla hélice e, assim, um processo de renaturação pode ocorrer (ZHANG *et al.*, 2006). Portanto, o pico endotérmico a 113 °C na curva de DSC da GE pode estar relacionado à

desnaturação deste componente (JIANG *et al.*, 2017). Este comportamento clássico é condicionado pela absorção na região higroscópica das amostras (SOBRAL; HABITANTE, 2001). Assim, os picos endotérmicos entre 120 e 150 °C para as nanofibras carregadas também podem estar relacionados com a entalpia de desnaturação da gelatina que foi 103,0; 81,8; 44,8; e 62,9 J/g para GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. Embora o DP seja higroscópico, ele poderia diminuir o teor de água das nanofibras, provavelmente pela interação com a Ge, resultando no deslocamento dos picos endotérmicos para temperaturas mais elevadas observadas na análise de DSC e na diminuição da entalpia de desnaturação da Ge. Além disso, a segunda varredura (Figura 5.5) apresentou apenas um pico endotérmico associado à fusão do PCL, confirmando que os picos endotérmicos entre 113 – 150 °C presentes nas amostras de nanofibras podem estar associados à transição hélice α de alguma fração de Ge uma vez que esta é uma transição de primeira ordem (SOBRAL; HABITANTE, 2001).

Os picos endotérmicos associados ao PCL na segunda varredura foram deslocados para temperaturas mais baixas e as entalpias de fusão foram 58,9; 28,9; 2,6; 0,2; e 1,0 J/g para o PCL e as amostras GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. A mesma tendência foi observada na primeira varredura, uma vez que o grau de cristalinidade está diretamente relacionado a esse valor de entalpia.

A Figura (5.5b) exibe os perfis termogravimétricos (TGA) das amostras. Esta análise foi utilizada para determinar a temperatura de decomposição, a quantidade de resíduo (%) e a perda de peso (%) em relação à temperatura (°C). A decomposição do DP ocorreu na faixa de 300 – 330 °C e está associada à descarboxilação do ânion diclofenaco (FINI *et al.*, 2001). As curvas TGA das nanofibras não apresentaram um pico de decomposição DP claro, provavelmente devido à sobreposição dos picos de decomposição do fármaco e do polímero da mistura (QANDIL *et al.*, 2013).

A degradação térmica do PCL (300 – 450 °C) está relacionada à ruptura das cadeias de poliéster via reação de pirólise do éster, liberando um ácido carboxílico e moléculas de CO₂ e H₂O (FUKUSHIMA; TABUANI; CAMINO, 2009). A degradação do PCL ocorre a partir de dois mecanismos: em temperaturas mais baixas, a cisão aleatória da cadeia é

dominante e à medida que a temperatura aumenta, há uma mudança no mecanismo dominante, dando lugar à cisão específica da extremidade da cadeia (cadeia hidroxila) com a formação de ϵ -caprolactona e voláteis (SIVALINGAM; MADRAS, 2004).

A amostra de Ge apresentou três estágios de perda de massa entre 25 e 800 °C. O primeiro estágio até 200 °C está relacionado à perda de umidade também caracterizada por um pico endotérmico na análise DSC. A perda de peso nesta etapa foi de 8 % e está relacionada à forte afinidade da Ge pelas moléculas de água. A segunda, relacionada à degradação do polímero, ocorreu de 250 a 450 °C e pode ser atribuída à ruptura da cadeia proteica e quebra de ligações peptídicas. E, finalmente, o terceiro estágio acima de 650 °C poderia estar associado à decomposição térmica de redes derivadas de Ge (MULLAH *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2019).

Ao comparar as curvas TGA das nanofibras carregadas com a amostra GP0, observou-se que a presença de DP apresentou influência no primeiro estágio de perda de massa atribuída à perda de água (até 120 °C) e na quantidade de resíduo (%) a 790 °C das nanofibras. Todas as amostras de nanofibras exibiram uma perda de massa na primeira região de 5,94; 4,31; 3,37; e 3,76 % para GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. A formação da blenda e a incorporação do DP reduziram a perda de massa nesta primeira etapa. A interação entre os componentes da blenda e, em particular, a interação Ge e DP por ligações de hidrogênio provavelmente reduziu a capacidade de absorção de água das nanofibras, embora seja uma pequena redução. Além disso, esse comportamento confirma o carregamento bem-sucedido de DP durante a eletrofição. Uma maior porcentagem de perda de água da amostra GP15 em comparação com a GP10 pode estar relacionada à sua morfologia, que apresenta maior heterogeneidade (Figura 5.1d), possivelmente associada à aglomeração de DP na estrutura, favorecendo a absorção de água pela manta. Na mesma temperatura de 790 °C, a perda de massa para GP0, GP5, GP10 e GP15 foi 13,0; 11,5; 12,6; e 13,6 %, respectivamente. Assim, nanofibras carregadas com maiores concentrações de DP tendem a apresentar maiores quantidades de resíduos.

A Figura (5.5c) mostra as temperaturas de decomposição com pico em 316, 340, 412, 412, 407, 397 e 395 °C para os componentes DP, Ge, PCL e as nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. A presença de DP nas nanofibras não alterou significativamente as temperaturas de decomposição, embora essas tenham apresentado uma ligeira redução. Isso pode estar relacionado às interações fármaco e polímero da mistura, que resulta na dispersão molecular do DP e, conseqüentemente, um aumento na área de superfície do fármaco, aumentando o efeito da temperatura nas nanofibras (QANDIL *et al.*, 2013).

5.4 Ensaio de Intumescimento

A Figura (5.6) mostra a razão de intumescimento das nanofibras imersas em PBS (pH 7.4) a 37 °C em 24 horas de incubação.

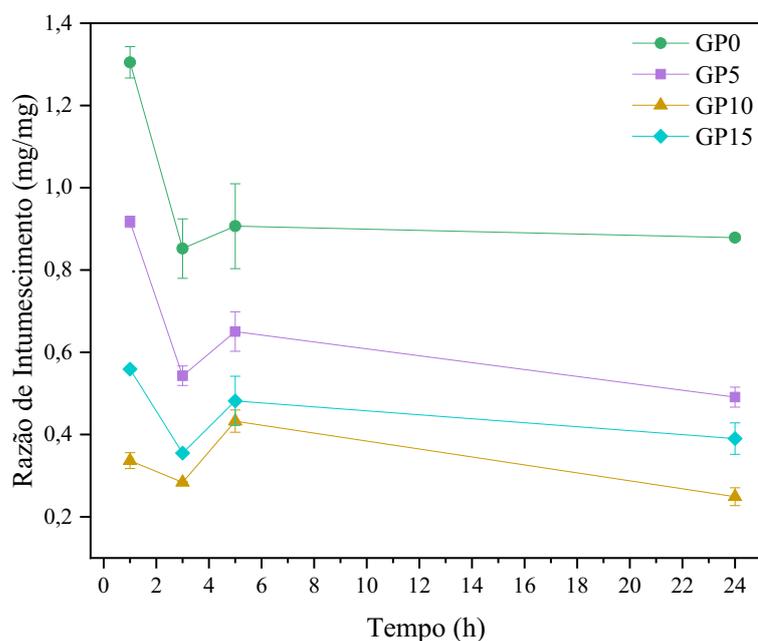


Figura 5.6 – Razão de intumescimento das nanofibras GP. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (n = 3).

Propriedades como hidrofília e porosidade das mantas interferem diretamente na razão de intumescimento. Esse é um parâmetro importante que controla a transferência de massa e, portanto, influencia nas taxas de liberação do fármaco, pois controla a difusão do

penetrante e a dissolução do fármaco (CARBINATTO *et al.*, 2014; SAGHEBASL *et al.*, 2018). Todas as nanofibras de GP exibiram comportamento de intumescimento semelhante com uma redução na razão de intumescimento em 3 h, um aumento em 5 h e novamente uma redução até 24 h. A alta taxa de intumescimento na primeira hora (Figura 5.6) pode estar relacionada às características da matriz como hidrofília e porosidade, que tendem favorecer a absorção de água. O intumescimento da matriz favorece o transporte do fármaco através da rede intumescida para o meio (NAGARAJAN *et al.*, 2019), resultando em uma liberação pronunciada do fármaco nas primeiras horas e, conseqüentemente, uma redução da razão de intumescimento. Essa redução também pode estar associada à perda de massa das mantas devido à dissolução da gelatina. Nesse sentido, o aumento da razão de intumescimento em 5 h poderia estar associado a uma maior absorção de água como resultado da porosidade gerada pela dissolução do fármaco e da gelatina.

Notou-se também que a amostra GP0 apresentou uma razão de intumescimento maior que as nanofibras carregadas com DP ($p < 0,05$), provavelmente associada à perda de massa que ocorre devido à liberação do fármaco nas amostras carregadas. Além disso, a taxa de intumescimento foi menor para a amostra GP10 ao longo de todo período analisado, porém não há diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparada às amostras GP5 e GP15.

5.5 Ensaio de biodegradação *in vitro*

O índice de degradação em PBS (pH 7.4) das nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 em 1, 3, 5, 7, 14, 21 e 28 dias é representado na Figura (5.7a), enquanto os espectros de FTIR dessas amostras submersas em PBS por 28 dias são apresentados na Figura (5.7b). A análise elementar das nanofibras GP em PBS por 28 dias é apresentada na Figura (5.8a), enquanto que as imagens de MEV dessas mesmas amostras são apresentadas na Figura (5.8b).

