

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

LEANDRO FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
QUERCETINA COM POTENCIAL APLICAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE
COLITE ULCERATIVA**

PONTA GROSSA

2026

LEANDRO FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE
QUERCETINA COM POTENCIAL APLICAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE
COLITE ULCERATIVA**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências aplicadas à Farmácia, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em associação ampla com a Universidade Estadual do Centro-Oeste.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Priscileila Colerato Ferrari

PONTA GROSSA

2026

F383 Ferreira, Leandro

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de quercetina com potencial aplicação para o tratamento de colite ulcerativa / Leandro Ferreira. Ponta Grossa, 2026.

78 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Priscileila Colerato Ferrari.

1. Colite ulcerativa - Tratamento. 2. Nanotecnologia farmacêutica. 3. Gelificação ionotrópica. 4. Quitosana. 5. Eudragit® S-100. I. Ferrari, Priscileila Colerato. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 615.19

LEANDRO FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
NANOPARTÍCULAS DE QUERCETINA COM POTENCIAL
APLICAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE COLITE ULCERATIVA**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre(a) no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível Mestrado e Doutorado, Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Ponta Grossa, 27 de março de 2026.



Documento assinado digitalmente

PRISCILEILA COLERATO FERRARI

Data: 05/05/2026 16:12:58-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Priscileila Colerato Ferrari – UEPG – Presidente



Documento assinado digitalmente

JAQUELINE CARNEIRO

Data: 06/05/2026 16:37:27-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jaqueline Carneiro – UFPR – Membro titular externo



Documento assinado digitalmente

PATRICIA MATHIAS DOLL BOSCARDIN

Data: 06/05/2026 13:53:23-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Patrícia Mathias Doll Boscardin – UEPG – Membro titular interno

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda sabedoria e força, agradeço pela proteção constante e por ter me sustentado em cada etapa desta jornada acadêmica.

À minha família, pelo amor incondicional e por sempre acreditarem em meu potencial. Sem vocês, nada disso seria possível.

À minha orientadora, Profa. Dra. Priscileila Colerato Ferrari, agradeço pela orientação, pelo acompanhamento constante e pela confiança ao longo do mestrado.

Aos professores que compuseram as bancas de qualificação e de defesa, Profa. Dra. Patricia Mathias Doll Boscardin, Prof. Dr. Guilherme dos Anjos Camargo e Profa. Dra. Jaqueline Carneiro, agradeço pelas valiosas contribuições, sugestões e críticas construtivas, que enriqueceram significativamente este trabalho.

Aos colegas do laboratório, em especial, Julia e Brenda, agradeço pelo companheirismo, pela troca de conhecimentos e pela colaboração durante o desenvolvimento desta pesquisa. A convivência com cada um de vocês foi essencial para o bom andamento dos experimentos.

Aos amigos que estiveram ao meu lado ao longo dessa trajetória, mesmo à distância, ofereço minha sincera gratidão pelo apoio, compreensão e incentivo nos momentos mais desafiadores.

Aos técnicos do Complexo de Laboratórios Multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa, agradeço pela disponibilidade, suporte técnico e profissionalismo na realização das análises indispensáveis para este estudo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho, deixo aqui o meu mais sincero agradecimento.

RESUMO

A colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal crônica caracterizada por inflamação persistente da mucosa do cólon. O tratamento convencional apresenta limitações relacionadas a efeitos adversos e eficácia, o que impulsiona o desenvolvimento de sistemas de liberação específica de fármacos. Nesse contexto, a nanotecnologia farmacêutica se destaca como uma abordagem promissora. A quercetina (QC), um flavonoide com potente atividade anti-inflamatória e antioxidante, apresenta aplicação limitada devido à baixa solubilidade e biodisponibilidade oral. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar nanopartículas de quitosana revestidas com Eudragit® S-100 contendo quercetina, visando à liberação cólon-específica, administradas por via oral. As nanopartículas foram obtidas por gelificação ionotrópica com trifosfato de sódio, sendo preparadas quatro formulações (NQ1, NQ3, NB1 e NB3). As formulações foram caracterizadas quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta, eficiência de encapsulação, FTIR, DRX, mucoadesividade, perfil de liberação, estabilidade e atividade anti-inflamatória pelo método de desnaturação da albumina. As nanopartículas apresentaram tamanho entre 264 e 329 nm, PDI < 0,4 e potencial zeta > +40 mV, indicando estabilidade coloidal e estabilidade físico-química por 90 dias armazenadas em geladeira. A eficiência de encapsulação foi elevada, 90,63% para NQ1 e 85,63% para NQ3. As análises de FTIR e DRX indicaram interação com a matriz polimérica e amorfização da quercetina. As formulações menos reticuladas apresentaram maior mucoadesividade. O perfil de liberação é pH-dependente, com baixa liberação em meio ácido e aumento a pH 6,8 e 7,4. No ensaio anti-inflamatório, observou-se inibição dose-dependente. A formulação NQ3 mostrou efeito significativo em relação à NB3 (sem quercetina) em 50 µg/mL ($p < 0,001$), e semelhante ao diclofenaco, avaliado como controle positivo. Dessa forma, as nanopartículas desenvolvidas apresentaram propriedades adequadas e potencial para aplicação em sistemas de liberação cólon-específica no tratamento de doenças inflamatórias intestinais.

Palavras-chave: colite ulcerativa, nanotecnologia farmacêutica, gelificação ionotrópica, quitosana, Eudragit® S-100, mucoadesão.

ABSTRACT

Ulcerative colitis is a chronic inflammatory bowel disease characterized by persistent inflammation of the colonic mucosa. Conventional treatment has limitations related to adverse effects and efficacy, which drives the development of specific drug delivery systems. In this context, pharmaceutical nanotechnology stands out as a promising approach. Quercetin (QC), a flavonoid with potent anti-inflammatory and antioxidant activity, has limited application due to its low solubility and oral bioavailability. This work aimed to develop and characterize chitosan nanoparticles coated with Eudragit® S-100 containing quercetin, releasing colon-specific drugs, administered orally. The nanoparticles were obtained by ionotropic gelation with sodium triphosphate, and four formulations were prepared (NQ1, NQ3, NB1, and NB3). The formulations were described in terms of particle size, polydispersity index (PDI), zeta potential, encapsulation efficiency, FTIR, XRD, mucoadhesiveness, release profile, stability, and anti-inflammatory activity by the albumin denaturation method. The nanoparticles had sizes between 264 and 329 nm, $PDI < 0.4$, and zeta potential $> +40$ mV, showing colloidal stability and physicochemical stability for 90 days when stored in a refrigerator. Encapsulation efficiency was high, 90.63% for NQ1 and 85.63% for NQ3. FTIR and XRD analyses indicated interaction with the polymeric matrix and amorphization of quercetin. The less cross-linked formulations showed greater mucoadhesiveness. The release profile is pH-dependent, with low release in acidic media and an increase at pH 6.8 and 7.4. It is not an anti-inflammatory assay, with dose-dependent inhibition. The NQ3 formulation showed a significant effect compared to NB3 (without quercetin) at 50 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0.001$), and was similar to diclofenac, evaluated as a positive control. Therefore, the nanoparticles were provided with suitable properties and potential for application in specific spontaneous release systems for the treatment of inflammatory bowel diseases.

