



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

AMANDA CRUZ DE ARAÚJO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS PARA A
LIBERAÇÃO CONTROLADA DO HORMÔNIO
17 β - ESTRADIOL**

**JOÃO PESSOA – PB
2020**

AMANDA CRUZ DE ARAÚJO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS PARA A
LIBERAÇÃO CONTROLADA DO HORMÔNIO
17 β - ESTRADIOL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biotecnologia do Centro de Biotecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito indispensável para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Roberto Cancado Castellano.

Coorientadora: Prof. Dra. Elisangela Afonso De Moura Kretzschmar.

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na publicação Seção de Catalogação e Classificação

A663d Araujo, Amanda Cruz de.

Desenvolvimento de sistemas de nanofibras poliméricas para a liberação controlada do hormônio 17-estradiol / Amanda Cruz de Araujo. - João Pessoa, 2020.
40 f. : il.

Orientação: Lúcio Roberto Cancado Castellano.

Coorientação: Elisangela Afonso De Moura Kretzschmar.
TCC (Graduação) - UFPB/CBIOTEC.

1. Estradiol. 2. Menopausa. 3. Nanofibras. 4. Liberação controlada. I. Castellano, Lúcio Roberto Cancado. II. Kretzschmar, Elisangela Afonso De Moura. III. Título.

UFPB/CCEN

CDU 618.173(043.2)

FOLHA DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (UFPB)
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA (CBiotec)
CAMPUS I – JOÃO PESSOA/PB
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Biotecnologia



ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos vinte e sete dias do mês de novembro de 2020, às 10:00h, em sessão pública realizada de forma remota, na Plataforma Google Meet, em atendimento à Portaria N°232/GR/REITORIA/UFPB, de 16 de outubro de 2020 e a Resolução Consepe N° 19/2020, na presença da Banca Examinadora presidida pelo(a) Professor(a) Dr(a). Lucio Roberto Cançado Castellano (ETS/CCS/UFPB) e composta pelo(a)s avaliadore(a)s: 1. Prof(a). Dr(a). Elisângela Afonso de M. Kretzschmar (DB/CBIOTEC/UFPB), orientadora; 2. M.a Daniela Bomfim de Barros (PPGCB/UFPE), o(a) discente Amanda Cruz de Araújo, matrícula 2016024689, apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: **“Desenvolvimento de sistemas de nanofibras poliméricas para a liberação controlada do hormônio 17 β -estradiol”**, como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Graduação em Biotecnologia. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela __Aprovação__ do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente a(ao) discente e demais presentes e eu, Lucio Roberto Cançado Castellano, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelo(a)s demais avaliadore(a)s e pelo(a) discente.

Presidente da Banca Examinadora

Avaliador(a) 1

Discente

Avaliador(a) 2

João Pessoa/PB, 27 de novembro de 2020.

AGRADECIMENTOS

É com muita satisfação que apresento aqui meu trabalho de conclusão de curso que, na verdade, não é só meu, mas de todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a elaboração desse trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

Primeiramente agradeço à minha família, em especial aos meus pais Guilherme Calzavara de Araújo e Maria Rejane Cruz de Araújo, os melhores que eu poderia ter, e aos meus irmãos Arthur Cruz de Araújo e Alice Cruz de Araújo, pessoas que sempre me incentivaram nas minhas escolhas e são meu porto seguro, tornando tudo aqui possível.

Agradeço ao professor Lúcio Roberto Cançado Castellano, por me acolher no Laboratório de Análise e Cultivo Celular (LACEC) e me oferecer oportunidade, motivação e apoio para fazer pesquisa, sempre com animação e prestatividade. Também agradeço a toda equipe do LACEC, em especial a Tatiana Rita de Lima Nascimento e a Rafael de Carvalho Araújo que, com muita boa vontade, me ajudaram na execução desse trabalho e foram indispensáveis para esse TCC.

Aos meus amigos de curso, que encheram meus anos de graduação com momentos felizes e de companherismo, agradeço a Turma 2016.02 e a Turma Linkage, que me acolheu com muito carinho desde o início. Em especial, agradeço a Eveline de Arruda Martins e a Juliana Edelvacy Lima Pinto, minhas companheiras de laboratório, presentes nos momentos alegres, nos apertados de quando os experimentos davam errado e nas novas tentativas, sempre me passando positividade, apesar das nossas reclamações. Também as minhas amigas Emmely Vitória de Santana Cabral, Luana da Silva Lobo Barbosa e Annie Elizabeth Beltrão de Andrade, pelas risadas, pausas pro café no meio do dia, revisões apressadas antes das provas, por serem um apoio nos momentos difíceis de uma graduação.

Agradeço à Prof^a. Dra. Elisângela Moura, por ter aceitado ser minha coorientadora, pelo apoio e pela orientação nesse trabalho, e aos professores do Centro de Biotecnologia, por todo conhecimento que me transmitiram durante a graduação e pela dedicação ao ensino, superando as dificuldades e formando alunos da melhor forma possível.

RESUMO

A menopausa é uma fase biológica natural da vida feminina caracterizada pela diminuição da secreção de estrogênios e muitas vezes, é acompanhada de sintomas que comprometem a qualidade de vida da mulher. Para tanto, a terapia hormonal de reposição do estrogênio tem se mostrado positiva no controle dos sintomas da pós menopausa, sendo os estrogênios endógenos mais utilizados, dentre eles o estradiol, principal hormônio presente em mulheres na idade reprodutiva. Entretanto, uma administração em excesso do estradiol pode gerar uma condição de hiperestrogenismo, que pode causar hiperplasia do endométrio, edema e desconforto em membros inferiores, o que evidencia a importância de uma terapia hormonal de qualidade. Nesse sentido, as nanofibras são materiais que possuem pequena dimensão e grande área superficial, características que as tornam favoráveis para a aplicação como dispositivo de liberação de fármacos. Elas possuem a capacidade de promover uma liberação controlada dependente da degradação de sua matriz polimérica, o que gera menores taxas de perda do fármaco, menor necessidade de dosagens elevadas e anula a necessidade de um evento cirúrgico para remoção do dispositivo. Levando-se em consideração o potencial terapêutico das nanofibras para a liberação controlada de fármacos, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência de nanofibras de PLA/PEG na liberação do hormônio 17β -estradiol como método de terapia hormonal. Foram sintetizadas duas nanofibras, uma controle, sem o hormônio, e uma nanofibra com 17β -estradiol, ambas pela técnica de *Solution Blow Spinning* (SBS). A solução para fiação foi composta por clorofórmio, ácido láctico (PLA), polietilenoglicol (PEG) e hormônio 17β -estradiol. Através da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi observada a presença dos polímeros PLA e PEG nas nanofibras, entretanto não foi possível identificar a presença do estradiol na nanofibra o incorporando, possivelmente devido a sobreposição dos picos poliméricos com os do hormônio ou problemas técnicos com o espectrofotômetro utilizado. No experimento de liberação do hormônio o 17β -estradiol também não foi detectado pelo espectrofotômetro UV-VIS em comprimento de onda de 280 nm. Dessa forma, é necessário que outros métodos de caracterização sejam utilizados, como a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a análise termogravimétrica (TGA), objetivando identificar a presença do hormônio na nanofibra, e que o experimento de liberação controlada seja refeito. Também é interessante à pesquisa a elaboração de mais grupos de nanofibras afim de estabelecer a melhor condição de fiação da nanofibra.

Palavras-chave: Estradiol, Menopausa, Nanofibras, Liberação Controlada.

ABSTRACT

Menopause is a natural biological phase of female life characterized by a decrease in estrogen secretion and is often accompanied by symptoms that compromise the woman's quality of life. Therefore, estrogen replacement hormone therapy has been shown to be positive in the control of postmenopausal symptoms, within the most used endogenous estrogens, Estradiol stands out as the main hormone in women of reproductive age. However, an excessive administration of estradiol can lead to a condition of hyperestrogenism, which can cause endometrial hyperplasia, edema, and discomfort in the lower limbs, this highlights the importance of hormonal therapy quality. In this sense, nanofibers are materials that have a nanoscale and high specific surface area, characteristics that make them favorable for application as a drug release device and, when constituted by biodegradable polymers, they can promote controlled release depending on the degradation of its polymeric matrix, which generates lower rates of drug loss, less need for high dosages and eliminates the need for a surgical event to remove the device. Taking into account the therapeutic potential of nanofibers for the controlled release of drugs, this work aims to evaluate the efficiency of PLA / PEG nanofibers linked to the release of the 17β -estradiol hormone as a method of hormonal therapy. Two nanofibers were synthesized: a control, without the hormone, and a nanofiber with 17β -estradiol, both using the Solution Blow Spinning (SBS) technique. The spinning solution is composed of chloroform, lactic acid (PLA), polyethylene glycol (PEG), and hormone 17β -estradiol. Through Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) a presence of PLA and PEG polymers was observed in the nanofibers, although it was not possible to identify the presence of estradiol in the nanofiber or incorporating it, possibly due to the overlapping of the polymeric peaks with the hormones or technical problems with the spectrophotometer used. In the hormone release experiment, 17β -estradiol was also not detected by the UV-VIS spectrophotometer at a wavelength of 280 nm. Thus, it is necessary that other characterization methods be used, such as scanning electron microscopy (SEM) and thermogravimetric analysis (TGA), to identify the presence of the hormone in the nanofiber, and that the controlled release experiment be redone. It is also interesting to research the development of more groups of nanofibers to establish the best spinning condition of the nanofiber.