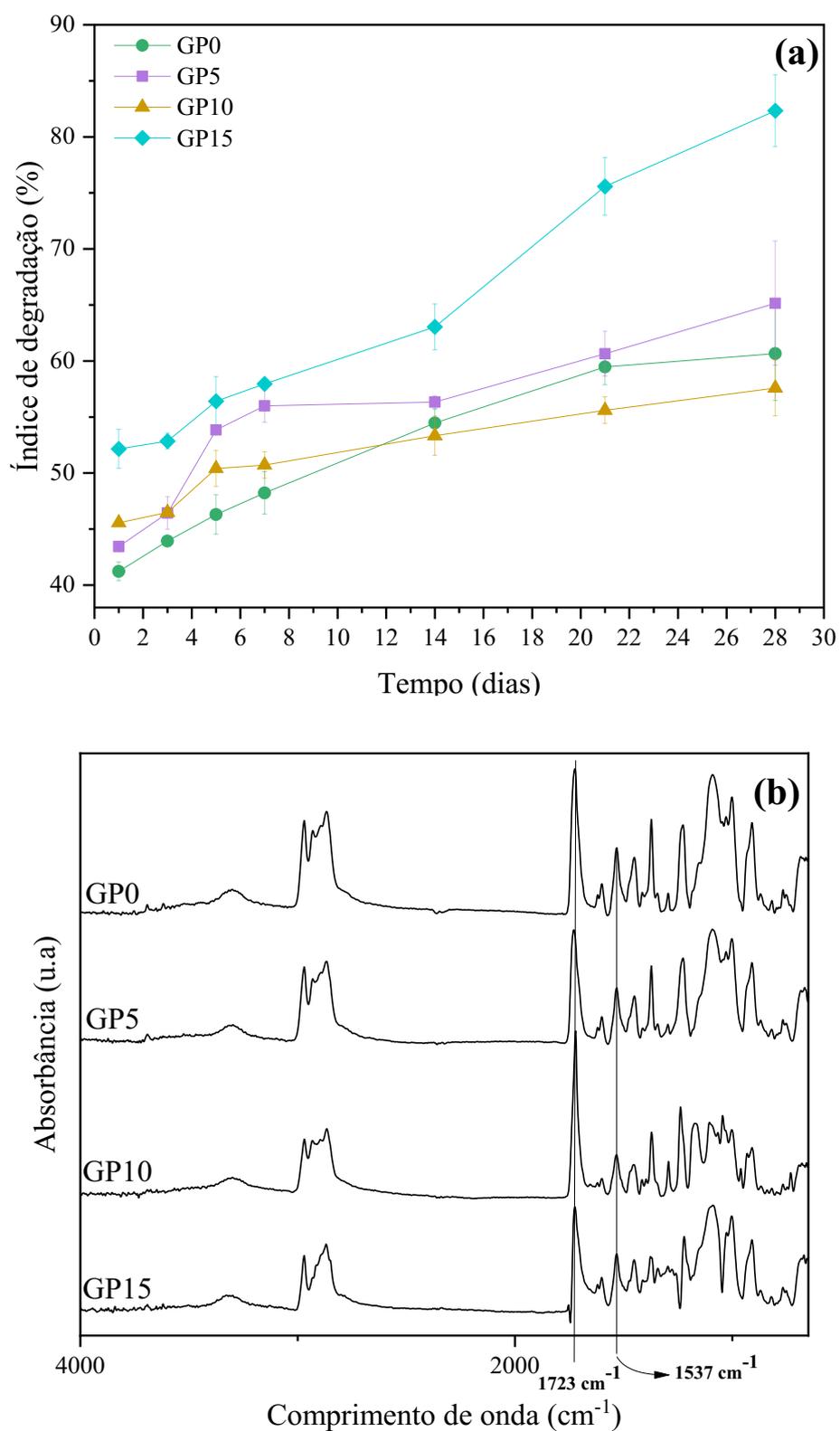


Figura 5.7 – Índice de degradação em PBS (pH 7.4) das nanofibras GP0, GP5, GP10 e GP15 (a) e FTIR dessas amostras após submersas em PBS por 28 dias (b). Os resultados de índice de degradação foram expressos como média \pm desvio padrão ($n = 3$).

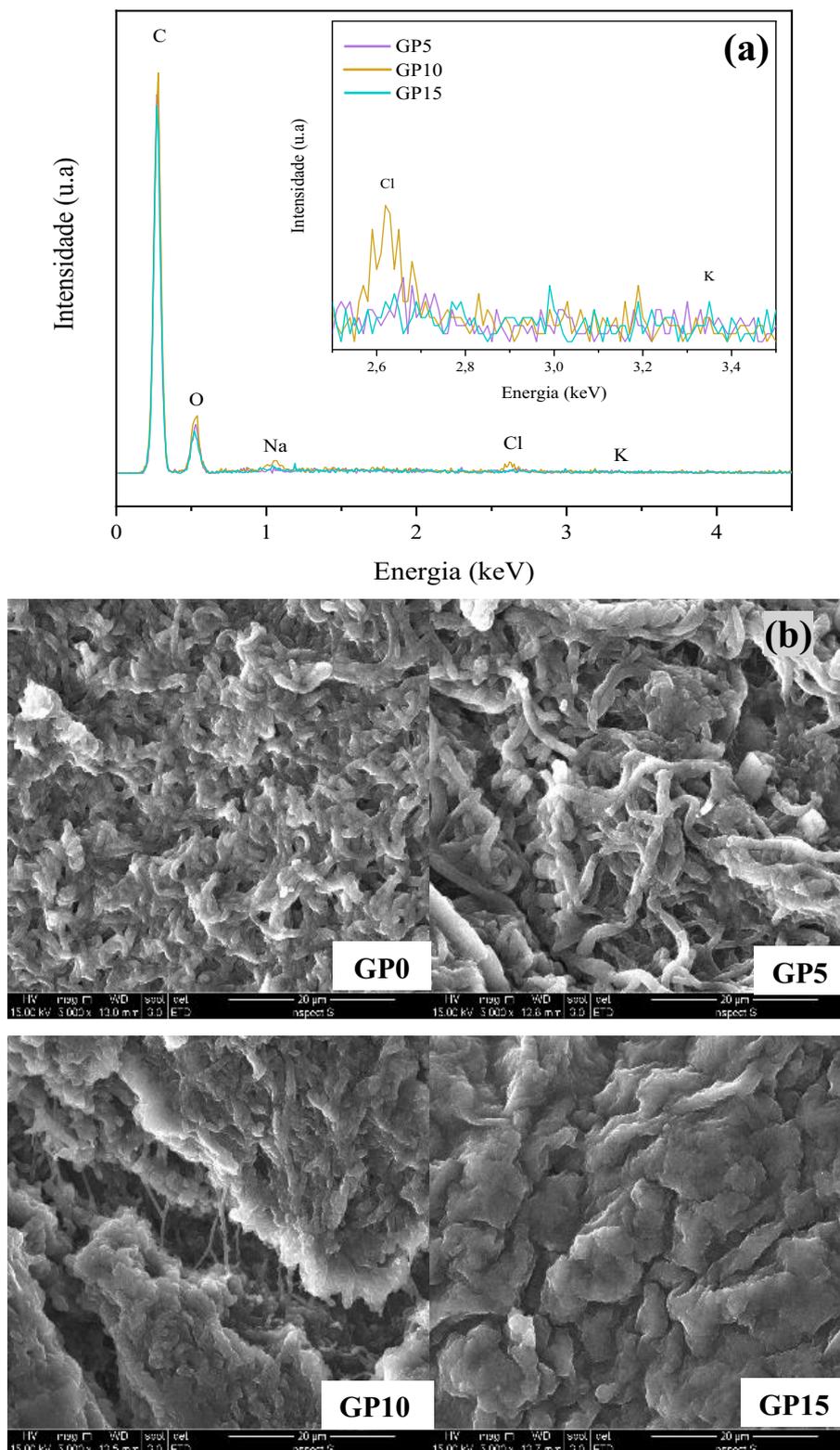


Figura 5.8 – Análise elementar e morfológica das amostras submersas por 28 dias em PBS: EDS das amostras GP (a); MEV das nanofibras GP após submersas em PBS por 28 dias (b).

O índice de degradação das nanofibras GP (Figura 5.7a) iniciou-se elevado, acima de 40 % para as amostras GP0, GP5 e GP10 e acima de 50 % para GP15. Esta rápida degradação inicial foi provavelmente devido à erosão da superfície das mantas (DULNIK *et al.*, 2016), seguida por uma perda de massa associada à liberação do fármaco no meio e à dissolução da Ge. Como já reportado na literatura, a dissolução da fração de Ge nas nanofibras GP pode ocorrer imediatamente após a imersão em condições fisiológicas (GIL-CASTELL *et al.*, 2020). A taxa de degradação do PCL é menor que a da Ge, devido à natureza semicristalina do PCL, bem como ao fato de que as áreas amorfas apresentam degradação significativamente maior (GOUDARZI *et al.*, 2020). A principal reação química para a degradação da gelatina é despolimerização seguida da dissolução das pequenas porções despolimerizadas assim, conforme o tempo de reação aumenta, a quantidade de polímero dissolvido aumenta (HIVECHI; BAHRAMI; SIEGEL, 2019). Ressalta-se, ainda, que a degradação das nanofibras GP do presente estudo pode estar intimamente relacionada à interação nanofibras e moléculas de água, uma vez que as amostras apresentam hidrofília considerável (SAMADIAN *et al.*, 2020).

No primeiro dia de incubação, o índice de degradação foi proporcional a concentração de DP presente nas nanofibras. Após o primeiro dia, a degradação ocorreu de forma mais lenta a taxas quase constantes, provavelmente devido à erosão em massa na parte interna do material que normalmente tende a ser mais lenta que a superfície (DULNIK *et al.*, 2016). Resultado similar foi reportado por Goudarzi *et al.* (2020) que em seus estudos reportaram uma maior perda de massa durante os primeiros 5 dias de incubação e uma drástica redução após esse período.

Após 28 dias de incubação em PBS, as amostras GP0, GP5 e GP10 mostraram um índice de degradação próximo (cerca de 60%), enquanto a amostra GP15 apresentou índice divergente, acima de 80%. Essa diferença nos perfis de degradação em relação a amostra GP15 é estatisticamente significativa ($p < 0,05$), exceto para a amostra GP5, que não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) quando comparada com a amostra GP15. Esse comportamento pode estar associado com a morfologia da amostra GP15, que apresentou elevada concentração de defeitos em sua estrutura, favorecendo maior dissolução/degradação das mantas, como mostrado na Figura 5.8. Além disso, a perda de

massa superior a 50% para as amostras após o período de incubação de 28 dias pode estar associada à degradação do PCL. Para as amostras contendo DP, deve-se considerar que a liberação do fármaco pode gerar porosidade, acelerando a degradação do polímero.

A dissolução da gelatina nas nanofibras após a incubação em PBS (pH 7,4) por 28 dias foi analisada por FTIR (Figura 5.7b). O pico característico da amida I (1630 cm^{-1}) e II (1537 cm^{-1}) do componente Ge nas amostras de nanofibras foi significativamente enfraquecido se comparado às análises iniciais (Figura 5.4). A razão relativa entre as intensidades das bandas em 1723 cm^{-1} (alongamento carbonila do PCL) e 1537 cm^{-1} (amida II, alongamento CN) antes da incubação foi de 1,14; 1,14; 1,39; 1,85 e após 28 dias de incubação passou a ser 1,18; 1,18; 1,74; e 1,93 para as amostras GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. Já a razão relativa entre as intensidades das bandas em 1723 cm^{-1} (estiramento carbonila do PCL) e 1630 cm^{-1} (amida I, estiramento CO e CN) antes da incubação foi de 1,19; 1,23; 1,50 e 2,07 e após 28 dias de incubação passou a ser 1,34; 1,37; 2,15; 5,21 para as amostras GP0, GP5, GP10 e GP15, respectivamente. Esses resultados confirmam, principalmente, a dissolução da Ge no período avaliado.

A presença do fármaco nas nanofibras após a incubação em PBS foi avaliada por EDS (Figura 5.8a) e a análise mostrou que mesmo após submersa por 28 dias em PBS, a amostra GP10 apresentou um pico associado à presença de cloro na estrutura, evidenciando, portanto, a presença de DP nesta amostra após o período analisado.

