



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSÉ RIBAMAR PAIVA JUNIOR

**NANOPARTÍCULAS À BASE DE QUITOSANA E POLIETILENOGLICOL PARA
ENCAPSULAMENTO DO 5-FLUOROURACIL**

FORTALEZA

2025

JOSÉ RIBAMAR PAIVA JUNIOR

NANOPARTÍCULAS À BASE DE QUITOSANA E POLIETILENOGLICOL PARA
ENCAPSULAMENTO DO 5-FLUOROURACIL

Tese submetida à coordenação do programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de doutor. Área de concentração: Química.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa

FORTALEZA

2025

JOSÉ RIBAMAR PAIVA JUNIOR

NANOPARTÍCULAS À BASE DE QUITOSANA E POLIETILENOGLICOL PARA
ENCAPSULAMENTO DO 5-FLUOROURACIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: 25/11/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Regina Célia Monteiro de Paula
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Ana Jérsia Araújo
Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr)

A Deus.

Aos meus pais, por todo o apoio durante essa caminhada.

Ao meu irmão (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todo amparo e amor que me tem concedido por toda a minha vida.

A minha família, especialmente aos meus pais, José Ribamar Paiva e Maria Aldeneide de Sousa Paiva, ao meu irmão Thiago de Sousa Paiva (*in memoriam*). Muito obrigado por serem a minha maior torcida, por todo o apoio durante minha vida e por toda dedicação. Vocês são minha base, amo vocês!

Aos meus amigos que são irmãos de alma, Elias Teles, Italo Caldas, Germana Araújo, Scarlete Nunes, Gabriel Almeida, Wesley Marcos, Milena Almeida, Jardel Pinto. Muito obrigado por todas as conversas, por se fazerem presentes quando mais precisei e descontração.

Aos amigos que a graduação me deu, Emanuel Fernandes, Nágila Menezes, Raquel Santiago, Micaele Ferreira, Bruno Chaves e Mateus Sipaubá. Vocês foram combustível no início de todo esse processo.

A Universidade Federal do Ceará, em especial à professora Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa, sua orientação e paciência foram essenciais para a conclusão desse sonho. A senhora é referência. Serei eternamente grato.

A todos meus amigos poliméricos (LabPol), em especial para meus amigos Irisvan Ribeiro, Carlos Rhamon, Vanessa Canafistula, Raelle Ferreira Gomes, Matheus Xavier, Everton Lucas, Laís Ramos, Leonira Morais, Pedro Henrique e Luís Felipe. Obrigado por todos os momentos e todas as conversas, tanto no interlab quanto na cantina.

Aos meus companheiros de laboratório pelas caracterizações, Matheus Xavier pelos espectros de Ressonância Magnética Nuclear, e Nádia Aline pelos FTIR.

As demais professoras do Laboratório de Polímeros, Dra. Regina de Paula e Dra. Jeanny Maciel.

A professora Dra. Flávia Oliveira Monteiro da Silva Abreu, por ter acreditado em mim desde o começo da minha graduação, por ter me orientado no início, e por ser referência. A senhora foi essencial para que eu pudesse sonhar e essencial para esse sonho se tornar realidade.

Aos meus alunos do Colégio Militar do Corpo de Bombeiros Escritora Raquel de Queiroz, por me incentivarem e por tornarem esse ano mais leve.

Ao CENAUREMN pelas análises de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C obtidos.

Ao Laboratório de Cultura de Células do Delta (LCCDelta), pela realização do ensaio de citotoxicidade.

A Central Analítica da Universidade Federal do Ceará pelas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Aos órgãos de fomento CAPES, FUNCAP, INCT-Polissacarídeos e INOMAT pelo auxílio financeiro para a realização deste projeto.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para o desenvolvimento deste trabalho.

*“O que faz andar o barco não é a vela
enfundada, mas o vento que não se vê.”*

Platão

RESUMO

O câncer vem se tornando uma séria ameaça à saúde pública. Dentre as doenças não transmissíveis é a que mais se destaca por todo o mundo. Os tratamentos convencionais para o câncer incluem a quimioterapia, a radioterapia, e em casos mais graves a intervenção cirúrgica. Entre os quimioterápicos utilizados, o 5-fluorouracil (5-FU) é muito aplicado em diferentes tipos de câncer (colón, estômago e outros). Entretanto, ele apresenta alguns problemas, quais sejam: tempo de meia vida muito curto, baixa biodisponibilidade, e múltiplos efeitos colaterais, incluindo lesões no fígado e nos rins. O nanoencapsulamento é uma alternativa para contornar essas adversidades. As nanopartículas (NP) apresentam excelentes características para aplicações na liberação controlada de medicamentos. Elas podem ser preparadas das mais diversas técnicas, sendo geleificação ionotrópica uma das mais utilizadas. Nela combina-se polímeros de carga oposta e onde um deles funciona como ente de reticulação. Quitosana (QT) é um polissacarídeo natural, carregado positivamente, extensivamente utilizado na obtenção de sistema de liberação de fármacos. Tripolifosfato (TPF) pode ser o seu agente reticulante na obtenção de nanopartículas. Polietilenoglicol é um polímero sintético que proporciona um maior tempo de circulação intravenosa, uma melhor difusão das NPs no tecido e evita interações com outros elementos sanguíneos, aumentando a biodisponibilidade do encapsulado. Neste trabalho foram desenvolvidos 8 sistemas nanoparticulados, quatro sem 5-FU e quatro com 5-FU. Os sistemas apresentaram eficiência de encapsulamento variando de 9% - 28% e capacidade de carregamento de 8,4% - 12,2%. Os espectros de FTIR dos sistemas apresentaram todas as bandas características dos materiais de partida. O diâmetro das nanopartículas sem 5-FU variou de 146 nm e 303 nm e com 5-FU variou entre 187 nm e 396 nm. A liberação apresentou *burst release* e liberou aproximadamente 55% em 48 horas de ensaio com cinética de liberação adequada ao modelo do mecanismo de difusão. Já a microscopia eletrônica de varredura as nanopartículas apresentaram uma morfologia esférica. Os sistemas com PEG não apresentaram interação significativa com a proteína, sugerindo um possível maior tempo de circulação visando uma aplicação intravenosa. Já a viabilidade celular mostrou que o 5-FU encapsulado apresentou uma maior eficiência frente à linhagem celular HCT-116, com os sistemas QT/TPF/PEG1450/5-FU e QT/TPF/PEG3350/5-FU sendo os que mais se destacaram nas avaliações realizadas, com o QT/TPF/PEG1450/5-FU apresentando inclusive o surgimento da ação do 5-FU encapsulado frente à linhagem MDA-MB-231, mostrando ter um grande potencial para aplicação anticâncer.

Palavras-chave: Nanopartícula. Polietilenoglicol. 5-Fluorouracil.

ABSTRACT

Cancer is becoming a serious threat to public health. Among non-communicable diseases, it is the most prevalent worldwide. Conventional cancer treatments include chemotherapy, radiotherapy, and, in more severe cases, surgery. Among the chemotherapeutic agents used, 5-fluorouracil is widely used in various types of cancer (colon, stomach, and others). However, it presents some problems, including a very short half-life, low bioavailability, and multiple side effects, including liver and kidney damage. Nanoencapsulation is an alternative to overcome these challenges. Nanoparticles (NPs) have excellent characteristics for controlled drug release applications. They can be prepared using a variety of techniques, with ionotropic gelation being one of the most widely used. This combines oppositely charged polymers, with one of them acting as a cross-linking agent. Chitosan (CH) is a naturally occurring, positively charged polysaccharide extensively used in drug delivery systems. Tripolyphosphate (TPP) can be used as a crosslinking agent to produce nanoparticles. Polyethylene glycol is a synthetic polymer that provides longer intravenous circulation time, better diffusion of NPs in tissue, and prevents interactions with other blood components, increasing the bioavailability of the encapsulated material. In this study, eight nanoparticle systems were developed: four without 5-FU and four with 5-FU. The systems showed encapsulation efficiencies ranging from 9% to 28% and carrying capacities of 8.4% to 12.2%. The FTIR spectra of the systems displayed all the characteristic bands of the starting materials. The diameter of the nanoparticles without 5-FU ranged from 146 nm to 303 nm, and with 5-FU, it ranged from 187 nm to 396 nm. The release presented burst release, releasing approximately 55% within 48 hours of the assay, with release kinetics consistent with the diffusion mechanism model. Scanning electron microscopy revealed that the nanoparticles had a spherical morphology. The PEG-containing systems did not exhibit significant interaction with the protein, suggesting a possible longer circulation time for intravenous administration. Cell viability, however, showed that encapsulated 5-FU was more effective against the HCT-116 cell line, with the systems CH/TPP/PEG1450/5-FU and CH/TPP/PEG3350/5-FU being the most effective in the evaluations performed. The system CH/TPP/PEG1450/5-FU also demonstrated the emergence of encapsulated 5-FU against the MDA-MB-231 cell line, demonstrating great potential for anticancer applications.

Keywords: Nanoparticle. Polyethylene glycol. 5-fluorouracil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Estrutura química de alguns polímeros naturais e sintéticos.....	22
Figura 2	- Estrutura química do tripolifosfato de sódio.....	25
Figura 3	- Representação da reticulação entre quitosana e tripolifosfato de sódio.....	26
Figura 4	- Estrutura química do polietilenoglicol.....	27
Figura 5	- Estrutura química do 5-fluorouracil.....	28
Figura 6	- Fluxograma da metodologia de preparo das nanopartículas.....	32
Figura 7	- Espectro de FTIR da Quitosana.....	40
Figura 8	- Espectro de RMN de ^1H da quitosana (500 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$, 70 °C).....	42
Figura 9	- Espectro de FTIR do PEG (de massa molar 1450, 3350 e 6000 g mol^{-1})....	46
Figura 10	- Espectro de FTIR da nanopartícula com os materiais de partida.....	47
Figura 11	- Espectro de FTIR das nanopartículas com PEG (1450, 3350 e 6000).....	48
Figura 12	- Espectro de FTIR do 5-FU, QT/TPF e QT/QPF/5-FU.....	49
Figura 13	- Espectros de FTIR do 5-FU, dos materiais de partida e das nanopartículas com 5-FU carregado.....	50
Figura 14	- Espectro de FTIR do sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU e seus materiais de partida.....	51
Figura 15	- Espectro de RMN ^1H para QT/TPF/PEG1450 em solução de DCl (A) e D_2O (B) a 80 °C, 500 MHz.....	55
Figura 16	- Espectro de RMN ^1H para QT/TPF/PEG3350 em solução de DCl (A) e D_2O (B) a 80 °C, 500 MHz.....	56
Figura 17	- Espectro de RMN ^1H para QT/TPF/PEG6000 em solução de DCl (A) e D_2O (B) a 80 °C, 500 MHz.....	57
Figura 18	- Gráfico de distribuição da intensidade do tamanho de partícula da QT/TPF (A), QT/TPF/PEG1450 (B), QT/TPF/PEG3350 (C) e QT/TPF/PEG6000 (D).....	58
Figura 19	- Gráfico de distribuição da intensidade do tamanho de partícula da QT/TPF/5-FU (A), QT/TPF/PEG1450/5-FU (B), QT/TPF/PEG3350/5-FU (C) e QT/TPF/PEG6000/5-FU (D).....	60
Figura 20	- Micrografia das nanopartículas dos sistemas (a) QT/TPF, (b) QT/TPF/PEG1450, (c) QT/TPF/PEG3350 e (d) QT/TPF/PEG6000.....	62

Figura 21	- TG e DTG da QT (A), TPF (B), PEG1450 (C), PEG6000 (D), QT/TPF (E), QT/TPF/PEG1450 (F), QT/TPF/PEG3350 (G) e QT/TPF/PEG6000 (H).....	64
Figura 22	- Estabilidade das nanopartículas com PEG em solução aquosa à 4 °C.....	66
Figura 23	- A distribuição de tamanho das nanopartículas na presença de ASB para o sistema sem PEG e com os PEG1450, PEG3350 e PEG6000.....	67
Figura 24	- Estrutura proposta para nanopartículas de QT/TPF, QT/TPF/PEG e NP-ASB.....	68
Figura 25	- TG e DTG do 5-FU (A), QT/TPF/5-FU (B), QT/TPF/PEG1450/5-FU (C), QT/TPF/PEG3350/5-FU (D), QT/TPF/PEG6000/5-FU (E).....	70
Figura 26	- Perfil de liberação in vitro do 5-FU livre, QT/TPF/5-FU, QT/TPF/PEG1450/5-FU, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,4.....	72
Figura 27	- Micrografia das nanopartículas dos sistemas (a) QT/TPF/5-FU, (b) QT/TPF/PEG1450/5-FU, (c) QT/TPF/PEG3350/5-FU e (d) QT/TPF/PEG6000/5-FU.....	77
Figura 28	- Distribuição de tamanho das nanopartículas na presença de ASB para o sistema sem PEG e com os PEG1450, PEG3350 e PEG6000, todos os sistemas com 5-FU.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Número de casos, mortes e taxa mundial de mortalidade dos principais tipos de câncer em 2022.....	19
Tabela 2	- Número de casos, mortes e taxa nacional de mortalidade dos principais tipos de câncer em 2022.....	20
Tabela 3	- Via de administração de fármacos com suas respectivas vantagens e desvantagens.....	24
Tabela 4	- Valores de expoentes e mecanismos de liberações correspondentes para o modelo de Korsmeyer-Peppas.....	37
Tabela 5	- Número de onda e atribuição de algumas bandas de FTIR da Quitosana.	41
Tabela 6	- Teor de PEG presente nas nanopartículas.....	42
Tabela 7	- Rendimento de obtenção das nanopartículas sem 5-FU.....	43
Tabela 8	- Rendimento de obtenção, eficiência de encapsulamento e capacidade de carregamento das nanopartículas com 5-FU.....	44
Tabela 9	- Número de onda e atribuição de algumas bandas de FTIR do PEG.....	47
Tabela 10	- Distribuição de PEG no núcleo e no revestimento da nanopartícula.....	53
Tabela 11	- Diâmetro, Índice de Polidispersão e potencial zeta dos sistemas nanoparticulados sem 5-FU.....	58
Tabela 12	- Diâmetro, Índice de Polidispersão e potencial zeta dos sistemas nanoparticulados com 5-FU.....	61
Tabela 13	- Diâmetro das nanopartículas determinado por MEV.....	63
Tabela 14	- Composição normalizada das nanopartículas com PEG.....	65
Tabela 15	- Parâmetros de adsorção de ASB na nanopartícula.....	67
Tabela 16	- Temperatura máxima do evento de decomposição dos componentes da nanopartícula.....	71
Tabela 17	- Constantes de liberação e coeficientes de correlação das equações matemáticas dos modelos: Ordem zero, Primeira ordem, Higuchi e Hixson-Crowell, aplicados a liberação do 5-FU nos sistemas sem PEG e com PEG (1450, 3350 e 6000 g mol ⁻¹).....	73
Tabela 18	- Constantes de liberação e coeficiente de correlação das equações matemáticas do modelo Korsmeyer-Peppas aplicadas à liberação de 5-FU.....	74

Tabela 19	- Constantes de liberação e coeficiente de correlação da equação matemática do modelo de Zeng e ΔG aplicadas à liberação de 5-FU.....	74
Tabela 20	- Tamanho das nanopartículas com 5-FU analisadas por MEV.....	77
Tabela 21	- Parâmetros de adsorção de ASB na nanopartícula com 5-FU.....	79
Tabela 22	- Avaliação da atividade citotóxica das nanopartículas frente às linhagens HCT-116, MDA-MB-231 e L929, após 72 horas de incubação determinado pelo método MTT.....	81
Tabela 23	- Avaliação da atividade citotóxica das nanopartículas frente às linhagens HCT-116, MDA-MB-231 e L929, após 72 horas de incubação determinado pelo método MTT em relação à massa de 5-FU.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

QT	Quitosana
TPF	Tripolifosfato
PEG	Polietilenoglicol
PEG1450	Polietilenoglicol 1450 g mol ⁻¹
PEG3350	Polietilenoglicol 3350 g mol ⁻¹
PEG6000	Polietilenoglicol 6000 g mol ⁻¹
5-FU	5-Fluorouracil
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de prótons ¹ H
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de ¹³ C
GD	Grau de desacetilação
RPM	Rotações por minuto
EDL	Espalhamento Dinâmico de Luz
IPD	Índice de Polidispersão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
ASB	Albumina do Soro Bovino
QT	Nanopartícula sem Polietilenoglicol
QT/TPF/PEG1450	Nanopartícula com Polietilenoglicol 1450 g mol ⁻¹
QT/TPF/PEG3350	Nanopartícula com Polietilenoglicol 3350 g mol ⁻¹
QT/TPF/PEG6000	Nanopartícula com Polietilenoglicol 6000 g mol ⁻¹
QT/TPF/5-FU	Nanopartícula sem Polietilenoglicol com 5-Fluorouracil encapsulado
QT/TPF/PEG1450/5-FU	Nanopartícula com Polietilenoglicol 1450 g mol ⁻¹ com 5-Fuorouracil encapsulado
QT/TPF/PEG3350/5-FU	Nanopartícula com Polietilenoglicol 3350 g mol ⁻¹ com 5-Fuorouracil encapsulado
QT/TPF/PEG6000/5-FU	Nanopartícula com Polietilenoglicol 6000 g mol ⁻¹ com 5-Fuorouracil encapsulado
EE	Eficiência de encapsulamento
CC	Capacidade de carreamento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Câncer no mundo e no Brasil.....	19
2.2	Nanotecnologia.....	21
2.3	Quitosana.....	22
2.4	Tripolifosfato de sódio.....	25
2.5	Polietilenoglicol.....	26
2.6	5-Fluorouracil.....	27
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	Objetivo geral.....	29
3.2	Objetivo específico.....	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1	Materiais.....	30
4.2	Purificação da quitosana.....	30
4.2.1	<i>Determinação do grau de desacetilação da quitosana.....</i>	30
4.3	Preparo das nanopartículas.....	31
4.4	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	32
4.5	Tamanho e carga de superfície das nanopartículas.....	32
4.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	33
4.7	Encapsulamento do 5-FU.....	33
4.8	Eficiência de encapsulamento e capacidade de carreamento.....	33
4.9	Quantificação de polietilenoglicol nas nanopartículas.....	34
4.10	Estabilidade das nanopartículas.....	35
4.11	Análise termogravimétrica.....	35
4.12	Ensaio de adsorção de Albumina do soro bovino.....	35
4.13	Ensaio de liberação in vitro.....	36
4.14	Cinética de liberação in vitro e modelos matemáticos.....	36
4.15	Ensaio de Citotoxicidade.....	38
5	RESULTADOS.....	40
5.1	Caracterização da quitosana.....	40

5.1.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	40
5.1.2	<i>Determinação do grau de desacetilação da quitosana.....</i>	41
5.2	Preparo das nanopartículas e encapsulamento de 5-FU.....	42
5.2.1	<i>Presença de PEG nas nanopartículas.....</i>	42
5.2.2	<i>Rendimento e eficiência de encapsulamento dos sistemas.....</i>	43
5.3	FTIR dos materiais de partida e das nanopartículas.....	45
5.4	RMN das nanopartículas.....	52
5.5	Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL)	57
5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	61
5.7	Análise Termogravimétrica.....	63
5.8	Estabilidade em solução.....	65
5.9	Ensaio de adsorção de ASB.....	66
5.10	Caracterização do material encapsulado.....	69
5.10.1	<i>Estabilidade térmica.....</i>	69
5.10.2	<i>Liberção in vitro de 5-FU.....</i>	71
5.10.3	<i>Análise morfológica das nanopartículas.....</i>	76
5.10.4	<i>Ensaio de interação com ASB.....</i>	78
5.10.5	<i>Ensaio de citotoxicidade.....</i>	80
6	CONCLUSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86
	APÊNDICE A - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/5-FU.....	101
	APÊNDICE B - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS e (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/PEG1450/5-FU	102
	APÊNDICE C - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/PEG3350/5-FU.....	

	103
APÊNDICE D - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/PEG6000/5-FU.....	104
APÊNDICE E – VIABILIDADE CELULAR DO 5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	105
APÊNDICE F – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	106
APÊNDICE G – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	107
APÊNDICE H – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG1450 FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	108
APÊNDICE I – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG1450/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	109
APÊNDICE J – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG3350 FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	110
APÊNDICE K – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG3350/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	111
APÊNDICE L – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG6000 FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	112
APÊNDICE M – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG6000/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.....	113

1 INTRODUÇÃO

As doenças não transmissíveis, como Alzheimer, câncer, infartos e acidentes vasculares encefálicos, são responsáveis pela maioria das mortes por todo o mundo, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) publicados em 2020.

Dentre as doenças não transmissíveis, destaca-se o câncer, que vem se tornando uma séria ameaça à saúde humana, já sendo considerado um problema de saúde pública a nível mundial (Sun et al., 2017). Estima-se que em 2040 haverá 30,2 milhões de casos de câncer, contra 19,98 milhões em 2022. Já no cenário brasileiro, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), espera-se 704 mil casos novos de câncer por ano no triênio 2023-2025. As regiões Sul e Sudeste concentram aproximadamente 70% da incidência de casos.

A principal dificuldade enfrentada no tratamento do câncer é a fase de metástase. Em casos mais avançados, a remoção do tumor não é tão efetiva, devido ao rápido espalhamento das células na fase de metástase, o que torna possível o surgimento de um novo tumor após a cirurgia. Atualmente, há diversos tipos de tratamentos para o câncer, os tratamentos utilizados no combate ao câncer são: cirurgia (Takeda et al., 2025), quimioterapia (Agrawal et al., 2025), radioterapia (Chargari et al., 2025) e terapias biológicas (hormonal ou imunológica) (Rehman et al., 2026 & Crowe et al., 2024). Um dos tratamentos mais utilizados é a quimioterapia. Dentre os quimioterápicos, destacam-se: o 5-fluorouracil (5-FU) (Souza et al., 2025), o paclitaxel (Salata et al., 2025) e a doxorubicina (Zhao et al., 2020 & Carneiro et al., 2025). Eles são bastante eficazes, mas apresentam diversas reações adversas, como: enjojo, queda de cabelo, lesão no fígado e lesão nos rins.

Como opção para contornar essas reações adversas, a nanotecnologia se torna aliada, buscando uma forma de abrandá-los, através do nanoencapsulamento. O encapsulamento é um processo que conserva o material em um revestimento que protege o material contra os fatores do ambiente externo, como: luz e calor (Amin et al., 2020 & Al-Smadi et al., 2025). O nanoencapsulamento provê uma liberação controlada do quimioterápico, ajudando também na biodisponibilidade e solubilidade do medicamento, aumentando assim a sua eficiência terapêutica, pois a liberação controlada faz com que o fármaco permaneça por mais tempo dentro da faixa de atividade terapêutica.

As nanopartículas podem ter diferentes origens, classificadas de acordo com seus materiais precursores. Destacam-se as nanopartículas poliméricas, que podem ser formadas a partir de polímeros naturais, sintéticos ou semissintéticos e podem ser elaboradas através de diferentes técnicas.

As nanopartículas formadas à base de polissacarídeos têm sido amplamente avaliadas devido à sua capacidade de encapsular princípios ativos e fármacos de forma eficiente usando matrizes hidrofílicas. Elas podem ser desenvolvidas através de diferentes tipos de interação, incluindo interações iônicas entre compostos de cargas opostas (Campos et al., 2023).

Para tratamentos oncológicos, a principal compreensão é que as nanopartículas sejam capazes de se acumularem no tecido tumoral de forma mais eficaz que o fármaco livre, devido ao efeito de permeabilidade e retenção. (Zalba et al., 2022)

A quitosana é um polissacarídeo obtido através da desacetilação parcial da quitina, que se torna catiônica e solúvel em meio ácido, um polissacarídeo biodegradável e atóxico quando administrado via oral, o que torna viável sua aplicação para produção de nanopartículas de sistemas de liberação controlada.

Este trabalho possui o objetivo de encapsular o quimioterápico 5-fluorouracil em nanopartículas formadas por geleificação ionotrópica, utilizando quitosana, tripolifosfato de sódio e polietilenoglicol, visando aplicação no tratamento de câncer.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer no mundo e no Brasil

O câncer é favorecido majoritariamente por alterações oncogênicas da linha germinativa em genes supressores de tumor. Existem diferentes tipos de tumores com múltiplas alterações oncogênicas (Sonkin, Thomas, & Teicher, 2024). Segundo Hanahan & Weinberg (2011), as alterações oncogênicas apresentam diversos efeitos, como o aumento da proliferação, resistência à morte celular e instabilidade do genoma. Assim, eles descreveram um conjunto de seis características que, juntas, fornecem uma lógica para compreensão da diversidade das doenças neoplásicas. As seis características listadas por Hanahan & Weinberg são as seguintes: 1- Sustentar a sinalização proliferativa; 2- Evitar os supressores de crescimento celular; 3- Ativar invasão e metástase; 4- Permitir a imortalidade replicativa; 5- Induzir a angiogênese e 6- Resistir a morte celular. Todas essas características tornam o câncer uma doença de difícil tratamento, sendo o diagnóstico precoce essencial para o êxito do tratamento.

Alguns dados do Observatório Global do Câncer (GCO) (2022) quanto a incidência e mortalidade de diferentes tipos de câncer encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Número de casos, mortes e taxa mundial de mortalidade dos principais tipos de câncer em 2022.

Local	Nº de novos casos	Nº de mortes	Mortalidade (%)
Pulmão	2.480.675 (12,4 %)	1.817.469 (18,7 %)	73,3
Mama	2.296.840 (11,5 %)	666.103 (6,8 %)	29,0
Colón	1.926.425 (9,6 %)	904.019 (9,3 %)	46,9
Próstata	1.467.856 (7,3 %)	397.430 (4,0 %)	27,1
Estômago	968.784 (4,8 %)	660.175 (6,8 %)	68,1
Fígado	866.136 (4,3 %)	758.725 (7,8 %)	87,6
Outros	9.969.785 (49,9 %)	4.539.911 (46,6 %)	-
Total	19.976.501 (100%)	9.743.832 (100%)	-

Fonte: GCO (2025).

É possível notar que os 6 tipos de câncer mais incidentes na população já são responsáveis por mais de 50% dos casos e por mais de 50% das mortes decorrentes da doença no mundo inteiro. É importante salientar que apesar do número de casos reportados pela OMS, há uma tendência a números maiores, tanto de casos quanto de mortes, devido a subnotificação em alguns países (Gopalani et al., 2024).

Segundo o observatório global do câncer (GCO), alguns fatores de risco estão associados ao desenvolvimento de diferentes tipos de câncer. Dentre os principais fatores, apresentam-se: obesidade, infecções, radiação UV e o consumo de álcool. Observando a nível nacional, segundo o GCO, o Brasil apresentou quase 630 mil novos casos em 2022 e quase 280 mil mortes por decorrência da doença no mesmo ano. Os dados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Número de casos, mortes e taxa nacional de mortalidade dos principais tipos de câncer em 2022.

Local	Nº de novos casos	Nº de mortes	Mortalidade (%)
Próstata	102.519 (16,3 %)	19.958 (7,2 %)	19,5
Mama	94.728 (15,1 %)	22.189 (8,0 %)	23,4
Colón	60.118 (9,6 %)	28.884 (10,4 %)	48,0
Pulmão	44.213 (7,0 %)	38.292 (13,7 %)	86,6
Tireoide	31.385 (5,0 %)	1.103 (0,4 %)	3,5
Estômago	23.021 (3,7 %)	18.138 (6,5 %)	78,8
Outros	271.209 (43,2 %)	150.271 (53,9 %)	-
Total	627.193 (100%)	278.835 (100%)	-

Fonte: INCA (2025).

Assim como a nível mundial, no Brasil, os 6 tipos de câncer mais recorrentes são responsáveis por mais de 50% dos casos e por quase 50% das mortes causadas pela doença. O número de casos no ano de 2022 já se mostra próximo ao projetado pelo INCA no triênio de 2023-2025 (704 mil casos por ano).

2.2 Nanotecnologia

A nanotecnologia tem trazido novos meios de superar as barreiras das ciências biológicas, em especial na utilização de sistemas de liberação controlada na aplicação de medicamentos (Patra et al., 2018). Problemas a serem contornados na aplicação de medicamentos são: baixa biodisponibilidade, baixa solubilidade, baixa absorção, entrega inespecífica do medicamento e efeitos colaterais muito fortes. Os sistemas nanocarreados para liberação controlada vêm sendo amplamente estudados devido a algumas vantagens, como aumento da solubilidade e biodisponibilidade, e direcionamento ao local afetado (Fang; Cao & Shen, 2020).

Recentemente, foram desenvolvidos diversos estudos objetivando o desenvolvimento de novas metodologias para liberação de fármacos, de diversos meios de aplicação. Os sistemas de liberação é uma alternativa viável de superar a instabilidade dos princípios ativos. Estas sendo causadas por fatores como energia térmica, energia luminosa ou oxidação.

Entre os novos métodos desenvolvidos para o carreamento de fármacos, pode-se destacar as nanopartículas, que segundo Turan e colaboradores (2019), podem ser definidas por: materiais que são constituídos por partículas com uma dimensão, no mínimo, com tamanho menor ou igual a 100 nm. Dentro da classe das nanopartículas, elas podem ser classificadas de acordo com suas características ou pela sua composição, podendo ser: poliméricas, metálicas, semicondutoras ou lipídicas (Khan; Saeed & Khan, 2019).

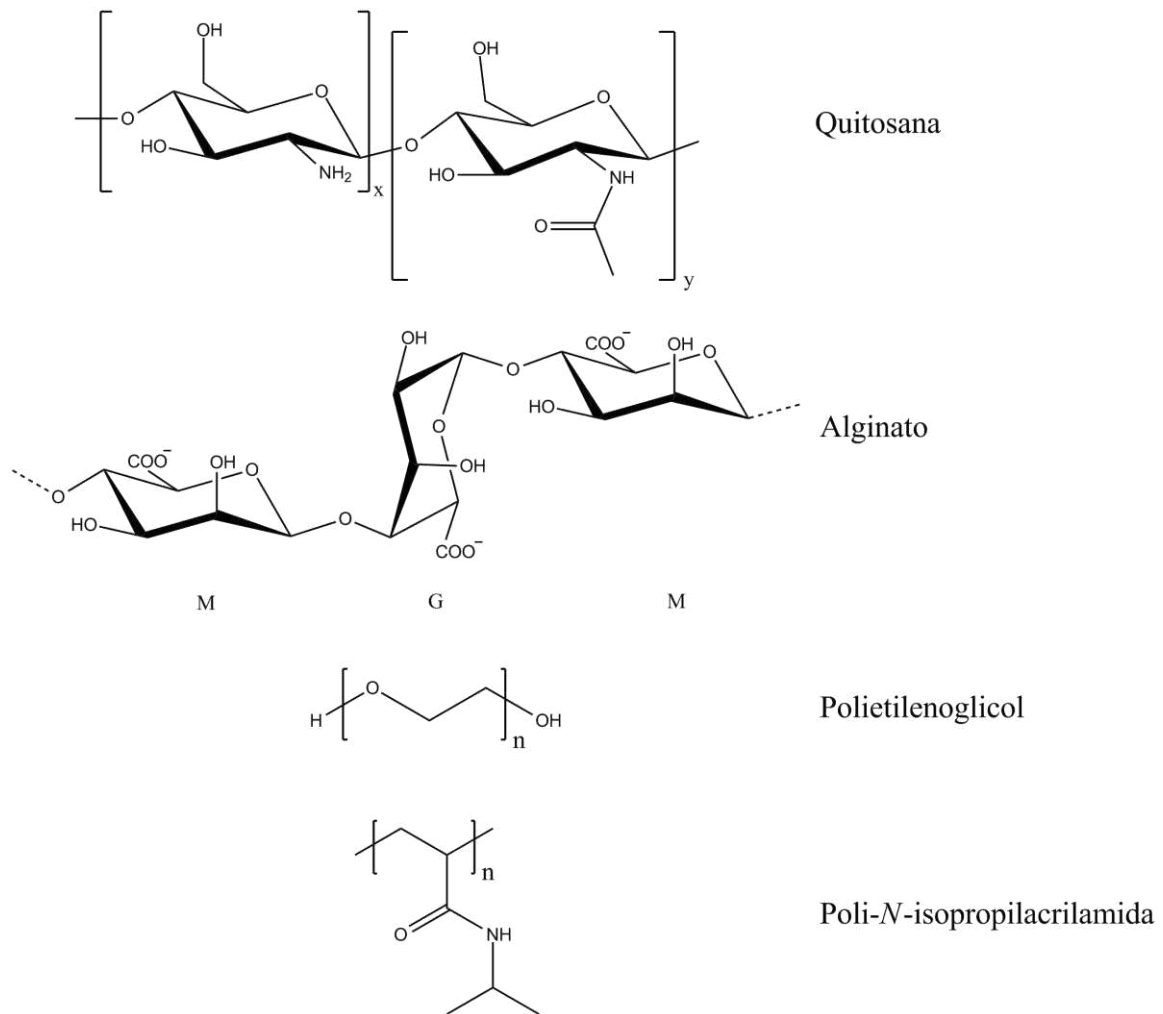
As nanopartículas poliméricas podem ser formadas a partir de polímeros naturais como quitosana ou alginato (Zohri et al., 2021 & Yeerong et al., 2024), ou sintéticos como polietilenoglicol (Behl et al., 2023), policaprolactona (Łukasiewicz et al., 2021) e poli-*N*-isopropilacrilamida (Wu et al., 2021). Os sistemas nanoparticulados podem ser obtidos por vias diferentes, como: auto-organização (Vuillemin et al., 2019), geleificação ionotrópica (Kiilll et al., 2017) ou complexação polieletrólítica (Wang et al., 2018; Ye et al., 2017).

Diversos sistemas à base de polissacarídeos, seja através da modificação de polissacarídeos ou a partir da associação de polissacarídeos, como hidrogel pH-responsivo (Haidari et al., 2021), nanopartículas (Silva et al., 2025) e filmes (Bhowmik et al., 2024) têm sido desenvolvidos. Os novos sistemas polissacarídicos têm como vantagens a preservação do princípio ativo encapsulado, favorecendo uma maior estabilidade térmica, aumento da biocompatibilidade, liberação controlada do fármaco mantendo dentro da faixa terapêutica, maximização da biodisponibilidade e administração do fármaco de forma local específica

(Weisany et al., 2022). Assim, sistemas carreadores de fármacos à base de polissacarídeos têm alcançado resultados favoráveis na área de liberação controlada, mostrando-se uma área com grande potencial.

As estruturas de alguns polissacarídeos empregados no nanoencapsulamento de fármacos são apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Estrutura química de alguns polímeros naturais e sintéticos.



Fonte: elaborado pelo autor.

2.3 Qitosana

A quitosana é um polissacarídeo que pode ser obtido a partir da desacetilação parcial da quitina, ou ser encontrado naturalmente na parede de celular de alguns fungos (Negm et al., 2020). A quitosana é um polissacarídeo muito versátil quanto as suas aplicações. Na literatura há registro de seu uso em diversas áreas, como: embalagem de alimentos na forma de

filmes bioativos (Barik et al., 2024; Subramani & Manian, 2024), remoção de metais pesados (Cromo, Chumbo, Cádmiio, Arsênio e Mercúrio) de reservatórios de efluentes ou de efluentes industriais (Ezzat et al., 2025; Patel & Uppaluri, 2025) e na liberação controlada de óleos essenciais (Dhanasekaran et al., 2025), princípios ativos (Kumar et al., 2024) e fármacos (Falahatpisheh et al., 2025).

Quanto a aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos, a quitosana é destaque por ser um polissacarídeo biocompatível, biodegradável (Lai et al., 2019), e ter propriedades biológicas favoráveis como: não toxicidade, baixa imunogenicidade e mucoadesividade, além de possuir duas propriedades importantes: a natureza catiônica e a alta densidade de cargas positivas em soluções ácidas (Xu et al., 2023). Esta carga positiva auxilia a quitosana a permear seletivamente através da membrana da célula tumoral, que é carregada negativamente, exercendo assim sua atividade antitumoral, através de anti-angiogênese e apoptose (Adhikari & Yadav, 2018). Assim, ela consegue formar complexos iônicos insolúveis com espécies polianiónicas solúveis em água (Alkhader, Billa, & Roberts, 2017). A mucoadesividade é uma propriedade essencial, pois ela proporciona um maior tempo de circulação do sistema no corpo e uma maior retenção do fármaco a ser liberado. A mucoadesividade ocorre devido à interação entre as cargas positivas dos grupos amino da quitosana com os grupos do ácido siálico presentes na mucina, que é uma glicoproteína presente em superfícies das mucosas (Jalal et al., 2023).

Os grupos amino da quitosana, carregados positivamente quando em meio ácido, podem interagir com grupos aniônicos presentes em alguns polissacarídeos (alginato, pectina, entre outros). A quitosana pode formar hidrogéis iônicos pelos processos de geleificação ionotrópica e por coacervação complexa. A presença de grupos amino na sua cadeia polimérica implica na presença de cargas positivas em valores baixos de pH, o que favorece a reação com outro polímero de carga oposta em solução aquosa (Rajabi et al., 2019).

A técnica de geleificação ionotrópica tem como diferencial o não uso de reticulantes. Essa técnica tem sido amplamente adotada com polímeros naturais, para gerar produtos biocompatíveis e biodegradáveis. (Patel et al., 2017) Alguns exemplos de polímeros naturais utilizados para produção de carreadores através de geleificação ionotrópica são: alginato (Sanchez-Ballester et al., 2019 & Zhang et al., 2018), pectina (Lascol et al., 2018 & Vityazev et al., 2017) e quitosana (Chauhan et al., 2017; Hamdi et al., 2020).

Nanopartículas à base de quitosana possuem características importantes para sistemas de liberação, como tamanho nanométrico, grande área superficial, capacidade para alta carga de fármaco, além de especificidades que favorecem o direcionamento aos tumores,

ligando-se aos receptores na superfície das células, aprimorando a eficiência na liberação de fármacos como o aumento da biodisponibilidade e permeabilidade (dos Santos et al., 2022; Kefayatet al., 2022). Todas essas características são essenciais para combater as dificuldades da administração de fármacos, como: baixa solubilidade, baixa biodisponibilidade, rápida degradação, baixa permeabilidade nos tecidos, alta toxicidade, falta de seletividade e liberação fora da faixa terapêutica (Guadarrama-Escobar et al., 2023).