Keywords: Estradiol, Menopause, Nanofibers, Controlled Release.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrogênios - E1 Estrona; E2 Estriol; E3 Estradiol.....	14
Figura 2 - Comparação das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais e sistemas de liberação controlada.....	17
Figura 3 - Polímeros Poli (ácido láctico) (PLA) e Polietilenoglicol (PEG).	18
Figura 4 - (A) Esquema geral de Solution Blow Spining; (B) Dispositivo utilizado.....	19
Figura 5 - Representação da preparação das soluções poliméricas.....	22
Figura 6 - Esquema ilustrativo dos parâmetros utilizados na síntese por Solution Blow Spining.	23
Figura 7 - (A) Estrutura SBS; (B e C) Nanofibras.	23
Figura 8 - Esquema ilustrativo da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).	25
Figura 9 - (A) Coleta de amostra de nanofibra; (B) Maceração de amostra de nanofibra com brometo de potássio; (C) Espectrofotômetro IRAffinity-1.	26
Figura 10 - (A) Esquema ilustrativo da obtenção da curva de calibração do 17 β -estradiol; (B) Esquema ilustrativo da obtenção da curva de liberação hormonal.....	27
Figura 11 - Experimento de liberação hormonal.....	27
Figura 12 - FTIR das Nanofibras com e sem estradiol.	28
Figura 13 – Espectro do 17 β -estradiol	29
Figura 14 - Curva de Calibração Estradiol.....	30
Figura 15 - Liberação Nanofibras com Hormônio (CH) e sem Hormônio (SH).....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração/Absorbância do Estradiol.....	30
Tabela 2 - Liberação Nanofibra sem hormônio (SH) - Tempo/Concentração.....	31
Tabela 3 - Liberação Nanofibra com hormônio (CH) Tempo/Concentração.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

CH	Nanofibras com o hormônio 17 β -estradiol
Cm	Centímetro
FDA	Food and Drugs Administrations
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
G	Gramma
H	Hora
HDL	Lipoproteína de alta densidade
KBr	Brometo de potássio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Mg	Miligramma
Min	Minuto
ml	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercúrio
Nm	Nanômetro
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PEG	Polietilenoglicol
PLA	Ácido láctico
R	Coeficiente de correlação de Pearson
Rpm	Rotações por minuto
SBS	Solution Blow Spinning
SH	Nanofibras sem o hormônio 17 β -estradiol
TH	Terapia hormonal
UV	Faixa do infravermelho
μ L	Microlitro
$^{\circ}$ C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	Menopausa.....	14
2.2	Terapia Hormonal.....	14
2.3	Estradiol	15
2.4	Liberação controlada de fármacos	16
2.5	Nanofibras.....	17
2.6	Processo de produção de nanofibras.....	18
3.	OBJETIVO	20
3.1.	Objetivo geral	20
3.2.	Objetivos específicos.....	20
4.	METODOLOGIA	21
4.1.	Síntese de Nanofibras	21
4.1.1.	<i>Solution Blow Spinning</i>	21
4.2.	Caracterização das nanofibras.....	23
4.2.1.	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	
	24	
4.3.	Ensaio de liberação controlada hormonal	26
4.3.1.	Elaboração da curva de calibração	26

4.3.2. Liberação do estradiol	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	28
5.2. Liberação hormonal.....	30
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS	35
8. GLOSSÁRIO	38

1. INTRODUÇÃO

Na menopausa ocorre uma redução dos níveis de estrogênios circulantes, sendo a do estradiol associada a mudanças metabólicas que afetam a qualidade de vida da mulher, como sudorese, alterações de sono e humor, fogachos e secura vaginal. A terapia hormonal de reposição do estrogênio tem se mostrado positiva no controle dos sintomas da pós menopausa. Entretanto, uma administração em excesso do estradiol pode gerar uma condição de hiperestrogenismo, o que pode causar hiperplasia do endométrio, edema e desconforto em membros inferiores, entre outras alterações que comprometem o bem estar da paciente (WYGODA *et al.*, 1999). Sendo assim, é essencial o desenvolvimento de métodos de liberação controlada do estradiol para manter seus níveis circulantes na concentração ideal, aumentando a eficiência da terapia de reposição hormonal.

Neste sentido, os nanomateriais constituídos por polímeros biodegradáveis têm atraído muita atenção dos pesquisadores devido às suas potencialidades terapêuticas, visto que aumentam a estabilidade do fármaco e possuem a capacidade de promover uma liberação controlada dependente da degradação de sua matriz polimérica (SOPPIMATH *et al.*, 2001)(SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). As nanofibras são uma forma de material nanométrico e, por sua vez, possuem pequenas dimensões e alta área superficial específica, propriedades que as tornam bastante indicadas nos dispositivos de controle de fármaco (LU *et al.*, 2011). A vantagem do uso de nanofibras poliméricas quando em comparação com as opções atualmente disponíveis no mercado, pode ser evidenciada pela maior área de contato superficial da nanofibra com o tecido do paciente. Esse fato favorece a difusão do hormônio incorporado, gerando menores taxas de perda do fármaco e conseqüentemente, menor necessidade de elevadas dosagens (BONAN *et al.*, 2015). Os polímeros mais utilizados atualmente são os biodegradáveis aprovados pela Food and Drugs Administrations (FDA), tais como derivados do ácido láctico (PLA) e do polietilenoglicol (PEG).

Levando-se em consideração que as nanofibras podem ser utilizadas como dispositivos ou sistemas de liberação controlada de fármacos e que estes visam manter a concentração do fármaco em níveis terapêuticos por maiores períodos de tempo (TAO; DESAI, 2003), este projeto tem como objetivo produzir nanofibras de PLA/PEG vinculadas à liberação do hormônio 17 β -estradiol como método de terapia hormonal.

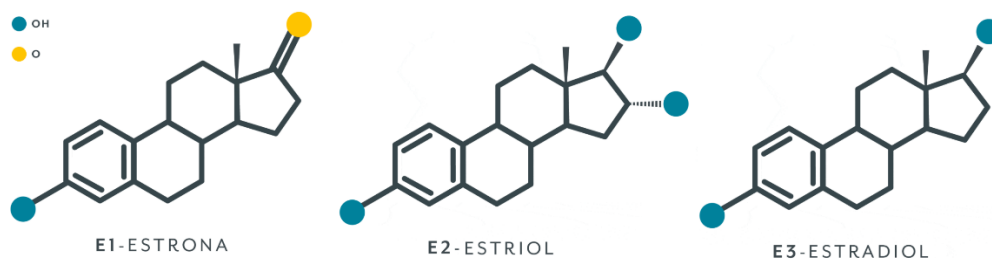
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Menopausa

A menopausa é definida pela Organização Mundial de Saúde como uma fase biológica, natural e não patológica da vida feminina. Se trata de uma etapa de transição entre o período reprodutivo e o não reprodutivo, caracterizada pela redução da secreção de hormônios ovarianos, pelo cessar das menstruações espontâneas e grande redução nas atividades dos ovários, que deixam de libertar óvulos mensalmente (ANTUNES; MARCELINO; AGUIAR, 2003; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Os hormônios são moléculas que funcionam como sinalizadores celular e são responsáveis pela integração de sistemas do organismo, dessa forma estando envolvidos em diversas funções corporais (FRIEDEN; LIPNER, 1975). Dentre esses hormônios, destacam-se os estrogênios, que estimulam o desenvolvimento e a manutenção de características femininas e, juntamente à progesterona, regem o ciclo menstrual. Ademais, a menopausa é caracterizada por uma diminuição na sua secreção, condição conhecida como hipoestrogenismo. 'Estrogênio' é um termo referente a um grupo de hormônios esteróides que apresentam funções fisiológicas e estruturas químicas semelhantes (NELSON, 2005). Eles podem ser sintéticos, alterados ou produzidos farmacologicamente, ou endógenos, produzidos naturalmente pelo organismo, como é o caso da estrona, do estriol e do estradiol, ilustrados na figura 1.

Figura 1 - Estrogênios - E1 Estrona; E2 Estriol; E3 Estradiol.



Fonte: Adaptado de <<https://www.fetalmed.net/o-que-e-o-estrogenio/>>.

2.2 Terapia Hormonal

A menopausa muitas vezes é acompanhada de sintomas que comprometem a qualidade de vida da mulher, sendo estes motivos de queixas de moderadas a graves para uma média de 72 milhões de mulheres no mundo (POLONINI *et al.*, 2011); o método mais eficiente de controle para esses quadros é a terapia hormonal (TH) de reposição do estrogênio, indicada pela Organização Panamericana de Saúde (OPAS).

Ela atua no controle dos fogachos e da sudorese noturna, sintomas vasomotores que atingem em torno de 75% das mulheres no climatério. Entretanto, apesar de estar disponível no mercado desde a década de 1940, ainda é necessária muita pesquisa em torno dos efeitos da terapia hormonal nas mulheres em menopausa (CLAPAUCH *et al.*, 2005)(ROZENBERG; VANDROMME; ANTOINE, 2013).

Existem evidências de que a TH leva a uma redução na chance de desenvolvimento de câncer de cólon, menor propensão a infecções urogenitais, além de influenciar nos níveis plasmáticos de lipoproteínas, reduzindo os níveis de LDL e aumentando os de HDL, diminuindo, assim, o risco de doenças coronarianas. Também existem estudos que associam o uso de estrógenos a longo prazo (um mínimo de seis anos) e em altas doses à prevenção de fraturas osteoporóticas durante o tratamento com TH. Há também indícios de que a TH melhora alguns aspectos cognitivos em mulheres menopáusicas sintomáticas, como o raciocínio, estado de vigilância, velocidade motora e memória verbal (POLONINI *et al.*, 2011).

Entretanto, existem associações entre o uso da terapia hormonal em mulheres e um aumento das chances de desenvolvimento de câncer endometrial e de mama, taxa de risco de enfarto e eventos tromboembólicos (o último tendo o risco anulado se o tratamento for por via transdérmica (POLONINI *et al.*, 2011).

Por fim, a terapia hormonal é um tratamento essencial às mulheres na pós-menopausa que sofrem com sintomas de médios a graves advindos dessa fase, ainda assim, as usuárias desse método necessitam de um acompanhamento médico rigoroso, tendo em vista os vários efeitos colaterais que podem surgir com o uso da TH. Assim, dado a sua importância e complexidade, é essencial um maior estudo dos efeitos da terapia hormonal nas mulheres na menopausa e de novas formas de melhorar esse terapia para oferecer maior segurança às usuárias.