Por fim, a Figura (5.8b) ilustra as mudanças morfológicas das nanofibras após submersas por 28 dias em PBS. Sinais como inchaço e alterações morfológicas nas nanoestruturas neste período de estudo foram visualizados. Ainda que a perda de massa mencionada anteriormente e atribuída à dissolução de Ge sugerisse uma redução nos diâmetros das nanofibras, notou-se o aumento do diâmetro das fibras, a maior interligação entre elas e a consequente redução dos poros provavelmente devido à penetração da solução de PBS na estrutura (GHASEMI-MOBARAKEH *et al.*, 2008; GIL-CASTELL *et al.*, 2020). A mudança significativa na nanoestrutura também pode estar associada à lixiviação de DP. Além disso, a superfície das estruturas tornou-se rugosa após o período de degradação analisado (REN *et al.*, 2017). A presença desses sulcos na superfície das fibras,

principalmente nas amostras com maiores concentrações de DP (GP10 e GP15), pode estar relacionada aos vestígios da Ge e do DP lixiviados, uma vez que a dispersão molecular pode ser prejudicada devido ao caráter emulsionante da solução eletrofiada (DULNIK *et al.*, 2016). Ademais, a amostra GP15 apresentou maior aglomeração das fibras.

Embora a amostra GP10 tenha apresentado uma morfologia similar às demais nanofibras GP após a incubação em PBS, as micrografias evidenciaram a presença de algumas nanofibras íntegras, isto é, que aparentemente não apresentaram alterações como intumescimento e degradação. Este resultado corrobora com as análises apresentadas nas Figuras (5.6) e (5.7a), uma vez que a razão de intumescimento e o índice de degradação da amostra GP10 foram os menores dentre as demais nanofibras GP após o período de incubação de 28 dias.

5.6 Eficiência de Incorporação

Entre as diversas abordagens avançadas para incorporação de fármacos nas nanofibras, a dispersão do fármaco ou dissolução na solução polimérica a ser eletrofiada constitui-se como principal meio para tal fim (MOHAMMADIAN; EATEMADI, 2017). Assim, buscou-se avaliar a eficiência de incorporação do fármaco por meio da abordagem mencionada nas mantas do presente estudo, que foi determinada a partir da medida do teor de fármacos nas amostras pesquisado por espectrofotometria no UV-Vis após definição da curva analítica e da melhor equação da reta. Ressalta-se que toda a solução presente na seringa foi eletrofiada, assegurando a presença do DP dosado na área total da manta. A Tabela (5.2) apresenta a eficiência de encapsulamento do fármaco nas amostras GP5, GP10 e GP15.

Amostra	EIF (Eficiência de Incorporação do Fármaco)
GP5	99,74 ± 0,96
GP10	92,30 ± 5,03
GP15	84,75 ± 5,85

Tabela 5.2 – Eficiência de incorporação do fármaco nas amostras GP5, GP10 e GP15. Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

A alta EIF nas nanofibras apresentada na Tabela (5.2) pode estar relacionada a possível formação de ligação de hidrogênio entre o DP e a Ge, que resulta em boa interação do fármaco com a matriz polimérica e maior dispersão nas mantas. Alguns autores evidenciam que polímeros hidrofílicos e anfífilicos podem aumentar a carga do fármaco na matriz. No entanto, estes resultados podem estar associados, principalmente, a estrutura nanofibrosa das mantas eletrofiadas, visto que este SLF tende a apresentar por si elevada eficiência de encapsulamento (AJMAL et al., 2019; NANOMED et al., 2017).

Os resultados encontrados no presente estudo são compatíveis com algumas pesquisas, dentre elas a de Ajmal *et al.* (2019), que identificaram que as nanofibras de Ge/PCL carregadas com cloridrato de ciprofloxacina e quercetina apresentavam eficiência de incorporação próximo a 90 %. Ghalei; Asadi; Ghalei (2018) avaliaram a eficiência de incorporação do diclofenaco em nanopartículas de zeína e identificaram uma EIF máxima de 48 % dentre as formulações estudadas. Ademais, notaram que o aumento da proporção diclofenaco/zeína levou a uma redução na EIF. Resultado semelhante foi encontrado nesta pesquisa, uma vez o aumento da concentração de DP (% m/m) incorporado reduziu a EIF nas nanofibras, pois enquanto GP5 apresenta EIF próximo a 100 %, GP10 e GP15 apresentam EIF próximos a 92 e 85 %, respectivamente. Este comportamento pode estar associado ao caráter de emulsão da solução que é acentuado à medida em que se eleva a concentração de DP (% m/m) incorporada ao sistema, reduzindo sua capacidade de dispersão nas mantas, uma vez que maiores concentrações de defeitos e heterogeneidade é observado com o aumento da concentração de DP. A Figura (5.1) confirma que a presença de aglomerados na estrutura na forma de “bolsas” que se torna mais predominante e característico na manta GP15. Esta deve ser a razão na qual esta condição deve apresentar menor EIF.

5.7 Ensaio de liberação *in vitro*

Para avaliar a aplicação potencial como um sistema de liberação de fármaco, o perfil de liberação *in vitro* do DP a partir de nanofibras GP foi estudado em PBS (pH 7,4). Para estudar os perfis de liberação *in vitro*, é necessário estabelecer a condição *sink*, ou seja, o valor da concentração do fármaco no meio de liberação deve ser baixo o suficiente para

não afetar o gradiente de concentração para a liberação deste fármaco (CHO *et al.*, 2004). A solubilidade máxima do DP em PBS pH 7,4 foi de $12,99 \pm 0,62$ mg/mL. Para avaliar o efeito da temperatura, as curvas de liberação acumulada das amostras GP5, GP10 e GP15 em diferentes temperaturas em função do tempo são mostradas na Figura (5.9a). Para analisar o efeito da concentração, as curvas de liberação acumulada das nanofibras GP com diferentes concentrações de DP em uma mesma temperatura em função do tempo são mostradas na Figura (5.9b).

Foi possível monitorar a liberação de DP a partir das amostras até que se atingisse próximo de 100 %. Para todas as amostras GP, pôde-se observar que embora o sistema não seja bifásico, a liberação apresenta um perfil com “dois estágios” totalmente distintos em comportamento, uma liberação inicial rápida (“*burst*”) na primeira hora, seguida por uma liberação mais lenta até 168 horas (exceto para G10 e G15 na temperatura de 60 °C, cuja liberação ocorreu em um intervalo de tempo menor de 72 horas). Às 168 horas, foi observado que a liberação do fármaco estava quase completa, próxima a 100 %. A lixiviação do DP disperso próximo à superfície das nanofibras pode favorecer a difusão no tempo inicial, resultando em liberação inicial rápida. Além disso, uma degradação inicial rápida associada a dissolução da gelatina pode ter potencializado essa liberação “*burst*” inicial. Por outro lado, o “segundo estágio” de liberação mais lento poderia ser atribuído à lenta biodegradação da gelatina devido ao emaranhamento com as cadeias PCL e a cristalinidade do PCL, podendo estar relacionado, também, ao caminho de difusão mais longo no interior das nanofibras (AJMAL *et al.*, 2019). Esse SLF poderia ser empregados em casos onde é necessário um efeito terapêutico máximo em um curto espaço de tempo combinado com os efeitos prolongados oferecidos pela liberação sustentada do fármaco. AINEs são candidatos apropriados para serem incorporados a esses sistemas (KAJDIČ *et al.*, 2019). Portanto, os perfis de liberação de DP a partir de nanofibras GP se encaixam adequadamente nesses sistemas. Embora os perfis de liberação da amostra GP10 em diferentes temperaturas tenham apresentado diferenças, estas não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). O mesmo ocorreu para a amostra GP5, que apresentou variações no perfil de liberação em função da temperatura, mas não significativas ($p > 0,05$). Para a amostra GP15, entretanto, o perfil de liberação

da temperatura ambiente apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado com as demais temperaturas testadas.

Foi observado que o perfil de liberação depende tanto da concentração de DP quanto da temperatura de teste. Em todas as temperaturas (Figura 5.9b), a amostra GP10 apresentou o maior perfil de liberação quando comparada às outras concentrações. Esta amostra, em particular, apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todas as temperaturas testadas quando comparada à amostra GP5. Em geral, fibras de menor diâmetro tendem a apresentar uma liberação inicial mais rápida (“*burst*”) quando comparadas àquelas com diâmetros maiores (MWIIRI; DANIELS, 2020). Esse fenômeno pode estar relacionado ao fato de que diâmetros menores implicam em maior área de superfície e menor caminho para difusão, aumentando a penetração e exposição da água e, assim, beneficiando o transporte de medicamentos (GOONOO; BHAW-LUXIMON; JHURRY, 2014). Em geral, considerando a faixa de temperatura testada, esse parâmetro específico apresentou menor efeito nos perfis de liberação do fármaco quando comparado à concentração de DP, que apresentou efeito mais pronunciado.

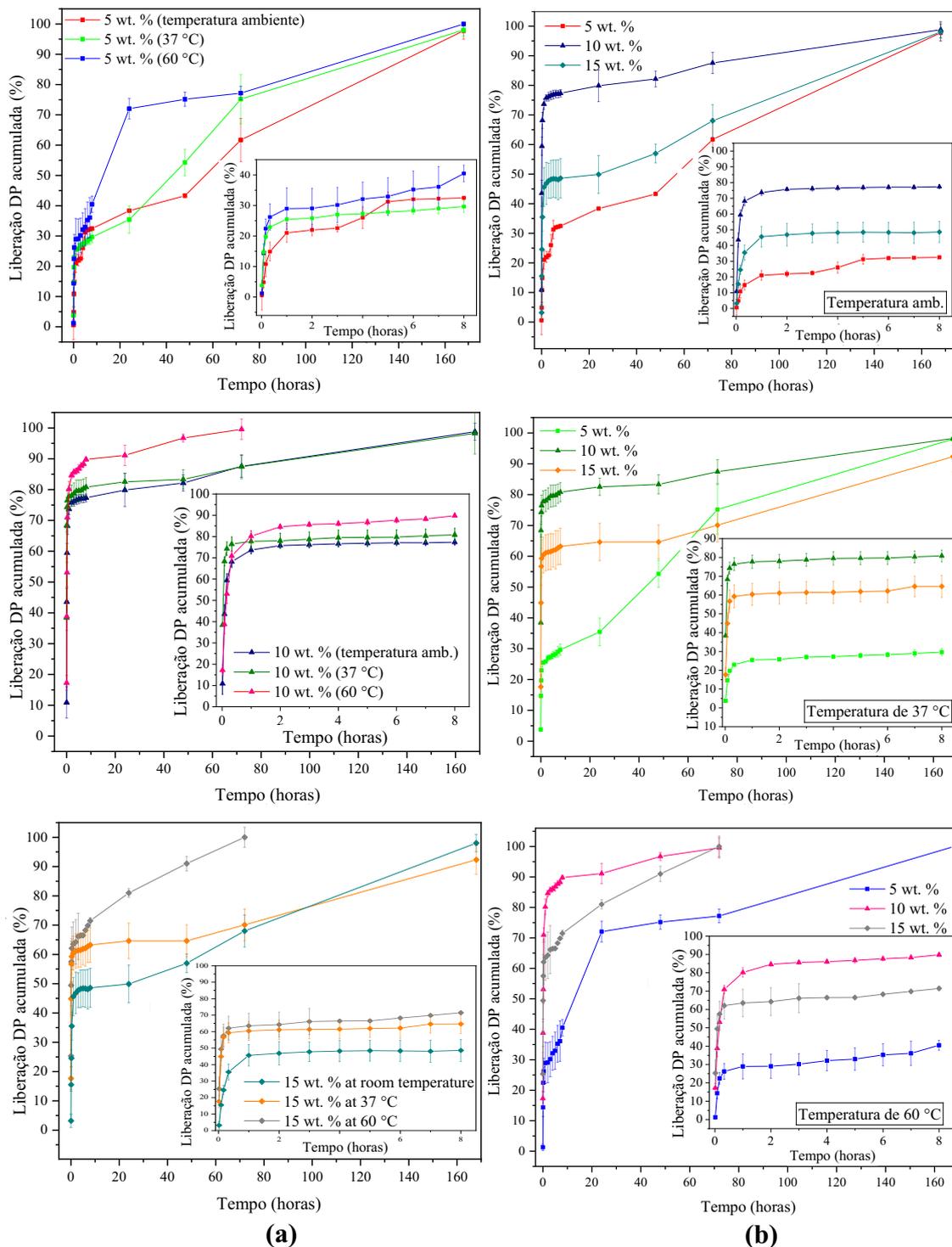


Figura 5.9 – Liberação acumulada (%) das amostras GP em diferentes temperaturas (a). Liberação acumulada (%) nas temperaturas ambiente, 37 e 60 °C das nanofibras com diferentes concentrações (% m/m) de DP (b). Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (n = 3).