Quando as possibilidades de aplicação das nanopartículas são analisadas entre as formas intravenosa, intramuscular, tópica e via oral, todos apresentam vantagens e desvantagens. Na Tabela 3, são comparados os prós e contras dessas formas de aplicação.

Tabela 3 - Via de administração de fármacos com suas respectivas vantagens e desvantagens.

Via de Administração	Vantagens	Desvantagens
Oral	Maior conforto para o paciente	Impossibilidade de uso em pacientes não-cooperativos
	Forma mais econômica	
	Efeito local ou sistêmico	Absorção imprevisível devido ao efeito hepático
	Possibilidade de criar formulações que protegem os princípios ativos da degradação	
Intramuscular	Absorção e efeito imediato	Doloroso
	Ótima escolha para medicamentos com baixa biodisponibilidade oral	Aplicação incorreta pode levar à paralisia ou atrofia muscular
Intravenosa	Efeitos reprodutíveis	Requer equipamento especial e pessoal treinado
	Dose completa direto na circulação, favorecendo uma resposta imediata	É invasivo e doloroso Não há como suspender a medicação em caso de reação adversa
Tópica	Não invasiva e de fácil administração	Baixa lipossolubilidades é fator determinante para absorção
	Indolor	Baixa absorção
	Efeito local	Irritação cutânea
	Alto nível de satisfação dos pacientes	

Fonte: Guadarrama-Escobar, et al., (2023).

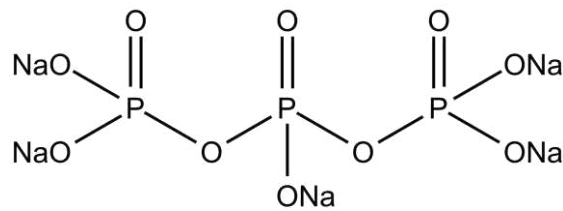
A maioria de sistemas nanoparticulados obtidos por geleificação ionotrópica da quitosana utiliza os polifosfatos solúveis em água, sendo o tripolifosfato de sódio o mais estudado.

2.4 Tripolifosfato de sódio

O tripolifosfato de sódio é da classe dos polifosfatos, e possuem vasta aplicação. É amplamente utilizado na modificação de proteínas para torná-la mais hidrofílica fortalecendo as interações intermoleculares e aumentando a solubilidade da proteína. (Li et al., 2025) Ele é reconhecido como uma substância segura pela U.S. Food and Drug Administration (FDA). A presença de cargas aniônicas em sua estrutura favorece a reticulação quando utilizando em conjunto com a quitosana (Gierszewska; Ostrowska-Czubenko; Chrzanowska, 2018 & Hosseini; Soleimani; Nikkhah, 2018).

A estrutura química do tripolifosfato de sódio encontra-se na Figura 2.

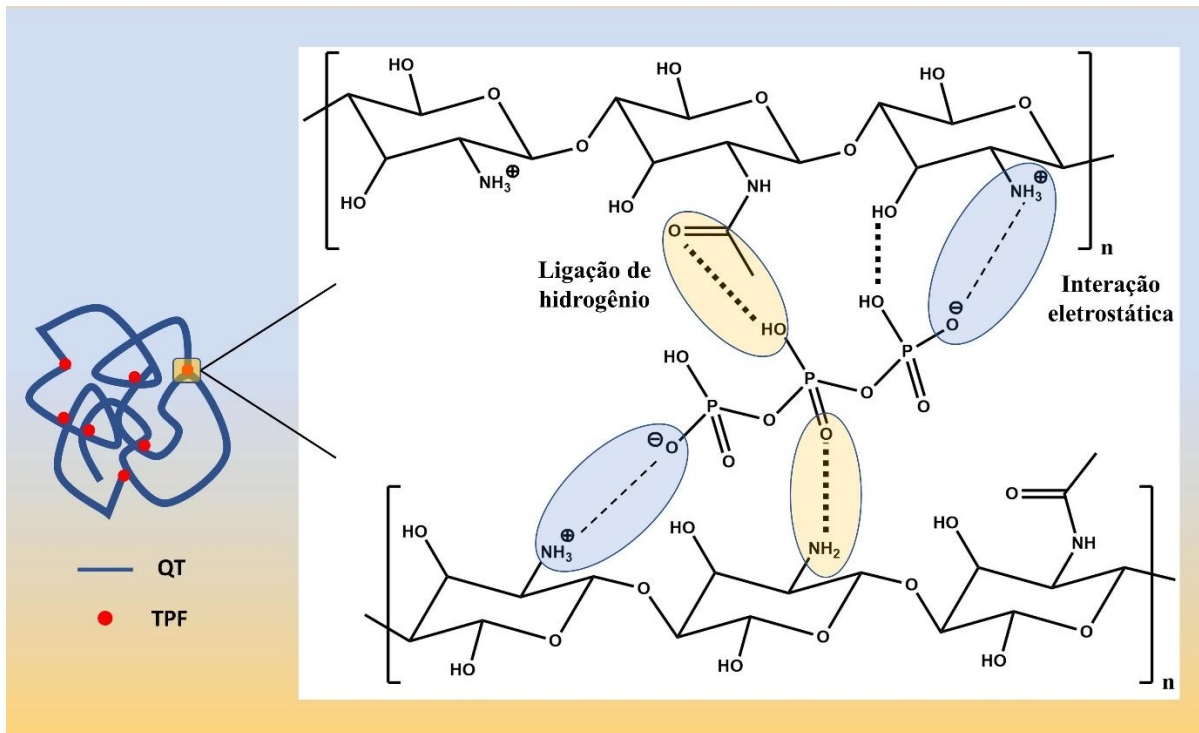
Figura 2 - Estrutura química do tripolifosfato de sódio.



Fonte: elaborado pelo autor.

A geleificação iônica utilizando quitosana e tripolifosfato tem sido muito estudada devido a sua atoxicidade e por não fazer uso de solventes orgânicos (He et al., 2017; Nguyen & Goycoolea, 2017; Yousefi, Khorshidian, Mortazavian, & Khosravi-Darani, 2019). Assim, o tripolifosfato de sódio atuou como reticulante em carreadores de fármacos, óleos essenciais, proteínas, aminoácidos, dentre outros (Rajivgandhi et al., 2021). A interação entre a quitosana e o tripolifosfato está representada na Figura 3.

Figura 3 - Representação da reticulação entre quitosana e tripolifosfato de sódio.



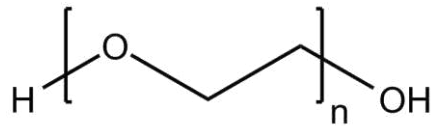
Fonte: elaborado pelo autor.

Após o processo de encapsulamento, a habilidade de difusão do sistema é aperfeiçoada, aumentando a dispersão em torno do local-alvo do medicamento e melhorando a entrega nas células patogênicas (Rajivgandhi et al., 2023).

2.5 Polietilenoglicol (PEG)

Outro polímero que possui uma vasta aplicação em estratégias terapêuticas e vem sendo bastante estudado para aplicação em liberação controlada é o polietilenoglicol (PEG) (Grossen et al., 2017). Ele é um polímero sintético, reconhecido como uma substância segura pela FDA, que possui baixa citotoxicidade aliada a uma alta biocompatibilidade. É solúvel em água e tem boa estabilidade. Entretanto, apresenta grupos funcionais apenas em suas extremidades, limitando as derivatizações possíveis (Zabihi et al., 2020). A estrutura química do polietilenoglicol encontra-se na Figura 4.

Figura 4 - Estrutura química do polietilenoglicol.



Fonte: elaborado pelo autor.

São relatados na literatura alguns sistemas de carreadores de fármacos com o uso de polietilenoglicol, dentre eles destaca-se o uso em nanopartículas para tratamento de tumores cerebrais (Chen et al., 2018). O polietilenoglicol foi colocado na superfície da nanopartícula a fim de reduzir a tendência de agregação do sistema e diminuir a captação pelos fagócitos, aumentando assim o tempo de circulação no corpo e a biodisponibilidade do fármaco. O PEG, de alta ou baixa massa molar, também é utilizado nas superfícies das nanopartículas por possibilitar o aumento da capacidade de difusão através dos tecidos, fornecendo também uma melhor estabilidade coloidal (Bakhshian Nik et al., 2020).

Além disso, o PEG também é muito utilizado para a formação de copolímeros a serem empregados na liberação controlada, formando copolímeros com a policaprolactona (Etminanfar et al., 2020 & Scheiner et al., 2020), com o policarbonato de trimetileno (Wang et al., 2020) e até com ácido polilático (Chen et al., 2018; Shi et al., 2019). O seu extenso uso em sistemas de liberação controlada se dá devido a sua capacidade de evitar interações com os componentes do sangue, conhecido como efeito furtivo (Simon et al., 2019).

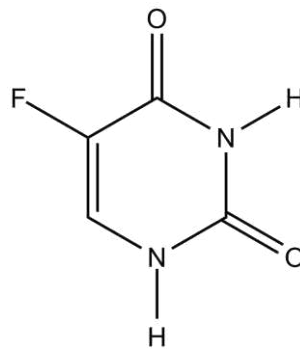
Assim, devido ao efeito furtivo ser uma característica bastante almejada para sistemas de aplicação intravenosa o PEG vem sendo bastante aplicado para a liberação controlada de fármacos anticâncer (Jain, Bharti, Kaur Bhullar, & Tripathi, 2020; Ozlu et al., 2019; Yamina, Fizir, Itatahine, He, & Dramou, 2018).

2.6 5-Fluorouracil

O 5-FU é um similar da pirimidina que age através da inibição irreversível da timidilato sintase, que é uma enzima fundamental para a divisão e proliferação celular. É constantemente utilizado no tratamento de neoplasias malignas, principalmente nas localizadas no colón (Zhao et al., 2017), ovário, fígado, pulmão, pele e mama (Habibi Jouybari et al., 2019 & Khan et al., 2022).

A estrutura química do 5-FU encontra-se na Figura 5.

Figura 5 - Estrutura química do 5-fluorouracil.



Fonte: elaborado pelo autor.

Entretanto, o 5-FU possui algumas características que ocasionam uma baixa eficácia terapêutica. São elas: tempo de meia-vida entre 10 e 15 min (Sun et al., 2017), e metabolização pelo fígado, gerando metabólitos inativos. Devido a essas características torna-se necessária uma administração frequente para que o 5-FU permaneça em nível terapêutico (Liu et al., 2018).

O uso de quimioterápicos em geral traz associado o surgimento de diversos efeitos colaterais, tais como: hemorragias, náuseas, danos ao fígado ou danos aos rins. Torna-se importante, então, buscar meios de diminuir esses efeitos colaterais da quimioterapia. Alguns autores relatam o uso combinado de fármacos a fim de atenuar esses efeitos. Combinações de doxorubicina e quercetina (Li et al., 2018), ou edaravona têm sido utilizadas também associadas com outros quimioterápicos (Bailly, 2019). O encapsulamento como meio alternativo para abrandar os efeitos colaterais do tratamento, como o uso de nanopartículas poliméricas para o uso associado de cisplatina com curcumina foram reportadas (Chen et al., 2019) e o encapsulamento de 5-FU em nanopartículas à base de quitosana e tripolifosfato de sódio (Dos Santos et al., 2022).

Neste estudo, o principal diferencial frente aos estudos anteriores é quanto à forma que o PEG está presente na nanopartícula. Na literatura é possível encontrar diversos trabalhos onde o PEG está quimicamente ligado à estrutura da nanopartícula, neste trabalho o PEG não estará ligado quimicamente à nanopartícula, diminuindo uma etapa do processo de produção, e ainda assim, sendo capaz de fornecer o efeito furtivo ao sistema nanoparticulado.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Encapsular o 5-Fluorouracil utilizando nanopartículas preparadas à base de quitosana e tripolifosfato de sódio, através da técnica de geleificação ionotrópica, revestidas com polietilenoglicol, visando o efeito furtivo e a potencialização do efeito anticâncer do fármaco à medida que atenua os efeitos colaterais.

3.2 Objetivos específicos

Obter e caracterizar nanopartículas a partir de quitosana e tripolifosfato de sódio, revestidas com polietilenoglicol de diferentes massas molares e sem revestimento, através da técnica de geleificação ionotrópica.

Avaliar a influência das massas molares do polietilenoglicol nas características das nanopartículas.

Encapsular o 5-fluorouracil (5-FU) com os melhores sistemas nanoparticulados e caracterizá-los por FTIR, Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL), potencial zeta, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Determinar a eficiência de encapsulamento, a capacidade de carreamento e o perfil cinético de liberação *in vitro* dos sistemas.

Avaliar a citotoxicidade das nanopartículas com 5-FU encapsulado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

A quitosana foi obtida da Polymar. O ácido acético glacial (CH_3COOH) foi obtido da Synth. Os reagentes utilizados foram: hidróxido de sódio (NaOH) (Synth), 5-fluorouracil ($\text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2\text{FO}_2$), tripolifosfato de sódio ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) e polietilenoglicol (1450, 3350 e 6000 g mol^{-1}) (Sigma-Aldrich). Para o preparo do tampão fosfato: hidrogenofosfato de sódio dihidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4), ambos da Sigma-Aldrich. Foi utilizada uma membrana de diálise com massa molar de corte de 10000 g mol^{-1} .

4.2 Purificação da quitosana

A purificação da quitosana foi realizada a partir da metodologia proposta por Signini e Campana Filho (2001) com adaptações. Foi preparado 1 L de solução de quitosana 1% (m/v) em ácido acético 2% (v/v) com agitação por 6 h. Após a solubilização, a solução foi filtrada em funil de placa sinterizada número 1. A solução filtrada foi centrifugada por 15 min a 6000 RPM, o precipitado descartado e a solução novamente filtrada em funil de placa sinterizada número 3. Solução de NaOH 1,0 mol L^{-1} foi utilizada para precipitar a quitosana em pH 10. Ao fim da precipitação, a solução foi novamente centrifugada por 15 min a 6000 RPM, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado exaustivamente com água destilada, congelado e liofilizado por 48h no liofilizador Labconco FreeZone 4.5.

4.2.1 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

A quitosana foi solubilizada em D_2O em uma concentração de 20 mg mL^{-1} . O DCl foi adicionado para promover a solubilização da quitosana ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$ 30:1 v/v). O grau de desacetilação (GD) da quitosana foi determinado por ressonância magnética nuclear de ^1H utilizando as equações 1 e 2:

$$\%GA = \frac{A_{\text{CH}_3}}{3A_{\text{H}_2}} \cdot 100 \quad (1)$$

$$\%GD = 100 - \%GA \quad (2)$$

onde: A_{CH_3} é a integração do sinal atribuído ao CH_3 ;

A_{H_2} é a integração do sinal atribuído ao H_2 ;

GA é o grau de acetilação;

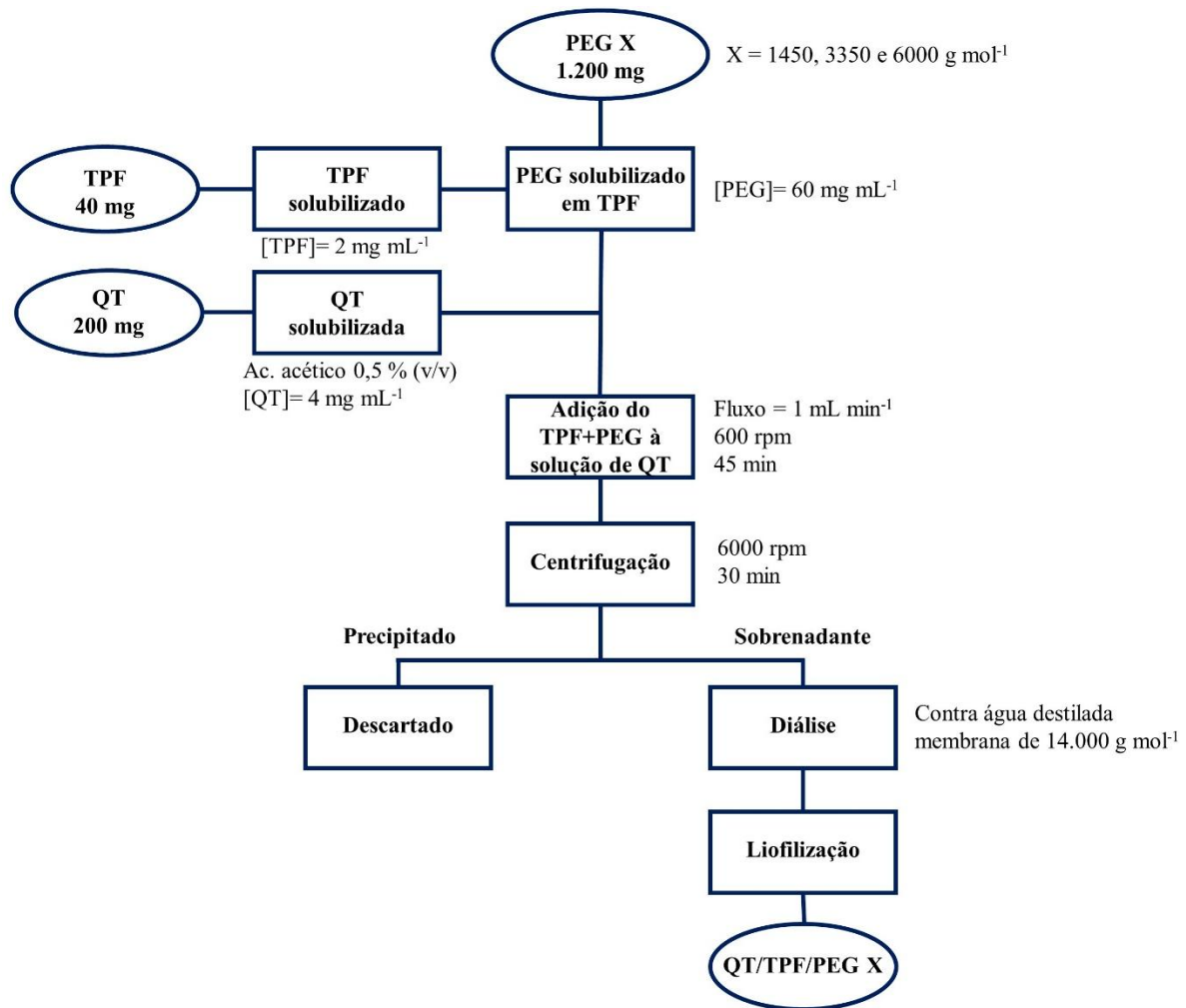
GD o grau de desacetilação.

4.3 Preparo das nanopartículas

As nanopartículas (NPs) foram obtidas seguindo a metodologia proposta por Samy e colaboradores (2020). A solução de quitosana (QT) foi preparada em 50 mL de ácido acético 0,5 % (v/v). A solução de tripolifosfato de sódio (TPF) foi preparada em água destilada e adicionada a solução de quitosana sob gotejamento, com fluxo de 1 mL min^{-1} com auxílio de uma bomba dosadora peristáltica. Após a adição a solução ficou sob agitação magnética (600 rpm) por 45 minutos. Após os 45 minutos o sistema foi centrifugado à 6000 rpm por 30 minutos (Samy et al., 2020).

Foram preparados sistemas com PEG de 3 massas molares distintas 1450, 3350 e 6000 g mol^{-1} . As massas molares do PEG foram escolhidas de modo a se distanciarem, para que a influência do tamanho da cadeia de PEG pudesse ser avaliada. As nanopartículas QT/TPF/PEG foram preparadas seguindo a metodologia proposta por Sharma e colaboradores (2012). O PEG foi solubilizado na solução de TPF, e gotejado sobre a solução de quitosana. A proporção de QT:TPF:PEG utilizada foi 5:1:30. Essa metodologia foi escolhida de forma a diminuir uma etapa de produção, que seria a reação entre a QT e o PEG, de modo que a adição de PEG à estrutura da nanopartícula se dê apenas por interação entre as cadeias. A Figura 6 apresenta um fluxograma que resume a metodologia de preparo das nanopartículas.

Figura 6 - Fluxograma da metodologia de preparo das nanopartículas



Fonte: elaborado pelo autor.

4.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A QT, o PEG (1450, 3350 e 6000 g mol⁻¹), o 5-FU e todos os sistemas nanoparticulados foram caracterizados por FTIR. As amostras foram analisadas em pastilhas de brometo de potássio (KBr) no espectrofotômetro Shimadzu[®] modelo IR Trace 100 na região entre 4000 e 400 cm⁻¹.

4.5 Tamanho e carga da superfície das nanopartículas

O diâmetro hidrodinâmico e o potencial zeta das nanopartículas foram determinados em triplicata pela técnica de espalhamento dinâmico de luz, utilizando o

equipamento Nano Zetasizer da Malvern modelo ZS 3600, com leitor a laser de 633 nm, operando com um ângulo de 173°. Foi preparada uma dispersão das nanopartículas em água destilada com uma concentração de 1 mg mL⁻¹ para a determinação do diâmetro e de 3 mg mL⁻¹ para determinação do potencial zeta. As amostras foram previamente centrifugadas a 6000 rpm por 15 min.

4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O tamanho e a morfologia das nanopartículas foram analisados por MEV, utilizando um microscópio de emissão Quanta FEG 450-FEI. As amostras foram dispersas em água deionizada na concentração de 5 x 10⁻³ mg mL⁻¹, e um pequeno volume (10 µL) foi depositado na superfície do stub com fita de carbono, seguido de secagem por spin coater. Todas as análises foram realizadas a 25 °C. As imagens da micrografia foram processadas utilizando um software Igor Pro 6.37.

4.7 Encapsulamento do 5-FU

A metodologia utilizada para o encapsulamento do 5-FU foi a proposta por Benito-Miguel e colaboradores (2015). Foram dispersos 50 mg de nanopartículas vazias em 1 mL de uma solução aquosa de 5-Fluorouracil (5-FU) (10 mg mL⁻¹). O sistema foi mantido sob agitação por 24 h em um microtubo Eppendorf de 2 mL. O sistema foi centrifugado por 10 min à 15.000 rpm. O sobrenadante descartado e o precipitado congelado e liofilizado.

Para a determinação da eficiência de encapsulamento, utilizou-se o método de extração por solvente, usando como solvente a água destilada, devido à alta afinidade do fármaco com a mesma.

4.8 Eficiência de encapsulamento e capacidade de carreamento

A eficiência de encapsulamento do 5-FU foi determinada de forma direta. Utilizando-se o método de extração por solvente, usando como solvente a água destilada, devido à alta afinidade do fármaco com o solvente.

Dispersou-se 5 mg de nanopartículas com 5-FU em 10 mL de água destilada. O sistema permaneceu sob agitação por 24 h e então foi centrifugado por 30 min à 6.000 rpm. O

sobrenadante foi analisado no espectrofotômetro UV-Vis para quantificação de fármaco presente na amostra. Assim, foram determinadas a Eficiência de Encapsulamento e a Capacidade de Carreamento do sistema.

O comprimento de onda máximo do 5-FU é 265 nm. Foi construída uma curva de calibração em água, com a concentração de 5-FU variando de 0,005 a 0,02 ppm, resultando na equação 3:

$$\text{Abs} = 53,571[5\text{-FU}] + 0,0022 \quad R^2 = 0,9999 \quad (3)$$

onde: Abs é a absorvância e [5-FU] a concentração do 5-FU expressa em ppm.

A eficiência de encapsulamento de um sistema consiste na razão entre a massa de fármaco encapsulado e a massa total de fármaco utilizado (equação 4).

$$EE\% = \frac{\text{massa de 5-FU encapsulado}}{\text{massa de 5-FU total}} \times 100 \quad (4)$$

A capacidade de carreamento de um sistema consiste na razão entre a massa de fármaco encapsulado e a massa total de nanopartículas (equação 5).

$$CC\% = \frac{\text{Massa de 5-FU encapsulado}}{\text{Massa das nanopartículas}} \times 100 \quad (5)$$

4.9 Quantificação de polietilenoglicol nas nanopartículas

Para a quantificação do teor de PEG foi utilizada análise colorimétrica, e a metodologia proposta por Fejfer e colaboradores (2020). Foram misturados 5 mL da solução de PEG (1450, 3350 e 6000 g mol⁻¹), 4 mL de HCl 0,05 mol L⁻¹ e 1 mL do reagente de Dragendorff. Após a mistura, aguardou-se 15 minutos e então analisou-se as soluções no espectrofotômetro UV-Vis para o preparo da curva de calibração. A curva de calibração do PEG

1450, 3350 e 6000 foi obtida a partir do comprimento de onda máximo de 521 nm, as equações são listadas a seguir (equação 6, 7 e 8):

$$\text{Abs} = 0,0363[\text{PEG}1450] + 0,0317 \quad R^2 = 0,9958 \quad (6)$$

$$\text{Abs} = 0,0278[\text{PEG}3350] + 0,0295 \quad R^2 = 0,9922 \quad (7)$$

$$\text{Abs} = 0,0199[\text{PEG}6000] + 0,0090 \quad R^2 = 0,9984 \quad (8)$$

onde: Abs é a absorvância e [PEG] a concentração do PEG expressa em ppm.

Para a quantificação de PEG presente nas nanopartículas, dispersou-se 5 mg de nanopartícula em 25 mL de água destilada sob agitação overnight. Após a agitação a amostra foi centrifugada a 6000 rpm por 20 minutos e utilizou-se a metodologia com o reagente de Dragendorff para a quantificação por UV-Vis.

4.10 Estabilidade das nanopartículas

A estabilidade das nanopartículas sem 5-FU foi avaliada em solução aquosa, na concentração de 1 mg mL⁻¹ a uma temperatura de 4 °C por um período de 10 semanas, utilizando EDL para monitorar as mudanças em seu tamanho.

O ensaio de estabilidade foi realizado visando analisar a possibilidade de uma solução estoque de nanopartículas para otimizar o preparo das nanopartículas com 5-FU.

4.11 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica das amostras foi realizada utilizando um equipamento Netsch STA 499 F3 com uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ na faixa de 25-800 °C. O fluxo de ar sintético foi mantido à 50 mL min⁻¹. A massa inicial das amostras foi de 10 mg.

4.12 Ensaio de adsorção de Albumina do soro bovino

O método foi adaptado de Domke et al., (2024). O ensaio de adsorção da proteína foi realizado usando solução de nanopartículas e de proteína, ambos dissolvidos em tampão fosfato (pH = 7,4; 0,005 mol L⁻¹), na concentração inicial de 2 mg mL⁻¹. No início do ensaio, volumes iguais das duas soluções foram misturados, resultando na concentração final de 1 mg mL⁻¹ para cada componente. O sistema foi incubado sob agitação constante a 37 °C por 5 h em

uma incubadora Cientec CT-712R. A adsorção de proteína nas nanopartículas foi analisada em seguida por espalhamento dinâmico de luz.

4.13 Ensaio de liberação *in vitro*

O ensaio de liberação *in vitro* foi realizado por adaptação da metodologia proposta por Haggag e colaboradores (2018). Foram dispersas 10 mg de nanopartículas com 5-FU encapsulado, em 3 mL de tampão fosfato (pH 7,4), para simular o pH intravenoso, e dialisada (membrana de massa molar de corte 1.000 g mol^{-1}). A membrana foi imersa em 40 mL da solução tampão. O sistema então foi mantido à $37 \text{ }^\circ\text{C}$ com agitação de 100 rpm, utilizando uma incubadora (Cientec CT-712R). Alíquotas de 3 mL foram retiradas do sistema em intervalos de tempo previamente determinados e então 3 mL de tampão PBS foram repostos ao sistema. As alíquotas foram analisadas em um espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu) no comprimento de onda de 265 nm.

4.14 Cinética de liberação *in vitro* e modelos matemáticos

Buscando investigar o mecanismo de liberação do 5-FU das nanopartículas, os dados da liberação *in vitro* foram analisados nos modelos cinéticos matemáticos a seguir: ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas e Zeng. Os modelos são exemplificados a seguir:

O modelo de cinética de ordem zero descreve a liberação com uma taxa que independe da concentração inicial, seguindo a equação 9.

$$Q_t = Q_0 + k_0 t \quad (9)$$

onde Q_0 : Quantidade de 5-FU inicial;

Q_t : quantidade de 5-FU no tempo t ;

k_0 : constante de ordem zero; t : tempo.

A cinética de primeira ordem define que a taxa de liberação é dependente da concentração inicial, e segue a equação 10.

$$\log Q_t = \log Q_0 + k_1 t \quad (10)$$

onde k_1 é a constante de primeira ordem.

O modelo de Higuchi é descrito para liberação de compostos a partir de matrizes insolúveis, onde a liberação é dependente da raiz quadrada do tempo, processo baseado na difusão Fickiana (Higuchi, 1963), como mostra a equação 11.

$$Q_t = Q_0 + k_H \sqrt{t} \quad (11)$$

onde k_H é a constante de Higuchi.

O modelo de Hixson-Crowell estabelece que a liberação ocorre através de um sistema de dissolução, onde há alteração na área superficial e no diâmetro das partículas, por intumescimento (Hixson & Crowell, 1931) e segue a equação 12.

$$\sqrt[3]{Q_t} - \sqrt[3]{Q_0} = k_{HC} t \quad (12)$$

onde k_{HC} é a constante de Hixson-Crowell.

O modelo de Korsmeyer-Peppas descreve a liberação de sistemas poliméricos (Korsmeyer, Gurny, Doelker, Buri, & Peppas, 1983), seguindo a equação 13.

$$Q_t = k_{KP} t^n \quad (13)$$

onde k_{KP} : é a constante de Korsmeyer-Peppas;

n : é o expoente de liberação que descreve o mecanismo de liberação.

Os diferentes mecanismos que podem ser expressos pelo valor de n são exemplificados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de expoentes e mecanismos de liberações correspondentes para o modelo de Korsmeyer-Peppas.

Expoente de liberação (n)	Mecanismo de liberação
$\leq 0,5$	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	Transporte anômalo
1	Transporte caso-II
$> 1,0$	Transporte super caso-II

O modelo de Zeng e colaboradores (2011) avalia liberações baseadas na difusão do fármaco para o solvente do meio e pondera a influência da interação entre o fármaco e a matriz carreadora de fármaco através de constantes.

Esse modelo é representado pela equação 14 a seguir:

$$\frac{M_t}{M_0} = \frac{k_{off}}{k_{on} + k_{off}} (1 - e^{-k_s t}) + \frac{k_{on}}{k_{on} + k_{off}} (1 - e^{-k_{off} t}) \quad (14)$$

onde M_t : Quantidade de fármaco liberada em um tempo t ;

M_0 : Quantidade inicial de fármaco no sistema;

k_{on} : Constante de associação do fármaco com a matriz;

k_{off} : Constante de dissociação do fármaco com a matriz;

k_s : Constante relacionada a difusão do fármaco para o meio.

Através do modelo de Zeng também é possível determinar o ΔG (equação 15), entre os dois estados (fármaco livre e fármaco ligado), assim pode ser usado para quantificar o fármaco livre e ligado a matriz no início do ensaio.

$$\Delta G = -k_B T \ln \left(\frac{k_{on}}{k_{off}} \right) \quad (15)$$

4.15 Ensaio de Citotoxicidade

O ensaio de citotoxicidade foi realizado no Laboratório de Cultura de Células do Delta (LCCDelta), localizado na Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr). A capacidade das amostras em interferir na viabilidade celular foi avaliada pelo método do MTT, que se baseia na capacidade de quantificar a atividade mitocondrial por meio da redução do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol) -2,5-difenil-brometo de tetrazólio (MTT), de cor amarela, com consequente formação de cristais de formazan, de cor púrpura, em células metabolicamente ativas (Mosmann, 1983). Os metabólitos primários envolvidos do ciclo de Krebs, NADH₂, NADPH e Succinato são os principais envolvidos nesta reação, em que a atividade metabólica da célula é dependente do número de células e está diretamente relacionada com a quantidade de MTT metabolizada, sendo a quantificação realizada por absorvância em UV-Vis (Berridge, Tan, McCoy, & Wang, 1996; Kuete, Karaosmanoglu, & Sivas, 2017; Mosmann, 1983).

Quanto as linhagens celulares utilizadas e a manutenção das linhagens, a linhagem não tumoral L929 (fibroblasto murino) e tumorais HCT-116 (câncer colorretal humano) e MDA-MB-231 (Adenocarcinoma metastático de mama) cultivadas em meio DMEM (Dubelco's Modified Eagle Medium), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina 100 U mL⁻¹ e estreptomicina 100 µg mL⁻¹). As linhagens foram manuseadas em ambiente estéril de câmara de fluxo laminar vertical e acondicionadas em incubadora a 37 °C com atmosfera de 5% de CO₂. A manutenção foi realizada sempre que as células alcançavam aproximadamente 80 a 90 % de confluência. O crescimento das linhagens foi acompanhado diariamente por microscópio invertido.

As células foram plaqueadas em placas de 96 poços, em uma concentração de 1x10⁶ células mL⁻¹ para a linhagem L929, 6x10⁴ para HCT-116 e 8x10⁴ para MDA-MB-231, e incubadas a 37 °C e 5% de CO₂ por 24 h. Após 24 h de incubação em estufa a 37 °C com 5% CO₂, foi adicionado 100 µL de amostra teste diluídas em meio suplementado, em concentrações

seriadas que variaram de 7,81 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em seguida, as placas foram novamente incubadas por 69 horas. O 5-Fluorouracil foi utilizado como controle positivo, com concentrações que variaram de 1,56 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Ao final do período de incubação, o sobrenadante foi retirado. Foi adicionado em cada poço 150 μL de solução de MTT (0,5 mg mL^{-1}), diluído em meio RPMI 1640, e as placas foram reincubadas por 3 horas, totalizando 72 horas. Após isso o sobrenadante foi retirado. O formazan foi ressuspense em 150 μL de Dimetilsulfóxido (DMSO) adicionado em cada poço. A leitura das placas foi realizada em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda de 595 nm.

Para este ensaio, foram utilizadas amostras de 5-Fluorouracil (5-FU), como controle positivo, e de todos os sistemas nanoparticulados (com e sem 5-FU). As amostras foram diluídas em água para injeção com estoques de 20 mg mL^{-1} e armazenadas sob refrigeração.

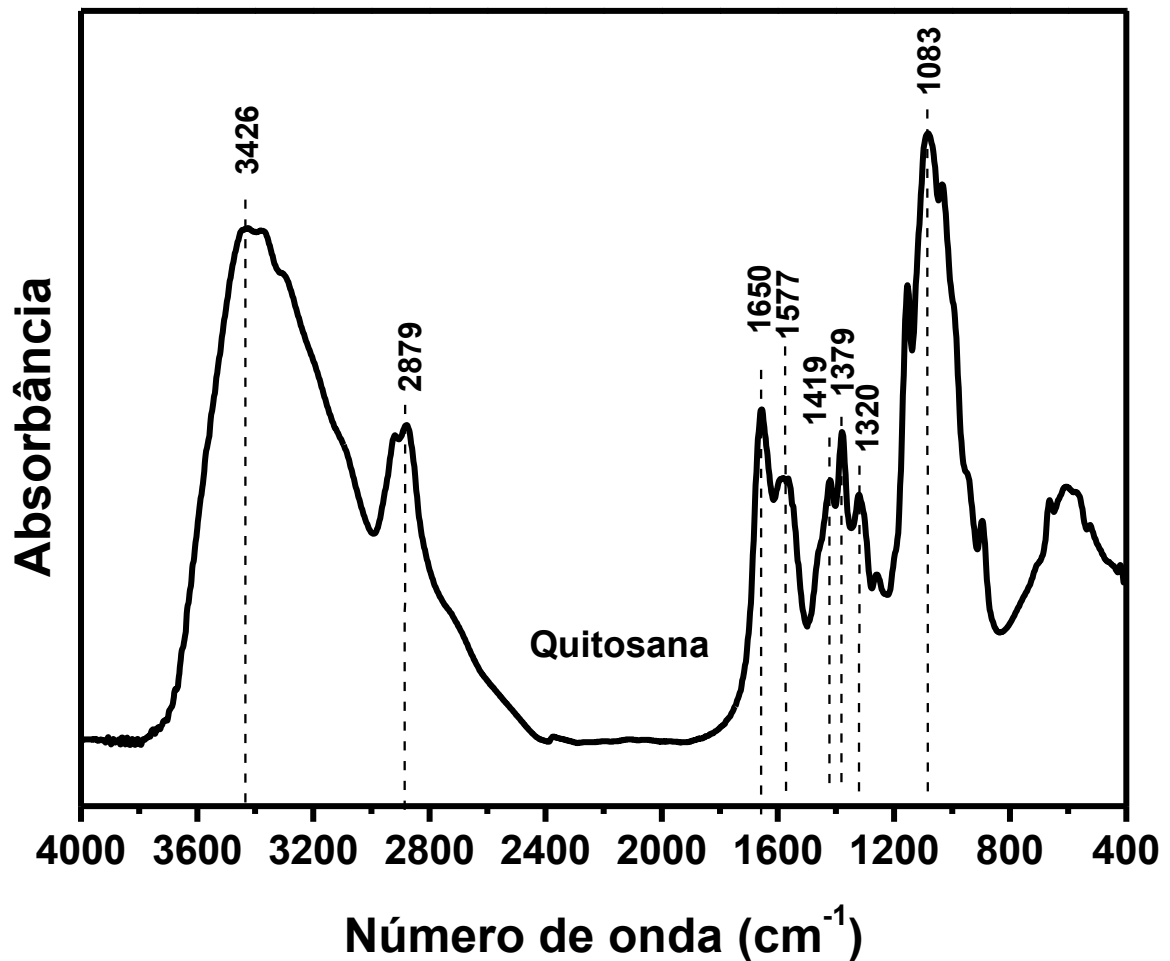
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da quitosana

5.1.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Pode-se observar no espectro de FTIR da quitosana na Figura 7 a presença de uma banda de forte intensidade em 3426 cm^{-1} atribuído ao estiramento N-H e O-H dos grupamentos NH_2 e OH, respectivamente, presentes na estrutura da quitosana.

Figura 7 - Espectro de FTIR da Quitosana.