2.3 Estradiol

A terapia de reposição hormonal para mulheres na pós-menopausa tem como principal componente o estrogênio, que pode ser utilizado isolado ou em combinação com progesterona. Os estrogênios mais utilizados são os endógenos, como é o caso da estrona, do estriol e do estradiol (Fig.1)(PANTALEÃO *et al.*, 2009).

O estradiol é o principal hormônio em mulheres na idade reprodutiva. É necessário para o desenvolvimento de características sexuais primárias, atuando como hormônio de crescimento para os órgãos reprodutivos femininos, e secundárias, sendo essencial para o desenvolvimento normal da mama, alterações de pele, distribuição de gordura, entre outras alterações fisiológicas que ocorrem na puberdade. Também é importante

para a manutenção da saúde reprodutiva da mulher, sendo essencial no processo de ovulação e manutenção da gravidez (MANDAL, 2020).

Além disso, o estradiol é necessário para o crescimento ósseo adequado e manutenção da saúde dos ossos e das articulações, seus níveis baixos podem causar osteoporose e osteopenia e a sua deficiência relativa em mulheres na pós-menopausa pode acelerar a perda óssea (MANDAL, 2020). Ademais, a redução dos níveis de estradiol circulantes está associada a sintomas como sudorese, alterações de sono e humor, fogachos e secura vaginal, mudanças que afetam a qualidade de vida da mulher. Todavia, o excesso desse hormônio também ocasiona consequências negativas, podendo levar à condição de hiperestrogenismo, que está associada a edema e desconforto em membros inferiores, hiperplasia do endométrio, entre outros sintomas que comprometem o bem estar do indivíduo (WYGODA *et al.*, 1999).

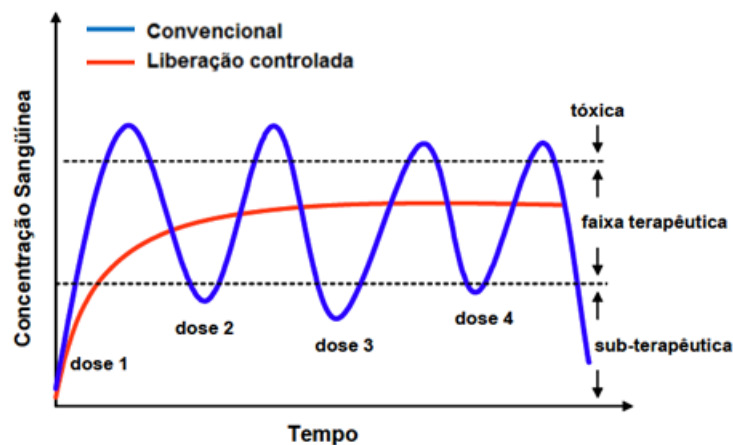
Dessa forma, a importância do estradiol e da manutenção de seu nível fisiológico dentro do ideal para o bem estar da mulher é comprovada pela literatura, o que evidencia a importância de uma terapia hormonal de qualidade.

2.4 Liberação controlada de fármacos

Os sistemas de liberação convencional de fármacos, tais como cremes, pomadas, injeções e formulações orais (comprimidos, cápsulas e soluções), liberam rapidamente o seu princípio ativo, o que gera oscilações na concentração de fármaco na corrente sanguínea, gerando um pico seguido de um declínio, o que torna mais difícil manter essa concentração nos níveis terapêuticos (SIEPMANN; SIEGEL; RATHBONE, 2012).

O avanço da ciência tornou possível o surgimento dos sistemas de liberação controlada de fármacos, definido como um dispositivo elaborado visando maximizar a resposta terapêutica do paciente por meio da liberação de uma quantidade determinada de fármaco em um local de ação e intervalo de tempo determinados (JEON; YANG; KIM, 2012). Em comparação com os sistemas convencionais, a liberação controlada consegue manter a concentração do fármaco constante na faixa terapêutica por um período prolongado, utilizando-se administração única, o que implica numa quantidade menor de fármaco utilizada em comparação com os sistemas convencionais, além de uma menor frequência de administração do princípio ativo, o que diminui o risco de toxicidade, aumenta a eficácia do tratamento e o conforto do paciente, como pode ser observado na figura 2 (HENRIQUE; FALCARE; LOPES, 2006; LANGER, 1990).

Figura 2 - Comparação das variações de concentração de fármacos administrados por métodos convencionais e sistemas de liberação controlada.



Fonte: Adaptado de fonte <https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Vantagens-da-liberacao-controlada-e-sustentada-de-farmacos-em-relacao-a_fig44_301793887>

2.5 Nanofibras

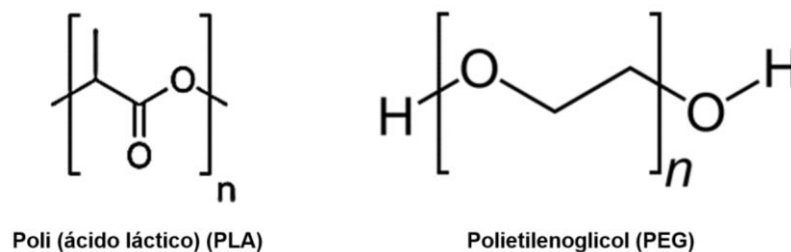
As nanofibras são uma forma de material polimérico em escala nanométrica e, por possuírem pequenas dimensões e alta área superficial específica, são favoráveis a diversos tipos de aplicações, dentre elas: áreas de engenharia de tecidos, terapia com células-tronco, terapia do câncer, tratamento de feridas, como biosensores e como dispositivos de liberação controlada de fármaco (LU *et al.*, 2011)(WENG; XIE, 2015).

As nanofibras constituídas por polímeros biodegradáveis possuem a capacidade de promover uma liberação controlada de substâncias através do processo de degradação por hidrólise ou enzimática de sua matriz polimérica. Assim, além de promover uma liberação controlada do fármaco incorporado à essa matriz, gerando menores taxas de perda do fármaco e menor necessidade de elevadas dosagens (BONAN *et al.*, 2015), anula o risco de um evento cirúrgico para remoção do dispositivo (SOPPIMATH *et al.*, 2001);(SCHAFFAZICK *et al.*, 2003), caracterizando-se como uma vantagem no uso de nanofibras poliméricas sobre a versão de implantes não biodegradáveis.

O polímero ideal a ser utilizado como biomaterial deve possuir algumas características específicas, dentre elas: não promover resposta toxica/inflamatória no organismo (biocompatibilidade), ser totalmente metabolizado após finalizar seu propósito, ter um tempo de vida útil aceitável e ser facilmente esterilizado. Os polímeros biodegradáveis mais utilizados para a síntese de fibras são os aprovados pela Food and Drugs Administrations (FDA), tais como derivados do ácido lático (PLA) e o polietilenoglicol (PEG), ilustrados na figura 3 (MIDDLETON; TIPTON, 2000); MALAFAYA; SILVA; REIS, 2007).

O poliácido láctico (PLA) é um polímero hidrofóbico, biocompatível e biodegradável, com uma taxa de degradação que pode chegar a 24 meses dependendo do grau de cristalinidade (add ref). Já o poli etilenoglicol (PEG) é um polímero na maioria das vezes considerado hidrofílico e biocompatível, além de ser geralmente não imunogênico e apresentar uma maior elasticidade que o PLA. A utilização de uma combinação dos polímeros PEG e PLA como biomaterial para a síntese de nanofibras é normalmente baseada numa melhora da elasticidade e biocompatibilidade do sistema, além da presença do PEG melhorar a sua hidrofiliabilidade, acelerando sua taxa de degradação. Dessa forma, a proporção de PEG/PLA utilizada tem grande influência na taxa de degradação da matriz polimérica (XUE *et al.*, 2017).

Figura 3 - Polímeros Poli (ácido láctico) (PLA) e Polietilenoglicol (PEG).

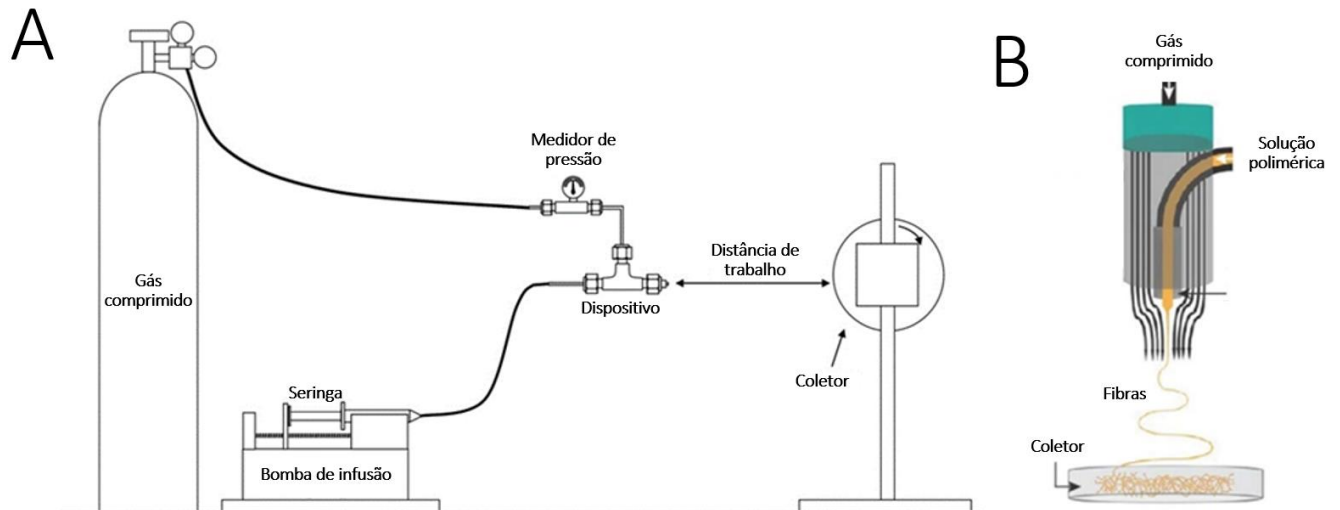


Fonte: Autoria própria.

