



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANA MARIA SANTOS OLIVEIRA

MAPEAMENTO TECNOLÓGICO CONTENDO SILIBININA E
PROPOSTA DE PRÉ-FORMULAÇÃO

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2023

ANA MARIA SANTOS OLIVEIRA

**MAPEAMENTO TECNOLÓGICO CONTENDO SILIBININA E
PROPOSTA DE PRÉ-FORMULAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Mairim Russo Serafini

Co-orientadora: Profa. Dra. Luiza Abrahão Frank

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2023

ANA MARIA SANTOS OLIVEIRA

**MAPEAMENTO TECNOLÓGICO CONTENDO SILIBININA E
PROPOSTA DE PRÉ-FORMULAÇÃO**

Dissertação, apresentada a Universidade Federal de
Sergipe como parte das exigências do título de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

São Cristóvão, 09 de Fevereiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Mairim Russo Serafini
(Universidade Federal de Sergipe)

Dr^ª Tatianny de Araujo Andrade
(Universidade Federal de Sergipe)

Prof. Dr. Marcelo Cavalcante Duarte
(Universidade Federal de Sergipe)

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

O48m Oliveira, Ana Maria Santos
Mapeamento tecnológico contendo silibinina e proposta de pré-
formulação / Ana Maria Santos Oliveira ; orientadora Mairim Russo
Serafini. – São Cristóvão, SE, 2023.
88 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) –
Universidade Federal de Sergipe, 2023.

1. Tecnologia farmacêutica. 2. Nanotecnologia. 3. Silibina. 4.
Patentes. I. Serafini, Mairim Russo, orient. II. Título.

CDU 615:606

DEDICATÓRIA

*A minha mãe que luta todos os dias por uma
educação pública de qualidade.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida e por me mostrar que a sua vontade é boa, perfeita e agradável (Romanos 12:2).

À minha mãe, que é uma mulher de fibra, batalhadora e maravilhosa. Por valorizar a educação, acreditar no ensino público de qualidade e ser exemplo de professora e funcionária pública. Pelo investimento na minha educação e por me sustentar, meu muito obrigada! Ao meu pai, por sempre apoiar seus filhos a realizarem seus sonhos.

Ao meu namorado e a sua família pelo companheirismo, amor e dedicação. Obrigada por aturar meus estresses, por segurar na minha mão e confiar em mim até mesmo quando eu não confiava.

À minha avó Maria por todo o carinho e amor que sempre demonstrou por mim, por todas as orações. Aos meus irmãos pelos momentos compartilhados. As minhas afilhadas Paloma e Lorena e as minhas sobrinhas Elisa e Júlia, que mesmo pequenas são motivo de grande felicidade. Aos meus tios e tias, em especial, meus tios Unaldo e Cristiane por sempre se preocuparem comigo. Aos meus primos e primas, em especial, à minha prima Renata e seu esposo Fernando.

À minha orientadora Prof. Dr^a Mairim Serafini por ter me acolhido desde o início da graduação, me ajudando a evoluir cientificamente. Por muitas vezes me mostrar que desculpa não me levaria a lugar nenhum. À minha co-orientadora Prof. Dr^a Luiza Abrahão Frank por toda a ajuda prestada.

Ao LeFT, em nome do Prof. Dr^o Adriano Antunes e Prof. Dr^o Marcelo Cavalcante, pelo acolhimento. Aos ICs e colegas de laboratório. Aos meus amigos de laboratório Tatianny, José Adão, Anamaria e Saulo pela parceria, pelas risadas, pelos momentos de sufoco e por sempre serem solícitos comigo.

À Paula Menezes, Gabriela Trindade e Monna Lisa por todas as contribuições durante os seminários do curso. À Prof. Dr^a Ana Amélia por toda a ajuda, principalmente nos momentos de indecisões e angústias sobre o projeto.

Aos meus amigos Breno, Daniel, Sabrina, Tércia e Máisa pelo companheirismo e amizade. Ao meu amigo Cláudio Júnior por ser tão parceiro nessa caminhada, sempre me ajudando e torcendo por mim. Ao meu casal favorito Andrea e Ítalo por estarem comigo sempre;

o apoio de vocês sempre foi fundamental. A Raul e João Victor por compartilharem ótimos momentos comigo.

A todos e todas que de alguma maneira contribuíram nessa caminhada e a tornaram possível.

Agradeço à Universidade Federal de Sergipe por todo suporte e estrutura.

Agradeço a todos os colaboradores desta dissertação, a CAPES, FAPITEC/SE e CNPq (Brasil) pelo apoio financeiro.

RESUMO

Mapeamento tecnológico contendo silibinina e proposta de pré-formulação. Ana Maria Santos Oliveira, São Cristóvão-SE, 2023.

A silibinina (SB) é um flavolignano que apresenta diversas atividades farmacológicas, como anti-inflamatória, citoprotetora, anti-carcionogênica e antioxidante. Diante dessas atividades, a SB pode ser considerada uma substância promissora para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos. Entretanto, a SB apresenta algumas limitações, dentre elas a baixa solubilidade aquosa e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade. Dessa forma, o uso de tecnologias farmacêuticas para contornar essas limitações torna-se uma alternativa viável em prol da melhoria das propriedades físico-químicas mencionadas. Dentre as tecnologias mais utilizadas, destaca-se a nanotecnologia. Portanto, o objetivo deste trabalho foi mapear possíveis tecnologias farmacêuticas aplicadas a SB, por meio de depósitos de patentes e, em seguida, propor uma pré-formulação para a fotoproteção. A pesquisa foi realizada em duas bases de dados de patentes gratuitas, a *WIPO* e o *Espacene*, utilizando a palavra-chave '*silibinin*', sem restrição de período temporal. No estudo de pré-formulação foi utilizada como nanotecnologia, as nanocápsulas poliméricas de SB (NP-SB) empregando como polímero a poli(ϵ -caprolactona). Posterior a sua preparação foram analisadas quanto ao diâmetro médio, *span*, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (PZ), pH e teor de SB. Na revisão de patentes, após o processo de triagem e elegibilidade, 28 patentes foram selecionadas para análise, de acordo com o objetivo do estudo. Como resultados iniciais, o maior número de depósitos foi em 2016, já entre os países requerentes, a China obteve cerca de 85,71% (24) e dentre as entidades solicitantes, a indústria foi responsável por 13 patentes. Em relação as tecnologias empregadas, para o transporte e entrega de fármacos, estão as nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, lipossomas, complexos fosfolipídicos, dispersão sólidas e microemulsão. Por fim, todas as patentes compararam a formulação proposta com a substância pura e os resultados mostraram aumento da solubilidade e biodisponibilidade da SB, quando associada essas tecnologias. No estudo de pré-formulação foi possível assegurar que as NP-SB obteve tamanho nanométrico de $161 \pm 13,6$ nm com *span* de $0,7 \pm 0,2$ nm e PDI de $0,22 \pm 0,03$ nm, indicando boa homogeneidade na distribuição do tamanho de partícula. Adicionalmente, as NP-SB apresentaram estabilidade (PZ = $-28,16 \pm 2,5$ mV), pH compatível com o da pele e um teor de 90,8%. Sendo assim, as tecnologias farmacêuticas são tendências promissoras para o desenvolvimento de novos medicamentos e cosméticos.

Palavras-chaves: Silibinina. Tecnologia farmacêutica. Patentes. Nanotecnologia

ABSTRACT

Technological mapping containing silibinin and pre-formulation proposal. Ana Maria Santos Oliveira, São Cristóvão-SE, 2023.

Silibinin (SB) is a flavolignan with several pharmacological activities, such as anti-inflammatory, cytoprotective, anti-carcinogenic, and antioxidant. Given these activities, SB can be considered a promising substance for pharmaceutical products development. However, BS has some limitations, including low aqueous solubility, consequently, low bioavailability. Thus, pharmaceutical technologies have been used to circumvent these limitations and become a viable alternative to improve the physical-chemical properties mentioned, and among the most used technologies, nanotechnology stands out. Therefore, the objective of this work was to map possible pharmaceutical technologies applied to BS through patent deposits and then propose a pre-formulation for photoprotection. The search was carried out in two free patent databases, the WIPO and the Espacenet, using the keyword 'silibinin' without restriction of the time period. In the pre-formulation study, SB polymeric nanocapsules (NP-SB) were used as nanotechnology, using poly(ϵ -caprolactone) as polymer. After their preparation, they were analyzed for mean diameter, span, polydispersion index (PDI), zeta potential (PZ), pH, and SB content. In the patent review, after the screening and eligibility process, 28 patents were selected for analysis, according to the purpose of the study. As initial results, the higher number of deposits was in 2016, already among the applicant countries, China obtained about 85.71% (24), and among the requesting entities, the industry was responsible for 13 patents. Regarding the technologies used for the transport and delivery of drugs, there are polymeric nanoparticles, lipid nanoparticles, liposomes, phospholipid complexes, solid dispersion and microemulsion. Finally, all patents compared the proposed formulation with the pure substance, and the results showed an increase in the solubility and bioavailability of SB when associated with these technologies. In the pre-formulation study, it was possible to ensure that the NP-SB obtained a nanometric size of 161 ± 13.6 nm with a span of 0.7 ± 0.2 nm and PDI of 0.22 ± 0.03 nm, indicating good homogeneity in the particle size distribution. Additionally, the NP-SB showed stability (PZ = -28.16 ± 2.5 mV), pH compatible with the skin and a content of 90.8%. Thus, pharmaceutical technologies are promising trends for the development of new drugs and cosmetics.

Keywords: Silibinin. Pharmaceutical technology. Patents. Nanotechnology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da Silibinina.....	16
Figura 2: Biossíntese da Silibinina.....	16
Figura 3: Principais tecnologias farmacêuticas contendo SB.....	19
Figura 4: Estrutura de complexos fitofosfolípidos e lipossomas.....	21
Figura 5: Comparativo entre os números de artigos científicos e patentes com uso de nanotecnologia atrelado a silibinina.....	34

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALDH1A1	Aldeído desidrogenase 1A1
CACO-2	Linha celular imortalizada de células de adenocarcinoma colorretal humano
CDs	Ciclodextrinas
COVID-19	COVID-19 Doença do coronavírus 2019
DA	Doença de Alzheimer
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM	Diabetes Mellitus
DMSO	Dimetilsulfóxido
DS	Dispersões sólidas
EPO - ESPACENET	<i>European Patent Office</i>
HPMC	Hidroxipropil Metil Celulose
HP- β -CD	2-hidroxipropil- β -ciclodextrina
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
MERS	Síndrome respiratória do Oriente Médio
MMP-9	Matrix metalloproteinase 9
MS	Metabólitos secundários
NAFLD	Doença hepática não gordurosa não alcoólica
NLCs	Carreadores lipídicos nanoestruturados
NPs	Nanopartículas
RAR α	Receptor de ácido retinóico alfa
SARS	Síndrome respiratória aguda grave
SB	Silibinina
SLNs	Nanopartículas lipídicas sólidas
WIPO	<i>World intellectual property organization</i>
β -CD	β -ciclodextrina
EROs	Espécies reativas de oxigênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1. Silibinina (SB)	15
2.2. Tecnologias Farmacêuticas	18
2.2.1 Nanopartículas (NPs)	19
2.2.2 Lipossomas e fitossomas	20
2.2.3. Complexos de inclusão	21
2.2.4. Dispersões sólidas	22
2.2.5. Microemulsões	22
2.3. Patentes	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 Geral	25
3.2 Específicos	25
CAPÍTULO I	26
CAPÍTULO II	27
1 INTRODUÇÃO	28
2 MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 Materiais	28
2.2 Métodos	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4 DISCUSSÃO GERAL	33
5 CONCLUSÕES	35
6 PERSPECTIVAS	36
7 HISTÓRICO DA MESTRANDA	37
8 REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

O uso dos produtos naturais para o tratamento de muitas doenças e enfermidades faz parte da sociedade desde a antiguidade (MUSHTAQ et al., 2018). Esses compostos bioativos são metabólitos e/ou subprodutos derivados de plantas, animais e microrganismos que apresentam grandes vantagens por exibirem diversidade química e estrutural (ABDEL-RAZEK et al., 2020). Na planta, os metabólitos dividem-se em primários, secundários e hormônios (ERB e KLIEBENSTEIN, 2020).