Fonte: dados da pesquisa.

A estrutura sacarídica mostra-se presente em 1083 cm^{-1} , e outra banda em 1577 cm^{-1} , relativa ao grupo amina (Qu, Wirsén, & Albertsson, 2000). A banda presente em 1419 cm^{-1} é atribuída à deformação axial da ligação C-N.

A banda presente em aproximadamente 1650 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo carbonila C=O, característico da amida I da quitosana, e a banda em 1320 cm^{-1} é referente a amida III (Yang et al., 2023). Em 1379 cm^{-1} há uma banda atribuída à deformação angular simétrica de CH_3 . Já em 2879 cm^{-1} , é notada a banda referente aos estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos CH_2 dos anéis piranosídicos (Pawlak & Mucha, 2003).

Na Tabela 5 encontram-se algumas bandas características da quitosana com suas atribuições.

Tabela 5 - Número de onda e atribuição de algumas bandas de FTIR da Quitosana.

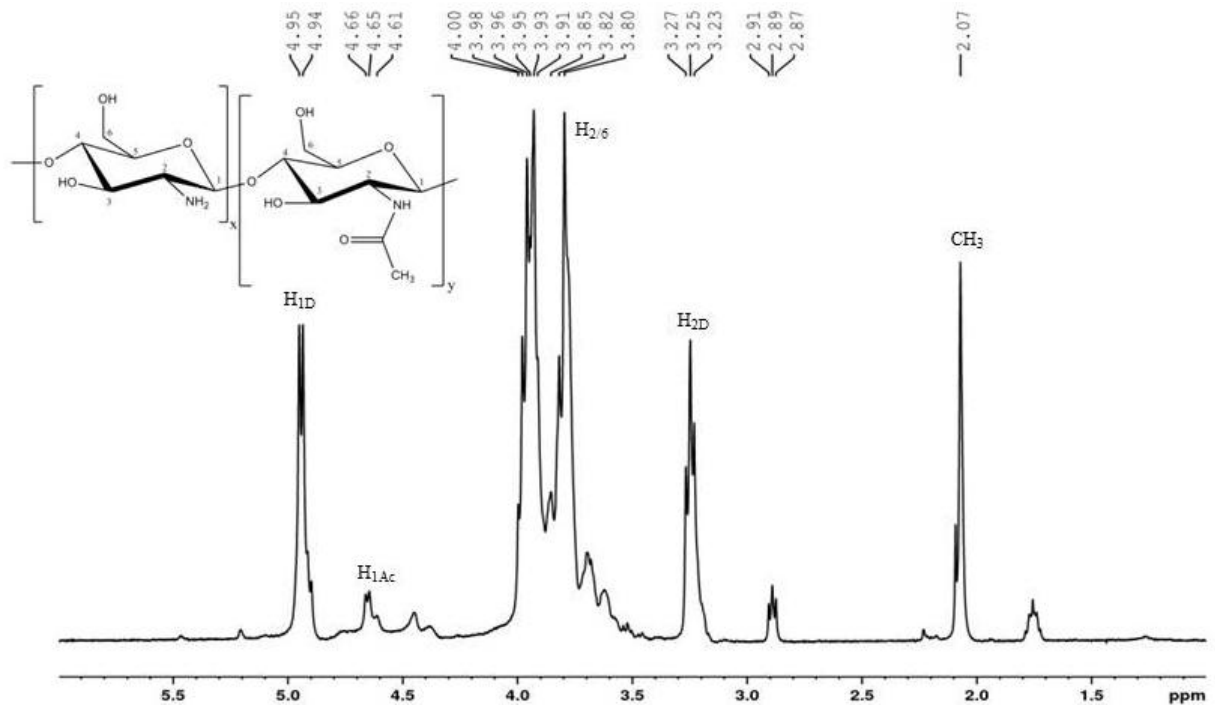
Número de onda (cm^{-1})	Atribuição
1650	C=O de amida
1577	-NH ₂
1419	Deformação axial C-N
1379	Deformação angular simétrica CH_3
1320	Amida III
1083	C-O e C-O-C da estrutura sacarídica

Fonte: dados da pesquisa.

5.1.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

A amostra de quitosana foi analisada por ressonância magnética nuclear de próton ^1H , o resultado encontra-se na Figura 8 a seguir. O espectro de RMN ^1H da quitosana apresentou todos os sinais característicos do material. Em 4,95 e 4,65 ppm os sinais são atribuídos ao H_1 da porção desacetilada e acetilada, respectivamente. Os sinais entre 3,80 e 4,00 ppm são atribuídos aos hidrogênios H_{2-6} (H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , H_6 e H_6') (Lavertu et al., 2003). Utilizou-se do espectro de ressonância de ^1H da quitosana para determinar seu grau de desacetilação. A área do sinal relativo aos prótons metílicos do grupo acetamido ($\delta_{\text{CH}_3} = 2,07\text{ ppm}$) e a área do sinal relativo ao próton do carbono 2 do anel de glicosamina ($\delta_{\text{H}_2} = 3,25\text{ ppm}$) foram utilizadas na equação 1 juntamente com a equação 2. Assim, foi determinado o grau de desacetilação igual a 77%, ou seja, grau de acetilação de 23%.

Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H da quitosana (500 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$, 70°C).



Fonte: dados da pesquisa.

5.2 Preparo das nanopartículas e encapsulamento de 5-FU

5.2.1 Presença de PEG nas nanopartículas

A quantificação de PEG foi realizada utilizando o método colorimétrico do reagente de Dragendorff. Todos os sistemas foram analisados e tiveram teores de PEG determinados em percentagem. Os resultados encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Teor de PEG presente nas nanopartículas.

Sistema	Presença de PEG (%)
QT/TPF/PEG1450	41
QT/TPF/PEG3350	70
QT/TPF/PEG6000	72
QT/TPF/PEG1450/5-FU	16
QT/TPF/PEG3350/5-FU	25
QT/TPF/PEG6000/5-FU	36

Fonte: dados da pesquisa.

Observando os sistemas sem 5-FU, nota-se um aumento no teor de PEG, variando de 41 a 72%, sendo diretamente proporcional ao tamanho da cadeia do PEG utilizado, podendo ser justificado pela dificuldade do PEG de cadeia maior de sair do meio durante a diálise.

Nos sistemas com 5-FU encapsulado observa-se um teor de PEG menor, se comparado com seus correspondentes sem fármaco, variando de 16 – 36%. Essa diminuição ocorre devido a metodologia utilizada para o encapsulamento do 5-FU. Devido à alta solubilidade do PEG em meio aquoso, parte do PEG do sistema se solubiliza no meio, o que explica a diminuição do teor de PEG nos sistemas. Zhang e colaboradores (2008) prepararam um sistema de nanopartícula a partir de quitosana e PEG enxertado com objetivo de carrear insulina pela mucosa nasal, os teores de PEG nos sistemas variou de 26 a 46%.

5.2.2 *Rendimento e eficiência de encapsulamento dos sistemas*

Foram obtidos oito sistemas nanoparticulados, 4 sistemas sem 5-FU, denominados de: QT/TPF, QT/TPF/PEG1450, QT/TPF/PEG3350 e QT/TPF/PEG6000 e mais 4 sistemas com 5-FU, denominados de: QT/TPF/5-FU, QT/TPF/PEG1450/5-FU, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU.

Os valores dos rendimentos dos sistemas sem o fármaco encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 - Rendimento de obtenção das nanopartículas sem 5-FU.

Sistemas	Rendimento (%)
QT/TPF	41
QT/TPF/PEG1450	33
QT/TPF/PEG3350	42
QT/TPF/PEG6000	45

Fonte: dados da pesquisa.

Observa-se a princípio uma queda no rendimento, em relação a adição do PEG1450 ao sistema. Entretanto, analisando todos os sistemas com PEG, nota-se uma tendência do aumento do rendimento com o aumento da massa molar do PEG. Esse resultado pode se dar devido ao maior tamanho da cadeia de PEG, e conseqüente maior dificuldade de ser removido através da diálise. Portanto, a tendência indica uma maior presença percentual de PEG nos sistemas onde o PEG possui a maior cadeia.

Já os sistemas com 5-FU, têm seus resultados de rendimento, eficiência de encapsulamento e capacidade de carreamento na Tabela 8:

Tabela 8 - Rendimento de obtenção, eficiência de encapsulamento e capacidade de carreamento das nanopartículas com 5-FU.

Sistemas	Rendimento (%)	E.E. (%)	C.C. (%)
QT/TPF/5-FU	63	27,6 ± 0,9	8,8 ± 0,3
QT/TPF/PEG1450 /5-FU	44	26,8 ± 0,2	12,2 ± 0,1
QT/TPF/PEG3350 /5-FU	26	10,9 ± 0,1	8,4 ± 0,1
QT/TPF/PEG6000 /5-FU	19	9,3 ± 0,3	9,7 ± 0,3

Fonte: dados da pesquisa.

O acréscimo de PEG no sistema ocasionou uma diminuição do rendimento nos sistemas com PEG, o aumento do tamanho da cadeia de PEG proporcionou uma diminuição no rendimento. Essa diminuição de rendimento acontece devido a maior presença percentual de PEG nas nanopartículas. Como o encapsulamento é realizado através da dispersão das nanopartículas vazias em uma solução aquosa de 5-FU, uma parte do PEG presente na estrutura da nanopartícula se solubiliza facilmente no meio.

A eficiência de encapsulamento, entre o sistema QT/TPF e o sistema QT/TPF/PEG1450 não houve uma diferença significativa, sendo aproximadamente 27%, nos outros dois sistemas com PEG, a eficiência de encapsulamento caiu para aproximadamente 10%, mostrando-se pouco eficientes para o encapsulamento.

Quanto a capacidade de carreamento, observa-se que os sistemas apresentaram valores próximos a 9%, exceto o sistema QT/TPF/PEG1450 5-FU, que se destacou com capacidade de carreamento de 12%. O sistema QT/TPF/PEG1450 destaca-se como o melhor carreador de 5-FU dentre os avaliados.

Samy e colaboradores (2020) obtiveram uma eficiência de encapsulamento que variou de 16 a 22% quando encapsulou 5-FU em um sistema correspondente de quitosana e tripolifosfato de sódio numa proporção 5:1, que é uma eficiência menor que a obtida nesse trabalho.

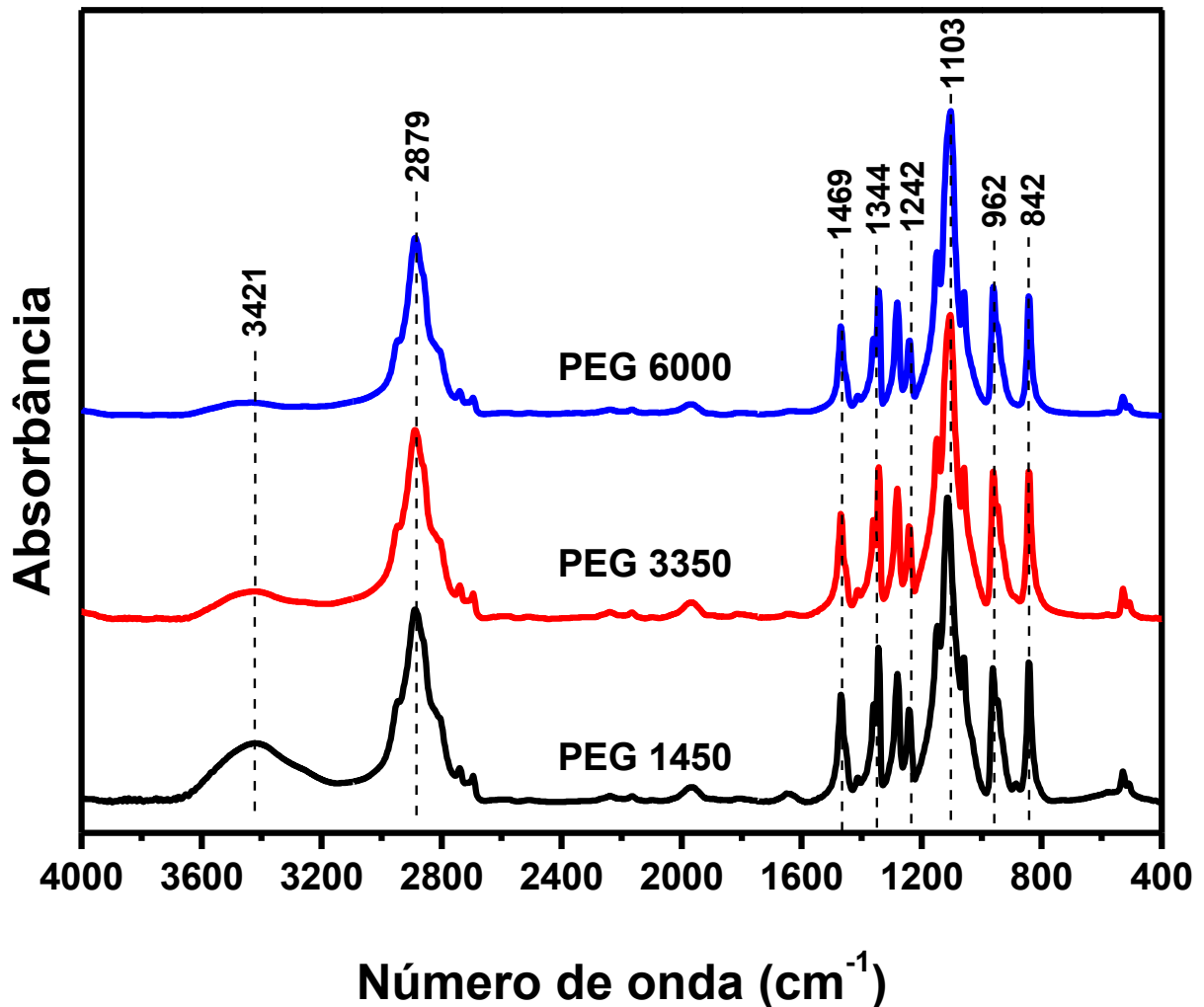
Radha e colaboradores (2023) obtiveram uma eficiência de encapsulamento de 84%, superior ao obtido neste sistema. Entretanto, a capacidade de carreamento foi de 9,3%,

sendo bem próximo aos 8,8 % obtido no atual trabalho. Eles prepararam as nanopartículas pelo método de geleificação ionotrópica, variando a proporção QT:TPF de 5:1 a 4:3, adicionando o 5-FU diretamente na solução de QT na qual posteriormente foi gotejada a solução de TPF.

5.3 FTIR dos materiais de partida e das nanopartículas

O FTIR é uma técnica utilizada como forma de identificar os grupos funcionais presentes nos materiais precursores e os indícios de possíveis interações entre esses materiais para a formação das nanopartículas. O espectro de FTIR dos polietilenoglicóis utilizados na formação das nanopartículas encontra-se na Figura 9. O espectro mostra as bandas características em 962 cm^{-1} e 842 cm^{-1} , que são atribuídas ao estiramento C-H. Outra banda característica está presente em 1240 cm^{-1} , atribuída ao estiramento do grupo C-O-H. As bandas presentes em 1469 cm^{-1} e 1344 cm^{-1} são atribuídas ao dobramento dos grupos C-H (Jamarun, Amelia, Rahmayeni, Septiani, & Sisca, 2023). A banda presente em 2879 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo C-H, enquanto a banda presente em 3421 cm^{-1} é atribuída ao estiramento do grupo O-H. Todos os tipos de PEG utilizados neste trabalho (PEG 1450, PEG 3350 e PEG 6000) apresentaram as bandas características do material (Jamarun et al., 2023; Sowmya & Panda, 2022; Yang et al., 2023).

Figura 9 - Espectro de FTIR do PEG (de massa molar 1450, 3350 e 6000 g mol⁻¹).



Fonte: dados da pesquisa.

Foi possível também observar a diminuição da banda presente em 3421 cm⁻¹ com o aumento do tamanho da cadeia de PEG. Essa diminuição se dá devido à diminuição da presença da hidroxila terminal em relação aos outros componentes da cadeia, a medida que a massa molar do polímero aumenta. Portanto, com o aumento da massa molar (PEG 1450, PEG 3350, PEG 6000), ocorre a diminuição da intensidade da banda em 3421 cm⁻¹ (Wenande & Garvey, 2016).

Na Tabela 9 encontram-se algumas bandas características do PEG com suas atribuições.

Tabela 9 - Número de onda e atribuição de algumas bandas de FTIR do PEG.

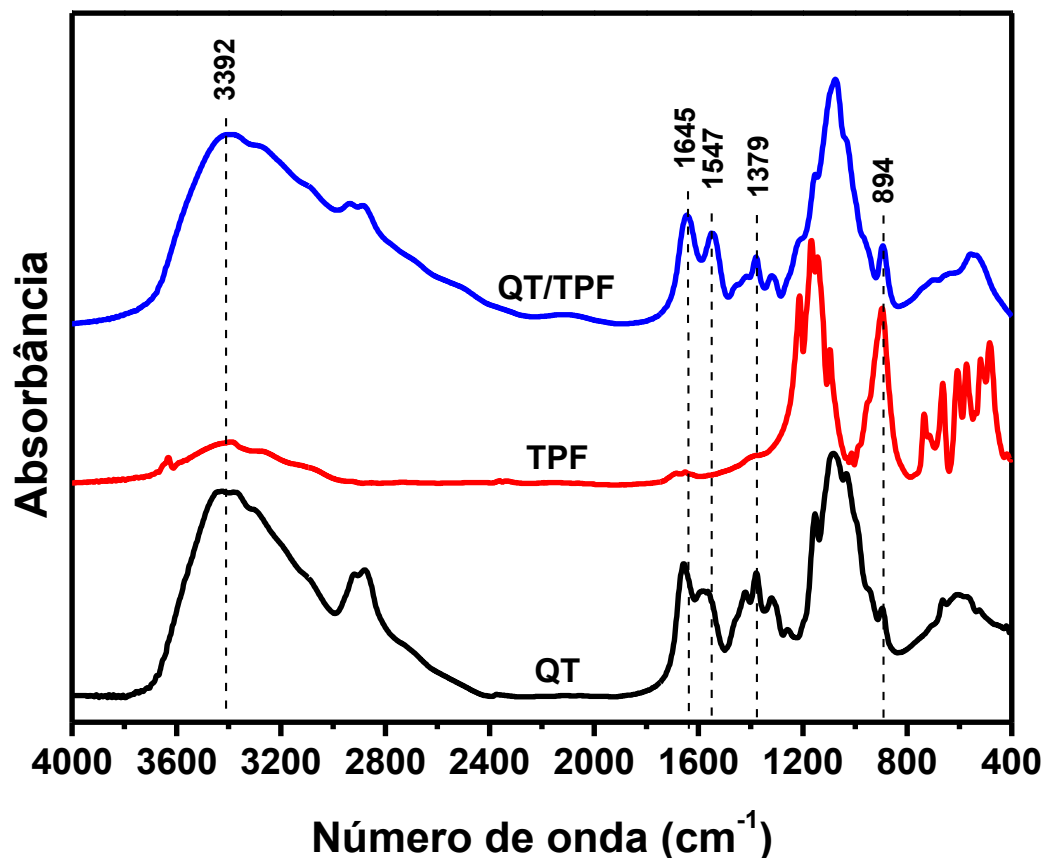
Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
1469	Deformação C-H
1344	Deformação C-H
1242	Estiramento C-O-H
1103	C-O
962	Estiramento C-H
842	Estiramento C-H

Fonte: dados da pesquisa.

Os espectros de FTIR das nanopartículas de QT/TPF, sem a presença de PEG e 5-FU exibiu um pequeno deslocamento as bandas em 1645 cm⁻¹ e 1547 cm⁻¹.

O espectro encontra-se na Figura 10.

Figura 10 - Espectro de FTIR da nanopartícula QT/TPF com os materiais de partida.

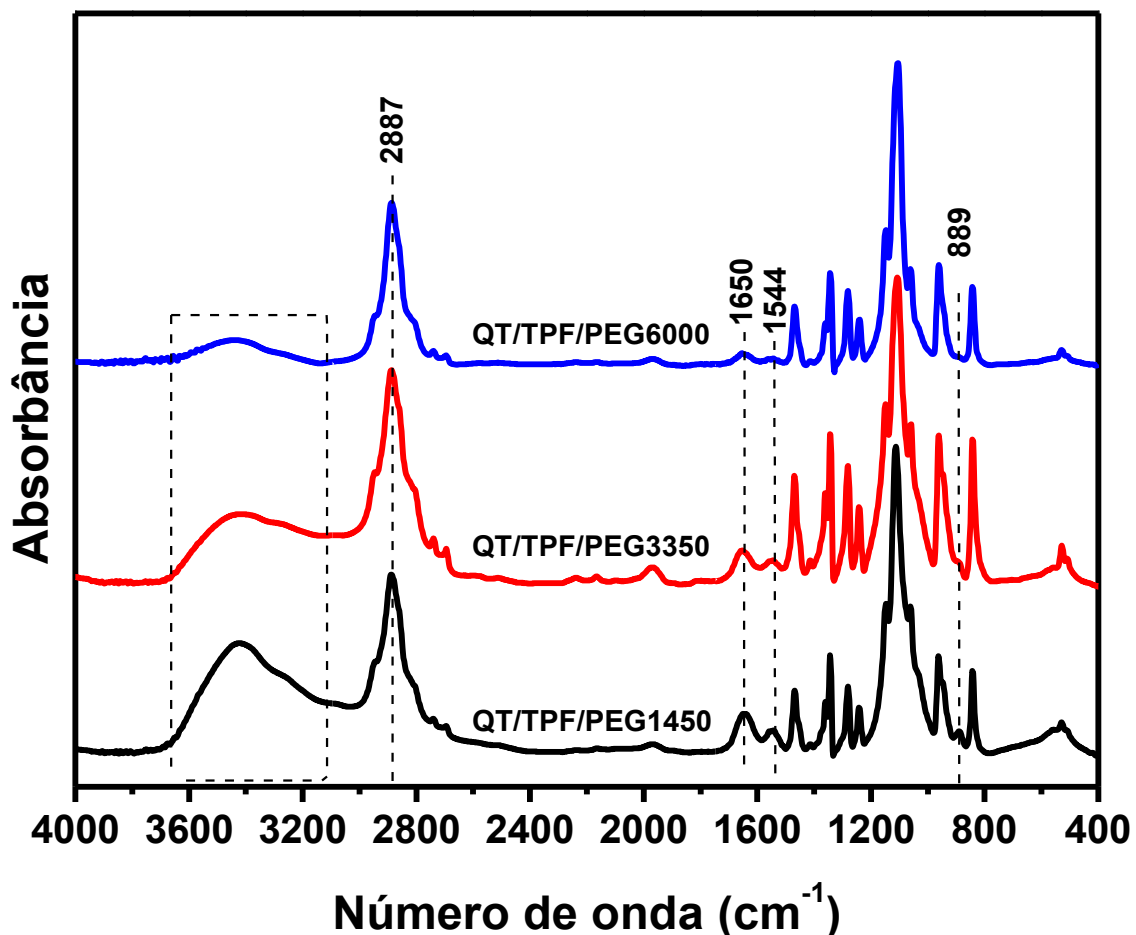


Fonte: dados da pesquisa.

Esses deslocamentos são referentes às interações entre os grupamentos NH_3^+ presentes na quitosana com os grupamentos $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ presentes no tripolifosfato de sódio utilizado na formação das nanopartículas. Outra banda característica também está presente no espectro das nanopartículas em 1379 cm^{-1} devido ao dobramento do $-\text{CH}_2$ presente na quitosana. A banda em 894 cm^{-1} presente no espectro do TPF também está presente no espectro das nanopartículas, sendo atribuída ao estiramento da ligação P-O (Yang et al., 2019).

Na Figura 11 pode-se observar os espectros de FTIR das nanopartículas com QT, TPF e PEG (1450, 3350 e 6000 g mol^{-1}) em sua composição.

Figura 11 - Espectro de FTIR das nanopartículas QT/TPF/PEG (1450, 3350 e 6000 g mol^{-1}).



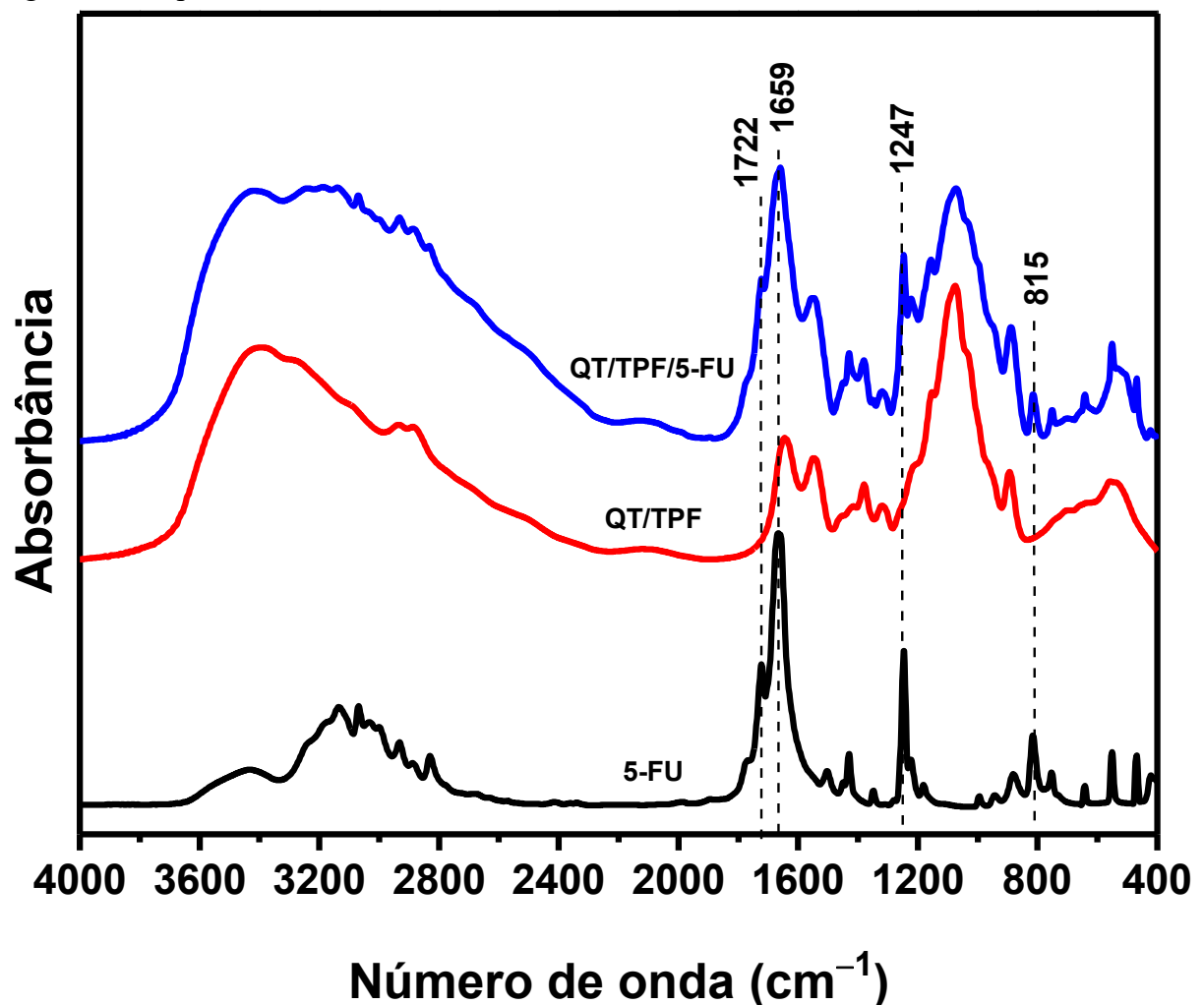
Fonte: dados da pesquisa.

Os espectros das nanopartículas com PEG apresentam uma grande semelhança com os espectros dos respectivos PEGs utilizados, em especial na região de 800 a 1400 cm^{-1} . Essa grande semelhança aos espectros de PEG se dá devido ao excesso de PEG em relação aos outros componentes presentes do sistema nanoparticulado. Algumas bandas características da QT e do

TPF também estão presentes nos espectros das nanopartículas, mesmo que de forma bem menos intensa. A banda fraca em 889 cm^{-1} nos espectros das nanopartículas é atribuída ao estiramento da ligação P-O presente também no espectro do TPF. As duas bandas fracas em 1544 cm^{-1} , relativas ao grupo amino da QT, e em 1650 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento do grupo carbonila C=O, característico da amida I da quitosana.

Após avaliar os sistemas sem PEG e com PEG, agora podemos avaliar todos os sistemas com 5-FU carregado.

Figura 12 - Espectro de FTIR do 5-FU, QT/TPF e QT/TPF/5-FU.



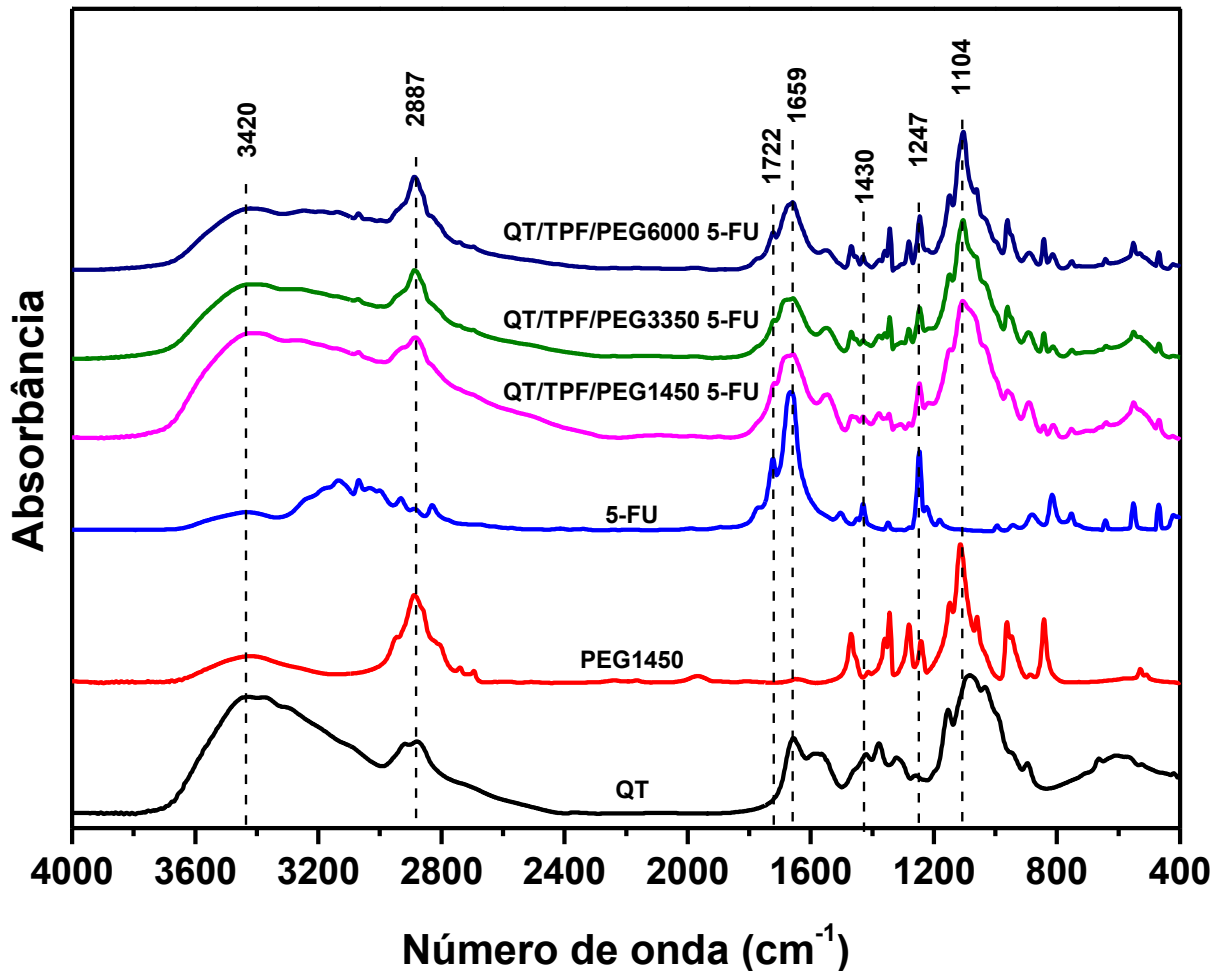
Fonte: dados da pesquisa.

Os espectros de FTIR da QT/TPF/5-FU (Figura 12) exibem algumas bandas características do 5-FU em 1722 cm^{-1} atribuída ao grupo amida cíclico do fármaco (Cheralayikkal, Manoj, & Safna Hussan, 2022; Rajaei et al., 2023), em 1659 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C=O (Radha et al., 2023; Ugorji et al., 2022). A banda em 1247 cm^{-1} é

atribuída ao estiramento da ligação C-N (Ugorji et al., 2022) e a banda em 815 cm^{-1} ao estiramento da ligação C-F (Cheralayikkal et al., 2022).

Os espectros das nanopartículas com PEG e 5-FU encontram-se na Figura 13.

Figura 13 - Espectros de FTIR do 5-FU, dos materiais de partida e das nanopartículas com 5-FU carregado.



Fonte: dados da pesquisa.

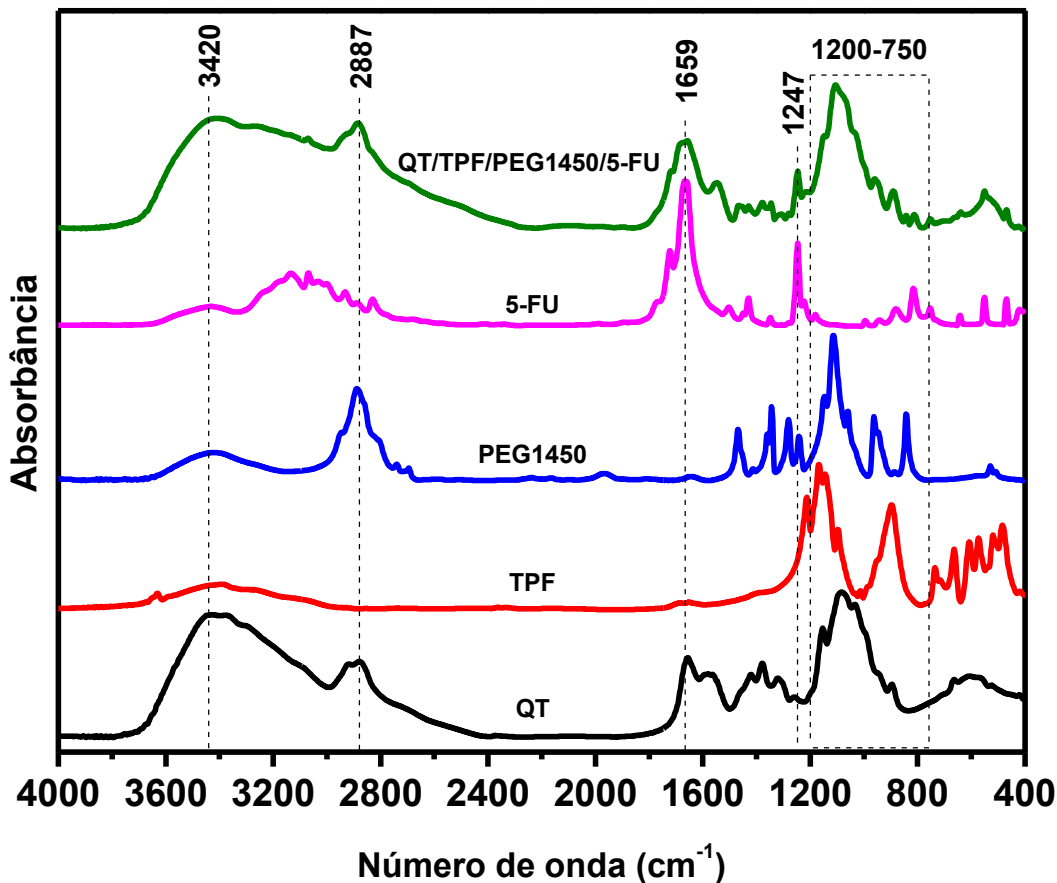
Os espectros de FTIR das nanopartículas com PEG ($1450, 3350$ e 6000 g mol^{-1}) e carregado com 5-FU apresentam perfil diferente das nanopartículas, se comparado com seus correspondentes sem o PEG. Nas nanopartículas sem o 5-FU, os espectros apresentaram uma forte semelhança com os espectros de FTIR do próprio PEG, devido à sua presença em excesso na produção da nanopartícula. Já nas nanopartículas com 5-FU, essa semelhança diminuiu, devido a menor proporção de PEG na estrutura das nanopartículas com 5-FU. Essa diminuição ocorre devido à metodologia utilizada para o encapsulamento do 5-FU, que dispersa as

nanopartículas em uma solução aquosa do fármaco. E já que o PEG é muito solúvel em água, ocorre uma perda de PEG para a solução, tornando o sistema com uma menor proporção do polímero sintético.

Os espectros de FTIR dos sistemas com PEG e 5-FU apresentaram bandas características do fármaco. Pode-se observar a banda que mais se destaca em 1659 cm^{-1} , sendo atribuída ao estiramento $\text{C}=\text{O}$, juntamente com o ombro em 1722 cm^{-1} , também atribuído ao grupo cetônico cíclico. Outra banda que se destaca é em 1247 cm^{-1} , sendo atribuída ao estiramento na ligação $\text{C}-\text{N}$, e por último, uma banda de baixa intensidade em 1430 cm^{-1} , atribuída ao dobramento da ligação $\text{C}-\text{F}$.

A fim de visualizar a presença de todos os materiais de partida nos sistemas nanoparticulados com 5-FU, foi selecionado o sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU como exemplo (Figura 14).

Figura 14 - Espectro de FTIR do sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU e seus materiais de partida.



Fonte: dados da pesquisa.