2.6 Processo de produção de nanofibras

As nanofibras podem ser produzidas pela técnica de fiação por sopro em solução, *Solution Blow Spinning* (SBS), que consiste na utilização de um fluxo de ar comprimido para o deslocamento da solução polimérica e síntese das nanofibras. O equipamento necessário para essa síntese é composto por uma fonte de ar comprimido, o qual fornece a solução gasosa em alta velocidade e sob pressão controlada para o sistema, deslocando a solução polimérica.

O equipamento também é composto por uma seringa hipodérmica associada a uma bomba de infusão, para uma taxa de injeção controlada da solução polimérica, e conectada a um dispositivo que integra os fluxos e os direciona a um coletor, localizado na direção do fluxo de ar (Fig. 4A). Esse dispositivo responsável por integrar os dois fluxos consiste de um bocal interno, por onde é bombeada a solução polimérica, e um externo, pelo qual se desloca o gás pressurizado que desloca a solução até o coletor, localizado a uma distância fixa do dispositivo, ilustrado na figura 4B (VURAL *et al.*, 2015) (TUTAK *et al.*, 2013) (MEDEIROS, E. S. *et al.*, 2009).

Figura 4 - (A) Esquema geral de *Solution Blow Spining*; (B) Dispositivo utilizado.

Fontes: Adaptado de (A)(MEDEIROS, E. S. *et al.*, 2009); (B)(VURAL *et al.*, 2015).

Dessa forma, a técnica é considerada simples e eficiente em comparação com outras técnicas de fiação de nanofibras, além de utilizar processos que permitem uma produção industrial em larga escala.

Sendo assim, tendo em vista o grande número de mulheres que utilizam a terapia hormonal para controle dos sintomas da menopausa, a complexidade e importância dessa terapia e o potencial das nanofibras poliméricas como dispositivo de liberação controlada de fármacos, esse trabalho tem como objetivo elaborar nanofibras de poliácido láctico/polietilenoglicol (PLA/PEG) para a liberação do hormônio 17β -estradiol como método de terapia hormonal, oferecendo uma nova opção de dispositivo para a terapia hormonal para mulheres na pós menopausa e contribuindo para maiores conhecimentos na área.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Produzir nanofibras de poliácido láctico/polietilenoglicol (PLA/PEG) e analisar o potencial como sistema de liberação do hormônio 17β -estradiol como método de terapia hormonal.

3.2. Objetivos específicos

- I. Produzir e caracterizar nanofibras de PLA/PEG incorporadas ao hormônio estradiol;
- II. Avaliar o perfil de liberação do estradiol pelas nanofibras poliméricas.

4. METODOLOGIA

4.1. Síntese de Nanofibras

4.1.1. *Solution Blow Spinning*

Nessa pesquisa foi utilizado o método convencional de SBS e as condições experimentais foram baseadas em estudos prévios de MEDEIROS *et al.* (2009) e MEDEIROS *et al.* (2016). Foram sintetizadas duas nanofibras, uma com a presença do hormônio 17 β -estradiol (CH) e uma com a sua ausência (SH), visando o controle do experimento.

(A) Materiais

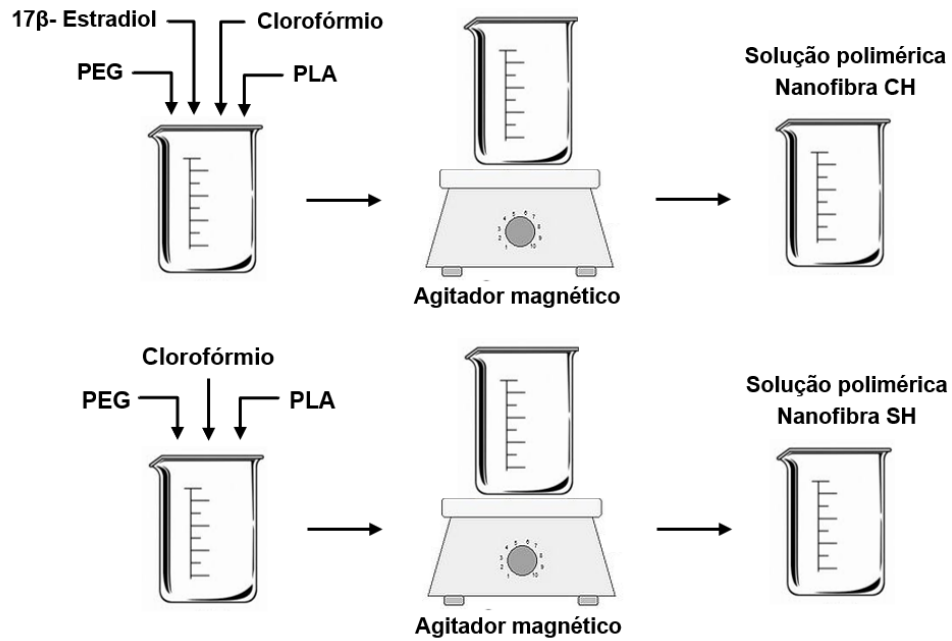
As nanofibras desse projeto foram produzidas pela técnica de fiação por sopro em solução, *Solution Blow Spinning* (SBS), e os polímeros utilizados foram o ácido láctico (PLA), que possui uma massa molar de 12500 g mol⁻¹, comprado na Biomater – São Carlos, SP, Brasil, e o polietilenoglicol (PEG), cuja massa é molar 8000 g mol⁻¹, comprado na Sigma-Aldrich. Também foi utilizado o solvente clorofórmio e o hormônio 17 β -estradiol, comprado na Dilecta – BR.

(B) Preparação das soluções poliméricas

As soluções para fiação de ambas as nanofibras foi composta por 10 mL do solvente volátil clorofórmio, 1,05g de ácido láctico (PLA), 0,45g de polietilenoglicol (PEG) e, no caso da solução para fiação da nanofibra CH, 10 mg de 17 β -estradiol, seguindo uma concentração polimérica de PLA/PEG de 7:3, com incorporação de 6,7% de 17 β -estradiol dissolvido em clorofórmio. A concentração de 17 β -estradiol escolhida foi baseada nos sistemas de implantes hormonais atuais.

Os polímeros e o hormônio, no caso das nanofibras CH, foram dissolvidos no solvente com auxílio de um agitador magnético, obtendo-se as soluções poliméricas, conforme ilustrado na figura 5.

Figura 5 - Representação da preparação das soluções poliméricas.

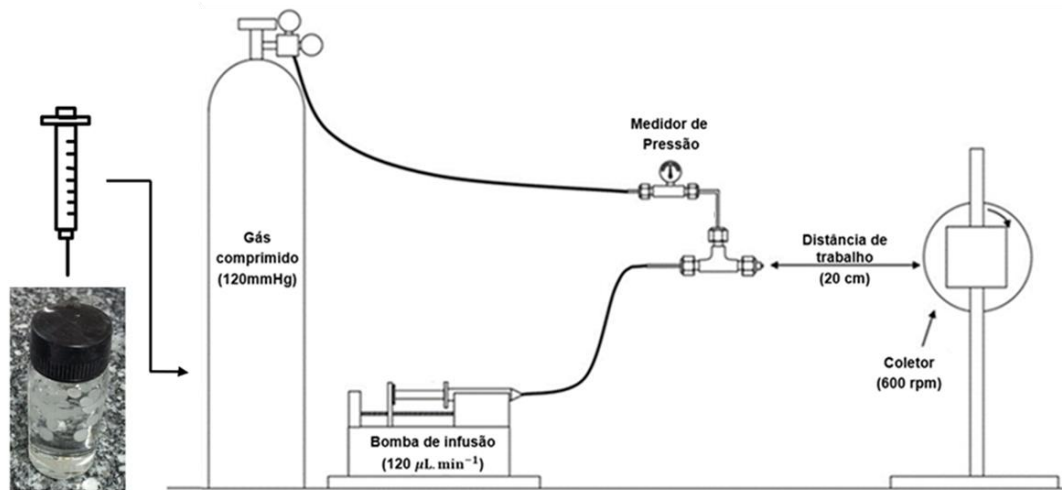


Fonte: Autoria própria.

(C) Síntese

A solução polimérica previamente preparada, tanto para as nanofibras CH quanto SH, foi colocada em uma seringa, que foi configurada na bomba de infusão com uma taxa de injeção de $120 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ (7,2 ml/hora). O coletor utilizado foi posicionado na horizontal e a 20 cm do ponto de ejeção da solução polimérica, distância suficiente para evaporação completa do solvente antes da solução atingi-lo. O coletor foi revestido com papel alumínio para deposição das nanofibras a serem produzidas e obteve rotação de 600 rpm. A pressão do ar foi controlada em 30 psi para ambas nanofibras. Os parâmetros para a síntese das nanofibras foram ilustrados na figura 6 e, para ambas as nanofibras, a fiação foi concluída quando a solução polimérica foi totalmente ejetada. Ao final da síntese, o papel alumínio contendo as nanofibras é retirado do equipamento SBS (Fig. 7) (MEDEIROS, E. S. *et al.*, 2009) (MEDEIROS, E. L. G. *et al.*, 2016).

Figura 6 - Esquema ilustrativo dos parâmetros utilizados na síntese por Solution Blow Spining.



Fonte: Adaptado de (MEDEIROS, E. S. *et al.*, 2009).

Figura 7 - (A) Estrutura SBS; (B e C) Nanofibras.



Fonte: Autoria própria.