Neste contexto, os metabólitos secundários (MS) agem como reguladores de defesa vegetal, do crescimento e do desenvolvimento das plantas (ERB e KLIEBENSTEIN, 2020). Essa defesa é o resultado de uma evolução e adaptação ao longo do tempo para resistir a bactérias, insetos, fungos e ao clima (DIAS et al., 2012). Os MS são geralmente classificados de acordo com suas vias biossintéticas em terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados (BOURGAUD et al., 2001; TAIZ e ZEIGE, 2010).

Pertencente aos compostos fenólicos, a silimarina apresenta uma mistura complexa de flavonolignanos, flavonóides e moléculas polifenólicas. A Silimarina é o extrato bioativo dos frutos e sementes da planta *Silybum marianum* pertencente à família *Asteraceae*. Essa planta tem propriedades antioxidantes e hepatoprotetoras e é utilizada como fitoterápico para o tratamento de distúrbios hepáticos, a exemplos dos medicamentos: Legalon[®], Steaton[®], Silimalon[®] e Forfig[®], que estão disponíveis no mercado (ABENAVOLI et al., 2010; WESOŁOWSKA et al., 2007; GILLESSEN e SCHMIDT, 2020).

Dentre os flavolignanos presentes na silimarina, destaca-se a silibinina (SB). A SB corresponde cerca de 50-70% da silimarina e apresenta também atividades farmacológicas, como anti-inflamatória (YANG et al., 2020), anti-carcionogênica (LIU et al., 2021) e antifibrótica (LOGUERCIO e FESTI, 2011). Porém, suas atividades são limitadas pela sua baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade (BIJAK, 2017b; DEEP e AGARWAL, 2010).

Dessa forma, o uso de tecnologias farmacêuticas torna-se uma alternativa viável para melhorar as propriedades físico-químicas da SB. Neste caso, tecnologias voltadas ao transporte e entrega de drogas estão entre o principal foco do desenvolvimento de novas formulações, como nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, nanocristais, lipossomas, complexos fosfolipídicos, dispersão sólida e microemulsão (ASHRAFIZADEH et al., 2020; TVRDÝ et al., 2021; WANG et al., 2014).

Devido a estas e outras abordagens inovadoras no desenvolvimento de pesquisas serem

promissoras e de suma importância para o mercado, é imprescindível a realização do depósito de patentes, visto que este procedimento garante a proteção da invenção, evitando assim, a sua reprodução indevida por terceiros (SIRI et al., 2020; VOSS et al., 2017). Desta forma, a realização de prospecções de patentes é uma das maneiras de mapeamento do estado atual, da evolução e tendências de tecnologias (COSTA et al., 2018).

Neste sentido, nosso grupo de pesquisa desenvolve trabalhos relacionados ao mapeamento de tendências tecnológicas desde 2011 com a publicação de Serafini e colaboradores (2011) intitulada “Prospecção tecnológica: *Morinda citrifolia* e indústria farmacêutica”. Além disso, durante a recente pandemia mundial de COVID-19, nossas pesquisas abordaram temas necessários e relevantes para o cenário atual, como as vacinas para SARS, MERS e SARS-CoV-2 (NASCIMENTO JÚNIOR et al., 2021); um mapeamento das máscaras de proteção usadas durante a pandemia (ANDRADE et al., 2021), e da resistência aos antibióticos por patógenos bacterianos respiratórios oportunistas (SANTOS et al., 2022).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi mapear as possíveis tecnologias farmacêuticas que foram utilizadas para contornar as limitações da SB. Para elucidar o tema em questão, fez-se necessário abordar as características da substância a serem melhoradas, a importância das patentes e em sequência, mapear as patentes encontradas. Portanto, a partir dos resultados foi possível compreender as tendências tecnológicas já utilizadas e quanto melhoram o que é proposto. Além do estudo de prospecção, foi realizado o desenvolvimento e avaliação de uma pré-formulação nanotecnológica contendo a SB encapsulada.

Nesse contexto, o capítulo II da dissertação refere-se ao artigo submetido na revista *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* intitulado “*Technological trends containing silibinin: a patent review*”, que aborda patentes contendo a SB melhorada com o uso de tecnologias farmacêuticas. O capítulo III refere-se no desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas de SB.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Silibinina (SB)

Os flavolignanós pertencem ao grupo de lignanas não convencionais, caracterizados estruturalmente por ter uma unidade flavonoide (taxifolina) e uma unidade fenilpropano (álcool coniferílico), unidas por um anel oxerano (BEGUM et al., 2010; CSUPOR et al., 2016; PELTER e HÄNSEL, 1968; VALENTOVÁ et al., 2020). Os flavolignanós são metabólitos secundários que ocorrem na natureza em forma de estereoisómeros, apresentando vários centros quirais e são compostos característicos das sete famílias: *Asteraceae*, *Berberidaceae*, *Chenopodiaceae*, *Flacourtiaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae* e *Scrophulariaceae* (BEGUM et al., 2010; ROMANUCCI et al., 2018).

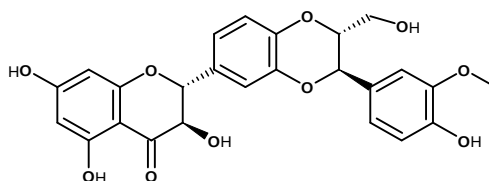
Neste sentido, os primeiros flavolignanós relatados foram os da família *Asteraceae*, pertencente a espécie *Silybum marianum*, popularmente conhecida como “Cardo mariano” (KALOGA, 1981; CSUPOR et al., 2016). Esta espécie é a fonte mais rica dos flavolignanós, totalizando 17 metabólitos descobertos até o momento (BEGUM et al., 2010). Além disso, a *S. marianum* é utilizada no tratamento de patologias do fígado, devido, principalmente, a suas propriedades hepatoprotetoras que são exibidas por três mecanismos: antioxidante (ACHUFUSI e PATEL, 2021), anti-inflamatório (BIJAK, 2017) e antifibrótica (LOGUERCIO e FESTI, 2011).

O extrato bruto das sementes e frutos da *S. marianum* é denominado de silimarina. Além da ação hepatoprotetora, a silimarina apresenta outras atividades farmacológicas, como cardioprotetora (ABENAVOLI et al., 2010), hipocolesterolêmica (ZHOLOBENKO e MODRIANSKY, 2014) e antidiabética (SKOTTOVÁ e KRECMAN, 1998; (FALLAHZADEH et al., 2012). A silimarina contém diversos flavonolignanós como: SB A e B; isosilibina A e B; silicristina A; silidianina; o flavanol (+)-taxifolina; 3-desidrosilibina; 2,3-desidrosilicristina; e 2,3-desidrosilidianina (BIJAK, 2017; VALENTOVÁ et al., 2020; ROMANUCCI et al., 2018).

Dentre os compostos, a SB ($C_{25}H_{22}O_{10}$, peso molecular, 482,44 g/mol) (**Figura 1**) é o ativo mais estudado e facilmente disponível devido a sua alta concentração no extrato de silimarina (50-70%) (VALENTOVÁ et al., 2020). A SB foi isolada em 1968 por Pelter e Hänsel e teve sua estrutura estabelecida pela primeira vez em 1975, utilizando um método degradativo (PELTER e HÄNSEL, 1968; PELTER e HÄNSEL, 1975; CSUPOR et al., 2016). Após diversos estudos, foi comprovada que a SB é composta da mistura de dois diastereoisómeros SB A e SB B e diferenciando-se na configuração em C-10 e C-11 (ROMANUCCI et al., 2018;

LOGUERCIO e FESTI, 2011).

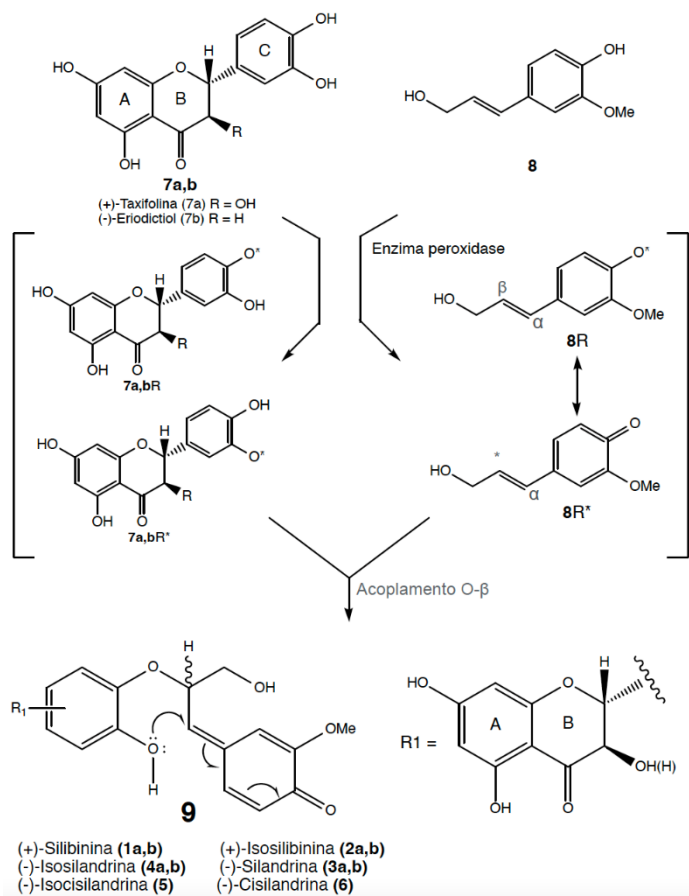
Figura 1: Estrutura química da SB.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022). Obtido através do software *ChemDraw Ultra Professional*.

A biossíntese da SB (**Figura 2**) acontece através de um processo oxidativo entre (+)-taxifolina (7^a) e álcool coniferílico (8), catalizado pela enzima peroxidase. Inicialmente, ocorre a oxidação do um único elétron dos substratos, gerando a formação de radicais livres, tanto da taxifolina quanto do álcool coniferílico, que reagem no acoplamento O-β, resultando num aduto. Logo após, o aduto sofre ciclização pela adição do nucleófilo fenol ao metido de quinina (NYIREDY et al. 2008; BIJAK, 2017).

Figura 2: Biossíntese da Silibinina.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023). Elaborado através do software *ChemDraw Ultra Professional*.

A SB tem grande potencial no desenvolvimento de novos medicamentos, visto que,

apresenta na literatura, além das atividades já apresentadas pela silimarina, atividades como antivirais (MCCLURE et al., 2012), neuroprotetoras (SCIACCA et al., 2017), anticancerígenas (DEEP e AGARWAL, 2010) e fotoprotetora (ROY et al., 2012). Uma explicação para as propriedades hepatoprotetoras da SB foi relatada por Dehmlow e colaboradores (1996), que demonstraram a inibição das funções das células de Kupffer isoladas de ratos utilizando concentrações de SB que variaram de 15 $\mu\text{mol/L}$ à 100 $\mu\text{mol/L}$ (DEHMLOW et al. 1996).