Nota-se a presença das bandas características de todos os materiais de partida no sistema nanoparticulado. Em 3420 cm^{-1} a presença da banda de forte intensidade é atribuída ao

estiramento da ligação O-H e N-H presente na QT. Em $2887\text{-}2903\text{ cm}^{-1}$ são bandas atribuídas ao estiramento simétricos e assimétricos das ligações C-H. A banda intensa em 1659 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação C=O, presente na QT e no fármaco 5-FU. Em 1247 cm^{-1} é possível observar a presença de uma banda de fraca intensidade, que é atribuída ao estiramento na ligação simples entre C-N presente no fármaco. No espectro de FTIR das nanopartículas com 5-FU, na região entre $1200\text{ e }750\text{ cm}^{-1}$ é possível observar diversas bandas que são oriundas dos materiais de partida.

5.4 RMN das nanopartículas

A análise de RMN de prótons de nanomateriais à base de PEG fornece informações sobre a conformação das partículas em meios de dispersão, conforme descrito por Hrkach e colaboradores (1997). Essa análise emprega dois solventes diferentes, como D_2O e DCl , para estudar sistemas como nanopartículas de QT/TPF/PEG. Essas nanopartículas consistem tipicamente em um núcleo de QT/TPF/PEG cercado por cadeias de PEG estendidas, formando uma corona.

Nos espectros de ^1H RMN das nanopartículas solubilizadas em D_2O , os sinais correspondentes ao QT ou ao PEG interno estão ausentes, restando visíveis apenas os sinais do PEG na corona (Figs. 7-9). Por outro lado, o DCl dissolve a partícula inteira, permitindo a detecção de ambos os componentes, CS e PEG, nas nanopartículas contendo PEG.

Nos espectros de DCl , observam-se sinais característicos dos polímeros precursores. Para o QT, os dubletos entre $\delta\ 4,92\text{ - }4,93\text{ ppm}$ e $4,65\text{ - }4,63\text{ ppm}$ correspondem aos hidrogênios anoméricos das unidades de $\beta\text{-D-glucosamina}$ e $\text{N-acetil-}\beta\text{-D-glucosamina}$ residuais, respectivamente. No resíduo acetilado, um tripleto em $\delta\ 3,26\text{-}3,22\text{ ppm}$ é atribuído ao hidrogênio metínico (H_2), enquanto um singlete em $\delta\ 2,06\text{ ppm}$ surge dos hidrogênios metílicos do grupo amida (Oliveira et al., 2023).

Os sinais de PEG incluem um pico intenso em $\delta\ 3,68\text{ ppm}$, associado às unidades de etileno repetidas (Li et al., 2024), e tripletos em $\delta\ 3,83\text{ - }3,81\text{ ppm}$, $3,63\text{ - }3,61\text{ ppm}$ e $3,54\text{ - }3,52\text{ ppm}$, atribuídos aos hidrogênios terminais do metileno, separados por uma ligação ($J = 5\text{ Hz}$).

Nos espectros em D_2O , os sinais são dominados por PEG na corona, uma vez que o núcleo, composto por QT, TPF e PEG, permanece indetectável devido à sua internalização. Nessa estrutura, as cadeias de PEG se estendem para fora, com uma extremidade ancorada no núcleo e a outra interagindo com o solvente.

Ao analisar a integração relativa dos sinais de PEG nos espectros de D₂O e DCl, é possível estimar o conteúdo de polímero na coroa e no núcleo usando as Equações (16) e (17). As ressonâncias em δ 3,68 ppm (unidades de etileno) e δ 3,63–3,61 ppm (metileno terminal) são usadas especificamente para este cálculo. A razão de integração 1:2 corresponde aos quatro átomos de hidrogênio das unidades de etileno e aos dois átomos de hidrogênio do grupo metileno terminal.

$$\text{PEG superficial (\%)} = \left[\frac{1}{2} \times \frac{(\text{Área superficial em } 3.68 \text{ ppm})}{(\text{Área superficial em } 3.63-3.61 \text{ ppm})} \right]_{\text{D}_2\text{O}} \div \left[\frac{1}{2} \times \frac{(\text{Área superficial em } 3.68 \text{ ppm})}{(\text{Área superficial em } 3.63-3.61 \text{ ppm})} \right]_{\text{DCl(aq)}} \times 100 \quad (16)$$

$$\text{PEG interno (\%)} = 100 - \text{PEG superficial (\%)} \quad (17)$$

Os valores de área nos espectros de RMN são influenciados exclusivamente pelo PEG que interage com o solvente, seja em estado dissolvido ou em conformação estendida. Na solução de DCl, o PEG está totalmente dissolvido e, portanto, a área medida corresponde a todo o conteúdo do polímero (100%). Em contraste, no D₂O, onde as nanopartículas mantêm sua integridade estrutural, a área determinada reflete apenas as cadeias de PEG estendidas na superfície da partícula. Os resultados encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 - Distribuição de PEG no núcleo e no revestimento da nanopartícula.

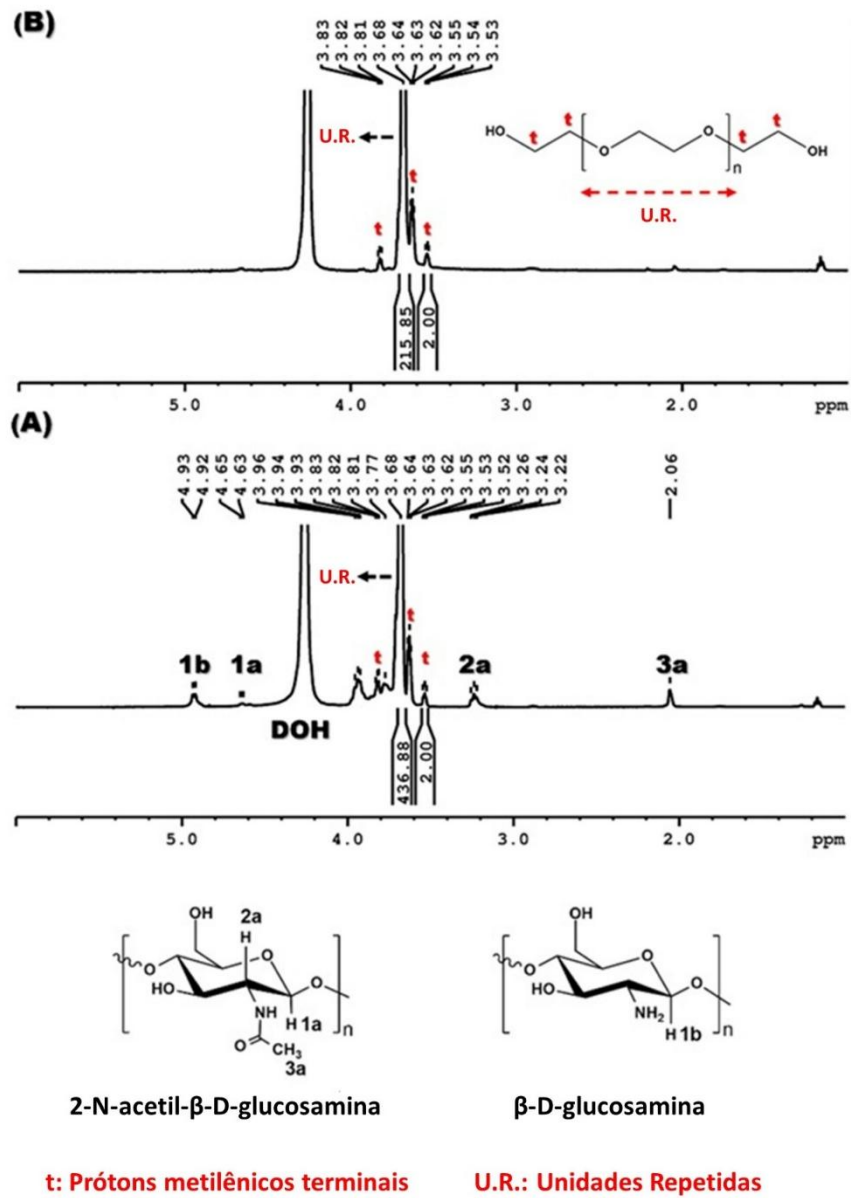
Amostras	PEG no revestimento	
	(m/m %)	PEG no núcleo (m/m%)
QT/TPF/PEG1450	49,4	50,6
QT/TPF/PEG3350	66,7	33,3
QT/TPF/PEG6000	53,8	46,2

Fonte: dados da pesquisa.

Com base na Tabela 10, observou-se que a distribuição de PEG entre a coroa e o núcleo das nanopartículas depende da massa molar do PEG. No caso do QT/TPF/PEG1450, o sistema parece atingir um equilíbrio entre os modos núcleo e coroa. Para o QT/TPF/PEG3350, o equilíbrio desloca-se para o modo coroa, provavelmente devido ao aumento do comprimento da cadeia do PEG, que dificulta estericamente sua deposição dentro do núcleo. No entanto, essa tendência não pôde ser confirmada para o QT/TPF/PEG6000. Neste sistema, a mobilidade reduzida do polímero atenua o efeito de impedimento estérico, levando a um aumento na porcentagem de revestimento de PEG.

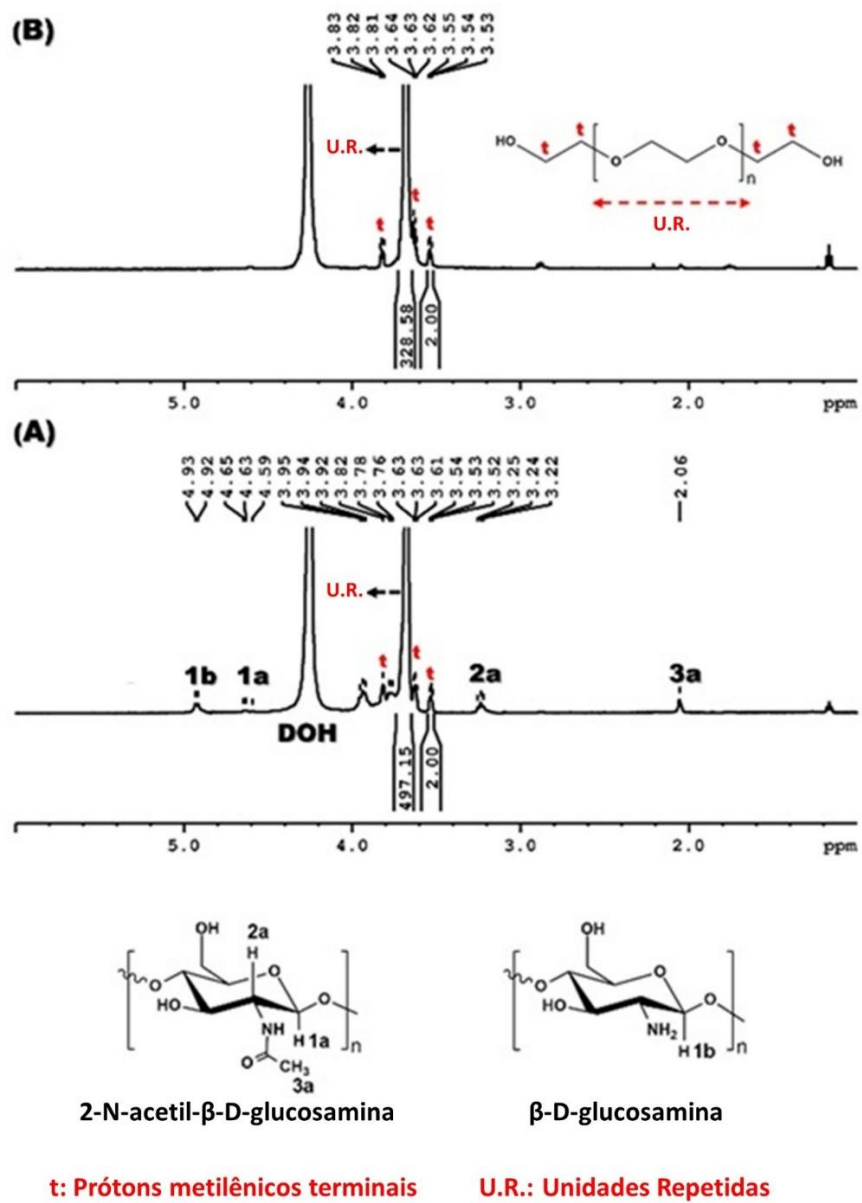
A conformação núcleo-coroa das nanopartículas foi bem documentada em muitos materiais à base de PEG, com o PEG formando predominantemente uma coroa externa. Por exemplo, Shin e colaboradores (2022) demonstraram essa conformação estimando a proporção de PEG exposta em um núcleo de poli(lactídeo) (PLA) em partículas de PEG-PLA usando RMN de ^1H , relatando porcentagens de exposição superiores a 80% para seus sistemas. Isso está alinhado com os resultados dos sistemas QT/TPF/PEG desenvolvidos, corroborando a prevalência de PEG na superfície das partículas. Os espectros de RMN das nanopartículas com PEG encontram-se nas Figuras 15-17.

Figura 15 – Espectro de RMN ^1H para QT/TPF/PEG1450 em solução de DCl (A) e D $_2$ O (B) a 80°C.



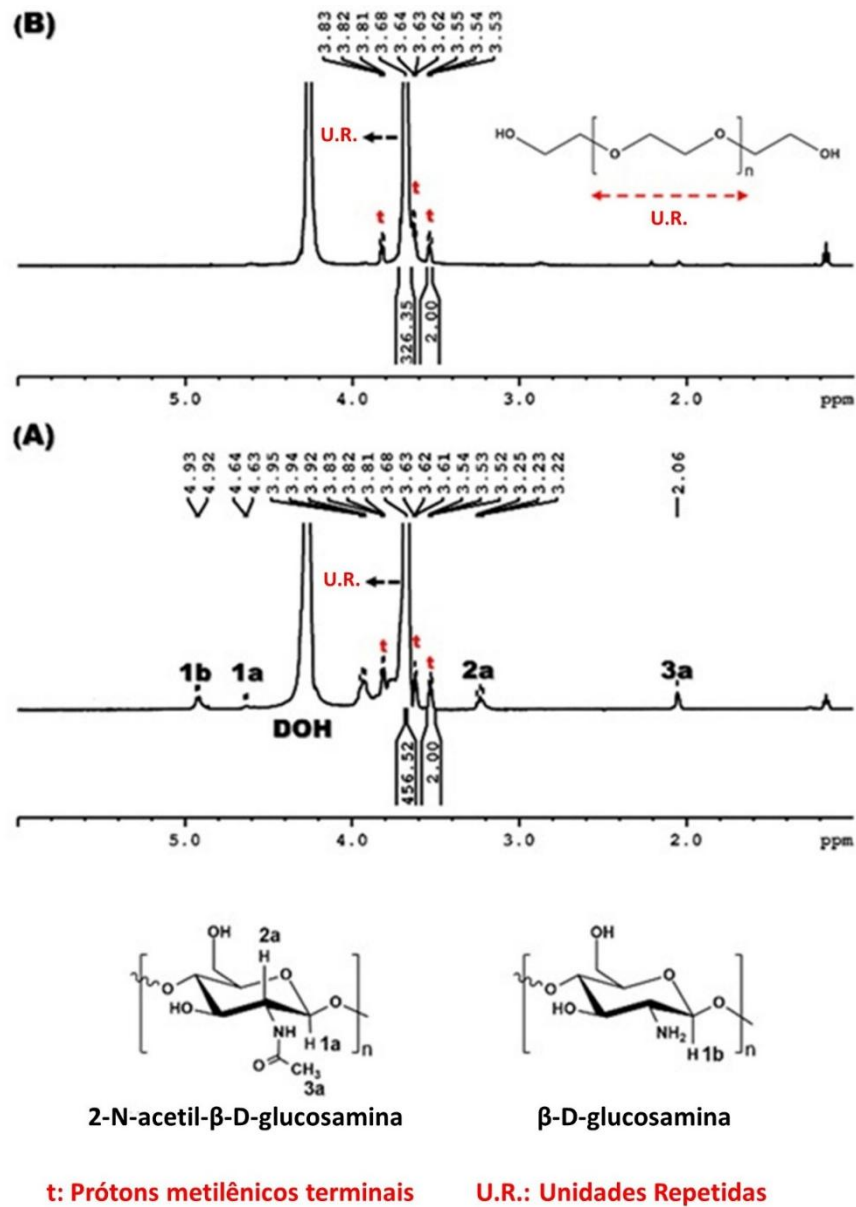
Fonte: dados da pesquisa.

Figura 16 - Espectro de RMN ^1H para QT/TPF/PEG3350 em solução de DCl (A) e D₂O (B) a 80°C.



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 17 - Espectro de RMN ^1H para QT/TPF/PEG6000 em solução de DCl (A) e D_2O (B) a 80°C .

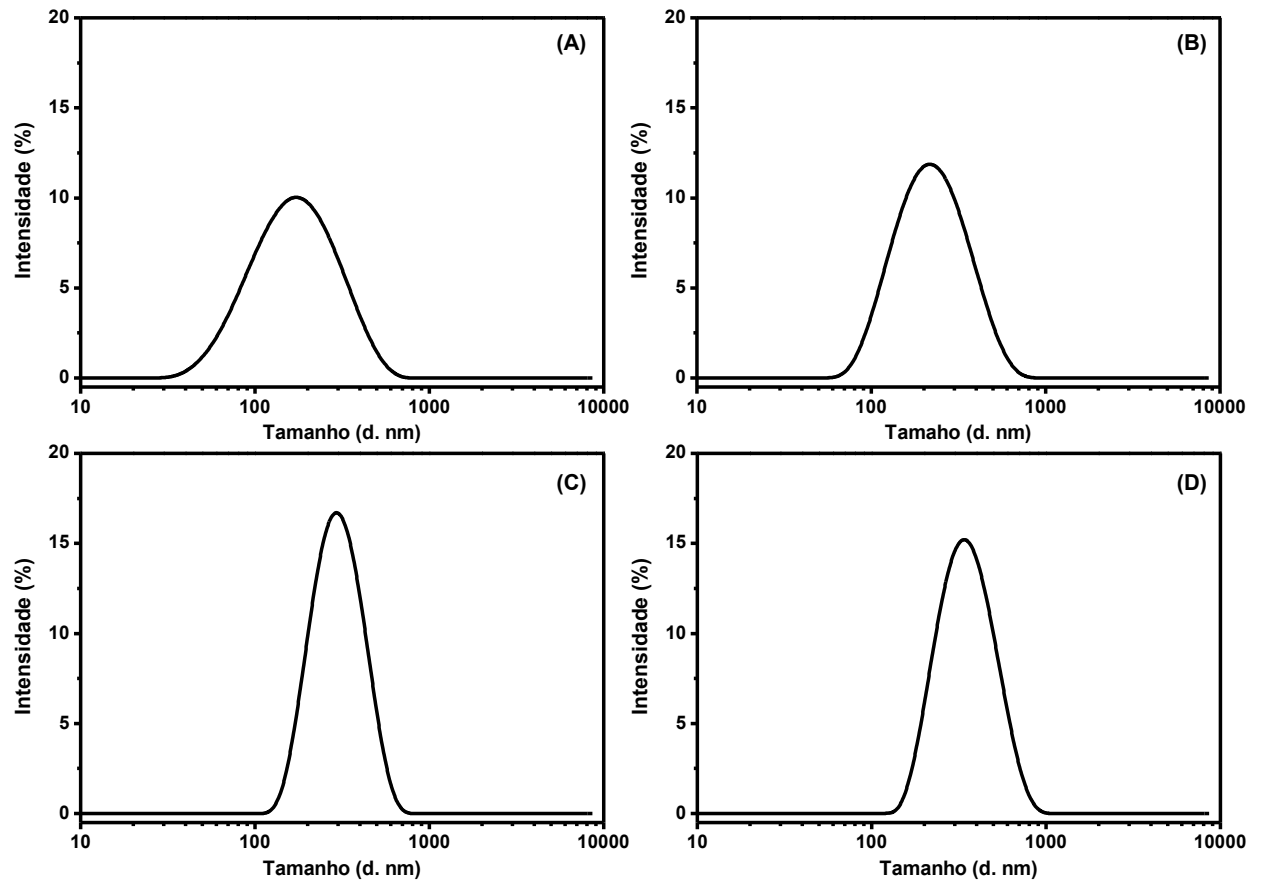


Fonte: dados da pesquisa.

5.5 Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL)

Os sistemas foram analisados a fim de determinar o tamanho hidrodinâmico, o Índice de Polidispersão (IPD) e a carga superficial das nanopartículas (Potencial Zeta). A distribuição de tamanho dos sistemas sem 5-FU encontra-se na Figura 18 enquanto os valores de diâmetro, IPD e potencial zeta encontram-se na Tabela 11:

Figura 18 - Gráfico de distribuição da intensidade do tamanho de partícula da QT/TPF (A), QT/TPF/PEG1450 (B), QT/TPF/PEG3350 (C) e QT/TPF/PEG6000 (D).



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 10 – Diâmetro, Índice de Polidispersão e potencial zeta dos sistemas nanoparticulados sem 5-FU.

Amostra	Tamanho de partícula (d. nm)	IPD	Potencial Zeta (mV)
QT/TPF	146 ± 2	0,214 ± 0,009	+27,2 ± 0,3
QT/TPF/PEG1450	196 ± 1	0,215 ± 0,008	+25,6 ± 0,3
QT/TPF/PEG3350	248 ± 1	0,215 ± 0,038	+24,3 ± 0,1
QT/TPF/PEG6000	303 ± 8	0,262 ± 0,038	+22,4 ± 0,7

Fonte: dados da pesquisa.

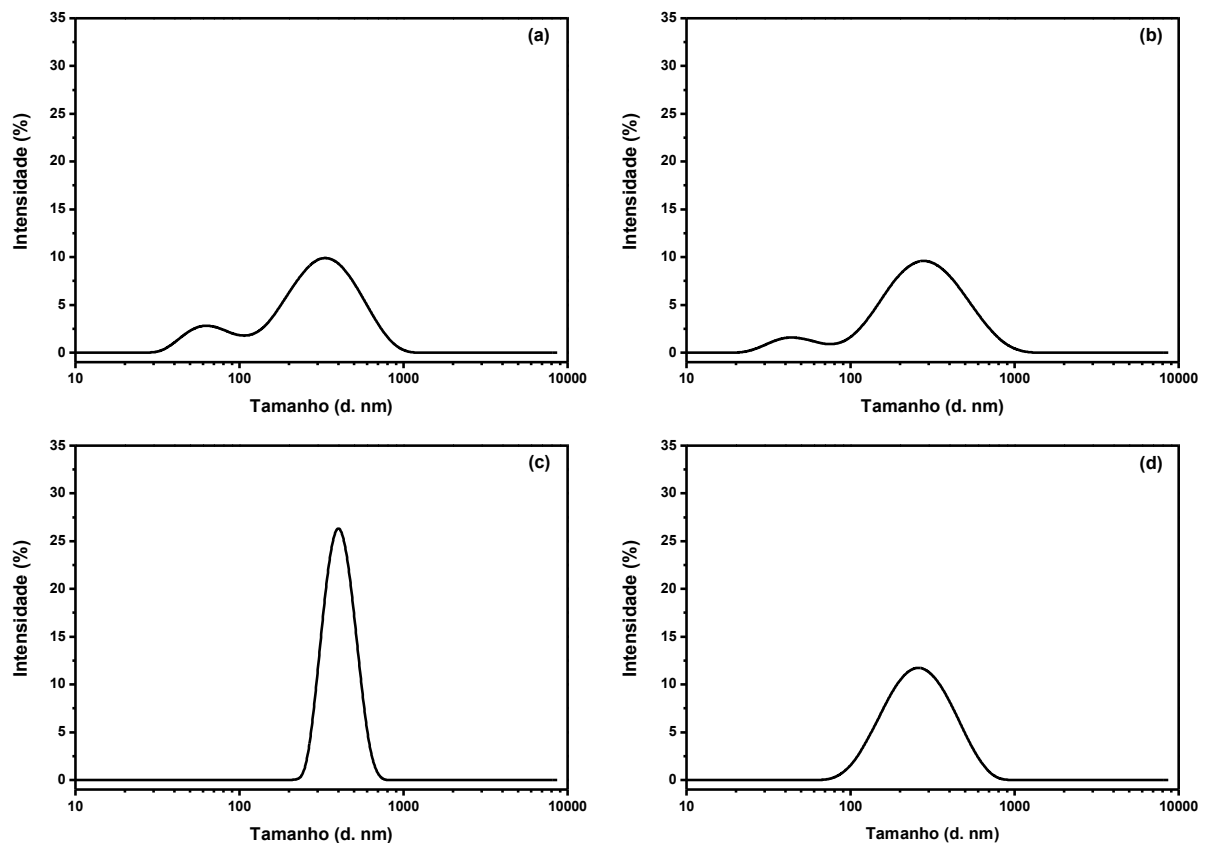
Na Tabela 11, pode-se observar os valores de diâmetro, IPD e potencial zeta das nanopartículas sem 5-FU. Todos os sistemas apresentaram perfil de distribuição unimodal. A adição de PEG no sistema ocasionou um aumento do diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas, partindo de aproximadamente 150 nm para aproximadamente 196 nm. Samy e colaboradores (2020) obtiveram diâmetros e IPD maiores quando prepararam nanopartículas a partir de quitosana e tripolifosfato pela técnica de gelificação iônica, utilizando quitosana de diferentes massas molares, os valores de diâmetros variaram de 480 a 631 nm, com IPD variando de 0,234 a 0,380. Números maiores que os obtidos por este trabalho também foram observados nas nanopartículas com quitosana de massa molar maior, relação parecida com o obtido por este trabalho, já que o tamanho da nanopartícula aumentou com o aumento do tamanho da PEG. Esse efeito no tamanho da nanopartícula é esperado, já que uma maior cadeia se organizará de forma diferente em solução.

Observa-se que as amostras QT/TPF/PEG3350 e QT/TPF/PEG6000 apresentaram um aumento de tamanho mais expressivo, de 146 para 248 nm e 303 nm, respectivamente. Quanto ao potencial zeta, todas as amostras apresentaram carga superficial maior que 20 mV. Pode-se observar também que o acréscimo de PEG no sistema ocasionou uma pequena diminuição na carga superficial da nanopartícula. Analisando os sistemas com PEG nota-se uma diminuição da carga superficial com o aumento da cadeia de PEG.

A princípio, buscou-se avaliar a influência da presença de PEG nas nanopartículas e como o tamanho da cadeia de PEG pode influenciar nas características da nanopartícula.

A distribuição de tamanho das partículas dos sistemas com 5-FU pode sofrer alteração devido ao carreamento do 5-FU. A distribuição de tamanho das nanopartículas carregadas com 5-FU está na Figura 19.

Figura 19 - Gráfico de distribuição do tamanho de partícula da QT/TPF/5-FU (A), QT/TPF/PEG1450/5-FU (B), QT/TPF/PEG3350/5-FU (C) e QT/TPF/PEG6000/5-FU (D).



Fonte: dados da pesquisa.

Os sistemas QT/TPF/5-FU e QT/TPF/PEG1450/5-FU apresentaram distribuição bimodal, enquanto os outros dois sistemas nanoparticulados, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU, apresentaram distribuições unimodais. Comparando a distribuição dos sistemas com fármaco, pode-se notar que apenas o sistema sem PEG apresentou um aumento de diâmetro com o encapsulamento do 5-FU, enquanto os outros 3 sistemas com PEG apresentaram uma diminuição no seu diâmetro.

Na Tabela 12 encontram-se os valores de tamanho (diâmetro), IPD e potencial zeta dos sistemas com 5-FU.

Tabela 11 - Diâmetro, Índice de Polidispersão e potencial zeta dos sistemas nanoparticulados com 5-FU.

Amostra	Tamanho de partícula (d. nm)	IPD	Potencial Zeta (mV)
QT/TPF/5-FU	63 (16,2 %) 334 (83,8 %)	0,448 ± 0,008	+28,3 ± 0,2
QT/TPFPEG1450/5-FU	44 (9,3 %) 280 (90,7 %)	0,432 ± 0,011	+27,2 ± 0,3
QT/TPF/PEG3350/5-FU	401 (100 %)	0,213 ± 0,076	+32,3 ± 0,2
QT/TPF/PEG6000/5-FU	259 (100 %)	0,317 ± 0,032	+38,5 ± 0,1

Fonte: dados da pesquisa.

Os sistemas com PEG apresentaram comportamentos diferentes no diâmetro da nanopartícula, quando encapsulado o 5-FU. O sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU apresentou uma pequena diminuição em seu diâmetro, enquanto os outros sistemas apresentaram um aumento no diâmetro. Sun e colaboradores (2017) também observaram um pequeno aumento do tamanho da nanopartícula preparada com quitosana e tripolifosfato no encapsulamento de 5-FU, partindo de 273 nm para 284 nm. Eles prepararam as nanopartículas com proporção QT:TPF em 5:1, e obtiveram eficiência de encapsulamento médio de 43% e capacidade de carreamento variando de 7 a 20 %.

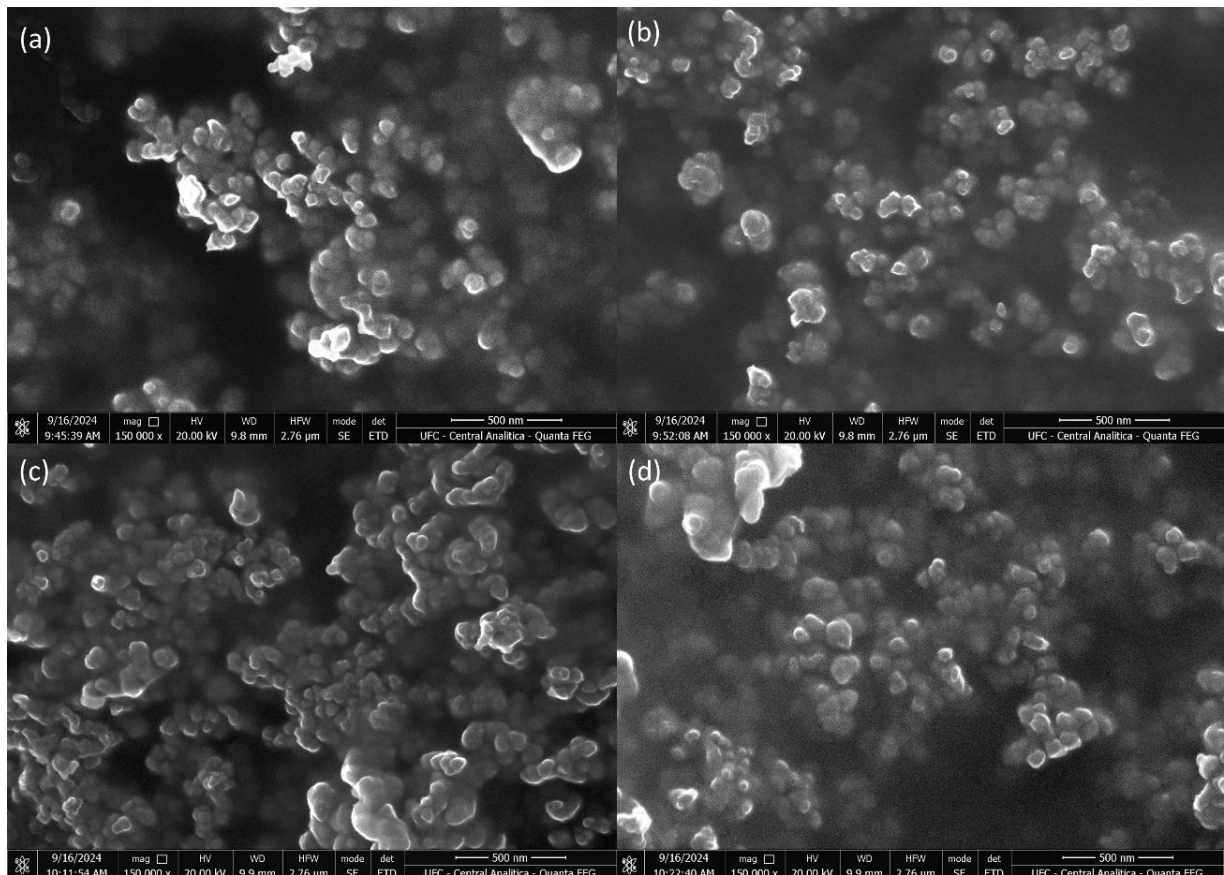
Pode-se notar um aumento nas cargas superficiais das nanopartículas com o fármaco, o que confere uma maior estabilidade às nanopartículas em solução. Todos os sistemas apresentaram carga superficial positiva, que é ideal para aplicação anticâncer, devido a carga negativa da membrana da célula cancerosa (Sethi, Ahmad, & Khan, 2019).

5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os quatro sistemas nanoparticulados, um sem PEG e três com PEG, foram analisados morfológicamente utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 20). Todos os sistemas apresentaram morfologia predominantemente esférica. Uma notável redução na aglomeração das nanopartículas foi observada quando comparados o sistema sem PEG com aqueles contendo PEG, provavelmente sendo atribuído à incorporação do PEG na estrutura das nanopartículas.

O diâmetro das nanopartículas foi medido através das micrografias do MEV, os resultados estão sumarizados na Tabela 13. Os dados mostram que a nanopartícula sem PEG exibiu o maior diâmetro dentre os quatro sistemas analisados, mas a diferença entre o diâmetro das nanopartículas não foi estatisticamente significativa.

Figura 20 - Micrografia das nanopartículas dos sistemas (a) QT/TPF, (b) QT/TPF/PEG1450, (c) QT/TPF/PEG3350 e (d) QT/TPF/PEG6000.



Fonte: dados da pesquisa.

O diâmetro das nanopartículas a partir da Microscopia Eletrônica de Varredura foi estimado através das análises das imagens pelo Software ImageJ, tendo o número de medidas igual a 30 ($n = 30$). Os resultados encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13 - Diâmetro das nanopartículas determinado por MEV.

Sistema	Diâmetro (nm)
QT/TPF	53,8 ± 5,3
QT/TPF/PEG1450	45,6 ± 5,3
QT/TPF/PEG3350	46,5 ± 6,9
QT/TPF/PEG6000	49,7 ± 3,7

Fonte: dados da pesquisa.

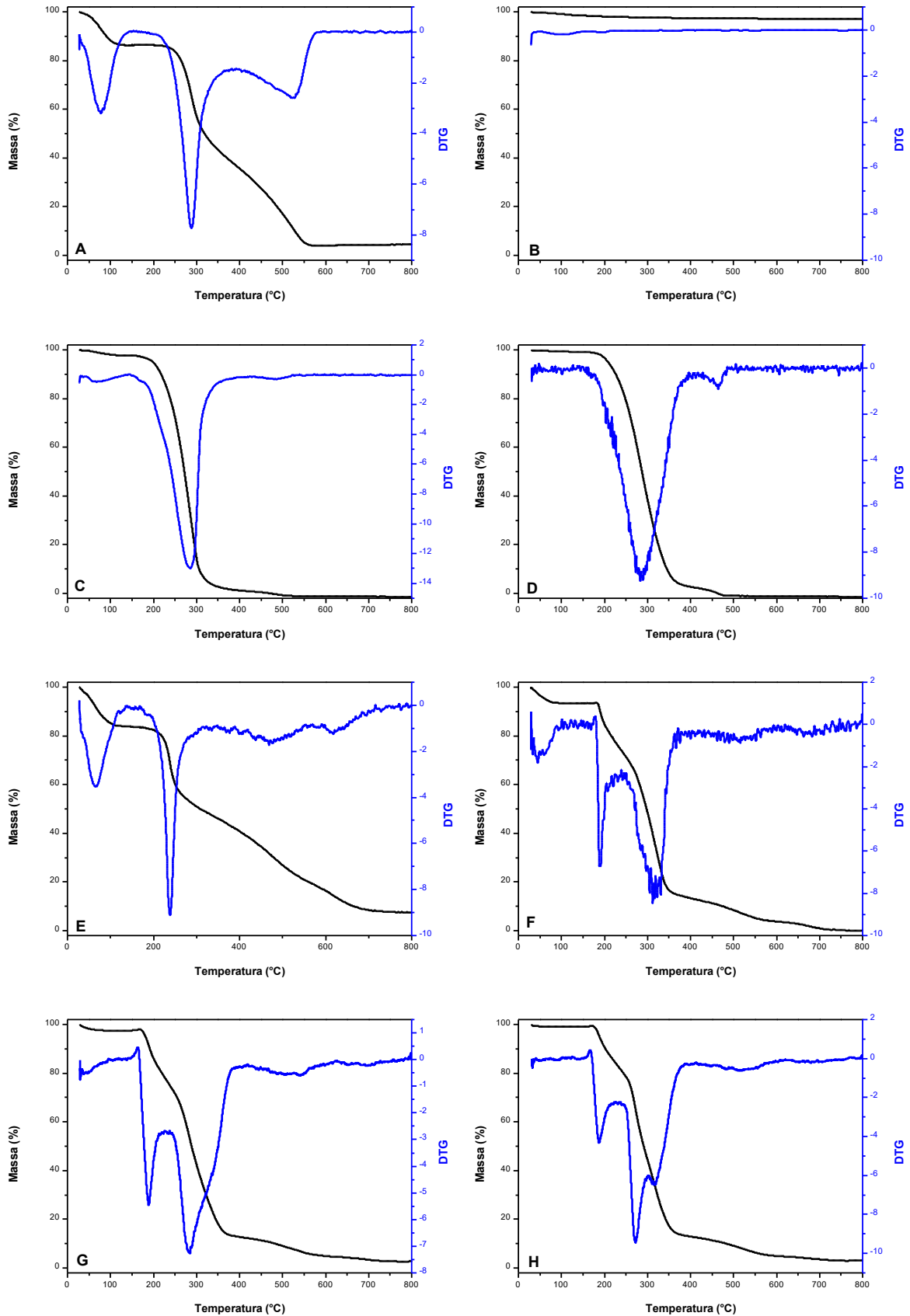
Quando comparados com os diâmetros obtidos via espalhamento dinâmico de luz, os diâmetros obtidos por MEV são menores, como era esperado. Essa diferença surge devido as diferentes metodologias de análise: o espalhamento dinâmico de luz mede o diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas em meio aquoso demonstrando o tamanho da partícula juntamente com qualquer solvatação e moléculas ligada à superfície, enquanto o MEV fornece o diâmetro das partículas secas, excluindo tais efeitos.