Keywords: ulcerative colitis, pharmaceutical nanotechnology, ionotropic gelation, chitosan, Eudragit® S-100, mucoadhesion

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fisiopatologia da colite ulcerativa.....	15
Figura 2 - Estrutura química da quercetina.....	17
Figura 3 - Sistemas nanométricos.....	19
Figura 4 - Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas.....	20
Figura 5 - Estrutura química da quitosana.....	22
Figura 6 - Representação esquemática dos diferentes polímeros Eudragit® e seus perfis de liberação de fármacos ao longo do trato gastrointestinal	24
Figura 7 - Fluxograma das etapas da pesquisa	27
Figura 8 - Esquema do método de obtenção das nanopartículas poliméricas contendo quercetina preparadas pelo método de gelificação ionotrópica.....	29
Figura 9 - Representação esquemática do procedimento experimental do ensaio de liberação <i>in vitro</i> das nanopartículas de quitosana contendo quercetina	32
Figura 10 - Nanopartículas poliméricas preparadas pela técnica de gelificação ionotrópica.....	35
Figura 11 - Fotomicrografias das nanopartículas poliméricas liofilizadas: (a) NB-1; (b) NB-3; (c) NQ-1; (d) NQ-3 por MEV-FEG.....	39
Figura 12 - Espectros de FTIR das nanopartículas poliméricas (2 cm ⁻¹ , 64 scans, pastilha com KBr)	41
Figura 13 - Difrátogramas de raios X (DRX) das matérias-primas e das nanopartículas.....	43
Figura 14 - Variação do tamanho de partícula das nanopartículas ao longo do estudo de estabilidade (0, 30, 60 e 90 dias)	45
Figura 15 - Variação do índice de polidispersão (IPD) das nanopartículas ao longo do estudo de estabilidade (0, 30, 60 e 90 dias)	46

Figura 16 - Variação do potencial zeta das nanopartículas ao longo do estudo de estabilidade (0, 30, 60 e 90 dias)	47
Figura 17 - Efeito da concentração de mucina no tamanho de partícula das nanopartículas poliméricas com e sem quercetina	49
Figura 18 - Efeito da concentração de mucina no índice de polidispersão das nanopartículas de quitosana com e sem quercetina	52
Figura 19 - Efeito da concentração de mucina no potencial zeta das nanopartículas de quitosana com e sem quercetina.....	54
Figura 20 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> da quercetina a partir da formulação NQ1 em diferentes pHs (1,2; 6,8 e 7,4)	56
Figura 21 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> da quercetina a partir da formulação NQ3 em diferentes pHs (1,2; 6,8 e 7,4)	57
Figura 22 - Representação esquemática do comportamento pH-dependente das nanopartículas de quitosana/Eudragit® S100 contendo quercetina e seu impacto no perfil de liberação <i>in vitro</i>	59
Figura 23 - Inibição da desnaturação proteica (%) promovida por nanopartículas contendo ou não quercetina e pelo diclofenaco em diferentes concentrações.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação das nanopartículas poliméricas.....	28
Tabela 2 - Valores de diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das nanopartículas poliméricas.....	37
Tabela 3 – Ajuste dos modelos cinéticos de liberação da quercetina a partir das nanopartículas (NQ1 e NQ3) em diferentes pHs, com respectivos coeficientes de determinação (R^2) e valores do expoente n.....	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1 COLITES ULCERATIVAS.....	14
3.2 ASPECTOS BIOFARMACÊUTICOS DA QUERCETINA	17
3.3 NANOTECNOLOGIA NAS CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.....	18
3.5 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	21
3.5.1 Quitosana.....	22
3.6 EUDRAGIT	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 MATERIAIS	26
4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS	26
4.3 DESENHO EXPERIMENTAL	27
4.4 PREPARO DAS NANOPARTÍCULAS	28
4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA CONTENDO QUERCETINA	29
4.5.1 Determinação do diâmetro médio e potencial zeta	29
4.5.2 Análise da morfologia e superfície.....	29
4.5.3 Análise por espectroscopia na região do infravermelho.....	30
4.5.4 Avaliação por difração de raio-X.....	30
4.6 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS NANOPARTÍCULAS	30
4.7 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO	30
4.8 ESTUDO DE MUCOADESIVIDADE.....	31
4.9 ENSAIO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	32

4.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA.....	33
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO QUERCETINA	35
5.2 DETERMINAÇÃO DA QUERCETINA INCORPORADA NAS NANOPARTICULAS	36
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	37
5.3.1 Determinação do Diâmetro Médio e Potencial Zeta	37
5.4 ANÁLISE DA MORFOLOGIA E SUPERFÍCIE	38
5.5 Análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	40
5.6 Análise por Difração de Raios X.....	42
5.7 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS NANOPARTÍCULAS.....	44
5.8 ENSAIO DE MUCOADESIVIDADE	49
5.8.1 Tamanho de partícula.....	49
5.8.3 Índice de polidispersão.....	52
5.8.2 Potencial zeta.....	54
5.9 ENSAIO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	56
5.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATORIA.....	61
6 CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

A colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal crônica caracterizada por inflamação contínua e difusa da mucosa do cólon, com início no reto e extensão proximal variável. O manejo terapêutico da colite ulcerativa envolve diferentes classes de fármacos, como os 5-aminossalicilatos (5-ASA), utilizados por via oral ou retal, tiopurinas, agentes biológicos que atuam sobre o fator de necrose tumoral (TNF) ou integrinas, além de inibidores da Janus quinase (Kucharzik et al. 2020; Niddk, s/d; Pedro, 2015).

Nos últimos anos, compostos naturais com propriedades anti-inflamatórias têm despertado crescente interesse como alternativas terapêuticas complementares. Dentre eles, destaca-se a quercetina (QC), um flavonoide amplamente encontrado em frutas, vegetais e plantas medicinais, que apresenta diversas atividades farmacológicas, como ação antioxidante, anti-inflamatória e antialérgica (Andrade, 2021; Ding et al. 2013; Li et al. 2016; Silva et al. 2002; Matsuda et al. 2003).

Apesar do seu potencial terapêutico, a aplicação clínica da QC é limitada devido à sua baixa solubilidade em água, reduzida biodisponibilidade oral, instabilidade química e rápida depuração plasmática. Para superar essas limitações, diversas estratégias baseadas em sistemas de liberação modificada têm sido investigadas, como sua incorporação em microemulsões, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, lipossomas, sistemas de cristal líquido e complexos de inclusão (Hussain et al. 2017; Pinheiro et al. 2021).

Nesse contexto, a nanotecnologia farmacêutica surge como uma ferramenta promissora para potencializar a eficácia terapêutica de compostos bioativos, promovendo maior estabilidade, controle na liberação e direcionamento ao local de ação. A escolha adequada dos polímeros e revestimentos é essencial para o desempenho desses sistemas. A quitosana, um polímero natural de natureza policatiónica, destaca-se por sua capacidade bioadesiva, formando interações eletrostáticas com superfícies mucosas carregadas negativamente, o que favorece a adesão à mucosa intestinal e prolonga o tempo de residência do fármaco no local de ação (Rashki et al. 2021; Jaferník et al. 2023).

Além disso, a associação com materiais com propriedades pH dependentes como o Eudragit® S-100 contribuem para o direcionamento das partículas até o local de ação após administração oral. O Eudragit® é uma família de copolímeros acrílicos

cuja solubilidade varia conforme o pH; entre eles, o Eudragit® S-100 se dissolve apenas em pH acima de 7, favorecendo a liberação colônica. Essa propriedade permite que as nanopartículas resistam ao ambiente ácido do estômago e do intestino delgado, promovendo a liberação controlada no cólon, o que é especialmente útil no tratamento de doenças inflamatórias intestinais e na proteção de ativos sensíveis ao pH ácido (Ansari et al. 2017; Maleki et al. 2023; Raj, 2014).