Como também, estudos de Sun e colaboradores (2020) avaliaram o tratamento de camundongos C57BL/6 com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) utilizando SB (50 ou 100 mg/kg/dia) e tauroursodesoxicolato de sódio (TUDCA, 50 mg/kg/dia) por gavagem em quatro semanas e obtiveram como resultado a reversão desse distúrbio metabólico. Estudos mais recentes como o de Wu e colaboradores (2022) demonstraram que a SB regula a atividade do citocromo P450s atenuando o estresse do retículo endoplasmático na DHGNA de camundongos C57BL/6. Nesse estudo os animais receberam SB (50, 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), por via inter-gástrica, durante quatro semanas (SUN et al., 2020; Wu et al., 2022).

Outro distúrbio metabólico que ocorre no organismo é a Diabetes Mellitus (DM), distúrbio caracterizado pela diminuição da atividade e/ou secreção de insulina (PADHI et al., 2020). Estudos realizados por Xu e colaboradores (2018) demonstraram um efeito benéfico na melhoria do controle glicêmico prejudicado pela diabetes no uso oral de SB (100 e 300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$) por quatro semanas, havendo uma inibição significativa da taxa da glicemia de jejum (XU et al., 2018).

Além disso, a atividade anticancerígena da SB está demonstrada na sua eficácia contra vários tipos de câncer, como de próstata (SINGH et al., 2009), mama (LIU et al., 2021), ovário humano (WEI et al., 2022), colorretal (SAMERI et al., 2021), pulmão ((RUGAMBA et al., 2021), entre outros. O mecanismo de ação pode ser através da inibição, apoptose, inflamação, angiogênese e metabolismo de células cancerígenas (DEEP e AGARWAL, 2010). Assim sendo, Guo e colaboradores (2021) avaliaram a inibição de TMEM16A (novo biomarcador de câncer pulmonar) pelo uso da SB (50 e 100 mg/kg e peso corporal /3 dias/veia caudal) em camundongos com xenoenxerto tumoral e as estatísticas mostraram que as taxas de inibição foram de 46% e 62%, respectivamente (GUO et al., 2021).

Já o estudo de Zappavigna e colaboradores (2019) concluiu que a apoptose induzida por essa substância com concentrações (0-200mM) por 72h, ocorre em paralelo ao aumento da síntese de ceramidas e secreção de miRNAs em células HepG2. Assim como a pesquisa de Jiang e colaboradores (2020), que indicaram que a SB inibiu o câncer de próstata através do

mecanismo de regulação negativa da expressão de ALDH1A1, as células ALDH1A1⁺ foram tratadas com DMSO, SB (50, 100 150, 200 μ m) e siRNA-ALDH1A1 por 48 h, e teve como resultado a inibição da ativação de RAR α e prevenção da ativação de Ets1 impedindo assim o crescimento e invasão do câncer de próstata (ZAPPAVIGNA et al., 2019; JIANG et al., 2020).

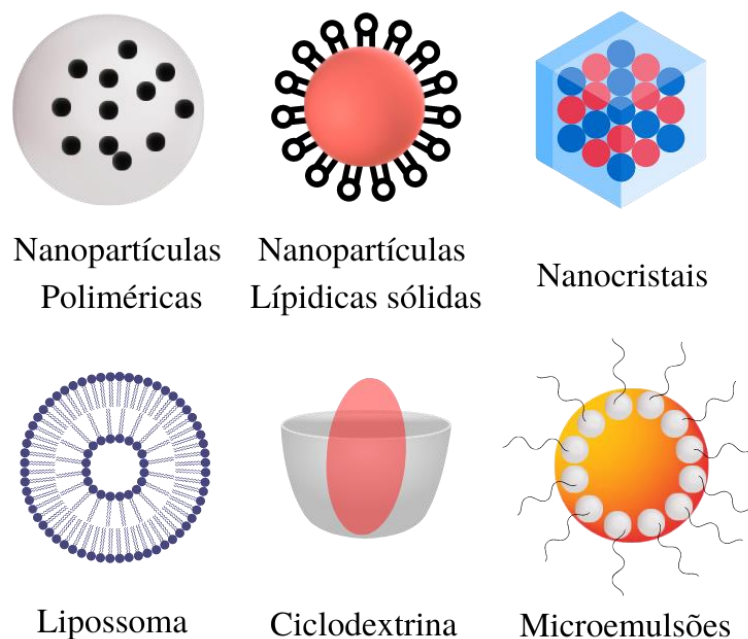
Outra atividade farmacológica da SB descrita na literatura é a neuroprotetora, Yang e colaboradores (2021) avaliaram o uso da SB (5, 10, 20 mg/kg) efetivamente em modelo de esclerose múltipla para a encefalomielite autoimune experimental, através da inibição da ativação de células dendríticas e diferenciação de células Th17. Ademais, resultados promissores são relatados sobre a Doença de Alzheimer (DA), por meio do estudo de Song e colaboradores (2017), a SB é um potencial candidato para o tratamento da DA, devido às suas atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e reguladoras da autofagia que atenuou de forma significativa os déficits de memória induzidos pela proteína β -amilide 25-35 em ratos (YANG et al., 2021; SONG et al., 2017).

Embora a SB seja um composto com grandes efeitos farmacológicos, ela apresenta uma estrutura química altamente hidrofóbica e não ionizável, acarretando numa baixa solubilidade em água (inferior 50 μ g/mL) e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade (BIJAK, 2017). A biodisponibilidade inadequada também é devido ao fato da SB ser uma molécula grande para conseguir absorção por difusão simples e de ter baixa miscibilidade com óleos e outros lipídios, apresentando dificuldade em atravessar a membrana externa rica em lipídios dos enterócitos do intestino delgado (DEEP e AGARWAL, 2010). Além disso, dependendo do pH e método de determinação, seu logP varia de 1,47 a 3,30, justificando assim sua classificação biofarmacêutica classe IV (tendo baixa solubilidade e baixa permeabilidade), segundo o sistema definido pela diretriz da *Food Drug Administration* (FDA) (TVRDÝ et al. 2021).

2.2. Tecnologias Farmacêuticas

A baixa biodisponibilidade da SB é a maior limitação para seu uso farmacológico (ASHRAFIZADEH et al., 2020). A fim de contornar esse problema, uma alternativa consiste no uso de tecnologias farmacêuticas é empregue, como complexações com fosfolipídios e β -ciclodextrinas, micronização, preparação de derivados (sais, formas solúveis em água e glicosídeos), solubilização (surfactante, cossurfactante e cossolventes) e sistemas de entrega direcionados (nano/micropartículas, auto-sistema de liberação de drogas micro emulsificantes e lipossomas) (Figura 3) (TVRDÝ et al., 2021; YU et al., 2010).

Figura 3: Principais tecnologias farmacêuticas contendo SB.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022). Elaborado através do CANVA.

2.2.1 Nanopartículas (NPs)

Os sistemas de entrega direcionada como as nanopartículas (NPs) são compostas por materiais, como lipídios, polímeros e dendrímeros (MITRAGOTRI et al., 2014), caracterizadas pelo seu tamanho diminuto e sua grande área de superfície com relação ao meio em que se encontra (NAJAH-MISSAOUI et al., 2021). Dentre as NPs, as NPs poliméricas são as que apresentam parede polimérica, além de serem importantes devido às suas propriedades físico-químicas como biodegradabilidade, alta biocompatibilidade, facilidade de síntese e conformações estruturais versáteis (ZIELINSKA et al., 2020; ASHRAFIZADEH et al., 2020).

Estudo realizado por Rigon e colaboradores (2019) propôs o desenvolvimento de um hidrogel Permulen® TR2, para uso tópico, inovador contendo nanocápsulas à base de óleo de romã carregadas de SB como tratamento alternativo para a dermatite de contato irritante. Como resultados, as partículas apresentaram tamanho na escala nanométrica, teor de SB próximo aos valores teóricos (1 mg/g) e redução tanto do edema de orelha quanto a infiltração de células inflamatórias em comparação ao grupo induzido (RIGON et al., 2019). Utilizando a mesma tecnologia, mas com o direcionamento para o câncer de pulmão, Patel e colaboradores (2022) desenvolveram uma formulação para administração inalável de SB com poli (ϵ -caprolactona) e Pluronic F 68, faixa de tamanho de partícula foi entre $108 \pm 3,21$ – $397 \pm 3,19$ nm, a concentração final de SB foi de 100 mg/g com eficiência de encapsulação de $81,08\% \pm 1,28$. Quanto ao

estudo *in vivo*, houve redução do tumor de 2,2 g para 0,9 g, significando assim uma inibição do crescimento tumoral nos ratos (PATEL et al., 2022).

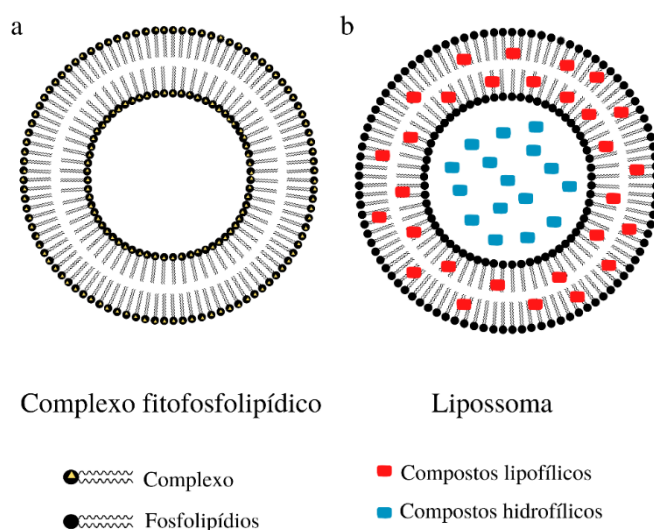
As NPs lipídicas, diferente das poliméricas, apresentam matrizes lipofílicas, onde moléculas ativas são integradas na estrutura lipídica natural ou sintética. As NPs lipídicas são divididas em duas gerações, a primeira geração são NPs lipídicas sólidas (SLNs) e a segunda geração são carreadores lipídicos nanoestruturados (NLCs) (EKAMBARAM et al., 2012). O desenvolvimento das SLNs de SB foi observado no estudo de Xu e colaboradores (2013), os quais obtiveram efeitos inibitórios na invasão e migração de células MDA-MB-231 através da regulação negativa de MMP-9 e Snail com o uso da SB encapsulada (30 mg/kg por via intraperitoneal em dias alternados durante três semanas) em comparação com o composto livre. Além disso, no ensaio de biocompatibilidade foi revelado que o tratamento com SLNs não exibiu toxicidade sistêmica em dois modelos de camundongos (XU et al., 2013).

Enquanto as NPs já discutidas utilizam polímero ou lipídio na sua matriz, os nanocristais são considerados NPs com um núcleo puro de fármaco sem um material de matriz. O agente estabilizador cobre a superfície das partículas de ativo e, assim, facilita a estabilização estérica e a prevenção da agregação (GIGLIOBIANCO et al., 2018; TUOMELA et al., 2014). Neste sentido, Yi e colaboradores (2017) desenvolveram uma nova emulsão de Pickering auto-estabilizada de nanocristais de SB, o conteúdo de SB atingiu 300 mg e a sua estabilidade continuou alta ao longo de 40 dias. Após administração em ratos por via intragástrica a concentração máxima foi aumentada em 2,5 e 3,6 vezes em comparação a substância pura, confirmando a melhora da biodisponibilidade e a promissora capacidade de liberação de fármacos do sistema (YI et al., 2017).

2.2.2 Lipossomas e fitossomas

Usados também para promover a biodisponibilidade de drogas, os lipossomas, são vesículas esféricas composta por uma ou múltiplas bicamadas concêntricas de fosfolípidos, separadas por fases aquosas e englobando um compartimento aquoso (BATISTA et al., 2007; UCHECHI et al., 2014). Estruturalmente semelhante aos lipossomas, os fitossomas são um novo sistema de liberação de substâncias formado por ligações não covalentes. A diferença básica dos dois sistemas é que a substância nos complexos fica ligada com a cabeça polar do fosfolípido e não encapsulado no compartimento ou na bicamada como é o caso dos lipossomas (**Figura 4**) (LU et al., 2019; SONG et al., 2021).