5.7 Análise Termogravimétrica

O termograma da quitosana está na Figura 21A, exibindo três eventos característicos de perda de massa. O primeiro evento, ocorre entre 40 - 120 °C, correspondente a evaporação da umidade devido à perda de água. O segundo evento, observado entre 220 - 380 °C, é atribuído a desacetilação e a clivagem das ligações glicosídicas do polissacarídeo. O terceiro evento, ocorrendo entre 400 - 600 °C, é associado a degradação dos anéis piranosídicos e do carbono residual. Os resultados encontrados vão ao encontro aos resultados obtidos por Hao e colaboradores (2017). Quatro eventos distintos de perda de massa foram observados no termograma das nanopartículas sem PEG na faixa de 25 - 800 °C (Figura 21B). Esses eventos são atribuídos principalmente a degradação da quitosana, já que o tripolifosfato não sofre degradação térmica significativa nessa faixa de temperatura.

Os termogramas do PEG com massa molar de 1450, 3350 e 6000 g mol⁻¹ apresentam apenas um evento de perda de massa entre 200 - 400 °C, evento correspondente à decomposição da estrutura do PEG, incluindo as fases semicristalina e amorfas. Os resultados estão alinhados com os reportados por Sandoval-García e colaboradores (2022) e Leelaruedee e colaboradores (2017).

Figura 21 - TG e DTG da QT (A), TPF (B), PEG1450 (C), PEG6000 (D), QT/TPF (E), QT/TPF/PEG1450 (F), QT/TPF/PEG3350 (G) e QT/TPF/PEG6000 (H).



Fonte: dados da pesquisa.

Através da correção da umidade das amostras que foram determinadas pela TGA e normalizando a composição para 100%, a composição das nanopartículas com PEG foram calculadas e estão presentes na Tabela 14 a seguir.

Tabela 12 - Composição normalizada das nanopartículas com PEG.

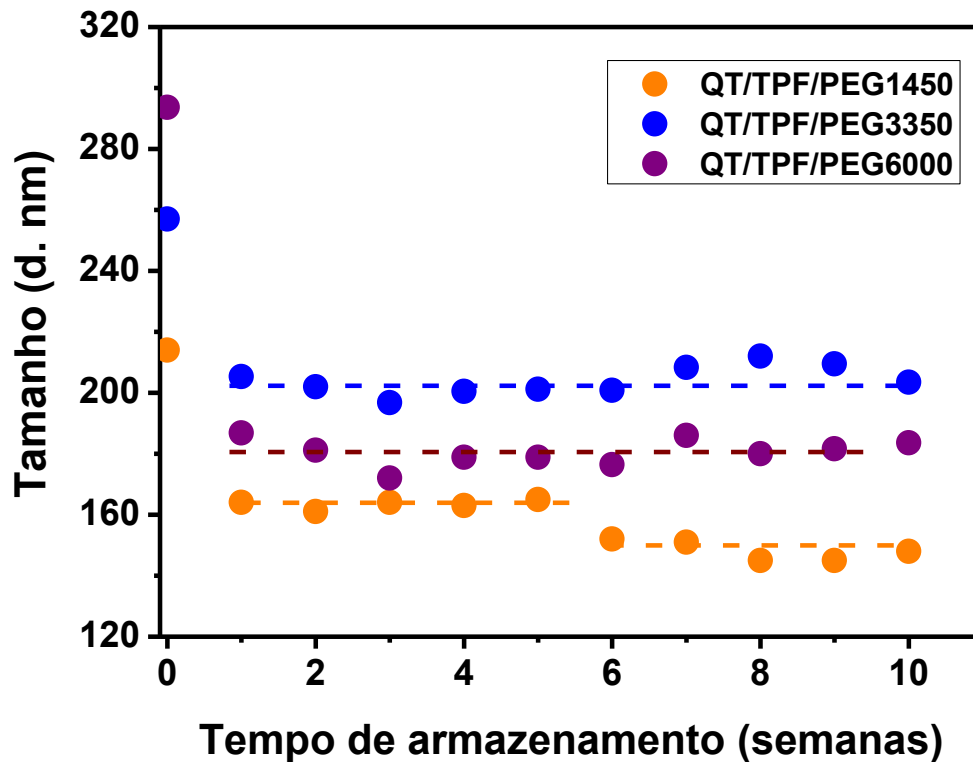
Sistema	Composição (massa %)		
	PEG	QT	TPF
QT/TPF/PEG1450	75	20	5
QT/TPF/PEG3350	80	17	3
QT/TPF/PEG6000	84	14	2

Fonte: dados da pesquisa.

5.8 Estabilidade em solução

A estabilidade das nanopartículas em solução aquosa foi avaliada apenas para os sistemas com PEG em sua composição, pois a nanopartícula sem PEG não apresenta estabilidade em solução. Tsai e colaboradores (2011) estudaram a estabilidade de nanopartículas de quitosana e tripolifosfato, mas não em água, e sim em tampão fosfato (pH 7,4). Todos os sistemas contendo PEG apresentaram comportamento inicial semelhante em solução. O resultado do ensaio encontra-se na Figura 22.

Figura 22 - Estabilidade das nanopartículas com PEG em solução aquosa à 4 °C.



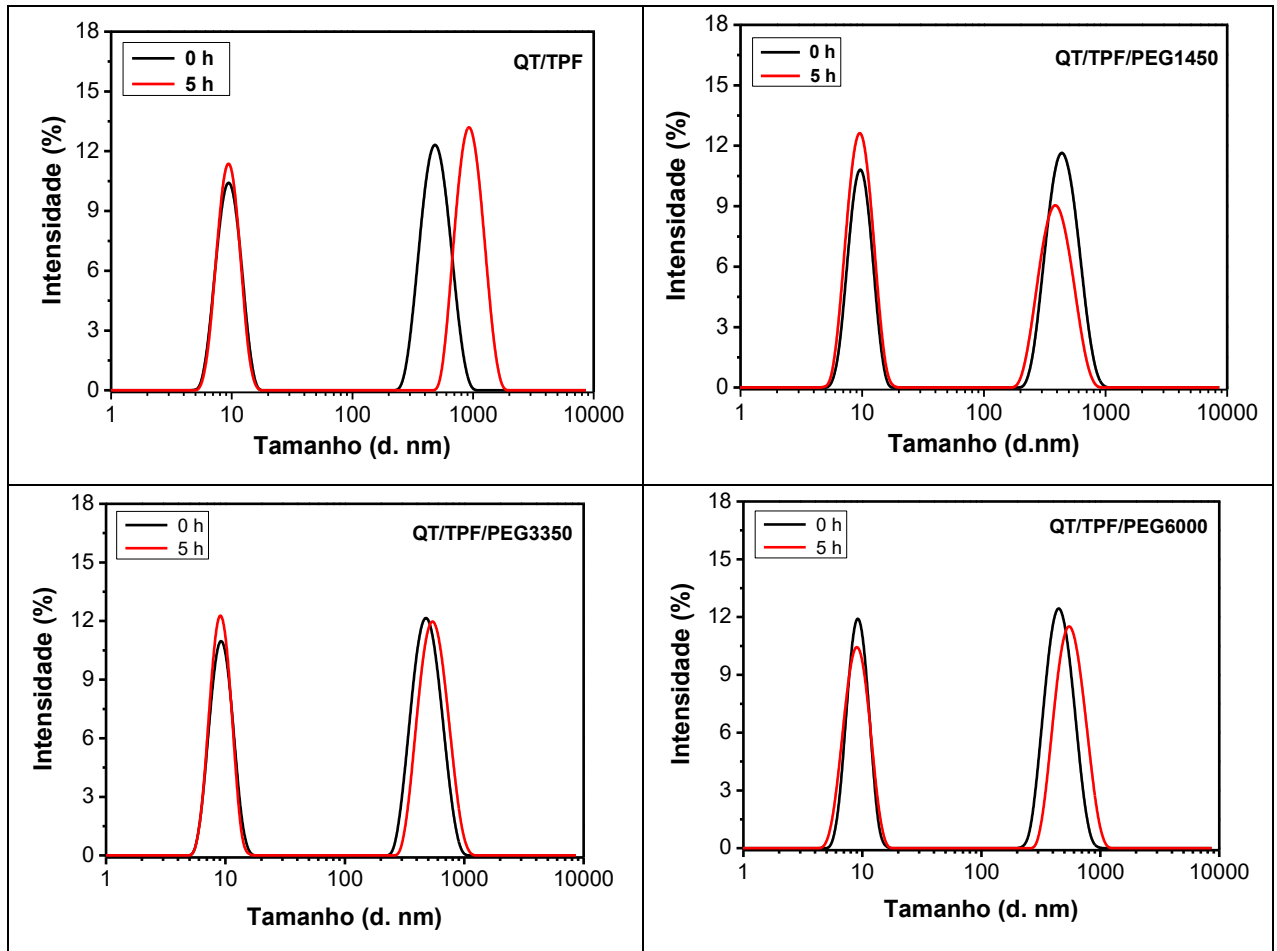
Fonte: dados da pesquisa.

Após uma semana foi observado uma diminuição significativa no diâmetro das nanopartículas, sendo atribuído a provável perda de parte do PEG da estrutura. Da primeira à décima semana o diâmetro dos sistemas de nanopartículas QT/TPF/PEG3350 e QT/TPF/PEG6000 tendeu a se estabilizar. Em contraste, o sistema das nanopartículas QT/TPF/PEG1450 manteve um diâmetro estável entre a segunda e a sexta semana, até apresentarem uma nova redução de diâmetro e se estabilizar nas quatro últimas semanas de ensaio. Este sistema apresenta uma maior porcentagem de PEG em sua estrutura, fazendo com que apresente esse comportamento único. O menor diâmetro sugere que uma parte das moléculas de PEG pode se depositar inicialmente na camada externa da nanopartícula, despreendendo-se gradualmente, levando assim à diminuição observada no tamanho.

5.9 Ensaio de adsorção de BSA

As nanopartículas com e sem PEG foram analisados por Espalhamento Dinâmico de Luz logo após a mistura com BSA e após 5 horas da mistura. As distribuições de tamanho estão destacadas na Figura 23 e o tamanho das nanopartículas estão na Tabela 15.

Figura 23 - A distribuição de tamanho das nanopartículas na presença de ASB para o sistema QT/TPF e os QT/TPF/PEG1450, QT/TPF/PEG3350 e QT/TPF/PEG6000.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 13 - Parâmetros de adsorção de BSA na nanopartícula em tampão fosfato (pH 7,4/ 0,1 mol L⁻¹)

Sistemas	Tamanho (d.nm)		Δ Tamanho (nm)	PEG %	PEG% corona	mol PEG corona/ 100 g NP
	0 h	5 h				
QT/TPF	502	957	+ 455	0	0	0
QT/TPF/PEG1450	459	405	- 54	65	49	$25,5 \times 10^{-3}$
QT/TPF/PEG3350	465	509	+ 46	71	67	$8,1 \times 10^{-3}$
QT/TPF/PEG6000	498	565	+ 67	78	54	$4,0 \times 10^{-3}$

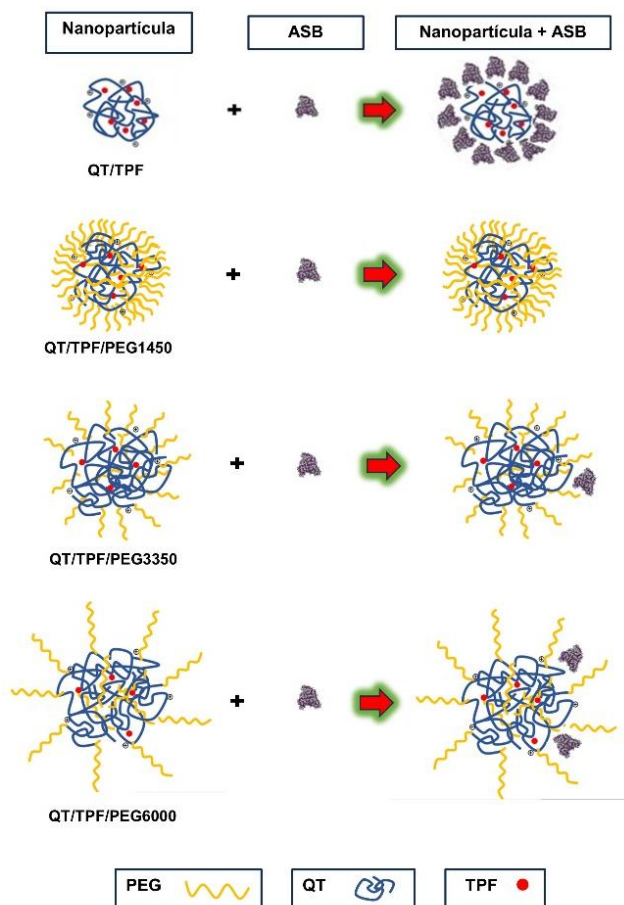
Fonte: dados da pesquisa.

Uma distribuição bimodal foi observada, com tamanho médio do ASB aproximadamente de 10 nm e das nanopartículas aproximadamente 500 nm. A nanopartícula sem PEG apresentou um aumento significativo no tamanho, indicando uma adsorção substancial da proteína. No entanto, as nanopartículas com PEG1450 não apresentaram aumento no tamanho de partícula, confirmando que a adsorção não ocorreu. Já nas nanopartículas com PEG3350 e PEG6000 foi observado um leve aumento no diâmetro, sugerindo uma adsorção mínima de ASB.

O estudo de adsorção de proteínas é essencial para a compreensão de interação entre nanopartículas e proteínas, principalmente no contexto da administração intravenosa. A interação entre proteínas e as nanopartículas pode desencadear uma resposta imunológica mais rápida, levando à uma absorção pelo sistema retículo endotelial, acelerando a sua eliminação do organismo (Suvarna et al., 2018).

A Figura 24 ilustra a interação entre as nanopartículas e o ASB.

Figura 24 - Estrutura proposta para nanopartículas de QT/TPF, QT/TPF/PEG e NP-ASB



Fonte: dados da pesquisa.

As nanopartículas com revestimento de PEG se mostraram menos propensas à adsorção de proteínas, o que pode prolongar o seu tempo de circulação na corrente sanguínea (efeito furtivo). Assim, essa característica torna as nanopartículas com PEG mais vantajosas para aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos.

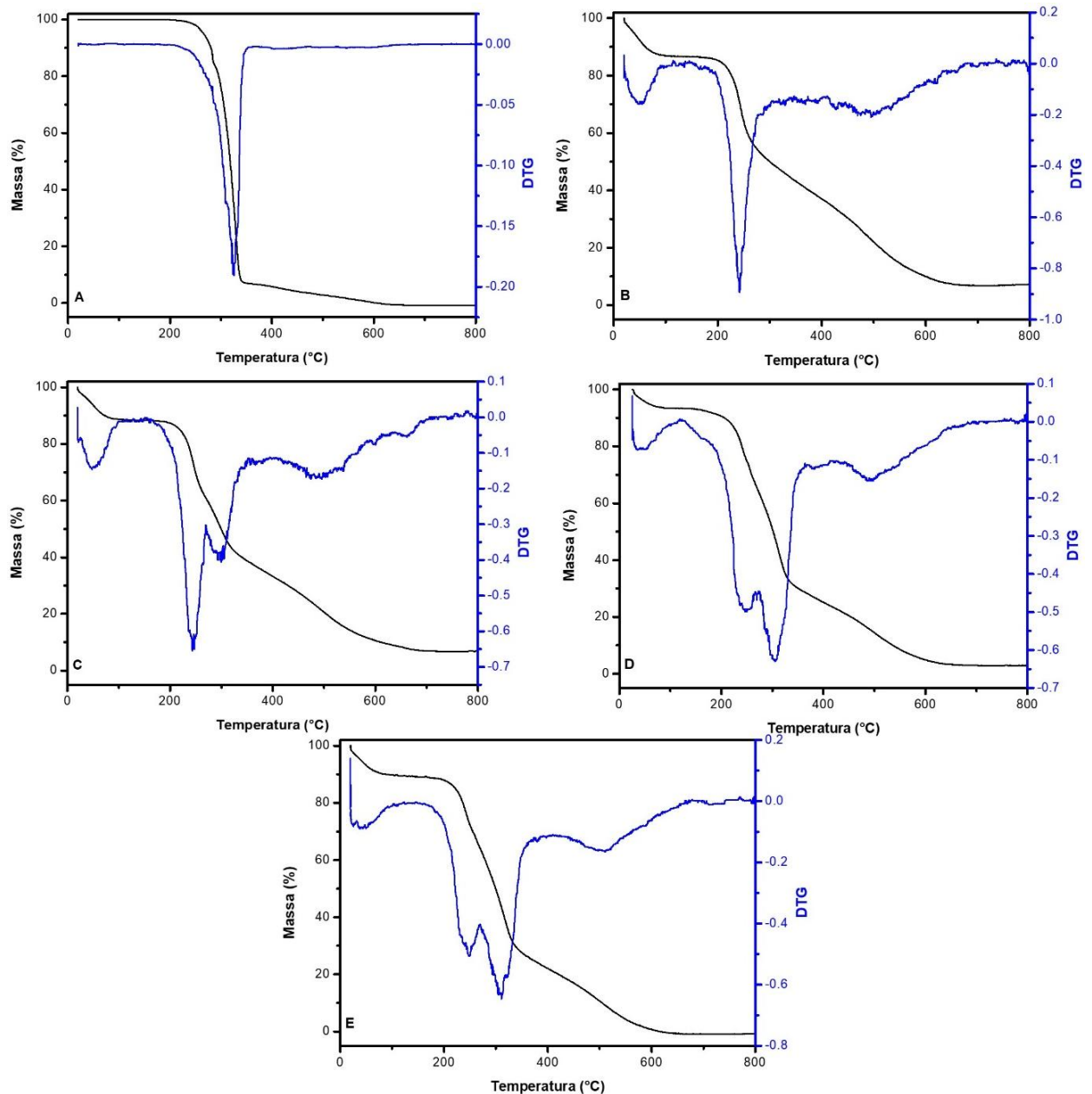
5.10 Caracterização do material encapsulado

A partir das nanopartículas produzidas anteriormente, QT/TPF, QT/TPF/PEG1450, QT/TPF/PEG3350 e QT/TPF/PEG6000, foram obtidas as nanopartículas com 5-FU, sendo denominadas: QT/TPF/5-FU, QT/TPF/PEG1450/5-FU, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU. Todos os sistemas foram analisados quanto a estabilidade térmica, liberação *in vitro*, morfologia e interação com a proteína ASB.

5.10.1 Estabilidade térmica

Os termogramas das nanopartículas com 5-FU fornecem informações importantes como a estabilidade térmica do sistema e um aumento na estabilidade térmica do fármaco encapsulado. O termograma das nanopartículas com 5-FU encontram-se na Figura 25.

Figura 25 - TG e DTG do 5-FU (A), QT/TPF/5-FU (B), QT/TPF/PEG1450/5-FU (C), QT/TPF/PEG3350/5-FU (D), QT/TPF/PEG6000/5-FU (E).



Fonte: dados da pesquisa.

Analisando o TG e DTG do 5-FU (Fig. 24A) observa-se um único evento de degradação com pico em 323 °C. Esse evento de degradação já foi relatado na literatura na mesma região, como o resultado encontrado por Hasanin e colaboradores (2022). Entretanto, quando os termogramas das nanopartículas carregadas com 5-FU são analisados, esse evento de degradação do 5-FU não é bem definido, porém nota-se que ele se estende até aproximadamente 400 °C. Essa degradação mais lenta do 5-FU nas nanopartículas se dá devido à interação entre

o 5-FU e a QT presente na nanopartícula e sua parte encapsulada. Enquanto a porção de 5-FU presente na superfície da nanopartícula se degrada na região próxima ao do 5-FU livre.

Devido a sobreposição dos eventos de degradação entre os componentes das nanopartículas com 5-FU, não foi possível estimar a composição de todos os sistemas. As regiões dos eventos de degradação dos componentes da nanopartícula encontram-se na Tabela 16.

Tabela 14 – Temperatura máxima do evento de decomposição dos componentes da nanopartícula.

Componente	1º Evento	2º Evento	3º Evento
QT	74 °C	288 °C	505 °C
PEG	60 °C	286 °C	
5-FU	325 °C		

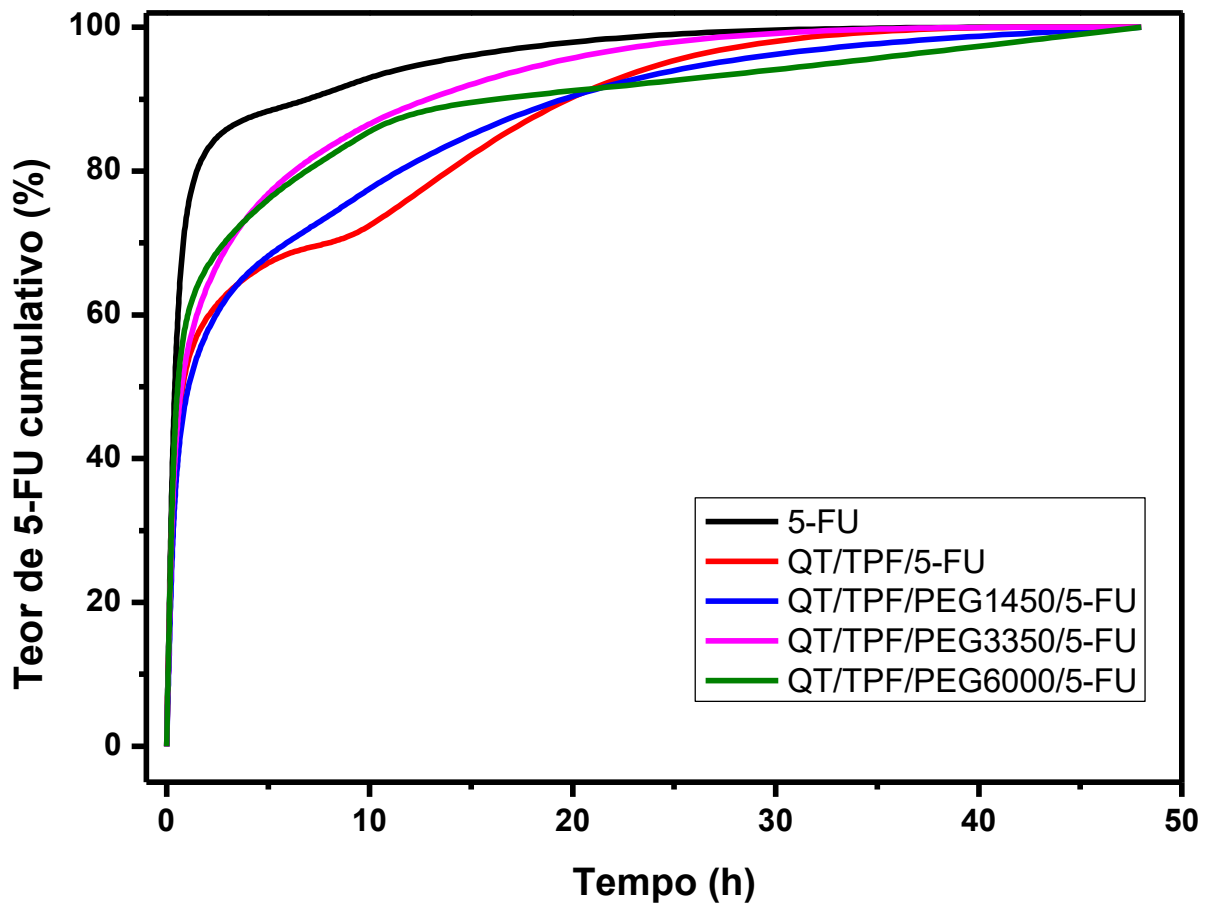
Fonte: dados da pesquisa.

Quando os termogramas das nanopartículas com 5-FU são comparados com os termogramas das respectivas nanopartículas sem o fármaco é possível observar, que numa mesma temperatura, a nanopartícula com fármaco apresenta uma maior massa. O aumento da estabilidade térmica das nanopartículas com a adição de um fármaco na composição já foi relatado na literatura, como mostra os resultados obtidos por Melo e colaboradores (2021) quando produziu nanopartículas à base de quitosana, tripolifosfato e PEG 8000 pela técnica de geleificação iônica, para o encapsulamento de Indol-3-carbinol.

5.10.2 Liberação *in vitro* de 5-FU

A fim de simular a forma de liberação do 5-FU das nanopartículas, realizou-se um estudo de liberação *in vitro* em pH 7,4. Os perfis de liberação dos fármacos encontram-se na Figura 26.

Figura 26 - Perfil de liberação in vitro do 5-FU livre, QT/TPF/5-FU, QT/TPF/PEG1450/5-FU, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4.



Fonte: dados da pesquisa.

Analisando os perfis de liberação, foi possível notar que o 5-FU não encapsulado foi liberado mais rapidamente através da membrana quando comparado com os sistemas nanoparticulados. Este resultado era esperado devido ao fármaco possuir uma baixa massa molar (130 g mol⁻¹), facilitando assim sua passagem através dos poros da membrana. Entretanto, quando observados os perfis de liberação dos fármacos encapsulados, é possível notar uma semelhança entre eles. Todos os sistemas nanoparticulados apresentam um perfil inicial de *burst release*, onde aproximadamente 50% do fármaco encapsulado é liberado na primeira hora de liberação. Isso ocorre devido a presença de fármaco carregado na parte externa da nanopartícula.

Esse grande teor de fármaco carregado na área externa da nanopartícula se deve a metodologia utilizada para o encapsulamento, onde as nanopartículas vazias são dispersas em uma solução concentrada de 5-FU por 24 h, após esse período são centrifugadas e secas por liofilização. Assim, uma parte do fármaco permeia a estrutura da nanopartícula enquanto outra

parte permanece na superfície. Apesar do efeito de *burst release*, essa metodologia mostrou-se positiva, pois foi possível alcançar próximo a 28% de eficiência de encapsulamento e mais de 12% de capacidade de carreamento do fármaco.

Após a primeira hora de liberação, os perfis de liberação das nanopartículas seguem semelhante, apresentando um maior controle de liberação, liberando totalmente o fármaco com 48 h de ensaio *in vitro*. Para que seja possível a análise do mecanismo que ocorre para a liberação do 5-FU de dentro das nanopartículas, foi feito um estudo cinético de liberação utilizando 5 modelos matemáticos a fim de analisar qual modelo mais se adequa ao sistema utilizado no encapsulamento do 5-FU. A liberação *in vitro* dos sistemas foram analisados cineticamente nos seguintes modelos: ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Korsmeyer-Peppas e Zeng. Os resultados da análise cinética como: constante e o coeficiente de correlação (R^2) dos modelos ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Hixson-Crowell encontram-se na Tabela 17. Os gráficos com resultados observados e os previstos pelos modelos encontram-se em Anexo (Apêndice A-D).

Tabela 15 - Constantes de liberação e coeficientes de correlação das equações matemáticas dos modelos: Ordem zero, Primeira ordem, Higuchi e Hixson-Crowell, aplicados a liberação do 5-FU nos sistemas sem PEG e com PEG (1450, 3350 e 6000 g mol⁻¹).

Amostra	Ordem zero		Primeira ordem		Higuchi		Hixson-Crowell	
	R ²	k ₀ (h ⁻¹)	R ²	k ₁ (h ⁻¹)	R ²	k _H (h ^{-1/2})	R ²	k _{HHC} (h ^{-1/3})
QT/TPF 5-FU	0,7132	0,00004	0,5882	0,0075	0,8904	0,0996	0,6333	0,0008
QT/TPF/PEG1450 5-FU	0,5570	0,0001	0,4499	0,0071	0,8000	0,1002	0,4859	0,0010
QT/TPF/PEG3350 5-FU	0,6496	0,0002	0,5006	0,0083	0,8651	0,1072	0,5515	0,0014
QT/TPF/PEG6000 5-FU	0,5620	0,0002	0,4455	0,0061	0,7899	0,0877	0,4842	0,0010

Fonte: dados da pesquisa.

Os modelos cinéticos de Korsmeyer-Peppas e Zeng possuem mais parâmetros a serem analisados, como: o expoente de liberação (n) para o modelo de Korsmeyer-Peppas e as outras constantes do modelo de Zeng (k_{on}, k_{off} e k_s). Os resultados da análise cinética destes modelos encontram-se nas Tabelas 18 e 19, respectivamente.

Tabela 16 - Constantes de liberação e coeficiente de correlação das equações matemáticas do modelo Korsmeyer-Peppas aplicadas à liberação de 5-FU.

Amostra	Korsmeyer-Peppas		
	R ²	k (h ⁻¹)	n
QT/TPF/5-FU	0,9491	0,4937	0,1938
QT/TPF/PEG1450/5-FU	0,9344	0,5151	0,2079
QT/TPF/PEG3350/5-FU	0,9589	0,4543	0,2323
QT/TPF/PEG6000/5-FU	0,9314	0,5502	0,1784

Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 17 - Constantes de liberação e coeficiente de correlação da equação matemática do modelo de Zeng e ΔG aplicadas à liberação de 5-FU.

Amostra	Zeng				
	R ²	k _{on} (h ⁻¹)	k _{off} (h ⁻¹)	k _s (h ⁻¹)	ΔG (10 ⁻²² J)
QT/TPF/5-FU	0,9846	0,0684	0,0738	3,822	3,25
QT/TPF/PEG1450/5-FU	0,9978	0,0798	0,0847	2,728	2,55
QT/TPF/PEG3350/5-FU	0,9981	0,1101	0,1326	3,216	7,95
QT/TPF/PEG6000/5-FU	0,9975	0,0535	0,0899	3,1	22,20

Fonte: dados da pesquisa.

Dentre os 5 modelos cinéticos iniciais utilizados para estudo (ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell e Korsmeyer-Peppas), para todos os sistemas de liberação, o que mais se adequou foi o modelo de Korsmeyer-Peppas. Este modelo cinético é muito completo, pois a partir da análise matemática é possível estimar o mecanismo de liberação a partir do expoente de liberação (n). O modelo de Korsmeyer-Peppas é comumente utilizado a liberação de fármacos de estruturas poliméricas, principalmente quando o mecanismo de liberação não é bem estabelecido em literatura ou quando há mais de um mecanismo de liberação ocorrendo no mesmo sistema (Costa & Lobo, 2001). Todos os sistemas apresentaram coeficiente de correlação (R²) acima de 0,93, o que indica uma boa adequação dos dados de

liberação aos valores previstos em modelo. Os valores do expoente de liberação de todos os sistemas apresentaram valores abaixo de 0,500, o que indica que todos os sistemas realizam a liberação por difusão Fickiana (Korsmeyer et al., 1983).

Analisando individualmente o modelo cinético de Zeng, todos os sistemas apresentaram coeficiente de correlação acima de 0,984. Esse modelo apresenta 3 constantes: k_{on} , k_{off} e k_s . Observando as constantes, nota-se que k_s é muito maior que k_{on} e muito maior que k_{off} . Essa situação em que: $k_s \gg \gg k_{on}$ e $k_s \gg \gg k_{off}$ é bastante comum para sistemas carreadores nanoparticulados. Haroosh e colaboradores (2013 & 2022) prepararam nanopartículas magnéticas de Ferro e membranas de nanofibras, ambos os sistemas para carregamento de tetraciclina e ambos os sistemas apresentaram adequação ao modelo de Zeng, apresentando $k_s \gg \gg k_{on}$ e $k_s \gg \gg k_{off}$ corroborando com os dados encontrados neste trabalho.

Os valores de $\Delta G > 0$ indicam uma fraca interação entre o fármaco e a matriz carreadora (NP), o que justifica a rápida liberação do fármaco de dentro da matriz (100 % em 48 h). O aumento do valor de ΔG com o aumento da cadeia do PEG, indicando que o aumento da cadeia de PEG desfavorece a interação entre o fármaco e a matriz. Esse efeito também pode ser observado com o crescimento relativo de k_{off} em relação a k_{on} entre as nanopartículas com PEG.

O mecanismo de liberação por difusão Fickiana é corroborado também pelo modelo cinético de Higuchi, que apresentou o segundo melhor coeficiente de correlação para os sistemas analisados. O modelo de Higuchi também é baseado na liberação de difusão Fickiana. Este modelo pode ser utilizado para fármacos solúveis ou insolúveis em água incorporadas em matrizes carreadoras que podem ser sólidas ou semissólidas.

Segundo Peppas, (1985) e Masaro e Zhu, (1999) o mecanismo de difusão Fickiana é observado em estruturas poliméricas quando a temperatura da análise está acima da temperatura de transição vítrea (T_g) possibilitando que as cadeias poliméricas apresentem maior mobilidade, permitindo uma maior permeabilidade do solvente. A difusão Fickiana é caracterizada pela taxa de difusão do solvente mais lenta que a taxa de relaxamento do polímero.

Na literatura já foram relatados resultados que corroboram os obtidos neste trabalho. Nagarwal e colaboradores (2012) encapsularam o 5-FU em nanopartículas de quitosana e alginato através de gelificação iônica induzida por cátions bivalentes para o encapsulamento do fármaco 5-FU a ser utilizado por administração ocular. As nanopartículas obtidas pelos pesquisadores apresentaram diâmetro entre 320 e 500 nm, com eficiência de encapsulamento e capacidade de carregamento nas faixas de 6,0 – 27% e 2,5 – 19%, respectivamente. Eles obtiveram resultados de análise cinética onde o modelo mais adequado

aos resultados obtidos foi o de Higuchi, que também indica o mecanismo de difusão Fickiana. Quando analisados por Korsmeyer-Peppas, foram obtidos valores de expoente de liberação entre 0,399-0,498, também indicando um mecanismo de difusão Fickiana.

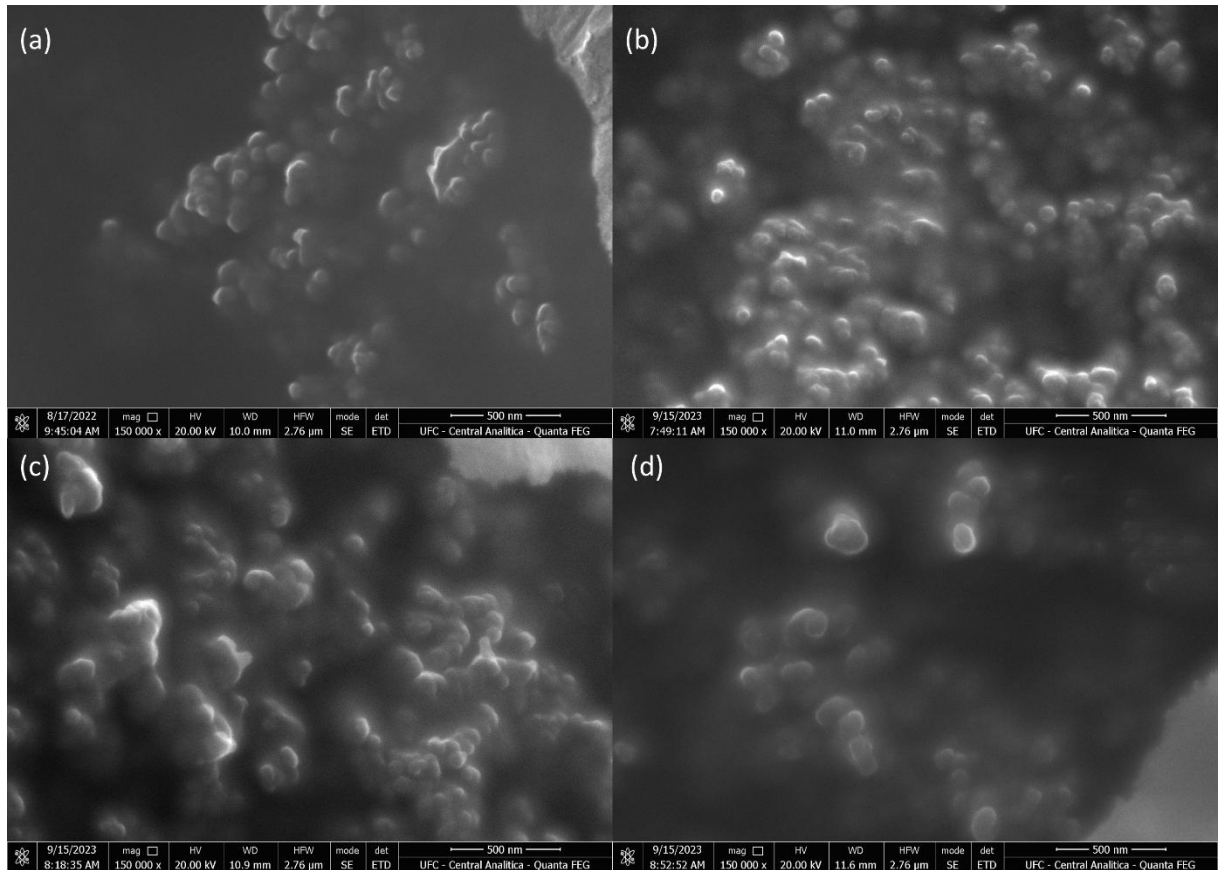
Tian e colaboradores (2025) produziram nanopartículas a partir de quitosana, alginato e cloreto de cálcio para encapsulamento de 5-FU, objetivando a aplicação quimioterápica frente ao câncer colorretal. A proporção utilizada para a produção das nanopartículas foi de 6:6:1 (quitosana:alginato:cloreto de cálcio), o diâmetro das nanopartículas permaneceu na faixa de 200 – 330 nm com eficiência de encapsulamento e capacidade de carregamento de 34,4 % e 11,8%, respectivamente. A liberação *in vitro*, realizada em pH 7,8, apresentou maior correlação com os modelos de Ritger-Peppas que é uma adaptação do modelo cinético de Korsmeyer-Peppas, o coeficiente de correlação obtido apresentou média de 0,950, e valores de expoente de liberação abaixo de 0,500, indicando a predominância do mecanismo de liberação por difusão Fickiana.

O 5-FU apresenta tendência de liberação pelo mecanismo de liberação de difusão Fickiana devido à sua baixa massa molar ($130,1 \text{ g mol}^{-1}$), que favorece sua rápida difusão por meio das cadeias poliméricas estruturais da matriz carreadora durante o movimento de relaxação das cadeias.