Dessa maneira e diante da escassez de estudos sobre sistemas de liberação modificada da QC voltados ao tratamento da colite ulcerativa, este trabalho teve como objetivo desenvolver, caracterizar, quantificar e avaliar *in vitro* nanopartículas poliméricas de quitosana e Eudragit® S100 contendo QC como uma estratégia de liberação cólon-específica, com o intuito de aumentar sua biodisponibilidade oral e intensificar sua ação anti-inflamatória.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver, caracterizar e avaliar *in vitro* nanopartículas poliméricas de quitosana e Eudragit® S100 contendo QC com potencial aplicação no tratamento de colite ulcerativa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar nanopartículas poliméricas a partir do polímero biodegradável quitosana revestida por Eudragit® S100 contendo QC;
- Realizar a caracterização físico-química de nanopartículas poliméricas de quitosana contendo QC;
- Avaliar a estabilidade das nanopartículas poliméricas de quitosana contendo QC.
- Avaliar a eficiência de encapsulação;
- Avaliar a mucoadesividade *in vitro* das nanopartículas poliméricas;
- Avaliar o perfil de liberação *in vitro* da quercetina a partir das nanopartículas poliméricas;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória das nanopartículas poliméricas;
- Realizar a análise estatística dos resultados.

3 REVISÃO DA LITERATURA

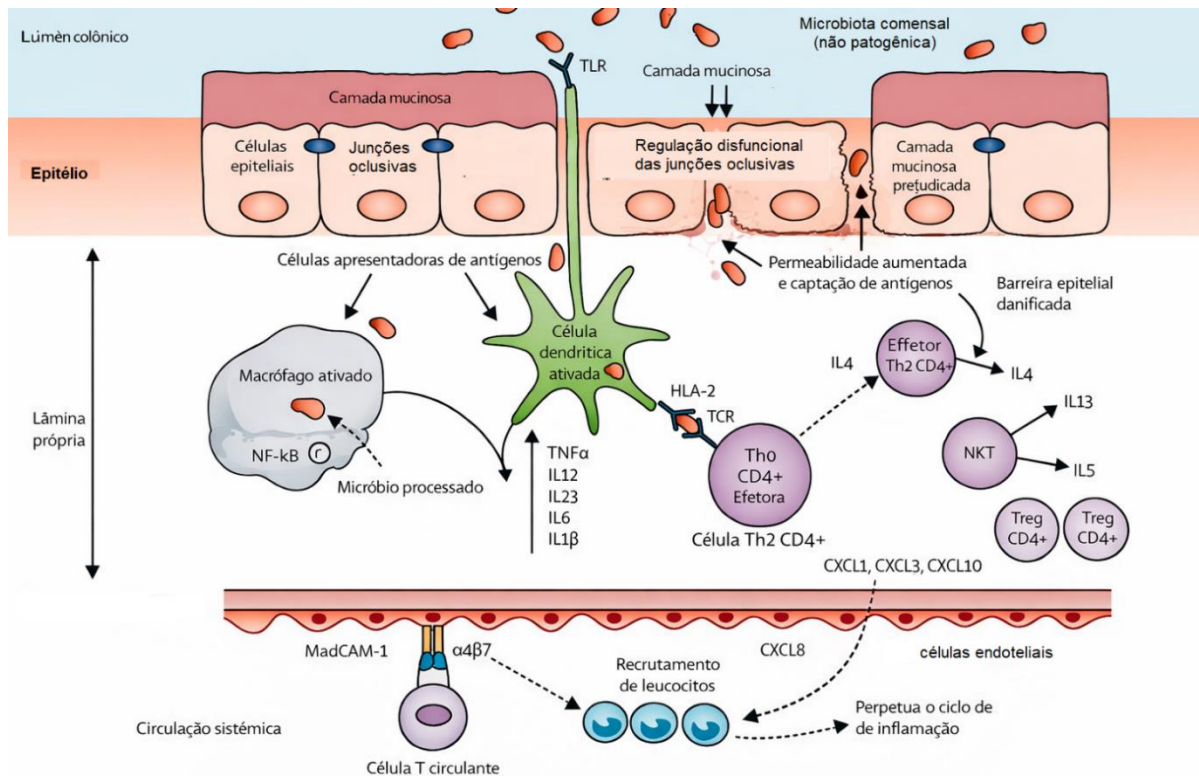
3.1 COLITES ULCERATIVAS

A colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal crônica de origem multifatorial cuja etiologia e patogênese ainda não são totalmente compreendidas, na qual reações anormais do sistema imunológico causam inflamação e úlceras no revestimento interno do intestino grosso, na maioria dos casos na região do cólon e reto, podendo se manifestar em pacientes de qualquer idade, sendo mais comum em pessoas entre 15 e 30 anos (Kucharzik et al. 2020; Niddk, S/A; Pedro, 2015).

A camada mais externa da mucosa, conhecida como epitélio, é coberta por uma espessa camada de mucina, que fornece a primeira linha de defesa para o sistema imunológico intestinal, pois, além de fornecer uma separação física entre antígenos e células imunes intestinais, possui propriedades antimicrobianas (Ordas et al. 2012; Du e Ha, 2020).

Em um quadro de colite ulcerativa, a síntese e a secreção de mucina são prejudicadas, dessa forma, uma lesão no epitélio leva ao aumento da permeabilidade da mucosa a patógenos luminiais, resultando em aumento da captação desses antígenos e aumento do potencial de estimulação do sistema imunológico do intestino, conforme apresentado na Figura 1. Como a colite ulcerativa tende a se limitar às camadas mucosa e submucosa do cólon, as células epiteliais (colonócitos) estão fortemente envolvidas na patogênese da doença. Acredita-se que os colonócitos na colite ulcerativa possuam expressão prejudicada do receptor g ativado por proliferador de peroxissoma (PPARg), um receptor nuclear que regula negativamente a inflamação (Ordas et al. 2012; Du e Ha, 2020).

Figura 1- Fisiopatologia da colite ulcerativa



Adaptado de: Ordás, I. Eckmann, L. et al. Ulcerative colitis. Lancet 2012; 380: 1606–19.

A ativação da resposta imune inata por antígenos ocorre por meio de células apresentadoras de antígenos e células T, que estimulam uma cascata inflamatória que envolve também a ativação do sistema imunológico adaptativo, sugerindo que essas células desempenham um papel importante na geração de inflamação. Essas células dendríticas expressam uma abundância de receptores TLR que usam o reconhecimento de padrões de patógenos para sinalizar a ativação de vários fatores de transcrição, como o fator de transcrição nuclear fator kappa B (NF-κB), que desencadeiam cascatas inflamatórias. Essas cascatas inflamatórias resultam na produção de citocinas pró-inflamatórias, notadamente fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interleucinas (IL) (Ordas et al. 2012; Du e Ha, 2020).

Uma das funções importantes dessas citocinas pró-inflamatórias é a transdução de sinais por meio de proteínas intracelulares, como as Janus quinases (JAK), que potencializam ainda mais a ativação e a proliferação de linfócitos. Essas citocinas pró-inflamatórias e proteínas intracelulares são os alvos de muitos dos tratamentos atualmente disponíveis para colite ulcerativa moderada a grave, incluindo

os anticorpos monoclonais para os receptores TNF- α e IL-12/23 (Ordas et al. 2012; Du e Ha, 2020; Kaenkumchorn e Wahbeh, 2020).