4.2. Caracterização das nanofibras

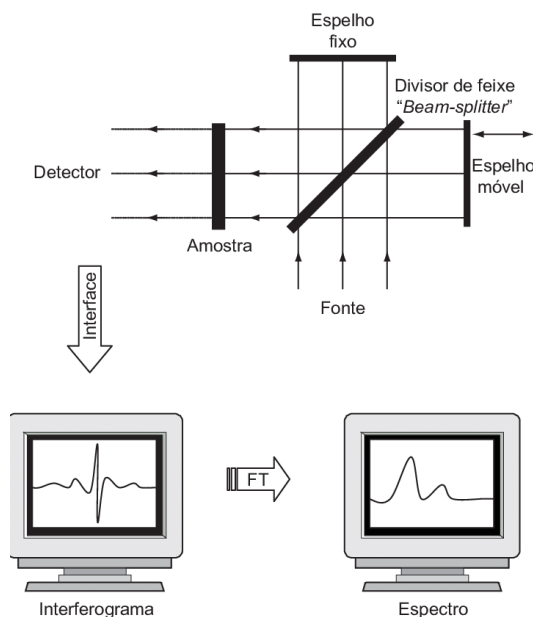
4.2.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectrofotometria se trata do estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria (SKOOG *et al.*, 2002) e a mesma na faixa do infravermelho (UV) é um importante método de caracterização que possibilita a identificação de grupos funcionais de uma amostra. Ao entrar em contato com a radiação infravermelha cada grupo possui uma frequência característica, apresentando vibrações específicas que são medidas pelo equipamento em relação ao comprimento de onda (SILVERSTEIN *et al.*, 1994), o que permite a identificação de compostos orgânicos de amostras em diferentes estados físicos como líquido, sólido e gasoso (SKOOG *et al.*, 2010; SHAI, 2012).

O espectrofotômetro com transformada de Fourier (FTIR) é um instrumento utilizado para espectroscopia infravermelha que permite que a amostra em análise seja submetida a vários comprimentos de onda ao ser exposta a um único pulso de radiação (MORGANO *et al.*, 2005), sendo seu funcionamento ilustrado na figura 8. O método é possível devido a utilização do interferômetro de Michelson, dispositivo composto por dois espelhos (um fixo e um móvel) e um divisor de feixe, e do processo matemática chamado Transformada de Fourier para interpretação dos dados.

Ao ser emitida, a radiação UV incide no interferômetro de Michelson e se choca com um divisor de feixe, que direciona 50% da radiação para um espelho fixo e 50% para um espelho móvel. Os espelhos, então, refletem os dois feixes para um divisor, no qual se recombina, gerando interferências construtivas e destrutivas que formam um sinal complexo denominado interferograma, que atinge a amostra. Após incidir na amostra, o interferograma é captado por um detector fotossensível, comparado com um feixe de referência e, por meio do processo matemático chamado Transformada de Fourier, os dados são convertidos em um espectro que relaciona intensidade de absorção (absorbância) em função do número de onda (frequência) (MORGANO *et al.*, 2005)(FIGUEIREDO, 2009)(IZIDA, 2007).

Figura 8 - Esquema ilustrativo da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

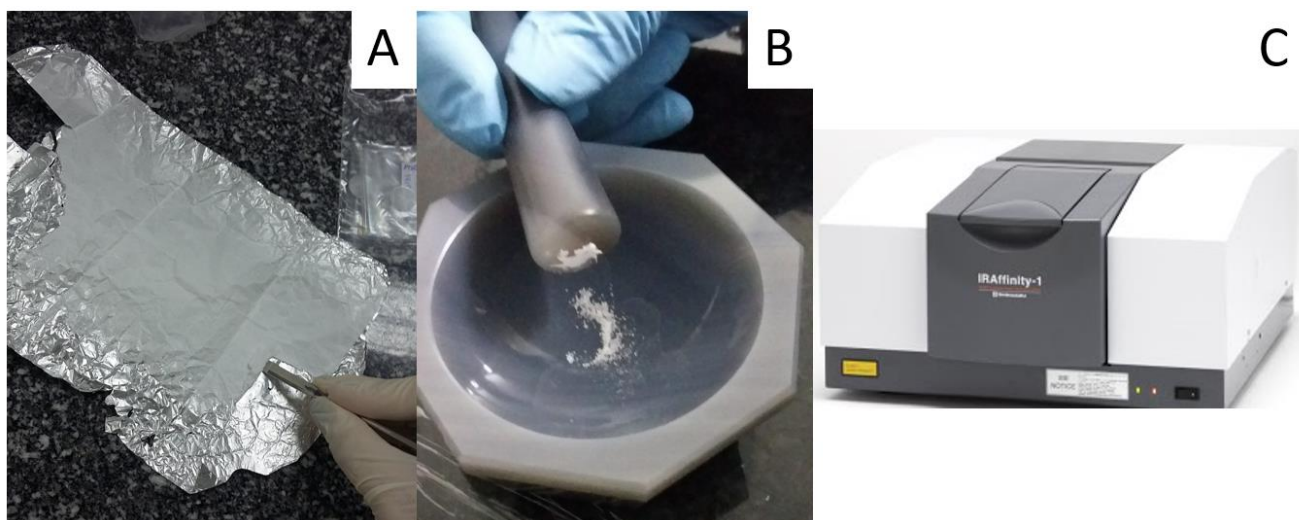


Fonte: (HELFER *et al.*, 2006)

Para possibilitar a leitura no espectrofotômetro IRAffinity-1 foram preparadas pastilhas de ambas as nanofibras. O recipiente no qual a amostra será colocada deve absorver o mínimo possível de luz nas regiões do espectro, visando o mínimo de interferência no resultado. Para amostras sólidas, como no caso da pesquisa em questão, a preparação com brometo de potássio (KBr) em pó é um método eficiente, visto que o mesmo é transparente até 400 cm^{-1} e sob pressão se funde incluindo o composto de interesse em uma matriz. Dessa forma, o espectro obtido não conterá bandas interferente (PAVIA, 2016, p. 26).

Inicialmente, foi obtido o espectro de referência (branco). Para tanto, KBr foi prensado a 10 toneladas para formação de uma pastilha, que foi submetida a leitura pelo equipamento, obtendo o espectro. Em seguida cada amostra foi preparada para obtenção do seu espectro. Amostras das nanofibras com peso de 0,01g foram coletadas e maceradas com 0,25g de Brometo de Potássio, na proporção mássica amostra/KBr de 1:25. A mistura foi prensada a 10 toneladas para obter a amostra em forma de pastilha. As pastilhas foram então colocadas no espectrofotômetro IRAffinity-1 e a os espectros foram registrados a temperatura ambiente e faixa espectral compreendida entre 4000 e 500 cm^{-1} .

Figura 9 - (A) Coleta de amostra de nanofibra; (B) Maceração de amostra de nanofibra com brometo de potássio; (C) Espectrofotômetro IRAffinity-1.



Fonte: Autoria própria.

4.3. Ensaio de liberação controlada hormonal

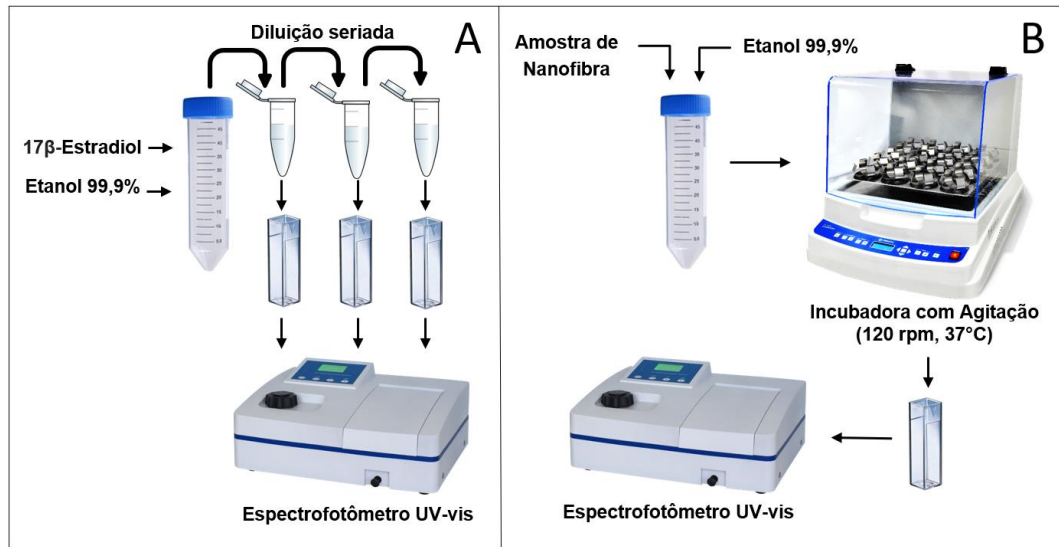
4.3.1. Elaboração da curva de calibração

A curva de liberação do hormônio estradiol foi feita através do espectrofotômetro UV-vis. O 17β -estradiol foi dissolvido em etanol à 99,9%, gerando uma solução estoque com uma concentração de 0,27 mg/mL, que foi alvo de várias diluições seriadas seguidas de leituras no espectrofotômetro UV-vis no comprimento de onda de 280 nm, o que gerou a curva de calibração, conforme ilustrado na figura 10A.

4.3.2. Liberação do estradiol

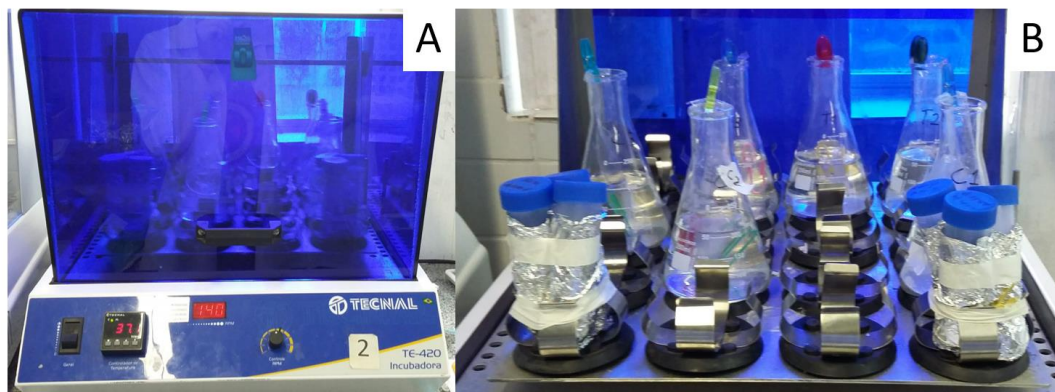
Amostras das nanofibras, tanto da composta com o hormônio estradiol (CH) quanto da controle (SH), foram imersas em 30 mL de etanol 99,9% e deixadas em uma incubadora sob agitação constante à 120 rpm e temperatura de 37 °C. Volumes fixos da solução foram retirados a intervalos de tempo determinados (30 min, 45 min, 90 min, 120 min, 180 min, 240 min, 24h, 48h, 72h, 96h, 7 dias, 8 dias, 9 dias), sendo esses volumes repostos com etanol 99,9%. Todas as amostras retiradas foram analisadas através do espectrofotômetro UV-vis, da Shimadzu, sendo feita então a análise da liberação do hormônio ao longo do tempo por meio de leituras no comprimento de onda de 280 nm, protocolo representado na figura 10B. O experimento foi feito em triplicata (Fig. 11)(UNNITHAN *et al.*, 2015).