5.10.3 Análise morfológica das nanopartículas

Os quatro sistemas nanoparticulados, todos com 5-FU, foram analisados morfológicamente utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 27). Todos os sistemas apresentaram morfologia predominantemente esférica. Uma redução na aglomeração das nanopartículas foi observada quando comparado o sistema sem PEG com aqueles contendo PEG, provavelmente sendo atribuído à incorporação do PEG na estrutura das nanopartículas.

Figura 27 - Micrografia das nanopartículas dos sistemas (a) QT/TPF/5-FU, (b) QT/TPF/PEG1450/5-FU, (c) QT/TPF/PEG3350/5-FU e (d) QT/TPF/PEG6000/5-FU.



Fonte: dados da pesquisa.

O diâmetro das nanopartículas a partir da Microscopia Eletrônica de Varredura foi estimado através das análises das imagens pelo Software ImageJ, tendo o número de medidas igual a 30 ($n = 30$). Os resultados encontram-se na Tabela 20.

Tabela 20 – Tamanho das nanopartículas com 5-FU analisadas por MEV.

Sistema	Diâmetro (nm)
QT/TPF/5-FU	$61,3 \pm 6,8$
QT/TPF/PEG1450/5-FU	$47,5 \pm 5,4$
QT/TPF/PEG3350/5-FU	$51,8 \pm 5,1$
QT/TPF/PEG6000/5-FU	$53,8 \pm 4,0$

Fonte: dados da pesquisa.

As nanopartículas apresentaram um menor diâmetro quando comparados com os valores obtidos por espalhamento dinâmico de luz, resultado já esperado devido a diferença na natureza da análise, onde a microscopia eletrônica de varredura é realizada com a amostra seca, enquanto o espalhamento dinâmico de luz é realizado em meio aquoso, medindo assim o raio hidrodinâmico das nanopartículas.

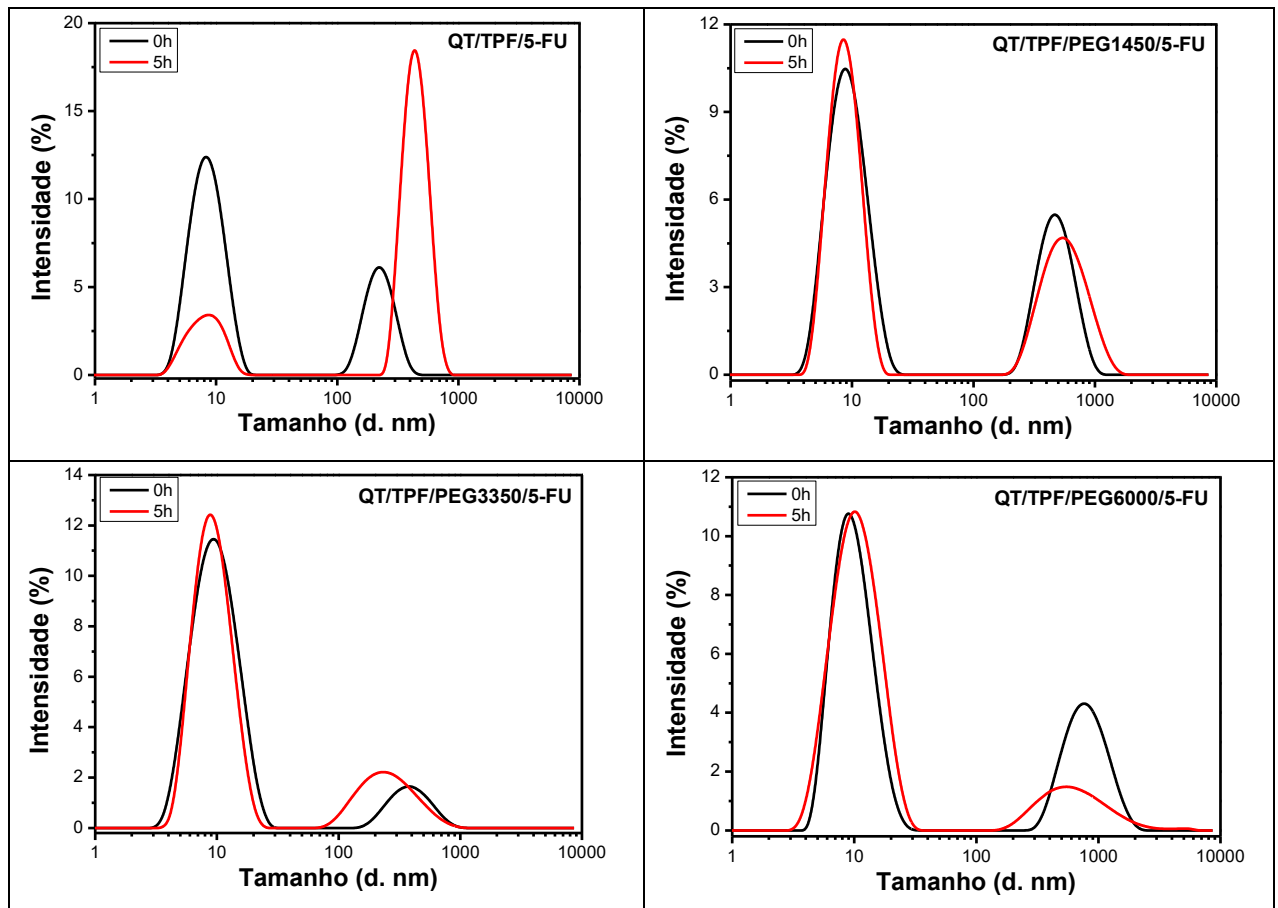
Quando comparados os valores dos diâmetros obtidos entre as nanopartículas com 5-FU e sem 5-FU, é possível notar a permanência da tendência observada nas nanopartículas sem o fármaco encapsulado, onde a nanopartícula sem PEG tende a apresentar um maior diâmetro. As nanopartículas com PEG apresentam um aumento do diâmetro com massa molar do PEG.

Quando comparados os sistemas com 5-FU com os respectivos sistemas sem fármaco, é possível observar um aumento do diâmetro das nanopartículas associado à presença de fármaco na estrutura. Apesar de haver uma perda de PEG nas nanopartículas com 5-FU, o acréscimo do fármaco na composição favorece a um aumento dos respectivos diâmetros. Kamaraj e colaboradores (2018) observaram esse efeito do aumento do diâmetro das nanopartículas em MEV com o encapsulamento de curcumina em nanopartículas de quitosana e vanilina.

5.10.4 Ensaio de interação com proteína

As nanopartículas com 5-FU também foram avaliadas quanto a interação com a proteína modelo (Albumina do Soro Bovino) e analisados por EDL. Os resultados de distribuição de tamanho encontram-se na Figura 28 e os valores de diâmetros encontram-se na Tabela 21.

Figura 18 - Distribuição de tamanho das nanopartículas na presença de ASB para o sistema sem PEG e com os PEG1450, PEG3350 e PEG6000, todos os sistemas com 5-FU.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 21 - Parâmetros de adsorção de ASB na nanopartícula com 5-FU.

Sistema	Tamanho (d. nm)		Δ Tamanho (nm)	% PEG
	0 h	5 h		
QT/TPF/5-FU	229	451	+222	0
QT/TPF/PEG1450/5-FU	494	601	+107	16
QT/TPF/PEG3350/5-FU	405	280	-125	25
QT/TPF/PEG6000/5-FU	833	741	-92	36

Fonte: dados da pesquisa.

Analisando os resultados, é possível observar que a nanopartícula sem PEG, mesmo com 5-FU, continua adsorvendo uma quantidade considerável de proteína. Observando o

diâmetro do sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU, há um aumento no diâmetro, indicando a adsorção da proteína, entretanto numa quantidade menor que o sistema sem PEG. Isso ocorre devido à diminuição no teor de PEG presente na nanopartícula, quando comparado com o sistema sem 5-FU. A diminuição do teor de 65% para 16% ocasionou uma diminuição do efeito furtivo da nanopartícula. Já os sistemas QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU não apresentaram indícios de adsorção de proteína.

5.10.5 Ensaio de citotoxicidade

Os dados foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism versão 8.0. Os valores das absorbâncias foram transformados em porcentagem de inibição, baseado na média da absorbância do controle negativo. A concentração inibitória média capaz de provocar 50% do efeito máximo (CI_{50}) com os respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foi obtida por regressão não linear.

Todas os sistemas, com exceção das nanopartículas sem 5-FU: QT/TPF, QT/TPF/PEG1450, QT/TPF/PEG3350 e QT/TPF/PEG6000, apresentaram efeitos citotóxicos nas três linhagens testadas, com valores de CI_{50} variando de 20,2 a 198,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O controle positivo apresentou valores de CI_{50} de 4,8 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em HCT-116, L929 e MDA-MB-231, respectivamente. As amostras QT/TPF/5-FU, QT/TPF/PEG1450/5-FU, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU demonstraram um perfil de seletividade quando comparado ao 5-FU. Em se tratando de citotoxicidade nas linhagens de células tumorais a linhagem HCT-116 mostrou valores de CI_{50} menores quando comparado a linhagem MDA-MB-231.

A avaliação da atividade citotóxica das nanopartículas frente as linhagens HCT-116, MDA-MB-231 e L929 encontram-se na Tabela 22.

Os dados de viabilidade celular encontram-se em Anexo (Apêndice E-M).

Tabela 22 - Avaliação da atividade citotóxica das nanopartículas frente às linhagens HCT-116, MDA-MB-231 e L929, após 72 horas de incubação determinado pelo método MTT.

AMOSTRAS	CI ₅₀ µg mL ⁻¹		
	Intervalo de confiança de 95%		
	Linhagens		
	HCT-116	L929	MDA-MB-231
5-FU	4,0	4,8	91,0
	(3,9 - 5,0)	(3,6-5,9)	(79,9 - 98,2)
QT/TPF/5-FU	21,9	25,2	>500
	(17,3 - 28,1)	(19,1 - 32,4)	
QT/TPF	>500	>500	>500
QT/TPF/PEG1450/ 5-FU	24,4	39,6	198,7
	(17,9 - 32,7)	(31,7-49,6)	(188,2- 213,2)
QT/TPF/PEG1450	>500	>500	>500
QT/TPF/PEG3350/ 5-FU	20,2	26,2	>500
	(16,9 - 24,3)	(16,9 - 37,7)	
QT/TPF/PEG3350	>500	>500	>500
QT/TPF/PEG6000/ 5-FU	26,7	26,7	>500
	(18,0 - 33,3)	(20,8 - 34,1)	
QT/TPF/PEG6000	>500	>500	>500

Os valores de CI₅₀ estão apresentados em µg mL⁻¹ e foram calculados a partir de regressão não linear utilizando o programa GraphPad Prism Software versão 8.0.

Fonte: dados da pesquisa.

Os resultados mostraram que a linhagem de cólon respondeu ao efeito citotóxico do 5-FU livre com uma CI₅₀ 4,8 µg mL⁻¹. Este resultado está em consonância com os relatos da literatura, onde é possível observar que a CI₅₀ calculada de 5-FU após 4 dias de exposição a HCT-116 foi 0,193 µg mL⁻¹ (Kamran et al., 2022; Tawfik et al., 2017). Estas observações indicam que o efeito citotóxico do 5-FU é mais dependente da exposição prolongada às células do que da disponibilidade de concentração mais elevada com exposição celular curta.

O 5-FU, um análogo da piramida que interfere na síntese do timidilato, possui amplo espectro de efeito frente a tumores sólidos. As limitações são meia-vida biológica curta devido ao metabolismo rápido, absorção oral incompleta e não uniforme devido ao metabolismo rápido pela di-hidropirimidina desidrogenase e ação não seletiva contra células saudáveis (Li, Wang, Jiang, & Guan, 2008). Assim, observamos uma baixa CI₅₀ em L929, o que vai de encontro ao relatado na literatura, onde o 5-FU diminui a viabilidade em células não tumorais e apresenta

baixa seletividade. O encapsulamento do 5-FU reduziu a atividade citotóxica, entretanto melhorou a seletividade em L929.

O 5-FU é amplamente utilizado no tratamento de muitos tipos de câncer, incluindo câncer de mama (Sreekanth et al., 2011). Ele inibe o crescimento de células cancerígenas e inicia a apoptose visando a timidilato sintase (TS), uma enzima crucial para a síntese de DNA, e induzindo quebras de fita de DNA e RNA por incorporação direta de nucleotídeos fluorados (Vinod, Maliekal, & Anto, 2013). Estudos *in vitro* e *in vivo* estabeleceram uma forte associação entre o aumento da expressão de TS e o desenvolvimento de quimiorresistência ao 5-FU. Múltiplas investigações clínicas mostraram uma resposta melhorada à terapia baseada em 5-FU em pacientes com baixa expressão de TS nos tecidos tumorais (Chu et al., 2003).

Curiosamente, a linhagem MDA-MB-231 apresenta um perfil de resistência ao 5-FU devido aos níveis de expressão de TS. Estudos relatam que o 5-FU não apresenta efeito citotóxico em MDA-MB-231 em concentrações abaixo de $26,02 \mu\text{g mL}^{-1}$, por exemplo. Roshanazadeh e colaboradores (2021) testaram o 5-FU livre com concentrações variando entre $0,195$ e $208,12 \mu\text{g mL}^{-1}$ e demonstraram que este quimioterápico não apresenta efeito significativo na inibição do crescimento de MDA-MB-231.

Os valores apresentados na Tabela 22 são relativos à massa geral do material. Entretanto, quando analisamos as massas das nanopartículas com 5-FU utilizadas em relação a sua capacidade de carregamento, é possível corrigir os valores das massas para as massas de 5-FU presentes nas nanopartículas. Assim é possível avaliar o efeito do fármaco encapsulado. Os dados corrigidos pela massa de 5-FU presente encontram-se na Tabela 23.

Tabela 23 - Avaliação da atividade citotóxica das nanopartículas frente às linhagens HCT-116, MDA-MB-231 e L929, após 72 horas de incubação determinado pelo método MTT em relação à massa de 5-FU.

AMOSTRAS	CI ₅₀ µg mL ⁻¹		
	Intervalo de confiança de 95%		
	Linhagens		
	HCT-116	L929	MDA-MB-231
5-FU	4,0	4,8	91,0
	(3,9 - 5,0)	(3,6 - 5,9)	(79,9 - 98,2)
QT/TPF/5-FU	1,9	2,2	>500
	(1,5 - 2,5)	(1,7 - 2,9)	
QT/TPF	>500	>500	>500
QT/TPF/PEG1450/5 FU	3,0	4,8	24,2
	(2,2 - 4,0)	(3,9-6,1)	(23,0- 26,0)
QT/TPF/PEG1450	>500	>500	>500
QT/TPF/PEG3350/5-FU	1,7	2,2	>500
	(1,4 - 2,0)	(1,4 - 3,2)	
QT/TPF/PEG3350	>500	>500	>500
QT/TPF/PEG6000/5-FU	2,6	2,6	>500
	(1,8 - 3,2)	(2,0 - 3,3)	
QT/TPF/PEG6000	>500	>500	>500

Os valores de CI₅₀ estão apresentados em µg mL⁻¹ e foram calculados a partir de regressão não linear utilizando o programa GraphPad Prism Software versão 8.0.

Fonte: dados da pesquisa.

Quando observados os valores de CI₅₀ em relação à massa do 5-FU presente nas nanopartículas, é possível notar que o 5-FU encapsulado apresentou um efeito potencializado frente à quase todas as linhagens avaliadas (HCT-116, L929. Apenas o sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU apresentou uma potencialização frente à MDA-MB-231. O sistema QT/TPF/5-FU se mostrou duas vezes mais eficaz frente à linhagem HCT-116 (células de câncer colorretal humano), entretanto também mostrou um aumento na toxicidade frente à linhagem L929 (células de fibroblastos de camundongo), o que não é desejável devido à não seletividade do sistema. Quando observado o efeito frente à linhagem MDA-MB-231 (células de câncer de mama) há uma diminuição do efeito do fármaco, praticamente uma nulidade do seu efeito quimioterápico.

No sistema QT/TPF/PEG1450/5-FU é possível notar um aumento da toxicidade frente à linhagem HCT-116, indicando um aumento da atividade quimioterápica (aumento de

aproximadamente 33%), um aumento de toxicidade também é notado na atividade frente à linhagem MDA-MB-231 (mais que 3 vezes mais eficiente). Frente a linhagem de células L929 praticamente não foi apresentada variação na citotoxicidade, indicando um aumento da seletividade do sistema frente às linhagens cancerosas.

Os outros dois sistemas nanoparticulados, QT/TPF/PEG3350/5-FU e QT/TPF/PEG6000/5-FU também apresentaram uma potencialização frente às linhagens HCT-116 e L929, mas não apresentaram efeito frente à linhagem MDA-MB-231. Apesar das nanopartículas sem fármaco não apresentarem citotoxicidade frente às linhagens avaliadas, foi notado um aumento da efetividade do 5-FU quando encapsulado, comparando com o quimioterápico livre. Esse aumento da efetividade do fármaco pode ser justificado pelo processo de liberação controlada, o que faz com que o fármaco possa ter um maior tempo de ação, já que em sua forma livre, seu tempo de meia vida é muito curto, diminuindo assim as possibilidades de sua ação.

Na literatura já foram relatados efeitos semelhantes com encapsulamento de fármaco em nanopartículas. Osman e colaboradores (2020) desenvolveram nanopartículas lipídicas à base de gelatina para encapsulamento de 5-FU, os resultados mostraram que o 5-FU encapsulado apresentou uma eficiência muito maior que o 5-FU bruto frente as células de linhagem HCT-116, com IC_{50} de $1,65 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,78 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o 5-FU bruto e o 5-FU encapsulado, respectivamente. Smith e colaboradores (2020) também obtiveram resultados semelhantes quando encapsularam 5-FU em nanopartículas lipídicas PEGladas e avaliaram sua eficácia frente a células de linhagem HCT-116, com IC_{50} de $2,30 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,96 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o 5-FU livre e o 5-FU encapsulado, respectivamente. Mostra-se, assim, um aumento na eficiência do fármaco quando encapsulado em nanocarreadores.

6 CONCLUSÃO

A produção de nanopartículas foi realizada com sucesso, obtendo-se 4 sistemas diferentes de encapsulamento, onde um deles foi produzido apenas com QT e TPF (QT/TPF), e os outros três sistemas foram produzidos com QT, TPF e PEG, onde foi avaliado o efeito da massa molar do PEG, variando entre 1450, 3350 e 6000 g mol⁻¹. O rendimento de obtenção das nanopartículas variou de 33% a 45%, com teor de PEG variando de 41 a 72%. Todos os sistemas foram utilizados para encapsular o fármaco 5-FU. O rendimento da obtenção das nanopartículas variou de 19 a 63%, com menor teor de PEG do que em seus respectivos sistemas sem fármaco. A eficiência de encapsulamento permaneceu entre 9 e 28%. Os resultados mostraram que uma maior cadeia de PEG ocasionou uma menor eficiência de encapsulamento. Quanto à liberação *in vitro* dos sistemas, foi possível notar uma semelhança entre os perfis de liberação dos 4 sistemas nanoparticulados, onde a análise da cinética de liberação sugeriu o mecanismo de difusão do 5-FU. No ensaio de interação com a proteína, os sistemas com PEG apresentaram menor interação com a proteína ASB, enquanto a nanopartícula sem PEG interagiu com a ASB, assim mostrando a tendência do PEG na obtenção de um maior tempo de circulação visando uma aplicação intravenosa. O ensaio de citotoxicidade mostrou que o efeito do 5-FU é potencializado quando encapsulado, devido à sua liberação controlada, com os sistemas QT/TPF/PEG1450/5-FU e QT/TPF/PEG3350/5-FU apresentando o melhor resultado de viabilidade celular para futuras aplicações. Assim, os sistemas com PEG se mostraram promissores para o encapsulamento de 5-FU, com capacidade de carreamento considerável, e um perfil de liberação controlado. Quanto à aplicação frente as linhagens celulares HCT-116 e MDA-MB-231, os sistemas QT/TPF/PEG1450/5-FU e QT/TPF/PEG3350/5-FU apresentaram efeito potencializado, juntamente com uma baixa interação com o ASB, o que torna os dois sistemas favoráveis para aplicações futuras.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, H. S.; YADAV, P. N. Anticancer Activity of Chitosan, Chitosan Derivatives, and Their Mechanism of Action. **International Journal of Biomaterials**. [s.l.], v. 2952085, p. 1-29, 2018.
- AGRAWAL, P.; ROTOW, J.; ROCCO, G.; TRAVIS, W.; ORTIZ, E.; SCALABRINO, R.; LoPICCOLO, J.; FACCHINETTI, F.; KRIS, M. G.; YU, H. A.; JONES, D.; CHAFT, J. E. Outcomes with neoadjuvant osimertinib and/or chemotherapy in patients with EGFR-mutant resectable non-small cell lung cancers. **Lung Cancer**. [s.l.], v. 209, p. 108795, 2025.
- ALKHADER, E.; BILLA, N.; ROBERTS, C. J. Mucoadhesive Chitosan-Pectinate Nanoparticles for the Delivery of Curcumin to the Colon. **AAPS PharmSciTech**, [s.l.], v. 18(4): p. 1009–1018, 2017.
- AL-SMADI, K.; IMRAN, M.; ABDOH, A.; LIU, D.; PHAN, K.; ANDREO FILHO, N.; LEITE-SILVA, V. R.; MOHAMMED, Y. Vitamin D-loaded lipid nanoparticles: antioxidant Properties, preparation, optimization, and in vitro characterization. **Drug Delivery and Translational Research**. [s.l.], v. 15, p. 4338-4366, 2025.
- AMIN, M.; HUANG, W.; SEYNHAEVE, A. L. B.; TEN HAGEN, T. L. M. Hyperthermia and temperature-sensitive nanomaterials for spatiotemporal drug delivery to solid tumors. **Pharmaceutics**. [s.l.], v. 12, p. 1007, 2020.
- ARENARE, L.; DI LIELLO, R.; DE CLÁCIDO, P.; GRIDELLI, C.; MORABITO, A.; PIGNATA, S.; NUZZO, F.; AVALLONE, A.; MAIELLO, E.; GARGIULO, P.; SCHETTINO, C.; GRAVINA, A.; GALLO, C.; CHIODINI, P.; DI MAIO, M.; PERRONE, F.; PICCIRILLO, M. C. Under-reporting of subjective symptoms and its prognostic value: a pooled analysis of 12 cancer clinical trials. **ESMO open**. [s.l.], v. 9(3), p. 102941, 2024.
- BAILLY, C. Potential use of edaravone to reduce specific side effects of chemo-, radio- and immuno-therapy of cancers. **International Immunopharmacology**, [s.l.], v. 77: p. 105967, 2019.
- BAKSHIAN NIK, A.; ZARE, H.; RAZAVI, S.; MOHAMMADI, H.; TORAB AHMADI, P.; YAZDANI, N.; BAYANDORI, M.; RABIEE, N.; IZADI MOBARAKEH, J. Smart drug delivery: Capping strategies for mesoporous silica nanoparticles. **Microporous and Mesoporous Materials**, [s.l.], v. 299: p. 110115, 2020.
- BARIK, M.; BHAGYARAJ, G. V. S.; DASH, K. K.; SHAMS, R. A thorough evaluation of chitosan-based packaging film and coating for food product shelf-life extension. **Journal of Agriculture and Food Research**, [s.l.], v. 16, 2024.

BEHL, A.; SOLANKI, S.; PASWAN, S. K.; DATTA, T. K.; SAINI, A. K.; SAINI, R. V.; PARMAR, V. S.; THAKUR, V. K.; MALHOTRA, S.; CHHILLAR, A. K. Biodegradable PEG-PCL nanoparticles for Co-delivery of MUC1 inhibitor and doxorubicin for the confinement of triple-negative breast cancer. **Journal of Polymers and the Environment**, [s.l.], v. 31, p. 999-1018, 2023.

BENITO-MIGUEL, M.; BLANCO, M. D.; GÓMEZ, C. Assessment of sequential combination of 5-fluorouracil-loaded-chitosan-nanoparticles and ALA-photodynamic therapy on HeLa cell line. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [s.l.], v. 12(3): p. 466–475, 2015.

BERRIDGE, M.; TAN, A.; MCCOY, K.; WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays That Use Tetrazolium Salts. **Biochemical**, [s.l.], v. 4(1): p. 14–19, 1996.

BHOWMIK, S.; AGYEI, D.; ALI, A. Biodegradable chitosan hydrogel film incorporated with polyvinyl alcohol, chitooligosaccharides, and gallic acid for potential application in food packaging. **Cellulose**, [s.l.], v. 31, p. 8087-8103, 2024.

CAMPOS, L. A. A.; SILVA NETO, A. F.; NORONHA, M. C. S.; LIMA, M. F.; CAVALCANTI, I. M. F.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Zein nanoparticles for drug delivery: Preparation methods and biological applications. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 635, p. 122754, 2023.

CARNEIRO, M. J. M.; PAULA, C. B. A.; RIBEIRO, I. S.; GOMES, R. F.; SOUZA, J. M. T.; MARINHO FILHO, J. D. B.; ARAÚJO, A. J.; FREIRE, R. S.; SOUSA, J. S.; COSTA FILHO, R. N.; FEITOSA, J. P. A.; DE PAULA, R. C. M. Dextran-based nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and curcumin in chemo-photodynamic cancer therapy. **Journal of Molecular Liquids**, [s.l.], v. 437, p. 128574, 2025.

CHARGARI, C.; DUCASSOU, A.; LEBLANC, J.; LUCIA, F.; PETIT, A.; FLANDIN, I.; CORDOBA, A.; LAFOND, C.; RENARD, S.; ESCANDE, A. Radiotherapy for endometrial cancer: 2025 update. **Radiothérapie**. [s.l.], v. 29, p. 104752, 2025.

CHAUHAN, N.; DILBAGHI, N.; GOPAL, M.; KUMAR, R.; KIM, K. H.; KUMAR, S. Development of chitosan nanocapsules for the controlled release of hexaconazole. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 97, p. 616–624, 2017.

CHEN, E. M.; QUIJANO, A. R.; SEO, Y.; JACKSON, C.; JOSOWITZ, A. D.; NOORBAKSH, S.; MERLETTINI, A.; SUNDARAM, R. K.; LETIZIA, M.; JIANG, Z.; BINDRA, R. S.; SALTZMAN, W. M. a. Biomaterials nanoparticles for enhanced and sustained drug delivery to treat brain tumors. **Biomaterials**, [s.l.], v. 178, p. 193–203, 2018.

CHEN, J.; CAO, L.; CUI, Y.; TU, K.; WANG, H.; WANG, L. Q. b. The exploration of endocytic mechanisms of PLA-PEG nanoparticles prepared by coaxialtri-capillary electrospray-template removal method. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 161, p. 10–17, 2018.

CHEN, Y.; CHEN, C.; ZHANG, X.; HE, C.; ZHAO, P.; LI, M.; FAN, T.; YAN, R.; LU, Y.; LEE, R. J.; KHAN, M. W.; SARFRAZ, M.; MA, X.; YANG, T.; XIANG, G. Platinum complexes of curcumin delivered by dual-responsive polymeric nanoparticles improve chemotherapeutic efficacy based on the enhanced anti-metastasis activity and reduce side effects. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [s.l.], v. 10 (6), p. 1106-1121, 2019.

CHERALAYIKKAL, S.; MANOJ, K.; SAFNA HUSSAN, K. P. Formulation and evaluation of a smart drug delivery system of 5-fluorouracil for pH-sensitive chemotherapy. **Heliyon**, [s.l.], v. 8(7), p. e09926, 2022.

CHU, E.; CALLENDER, M. A.; FARRELL, M. P.; SCHMITZ, J. C. Thymidylate synthase inhibitors as anticancer agents: From bench to bedside. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, [s.l.], v. 52, p. 80-89, 2003.

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

CROWE, L.; BROWN, M. C.; LECOUTURIER, J.; GREYSTOKE, A.; BOJKE, A.; BOJKE, R.; RICHARDSON, J.; WELLS, M.; EZEALA, E.; CARTER, L.; SHARP, L.; TODD, A. "Oh when's your treatment ending?" "Never!" The unmet needs of cancer patients treated with immunological, biological and precision therapies: A qualitative interview study. **European Journal of Oncology Nursing**. [s.l.], v. 73, p. 102696, 2024.

DHANASEKARAN, S.; LIANG, L.; GURUSAMY, S.; GODANA, E. A.; YANG, Q.; ZHANG, H. Efficacy and mechanism of chitosan nanoparticles containing lemon essential oil against blue mold decay of apples. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 308, p. 142633, 2025.

DOMKE, A.; JAKUBOWSKI, M.; ŁAWNICZAK, Ł.; RATAJCZAK, M.; VOELKEL, A.; SANDOMIERSKI, M. Modification of titanium implants by bioactive and antibacterial zinc gallate metal organic framework. **Surface and Coatings Technology**, [s.l.], v. 479, p. 130581, 2024.

DOS SANTOS, A. M.; CARVALHO, S. G.; FERREIRA, L. M. B.; CHORILLI, M.; GREMIÃO, M. P. D. Understanding the role of electrostatic interactions on the association of 5-fluorouracil to chitosan-TPP nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 640, p. 128417, 2022.

ETMINANFAR, M. R.; SHEYKHOLESLAMI, S. O. R.; KHALILI, V.; MAHDAVI, S. Biocompatibility and drug delivery efficiency of PEG-b-PCL/hydroxyapatite bilayer coatings on Nitinol superelastic alloy. **Ceramics International**, [s.l.], v. 46, p. 12711–12717, 2020.

EZZAT, H. A.; SEBAK, M. A.; ALADIM, A. K.; SHAHAT, M. A. Innovative experimental and theoretical strategies for sustainable heavy metal ion removal using chitosan@TiO₂ composites functionalized with nanostructured metal oxides. **Journal of Molecular Liquids**, [s.l.], v. 431, p. 127814, 2025.

FALAHATPISHEH, S.; NAGHIB, S. M.; NAIMI-JAMAL, M. R.; JAFARI, K. M.; SARTIPZADEH, O. Chitosan/agarose-encapsulated oleic acid-coated magnetite nanoparticles as a chemotherapeutic-loaded scaffold for drug delivery: Physico-chemical and in vitro biological characteristics. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 311, p. 143409, 2025.

FANG, X.; CAO, J.; SHEN, A. Advances in anti-breast cancer drugs and the application of nano-drug delivery systems in breast cancer therapy. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 57, p. 101662, 2020.

FEJFER, M.; MATŁOKA, A.; SIEPAK, J. Spectrophotometric Determination of PEG in Waterlogged Archaeological Wood and Impregnation Solutions. **Studies in Conservation**, [s.l.], v. 66(3), p. 182–189, 2020.

GIERSZEWSKA, M.; OSTROWSKA-CZUBENKO, J.; CHRZANOWSKA, E. pH-responsive chitosan/alginate polyelectrolyte complex membranes reinforced by tripolyphosphate. **European Polymer Journal**, [s.l.], v. 101, p. 282–290, 2018.

GOPALANI, S.; QIN, J.; BAKSA, J.; THOMPSON, T. D.; SENKOMAGO, V.; PORDELL, P.; JEONG, Y.; REICHHARDT, M.; PALAFOX, N.; BUENCONSEJO-LUM, L. Breast cancer incidence and stage at diagnosis in the six US-Affiliated Pacific Islands. **Cancer Epidemiology**, [s.l.], v. 92, p. 102611, 2024.

GROSSEN, P.; WITZIGMANN, D.; SIEBER, S.; HUWYLER, J. PEG-PCL-based nanomedicines: A biodegradable drug delivery system and its application. **Journal of Controlled Release**, [s.l.], v. 260, p. 46–60, 2017.

GUADARRAMA-ESCOBAR, O. R.; SERRANO-CASTAÑEDA, P.; ANGUIANO-ALMAZÁN, E.; VÁZQUEZ-DURÁN, A.; PEÑA-JUÁREZ, M. C.; VERA-GRAZIANO, R.; MORALES-FLORIDO, M. I.; RODRIGUEZ-PEREZ, B.; RODRIGUEZ-CRUZ, I. M.; MIRANDA-CALDERÓN, J. E.; ESCOBAR-CHÁVEZ, J. J. Chitosan Nanoparticles as Oral Drug Carriers. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 24, p. 4289, 2023.

HABIBI JOUYBARI, M.; HOSSEINI, S.; MAHBOOBNIYA, K.; BOLOURSAZ, L. A.; MORADI, M.; IRANI, M. Simultaneous controlled release of 5-FU, DOX and PTX from chitosan/PLA/5-FU/g-C3N4-DOX/g-C3N4-PTX triaxial nanofibers for breast cancer treatment in vitro. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 179, p. 495–504, 2019.

HAGGAG, Y. A.; OSMAN, M. A.; EL-GIZAWY, S. A.; GODA, A. E.; SHAMLOULA, M. M.; FAHEEM, A. M.; MCCARRON, P. A. Polymeric nano-encapsulation of 5-fluorouracil enhances anti-cancer activity and ameliorates side effects in solid Ehrlich Carcinoma-bearing mice. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 105, p. 215–224, 2018.

H Aidari, H.; KOPECKI, Z.; SUTTON, A. T.; GARG, S.; COWIN, A. J.; VASILEV, K. pH-responsive “smart” hydrogel for controlled delivery of silver nanoparticles to infected wounds. **Antibiotics**, [s.l.], v. 10, p. 49-64, 2021.

HAMDI, M.; NASRI, R.; LI, S.; NASRI, M. Design of blue crab chitosan responsive nanoparticles as controlled-release nanocarrier: Physicochemical features, thermal stability and in vitro pH-dependent delivery properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 145: p. 1140–1154, 2020.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, [s.l.], v. 144, p. 646-674, 2011.

HAO, Y. H.; HUANG, Z.; YE, Q. Q.; WANG, J. W.; YANG, X. Y.; FAN, X. Y.; LI, Y. L.; PENG, Y. W. A comparison study on non-isothermal decomposition kinetics of chitosan with different analysis methods. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s.l.], v. 128(2), p. 1077–1091, 2017.

HAROOSH, H. J.; DONG, Y.; INGRAM, G. D. Synthesis, morphological structures, and material characterization of electrospun PLA:PCL/magnetic nanoparticle composites for drug delivery. **Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics**, [s.l.], v. 51(22), p. 1607–1617, 2013.

HAROOSH, H. J.; DONG, Y.; JASIM, S.; RAMAKRISHNA, S. Morphological Structures and Drug Release Effect of Multiple Electrospun Nanofibre Membrane Systems Based on PLA, PCL, and PCL/Magnetic Nanoparticle Composites. **Journal of Nanomaterials**, [s.l.], v. 2022, p. 1-19, 2022.

HASANIN, M. S.; EL-SAKHAWY, M.; AHMED, H. Y.; KAMEL, S. Hydroxypropyl methylcellulose/graphene oxide composite as drug carrier system for 5-fluorouracil. **Biotechnology Journal**, [s.l.], v. 17(4), p. 1-10, 2022.

HE, Z.; SANTOS, J. L.; TIAN, H.; HUANG, H.; HU, Y.; LIU, L.; LEONG, K. W.; CHEN, Y.; MAO, H. Q. Scalable fabrication of size-controlled chitosan nanoparticles for oral delivery of insulin. **Biomaterials**, [s.l.], v. 130, p. 28–41, 2017.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 52(12), p. 1145–1149, 1963.

HIXSON, A. W.; CROWELL, J. H. Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation: III—Experimental Procedure in Study of Agitation. **Industrial and Engineering Chemistry**, [s.l.], v. 23(10), p. 1160–1168, 1931.

HOSSEINI, S. F.; SOLEIMANI, M. R.; NIKKHAH, M. Chitosan/sodium tripolyphosphate nanoparticles as efficient vehicles for antioxidant peptidic fraction from common kilka. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 111, p. 730–737, 2018.

- HRKACH, J. S.; PERACCHIA, M. T.; BOMB, A.; LOTAN, N.; LANGER, R. Nanotechnology for biomaterials engineering: structural characterization of amphiphilic polymeric nanoparticles by ^1H NMR spectroscopy. **Biomaterials**, [s.l.], v. 18 (1), p. 27,30, 1997.
- JAIN, S.; BHARTI, S.; KAUR BHULLAR, G.; TRIPATHI, S. K. pH dependent drug release from drug conjugated PEGylated CdSe/ZnS nanoparticles. **Materials Chemistry and Physics**, [s.l.], v. 240, p. 122162, 2020.
- JALAL, R. R.; WAYS, T. M. M.; ABU ELELLA, M. H.; HASSAN, D. A.; KHUTORYANSKIY, V. V. Preparation of mucoadhesive methacrylated chitosan nanoparticles for delivery of ciprofloxacin. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 242, p. 124980, 2023.
- JAMARUN, N.; AMELIA, D.; RAHMAYENI; SEPTIANI, U.; SISCA, V. The effect of temperature on the synthesis and characterization of hydroxyapatite-polyethylene glycol composites by in-situ process. **Hybrid Advances**, [s.l.], v. 2, p. 100031, 2023.
- KAMARAJ, S.; PALANISAMY, U. M.; MOHAMED, M. S. B. K.; GANGASALAM, A.; MARIA, G. A.; KANDASAMY, R. Curcumin drug delivery by vanillin-chitosan coated with calcium ferrite hybrid nanoparticles as carrier. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 116, p. 48-60, 2018.
- KAMRAN, S.; SINNIHAH, A.; CHIK, Z.; ALSHAWSH, M. A. Diosmetin Exerts Synergistic Effects in Combination with 5-Fluorouracil in Colorectal Cancer Cells. **Biomedicines**, [s.l.], v. 10(3), p. 531-548, 2022.
- KEFAYAT, A.; HOSSEINI, M.; GHAHREMANI, F.; JOLFAIE, N. A.; RAFIENIA, M. Biodegradable and biocompatible subcutaneous implants consisted of pH-sensitive mebendazole-loaded/folic acid-targeted chitosan nanoparticles for murine triple-negative breast cancer treatment. **Journal of Nanobiotechnology**, [s.l.], v. 20(1), p. 169-185, 2022.
- KHAN, I.; SAEED, K.; KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. **Arabian Journal of Chemistry**. [s.l.], v. 12, p. 908-931, 2019.
- KHAN, S.; MADNI, A.; SHAH, H.; JAN, N.; SHAFIQ, A.; BASIT, A.; RAI, N.; ALI, A.; KHAN, M. M. Folate decorated lipid chitosan hybrid nanoparticles of 5-fluorouracil for enhanced anticancer efficacy against colon cancer. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 222, p. 497–508, 2022.
- KIILLL, C. P.; BARUD, H. DA S.; SANTAGNELI, S. H.; RIBEIRO, S. J. L.; SILVA, A. M.; TERCJAK, A.; GUTIERREZ, J.; PIRONI, A. M.; GREMIÃO, M. P. D. Synthesis and factorial design applied to a novel chitosan/sodium polyphosphate nanoparticle via ionotropic gelation as an RGD delivery system. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 157, p. 1695–1702, 2017.