A colite ulcerativa também é caracterizada por uma desregulação do sistema imunológico adaptativo, com desequilíbrio entre as células T reguladoras e as células T efectoras, particularmente as células T-helper (Th2). A resposta Th2 ativa células T natural killer no cólon, que secretam várias citocinas após estimulação, incluindo IL-13, que induz a apoptose de células epiteliais e interrompe as junções estreitas. Os leucócitos circulantes também são recrutados para a mucosa inflamada, o que potencializa ainda mais a resposta inflamatória. Esse efeito é largamente mediado por citocinas, que estimulam a expressão de moléculas de adesão no endotélio vascular dos vasos sanguíneos, promovendo, assim, a adesão e o extravasamento de leucócitos para o tecido (Ordas et al., 2012; Du e Ha, 2020).

Os sintomas da colite ulcerativa variam de pessoa para pessoa e podem incluir diarreia, eliminação de sangue nas fezes e dor abdominal, e o tratamento dessa patologia é realizado com medicamentos para reduzir a inflamação no intestino grosso e ajudar a iniciar e manter a remissão da doença (Niddk, S/A).

Os pacientes com colite ulcerativa leve a moderada apresentam melhora do quadro clínico com uma abordagem terapêutica focada nos sintomas utilizando formulações tópicas (supositórios e enemas) contendo o ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), e em alguns casos, em associação com 5-ASA via oral, entretanto os pacientes podem manifestar os efeitos colaterais associados ao 5-ASA que incluem sintomas do trato digestivo (por exemplo, flatulência, dor abdominal, náusea e diarreia), dor de cabeça e piora da colite ulcerativa (Adams e Bornemann, 2013; Kobayashi et al. 2020; Niddk, S/A; Murray et al. 2020)

Em pacientes que falham com esta terapia de primeira linha, os corticosteróides orais são recomendados. No entanto, os corticosteróides devem ser reduzidos após atingir a remissão clínica para evitar efeitos adversos, enquanto a terapia com 5-ASA é continuada para manutenção da remissão (Freitas e Souza, 2007; Kobayashi et al. 2020; Niddk, S/A).

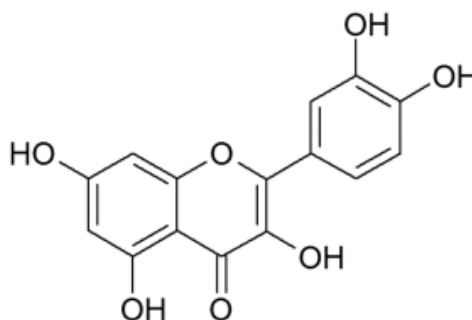
Recentemente, outros fármacos estão sendo avaliados para o tratamento da colite ulcerativa, como, por exemplo, a QC, um flavonoide vegetal típico, que possui uma variedade de atividades farmacológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e anti-anafiláticos (Andrade, 2021; Ding et al. 2013; Li et al. 2016; Pedro, 2015; Silva et al. 2002; Matsuda et al. 2003).

3.2 ASPECTOS BIOFARMACÊUTICOS DA QUERCETINA

A QC é classificada como um flavonol, uma das seis subclasses de compostos flavonoides, que possui inúmeras propriedades benéficas e está presente em uma variedade de fontes alimentares, como cerejas, maçãs, vinho tinto, alcaparras e cebolas roxas. Tanto a quercetina como seus derivados estão envolvidos em diversas funções fisiológicas, exercendo propriedades anti-inflamatórias, anti-infecciosas, anticancerígenas/quimiopreventivas, neuroprotetoras, dentre outras (Li et al. 2016; Carullo et al. 2017).

O flavonol QC (3,3',4,5,7-pentahidroxiflavona) é um dos polifenóis naturais mais abundantes, sua ocorrência como metabólito secundário de plantas é bastante difundida no reino vegetal, onde está presente principalmente na forma de glicosídeos de QC (molécula de QC conjugada com resíduos de açúcar). Sua estrutura química está representada na Figura 2 que corresponde à fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_7$, sendo caracterizada fisicamente como uma substância sólida de cor amarela nas condições ambiente e sua temperatura de fusão é de 316 °C (Erlund *et al.* 2000; Andres *et al.* 2017)

Figura 2- Estrutura química da quercetina



Fonte: Andres, S. Pevny, S. et al. Safety Aspects of the Use of Quercetin as a Dietary Supplement. **Mol. Nutr. Food Res.** 2018, 62, 1700447.

Apesar das atividades farmacológicas atraentes, a QC apresenta baixa solubilidade e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade oral, baixa estabilidade e alta depuração, o que prejudica sua administração para a finalidade terapêutica. Muitas técnicas altamente avançadas estão em estudo para quebrar essa barreira, incluindo microemulsões, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, sistemas de cristal líquido, lipossomas e sistemas precursores de quercetina (Hussain et al. 2017; Pinheiro et al. 2021).

A fim de superar as deficiências acima da QC e alcançar uma melhor eficácia clínica, os novos sistemas de administração de medicamentos estão sendo desenvolvidos para oferecer vantagens, como reduzir o tamanho das partículas, aumentar a área de superfície, aumentar a permeabilidade do fármaco, melhorar a distribuição do fármaco, melhorar o direcionamento do fármaco e assim por diante. (Li et al. 2018; Pinheiro et al. 2021)

A aplicação da nanotecnologia a extratos de plantas tem sido amplamente descrita na literatura, pois as nanoestruturas podem induzir a atividade significativa de extratos de plantas, facilitar a liberação sustentada de compostos bioativos, reduzir as quantidades necessárias (doses), minimizar os efeitos colaterais e aumentar o potencial terapêutico na forma de biodisponibilidade aumentada (Hussain et al. 2017; Pinheiro et al. 2021)

Assim, usar sistemas de entrega baseados em nanotecnologia é uma estratégia interessante para otimizar as propriedades mais desejáveis de uma formulação (Hussain et al. 2017; Pinheiro et al. 2021).

3.3 NANOTECNOLOGIA NAS CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

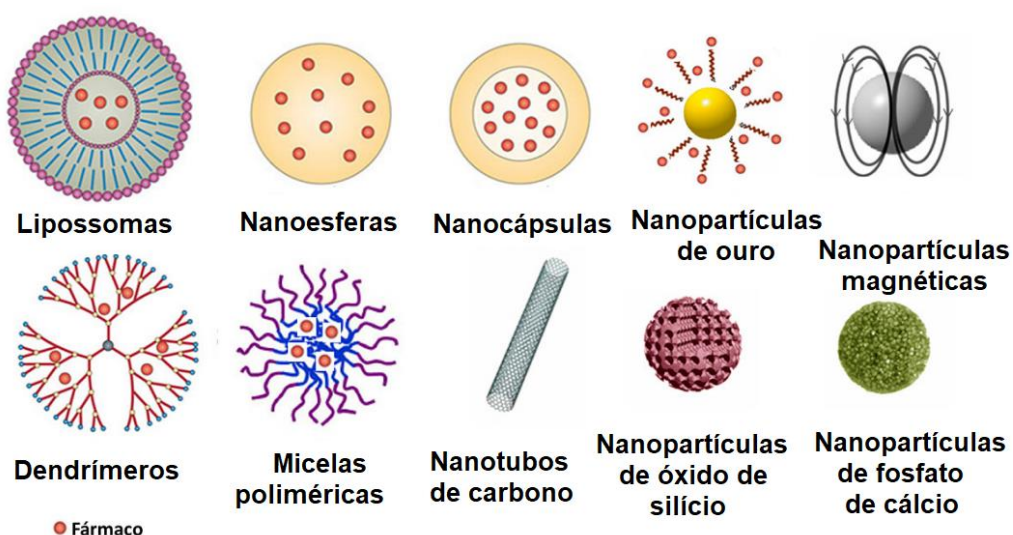
A descoberta de novos fármacos e o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes são áreas de interesse da indústria farmacêutica, visto que ainda existem muitas limitações nos tratamentos de saúde. O emprego de novas tecnologias na produção de medicamentos tem como objetivo um melhor direcionamento dos fármacos ao local de ação, sem que haja acúmulo em outros tecidos e assim ocorra a diminuição dos efeitos adversos, além disso, proporcionar uma liberação progressiva do fármaco durante um maior período de tempo, sem que haja necessidade da administração do medicamento repetidas vezes ao longo do dia e mantendo-se níveis eficazes e seguros do fármaco em seu local de ação durante todo o período de tratamento acaba sendo mais viável para o paciente (Matos et al. 2015).