Figura 4: Estrutura de complexos fitofosfolípidos e lipossomas.



Fonte: Adaptado de Lu e colaboradores (2019).

Gheybi e colaboradores (2021) desenvolveram um lipossoma sensível ao pH contendo SB e seus resultados indicaram eficácia no tratamento de tumor de mama 4T1. O estudo *in vivo* foi realizado aplicando 10 mg/kg de SB por via intravenosa na cauda em camundongos BALB/c. Também para o tratamento de câncer, mas nesse caso o de próstata, Mahira e colaboradores (2019) desenvolveram lipossomas catiônicos de cabazitaxel e SB e obtiveram uma eficiência de encapsulação de 90%. Quando os autores avaliaram os lipossomas em relação a sua ação anticancerígena em linhagens celulares de câncer de próstata humano independentes de andrógenos (PC-3 e DU-145) foi possível observar a inibição da migração celular e indução do apoptose (GHEYBI et al., 2021; MAHIRA et al., 2019).

Em outro estudo, Pérez-Sánchez e colaboradores (2019) realizaram um estudo de permeabilidade intestinal da SB-fosfatidilcolina (Siliphos®), SB-meglumina e Eurosil⁸⁵ em monocamadas de células Caco-2. A Siliphos®, que é uma mistura 1:2 de silibinina e soja fosfatidilcolina, apresentou uma maior permeação em relação aos demais e semelhante ao padrão pura de SB. O complexo silibinina-fosfatidilcolina é patenteado e vendido comercialmente pela Thorne (PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2019).

2.2.3. Complexos de inclusão

Outra opção para contornar as limitações da SB é modular suas propriedades e perfis terapêuticos com ciclodextrinas (CDs), que tem capacidade de formar complexos de inclusão através de fracas interações moleculares (AISSA e GARNERO, 2021). As CDs são cilindros cônicos de natureza anfifílica, com cavidade lipofílica e parte externa hidrofílica devido as

bordas possuírem grupos hidroxilas (PEREVA et al., 2019; SONG et al., 2022).

Kellici e colaboradores (2015) avaliaram interações da SB com 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) através de técnicas biofísicas e computacionais e dentre os resultados foi observado o aumento de 10 a 100 vezes na solubilidade do SB após a interação com HP- β -CD em comparação com o SB pura (KELLICI et al., 2015). Já Zhang e colaboradores (2019) utilizaram a β -ciclodextrina (β -CD) modificada por fosfotiramina numa nanomontagem ciclodextrina-lipossoma. Com o objetivo de solubilizar o fármaco e remover as toxinas existentes no tratamento de lesões hepáticas, a SB foi complexada em β -CD e logo após foi encapsulada em lipossomas com fosfatidilcolina (ZHANG et al., 2019).

2.2.4. Dispersões sólidas

Com a mesma finalidade, as dispersões sólidas (DS) são definidas como misturas moleculares de fármacos pouco solúveis em água em carreadores hidrofílicos. As DS apresentam como benefícios o aumento da biodisponibilidade sem alteração do alvo ativo, aumento da molhabilidade das partículas, além da sua fácil obtenção (VASCONCELOS et al., 2007; KAUSHIK e BUDHWAR, 2020).

Neste caso, Sonali e colaboradores (2010) desenvolveram DS de silimarina com HPMC e 15LV pelos métodos de amassamento, secagem por pulverização e co-precipitação. Todos os métodos de preparação melhoraram a dissolução da substância e o método de co-precipitação provou ser o melhor já que forneceu uma dispersão sólida amorfa estável com 2,5% de dissolução melhorada em comparação com o fármaco puro (SONALI et al., 2010). Em 2022, Xu e colaboradores avaliaram a farmacocinética da DS de silimarina em suínos para determinar a biodisponibilidade e concluíram que essa tecnologia foi capaz de aumentar a concentração plasmática de silibina ($1.299,19 \pm 67,61 \text{ ng ml}^{-1}\text{h}$) em comparação a uma pré-mistura de silimarina ($586,82 \pm 180,99 \text{ ng ml}^{-1}\text{h}$) (XU et al., 2022).

2.2.5. Microemulsões

Outro tipo de tecnologia farmacêutica são as microemulsões, que são dispersões que não apresentam tendência de coalescer e são transparentes, com baixa viscosidade e estabilidade termodinâmica (HEUSCHKEL et al., 2008; UCHECHI et al., 2014). As microemulsões tem tamanho médio de gotícula de aproximadamente 100-400 nm e esse valor sofre influência direta do lipídio escolhido e o tensoativo (SOUTO et al., 2022).

Panapisal e colaboradores (2012) avaliaram formulações de sistemas de microemulsão de silimarina para distribuição dérmica. Os estudos de estabilidade química mostraram que a microemulsão contendo Labrasol® e miristato de isopropila armazenada a 40°C por 6 meses

apresentou o maior teor de silibina remanescente e aumento da solubilidade (PANAPISAL et al., 2012). Lai e colaboradores (2019) desenvolveram e otimizaram o sistema de liberação de drogas de auto-microemulsão supersaturada de SB e melhoram a biodisponibilidade oral de SB no meio biológico. A carga de SB foi de 50,19 mg/g, era uniforme, as gotículas da emulsão eram de forma esférica e a taxa de dissolução foi significativamente aumentada (LAI et al., 2019).

Diante do exposto, nota-se que há um crescimento em pesquisas voltadas as tecnologias farmacêuticas, as quais são capazes de melhorar a biodisponibilidade e por consequência a atividade da SB. Além de artigos publicados, existem patentes já concebidas sobre o tema e seu levantamento é de grande importância para compreender seu status e tendências. Um exemplo de patente concebida é a nano silimarina OIC, aprovada pelo *Vietnam Drug Administration*, que é uma nanoformulação comercialmente disponível como suplemento dietético, na forma de cápsulas, para melhorar a função hepática (NANO SILIMARINA OIC NOVO, 2022).

2.3. Patentes

Segundo o Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), “*Patente é um título de propriedade temporária sobre uma invenção ou modelo de utilidade, outorgado pelo Estado aos inventores ou autores ou outras pessoas físicas ou jurídicas detentoras de direitos sobre a criação*” (INPI, 2020). Assim sendo, o depósito de patente tem como principal objetivo dar seguridade das informações publicadas e incentivo à inovação. Em contrapartida, os inventores devem prover descrição detalhada da invenção, as formas de uso e funções; isso favorece a competição de mercado (VOSS et al., 2017).

O processo que ocorre até uma patente chegar ao mercado é baseada em muitas pesquisas que normalmente é longa e custosa, visto que, é necessário passar pelas etapas de pesquisa, submissão e aceite. Dentre as patentes existentes, ocorrem dois tipos: a de invenção, que, após o aceite, o tempo mínimo de poder da patente é de 20 anos; e a modelo de utilidade, que, após o aceite, o tempo mínimo é de 15 anos (FRANÇA, 2007; INPI, 2020).

Nas Patentes de Invenção, as invenções podem ser relacionadas a produtos e atividades industriais (objetos, composições, métodos, aparelhos) e o objetivo principal é criar algo que resulte na solução de um problema em determinada área tecnológica. Entretanto, no Modelo de Utilidade o objetivo é proteção técnico-funcional, já que será realizado o melhoramento do uso do objeto anteriormente criado, proporcionado maior eficiência na utilização (JUNGSMANN e BONETTI, 2010).

Após aceite da patente, para obter suas informações é necessário o acesso as bases de

dados disponíveis de forma gratuita pela internet. Neste acesso é possível obter informações como: país que submeteu o pedido, tipo de inventor, a classificação internacional, a descrição da patente, as reivindicações e até em alguns casos, o arquivo da patente. Dentre os bancos de dados disponíveis, tem-se o nacional: o Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI); e os internacionais: o *European Patent Office* (EPO - ESPACENET), *World Intellectual Property Organization* (WIPO), *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) (CERQUEIRA et al., 2019; PARANHOS e RIBEIRO, 2018).

Nesse contexto, a prospecção de patentes é importante para todas as áreas de atuação porque fornece embasamento para a criação de estratégias de inovação, já que ajuda a mapear o que já tem sido desenvolvido e indica os concorrentes, além de apresentar as tendências de mercado (PARANHOS e RIBEIRO, 2018). Assim sendo, a utilização de prospecção na área das ciências farmacêuticas colabora na busca de substâncias ativas e tecnologias para a cura e tratamento de doenças, como a SB. Isso se deve ao fato que a prospecção tecnológica é capaz de elucidar estratégias já utilizadas para contornar as características que limitam a eficácia da SB.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Mapear as tecnologias farmacêuticas com utilização da SB protegidas por patentes e propor a produção de uma formulação nanotecnológica contendo SB.

3.2 Específicos

- Identificar o ano, país e tipo de instituições que submeteram pedidos de patentes sobre SB;
- Avaliar os pedidos de patentes quanto ao tipo de tecnológica farmacêutica utilizada;
- Propor uma formulação nanotecnológica contendo SB;
- Avaliar as características físico-químicas da formulação.

CAPÍTULO I

Technological trends containing silibinin: a patent review

Artigo submetido no periódico *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*

Fator de impacto de 4.889

CAPÍTULO II

Desenvolvimento e estudo de pré-formulação

1 INTRODUÇÃO

Partindo do que foi demonstrado no capítulo anterior, a utilização de várias tecnologias farmacêuticas é uma alternativa viável para melhorar a solubilidade e biodisponibilidade da SB. Desta forma, durante um período considerável do mestrado foi desenvolvida uma pré-formulação de nanocápsulas poliméricas de SB utilizando o polímero poli(ϵ -caprolactona). A nanoestrutura foi escolhida por apresentar vantagens, como capacidade de produzir uma liberação controlada ao longo do tempo, oferecer uma alta superfície de contato, aumentar a biodisponibilidade de produtos pouco solúveis em água e a alta encapsulação de ativos (DAUDT et al., 2013; ZHAO et al., 2014; NEVES et al., 2022).

O projeto inicial teve como objetivo a criação de uma pré-formulação que após caracterização físico-química seria incorporada ao gel Aristoflex[®] AVC e avaliada quanto a sua atividade fotoprotetora. A fotoproteção ocorre através de filtros físicos e químicos que em contato com a pele absorvem, refletem ou dispersam os raios UV protegendo-a da radiação que é capaz de causar fotoenvelhecimento e doenças cutâneas como o câncer de pele não melanoma. Esses filtros são comprovadamente eficazes na proteção contra o eritema, porém apenas substâncias antioxidantes podem combater a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (CARP, HUISMAN & RELLER, 2004; SCHALKA et al., 2011; LÓPEZ, 2019; MARCHIORI et al., 2017; FISCHER et al., 2018).