KIM, U.; KIM, J. H.; SONG, J. W.; CHOI, J.; KIM, S. H.; PARK, S.; LIM, M. C.; Combined Imaging and surgical predictors of cardiophrenic lymph node metastasis in ovarian cancer patients undergoing upfront surgery. **Gynecologic Oncology Reports**, [s.l.], v. 61, p. 101962, 2025.

KORSMEYER, R. W.; GURNY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N. A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 15(1), p. 25–35, 1983.

KUETE, V.; KARAOSMANOGLU, O.; SIVAS, H. Anticancer activities of African medicinal spices and vegetables. In: Medicinal Spices and Vegetables from Africa. **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**, [s.l.], (pp. 271–297), 2017.

KUMAR, A.; RAGHUVANSHI, T. S.; PRATAP, S.; KUMAR, H.; PRAKASH, B. Nanofabrication of citronellal with chitosan biopolymer to boost its efficacy against aflatoxin B1 and Aspergillus flavus mediated biodeterioration of active ingredient of Piper longum. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 449, p. 139240, 2024.

LAI, K. C.; HIEW, B. Y. Z.; LEE, L. Y.; GAN, S.; THANGALAZHY-GOPAKUMAR, S.; CHIU, W. S.; KHIEW, P. S. Ice-templated graphene oxide/chitosan aerogel as an effective adsorbent for sequestration of metanil yellow dye. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 274, p. 134–144, 2019.

LASCOL, M.; BOURGEOIS, S.; BARRATIER, C.; MAROTE, P.; LANTÉRI, P.; BORDES, C. Development of pectin microparticles by using ionotropic gelation with chlorhexidine as cross-linking agent. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 542(1–2): p. 205–212, 2018.

LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQI, A. N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.; WANG, D.; BUSCHMANN, M. D.; GUPTA, A. A validated ¹H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s.l.], v. 32(6), p. 1149–1158, 2003.

LEELARUEDEE, K.; VISUTTIPITUKUL, P.; YONGVANICH, N. Effect of the added polyethylene glycol molecular weight and calcination heating rate on the morphology of TiO₂ films formed by sol-gel. **Materials Transactions**, [s.l.], v. 58(3), p. 465–470, 2017.

LI, Q.; XIA, L.; LU, J.; SONG, Y.; YANG, M.; ZHOU, B.; LIN, L.; MIAO, W.; ZHENG, B.; ZHENG, Z. Synergistic effects of alternating magnetic field and sodium tripolyphosphate on functional properties of myofibrillar proteins in low-salt systems. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 316, p. 144660, 2025.

LI, S.; WANG, A.; JIANG, W.; GUAN, Z. Pharmacokinetic characteristics and anticancer effects of 5-Fluorouracil loaded nanoparticles. **BMC Cancer**, [s.l.], v. 8, p. 1-9, 2008.

LI, S.; ZENG, W.; CHUNG, C.; URAMARU, N.; HUANG, G.; WONG, F. F. Synthesis, physicochemical characterization, and investigation of anti-inflammatory activity of water-soluble PEGylated 1,2,4-Triazoles. **Bioorganic Chemistry**, [s.l.], v. 147, p. 107312, 2024.

LI, S.; YUAN, S.; ZHAO, Q.; WANG, B.; WANG, X.; LI, K. Quercetin enhances chemotherapeutic effect of doxorubicin against human breast cancer cells while reducing toxic side effects of it. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 100, p. 441–447, 2018.

LIU, Y.; ZHAO, D.; SUN, M.; WEI, W.; WANG, Y.; ZHOU, J.; ZHANG, R.; WANG, J.; ZHANG, H.; HE, Z.; KAN, Q.; SUN, J. Covalently mucoadhesive amphiphilic prodrug of 5-fluorouracil for enhanced permeation and improved oral absorption. **Drug Delivery and Translational Research**, [s.l.], v. 8(3), p. 645–656, 2018.

ŁUKASIEWICZ, S.; MIKOŁAJCZYK, A.; BŁASIAK, E.; FIC, E.; DZIEDZICKA-WASYLEWSKA, M. Polycaprolactone nanoparticles as promising candidates for nanocarriers in novel nanomedicines. **Pharmaceutics**, [s.l.], v. 13, p. 191-205, 2021.

MASARO, L.; ZHU, X. X. in press. Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids. **Progress in Polymer Science**, [s.l.], v. 24, p. 731-775, 1999.

MELO, M. N.; PEREIRA, F. M.; ROCHA, M. A.; RIBEIRO, J. G.; JUNGES, A.; MONTEIRO, W. F.; DIZ, F. M.; LIGABUE, R. A.; MORRONE, F. B.; SEVERINO, P.; FRICKS, A. T. Chitosan and chitosan/PEG nanoparticles loaded with indole-3-carbinol: Characterization, computational study and potential effect on human bladder cancer cells. **Materials Science and Engineering C**, [s.l.], v. 124, p. 112089, 2021.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, [s.l.], v. 65, p. 55-63, 1983.

NAGARWAL, R. C.; KUMAR, R.; PANDIT, J. K. Chitosan coated sodium alginate-chitosan nanoparticles loaded with 5-FU for ocular delivery: In vitro characterization and in vivo study in rabbit eye. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 47(4): p. 678–685, 2012.

NEGM, N. A.; HEFNI, H. H. H.; ABD-ELAAL, A. A. A.; BADR, E. A.; ABOU KANA, M. T. H. Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 152: p. 681–702, 2020.

NGUYEN, H. T.; GOYCOOLEA, F. M. Chitosan/Cyclodextrin/TPP nanoparticles loaded with quercetin as novel bacterial quorum sensing inhibitors. **Molecules**, [s.l.], v. 22(11), p. 1–23, 2017.

OLIVEIRA, M. X.; CANAFÍSTULA, F. V. C.; FERREIRA, C. R. N.; FERNANDES, L. V. O.; ARAÚJO, A. R.; RIBEIRO, F. O. S.; SOUZA, J. M. T.; LIMA, I. C.; ASSREUY, A. M. S.; SILVA, D. A.; MARINHO FILHO, J. D. B.; ARAÚJO, A. J.; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A. Hydrogels dressings based on guar gum and chitosan: inherent action against resistant bacteria and fast wound closure. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 253 (6), p. 127281, 2023.

OSMAN, A. M.; AL-JOHANI, H. S.; KAMEL, F. O.; AHMED, O. A. A.; HUWAIT, E. A.; SAYED-AHMED, M. M. 5-Fluorouracil and Simvastatin Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Effective Treatment of Colorectal Cancer Cells. **International Journal of Pharmacology**, [s.l.], v. 16(3), p. 205-213, 2020.

OZLU, B.; KABAY, G.; BOCEK, I.; YILMAZ, M.; PISKIN, A. K.; SHIM, B. S.; MUTLU, M. Controlled release of doxorubicin from polyethylene glycol functionalized melanin nanoparticles for breast cancer therapy: Part I. Production and drug release performance of the melanin nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 570, p. 118613, 2019.

PATEL, M. A.; ABOUGHALY, M. H. H.; SCHRYER-PRAGA, J. V.; CHADWICK, K. The effect of ionotropic gelation residence time on alginate cross-linking and properties. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 155: p. 362–371, 2017.

PATEL, P. K.; UPPALURI, R. V. S. Chitosan and its functionalized derivatives for heavy metal ion elimination: A review of synthesis, mechanisms, and characterization studies. **Advances in Colloid and Interface Science**. [s.l.], v. 345, p. 103632, 2025.

PATRA, J. K.; DAS, G.; FERNANDES FRACETO, L.; VANGELIE, E.; CAMPOS, R.; DEL PILAR RODRIGUEZ-TORRES, M.; ACOSTA-TORRES, L. S.; ARMANDO DIAZ-TORRES, L.; GRILLO, R.; KUMARA SWAMY, M.; SHARMA, S.; HABTEMARIAM, S.; SHIN, H.-S. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, [s.l.], v. 16, p. 71-104, 2018.

PAWLAK, A.; MUCHA, M. Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. **Thermochimica Acta**, [s.l.], v. 396, p. 153-166, 2003.

PEPPAS, N. A. Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, [s.l.], v. 60(4), p. 110–111, 1985.

QU, X.; WIRSÉN, A.; ALBERTSSON, A.-C. Effect of lactic/glycolic acid side chains on the thermal degradation kinetics of chitosan derivatives, **Polymer**, [s.l.], v. 41, p. 4841-4847, 2000.

RADHA, G.; RAGHUNANDHAKUMAR, S.; BALAKUMAR, S. Dual therapeutic 5-fluorouracil and hesperidin loaded chitosan nanocarrier system: Understanding its synergism on anti-cancer activity. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 80, p. 104184, 2023.

- RAJABI, H.; JAFARI, S. M.; RAJABZADEH, G.; SARFARAZI, M.; SEDAGHATI, S. Chitosan-gum Arabic complex nanocarriers for encapsulation of saffron bioactive components. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 578, p. 123644, 2019.
- RAJAEI, M.; RASHEDI, H.; YAZDIAN, F.; NAVAEI-NIGJEH, M.; RAHDAR, A.; DÍEZ-PASCUAL, A. M. Chitosan/agarose/graphene oxide nanohydrogel as drug delivery system of 5-fluorouracil in breast cancer therapy. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s.l.], v. 82, p. 104307, 2023.
- RAJIVGANDHI, G.; KADAIKUNNAN, S.; RAMACHANDRAN, G.; CHACKARAVARTHI, G.; KANISHA CHELLIAH, C.; MARUTHUPANDY, M.; NATESAN, M.; QUERO, F.; LI, W. J. Anti-cancer ability of chitosan nanoparticles loaded plant essential oil evaluated against A549 human lung cancer cells through invitro approaches. **Journal of King Saud University - Science**, [s.l.], v. 35(4), p. 102598, 2023.
- RAJIVGANDHI, G.; STALIN, A.; KANISHA, C. C.; RAMACHANDRAN, G.; MANOHARAN, N.; ALHARBI, N. S.; KADAIKUNNAN, S.; KHALED, J. M.; ALANZI, K. F.; LI, W. J. Physicochemical characterization and anti-carbapenemase activity of chitosan nanoparticles loaded Aegle marmelos essential oil against *K. pneumoniae* through DNA fragmentation assay. **Surfaces and Interfaces**, [s.l.], v. 23, p. 100932, 2021.
- REHMAN, A.; GHAS, R.; SULTAN, N.; SHERAZI, H. I.; AYOUBI, S.; KHALID, S.; REHMAN, M. U. Enhancing the efficacy of hormone therapy in prostate cancer through conditional super-twisting sliding mode control and redfox optimization. **Biomedical Signal Processing and Control**, [s.l.], v. 112, p. 108895, 2026.
- ROSHANAZADEH, M.; REZAEI, H. B.; RASHIDI, M. Quercetin synergistically potentiates the anti-metastatic effect of 5-fluorouracil on the MDA-MB-231 breast cancer cell line. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, [s.l.], v. 24(7), p. 928–934, 2021.
- SALATA, G. C.; MALAGÓ, I. D.; MELO, G. B.; MACHADO-NETO, J. A.; LOPES, L. B. Molecular effects of paclitaxel-elacridar nanoemulsions in breast cancer cells: impact, uptake, cell cycle and signaling pathways. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 215, p. 114837, 2025.
- SAMY, M.; ABD EL-ALIM, S. H.; RABIA, A. E. G.; AMIN, A.; AYOUB, M. M. H. Formulation, characterization and in vitro release study of 5-fluorouracil loaded chitosan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 156, p. 783–791, 2020.
- SANCHEZ-BALLESTER, N. M.; SOULAIROL, I.; BATAILLE, B.; SHARKAWI, T. Flexible heteroionic calcium-magnesium alginate beads for controlled drug release. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 207, p. 224–229, 2019.

SANDOVAL-GARCÍA, K.; ALVARADO-MENDOZA, A. G.; JIMÉNEZ-AVALOS, J. A.; GARCÍA-CARVAJAL, Z. Y.; OLEA-RODRÍGUEZ, M. A.; CAJERO-ZUL, L. R.; NUÑO-DONLUCAS, S. M. Synthesis, characterization and evaluation of the toxicity, drug release ability and antibacterial capacity of nanocomposites of polyethylene glycol and functionalized carbon nanotubes. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, [s.l.], v. 59(12), p. 888–902, 2022.

SCHEINER, K. C.; COULTER, F.; MAAS-BAKKER, R. F.; GHERSI, G.; NGUYEN, T. T.; STEENDAM, R.; DUFFY, G. P.; HENNINK, W. E.; O'CEARBHAILL, E. D.; KOK, R. J. Vascular Endothelial Growth Factor–Releasing Microspheres Based on Poly(ϵ -Caprolactone-PEG- ϵ -Caprolactone)-b-Poly(L-Lactide) Multiblock Copolymers Incorporated in a Three-Dimensional Printed Poly(Dimethylsiloxane) Cell Macroencapsulation Device. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 109(1), p. 863–870, 2020.

SETHI, A.; AHMAD, M.; KHAN, W. S. High molecular weight cross linked chitosan nanoparticles for controlled release of 5-Fluorouracil; Enhances its bioavailability. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 32, p. 1137-1143, 2019.

SHARMA, K.; SOMAVARAPU, S.; COLOMBANI, A.; GOVIND, N.; TAYLOR, K. M. G. Crosslinked chitosan nanoparticle formulations for delivery from pressurized metered dose inhalers. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 81(1), p. 74–81, 2012.

SHI, M.; JIANG, H.; YIN, L.; LIU, Y.; XU, M. Development of an UPLC-MS/MS method coupled with in-source CID for quantitative analysis of PEG-PLA copolymer and its application to a pharmacokinetic study in rats. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [s.l.], v. 1125, p. 121716, 2019.

SHIN, K.; SUH, H.; GRUNDLER, J.; LYNN, A. Y.; POTHUPITIYA, J. U.; MOSCATO, Z. M.; RESCHKE, M.; BRACAGLIA, L. G.; PIOTROWSKI-DASPIT, A. S.; SALTZMAN, W. Polyglycerol and Poly(ethylene glycol) exhibit different effects on pharmacokinetics and antibody generation when grafted to nanoparticle surfaces. **Biomaterials**, [s.l.], v. 287, p. 121676, 2022.

SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S. P. Características e propriedades de quitosanas purificadas nas formas neutra, acetato e cloridrato. **Polímeros**, [s.l.], v. 11(2), p. 58–64, 2001.

SILVA, C. N. S.; FERREIRA, R. D. R.; CAMPOS, I. T. N.; FERNANDES, K. F.; LIÃO, L. M.; DI MEDEIROS, M. C. B.; BATISTA, K. A. Acetylated cashew gum polysaccharide nanoparticles as a promising green label nanomaterial for encapsulation of D-limonene: physicochemical, structural and antibacterial Properties. **European Food and Research and Technology**, [s.l.], v. 251, p. 519-533, 2025.

SIMON, L.; VINCENT, M.; LE SAUX, S.; LAPINTE, V.; MARCOTTE, N.; MORILLE, M.; DORANDEU, C.; DEVOISSELLE, J. M.; BÉGU, S. Polyoxazolines based mixed micelles as PEG free formulations for an effective quercetin antioxidant topical delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 570, p. 118516, 2019.

SMITH, T.; AFFRAM, K.; NOTTINGHAM, E. L.; HAN, B.; AMISSAH, F.; KRISHNAN, S.; TREVINO, J.; AGYARE, E. Application of smart solid lipid nanoparticles to enhance the efficacy of 5-fluorouracil in the treatment of colorectal cancer. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 10, p. 16989, 2020.

SONKIN, D.; THOMAS, A.; TEICHER, B. A. Cancer treatments: Past, present, and future. **Cancer Genetics**, [s.l.], v. 286-287, p. 18-24, 2024.

SOUZA, J. B.; SILVA, J. R.; MAIA, P. B. D.; CORIOLANO, D. L.; ANDRADE, M. C. M.; GALEMBECK, A.; CAMPOS, L. A. A.; CASTRO, M. C. A. B.; CAVALCANTI, I. M. F. Nanotechnology approach to combat cancer-inducing *Escherichia coli*: Co-delivery of 5-fluorouracil and ciprofloxacin by chitosan-coated liposomes. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 332, p. 148499, 2025.

SOWMYA, B.; PANDA, P. K. Electrospinning of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) and poly ethylene glycol (PEG) composite nanofiber membranes using methyl ethyl ketone (MEK) and N N'-dimethyl acetamide (DMAc) solvent mixture for anti-adhesion applications. **Materials Today Communications**, [s.l.], v. 33, p. 104718, 2022.

SREEKANTH, C. N.; BAVA, S. V.; SREEKUMAR, E.; ANTO, R. J. Molecular evidences for the chemosensitizing efficacy of liposomal curcumin in paclitaxel chemotherapy in mouse models of cervical cancer. **Oncogene**, [s.l.], v. 30, p. 3139–3152, 2011.

SUBRAMANI, G.; MANIAN, R. Bioactive chitosan films: Integrating antibacterial, antioxidant, and antifungal properties in food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 278, p. 134596, 2024.

SUN, L.; CHEN, Y.; ZHOU, Y.; GUO, D.; FAN, Y.; GUO, F.; ZHENG, Y.; CHEN, W. Preparation of 5-fluorouracil-loaded chitosan nanoparticles and study of the sustained release in vitro and in vivo. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 12(5), p. 418–423, 2017.

SUVARNA, M.; DYAWANAPELLY, S.; KANSARA, B.; DANDEKAR, P.; JAIN, R. Understanding the Stability of Nanoparticle-Protein Interactions: Effect of Particle Size on Adsorption, Conformation and Thermodynamic Properties of Serum Albumin Proteins. **ACS Applied Nano Materials**, [s.l.], v. 1(10), p. 5524–5535, 2018.

TAKEDA, Y.; SUGANO, H.; OKAMOTO, A.; NAKANO, T.; SHIMOYAMA, Y.; TAKADA, N.; IMAIZUMI, Y.; OHKUMA, M.; KOSUGE, M.; ETO, K. Short-term and long-term outcomes of laparoscopic surgery for T4b colon cancer: Comparison with open colectomy. **Asian Journal of Surgery**, [s.l.], v. 48, p. 6004-6009, 2025.

TAWFIK, E.; AHAMED, M.; ALMALIK, A.; ALFAQEEH, M.; ALSHAMSAN, A. Prolonged exposure of colon cancer cells to 5-fluorouracil nanoparticles improves its anticancer activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [s.l.], v. 25(2), p. 206–213, 2017.

TIAN, B.; DING, L.; LI, S.; LIU, J.; QIAO, X.; MA, D.; ZHANG, X. Chitosan/sodium alginate polymer to deliver hops β -acids and 5-fluorouracil for colorectal cancer chemotherapy: in vitro experiment. **Journal of Molecular Structure**, [*s.l.*], v. 1347, p. 143341, 2025.

TSAI, M. L.; CHEN, R. H.; BAI, S. W.; CHEN, W. Y. The storage stability of chitosan/tripolyphosphate nanoparticles in a phosphate buffer. **Carbohydrate Polymers**, [*s.l.*], v. 84, p. 756-761, 2011.

TURAN, N. B.; ERKAN, H. S.; ENGIN, G. O.; BILGILI, M. S. Nanoparticles in the aquatic environment: Usage, properties, transformation and toxicity—A review. **Process Safety and Environmental Protection**, [*s.l.*], v. 130, p. 238–249, 2019.

UGORJI, O. L.; UMEH, O. N. C.; AGUBATA, C. O.; ADAH, D.; OBITTE, N. C.; CHUKWU, A. The effect of noisome preparation methods in encapsulating 5-fluorouracil and real time cell assay against HCT-116 colon cancer cell line. **Heliyon**, [*s.l.*], v. 8(12), p. e12369, 2022.

VINOD, B. S.; MALIEKAL, T. T.; ANTO, R. J. Phytochemicals as chemosensitizers: from molecular mechanism to clinical significance. **Antioxidants and Redox Signaling**, [*s.l.*], v. 18(11), p. 1307-1348, 2013.

VITYAZEVA, F. V.; FEDYUNOVA, M. I.; GOLOVCHENKO, V. V.; PATOVA, O. A.; IPATOVA, E. U.; DURNEV, E. A.; MARTINSON, E. A.; LITVINETS, S. G. Pectin-silica gels as matrices for controlled drug release in gastrointestinal tract. **Carbohydrate Polymers**, [*s.l.*], v. 157, p. 9–20, 2017.

VUILLEMIN, M. E.; MICHAUX, F.; MUNIGLIA, L.; LINDER, M.; JASNIEWSKI, J. Food Hydrocolloids Gum Arabic and chitosan self-assembly: Thermodynamic and mechanism aspects. **Food Hydrocolloids**, [*s.l.*], v. 96, p. 463–474, 2019.

WANG, F.; YANG, Y.; JU, X.; UDENIGWE, C. C.; HE, R. Polyelectrolyte Complex Nanoparticles from Chitosan and Acylated Rapeseed Cruciferin Protein for Curcumin Delivery. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [*s.l.*], v. 66(11), p. 2685–2693, 2018.

WANG, Y.; XI, L.; ZHANG, B.; ZHU, Q.; SU, F.; JELONEK, K.; ORCHEL, A.; KASPERCZYK, J.; LI, S. Bioresorbable hydrogels prepared by photo-initiated crosslinking of diacrylated PTMC-PEG-PTMC triblock copolymers as potential carrier of antitumor drugs. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [*s.l.*], v. 28(3), p. 290–299, 2020.

WEISANY, W.; YOUSEFI, S.; TAHIR, N. A. RAZZAK; GOLESTANEHZADEH, N.; MCCLEMENTS, D. J.; ADHIKARI, B.; GHASEMLOU, M. Targeted delivery and controlled released of essential oils using nanoencapsulation: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, [*s.l.*], v. 303, p. 102655, 2022.

- WENANDE, E.; GARVEY, L. H. Immediate-type hypersensitivity to polyethylene glycols: a review. **Clinical and Experimental Allergy**, [s.l.], v. 46, p. 907-922, 2016.
- WU, S.; LEI, L.; XIA, Y.; OLIVER, S.; CHEN, X.; BOYER, C.; NIE, Z.; SHI, S. PNIPAM-immobilized gold-nanoparticles with colorimetric temperature-sensing and reusable temperature-switchable catalysis properties. **Polymer Chemistry**, [s.l.], v. 12 (47), p. 6903-6913, 2021.
- XU, X.; LI, Q.; DONG, W.; ZHAO, G.; LU, Y.; HUANG, X.; LIANG, X. Cinnamon cassia oil chitosan nanoparticles: Physicochemical properties and anti-breast cancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 224, p. 1065–1078, 2023.
- YAMINA, A. M.; FIZIR, M.; ITATAHINE, A.; HE, H.; Dramou, P. Preparation of multifunctional PEG-graft-Halloysite Nanotubes for Controlled Drug Release, Tumor Cell Targeting, and Bio-imaging. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 170, p. 322–329, 2018.
- YANG, S.; DAI, L.; MAO, L.; LIU, J.; YUAN, F.; LI, Z.; GAO, Y. Effect of sodium tripolyphosphate incorporation on physical, structural, morphological and stability characteristics of zein and gliadin nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 136, p. 653–660, 2019.
- YANG, Y.; HU, T.; ZHANG, H.; LIU, B. N.; LIU, J.; LI, W. X.; SONG, K.; JIANG, G. B. A suturable biohydrogel with mechanical matched property based on coating chitosan and polyethylene glycol shell for tissue patching. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 224, p. 523–532, 2023.
- YE, C. C.; ZHAO, F. Y.; WU, J. K.; WENG, X. D.; ZHENG, P. Y.; MI, Y. F.; AN, Q. F.; GAO, C. J. Sulfated polyelectrolyte complex nanoparticles structured nanofiltration membrane for dye desalination. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 307, p. 526–536, 2017.
- YEERONG, K.; CHANTAWANNAKUL, P.; ANUCHAPREEDA, S.; JUNTRAPIROM, S.; KANJANAKAWINKUL, W.; MÜLLERTZ, A.; RADES, T.; CHAIYANA, W. Chitosan alginate nanoparticles of protein hydrolysate from *Acheta domesticus* with enhanced stability for skin delivery. **Pharmaceutics**, [s.l.], v. 16, p. 724-749, 2024.
- YOUSEFI, M.; KHORSHIDIAN, N.; MORTAZAVIAN, A. M.; KHOSRAVI-DARANI, K. Preparation optimization and characterization of chitosan-tripolyphosphate microcapsules for the encapsulation of herbal galactagogue extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 140, p. 920–928, 2019.
- ZABIHI, F.; SINGH, A. K.; ACHAZI, K.; SCHADE, B.; HEDTRICH, S.; HAAG, R.; SHARMA, S. K. Non-ionic PEG-oligoglycerol dendron conjugated nano-carriers for dermal drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 580, p. 119212, 2020.

ZALBA, S.; TEN HAGEN, T. L. M.; BURGUI, C.; GARRIDO, M. J. Stealth nanoparticles in oncology: Facing the PEG dilemma. **Journal of Controlled Release**. [s.l.], v. 351, p. 22-36, 2022.

ZENG, L.; AN, L.; WU, X. Modeling Drug-Carrier Interaction in the Drug Release from Nanocarriers. **Journal of Drug Delivery**, [s.l.], v. 2011, p. 1–15, 2011.

ZHANG, X.; ZHANG, H.; WU, Z.; WANG, Z.; NIU, H.; LI, C. Nasal absorption enhanced of insulin using PEG-grafted chitosan nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 68, p. 526-534, 2008.

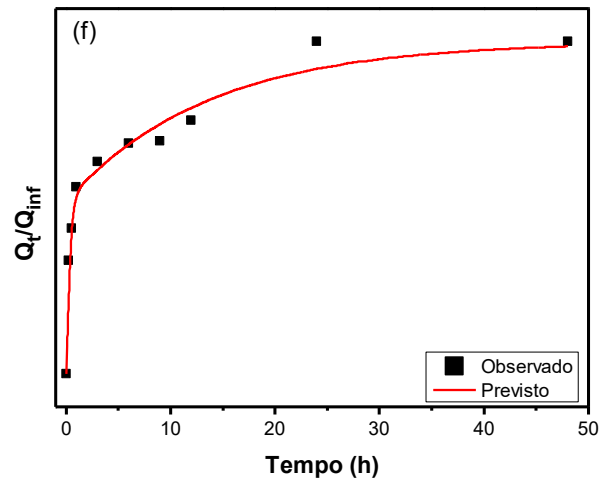
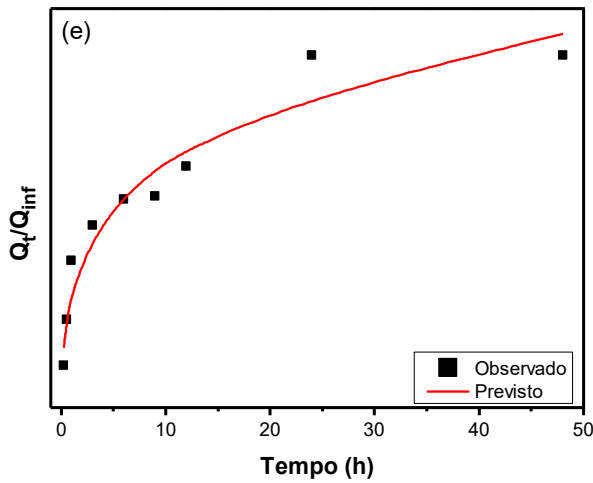
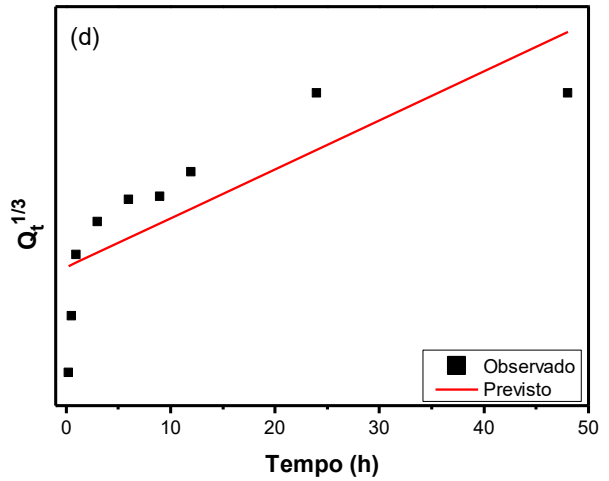
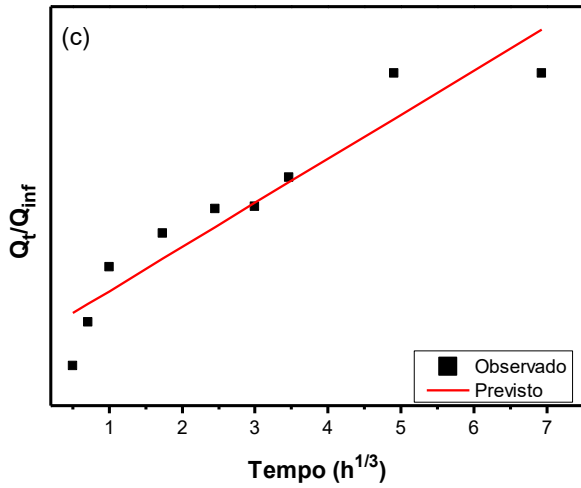
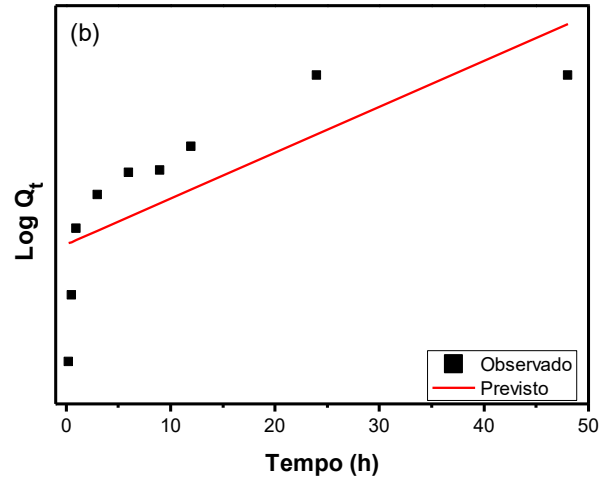
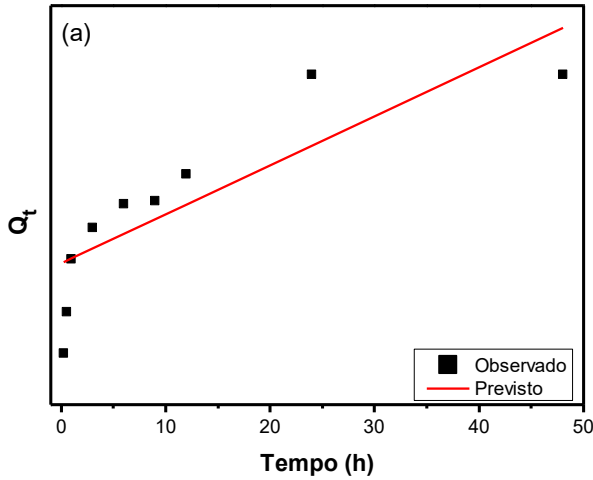
ZHANG, Y.; ZHANG, X. T.; ZHANG, Q.; WANG, B.; ZHANG, T. Formulation development and evaluation of gastroretentive floating beads with Brucea javanica oil using ionotropic gelation technology. **Chinese Journal of Natural Medicines**, [s.l.], v. 16(4), p. 293–301, 2018.

ZHAO, H.; LIU, Q.; WANG, S.; DAI, F.; CHENG, X.; CHENG, X.; CHEN, W.; ZHANG, M.; CHEN, D. In vitro additive antitumor effects of dimethoxycurcumin and 5-fluorouracil in colon cancer cells. **Cancer Medicine**, [s.l.], v. 6(7), p. 1698–1706, 2017.

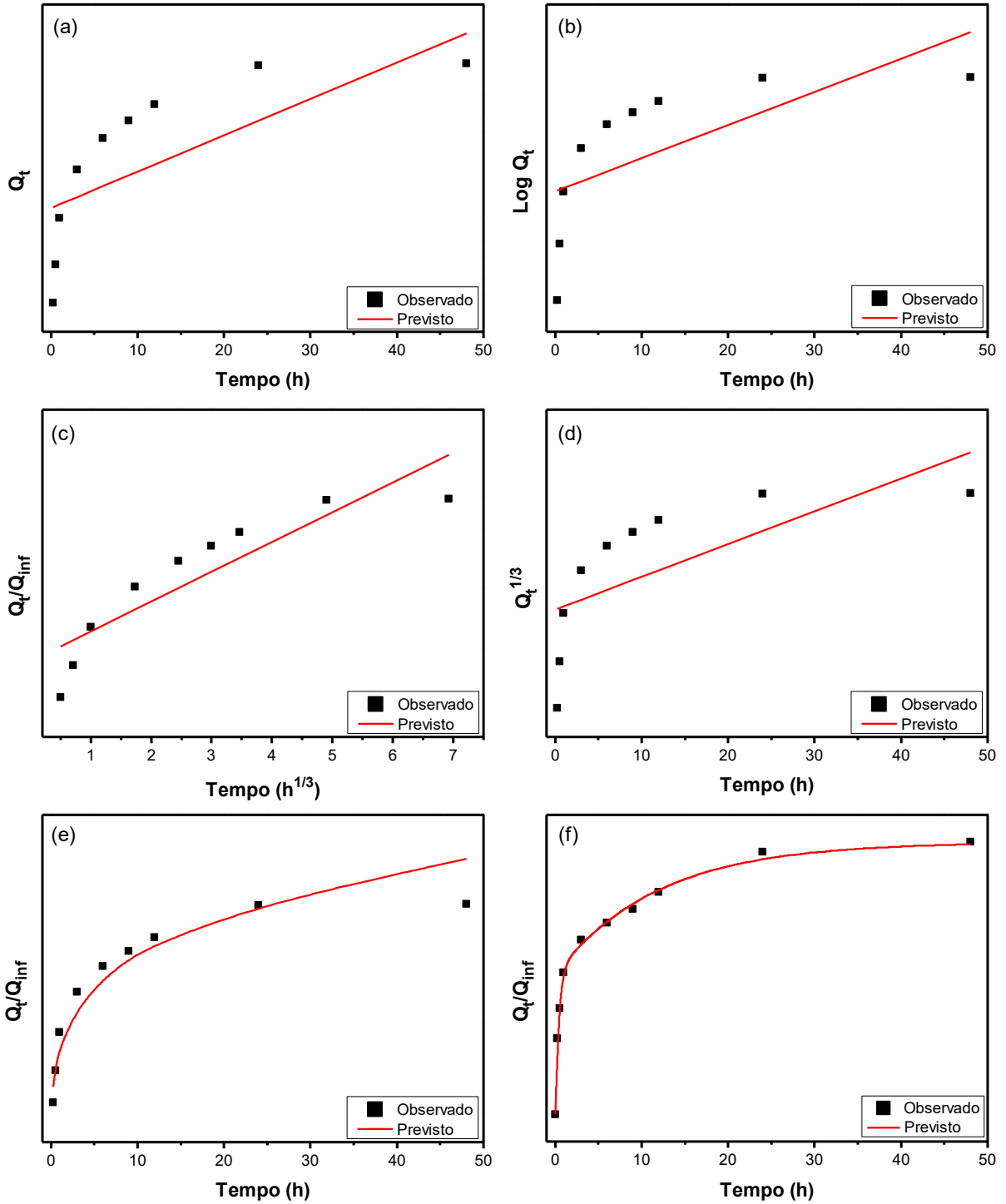
ZHAO, Y.; ALAKHOVA, D. Y.; ZHAO, X.; BAND, V.; BATRAKOVA, E. V.; KABANOV, A. V. Eradication of cancer stem cells in triple negative breast cancer using doxorubicin/pluronic polymeric micelles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [s.l.], v. 24, p. 102124, 2020.

ZOHRI, M.; AREFIAN, E.; JAVAR, H. A.; GAZORI, T.; AGHAEE-BAKHTIARI, S. H.; TAHERI, M.; FATAHI, Y.; AZADI, A.; KHOSHAYAND, M. R.; GHAREMANI, M. H. Potential of chitosan/alginate nanoparticles as a non-viral for gene delivery: Formulation and optimization using D-optimal design. **Materials Science & Engineering C**, [s.l.], v. 128, p. 112262, 2021.