O uso de nanocarreadores demonstra um grande avanço na resolução de problemas relacionados à baixa disponibilidade, à baixa solubilidade e à instabilidade química que alguns fármacos apresentam. Além disso, os carreadores nanoestruturados são capazes de promover a liberação controlada de fármacos, melhorar sua absorção e direcionar as moléculas do princípio ativo ao sítio de ação (Kim et al. 2010; Sbalqueiro, 2018).

A nanotecnologia farmacêutica é a área das ciências farmacêuticas envolvida no desenvolvimento, na caracterização e na aplicação de sistemas terapêuticos em escala nanométrica ou micrométrica. Numerosos estudos descreveram a importância do tamanho de partícula nanométrico, ou seja, 1-1000 nm, na passagem por barreiras biológicas, na internalização celular melhorada, na farmacocinética e na farmacodinâmica (Pimentel et al. 2007; Sakata et al. 2007; Shah et al. 2022).

Uma das muitas aplicações da nanotecnologia está relacionada à sua capacidade de encapsular ingredientes de formulação e substâncias de interesse farmacêutico e cosmético. Existem inúmeros sistemas nanométricos de entrega de fármacos, como as nanopartículas lipídicas, as micelas poliméricas, os nanocristais e as nanopartículas poliméricas, entre outros apresentados na Figura 3 (Rodríguez et al. 2019).

Figura 3 - Sistemas nanométricos

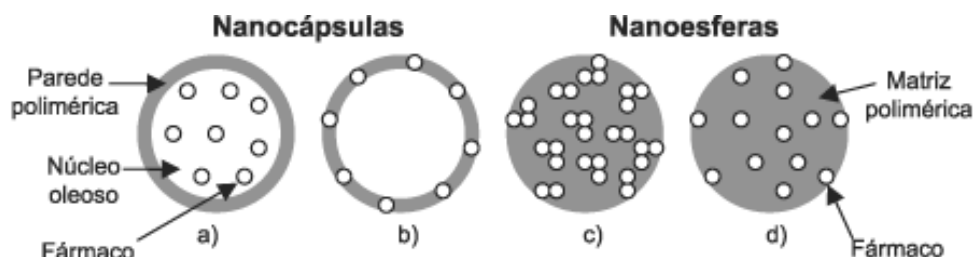


Fonte: Adaptado de Alcalá-Alcalá & Quintanar-Guerrero, La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. **Mundo Nano | Artículos** Vol. 7, No. 12, enero-junio, 2014.

As nanopartículas poliméricas são sistemas carreadores de fármacos com diâmetro inferior a 1 μm . O termo nanopartícula inclui as nanocápsulas e as nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e organização estrutural, sendo o sistema nanométrico composto de pelo menos dois componentes: o princípio ativo, ou molécula biologicamente ativa, e o próprio sistema (Camargo, 2020; Schaffazick et al. 2003).

As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. Por outro lado, as nanoesferas não apresentam óleo em sua composição e são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido conforme apresentado na Figura 4 (Camargo, 2020; Schaffazick et al. 2003; Souto et al. 2012).

Figura 4 - Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas



Fonte: Schaffazick, S. R. Guterres, S. S. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

As nanocápsulas poliméricas são um dos nanossistemas mais estudados em nanotecnologia, evidenciando um diâmetro entre 200 e 300 nm. O mecanismo de encapsulamento, as propriedades químicas e de viscosidade dos ingredientes, o tamanho e o comportamento de liberação do ingrediente ativo são as principais características responsáveis pela extensão da liberação dos ingredientes ativos (Santos et al. 2019).

O interesse das nanocápsulas poliméricas baseia-se em sua capacidade de alterar as características físico-químicas dos ingredientes ativos, controlando, assim, sua eficácia. Nesse sentido, o tamanho reduzido das partículas facilita a melhor permeação nos tecidos-alvo, e as mudanças de superfície favorecem um efeito mais prolongado, levando a um melhor reconhecimento do local-alvo (Frank et al. 2015).

3.4 SISTEMAS DE ADMINISTRAÇÃO ORAL E LIBERAÇÃO COLÔNICA

A ingestão oral continua a ser o modo de administração preferido para a maioria dos fármacos, em grande parte, por sua simplicidade. A via oral está associada ao maior grau de adesão do paciente (especialmente para condições crônicas), pois

garante comodidade, permite a autoadministração e oferece grande flexibilidade no regime de dosagem (Date et al. 2016).

Por outro lado, muitos fármacos não desempenham papel satisfatório ao serem administrados em formas farmacêuticas convencionais, pois estão suscetíveis à degradação e à absorção no trato gastrointestinal, não sendo efetivos, por exemplo, em doenças inflamatórias na região do cólon.

A entrega colônica de fármacos tem sido de grande interesse no tratamento de várias doenças intestinais, como a doença inflamatória intestinal, o câncer de cólon, a síndrome do intestino irritável, a colite ulcerativa, a diverticulite, a dismotilidade colônica e as doenças parasitárias. Visar o cólon também é uma estratégia para melhorar a absorção sistêmica de macromoléculas, devido à menor atividade proteolítica, diminuição da atividade do CYP3A4, diminuição da expressão de P-gp e aumento do tempo de trânsito em comparação com o intestino delgado (Date et al. 2016; Wathoni et al. 2020).

No entanto, o fato do cólon ser a extremidade distal do trato gastrintestinal representa desafios significativos para o direcionamento oral de nanopartículas. As nanopartículas devem ser capazes de resistir (ou minimizar) a liberação dos fármacos no estômago e no intestino delgado, apesar da ampla faixa de pH encontrada e da presença de várias enzimas digestivas. Além disso, a liberação do fármaco deve ser acionada assim que as nanopartículas entrarem no cólon (Date et al. 2016; Wathoni et al. 2020).

O sistema de entrega de fármacos com nanopartículas com revestimento entérico representa uma excelente modificação para melhorar a eficácia e o desempenho de fármacos anti-inflamatórios para a colite ulcerativa na via oral de administração. As nanopartículas com revestimento entérico com um perfil de liberação sustentada aumentam significativamente o efeito anti-inflamatório dos fármacos e atingem a entrega-alvo específica da célula (Wathoni *et al.* 2020).

3.5 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros biodegradáveis são amplamente utilizados na pesquisa de liberação de fármacos, pois entregam eficientemente o fármaco no local-alvo e, assim, aumentam o benefício terapêutico com efeitos colaterais mínimos. Desde os últimos anos, os polímeros biodegradáveis de alto peso molecular, como a heparina, o ácido

hialurônico e o dextrano, têm desempenhado um papel importante como transportadores adequados para drogas, proteínas e ácidos nucleicos (Liu et al. 2008).