Diante o exposto, a SB é alternativa promissora para proteção contra os EROs pois é ativo antioxidante (SI et al., 2020). Segundo Pignatelli e colaboradores (2019), os efeitos comuns da silibinina são antioxidantes, modulador de inflamação e fibrogênese e modulador direto ou indireto de vias metabólicas. Estes efeitos são possíveis porque há uma inibição da formação dos radicais livres e interferência da peroxidação lipídica da membrana (PIGNATELLI et al. 2019).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

- Silibinina – Sigma-Aldrich, São Paulo – SP, Brasil;
- Polissorbato 80 (Tween 80[®]) – Henrifarma, São Paulo – SP, Brasil;
- Poli(ϵ -caprolactona) (PCL) (PM = 80.000) – Sigma Aldrich, São Paulo – SP, Brasil;
- Monoestearato de sorbitano (Span 60[®]) – Sigma Aldrich, São Paulo – SP, Brasil;
- Triglicerídeo do ácido cáprico/caprílico (TCM) - Sigma Aldrich, São Paulo – SP, Brasil.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo das suspensões de nanocápsulas poliméricas de silibinina (NP-SB)

As NP foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado. A fase orgânica e a aquosa foram aquecidas separadamente, sob agitação e após solubilização total dos componentes, a fase orgânica foi vertida cuidadosamente sobre a fase aquosa sendo essa mistura mantida sob agitação por mais 10 minutos à 40°C (JORNADA et al., 2012; FRANK et al., 2017). Posteriormente, a solução foi transferida para rotaevaporador onde o volume final da formulação foi ajustado (10 mL) através da evaporação do solvente orgânico e de parte aquosa. O polímero utilizado para estruturar a parede das nanocápsulas foi a poli(ε-caprolactona) (PCL), o teor de Silibinina utilizada para preparação das NP foi de 1 mg/mL (MENEZES et al., 2017; VENTURINI et al., 2011). A composição da formulação para um volume final de 10 mL está descrita na **Tabela 1**.

Tabela 1: Composição química das NP-SB.

FASE ORGÂNICA	FASE AQUOSA
Monoestearato de sorbitano.....165 µL	Polissorbato80.....76,8 mg
Triglicerídeos ác. cáprico/caprílico.....0,1648 mL	Água.....53 mL
SB.....10 mg	
Poli(ε-caprolactona).....100 mg	
Acetona.....27 mL	

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

2.2.2. Caracterização físico-química da suspensão de NP-SB

2.2.2.1. Determinação do diâmetro de partícula, distribuição granulométrica e índice de polidispersão da formulação (PDI) das NP-SB

As análises foram realizadas em triplicata de lotes determinados através de dispersão de luz dinâmica no Litesizer 500[®], após diluição das dispersões (500 vezes, v/v) em água ultrapura (Milli-q system; millipore[®]). O diâmetro médio baseado no volume (d_{4,3}) foi utilizado como parâmetro para a distribuição de tamanho de partículas. Medidas do diâmetro de partículas correspondentes a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada (d_{0,1}, d_{0,5} e d_{0,9}, respectivamente) também foram realizadas. Por meio dessas medidas, foi realizada a determinação do *span*, que é a medida da dispersão granulométrica que relaciona valores encontrados do diâmetro das partículas correspondentes a 10%, 50% e 90%, sendo estes valores calculados pela Equação 1:

$$\text{Span} = \frac{d_{0,9} - d_{0,1}}{d_{0,5}} \quad (\text{Equação 1})$$

2.2.2.2. Potencial zeta (PZ) das NP-SB

O potencial zeta das formulações contendo os nanocarreadores foi obtido através da Dispersão de luz eletroforética no Litesizer 500[®], após diluição das dispersões (500 vezes, v/v) em solução de NaCl 10 mM previamente filtrada através de membrana 0,45µm Millipore. Os resultados foram obtidos através da média de três determinações.

2.2.2.3. pH das suspensões de NP-SB

A análise de pH das suspensões foi realizada utilizando-se potenciômetro previamente calibrado com tampão 4,0 e 7,0. A medida foi feita diretamente nas suspensões e os resultados foram obtidos através da média de três determinações.

2.2.2.4. Teor de Silibinina nas NP-SB

A concentração total de SB nas formulações de nanocápsulas poliméricas foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A fase móvel (1 mL/min) utilizada foi constituída de metanol/água (90:10, v/v) seguindo o método de Bakhshi e colaboradores (2019). Cada suspensão foi tratada com metanol, sonicada por 15 min em temperatura ambiente e centrifugada por 10 min por 7.000 rpm, ao final a solução foi filtrada (Millipore 0,45 µm) e injetada em CLAE. A análise de teor foi realizada em triplicata de lotes (BAKHSHI, 2019).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As suspensões de nanocápsulas apresentaram resultados conforme a **tabela 2**. Um diâmetro médio de $161 \pm 13,6$ nm (D 4,3), 50% das partículas apresentaram tamanho de $118 \pm 20,1$ (d0,5) e 90% das partículas apresentaram tamanho inferior a 200 nm (d0,9), apresentando tamanhos nanométricos. O valor do *span*, medida de dispersão granulométrica, foi de 0,7 e de PDI foi de $0,22 \pm 0,03$, indicando uma distribuição homogênea no tamanho das partículas. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo de Saqib e colaboradores (2020), que desenvolveram nanopartículas de biopolímero de policaprolactona com anfotericina B para o tratamento de infecções tópicas por leishmaniose e a formulação otimizada exibiu um tamanho de partícula hidrodinâmico médio de 183 nm (SAQIB et al., 2020).

O potencial zeta das suspensões foi de $-28,16 \pm 2,5$ mV, indicando estabilidade físico-química. Esse valor reflete o potencial de superfície das partículas e a sua negatividade é atribuída ao PCL e polissorbato 80 presentes na composição química deste sistema, que por ter em suas constituições grupos de ácidos carboxílicos terminais, podem formar carboxilatos, tornando a superfície negativamente carregada (FRANK et al., 2017; MENEZES et al., 2017).

Esse resultado menor que 30 mV também é encontrado em estudos de Jummes e colaboradores (2020), que desenvolveram nanopartículas antioxidantes antimicrobianas de poli-ε-caprolactona carregadas com óleo essencial de *Cymbopogon martinii* (JUMMES et al., 2020).

O valor do pH das NP-SB foi de $5,8 \pm 0,2$ sendo considerado compatível com a o pH da pele normal (4,5 – 6,0), assim como no PZ, o PCL também influência devido a ionização dos grupos carboxílicos que liberam prótons para o meio circundante (HAWKINS et al., 2021; ZIELIŃSKA et al., 2020).

Para a análise do teor da SB, foi realizado o método analítico para determinar a avaliação do coeficiente de correlação (r) através da curva de calibração. A curva foi preparada a partir de uma faixa de concentração de 5-100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ gerando uma equação da reta de primeiro grau $y = 50660x + 25080$ e o valor de (r) 0,9994. O teor encontrado foi de $90,786 \pm 7,922$, esse resultado apresentou alto desvio padrão entre os lotes sugerindo possível problema no método analítico ou degradação de SB no processo de preparação.

Tabela 2: Resultados das análises de caracterização físico-químicas das NP-SB.

RESULTADOS DAS ANÁLISES DE PRÉ-FORMULAÇÃO (n=3)								
D [4,3]v (nm)	d (0,1)v (nm)	d (0,5)v (nm)	d (0,9)v (nm)	Span	PDI	PZ (mV)	pH	Teor (%)
161 ± 13,6	81 ± 31,5	118 ± 20,1	161 ± 22,3	0,7 ± 0,2	0,22 ± 0,03	-28,16 ± 2,5	5,8 ± 0,2	90,8 ± 8

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

4 DISCUSSÃO GERAL

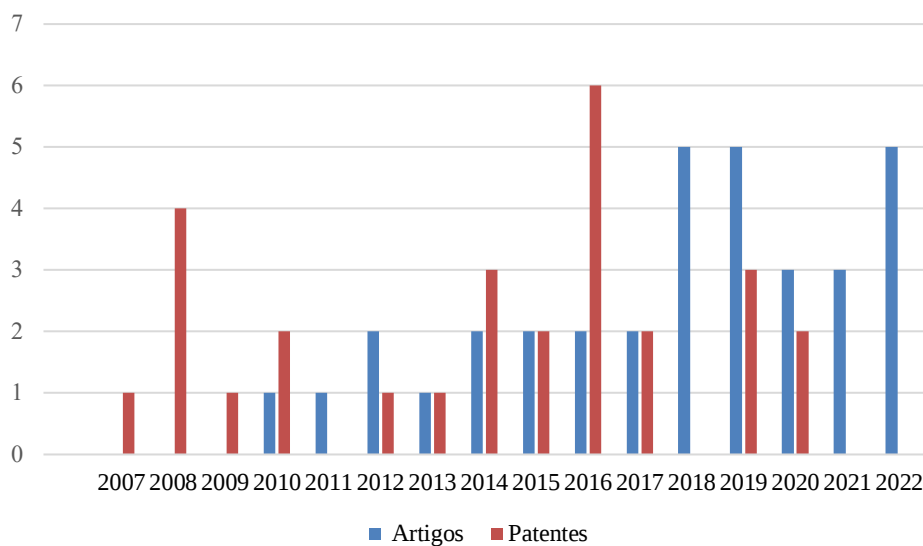
O emprego da tecnologia farmacêutica é fundamental para a melhoria da solubilidade da SB em água e, conseqüentemente, suas atividades farmacológicas. Assim sendo, a combinação de SB com as tecnologias farmacêuticas é capaz de gerar novos medicamentos eficazes para doenças hepáticas (WU et al., 2022) e doenças como o DM (XU et al., 2018), Alzheimer (SONG et al., 2017) e o Parkinson (LIU et al., 2021).

Os documentos analisados foram um total de 28 patentes, que abrangeram um período de 2007 a 2020, sendo possível observar que a maior quantidade de depósitos foi no ano de 2016. Em relação aos países requerentes, a China obteve aproximadamente 85,71% dos depósitos e dentre as entidades solicitantes, a indústria obteve 13 patentes. Esses resultados têm correlação direta com o fato da China apresentar alto investimento e pesquisa, cerca de 2,4% do seu Produto Interno Bruto em Pesquisa e Desenvolvimento (O BANCO MUNDIAL, 2022).

Com base nas tecnologias analisadas, oito relataram o uso de nanopartículas, três de microemulsão, quatro de dispersões sólidas, nove de complexos fosfolipídicos, três de lipossomas e apenas uma de complexo de inclusão com ciclodextrina. Todas as patentes compararam a formulação proposta com a substância pura e apresentaram aumento da solubilidade da SB. Em alguns casos, as patentes realizaram estudo *in vivo* e obtiveram como resultados o aumento da biodisponibilidade da SB.

Em razão da necessidade de compreender as tendências, é imprescindível a prospecção de patentes, porém essa pesquisa possui como limitação o fato de que os pedidos de patentes passam por um período de sigilo de 18 meses após pedido de proteção da invenção. Essa limitação pode ser vista ao analisar a **Figura 5**, em que a quantidade maior de artigos publicados em relação a patentes publicadas. Para essa análise juntou-se os dados das 28 patentes do capítulo II e a pesquisa realizada no banco de dados de artigos PubMed utilizando “*silibinin AND nano**” com quantidade encontrada de 53 artigos dentre os anos de 2010 e 2022.

Figura 5: Comparativo entre os números de artigos científicos e patentes com uso de nanotecnologia atrelado a silibinina.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Portanto, é importante reconhecer que o desenvolvimento da pré-formulação, apesar de apresentar resultados iniciais e que devem ser melhor explorados, trouxe aprendizado e experiência laboratorial em todo o processo, desde o planejamento experimental até a análise dos resultados.

5 CONCLUSÕES

O mapeamento de patentes realizado sobre tecnologias farmacêuticas e SB sugeriram o melhoramento da solubilidade e biodisponibilidade da SB quando correlacionada a vários tipos de tecnologias da área. Esse tipo de pesquisa é economicamente crucial para tomadas de decisões e investimentos, visto que, apresentaram informações como: ano que houve maior investimento na área, países que aplicam seus recursos e tipo de instituições concorrentes. Neste caso, além do relatado, proporcionou a capacidade de avaliar os pedidos de patentes quanto ao tipo de tecnológica farmacêutica utilizada.