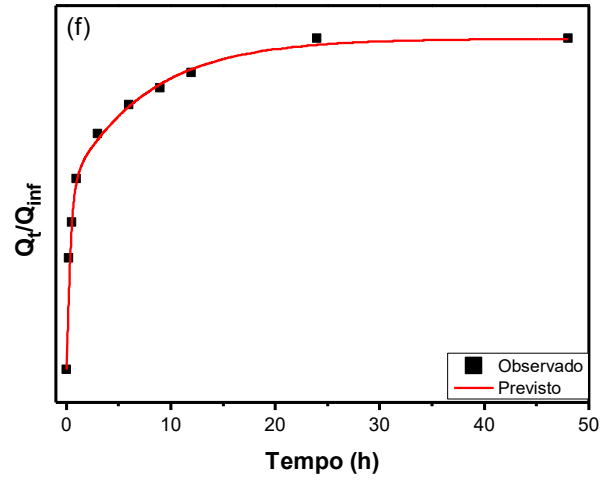
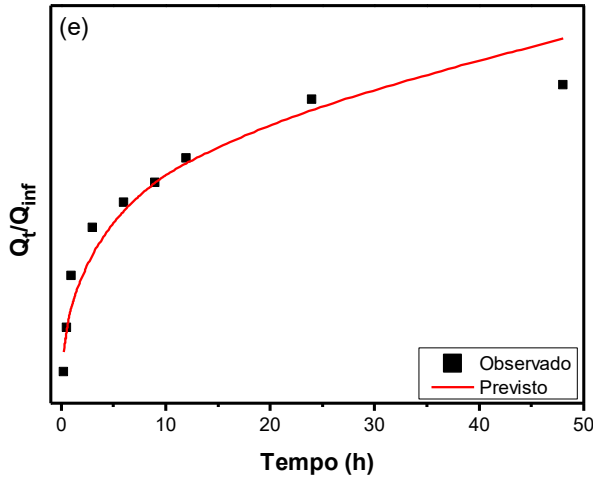
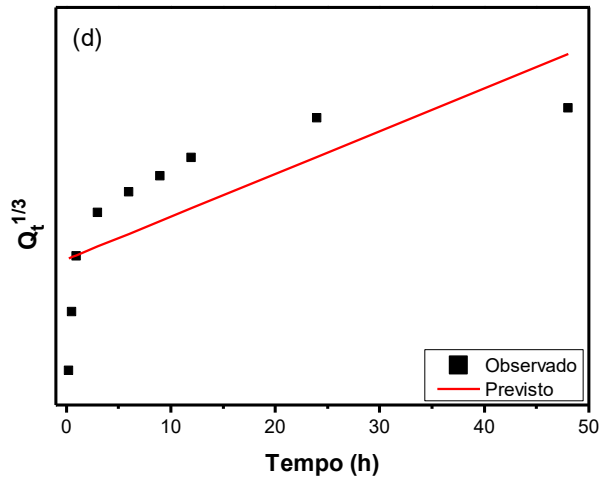
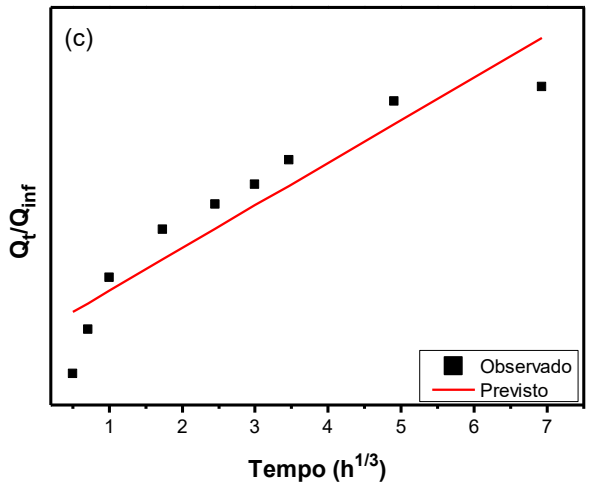
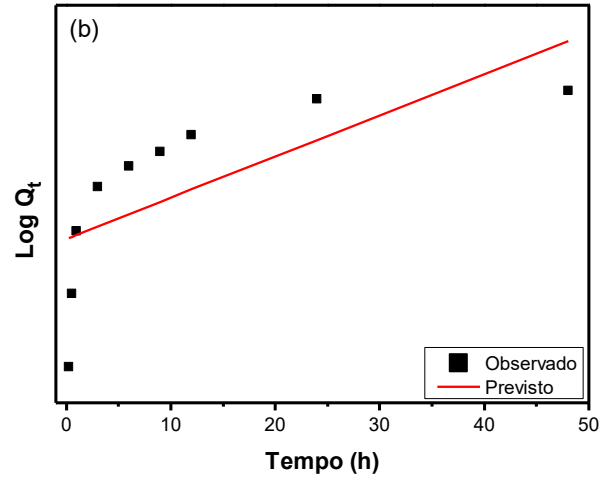
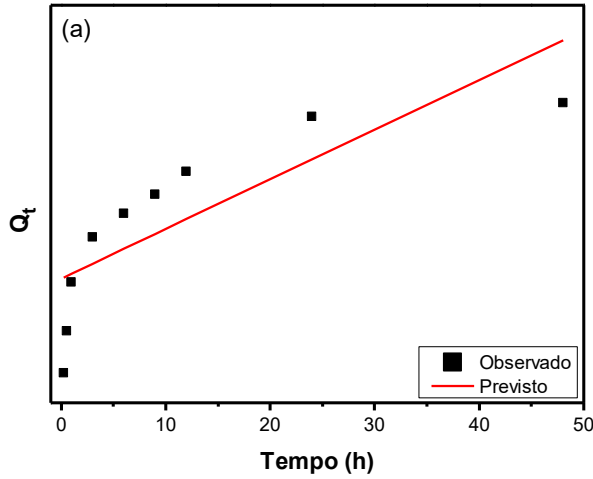
APÊNDICE A - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/5-FU.



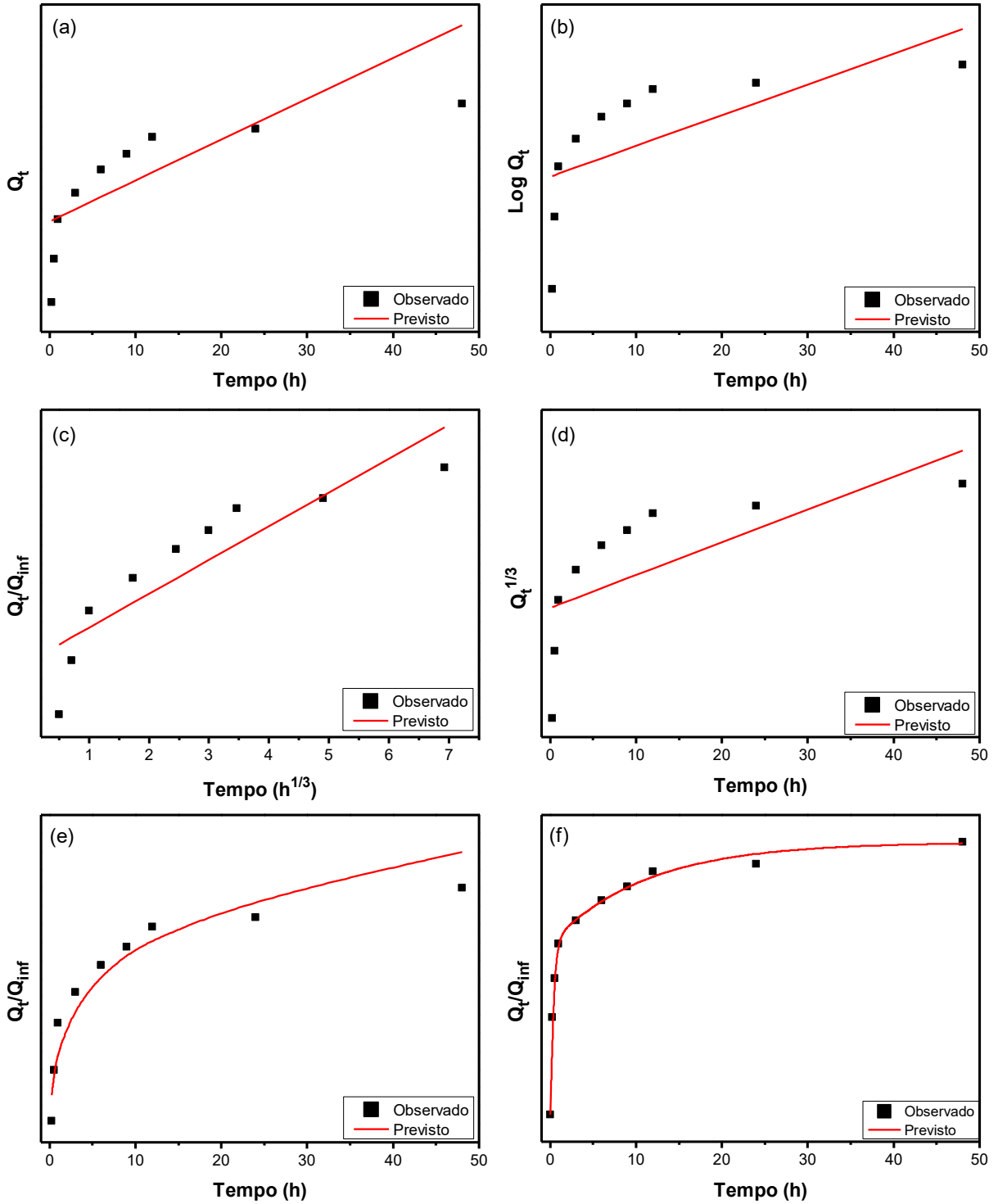
APÊNDICE B - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/PEG1450/5-FU.



APÊNDICE C - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/PEG3350/5-FU.

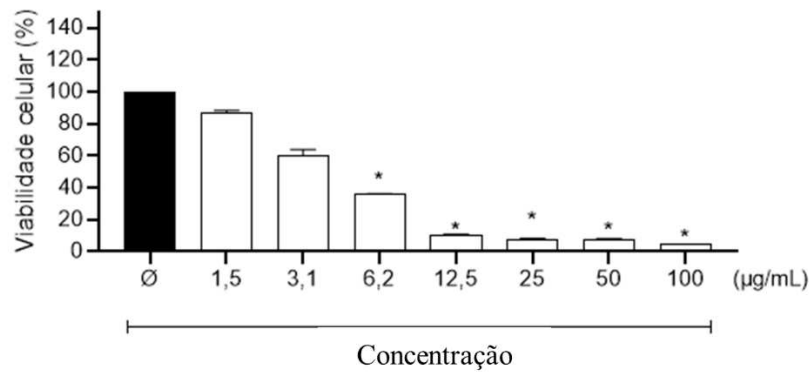


APÊNDICE D - PERFIS DE LIBERAÇÃO PREVISTOS MEDIANTE OS MODELOS (a) ORDEM ZERO, (b) PRIMEIRA ORDEM, (c) HIGUCHI, (d) HIXSON-CROWELL, (e) KORSMEYER-PEPPAS E (f) ZENG PARA O SISTEMA QT/TPF/PEG6000/5-FU.

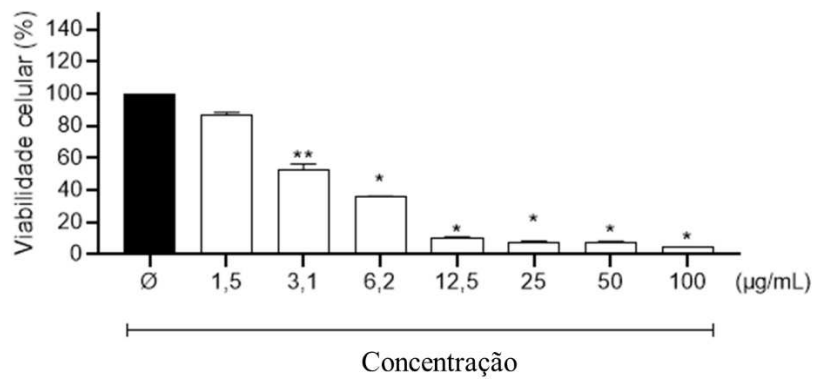


APÊNDICE E – VIABILIDADE CELULAR DO 5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.

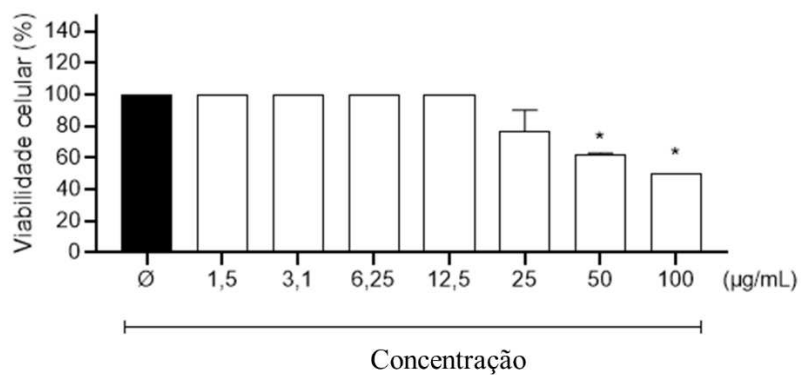
L929



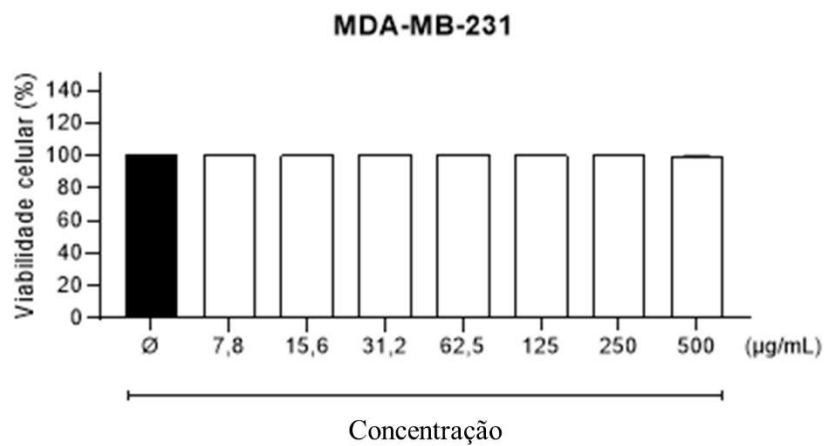
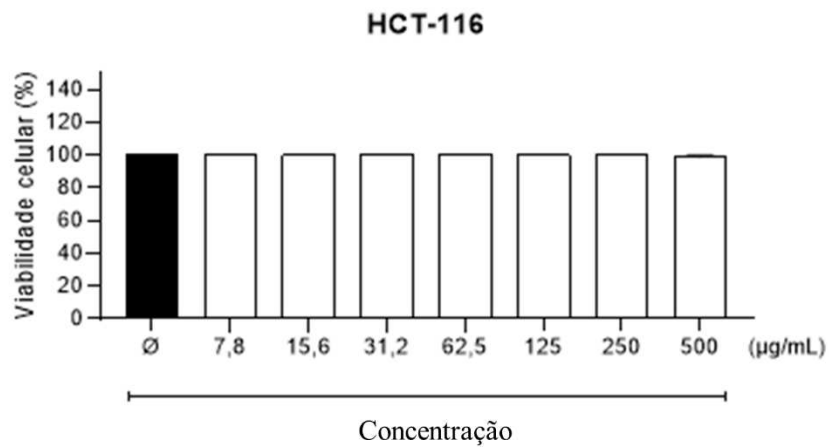
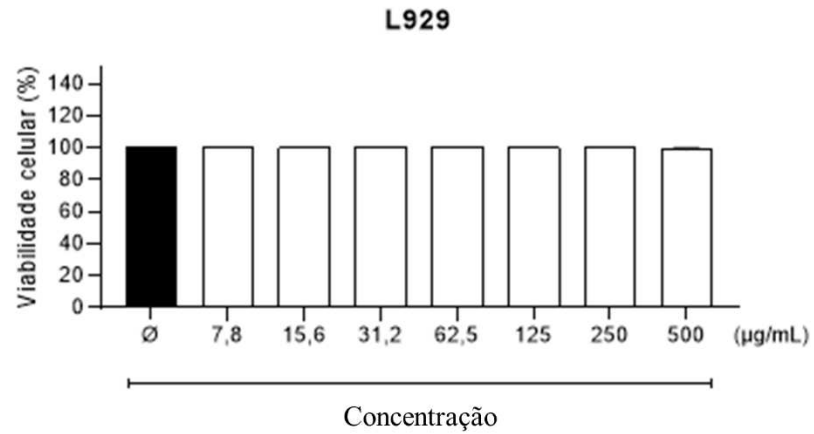
HCT-116



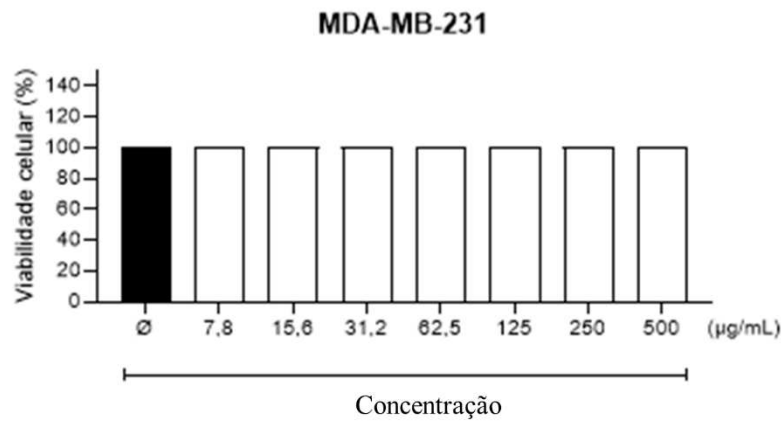
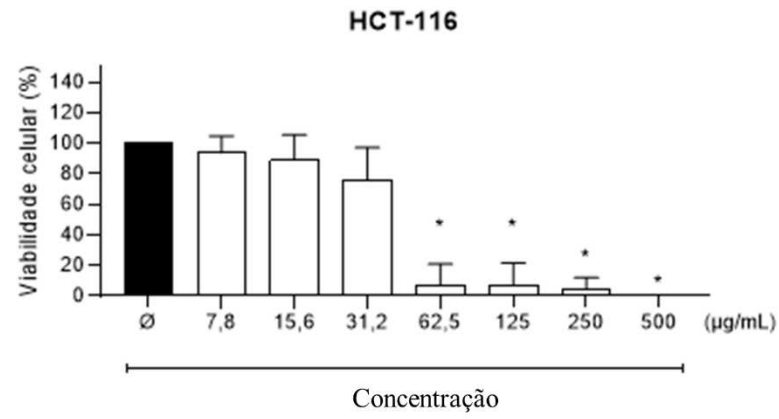
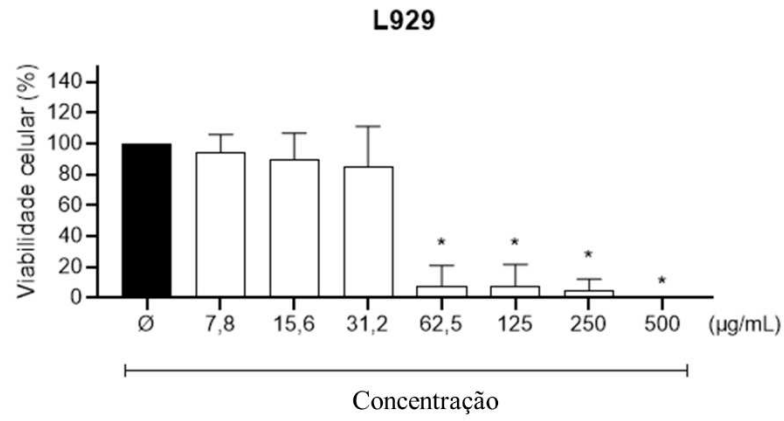
MDA-MB-231



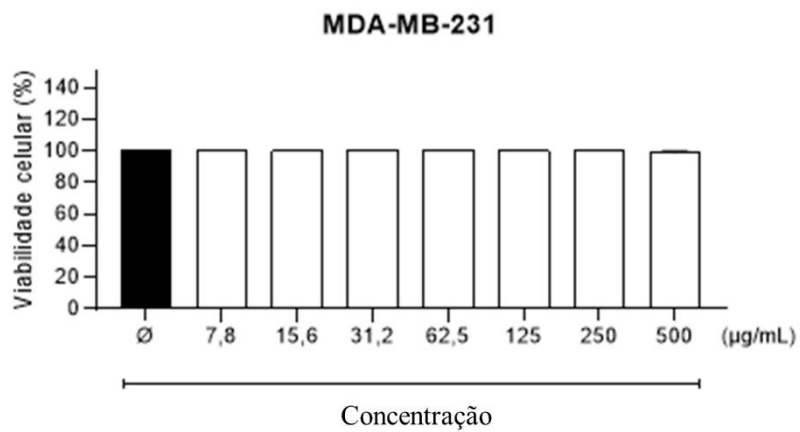
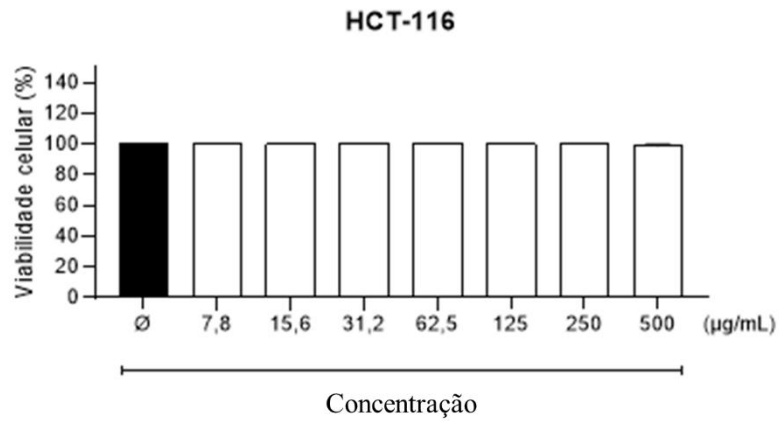
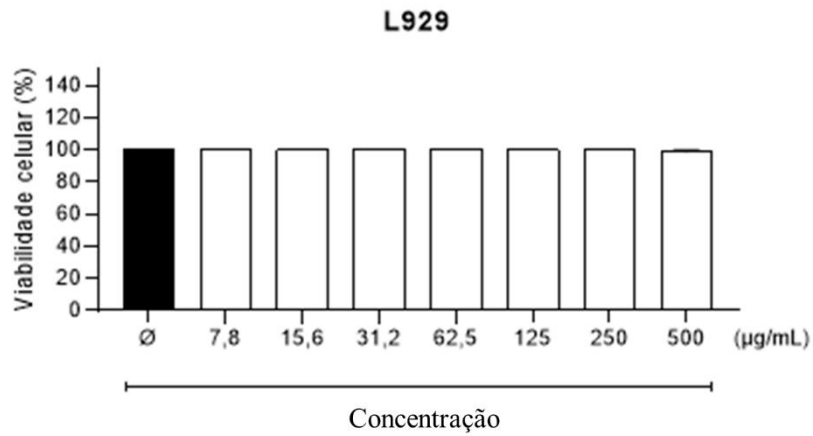
APÊNDICE F – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.



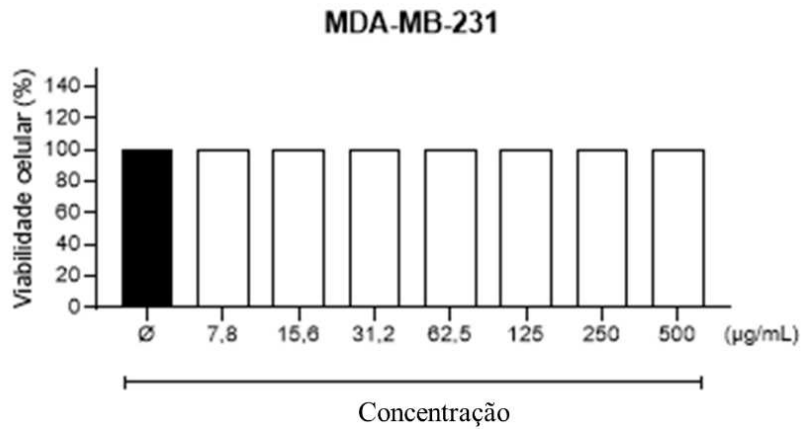
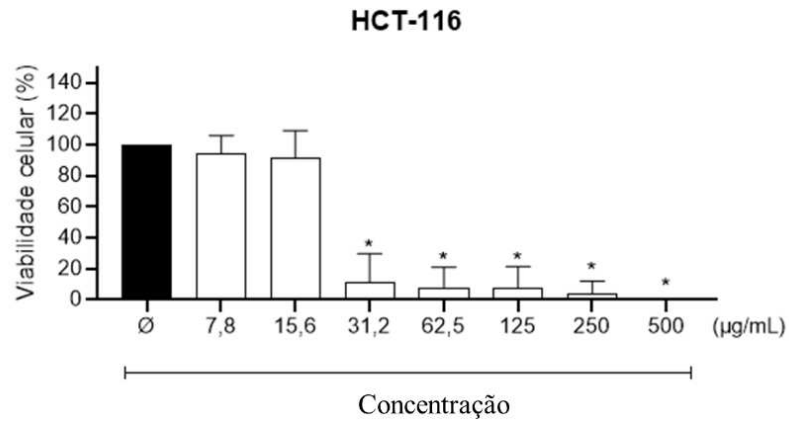
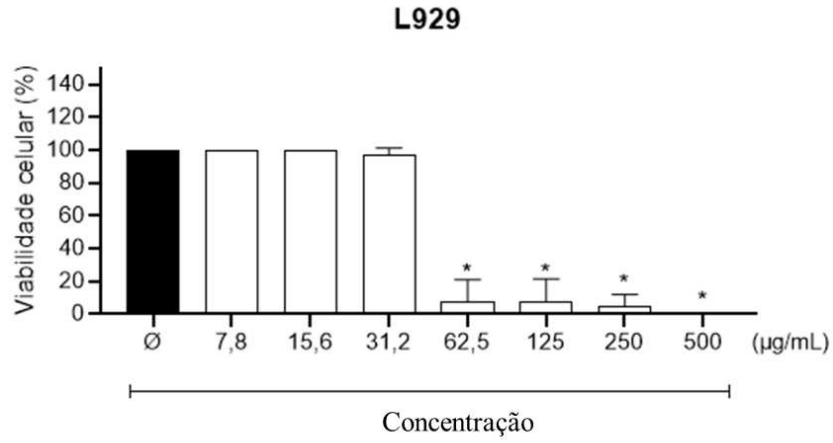
APÊNDICE G – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.



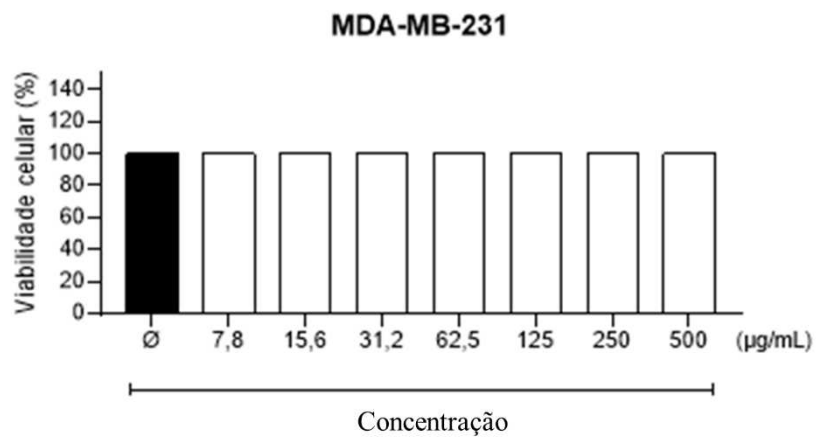
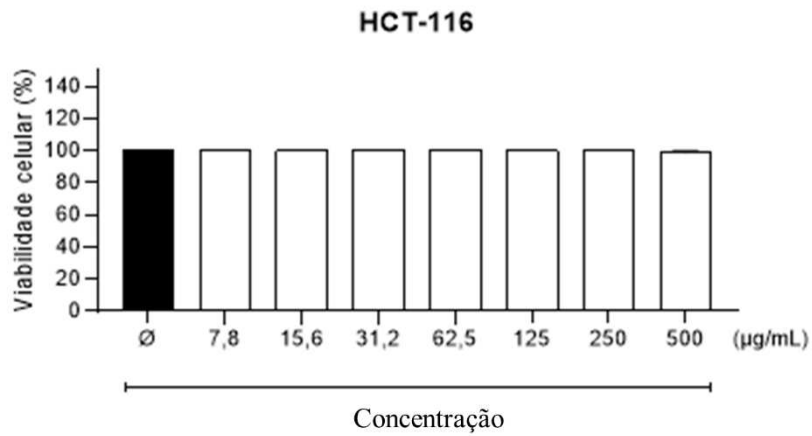
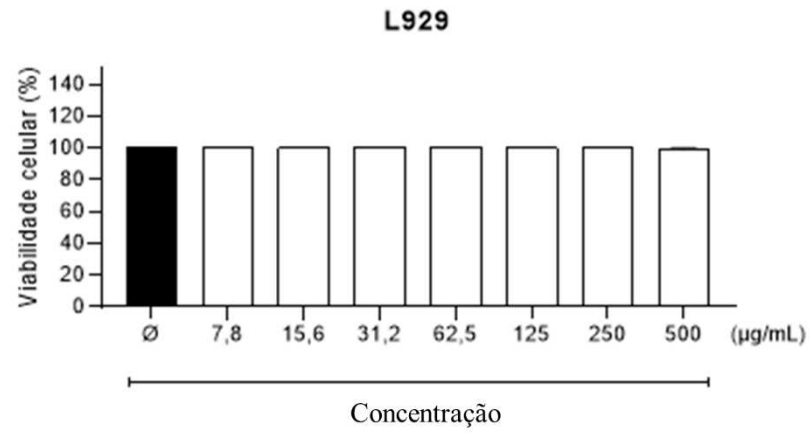
APÊNDICE H – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG1450 FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.



APÊNDICE I – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG1450/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.

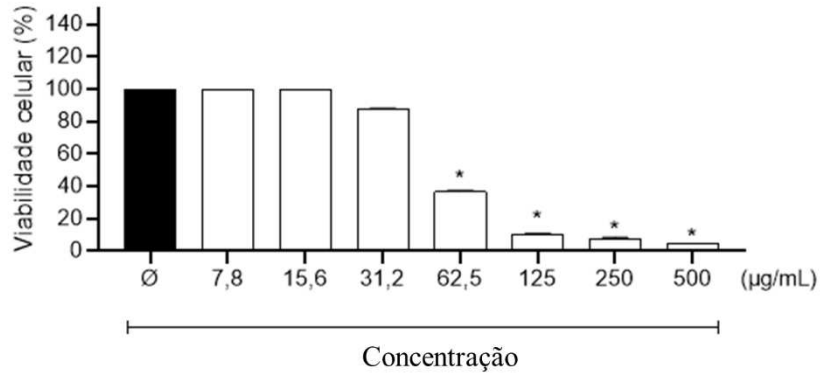


APÊNDICE J – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG3350 FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.

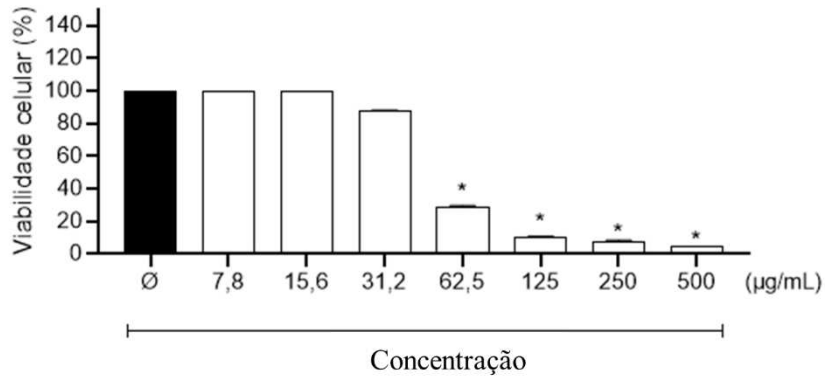


APÊNDICE K – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG3350/5-FU FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.

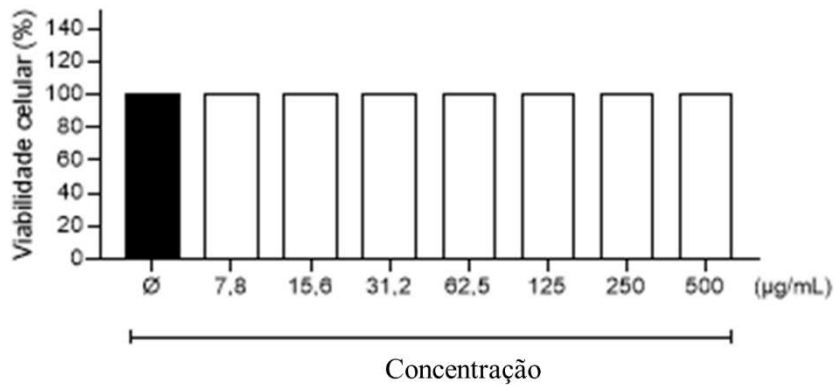
L929



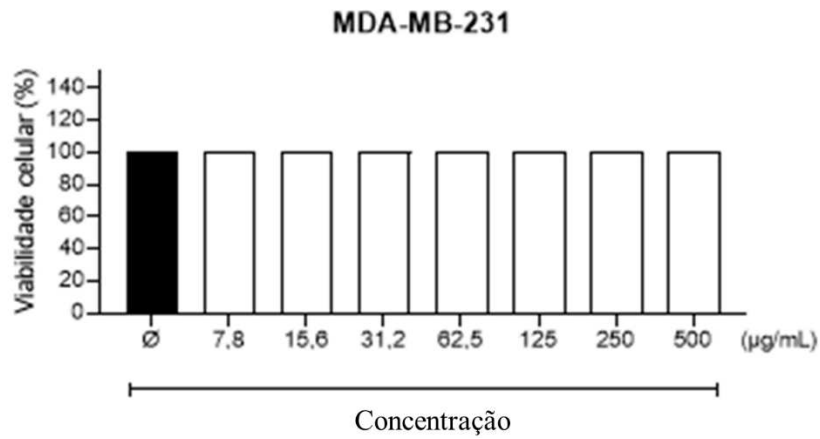
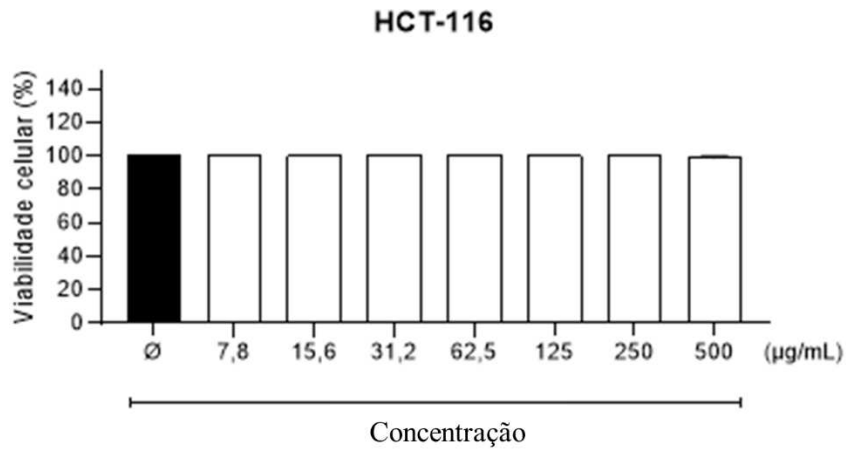
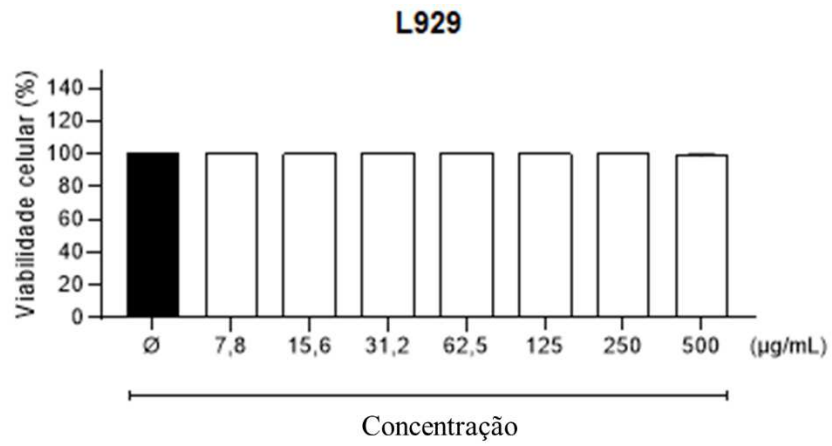
HCT-116



MDA-MB-231

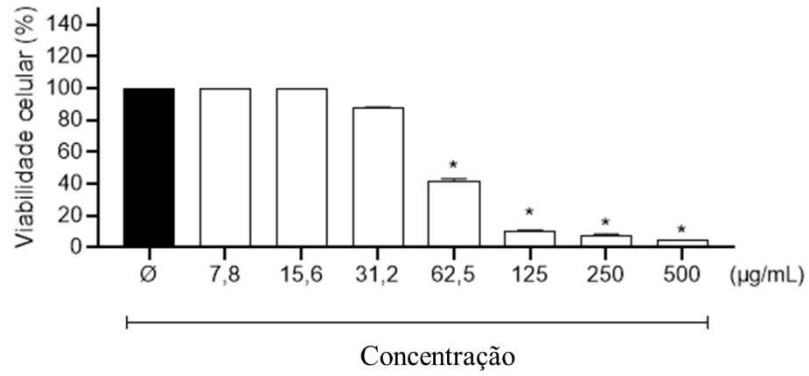


APÊNDICE L – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG6000 FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.

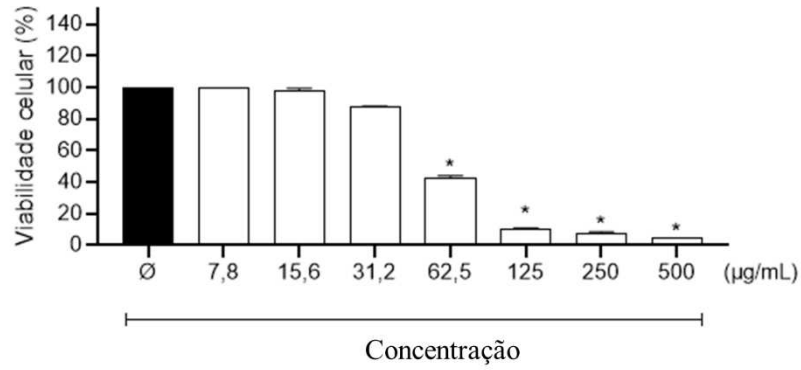


**APÊNDICE M – VIABILIDADE CELULAR DO SISTEMA QT/TPF/PEG6000/5-FU
FRENTE AS LINHAGENS L929, HCT-116 E MDA-MB-231.**

L929



HCT-116



MDA-MB-231