Figura 10 - (A) Esquema ilustrativo da obtenção da curva de calibração do 17β -estradiol; (B) Esquema ilustrativo da obtenção da curva de liberação hormonal.



Fonte: Autoria própria.

Figura 11 - Experimento de liberação hormonal.



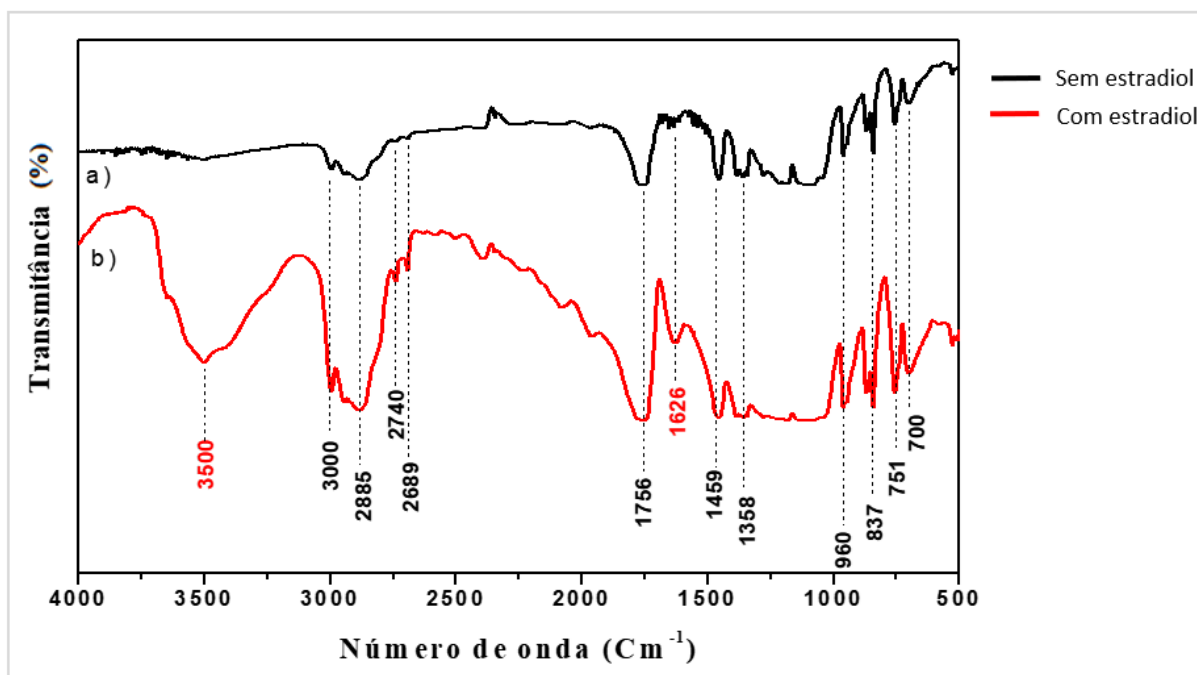
Fonte: Autoria própria.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) foi utilizada para auxiliar na determinação dos compostos que apresentam espectros de absorção na região do infravermelho e estão presentes nas amostras (a) de nanofibras sem 17β -estradiol e (b) nanofibras encapsulando o hormônio 17β -estradiol, como pode ser observado na figura 12.

Figura 12 - FTIR das Nanofibras com e sem estradiol.



Fonte: Autoria própria.

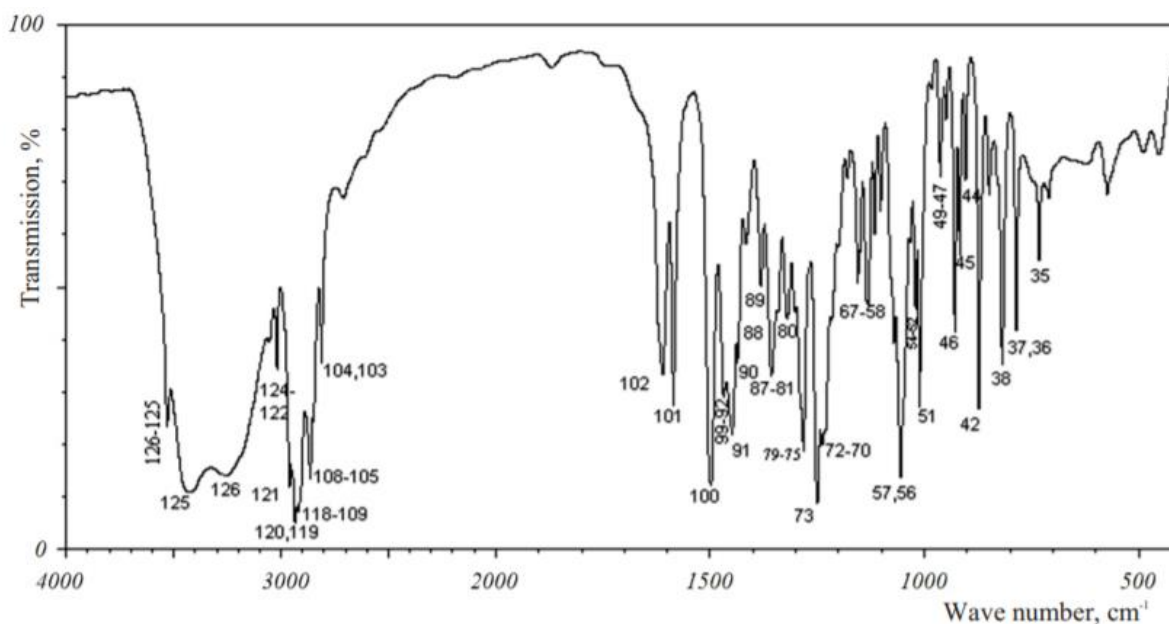
A partir da análise do espectro, observa-se a presença de picos nos comprimentos de onda 1756 cm^{-1} e 960 cm^{-1} , o que pode ser um forte indicativo da presença do polímero PLA, sendo esses picos referentes, respectivamente, ao estiramento do grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) do grupo éster do PLA e ao estiramento do seu grupo éter ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$).

Os picos observados nos comprimentos de onda 2885 cm^{-1} , 3500 cm^{-1} e 960 cm^{-1}

¹ são indicativos da presença do polímero PEG e correspondem, respectivamente, ao estiramento do (CH), às vibrações de estiramento de grupos hidroxila associados a pontes de hidrogênio (O-H) e, assim como no caso do polímero PLA, ao estiramento do grupo do seu grupo éter (C-O-C) (BISWAL; SAHOO; MURTHY, 2009)(CHINH *et al.*, 2014)(XU *et al.*, 2009).

O hormônio 17 β -estradiol não foi identificado no espectro obtido, visto que não foi observada a presença de suas principais bandas características, que incluem bandas largas na faixa 3436-3227 cm⁻¹ atribuídas ao grupo O-H, na faixa 1227-1340 cm⁻¹ referentes a deformação no grupo fenol (O-H) e 1017-1051 cm⁻¹ referentes a deformação do grupo (C-O), como pode ser observado na figura 13 (UNNITHAN *et al.*, 2015)(SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

Figura 13 – Espectro do 17 β -estradiol



Fonte: (MINAEV; MINAEVA, 2006)

Assim, é possível identificar a presença dos polímeros PLA e PEG nos gráficos infravermelhos, entretanto o espectro não apresentou nenhuma banda que possa estar relacionada ao estradiol. Uma possível justificativa para esse resultado é que, devido a proximidade entre os picos característicos dos polímeros com os referentes ao hormônio, tenha ocorrido uma sobreposição dessas bandas, impossibilitando a identificação do 17 β -estradiol. Dessa forma, se torna necessária a utilização de outros métodos de

caracterização para confirmar a presença do 17 β -estradiol na nanofibra.

5.2. Liberação hormonal

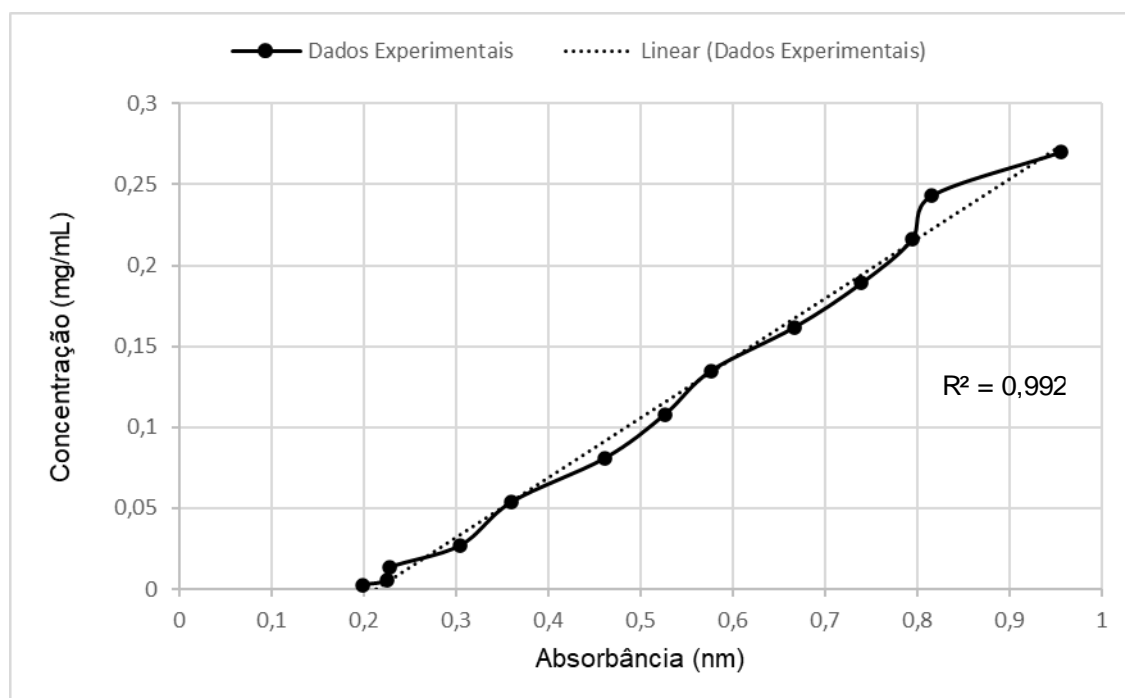
As concentrações de 17 β -estradiol utilizadas para elaboração da curva de liberação e a sua absorvância estão retratadas na tabela 1. A figura 13 representa a curva de calibração do hormônio 17 β -estradiol, elaborada dentro dos padrões de confiabilidade, tendo um R^2 de 0,992, coeficiente de correlação de Pearson aceitável (acima de 0.90 e abaixo de 1.00, valor máximo possível).