5.8 Análise de cinética de liberação

Os mecanismos gerais de liberação de fármacos incluem a difusão do fármaco, inchamento da matriz e relaxamento / dissolução do polímero e está relacionado à natureza do sistema polimérico (MOYDEEN *et al.*, 2018; MWIIRI; DANIELS, 2020). A análise da cinética de liberação é essencial para a compreensão do mecanismo de liberação dos agentes terapêuticos (PEPPAS; NARASIMHAN, 2014). Existem vários modelos cinéticos que descrevem a liberação de fármacos *in vitro* a fim de prever o desempenho biológico *in vivo* e incluem ordem zero, primeira ordem, Hixson-Crowell e Higuchi. Embora o sistema não tenha sido projetado para ser bifásico e possua dois perfis de liberação distintos previamente programados pela construção da estrutura, a análise da cinética de liberação foi realizada na primeira hora e no intervalo de tempo restante. Esta análise em dois momentos distintos foi realizada com o objetivo de entender melhor como ocorre a liberação no primeiro momento durante a liberação “burst” (primeiro estágio de liberação) como mostrado na Figura (5.10) e no tempo restante de liberação (segundo estágio de liberação) evidenciado pela Figura (5.11). O coeficiente de determinação R^2 de todas as amostras ajustadas aos modelos cinéticos são mostrados na Tabela (5.3). Amostras com diferentes concentrações de DP (% m/m) em temperaturas distintas exibiram diferentes taxas de liberação, portanto, a cinética de liberação do fármaco está diretamente relacionada à composição das nanofibras e à temperatura de teste. A partir do estudo cinético, o melhor ajuste para todas as amostras no primeiro estágio e em todas as temperaturas, conforme determinado por valores de correlação mais altos, foi obtido pela aplicação do modelo de Higuchi, onde a liberação do fármaco é governada tanto pelo mecanismo de dissolução quanto pelo mecanismo de difusão, principalmente este último (GOUDA; BAISHYA; QING, 2017). Este modelo é amplamente utilizado para estudar a liberação de fármacos hidrossolúveis e pouco solúveis incorporados em matrizes semissólidas e / ou sólidas (COSTA; LOBO, 2001).

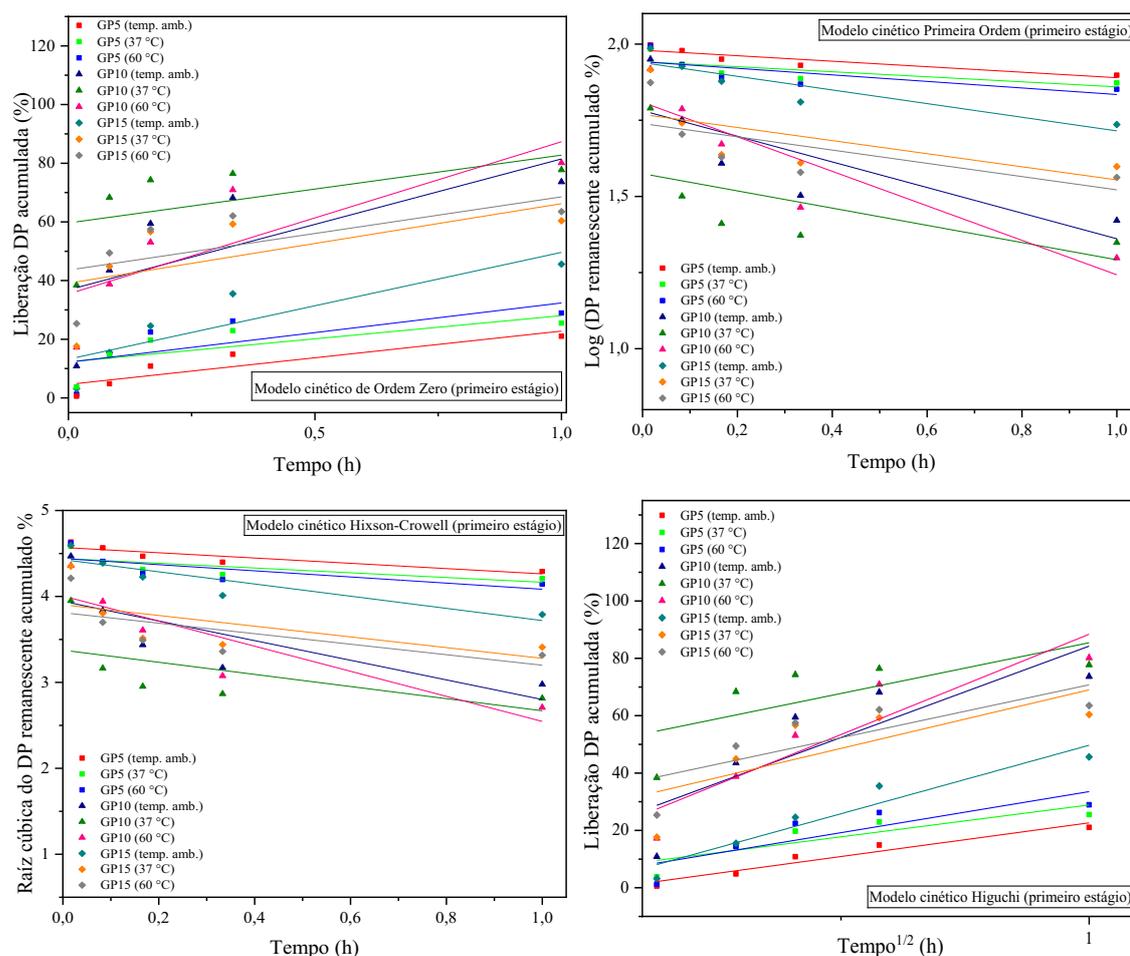


Figura 5.10 – Gráficos de modelo cinético de liberação de DP a partir das nanofibras a temperatura ambiente, 37 °C e 60 °C no primeiro estágio de liberação (entre 0 e 1 hora).

Como pode ser visto na Tabela (5.3), na segunda etapa, as amostras em temperatura ambiente (GP5, GP10 e GP15) provaram ter um bom ajuste ao modelo de ordem zero, indicando que o medicamento é liberado em uma taxa constante (SINGHVI; SINGH, 2011). Este modelo cinético é utilizado para descrever a dissolução do fármaco de diversos tipos de formas farmacêuticas, como no caso de alguns sistemas transdérmicos e é o método ideal de liberação do fármaco para atingir uma ação farmacológica prolongada (COSTA; LOBO, 2001). No segundo estágio a 60 °C, as curvas de liberação de todas as amostras foram melhor ajustadas ao modelo de Hixson-Crowell, indicando que a liberação do fármaco é controlada principalmente por mudanças na área de superfície durante o processo de dissolução (GOUDA; BAISHYA, QING, 2017). No entanto a 37 °C, não há um único modelo cinético que melhor se adapte a todas as

amostras (GP5, GP10 e GP15). Enquanto a amostra GP5 foi melhor ajustada ao modelo Hixson-Crowell, as amostras GP10 e GP15 provaram ter um bom ajuste ao modelo de ordem zero. Observou-se, portanto, que o modelo cinético de liberação para essas amostras (GP5, GP10 e GP15) sob condições descritas anteriormente (ambiente, 37 e 60 °C) está intimamente relacionado à concentração de DP no sistema, bem como a temperatura e apresentou alterações com o estágio analisado.

As amostras foram ajustadas ao modelo semi-empírico de Korsmeyer-Peppas (Figura 5.12) para entender o mecanismo de liberação do sistema a partir da determinação do valor n . O expoente de liberação n para as nanofibras Ge / PCL carregadas com DP é exibido na Tabela (5.3). Com relação às amostras GP5 e GP15, o aumento da temperatura testada não modificou o mecanismo de liberação. Em outras palavras, essas amostras seguem um mecanismo de difusão Fickiano, independente da temperatura e a liberação ocorre devido à diferença de concentração entre a matriz e o meio de dissolução (SINGHVI; SINGH, 2011). Divergente deste comportamento, a amostra GP10 à temperatura ambiente apresentou transporte anômalo, havendo competição entre os mecanismos de difusão e erosão das cadeias poliméricas (MOYDEEN *et al.*, 2018). No entanto, o aumento da temperatura favoreceu a ocorrência da difusão Fickiana.