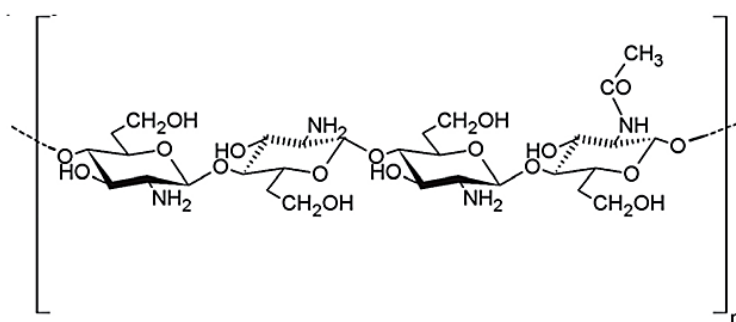
No entanto, Nakamura e colaboradores (1992) apontaram que polímeros biodegradáveis de alto peso molecular degradam lentamente *in vivo*, o que pode levar ao risco de acúmulo nos tecidos. Como resultado, os polímeros biodegradáveis de baixo peso molecular ganharam uma atenção considerável como potenciais sistemas de entrega devido à sua maior permeabilidade, solubilidade e eficiência de associação devido ao seu menor tamanho de partícula (George et al. 2019; Ghosh, 2010).

Dentre os polímeros biodegradáveis que têm desempenhado um papel importante na entrega de drogas de forma controlada e direcionada, temos a quitosana, amplamente pesquisada devido às suas propriedades favoráveis. Uma ampla gama de sistemas de entrega de fármacos à base de quitosana foi relatada para o tratamento de várias doenças e distúrbios (Rashki et al. 2021; Gonzalez e Esteban, 2022; Zhang et al. 2019).

3.5.1 Quitosana

A quitosana é um dos principais derivados da quitina, encontrada na casca de camarões e caranguejos e na parede celular de fungos. Trata-se de um polissacarídeo natural, catiônico, hidrofílico e de caráter básico, cuja estrutura química está representada na Figura 5. É obtida por hidrólise alcalina da quitina e constitui um polímero biocompatível e não tóxico, formado por unidades de *D*-glucosamina (desacetiladas) e *N*-acetil-*D*-glucosamina (acetiladas), distribuídas aleatoriamente, apresentando propriedades mucoadesivas.

Figura 5 - Estrutura química da quitosana



Fonte: Adaptado de: Santos, et al. Quitosana: da Química Básica à Bioengenharia. **Quím. nova esc.** - São Paulo. Vol 39, nº 4, p. 312-320, novembro 2017.

As propriedades biológicas e químicas da quitosana conferem a esse polímero ampla aplicabilidade nas áreas biomédica e farmacêutica, com destaque para sistemas de liberação de fármacos. Sua natureza policatiónica favorece a bioadesão e a solubilidade em meio ácido, permitindo a interação com superfícies carregadas negativamente, como membranas mucosas, o que contribui para o aumento do tempo de residência e da permeação de substâncias ativas (Jaferník et al., 2023).

O pKa da quitosana é aproximadamente 6,3, sendo, portanto, solúvel em meios ácidos e insolúvel em condições básicas. Em faixas de pH próximas à neutralidade (6,0–6,5), observa-se tendência à autoagregação do polímero (Kumar et al., 2004). Considerando que apenas os grupos amino não acetilados são passíveis de protonação, a solubilidade da quitosana depende principalmente do grau de desacetilação, bem como da força iônica do meio e da distribuição dos grupos acetil ao longo da cadeia polimérica (Berth; Dautzenberg, 2002). A quitosana também é caracterizada por biocompatibilidade superior e baixa toxicidade devido à sua afinidade estrutural natural com os glicosaminoglicanos. É prontamente biodegradável em metabólitos não tóxicos que são completamente absorvidos pelo corpo humano (Jaferník et al. 2023; Ahmed e Aljaeid, 2016).

Em se tratando de administração oral para liberação colônica, a quitosana apresenta vantagens de uso por ser degradada por enzimas específicas da microbiota colônica, garantindo a liberação do fármaco no tecido-alvo. Esse polímero natural resiste à digestão pelas enzimas do trato gastrointestinal superior, permanecendo estável até chegar ao cólon. Nesse local, enzimas produzidas por bactérias da microbiota colônica, como beta-glicosidase e N-acetilglucosaminidase, são capazes de romper as ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) entre os monômeros de *D*-glicosamina e *N*-acetil-*D*-glicosamina presentes na estrutura da quitosana (Sinha, 2004; Chaudhury, 2010).

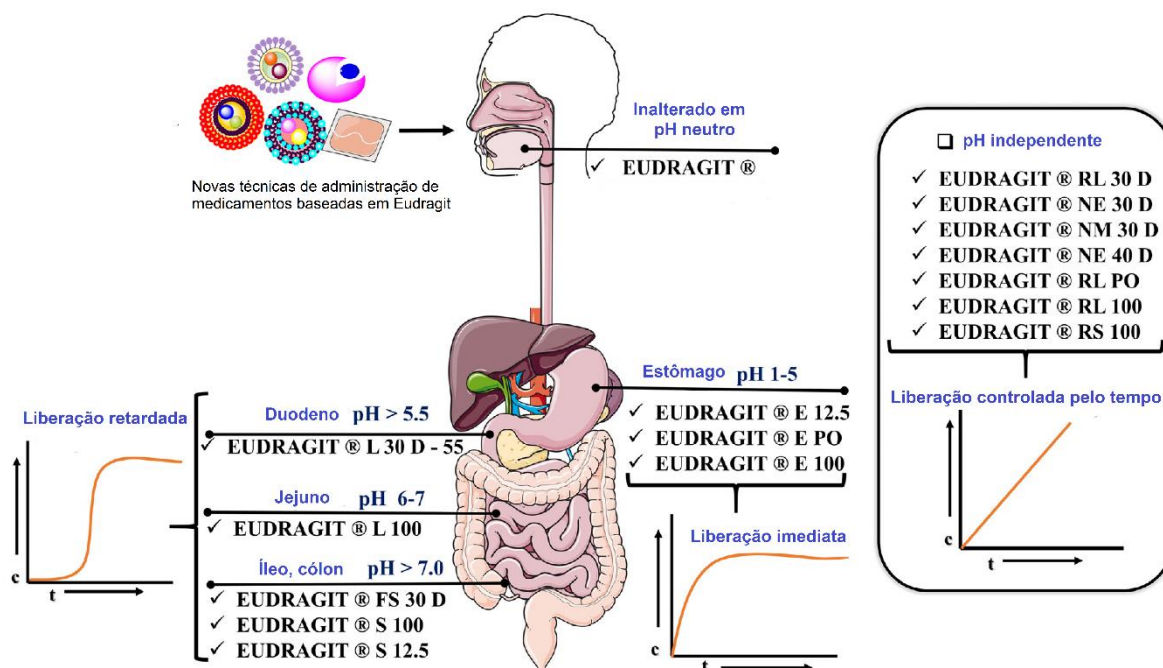
Essa degradação sítio-específica permite a liberação controlada de fármacos encapsulados, favorecendo a biodisponibilidade de compostos sensíveis ao ambiente gástrico e proporcionando vantagens terapêuticas no tratamento de doenças localizadas no cólon, como a colite ulcerativa (Thanou, 2001; Takeuchi, 2001).