Tabela 1 - Concentração/Absorvância do Estradiol.

Concentração													
Estradiol (mg/mL)	0,2700	0,2430	0,2160	0,1890	0,1620	0,1350	0,1080	0,0810	0,0540	0,0270	0,0135	0,0054	0,0027
Absorvância (nm)	0,955	0,815	0,794	0,739	0,667	0,576	0,526	0,461	0,360	0,304	0,228	0,225	0,199

Fonte: Autoria própria.

Figura 14 - Curva de Calibração Estradiol.



Fonte: Autoria própria.

Em relação a liberação hormonal das nanofibras, foi observado que a nanofibra controle (SH) não apresentou liberação do hormônio durante o tempo de experimento, como pode ser observado na tabela 2 e na figura 14, sendo esse resultado coerente visto que o 17 β -estradiol não está presente na sua composição. Entretanto, a nanofibra incorporada ao hormônio (CH) apresentou uma liberação praticamente nula do 17 β -estradiol ao longo dos 9 dias, como observado na tabela 3 e na figura 14.

Tabela 2 - Liberação Nanofibra sem hormônio (SH) - Tempo/Concentração.

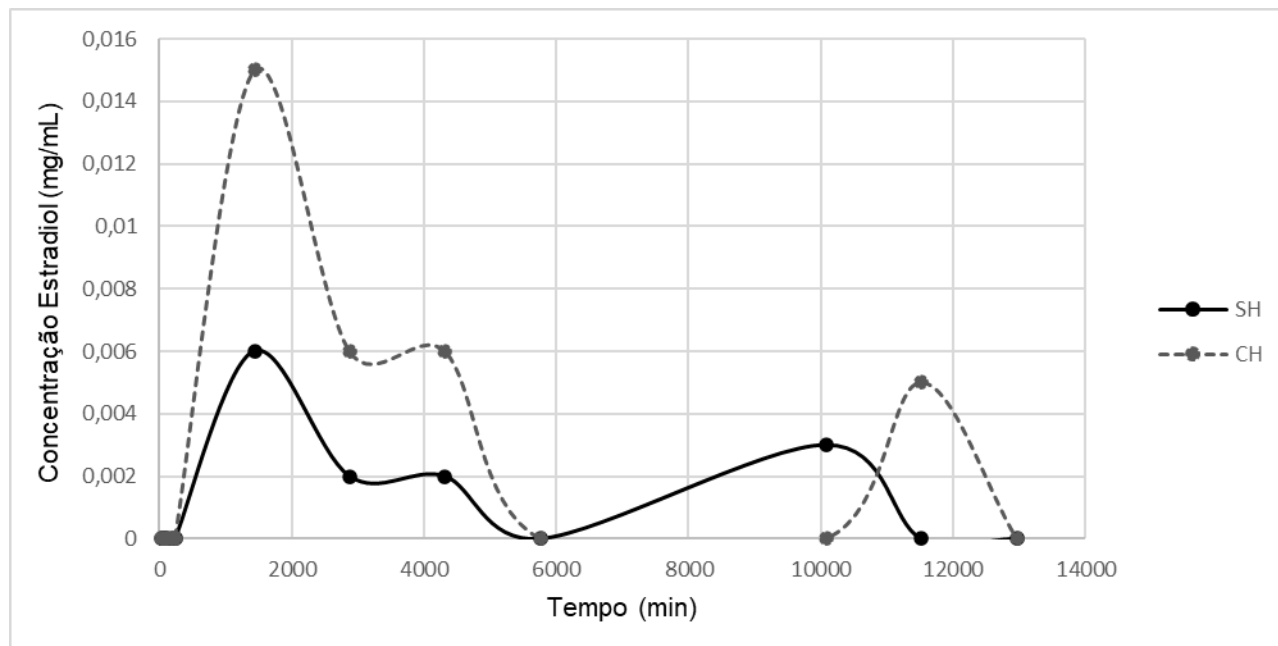
Tempo (min)	Concentrações (mg/mL)			Média
	SH1	SH2	SH3	
30	0	0	0	0
45	0	0	0	0
90	0	0	0	0
120	0	0	0	0
180	0	0	0	0
240	0	0	0	0
1440	0,006	0,007	0,005	0,006
2880	0,005	0,002	0	0,002
4320	0,002	0,001	-	0,002
5760	0	0	0	0
10080	0,009	0,001	0	0,003
11520	0	0,001	0	0
12960	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria.

Tabela 3 - Liberação Nanofibra com hormônio (CH) Tempo/Concentração.

Tempo (min)	Concentrações (mg/mL)			Média
	CH1	CH2	CH3	
30	0	0	0	0
45	0	0	0	0
90	0	0	0	0
120	0	0	0	0
180	0	0	0	0
240	0	0	0	0
1440	0,014	0,011	0,021	0,015
2880	0,007	0,006	0,005	0,006
4320	0,005	0,004	0,009	0,006
5760	0	0	0	0
10080	0	0	0	0
11520	0	0,012	0,002	0,005
12960	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria.

Figura 15 - Liberação Nanofibras com Hormônio (CH) e sem Hormônio (SH).

Fonte: Autoria própria.

Nos estudos de Chulalongkorn (2010) foi produzida uma nanofibra com os polímeros PEO e alginato encapsulando estradiol, sintetizada pelo método de eletrofição, e nesse caso o hormônio foi detectado no FTIR e sua liberação foi observada. Estudos de Unnithan *et al.* (2015) produzem uma nanofibra de poliuretano-dextrano carregado com estradiol, também sintetizada pelo método de eletrofição, com resultados positivos de liberação do estradiol.

A técnica de síntese por SBS utilizada nesse estudo foi criada baseada nos métodos de eletrofição e *blow spinning*, apresentando como vantagens uma maior taxa de produção e a não necessidade de campo elétrico (TUTAK *et al.*, 2013). Nesse método a solução polimérica é composta por polímeros, pelo fármaco a ser incorporado e por um solvente solúvel que evapora rapidamente antes das fibras serem depositadas na superfície de coleta (BEHRENS *et al.*, 2014).

Dessa forma, tendo em vista que a liberação do 17β -estradiol pode ser observada na literatura, seria interessante que o experimento de liberação controlada fosse refeito, afim de confirmar o resultado obtido.

6. CONCLUSÃO

Concluímos que foi possível realizar a síntese da nanofibra de PLA/PEG sem o hormônio 17β -estradiol através do método de *Solution Blow Spinning* entretando, se tratando da nanofibra de PLA/PEG com hormônio, a presença do mesmo não foi comprovada. Ambas as nanofibras foram caracterizadas através da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e foi realizado o experimento de liberação controlada dos materiais.

Através da FTIR foi observada a presença dos polímeros PLA e PEG nas nanofibras, porém não foi possível identificar a presença do 17β -estradiol. Uma possível justificativa para esses resultados é que o método de caracterização por FTIR não foi eficaz na identificação do 17β -estradiol, podendo ter ocorrido sobreposição dos picos poliméricos com os do hormônio ou problemas técnicos com o espectrofotômetro IRAffinity-1. No experimento de liberação controlada do hormônio ele também não foi detectado pelo espectrofotômetro UV-vis.

Para avanços nessa pesquisa é necessário que outros métodos de caracterização sejam utilizados visando identificar a presença do hormônio no material, dentre eles a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a análise termogravimétrica (TGA). Em relação aos resultados de liberação hormonal, tendo em vista que a mesma pode ser observada na literatura, seria interessante que o experimento de liberação controlada fosse refeito, afim de confirmar o resultado obtido. Também é favorável a pesquisa a elaboração de mais grupos de nanofibras, em diferentes condições de síntese e proporções poliméricas e de fármaco, afim de estabelecer a melhor condição de fiação da nanofibra.