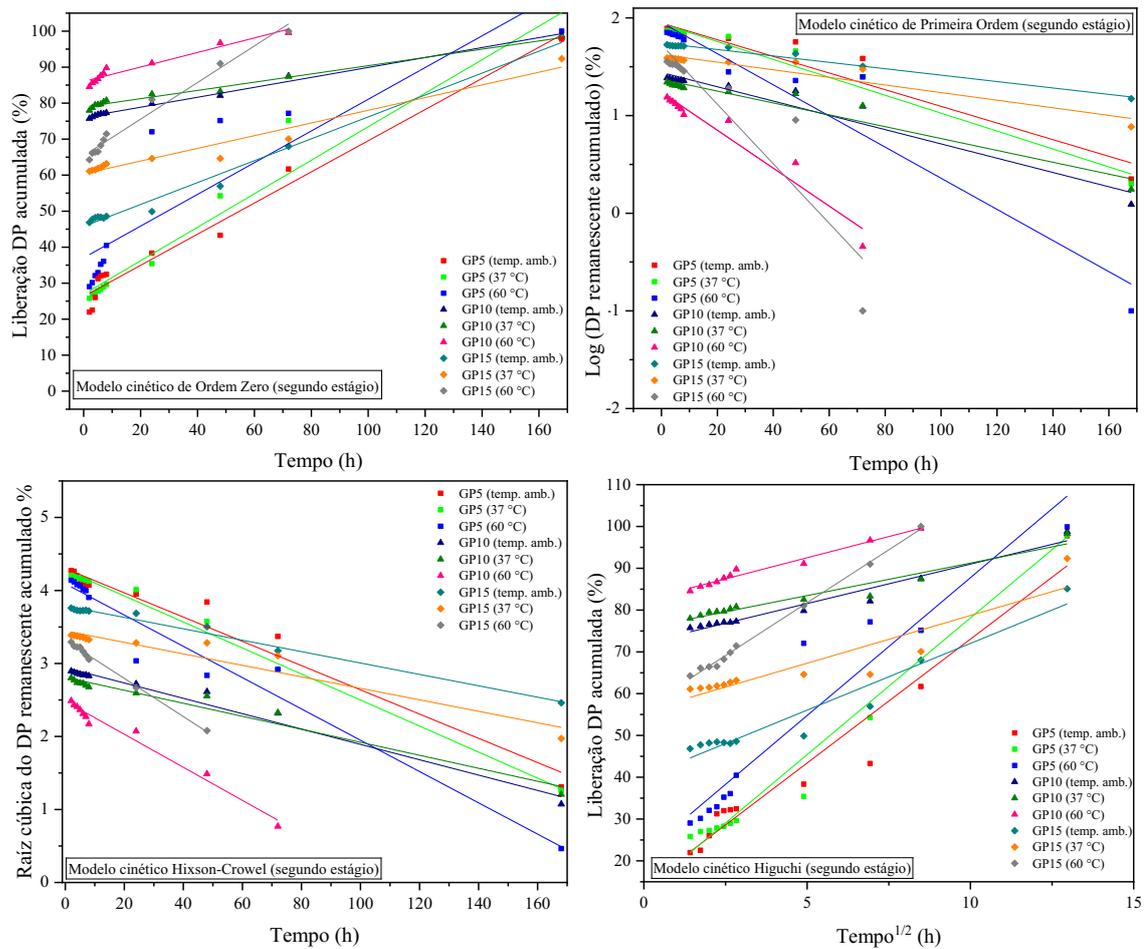


Figura 5.11 – Gráficos de modelo cinético de liberação de DP a partir das nanofibras a temperatura ambiente, 37 °C e 60 °C no segundo estágio de liberação (a partir de uma hora).

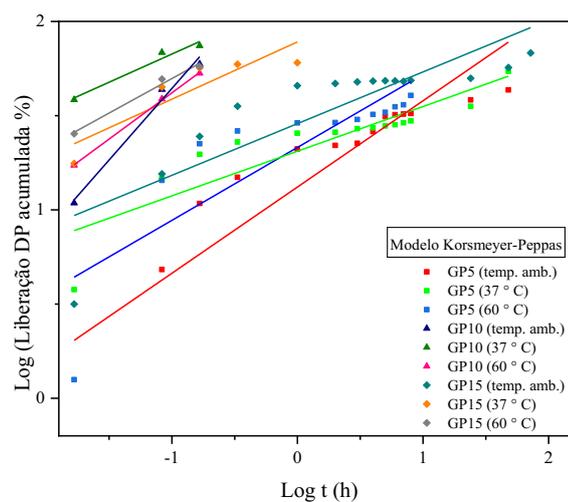


Figura 5.12 – Modelo cinético de Korsmeyer-Peppas ($f_t < 60\%$).

Amostra	Coeficiente de determinação (R ²) (primeiro estágio/segundo estágio)				Korsmeyer – Peppas		
	Ordem Zero	Primeira Ordem	Hixson-Crowell	Higuchi	Expoente de Liberação (n)	Coeficiente de determinação (R ²)	Mecanismo de Liberação
GP5 (t. amb.)	0,80 / 0,97	0,83 / 0,92	0,82 / 0,96	0,94 / 0,95	0,46	0,80	Difusão Fickiana
GP5 (37 ° C)	0,54 / 0,95	0,57 / 0,97	0,56 / 0,99	0,75 / 0,97	0,24	0,76	Difusão Fickiana
GP5 (60 ° C)	0,52 / 0,79	0,55 / 0,93	0,54 / 0,96	0,73 / 0,92	0,39	0,65	Difusão Fickiana
GP10 (t. amb.)	0,50 / 0,99	0,64 / 0,94	0,59 / 0,98	0,71 / 0,96	0,76	0,97	Difusão não-Fickiana
GP10 (37 ° C)	0,31 / 0,98	0,39 / 0,93	0,36 / 0,96	0,52 / 0,94	0,30	0,93	Difusão Fickiana
GP10 (60 ° C)	0,67 / 0,94	0,82 / 0,94	0,77 / 0,98	0,86 / 0,97	0,49	0,99	Difusão Fickiana
GP15 (t. amb.)	0,76 / 0,99	0,83 / 0,98	0,81 / 0,99	0,92 / 0,94	0,27	0,72	Difusão Fickiana
GP15 (37 ° C)	0,36 / 0,96	0,41 / 0,90	0,39 / 0,92	0,58 / 0,83	0,30	0,80	Difusão Fickiana
GP15 (60 ° C)	0,40 / 0,98	0,47 / 0,84	0,45 / 0,99	0,62 / 0,99	0,37	0,98	Difusão Fickiana

Tabela 5.3 – Expoente de liberação (n) e coeficiente de determinação (R²) para as amostras GP5, GP10 e GP15 em diferentes temperaturas.

Na primeira hora de liberação (primeiro estágio), o mecanismo de liberação é governado tanto pela dissolução quanto pela difusão (principalmente pelo mecanismo de Fickiano). Como mencionado anteriormente, a dissolução da Ge nas nanofibras de Ge/PCL pode ocorrer imediatamente após a imersão em condições fisiológicas, impactando na taxa de liberação do fármaco neste período específico. No segundo estágio, entretanto, há competição entre o modelo de Hixson-Crowell e o de ordem zero, principalmente associada às mudanças na temperatura de teste. Enquanto em temperatura mais baixa prevalece o modelo de ordem zero, com o aumento da temperatura a cinética é melhor descrita pelo modelo de Hixson-Crowell, onde o processo de dissolução controla a liberação do fármaco. Provavelmente, a alta temperatura deve acelerar o processo de degradação da matriz regido pela dissolução do Ge, portanto, em baixa temperatura, a degradação da matriz tem um efeito menor no mecanismo de liberação. A composição (% m/m) quase não tem efeito sobre os mecanismos associados à cinética de liberação, que são afetados principalmente pela temperatura.

5.9 Ensaio de permeação cutânea

Dentre as mantas de nanofibras desenvolvidas, a GP10 (10 % m/m de DP) apresentou alta carga de fármaco, menor diâmetro médio com distribuição de diâmetro mais estreita, taxa de intumescimento e índice de degradação menores quando comparados com as outras amostras, bem como o maior perfil de liberação dentre as demais. Por essas razões e por se caracterizar como uma concentração média dentre as estudadas (GP5 e GP15), a amostra GP10 foi escolhida para realização do estudo de permeação cutânea *in vitro*. A quantidade ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de DP retido na epiderme e derme da pele da orelha de porco após 24 horas de estudo de permeação *in vitro* é apresentado na Figura (5.13). Ressalta-se que a pele da orelha suína representa um modelo adequado para simular a pele humana e mostra uma penetração semelhante para substâncias aplicadas topicamente (BOLZINGER *et al.*, 2012; GODIN; TOUITOU, 2007; JACOBI *et al.*, 2007).

A permeação de DP deste sistema de liberação foi avaliada usando pele de orelhas suínas. O DP retido na derme ($66,7 \pm 8,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) foi 2,3 vezes maior do que na porção epidérmica da pele da orelha de porco ($29,4 \pm 5,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Apenas $7,6 \pm 3,8 \mu\text{g}/\text{mL}$ de DP foi detectado no meio receptor após 24 horas, indicando pouca permeação transdérmica de DP a partir das mantas.

As nanofibras GP proporcionaram retenção epidérmica e dérmica de DP, respectivamente 14,5 e 32,9 % da dose aplicada ($68 \mu\text{g DP}/\text{cm}^2$). No entanto, foi observada pouca permeação transdérmica (3,75 % do DP aplicado). Numerosos estudos provaram que a concentração de um medicamento no soro sanguíneo após a administração local de AINE na pele é baixa (LEPPERT *et al.*, 2018). No entanto, a permeação observada pode ser explicada pelo processo de liberação controlada e oclusão promovido pela manta desenvolvida. A oclusão pode levar à retenção de água na pele, aumentando sua umidade e acelerando a hidratação do SC. De acordo com Iikura *et al.* (2019), maior umidade na pele contribui significativamente para maior penetração dos medicamentos hidrofílicos por causa do aumento no parâmetro de partição, independentemente da polaridade do fármaco. A hidratação do SC pode levar ao rearranjo estrutural de lipídios em corneócitos devido à interação da água com as cabeças polares dos lipídios do SC, modificando os

espaços entre as cadeias de hidrocarbonetos (BOUWSTRA *et al.*, 2003; VYUMVUHORE *et al.*, 2013).

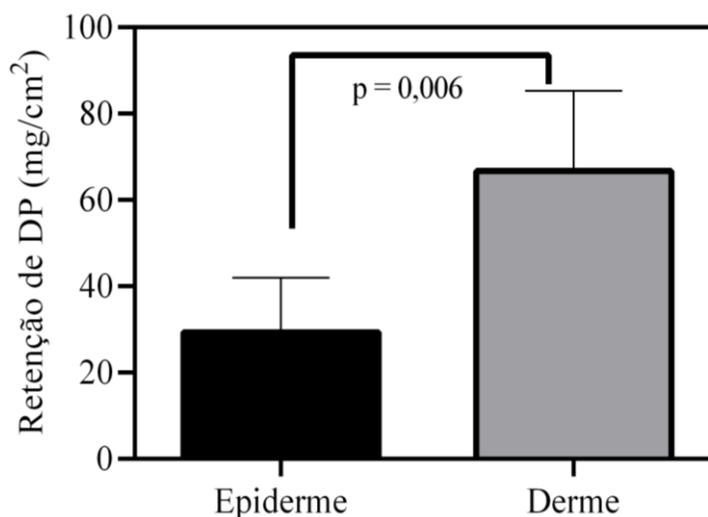


Figura 5.13 - Quantidade ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de DP retido na epiderme e derme da pele da orelha de porco após 24 horas de estudo de permeação *in vitro*. Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão (n = 5).

Cilurzo *et al.* (2008) relataram a preparação e avaliação *in vitro* de patches de DP usando o copolímero poli(acrilato de etila-co-metacrilato de metila) e citrato de trimetila como plastificante ($300 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ de DP). Os adesivos desenvolvidos foram aplicados em pele abdominal humana de espessura total em células de Franz e as amostras foram coletadas por até 24 horas. Ao final dos estudos de permeação, havia 3 % de DP permeado dos patches, sendo esse percentual semelhante ao resultado deste estudo. Por serem absorvidos pela circulação sistêmica em porcentagem limitada, a aplicação tópica dos AINEs apresenta grande benefício, por evitar potenciais efeitos adversos graves como quando aplicados pelas vias de administração sistêmica. Assim, as mantas de nanofibras GP10 apresentam resultados satisfatórios para a aplicação tópica desta formulação, uma vez que o principal mecanismo de ação é baseado em uma alta concentração do fármaco nas camadas mais profundas da pele, resultando em um efeito anti-inflamatório local (LEPPERT *et al.*, 2018).