3.6 EUDRAGIT

Os polímeros Eudragit® são obtidos sinteticamente a partir dos ésteres dos ácidos acrílico e metacrílico. Nos últimos anos, têm demonstrado grande potencial em

formulações farmacêuticas, sendo aplicados tanto em sistemas convencionais quanto em sistemas de liberação modificada. Essa versatilidade permite a incorporação de uma ampla variedade de agentes terapêuticos, como proteínas, vitaminas, hormônios, vacinas e material genético (Jain et al. 2020).

Figura 6 - Representação esquemática dos diferentes polímeros Eudragit® e seus perfis de liberação de fármacos ao longo do trato gastrointestinal



Fonte: Adaptado de Jain et al. (2020).

Os Eudragit® podem ser classificados, de forma geral, em polímeros dependentes de pH e independentes de pH (Figura 6). Os polímeros dependentes de pH, como Eudragit® L e S, são projetados para se dissolverem em regiões específicas do trato gastrointestinal. O Eudragit® L (como L 100 e L 30 D-55) é solúvel em pH acima de aproximadamente 5,5–6, sendo indicado para liberação no duodeno e jejuno. Já o Eudragit® S (como S 100) apresenta solubilidade em pH superior a 7, sendo utilizado para direcionar a liberação ao íleo e ao cólon, o que é particularmente interessante em tratamentos de doenças intestinais, como a colite ulcerativa (Evonik, 2020; Thakkar; Patel, 2011).

Por outro lado, os polímeros independentes de pH, como Eudragit® RL e RS, não apresentam dissolução dependente do pH, mas sim diferentes graus de permeabilidade. O Eudragit® RL possui maior quantidade de grupos amônio quaternário, conferindo maior permeabilidade à matriz polimérica, enquanto o

Eudragit® RS apresenta menor permeabilidade, promovendo uma liberação mais lenta do fármaco. Esses polímeros são amplamente utilizados em sistemas de liberação controlada ao longo do tempo, independentemente do pH do meio (Siepmann; Siepmann, 2012; Das; Das, 2003).

Além disso, os polímeros da série Eudragit® E são caracterizados por sua solubilidade em meio ácido ($\text{pH} < 5$), sendo empregados principalmente para liberação imediata no estômago ou para mascaramento de sabor, uma vez que permanecem insolúveis em pH neutro. Essa propriedade é especialmente útil em formulações orais que requerem rápida dissolução em ambiente gástrico (Evonik, 2020; Felton, 2013).

A versatilidade dos polímeros Eudragit® permite o desenvolvimento de sistemas de liberação direcionada e controlada, sendo amplamente explorada em tecnologias farmacêuticas modernas. A combinação entre diferentes tipos de Eudragit® possibilita a modulação precisa do perfil de liberação, ajustando tanto a cinética quanto o local de ação do fármaco (Siepmann; Peppas, 2011; Felton, 2013).

Nesse contexto, o Eudragit® S100 destaca-se como um dos polímeros entéricos mais utilizados para o direcionamento de fármacos ao cólon, devido à sua solubilidade em pH mais elevado. Essa característica permite proteger o fármaco da degradação no ambiente gástrico e promover sua liberação em regiões mais distais do trato gastrointestinal (Jain et al., 2020).

Assim, a incorporação do Eudragit® em sistemas nanoparticulados, como nanocápsulas de quitosana, representa uma estratégia promissora para o tratamento de doenças inflamatórias intestinais, pois favorece a liberação localizada do fármaco, podendo aumentar sua biodisponibilidade e reduzir efeitos adversos associados à exposição sistêmica (Kumari et al. 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

- Quercetina ($\geq 95\%$, SIGMA-ALDRICH Brasil Ltda, Cotia, Brasil)
- Quitosana (baixo peso molecular, SIGMA-ALDRICH Brasil Ltda, Cotia, Brasil)
- Eudragit® S100 (Evonik Industries AG, Darmstadt, Alemanha)
- Trifosfato de sódio pentabásico (TPP) SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, EUA.
- Polietilenoglicol (PEG 400)
- KBr (Biotec EIRELI-ME, São José dos Pinhais, Brasil)
- NaOH (VetecQuimica Fina Ltda, Rio de Janeiro, Brasil)
- Água destilada (modelo 724/2-A, FANEM LTDA, São Paulo, Brasil)
- Água ultrapura (Milli-Q®, MILLIPORE, Bedford, MA, Estados Unidos)
- Ácido acético Glacial (Biotec EIRELI-ME, São José dos Pinhais, Brasil)
- Metanol grau HPLC (LichrosolvReag. PhEur Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Tubo para centrifuga (Amicon® Ultra 10.000 MW Millipore, Bedford, MA, EUA)
- Lactose monohidratada P.A. (Biotec, Produtos Químicos, São José dos Pinhaisrasil);
- Mucina de porco (Tipo II, da mucosa gástrica, grau reagente, CAS: 84082-64-4) – Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA.
- Albumina sérica suína (Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA))

4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

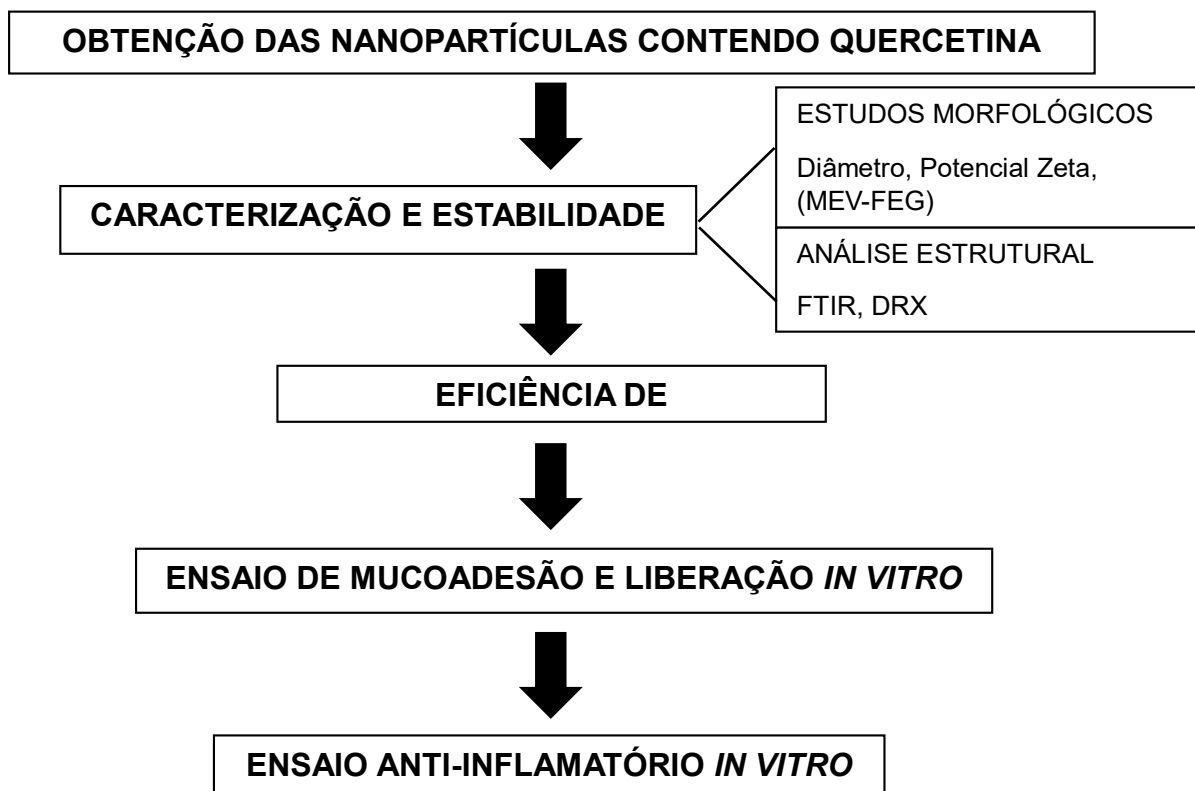
- Agitador magnético (FISATOM, modelo Q261-22, Diadema, Brasil).
- Balança analítica (CELTAC, modelo FA2104N, São Paulo, Brasil)
- Centrífuga (Hermle Z326K, Wehingen, Alemanha)
- Centrífuga (BioEng, BE-4004, Curitiba, Brasil)
- Espectrômetro infravermelho com transformada de Fourier (SHIMADZU, modelo IR Prestige-21, Quioto, Japã o).
- Metalizador (SHIMADZU, modelo IC-50 IonCoater, Quioto, Japã o).
- Microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (TESCAN, modelo Mira 3, Brno, República Tcheca).
- Zetasizer Nanoseries (Malvern Instruments, NANO ZS 90, Malvern Reino Unido).