7. REFERÊNCIAS

- ANTUNES, S.; MARCELINO, O.; AGUIAR, T. *DOSSIER CLIMATÉRIO E MENOPAUSA*. *Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar*. [S.l.: s.n.], 1 jul. 2003. Disponível em: <<https://www.rpmgf.pt/ojs/index.php/rpmgf/article/view/9957>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- BEHRENS, A. M. *et al.* In situ deposition of PLGA nanofibers via solution blow spinning. *ACS Macro Letters*, v. 3, n. 3, p. 249–254, 18 mar. 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/mz500049x>>. Acesso em: 10 out. 2020.
- BISWAL, S.; SAHOO, J.; MURTHY, P. N. Characterisation of gliclazide-PEG 8000 solid dispersions. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 8, n. 5, p. 417–424, 2009. Disponível em: <<http://www.tjpr.org>>. Acesso em: 11 out. 2020.
- BONAN, R. F. *et al.* In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly(lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (*Copaifera sp.*) oil. *Materials Science and Engineering C*, v. 48, p. 372–377, 1 mar. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25579936/>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- CHINH, N. T. *et al.* Thermal property, morphology, and hydrolysis ability of poly(lactic acid)/chitosan nanocomposites using polyethylene oxide. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 132, n. 12, p. n/a-n/a, 1 nov. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/app.41690>>. Acesso em: 11 out. 2020.
- CLAPAUCH, R. *et al.* Hormonal therapy of menopause: 2004 position of the Department of Female Endocrinology and Andrology of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*, v. 49, n. 3, p. 449–454, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302005000300018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 9 out. 2020.
- HELFER, G. A. *et al.* Using multivariate analysis methods in quality control of food essence by mid-infrared spectroscopy. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 4, p. 779–786, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000400011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 5 out. 2020.
- JEON, G.; YANG, S. Y.; KIM, J. K. Functional nanoporous membranes for drug delivery. *Journal of Materials Chemistry*, v. 22, n. 30, p. 14814–14834, 14 ago. 2012. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2012/jm/c2jm32430j>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- LU, X. *et al.* *One-dimensional conducting polymer nanocomposites: Synthesis, properties and applications*. *Progress in Polymer Science (Oxford)*. [S.l.]: Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://researchoutput.ncku.edu.tw/en/publications/one-dimensional->

- conducting-polymer-nanocomposites-synthesis-prope>. Acesso em: 9 out. 2020. , 2011
- MALAFAYA, P. B.; SILVA, G. A.; REIS, R. L. *Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. Advanced Drug Delivery Reviews*. [S.l.]: Adv Drug Deliv Rev. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17482309/>>. Acesso em: 9 out. 2020. , 30 maio 2007
- MANDAL, A. *What does Estradiol do?* Disponível em: <<https://www.news-medical.net/health/What-does-Estradiol-do.aspx>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- MEDEIROS, E. L. G. *et al.* Porous Bioactive Nanofibers via Cryogenic Solution Blow Spinning and Their Formation into 3D Macroporous Scaffolds. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, v. 2, n. 9, p. 1442–1449, 12 set. 2016. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsbiomaterials.6b00072>>. Acesso em: 2 out. 2020.
- MEDEIROS, E. S. *et al.* Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 15 ago. 2009.
- MIDDLETON, J. C.; TIPTON, A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, v. 21, n. 23, p. 2335–2346, 1 dez. 2000.
- MINAEV, Â. F.; MINAEVA, V. A. *Study of IR Spectrum of the 17 β -Estradiol using Quantum-Chemical Density Functional Theory*, 2009.
- MORGANO, M. A. *et al.* Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e regressão PLS. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 1, p. 25–31, mar. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000100005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 10 out. 2020.
- PANTALEÃO, J. A. S. *et al.* Effect of tibolone on endometrium of castrated rats. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia*, v. 31, n. 3, p. 124–130, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032009000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 18 out. 2020.
- POLONINI, H. C. *et al.* A TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL E A SAÚDE DA MULHER NO CLIMATÉRIO: RISCOS E BENEFÍCIOS *Hormone replacement therapy and women's health during climacteric: risks and benefits. /set.* [S.l.: s.n.], 6 set. 2011. Disponível em: <<https://periodicos.ufjf.br/index.php/aps/article/view/14737>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- ROZENBERG, S.; VANDROMME, J.; ANTOINE, C. *Postmenopausal hormone therapy: Risks and benefits. Nature Reviews Endocrinology*. [S.l.]: Nat Rev Endocrinol. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23419265/>>. Acesso em: 11 out. 2020. , abr. 2013
- SCHAFFAZICK, S. R. *et al.* *Physicochemical characterization and stability of the*

- polymeric nanoparticle systems for drug administration. Quimica Nova.* [S.l.]: Sociedade Brasileira de Quimica. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000500017&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 9 out. 2020. , 2003
- SHAI, Y. *ATR-FTIR studies in pore forming and membrane induced fusion peptides. Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes.* [S.l.]: Biochim Biophys Acta. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23201348/>>. Acesso em: 4 out. 2020. , 2012
- SOPPIMATH, K. S. *et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. Journal of Controlled Release.* [S.l.]: Elsevier. , 29 jan. 2001
- TAO, S. L.; DESAI, T. A. *Microfabricated drug delivery systems: From particles to pores. Advanced Drug Delivery Reviews.* [S.l.]: Elsevier. , 24 fev. 2003
- TUTAK, W. *et al. The support of bone marrow stromal cell differentiation by airbrushed nanofiber scaffolds. Biomaterials,* v. 34, n. 10, p. 2389–2398, mar. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23312903/>>. Acesso em: 29 set. 2020.
- UNNITHAN, A. R. *et al. Electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats loaded with Estradiol for post-menopausal wound dressing. International Journal of Biological Macromolecules,* v. 77, p. 1–8, 1 jun. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25748849/>>. Acesso em: 7 out. 2020.
- VURAL, M. *et al. Sprayable elastic conductors based on block copolymer silver nanoparticle composites. ACS Nano,* v. 9, n. 1, p. 336–344, 27 jan. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25491507/>>. Acesso em: 29 set. 2020.
- WENG, L.; XIE, J. Smart Electrospun Nanofibers for Controlled Drug Release: Recent Advances and New Perspectives. *Current Pharmaceutical Design,* v. 21, n. 15, p. 1944–1959, 15 abr. 2015. Disponível em: <<http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25491507/>>. Acesso em: 9 out. 2020.
- WYGODA, M. M. *et al. Monitorizando a terapia de reposição estrogênica (TRE) na menopausa. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia,* v. 43, n. 5, p. 336–343, out. 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27301999000500005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 9 out. 2020.
- XU, J. *et al. Preparation of chitosan/PLA blend micro/nanofibers by electrospinning. Materials Letters,* v. 63, n. 8, p. 658–660, 31 mar. 2009.
- XUE, Y. *et al. PEGylated poly(ester amide) elastomer scaffolds for soft tissue engineering. Polymers for Advanced Technologies,* v. 28, n. 9, p. 1097–1106, 1 set. 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pat.4002>>. Acesso em: 9 out. 2020.

8. GLOSSÁRIO

Biocompatibilidade	Compatibilidade biológica de algo, quando não causa reações indesejáveis aos tecidos e fluidos corporais.
Biodegradável	Que pode ser decomposto por ação de agentes biológicos.
Brometo de potássio	Um composto químico formado de potássio e bromo.
Clorofórmio	Composto químico do grupo dos haletos orgânicos cuja fórmula química é CHCl_3 .
Cólon	Parte central do intestino grosso.
Comprimento de onda	Medida de distância de valores repetidos sucessivos da propagação de ondas sonoras por um determinado material.
Endógenos	Aquilo que tem origem no interior.
Endometrio	Tecido que reveste a parede uterina.
Espectro	Representação da intensidade da radiação em função do comprimento de onda de um sistema.
Espectrofotometria	Estudo da interação da radiação eletromagnética na faixa do infravermelho (UV).
Etanol	Substância orgânica.
Estradiol	Principal estrogênio em mulheres na idade reprodutiva.
Estriol	Tipo de estrogênio endógeno.
Estrogênio	Grupo de hormônios estrogênicos com funções fisiológicas semelhantes.
Estrona	Tipo de estrogênio endógeno.
Eventos tromboembólicos	Eventos relacionados a formação de coágulos no interior das veias.
Fogachos	Ondas de calor características da menopausa.

Fraturas osteoporóticas	Fraturas ósseas associadas à osteoporose.
Grupo carbonila	Grupo funcional constituído por um átomo de carbono e um de oxigênio.
Grupo éster	Grupo funcional constituído por um ácido carboxílico e um álcool.
Grupo éter	Grupo funcional constituído por dois átomos de carbono separados por um de oxigênio.
Grupo hidroxila	Grupo funcional constituído por um átomo de hidrogênio e um de oxigênio.
Hormônio	Molécula que funciona como sinalizador celular, responsável por integrar sistemas do organismo.
Hidrofóbico	Referente a não solúvel em água.
Hidrofílico	Afinidade com água, solúvel na mesma.
Hiperestrogenismo	Condição causada pelo excesso de estradiol no organismo.
Imunogênico	Que provoca resposta do sistema imune.
Infecções urogenitais	Infecções no aparelho urinário e genital.
Bomba de infusão	Aparelho utilizado para perfundir líquidos com fluxo e volume controlados.
Interferograma	Sinal complexo formado durante a técnica de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.
Lipoproteína	Agregado molecular envolvido no transporte de lipídeos em meios líquidos.
Massa molar	Massa em gramas de um mol de uma substância.
Menopausa	Fase biológica, natural e não patológica da vida feminina.
Nanofibra	Mateial nanométrico, com pequena dimensão e alta área superfície específica.
Nanomaterial	Material na escala nanométrica.

Nível terapêutico	Quantidade necessária de um agente terapêutico para causar efeito terapêutico.
Osteoporose	Doença caracterizada pela diminuição da densidade óssea e aumento do risco de fraturas.
Osteopenia	Condição fisiológica caracterizada pela perda gradual da massa óssea, que pode levar a osteoporose.
Princípio ativo	Substância que deverá exercer efeito farmacológico.
Poliácido láctico (PLA)	Polímero hidrofóbico, biodegradável e biocompatível.
Poliétilenoglicol (PEG)	Polímero hidrofóbico e biocompatível.
Polímero	Macromoléculas formadas por monômeros, moléculas de baixa massa molecular.
Progesterona	Hormônio importante na regulação do ciclo menstrual e na manutenção da gestação.
Solução estoque	Solução concentrada, pode ser diluída, fornecendo soluções de menor concentração.
Solúvel	Que pode ser dissolvido.
Solvente	Substância que dissolve um soluto.
Sudorese	Secreção de suor, transpiração.
Terapia hormonal	Tratamento com utilização de hormônios.
Via transdérmica	Via de administração de medicamento na qual o mesmo é absorvido pelo organismo através da pele.
Vibração de estiramento	Oscilações radiais das distâncias entre os núcleos de dois átomos.