CAPÍTULO 6: CONCLUSÃO

Neste estudo, novas nanofibras eletrofiadas de Ge/PCL incorporadas com DP em diferentes concentrações (5, 10 e 15 % m/m) foram obtidas com sucesso pelo método de eletrofiação e caracterizadas. A análise MEV-EDS indicou um diâmetro médio entre 227 – 330 nm e alterações morfológicas com a incorporação de DP, enquanto a análise de FTIR e DSC mostrou uma possível interação por ligação de hidrogênio entre Ge e DP, favorecendo a cristalização do PCL nas amostras carregadas. O estudo de biodegradação *in vitro* indicou uma degradação próxima a 60 % para todas as amostras, exceto GP15 (> 80 %). Além disso, FTIR e MEV-EDS das amostras submersas em PBS (pH 7,4) por 28 dias evidenciaram a dissolução da Ge, intumescimento/degradação das mantas, bem como a presença remanescente de parte de DP na amostra GP10 após o período de incubação. A análise de liberação *in vitro* demonstrou um perfil subdividido em dois “estágios” para todas as amostras e uma dependência do perfil de liberação com % m/m de DP e temperatura, embora esta última tenha apresentado efeito menos significativo sobre o sistema. A partir do estudo cinético, observou-se que o “primeiro estágio” de liberação das amostras é governado pelo mecanismo de dissolução e, principalmente, pela difusão. O “segundo estágio” apresentou ajustes diferentes conforme temperatura e concentração (% m/m). No geral, as amostras seguem o mecanismo de difusão Fickiano. Finalmente, nos estudos de permeação *in vitro*, a amostra GP10 apresentou um direcionamento epidérmico/dérmico ao longo das 24 h. Assim, as nanofibras GP desenvolvidas podem ser uma alternativa interessante para o tratamento de patologias tópicas em que o DP é recomendado, visando efeitos sistêmicos baixos ou ausentes.

CAPÍTULO 7: SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Avaliar o sistema de nanofibras GP incorporado com o diclofenaco de sódio e analisar o efeito dessa mudança no estudo de permeação *in vitro*.
- ✓ Orientar as nanofibras e visualizar o efeito da orientação destas no perfil de liberação.
- ✓ Produzir um sistema de nanofibras casca – núcleo pelo método de eletrofiação coaxial, em que a combinação Ge/PCL/DP componha o interior dessas nanofibras e avaliar este novo sistema, bem como a mudança no perfil de liberação.
- ✓ Reticular essas nanofibras e avaliar se o tempo de liberação do DP se torna mais prolongado.
- ✓ Desenvolver um estudo de liberação *in vivo* com o intuito de avaliar a ação anti-inflamatória das mantas e confirmar se a dosagem presente nas mesmas e avaliada através da permeação cutânea é adequada para conter uma inflamação local.

CAPÍTULO 8: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFAITATI, G. *et al.* Use of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for Symptomatic Treatment of Episodic Headache. *Pain Practice*, v. 17, n. 3, p. 392–401, maio 2016.

AI, W. *et al.* Drug delivery systems improve pharmaceutical profile and facilitate medication adherence. *Advances in therapy*, v. 22, n. 6, p. 559–577, nov. 2005.

AJMAL, G. *et al.* Biomimetic PCL-gelatin Based Nanofibers Loaded with Ciprofloxacin Hydrochloride and Quercetin: A Potential Antibacterial and Anti-Oxidant Dressing Material for Accelerated Healing of a Full Thickness Wound. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 567, p. 1–12, jun. 2019.

ALESSANDRI, F. *et al.* Topical Diclofenac Patch for Postoperative Wound Pain in Laparoscopic Gynecologic Surgery: A Randomized Study. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*, v. 13, n. 3, p. 195–200, jun. 2006.

ALQAHTANI, F. Y. *et al.* Preparation, Characterization, and Antibacterial Activity of Diclofenac-Loaded Chitosan Nanoparticles. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 27, n. 1, p. 82–87, jan. 2019.

AMJADI, M. *et al.* Recent Advances in Wearable Transdermal Delivery Systems. *Advanced Materials*, v. 30, n. 7, p. 1–19, 2018.

ARIAS, J. L. *et al.* Development of Iron/Ethylcellulose (Core/Shell) Nanoparticles Loaded with Diclofenac Sodium for Arthritis Treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 382, n. 1–2, p. 270–276, dez. 2009.

ATZENI, F., MASALA, I. F., SARZI-PUTTINI, P. A Review of Chronic Musculoskeletal Pain: Central and Peripheral Effects of Diclofenac. *Pain and Therapy*, v. 7, n. 2, p. 163–177, jun. 2018.

AYTAC, Z. *et al.* Fast-Dissolving Electrospun Gelatin Nanofibers Encapsulating Ciprofloxacin/Cyclodextrin Inclusion Complex. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 178, p. 129–136, fev. 2019.

BAISHYA, Himankar. Application of Mathematical Models in Drug Release Kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets. *Journal of Developing Drugs*, v. 6, n. 2, p. 1–8, 2017.

- BALDE, A. *et al.* Preparation and Optimization of Chitosan Nanoparticles from Discarded Squilla (*Carinosquilla Multicarinata*) Shells for the Delivery of Anti-Inflammatory Drug: Diclofenac. *Journal of the Air & Waste Management Association*, v. 70, n. 12, dez. 2020.
- BARROS, N. R. *et al.* Diclofenac Potassium Transdermal Patches Using Natural Rubber Latex Biomembranes as Carrier. *Journal of Materials*, v. 2015, p. 1–7, nov. 2015.
- BHARDWAJ, N., KUNDU, S. C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 3, p. 325–347, maio 2010.
- BHARGAVA, G. S. *et al.* Diclofenac patch: a better alternative to injectable diclofenac in postoperative pain management. *International Surgery Journal Bhargava GS et al. Int Surg J*, v. 2, n. 4, p. 623–628, 14 dez. 2015.
- BOLZINGER, M. A. *et al.* Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 17, n. 3, p. 156–165, jun. 2012
- BOUWSTRA, J. A. *et al.* Water Distribution and Related Morphology in Human Stratum Corneum at Different Hydration Levels. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 120, n. 5, p. 750–758, maio 2003.
- CARBINATTO, F. M. *et al.* Insights into the Swelling Process and Drug Release Mechanisms from Cross-Linked Pectin/High Amylose Starch Matrices. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 9, n. 1, p. 27–34, fev. 2014.
- ÇEBİ, A. T. *et al.* Comparison of the Effects of Diclofenac Potassium and Tenoxicam on Postoperative Pain, Swelling, and Trismus Following Third Molar Surgery. *Turkish Journal of Medical Sciences*, v. 48, n. 2, p. 271–278, 2018.
- CHO, Y. W. *et al.* Hydrotropic Agents for Study of In Vitro Paclitaxel Release from Polymeric Micelles. *Journal of Controlled Release*, v. 97, n. 2, p. 249–257, jun. 2004.
- CHONG, E. J. *et al.* Evaluation of Electrospun PCL/Gelatin Nanofibrous Scaffold for Wound Healing and Layered Dermal Reconstitution. *Acta Biomaterialia*, v. 3, n. 3, p. 321–330, maio 2007.
- CILURZO, F. *et al.* Design and Characterization of an Adhesive Matrix Based on a

Poly(Ethyl Acrylate, Methyl Methacrylate). *AAPS PharmSciTech*, v. 9, n. 3, p. 748–754, set. 2008.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and Comparison of Dissolution Profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 13, n. 2, p. 123–133, maio 2001.

DAELEMANS, L. *et al.* Nanostructured Hydrogels by Blend Electrospinning of Polycaprolactone/Gelatin Nanofibers. *Nanomaterials*, v. 8, n. 7, p. 1–12, jul. 2018.

DASH, S. *et al.* Kinetic Modeling on Drug Release from Controlled Drug Delivery Systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, v. 67, n. 3, p. 217–223, jun. 2010.

DAVIES, N. M., ANDERSEN, K. E. Clinical Pharmacokinetics of Diclofenac. Therapeutic Insights and Pitfalls. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 33, n. 3, p. 184–213, set. 1997.

DAVOODI, P. *et al.* Drug delivery systems for programmed and on-demand release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 132, p. 104–138, jul. 2018.

DAWES, G. J. S. *et al.* Size Effect of PLGA Spheres on Drug Loading Efficiency and Release Profiles. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 20, n. 5, p. 1089–1094, maio 2009.

DEITZEL, J. M. *et al.* The Effect of Processing Variables on The Morphology of Electrospun Nanofibers And Textiles. *Polymer*, v. 42, n. 1, p. 261–272, jan. 2001.

DENG, L. *et al.* Characterization of Gelatin/Zein Nanofibers by Hybrid Electrospinning. *Food Hydrocolloids*, v. 75, p. 72–80, fev. 2018.

DHANDAYUTHAPANI, B., KRISHNAN, U. M., SETHURAMAN, S. Fabrication and Characterization of Chitosan-Gelatin Blend Nanofibers for Skin Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, v. 94, n. 1, p. 264–272, jan. 2010.

DIEGEL, K. L.; DANILENKO, D. M.; WOJCINSKI, Z. W. The Integumentary System. In: WALLING, M. *et al.* *Fundamentals of Toxicologic Pathology*. 3.ed. Elsevier, 2018. Cap. 24, p. 791–822.

DULNIK, J. *et al.* Biodegradation of Bicomponent PCL/Gelatin and PCL/Collagen

Nanofibers Electrospun from Alternative Solvent System. *Polymer Degradation and Stability*, v. 130, p. 10–21, ago. 2016.

DUNGARANI, J. P *et al.* Development and Validation of the UV Spectrophotometric Method of Diclofenac Potassium in API and Stress Degradation Studies . *Inventi Journals*, v. 2013, n. 2, p. 1–5, fev. 2013.

EL-NEWEHY, M. H. *et al.* Preparation of Biocompatible System Based on Electrospun CMC/PVA Nanofibers as Controlled Release Carrier of Diclofenac Sodium. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, v. 53, n. 9, p. 566–573, jul. 2016.

EMERICH, D. F., THANOS, C. G. Nanotechnology and Medicine. *Expert Opinion on Biological Therapy*, v. 3, n. 4, p. 655–663, jul. 2003.

FENTON, O. S. *et al.* Advances in Biomaterials for Drug Delivery. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, v. 30, n. 29, p. 1-29, jul. 2018.

FINI, A. *et al.* Diclofenac salts. I. Fractal and thermal analysis of sodium and potassium diclofenac salts. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 90, n. 12, p. 2049–2057, dez. 2001.

FLORES, M. P.; CASTRO, A. P. C. R.; NASCIMENTO, J. S. Topical analgesics. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v. 62, n. 2, p. 248–252, abr. 2012.

FUKUSHIMA, K.; TABUANI, D.; CAMINO, G. Nanocomposites of PLA and PCL Based on Montmorillonite and Sepiolite. *Materials Science and Engineering C*, v. 29, n. 4, p. 1433–1441, maio 2009.

GARG, K., BOWLIN, G. L. Electrospinning Jets and Nanofibrous Structures. *Biomicrofluidics*, v. 5, n. 1, p. 1–19, mar. 2011.

GHALEI, S., ASADI, H., GHALEI, B. Zein Nanoparticle-Embedded Electrospun PVA Nanofibers as Wound Dressing for Topical Delivery of Anti-Inflammatory Diclofenac. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 135, n. 33, p. 1–11, set. 2018.