Diante do exposto, as submissões de pedidos de patentes com novas tecnologias podem ser usadas como referência para a comunidade científica. Dentre as possíveis novas tecnologias aqui relatadas, as nanocápsulas poliméricas foram as escolhidas para o estudo de pré-formulação e apresentaram tamanho nanométrico e homogeneidade na distribuição do tamanho de partícula, estabilidade, pH compatível com o da pele e um teor de 90,8%, podendo no futuro resultar em uma novo cosmético patentiado.

6 PERSPECTIVAS

A presente proposta de pré-formulação será reavaliada possivelmente durante o doutorado, já que apesar de apresentar resultados iniciais corroborados com a literatura, não foram resultados encontrados nos demais lotes de NP-SB. Além disso, o teor das NP-SB não foi adequado e sinaliza possíveis problemas em decorrência do método analítico inadequado ou degradação de SB no processo de preparação das NPs.

Diante do exposto, se faz necessário a preparação de novas NP-SB e novas análises de caracterização para preencher as lacunas aqui abertas. Além da realização de atividades ainda não iniciadas como: incorporação das NP-SB em gel Aristoflex®AVC, caracterização físico-química do gel, avaliação irritabilidade cutânea da formulação, determinação *in vitro* do efeito fotoprotetor e realização ensaio clínico piloto de fotoproteção.

7 HISTÓRICO DA MESTRANDA

Ana Maria Santos Oliveira ingressou no Laboratório de Ensaios Farmacêuticos e Toxicidade da Universidade Federal de Sergipe no ano de 2016 durante o segundo período do curso de farmácia. No decurso da sua graduação foi aluna de iniciação tecnológica por 4 anos (2016-2020) com projetos como: “Permeação e Liberação *in vitro* de Produto Dérmico para Queimaduras”, “Formulação farmacêutica contendo diterpeno”, “Preparo e caracterização de nanocápsulas” e “Tecnologia aplicada à fotoproteção”. Participou de encontros, simpósios, congressos e foi co-autora de quatro artigos intitulados: **“*Gelatin-based mucoadhesive membranes containing inclusion complex of thymol/ β -cyclodextrin for treatment of oral infections*”** Publicado na *International Journal of Polymeric Materials*; **“*Evaluation of the Use of Compressive Stockings Impregnated With Hesperetin-Based Nanocapsules in the Healing of Venous Ulcers: A Case Report*”**. Publicado na *Clinical Medicine Insights: Case Reports*; **“*Otoliths-composed gelatin/sodium alginate scaffolds for bone regeneration*”**. Publicado na *Drug Delivery and Translational Research*; **“*Trends in MERS-CoV, SARS-CoV, and SARS-CoV-2 (COVID-19) Diagnosis Strategies: A Patent Review*”**. *Frontiers In Public Health*. Sendo este último o seu trabalho de conclusão de curso.

Durante o mestrado, além dos experimentos realizados para o desenvolvimento da pré-formulação e do desenvolvimento do artigo de **“*Technological trends containing silibinin: a patent review*”** foram realizados os seguintes tópicos:

- **Participação no minicurso:** Soluções para Farmacêuticas - Sessão I: Análise Térmica e XRD em Polimorfis. (Carga horária: 1h). Shimadzu do Brasil Comércio, SBC, Brasil.
- **Participação no minicurso:** Espectrometria de massas aplicada ao estudo de produtos naturais. (Carga horária: 2h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Brasil.
- **Participação do curso:** Curso de Nivelamento do Programa de Mentoria em Propriedade Industrial. (Carga horária: 12h). Instituto Nacional da Propriedade Industrial, INPI, Brasil.
- **Participação no minicurso:** Pesquisa e desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos. (Carga horária: 2h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Brasil.
- **Participação no minicurso:** Métodos de avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória. (Carga horária: 2h). Universidade Federal do Vale do São Francisco,

UNIVASF, Brasil.

- **Participação no minicurso:** Pesquisa e desenvolvimento de fitocosméticos. (Carga horária: 2h). Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Brasil.
- **Participação do minicurso:** Controle de Qualidade de Fármacos – HPLC, durante o II Simpósio Brasileiro de Inovação (Bio)farmacêutica.
- **Publicação do artigo** “Substâncias fitoquímicas para o controle do *Aedes aegypti*: protocolo de scoping review” no periódico “Research, society and development”; Co-autora.
- **Publicação do artigo** “Cardiovascular effects of farnesol and its β -cyclodextrin complex in normotensive and hypertensive rats” no periódico “European journal of pharmacology”; Co-autora.
- **Publicação do artigo** “Pharmaceuticals agents for preventing NSAID-induced gastric ulcers: a patent review.” no periódico “Expert Review of Clinical Pharmacology”; Co-autora.
- **Apresentação do trabalho** “Caracterização físico-química do óleo essencial de *Cinnamomum camphora* complexado com β -ciclodextrina” na II SIMBIFAR.
- **Apresentação do trabalho** “Efeito anti-inflamatório das membranas bioativas de colágeno contendo crisina em modelo animal de ferida cutânea excisional” no VIII PLAMEVASF.
- **Apresentação do trabalho** “Efeito sobre a área de ferida residual, inflamação e angiogênese de membranas bioativas contendo *Hyptis pectinata*” no VIII PLAMEVASF.
- **Apresentação do trabalho** “Avaliação da irritabilidade de carreador lipídico nanoestruturado contendo fitol” no VIII PLAMEVASF.
- **Apresentação do trabalho** “Efeitos do d-limoneno incorporado à membranas bioativas de colágeno sobre a cicatrização de feridas cutâneas” no VIII PLAMEVASF.
- **Apresentação do trabalho** “Efeitos das membranas bioativas de colágeno contendo crisina sobre a área de redução de feridas em modelo animal” no VIII PLAMEVASF.
- **Participação no** “I Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia”.
- **Participação no** “Simpósio de Farmacêuticos - Desafios e caminhos para a Farmácia Comunitária na Pandemia”.
- **Participação no** “VIII Simpósio de Plantas Medicinais do Vale São Francisco.”
- **Participação no** “II Simpósio Brasileiro de Inovação (Bio)Farmacêutica.”

- **Participação como banca do TCC** intitulado “Pesquisa de opinião pública em pacientes que convivem com diabetes do tipo 1 e tipo 2 sobre o dispositivo de insulina inalável”
- **Participação como banca do TCC** intitulado “Uso tradicional, perfil químico e atividades biológica as *Solanum paniculatum*: uma revisão”
- **Participação como banca do TCC** intitulado “Detecção de anticorpos IgM para SARS-COV-2 como critério de afastamento de serviço na construção civil”.
- **Participação como banca do TCC** intitulado “Fármacos antibacterianos e complexos de inclusão de ciclodextrina: uma prospecção tecnológica e científica”.
- **Professora voluntária** durante os períodos de 2021.2 e 2022.1 na disciplina de Análise químico-farmacêutica (90h por semestre).

8 REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAZEK, A. S., EL-NAGGAR, M. E., ALLAM, A., MORSY, O. M., e OTHMAN, S. I. (2020). **Microbial Natural Products in Drug Discovery**. Processes 2020, Vol. 8, Page 470, 8(4), 470. <https://doi.org/10.3390/PR8040470>
- ABENAVOLI, L., CAPASSO, R., MILIC, N., e CAPASSO, F. (2010). Milk thistle in liver diseases: past, present, future. **Phytotherapy Research** : PTR, 24(10), 1423–1432. <https://doi.org/10.1002/PTR.3207>
- ABOUZID S. *Phytochemicals—A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech; London, UK: 2012. Silymarin, Natural Flavonolignans from Milk Thistle; pp. 255–272.
- ACHUFUSI, T. G. O., e PATEL, R. K. (2021). **Milk Thistle**. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 26(8), 631–632. <https://doi.org/10.2165/00128415-199907490-00026>
- ARAÚJO ANDRADE, T., NASCIMENTO JUNIOR, J. A. C., SANTOS, A. M., BORGES, L. P., QUINTANS-JÚNIOR, L. J., WALKER, C. I. B., FRANK, L. A., e SERAFINI, M. R. (2021). Technological Scenario for Masks in Patent Database During Covid-19 Pandemic. AAPS PharmSciTech, 22(2), 1–22. <https://doi.org/10.1208/S12249-021-01918-X/FIGURES/7>
- ASHRAFIZADEH, M., AHMADI, Z., MOHAMMADINEJAD, R., FARKHONDEH, T., e SAMARGHEIAN, S. (2019). Nano-soldiers ameliorate silibinin delivery: A review study. **Current Drug Delivery**, 16. doi:10.2174/156720181666619111211
- BATISTA, C. M., DE CARVALHO, C. M. B., e MAGALHÃES, N. S. S. (2007). Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências**

Farmacêuticas, 43(2), 167–179. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000200003>

BEGUM, S. A., SAHAI, M., e RAY, A. B. (2010). Non-conventional lignans: coumarinolignans, flavonolignans, and stilbenolignans. *Fortschritte Der Chemie Organischer Naturstoffe. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Progrès Dans La Chimie Des Substances Organiques Naturelles*, 93, 1–70. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0140-7_1/FIGURES/35

BIJAK, M. (2017a). Flawonolignany – związki nie tylko leczące watrobe. **Pol Merkur Lekarski**, 34–37.

BIJAK, M. (2017B). molecules Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.)-**Chemistry, Bioavailability, and Metabolism**. <https://doi.org/10.3390/molecules22111942>

BOURGAUD, F., GRAVOT, A., MILESI, S., e GONTIER, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, 161(5), 839–851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3)

CARP, O.; HUISMAN, C. L.; RELLER, A. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. **Progress in solid state chemistry**, v. 32, n. 1-2, p. 33-177, 2004.

CERQUEIRA, T. M., SILVA, M. M. DA, e RIBEIRO, N. M. (2019). Prospecção Tecnológica em Documentos de Patentes que Apontam a Fosfoetanolamina como Substância Associada ao Diagnóstico, à Prevenção ou ao Tratamento de Algum Tipo de Câncer. **Cadernos de Prospecção**, 12(4), 835–835. <https://doi.org/10.9771/CP.V12I4.28353>

COSTA, E. C. S., DE FREITAS, J. J. R., e FREITAS, J. C. R. (2018). Innovation and intellectual property of the 1,2,4-oxadiazoles: a technological survey based on patent and

periodical databases. **Química Nova**, 41(6), 713–718. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170211>

CSUPOR, D., CSORBA, A., e HOHMANN, J. (2016). Recent advances in the analysis of flavonolignans of *Silybum marianum*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 130, 301–317. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2016.05.034>

DA SILVA NEVES, K. J., CAMPOS, E. S. S., PAIVA, M. A., DE BARROS, N. B., e MARTINS, T. S. (2022). Sistemas de entrega de drogas baseados em nanotecnologia: nanopartículas poliméricas para tratamento de câncer Nanotechnology-based drug delivery systems: review of recent nanodrug development for cancer treatment. **Brazilian Journal of Development**, 8(4), 24770-24787.

DAUDT, R. M., EMANUELLI, J., KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., POHLMANN, A. R., e GUTERRES, S. S. (2013). Nanotechnology as a strategy for the development of cosmetics. **Science and Culture**, 65(3), 4–7.

DEEP, G., e AGARWAL, R. (2010). Anti-metastatic Efficacy of Silibinin: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential against Cancer. **Cancer Metastasis Reviews**, 29(3), 447. <https://doi.org/10.1007/S10555-010-9237-0>

DIAS, D. A., URBAN, S., e ROESSNER, U. (2012). A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, 2(2), 303–336. <https://doi.org/10.3390/METABO2020303>

EKAMBARAM, P., ABDUL, A., SATHALI, H., e PRIYANKA, K. (2012). SOLID LIPID NANOPARTICLES: A REVIEW. **Sci. Revs. Chem. Commun**, 2(1), 80–102.

www.sadgurupublications.com

ERB, M., e KLIEBENSTEIN, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. **Plant Physiology**, 184(1), 39. <https://doi.org/10.1104/PP.20.00433>

FALLAHZADEH, M. K., DORMANESH, B., SAGHEB, M. M., ROOZBEH, J., VESSAL, G., PAKFETRAT, M., DANESHBOD, Y., KAMALI-SARVESTANI, E., e LANKARANI, K. B. (2012). Effect of addition of silymarin to renin-angiotensin system inhibitors on proteinuria in type 2 diabetic patients with overt nephropathy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation**, 60(6), 896–903. <https://doi.org/10.1053/J.AJKD.2012.06.005>

FISCHER N, SEO EJ, EFFERTH T. Prevention from radiation damage by natural products. **Phytomedicine**. 2018 Aug 1;47:192-200.