GHASEMI-MOBARAKEH, L. *et al.* Electrospun Poly(E-Caprolactone)/Gelatin Nanofibrous Scaffolds for Nerve Tissue Engineering. *Biomaterials*, v. 29, n. 34, p. 4532–4539, dez. 2008.

GIL-CASTELL, O. *et al.* Polycaprolactone/Gelatin-Based Scaffolds with Tailored Performance: In Vitro and In Vivo Validation. *Materials Science and Engineering C*, v. 107, p. 1–14, fev. 2020.

GODIN, B., TOUITOU, E. Transdermal Skin Delivery: Predictions for Humans from In Vivo, Ex Vivo and Animal Models. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, n. 11, p. 1152–1161, set. 2007.

GÓMEZ-CEREZO, N. *et al.* Mesoporous Bioactive Glass/ ϵ -Polycaprolactone Scaffolds Promote Bone Regeneration in Osteoporotic Sheep. *Acta Biomaterialia*, v. 90, p. 393–402, maio 2019.

GOONOO, N., BHAW-LUXIMON, A., JHURRY, D. Drug Loading and Release From Electrospun Biodegradable Nanofibers. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 10, n. 9, p. 2173–2199, set. 2014.

GOUDARZI, Z. *et al.* Structural and mechanical properties of fibrous poly (caprolactone)/gelatin nanocomposite incorporated with cellulose nanofibers. *Polymer Bulletin*, v. 77, n. 2, p. 717–740, 2020.

GOYAL, R. *et al.* Nanoparticles and Nanofibers for Topical Drug Delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 240, p. 77–92, out. 2016.

HAIDER, A., HAIDER, S., KANG, I. K. A Comprehensive Review Summarizing the Effect of Electrospinning Parameters and Potential Applications of Nanofibers in Biomedical and Biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 11, n. 8, 1165–1188, dez. 2018

HANA, Y. K. *et al.* Physicochemical Characterization of Physical Mixture and Solid Dispersion of Diclofenac Potassium with Mannitol. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 7, n. 1, p. 204–208, 2017.

HIVECHI, A., BAHRAMI, S. H., SIEGEL, R. A. Investigation of Morphological, Mechanical and Biological Properties of Cellulose Nanocrystal Reinforced Electrospun Gelatin Nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 124, p. 411–417, mar. 2019.

HOFFMAN, A. S. The Origins and Evolution of “Controlled” Drug Delivery Systems. *Journal of Controlled Release*, v. 132, n. 3, p. 153–163, dez. 2008.

HU, X. *et al.* Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Drug Delivery Applications. *Journal of Controlled Release*, v. 185, n. 1, p. 12–21, jul. 2014.

HUANG, Y. *et al.* Icariin-Loaded Electrospun PCL/Gelatin Sub-Microfiber Mat for Preventing Epidural Adhesions after Laminectomy. *International Journal of Nanomedicine*, v. 13, p. 4831–4844, ago. 2018.

HUANG, Z. M. *et al.* A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and their Applications in Nanocomposites. *Composites Science and Technology*, v. 63, n. 15, p. 2223–2253, nov. 2003.

HUANG, Z. M. *et al.* Electrospinning and Mechanical Characterization of Gelatin Nanofibers. *Polymer*, v. 45, n. 15, p. 5361–5368, jul. 2004.

IHKURA, H. *et al.* Effects of Temperature and Humidity on the Skin Permeation of Hydrophilic and Hydrophobic Drugs. *AAPS PharmSciTech*, v. 20, n. 7, p. 1–9, out. 2019.

JACOBI, U. *et al.* Porcine Ear Skin: An In Vitro Model for Human Skin. *Skin Research and Technology*, v. 13, n. 1, p. 19–24, fev. 2007.

JIANG, Y. C. *et al.* Electrospun Polycaprolactone/Gelatin Composites with Enhanced Cell–Matrix Interactions as Blood Vessel Endothelial Layer Scaffolds. *Materials Science and Engineering C*, v. 71, p. 901–908, fev. 2017.

KAJDIČ, S. *et al.* Electrospun Nanofibers for Customized Drug-Delivery Systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 51, p. 672–681, jun. 2019

KAMALY, Nazila *et al.* Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: Mechanisms of controlling drug release. *Chemical Reviews*, v. 116, n. 4, p. 2602–2663, 2016.

KANNAIYAN, J. *et al.* Fabrication of Electrospun Polycaprolactone/Gelatin Composite Nanofibrous Scaffolds with Cellular Responses. *American Journal of Nano Research and Applications*, v. 7, n. 2, p. 11–20, nov. 2019.

KARUPPUSWAMY, P. *et al.* Polycaprolactone Nanofibers for the Controlled Release of Tetracycline Hydrochloride. *Materials Letters*, v. 141, p. 180–186, fev. 2015.

KATHE, Kashmira; KATHPALIA, Harsha. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 12, n. 6, p. 487–

497, nov. 2017.

KHATTI, T., NADERI-MANESH, H., KALANTAR, S. M. Polypyrrole-Coated Polycaprolactone-Gelatin Conductive Nanofibers: Fabrication and Characterization. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, v. 250, p. 1–8, nov. 2019.

KI, C. S. *et al.* Characterization of Gelatin Nanofiber Prepared from Gelatin-Formic Acid Solution. *Polymer*, v. 46, n. 14, p. 5094–5102, jun. 2005.

KOGIKOSKI, S. *et al.* Polycaprolactone-Polyaniline Blend: Effects of the Addition of Cysteine on the Structural and Molecular Properties. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 121, n. 1, p. 863–877, dez. 2017.

KOŁODZIEJSKA, J., KOŁODZIEJCZYK, M. Diclofenac in the Treatment of Pain in Patients with Rheumatic Diseases. *Reumatologia*, v. 56, n. 3, p. 174–183, 2018.

KOMMAREDDY, S., SHENOY, D. B., AMIJI, M. M. Gelatin Nanoparticles and Their Biofunctionalization. In: KUMAR, C. S. S. R. *Biofunctionalization of Nanomaterials*. 1.ed., Wiley-VCH, 2005. Cap. 11, p. 330–352.

KORSMEYER, R. W. *et al.* Mechanisms of Solute Release from Porous Hydrophilic Polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 15, n. 1, p. 25–35, maio 1983.

KUMARI, Avnesh; YADAV, Sudesh Kumar; YADAV, Subhash C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 75, n. 1, p. 1–18, jan. 2010.

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, n. 4, p. 498–512, set. 2002.

KUPPAN, P., SETHURAMAN, S. PCL and PCL-Gelatin Nanofibers as Esophageal Tissue Scaffolds: Optimization, Characterization and Cell-Matrix Interactions Nanocarriers for pancreatic cancer View project Working on Islets Transplantation View project. *Article in Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 9, n. 9, p. 1540–1555, jan. 2013.

KWEON, H. Y. *et al.* A Novel Degradable Polycaprolactone Networks for Tissue

Engineering. *Biomaterials*, v. 24, n. 5, p. 801–808, fev. 2003.

LABET, M., THIELEMANS, W. Synthesis of Polycaprolactone: A Review. *Chemical Society Reviews*, v. 38, n. 12, p. 3484–3504, dez. 2009.

LARRAÑETA, E. *et al.* Microneedle Arrays as Transdermal and Intradermal Drug Delivery Systems: Materials Science, Manufacture and Commercial Development. *Materials Science and Engineering R: Reports*, v. 104, p.1–32, jun. 2016

LEÓN-REYES, M. R., CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ, G., ORTIZ, M. I. Pharmacokinetic of Diclofenac in the Presence and Absence of Glibenclamide in the Rat. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 12, n. 3, p. 280–287, out. 2009.

LEPPERT, Wojciech *et al.* Transdermal and topical drug administration in the treatment of pain. *Molecules*, v. 23, n. 3, p. 681, mar. 2018.

LI, D.; XIA, Y. Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel? *Advanced Materials*, v. 16, n. 14, p. 1151–1170, jul. 2004.

LI, D. *et al.* A Comparison of Nanoscale and Multiscale PCL/Gelatin Scaffolds Prepared by Disc-Electrospinning. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 146, p. 632–641, out. 2016.

LI, F., ZHAO, Y., SONG, Y. Core-Shell Nanofibers: Nano Channel and Capsule by Coaxial Electrospinning. In: KUMAR, A. *Nanofibers*. 1.ed. IntechOpen, 2010. Cap. 22, p. 419–438.

LI, X. *et al.* Diclofenac/Biodegradable Polymer Micelles for Ocular Applications. *Nanoscale*, v. 4, n. 15, p. 4667–4673, ago. 2012.

LI, Y. *Electrospinning of Core-shell Collagen Nanofibers*. Ontario: The University of Western Ontario, 2013, 126p. (Dissertação, Mestrado em Ciências da Engenharia).

LOPES, C. M., LOBO, J. M. S., COSTA, P. Formas Farmacêuticas de Liberação Modificada: Polímeros Hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, n. 2, p. 143–154, abr. 2005.

MCCLEANE, G. Topical analgesics. *Anesthesiology clinics*, v. 25, n. 4, p. 825–839, dez. 2007.

MENDES, A. C. *et al.* Hybrid Electrospun Chitosan-Phospholipids Nanofibers for Transdermal Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 510, n. 1, p. 48–56, ago. 2016.

MENG, Z. X. *et al.* Electrospinning of PLGA/Gelatin Randomly-Oriented and Aligned Nanofibers as Potential Scaffold in Tissue Engineering. *Materials Science and Engineering C*, v. 30, n. 8, p. 1204–1210, out. 2010.

MENG, Z. X. *et al.* Preparation and Characterization of Electrospun PLGA/Gelatin Nanofibers as a Potential Drug Delivery System. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 84, n. 1, p. 97–102, maio 2011.

MIRAFTAB, M., SAIFULLAH, A. N., ÇAY, A. Physical Stabilisation of Electrospun Poly(Vinyl Alcohol) Nanofibres: Comparative Study on Methanol and Heat-Based Crosslinking. *Journal of Materials Science*, v. 50, n. 4, p. 1943–1957, dez. 2015.

MITRAGOTRI, S. Sonophoresis: Ultrasound-mediated transdermal drug delivery. In DRAGICEVIC, N., MAIBACH, H. I. *Percutaneous Penetration Enhancers Physical Methods in Penetration Enhancement*. 1.ed. Heidelberg: Springer, 2017. p. 3–14.

MOHAMMADIAN, F., EATEMADI, A. Drug Loading and Delivery Using Nanofibers Scaffolds. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, v. 45, n. 5, p. 881–888, jul. 2017.

MONDAL, D., GRIFFITH, M., VENKATRAMAN, S. S. Polycaprolactone-Based Biomaterials for Tissue Engineering and Drug Delivery: Current Scenario and Challenges. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, v. 65, n. 5, p. 255–265, mar. 2016

MOORE, N. *et al.* Pharmacoeconomics of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Therapie*, v. 74, n. 2, p. 271–277, abr. 2019.

MOYDEEN, A. M. *et al.* Fabrication of Electrospun Poly(Vinyl Alcohol)/Dextran Nanofibers via Emulsion Process as Drug Delivery System: Kinetics and In Vitro Release Study. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 116, p. 1250–1259, set. 2018.