FRANÇA, R. O. (2007). Vista do Patente como fonte de informação tecnológica. <https://periodicos.ufmg.br/index.php/pci/article/view/23241/18796>

GHEYBI, F., ALAVIZADEH, S. H., REZAYAT, S. M., HATAMIPOUR, M., AKHTARI, J., FARIDI MAJIDI, R., BADIEE, A., e JAAFARI, M. R. (2021). pH-Sensitive PEGylated Liposomal Silybin: Synthesis, In Vitro and In Vivo Anti-Tumor Evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 110(12), 3919–3928. <https://doi.org/10.1016/J.XPHS.2021.08.015>

GIGLIOBIANCO, M. R., CASADIDIO, C., CENSI, R., e DI MARTINO, P. (2018). Nanocrystals of poorly soluble drugs: Drug bioavailability and physicochemical stability. **Pharmaceutics**, 10(3). <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS10030134>

GILLESSEN, A., e SCHMIDT, H. H. (2020). Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. **Advances in therapy**, 37(4), 1279–1301. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01251-y>

GUO, S., BAI, X., LIU, Y., SHI, S., WANG, X., ZHAN, Y., KANG, X., CHEN, Y., e AN, H. (2021). Inhibition of TMEM16A by Natural Product Silibinin: Potential Lead Compounds for Treatment of Lung Adenocarcinoma. **Frontiers in Pharmacology**, 12.

HAWKINS, S., DASGUPTA, B. R., & ANANTHAPADMANABHAN, K. P. (2021). Role of pH in skin cleansing. **International journal of cosmetic science**, 43(4), 474–483.

HEUSCHKEL, S., GOEBEL, A., e NEUBERT, R. H. H. (2008). Microemulsions--modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 97(2), 603–631. <https://doi.org/10.1002/JPS.20995>

JUNGSMANN, D. DE M., e BONETTI, E. A. (2010). Inovação e propriedade intelectual: guia para o docente. www.sesi.org.br

KALOGA, M. (1981). Isosilychristin, ein neues Flavonolignan aus Silybum marianum L. Gaertn. Zeitschrift Fur Naturforschung - **Section B Journal of Chemical Sciences**, 36(2), 262–265. <https://doi.org/10.1515/ZNB-1981-0225/MACHINEREADABLECITATION/RIS>

KELLICI, T. F., NTOUNTANIOU, D., LEONIS, G., CHATZIATHANASIADOU, M., CHATZIKONSTANTINO, A. V., BECKER-BALDUS, J., GLAUBITZ, C., TZAKOS, A. G., VIRAS, K., CHATZIGEORGIOU, P., TZIMAS, S., KEFALA, E., VALSAMI, G., ARCHONTAKI, H., PAPADOPOULOS, M. G., e MAVROMOUSTAKOS, T. (2015). Investigation of the interactions of silibinin with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin through biophysical techniques and computational methods. **Molecular Pharmaceutics**, 12(3), 954–965. https://doi.org/10.1021/MP5008053/ASSET/IMAGES/LARGE/MP-2014-008053_0010.JPEG

LAI, Z. T., DING, H. B., JIANG, Q. Y., CHEN, X. L., e LIAO, Z. G. (2019). Preparation and

in vitro quality evaluation of silybin supersaturated self-microemulsion drug delivery system.

Chinese Traditional and Herbal Drugs, 50(17), 4091–4099.

<https://doi.org/10.7501/J.ISSN.0253-2670.2019.17.013>

LIU, X., WANG, C., LIU, W., SONG, S., FU, J., HAYASHI, T., MIZUNO, K., HATTORI, S., FUJISAKI, H., e IKEJIMA, T. (2021). Oral Administration of Silibinin Ameliorates Cognitive Deficits of Parkinson's Disease Mouse Model by Restoring Mitochondrial Disorders in Hippocampus. **Neurochemical Research**, 46(9), 2317–2332. <https://doi.org/10.1007/S11064-021-03363-5/FIGURES/7>

LOGUERCIO, C., e FESTI, D. (2011). Silybin and the liver: From basic research to clinical practice. **World Journal of Gastroenterology : WJG**, 17(18), 2288.

<https://doi.org/10.3748/WJG.V17.I18.2288>

LÓPEZ, J.J.; EL HAOUARI, M.; JARDIN, I.; ALONSO, N.; REGODÓN, S.; DIEZ-BELLO, R.; COSME-REDONDO, P.; ROSADO, J.A. Flavonoids and platelet-derived thrombotic disorders. **Curr. Med. Chem.**, 2019, 26(39), 7035-7047.

LU, M., QIU, Q., LUO, X., LIU, X., SUN, J., WANG, C., LIN, X., DENG, Y., e SONG, Y. (2019). Phyto-phospholipid complexes (phytosomes): A novel strategy to improve the bioavailability of active constituents. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 14(3), 265. <https://doi.org/10.1016/J.AJPS.2018.05.011>

MARCHIORI, M. C. L., RIGON, C., CAMPONOGARA, C., OLIVEIRA, S. M., e CRUZ, L. (2017). Hydrogel containing silibinin-loaded pomegranate oil based nanocapsules exhibits anti-inflammatory effects on skin damage UVB radiation-induced in mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 170, 25–32.

MCCLURE, J., LOVELACE, E. S., ELAHI, S., MAURICE, N. J., WAGONER, J., DRAGAVON, J., MITTLER, J. E., KRAFT, Z., STAMATATOS, L., HORTON, H., DE ROSA, S. C., COOMBS, R. W., e POLYAK, S. J. (2012). Silibinin Inhibits HIV-1 Infection by Reducing Cellular Activation and Proliferation. **PLoS ONE**, 7(7), 41832.

<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0041832>

MITRAGOTRI, S., BURKE, P. A., e LANGER, R. (2014). Overcoming the challenges in administering biopharmaceuticals: formulation and delivery strategies. **Nature Reviews. Drug Discovery**, 13(9), 655. <https://doi.org/10.1038/NRD4363>

MUSHTAQ, S., ABBASI, B. H., UZAIR, B., e ABBASI, R. (2018). Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. **EXCLI Journal**, 17, 420.

<https://doi.org/10.17179/EXCLI2018-1174>

NAJAH-MISSAOUI, W., ARNOLD, R. D., e CUMMINGS, B. S. (2021). Safe Nanoparticles: Are We There Yet? **International Journal of Molecular Sciences**, 22(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/IJMS22010385>

NASCIMENTO JÚNIOR, J. A. C., SANTOS, A. M., CAVALCANTE, R. C. M., QUINTANS-JÚNIOR, L. J., WALKER, C. I. B., BORGES, L. P., FRANK, L. A., e SERAFINI, M. R. (2021). Mapping the technological landscape of SARS, MERS, and SARS-CoV-2 vaccines. <https://doi.org/10.1080/03639045.2021.1908343>, 47(4), 673–684.

NYIREDY S., SAMU Z., SZUCS Z., GULACSI K., KURTAN T., ANTUS S. New insight into the biosynthesis of flavanolignans in the white-flowered variant of *Silybum marianum*. **J. Chromatogr. Sci.** 2008;46:93–96. doi: 10.1093/chromsci/46.2.93.

O BANCO MUNDIAL. (2022). Despesas com pesquisa e desenvolvimento (% do PIB) . <https://www.worldbank.org/pt/country/brazil>

PANAPISAL, V., CHAROENSRI, S., e TANTITUVANONT, A. (2012). Formulation of microemulsion systems for dermal delivery of silymarin. *AAPS PharmSciTech*, 13(2), 389–399.

PARANHOS, R. DE C. S., e RIBEIRO, N. M. (2018). Vista do Importância da Prospecção Tecnológica em Base de Patentes e seus Objetivos da Busca.

PATEL, P., RAVAL, M., MANVAR, A., AIRAO, V., BHATT, V., e SHAH, P. (2022). Lung cancer targeting efficiency of Silibinin loaded Poly Caprolactone /Pluronic F68 Inhalable nanoparticles: In vitro and In vivo study. *PLoS ONE*, 17(5).

<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0267257>

PELTER, A., e HÄNSEL, R. (1968). The structure of silybin (silybum substance E6), the first flavonolignan. *Tetrahedron Letters*, 9(25), 2911–2916. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)89610-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)89610-0)

PEREVA, S., NIKOLOVA, V., ANGELOVA, S., SPASSOV, T., e DUDEV, T. (2019). Water inside β -cyclodextrin cavity: amount, stability and mechanism of binding. *Beilstein journal of organic chemistry*, 15, 1592–1600. <https://doi.org/10.3762/bjoc.15.163>

PÉREZ-SÁNCHEZ, A., CUYÀS, E., RUIZ-TORRES, V., AGULLÓ-CHAZARRA, L., VERDURA, S., GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, I., BERMEJO, M., JOVEN, J., MICOL, V., BOSCH-BARRERA, J., e MENENDEZ, J. A. (2019). Intestinal Permeability Study of Clinically Relevant Formulations of Silibinin in Caco-2 Cell Monolayers. *International journal of molecular sciences*, 20(7), 1606. <https://doi.org/10.3390/ijms20071606>

PIGNATELLI, P., CARNEVALE, R., & MENICHELLI, D. (2019). Silybin and metabolic disorders. *Internal and Emergency Medicine*, 14(1), 10–12.

RIGON, C., MARCHIORI, M. C. L., DA SILVA JARDIM, F., PEGORARO, N. S., CHAVES, P. DOS S., VELHO, M. C., BECK, R. C. R., OURIQUE, A. F., SARI, M. H. M., DE OLIVEIRA, S. M., e CRUZ, L. (2019). Hydrogel containing silibinin nanocapsules presents effective anti-inflammatory action in a model of irritant contact dermatitis in mice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 137(March), 1–10.

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.104969>

ROMANUCCI V, DI FABIO G, ZARRELLI A. A New Class of Synthetic Flavonolignan-Like Dimers: Still Few Molecules, but with Attractive Properties. *Molecules*. 2018 Dec 29;24(1):108. doi: 10.3390/molecules24010108. PMID: 30597952; PMCID: PMC6337569.

ROY, S., DEEP, G., AGARWAL, C., e AGARWAL, R. (2012). Silibinin prevents ultraviolet B radiation-induced epidermal damages in JB6 cells and mouse skin in a p53-GADD45 α -dependent manner. *Carcinogenesis*, 33(3), 629. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGR299>

RUGAMBA, A., KANG, D. Y., SP, N., JO, E. S., LEE, J. M., BAE, S. W., e JANG, K. J. (2021). Silibinin Regulates Tumor Progression and Tumorsphere Formation by Suppressing PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cells. *Cells*, 10(7).

<https://doi.org/10.3390/CELLS10071632>

SAMERI, S., MOHAMMADI, C., MEHRABANI, M., e NAJAFI, R. (2021). Targeting the hallmarks of cancer: the effects of silibinin on proliferation, cell death, angiogenesis, and migration in colorectal cancer. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1).