MUHEEM, Abdul *et al.* A review on the strategies for oral delivery of proteins and peptides and their clinical perspectives. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 24, n. 4, p.

413–428, jul. 2016.

MULLAH, M. F. *et al.* Thermal Properties of Gelatin and Chitosan. In: AHMED, J. *Glass Transition and Phase Transitions in Food and Biological Materials*. 1.ed. Chennai: John Wiley & Sons, 2017. p. 281–304.

MWIIRI, F. K., DANIELS, R. Electrospun nanofibers for biomedical applications. In: SHEGOKAR, R. *Delivery of Drugs*. 1.ed. Zimmern: Elsevier, 2020. p. 53–74.

NAGARAJAN, S. *et al.* Electrospun Nanofibers for Drug Delivery in Regenerative Medicine. In: MOHAPATRA, S. S. *et al. Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*. 1.ed. Elsevier, 2019. p. 595–625.

NAGAYOSHI, B. A. *et al.* Rheumatoid Arthritis: Profile of Patients and Burden of Caregivers. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, v. 21, n. 1, p. 44–52, fev. 2018.

NAIR, L. S., LAURENCIN, C. T. Biodegradable Polymers as Biomaterials. *Progress in Polymer Science*, v. 32, n. 8, p. 762–798, ago. 2007

NANOMED, J. *et al.* A review on electrospun nanofibers for oral drug delivery. *Nanomed J*, v. 4, n. 4, p. 197–207, out. 2017.

NARASIMHAN, B., PEPPAS, N. A. Molecular Analysis of Drug Delivery Systems Controlled by Dissolution of the Polymer Carrier. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 86, n. 3, p. 297–304, mar. 1997.

NIKKOLA, L. *et al.* Fabrication of Electrospun Poly(D,L Lactide-Co-Glycolide)80/20 Scaffolds Loaded with Diclofenac Sodium for Tissue Engineering Surgery. *European Journal of Medical Research*, v. 20, n. 1, p. 4–11, jun. 2015.

PAUL, D. R.; ROBESON, L. M. Polymer Nanotechnology: Nanocomposites. *Polymer*, v. 49, n. 15, p. 3187–3204, jul. 2008

PEPPAS, N. A., NARASIMHAN, B. Mathematical Models in Drug Delivery: How Modeling has Shaped the Way we Design New Drug Delivery Systems. *Journal of Controlled Release*, v. 190, p. 75–81, set. 2014.

PERMEGEAR. Franz Cell - The Original. *PermeGear*. Disponível em: <<https://permegear.com/franz-cells/>>. Acesso em: 1 abr. 2021.

PIRAS, A. M. *et al.* Development of Diclofenac Sodium Releasing Bio-Erodible Polymeric Nanomats. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 6, n. 9–10, p. 3310–3320, set. 2006.

QANDIL, A. M. *et al.* Sustained-Release Diclofenac Potassium Orally Disintegrating Tablet Incorporating Eudragit ERL/ERS: Possibility of Specific Diclofenac-Polymer Interaction. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, v. 43, n. 3, p. 171–183, jun. 2013.

RATNER, B. D. *et al.* *Biomaterials Science*. 3.ed. Elsevier, 2013. 342p.

REN, K. *et al.* Electrospun PCL/Gelatin Composite Nanofiber Structures for Effective Guided Bone Regeneration Membranes. *Materials Science and Engineering C*, v. 78, p. 324–332, set. 2017.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, R. *et al.* Development of Gelatin/Chitosan/PVA Hydrogels: Thermal Stability, Water State, Viscoelasticity, and Cytotoxicity Assays. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 136, n. 10, p. 1–9, mar. 2019.

ROSEN, Howard; ABRIBAT, Thierry. The rise and rise of drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery 2005 4:5*, v. 4, n. 5, p. 381–385, abr. 2005.

SAGHEBASL, S. *et al.* Synthesis and In Vitro Evaluation of Thermosensitive Hydrogel Scaffolds Based on (Pnipaam-PCL-PEG-PCL-Pnipaam)/Gelatin and (PCL-PEG-PCL)/Gelatin for Use in Cartilage Tissue Engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, v. 29, n. 10, p. 1185–1206, jul. 2018.

SAMADIAN, H. *et al.* Sophisticated Polycaprolactone/Gelatin Nanofibrous Nerve Guided Conduit Containing Platelet-Rich Plasma and Citicoline for Peripheral Nerve Regeneration: In Vitro and In Vivo Study. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 150, p. 380–388, maio 2020.

SCHROEDER, I. Z. *et al.* Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 65, n. 1, p. 111–121, jan. 2007.

SHEN, X. *et al.* Electrospun Diclofenac Sodium Loaded Eudragit® L 100-55 Nanofibers for Colon-Targeted Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 408, n. 1–2, p. 200–207, abr. 2011.

SHI, Jinjun *et al.* Nanotechnology in Drug Delivery and Tissue Engineering: From Discovery to Applications. *Nano Letters*, v. 10, n. 9, p. 3223–3230, set. 2010.

SIGMUND, W. *et al.* Processing and Structure Relationships in Electrospinning of Ceramic Fiber Systems. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 89, n. 2, p. 395–407, fev. 2006.

SILVA, F. C. Q., RUFINO, J. V., NERY, M. M. F. Avaliação da Qualidade Físico-Química dos Medicamentos Contendo Diclofenaco de Potássio. *Visão Acadêmica*, v. 18, n. 4, p. 74–83, fev. 2018.

SINGHVI, G., SINGH, M. Review: In-Vitro Drug Release Characterization Models. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Research*, v. 2, n. 1, p. 77–84, jan. 2011.

SIVALINGAM, G.; MADRAS, G. Thermal Degradation of Binary Physical Mixtures and Copolymers of Poly(E-Caprolactone), Poly(D, L-Lactide), Poly(Glycolide). *Polymer Degradation and Stability*, v. 84, n. 3, p. 393–398, jun. 2004.

SOARES, G. O. N. *et al.* Electrospun Progesterone-Loaded Cellulose Acetate Nanofibers and their Drug Sustained-Release Profiles. *Polymer Engineering & Science*, v. 60, n. 12, p. 3231–3243, dez. 2020.

SOBRAL, P. J.A.; HABITANTE, A. M.Q.B. Phase Transitions of Pigskin Gelatin. *Food Hydrocolloids*, v. 15, n. 4, p. 377–382, jul. 2001.

SOUZA, I. F. S. *et al.* Elderly with Knee Osteoarthritis Should Perform Nutritional Assessment: Integrative Literature Review. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, v. 15, n. 2, p. 226–232, abr. 2017.

SOUZA, S. *Desenvolvimento e caracterização de nanofibras obtidas pela técnica de eletrofiação coaxial visando a liberação de bevacizumabe para o tratamento de degeneração macular relacionada a idade.* Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016. 93p. (Dissertação, Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas).

STALDER, E; ZUMBUEHL, A. Liposome-Containing Mechanoresponsive Hydrogels. *Macromolecular Materials and Engineering*, v. 302, n. 5, p. 1–6, jan. 2017.

- SUBBIAH, T. *et al.* Electrospinning of Nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 96, n. 2, p. 557–569, abr. 2005.
- SUN, Z. *et al.* Compound Core–Shell Polymer Nanofibers by Co-Electrospinning. *Advanced Materials*, v. 15, n. 22, p. 1929–1932, nov. 2003.
- TARIQ, I. *et al.* In Vitro Release Studies of Diclofenac Potassium Tablet from Pure and Blended Mixture of Hydrophilic and Hydrophobic Polymers. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 31, n. 3, p. 380–387, 2012.
- THAKKAR, S., MISRA, M. Electrospun Polymeric Nanofibers: New Horizons in Drug Delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 107, p. 148–167, set. 2017.
- VERRECK, G. *et al.* Incorporation of Drugs in an Amorphous State into Electrospun Nanofibers Composed of a Water-Insoluble, Nonbiodegradable Polymer. *Journal of Controlled Release*, v. 92, n. 3, p. 349–360, out. 2003.
- VIJAYAKUMAR, M. R.; SATHALI, A. H.; ARUN, K. Formulation and Evaluation of Diclofenac Potassium Ethosomes. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 2, n. 4, p. 82–86, maio 2010.
- VYUMVUHORE, R. *et al.* Effects of Atmospheric Relative Humidity on Stratum Corneum Structure at the Molecular Level: Ex Vivo Raman Spectroscopy Analysis. *Analyst*, v. 138, n. 14, p. 4103–4111, jul. 2013.
- WALKER, C. Are All Oral COX-2 Selective Inhibitors the Same? A Consideration of Celecoxib, Etoricoxib, and Diclofenac. *International Journal of Rheumatology*, v. 2018, p. 1–12, dez. 2018
- XU, P. G. *et al.* Diclofenac Transdermal Patch versus the Sustained Release Tablet: A Randomized Clinical Trial in Rheumatoid Arthritic Patients. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 16, n. 2, p. 477–482, mar. 2017.
- YANG, F. *et al.* Development of an Electrospun Nano-Apatite/PCL Composite Membrane For GTR/GBR Application. *Acta Biomaterialia*, v. 5, n. 9, p. 3295–3304, nov. 2009.
- YANG, H. *et al.* User Acceptance of Wearable Devices: An Extended Perspective of Perceived Value. *Telematics and Informatics*, v. 33, n. 2, p. 256–269, maio 2015.

YARIV, D. *et al.* In Vitro Permeation of Diclofenac Salts from Lyotropic Liquid Crystalline Systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 78, n. 2, p. 185–192, jul. 2010.

YUN, Y.; LEE, B. K.; PARK, K. Controlled drug delivery systems: the next 30 years. *Frontiers of Chemical Science and Engineering 2014 8:3*, v. 8, n. 3, p. 276–279, jun. 2014.

ZHANG, Y. Z. *et al.* Crosslinking of the Electrospun Gelatin Nanofibers. *Polymer*, v. 47, n. 8, p. 2911–2917, abr. 2006.

ZHANG, Y. *et al.* Recent Development of Polymer Nanofibers for Biomedical and Biotechnological Applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 16, n. 10, p. 933–946, out. 2005.

ZHANG, Y. *et al.* Mechanical Force-Triggered Drug Delivery. *Chemical Reviews*, v. 116, n. 19, p. 12536–12563, out. 2016.

ZHANG, Y. *et al.* Design and Evaluation of a Novel Transdermal Patch Containing Diclofenac and Teriflunomide for Rheumatoid Arthritis Therapy. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 9, n. 5, p. 251–259, ago. 2014.

ZHAO, X. *et al.* Photocrosslinkable Gelatin Hydrogel for Epidermal Tissue Engineering. *Advanced Healthcare Materials*, v. 5, n. 1, p. 108–118, jan. 2016.

ZHOU, Q. *et al.* Alkali-Mediated Miscibility of Gelatin/Polycaprolactone for Electrospinning Homogeneous Composite Nanofibers for Tissue Scaffolding. *Macromolecular Bioscience*, v. 17, n. 12, p. 1–10, out. 2017.

SCHROEDER, I. Z. *et al.* Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 65, n. 1, p. 111–121, jan. 2007.