<https://doi.org/10.1186/S12906-021-03330-1>

SANTOS, A. M., SANTOS, M. M., NASCIMENTO JÚNIOR, J. A. C., BRITO, J. R. L. R., DE ARAÚJO ANDRADE, T., FRANK, L. A., e SERAFINI, M. R. (2022). Mapping of New Pharmacological Alternatives in the Face of the Emergence of Antibiotic Resistance in

COVID-19 Patents Treated for Opportunistic Respiratory Bacterial Pathogens. *Recent Advances in Anti-Infective Drug Discovery*, 17(1), 34–53.

<https://doi.org/10.2174/1574891X16666220518142347>

SAQIB M, ALI BHATTI AS, AHMAD NM, AHMED N, SHAHNAZ G, LEBAZ N, ELAISSARI A. Amphotericin B Loaded Polymeric Nanoparticles for Treatment of *Leishmania* Infections. *Nanomaterials* (Basel). 2020 Jun 12;10(6):1152. doi: 10.3390/nano10061152. PMID: 32545473; PMCID: PMC7353296.

SCHALKA, S., MANOEL, V., & DOS REIS, S. (2011). Sun protection factor: meaning and controversies * Fator de proteção solar: significado e controvérsia. *In An Bras Dermatol* (Vol. 86, Issue 3).

SCIACCA, M. F. M., ROMANUCCI, V., ZARRELLI, A., MONACO, I., LOLICATO, F., SPINELLA, N., GALATI, C., GRASSO, G., D'URSO, L., ROMEO, M., DIOMEDE, L., SALMONA, M., BONGIORNO, C., DI FABIO, G., LA ROSA, C., e MILARDI, D. (2017). Inhibition of A β Amyloid Growth and Toxicity by Silybins: The Crucial Role of Stereochemistry. *ACS Chemical Neuroscience*, 8(8), 1767–1778.
<https://doi.org/10.1021/ACSCHEMNEURO.7B00110>

SI L, FU J, LIU W, HAYASHI T, MIZUNO K, HATTORI S, FUJISAKI H, ONODERA S, IKEJIMA T. Silibinin-induced mitochondria fission leads to mitophagy, which attenuates silibinin-induced apoptosis in MCF-7 and MDA-MB-231 cells. *Arch Biochem Biophys*. 2020 May 30;685:108284.

SINGH, R. P., RAINA, K., DEEP, G., CHAN, D., e AGARWAL, R. (2009). Silibinin suppresses growth of human prostate carcinoma PC-3 orthotopic xenograft via activation of ERK1/2 and inhibition of STAT signaling. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of*

the **American Association for Cancer Research**, 15(2), 613. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1846>

SIRI, J. G. S., FERNANDO, C. A. N., e DE SILVA, S. N. T. (2020). Nanotechnology and Protection of Intellectual Property: Emerging Trends. Recent Patents on Nanotechnology, 14(4), 307–327. <https://doi.org/10.2174/1872210514666200612174317>

SKOTTOVÁ, N., e KRECMAN, V. (1998). Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. **Physiological research**, 47(1), 1–7.

SONALI, D., TEJAL, S., VAISHALI, T., e TEJAL, G. (2010). Silymarin-solid dispersions: Characterization and influence of preparation methods on dissolution. **Acta Pharm**, 60, 427–443. <https://doi.org/10.2478/v10007-010-0038-3>

SONG, W., CHEN, X., DAI, C., LIN, D., PANG, X., ZHANG, D., LIU, G., JIN, Y., e LIN, J. (2022). Comparative Study of Preparation, Evaluation, and Pharmacokinetics in Beagle Dogs of Curcumin β -Cyclodextrin Inclusion Complex, Curcumin Solid Dispersion, and Curcumin Phospholipid Complex. **Molecules (Basel, Switzerland)**, 27(9), 2998. <https://doi.org/10.3390/molecules27092998>

SONG, X., ZHOU, B., CUI, L., LEI, D., ZHANG, P., YAO, G., XIA, M., HAYASHI, T., HATTORI, S., USHIKI-KAKU, Y., TASHIRO, S., ONODERA, S., e IKEJIMA, T. (2017). Silibinin ameliorates A β 25-35-induced memory deficits in rats by modulating autophagy and attenuating neuroinflammation as well as oxidative stress. **Neurochemical Research**, 42(4), 1073–1083. <https://doi.org/10.1007/S11064-016-2141-4>

SONG, Z., YIN, J., XIAO, P., CHEN, J., GOU, J., WANG, Y., ZHANG, Y., YIN, T., TANG, X., e HE, H. (2021). Improving Breviscapine Oral Bioavailability by Preparing

Nanosuspensions, Liposomes and Phospholipid Complexes. **Pharmaceutics**, 13(2), 1–20.

<https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS13020132>

SOUTO, E. B., CANO, A., MARTINS-GOMES, C., COUTINHO, T. E., ZIELIŃSKA, A., e SILVA, A. M. (2022). Microemulsions and Nanoemulsions in Skin Drug Delivery. **Bioengineering (Basel, Switzerland)**, 9(4), 158.

<https://doi.org/10.3390/bioengineering9040158>

SUN, R., XU, D., WEI, Q., ZHANG, B., AA, J., WANG, G., e XIE, Y. (2020). Silybin ameliorates hepatic lipid accumulation and modulates global metabolism in an NAFLD mouse model. **Biomedicine e Pharmacotherapy = Biomedecine e Pharmacotherapie**, 123.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109721>

TAIZ, L., e ZEIGE, E. (2010). Fisiologia Vegetal (4a).

<https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/tecnologia/luciamariacararetoalves/metabolitos-secundarios-cap-13-fisiologia-vegetal.pdf>

TUOMELA, A., LIU, P., PURANEN, J., RÖNKKÖ, S., LAAKSONEN, T., KALESNYKAS, G., OKSALA, O., ILKKA, J., LARU, J., JÄRVINEN, K., HIRVONEN, J., e PELTONEN, L. (2014). Brinzolamide nanocrystal formulations for ophthalmic delivery: Reduction of elevated intraocular pressure in vivo. **International Journal of Pharmaceutics**, 467(1–2), 34–41. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2014.03.048>

TVRDÝ, V., POUROVÁ, J., JIRKOVSKÝ, E., KŘEN, V., VALENTOVÁ, K., e MLADĚNKA, P. (2021). Systematic review of pharmacokinetics e potential pharmacokinetic interactions of flavonolignans from silymarin. **Medicinal Research Reviews**, 41(4), 2195–2246. doi:10.1002/med.21791

UCHECHI, O., OGBONNA, J. D. N., ATTAMA, A. A., UCHECHI, O., OGBONNA, J. D. N., e ATTAMA, A. A. (2014). Nanoparticles for Dermal and Transdermal Drug Delivery. **Application of Nanotechnology in Drug Delivery**. <https://doi.org/10.5772/58672>

VALENTOVÁ, K., HAVLÍK, J., KOSINA, P., PAPOUŠKOVÁ, B., JAIMES, J. D., KÁŇOVÁ, K., PETRÁSKOVÁ, L., ULRICHOVÁ, J., e KŘEN, V. (2020). Biotransformation of Silymarin Flavonolignans by Human Fecal Microbiota. **Metabolites**, 10(1). <https://doi.org/10.3390/METABO10010029>

VASCONCELOS, T., SARMENTO, B., e COSTA, P. (2007). Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, 12(23–24), 1068–1075. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2007.09.005>

VOSS, T., PARANJPE, A. S., COOK, T. G., e GARRISON, N. D. W. (2017). A Short Introduction to Intellectual Property Rights. **Techniques in Vascular and Interventional Radiology**, 20(2), 116–120. <https://doi.org/10.1053/J.TVIR.2017.04.007>

WADHWA, K., PAHWA, R., KUMAR, M., KUMAR, S., SHARMA, P. C., SINGH, G., VERMA, R., MITTAL, V., SINGH, I., KAUSHIK, D., e JEANDET, P. (2022). Mechanistic Insights into the Pharmacological Significance of Silymarin. **Molecules**, 27(16). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27165327>

WANG F, CHEN S, REN L, WANG Y, LI Z, SONG T, ZHANG H e YANG Q (2020) The Effect of Silibinin on Protein Expression Profile in White Adipose Tissue of Obese Mice. **Front. Pharmacol.**

WANG, Y., ZHANG, L., WANG, Q., e ZHANG, D. (2014). Recent advances in the nanotechnology-based drug delivery of Silybin. **Journal of Biomedical Nanotechnology**,

10(4), 543–558. <https://doi.org/10.1166/JBN.2014.1798>

WEI, Z., YE, S., FENG, H., ZENG, C., DONG, X., ZENG, X., ZENG, L., LIN, X., LIU, Q., e YAO, J. (2022). Silybin suppresses ovarian cancer cell proliferation by inhibiting isocitrate dehydrogenase 1 activity. **Cancer Science**, 113(9), 3032–3043. <https://doi.org/10.1111/CAS.15470>

WESOŁOWSKA, O., ŁANIA-PIETRZAK, B., KUZDZAŁ, M., STAŃACZAK, K., MOSIĄDZ, D., DOBRYSZYCKI, P., OZYHAR, A., KOMOROWSKA, M., HENDRICH, A. B., e MICHALAK, K. (2007). Influence of silybin on biophysical properties of phospholipid bilayers. **Acta Pharmacologica Sinica**, 28(2), 296–306. <https://doi.org/10.1111/J.1745-7254.2007.00487.X>

XU, F., YANG, J., NEGISHI, H., SUN, Y., LI, D., ZHANG, X., ... e IKEJIMA, T. (2018). Silibinina diminui a produção de glicose hepática através da ativação do eixo intestino-cérebro-fígado em ratos diabéticos. **Food e function**, 9 (9), 4926-4935.

XU, P., YIN, Q., SHEN, J., CHEN, L., YU, H., ZHANG, Z., e LI, Y. (2013). Synergistic inhibition of breast cancer metastasis by silibinin-loaded lipid nanoparticles containing TPGS. **International Journal of Pharmaceutics**, 454(1), 21–30. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2013.06.053>

XU, Y., LI, J., HE, B., FENG, T., LIANG, L., e HUANG, X. (2022). *In vitro* Dissolution Testing and Pharmacokinetic Studies of Silymarin Solid Dispersion After Oral Administration to Healthy Pigs. **Frontiers in veterinary science**, 9, 815198. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.815198>

YI, T., LIU, C., ZHANG, J., WANG, F., WANG, J., e ZHANG, J. (2017). A new drug

nanocrystal self-stabilized Pickering emulsion for oral delivery of silybin. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 96, 420–427. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2>

ZAPPAVIGNA, SILVIA et al. “Silybin-Induced Apoptosis Occurs in Parallel to the Increase of Ceramides Synthesis e miRNAs Secretion in Human Hepatocarcinoma Cells.” **International journal of molecular sciences** vol. 20,9 2190.

ZHANG, Y. M., XU, X., YU, Q., YU, H. J., e LIU, Y. (2019). Drug Displacement Strategy for Treatment of Acute Liver Injury with Cyclodextrin-Liposome Nanoassembly. **iScience**, 15, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.04.029>

ZHAO J, FENG SS: Effects of PEG tethering chain length of vitamin E TPGS with a Herceptin-functionalized nanoparticle formulation for targeted delivery of anticancer drugs. **Biomaterials** 2014, 35, 3340–3347.

ZHOLOBENKO, A., e MODRIANSKY, M. (2014). Silymarin and its constituents in cardiac preconditioning. **Fitoterapia**, 97, 122–132. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2014.05.016>

ZIELIŃSKA A, CARREIRÓ F, OLIVEIRA AM, NEVES A, PIRES B, VENKATESH DN, DURAZZO A, LUCARINI M, EDER P, SILVA AM, SANTINI A, SOUTO EB. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, **Toxicology and Ecotoxicology. Molecules**. 2020 Aug 15;25(16):3731. doi: 10.3390/molecules25163731. PMID: 32824172; PMCID: PMC7464532.