- Liofilizador (LIOTOP, L2020, São Paulo, Brasil);
- Agitador orbital shaker (ETHIK TECHNOLOGY, modelo 530-D, São Paulo, Brasil);
- Difratorômetro de raio X modelo Ultima IV (RIGAKU, Tóquio, Japão)

4.3 DESENHO EXPERIMENTAL

A pesquisa iniciou-se com a obtenção das nanopartículas poliméricas pela técnica de gelificação ionotrópica. Na sequência, as nanopartículas foram caracterizadas por meio de estudos morfológicos e espectroscópicos. Após isso, realizou-se o ensaio de eficiência de encapsulação do fármaco, seguido do ensaio de mucoadesão *in vitro* das nanopartículas poliméricas de quitosana contendo quercetina, utilizando mucina de porco. O perfil de dissolução e a atividade anti-inflamatória foram avaliados por meio de métodos *in vitro*. As etapas descritas estão esquematizadas no fluxograma da Figura 7.

Figura 7 - Fluxograma das etapas da pesquisa



4.4 PREPARO DAS NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas poliméricas de quitosana recobertas com Eudragit® S100 foram preparadas pelo método de gelificação ionotrópica, com adaptações, conforme descrito por Soni et al. (2021). A Tabela 1 apresenta a composição detalhada de cada formulação desenvolvida.

Tabela 1 - Formulação das nanopartículas poliméricas

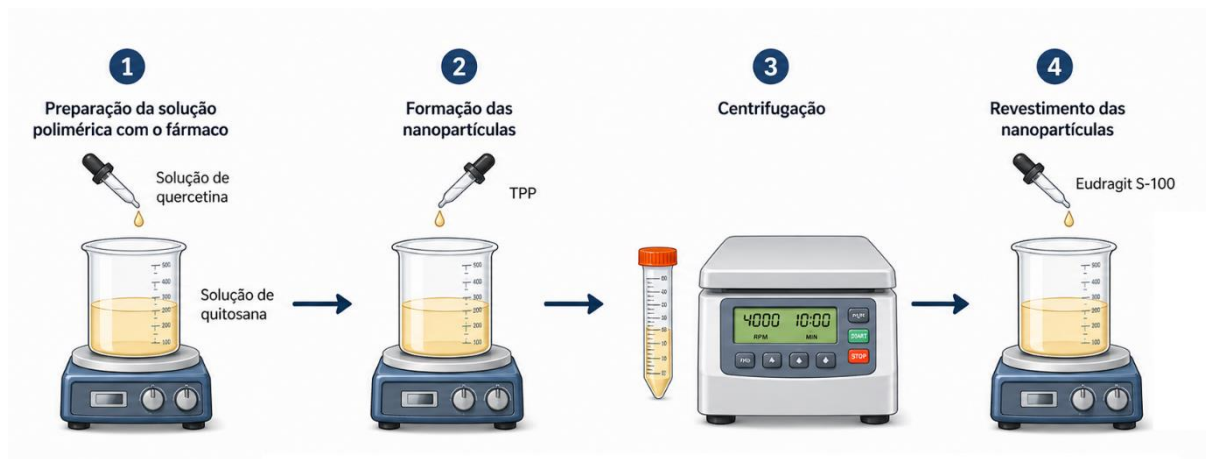
Composição	Formulação			
	NB1	NB3	NQ1	NQ3
Quitosana 2mg/mL (mL)	10	10	10	10
Quercetina 5% (m/m)* (μL)	-	-	10	20
TPP 0,05% (mL)	2	-	2	-
TPP 0,1% (mL)	-	2	-	2
Eudragit® S100 1mg/mL (mL)	5	5	5	5

*solução de quercetina a 5% (m/m) em PEG 400. TPP - tripolifosfato de sódio

Fonte: O autor

Inicialmente, a quitosana foi dissolvida em solução de ácido acético a 1% (v/v), na concentração de 2 mg/mL. Para a incorporação do fármaco, preparou-se uma solução de quercetina a 5% (m/m) em polietilenoglicol 400 (PEG 400), correspondente a 5 mg de quercetina em 100 mg de PEG 400. Volumes de 10 μL e 20 μL dessa solução foram adicionados às formulações NQ1 e NQ3, respectivamente. As misturas foram mantidas sob agitação magnética a 800 rpm por 1 hora para promover a interação entre os componentes. Posteriormente, 2 mL de solução de tripolifosfato de sódio (TPP) foram adicionados lentamente, por gotejamento, promovendo a formação de nanopartículas por gelificação ionotrópica, evidenciada pelo aparecimento de turbidez coloidal (Figura 8). A suspensão resultante foi então submetida à centrifugação a 10.000 rpm, por 15 minutos, e 5 mL do sobrenadante foram coletados. Posteriormente, adicionou-se gradualmente uma solução de Eudragit® S100 (1 mg/mL) à suspensão de nanopartículas de quitosana, mantendo-se a agitação a 800 rpm por 1 hora para promover o recobrimento polimérico, conforme descrito por Mohanbhai et al. (2022). Por fim, as formulações obtidas foram liofilizadas e armazenadas para análises posteriores.

Figura 8 - Esquema do método de obtenção das nanopartículas poliméricas contendo quercetina preparadas pelo método de gelificação ionotrópica



TPP: tripolifosfato de sódio

Fonte: O autor

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA CONTENDO QUERCETINA

4.5.1 Determinação do diâmetro médio e potencial zeta

O diâmetro hidrodinâmico, o índice de polidispersidade (IPD) e o potencial zeta foram medidos pela espectroscopia de correlação de fótons (PCS) de acordo com o espalhamento dinâmico da luz (DLS) após a diluição de uma alíquota da suspensão de nanopartículas em água ultrapurificada (1:10 e 1:100) em equipamento Zetasizer® Nano ZS90 (Malvern Instruments, Reino Unido) com ângulo de detecção de 90° em temperatura de 25 °C (Camargo et al. 2021).

4.5.2 Análise da morfologia e superfície

A avaliação morfológica e da superfície das nanopartículas foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG). Para a análise, uma alíquota da nanosuspensão foi depositada sobre suporte apropriado e submetida à secagem em estufa, visando a evaporação do solvente. Após a secagem, as amostras foram fixadas em suportes metálicos e recobertas com uma fina camada condutora, para permitir a aquisição das imagens (Camargo et al. 2021)

4.5.3 Análise por espectroscopia na região do infravermelho

As nanosuspensões foram liofilizadas e analisadas por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr), empregando 4 mg de cada amostra e 196 mg de KBr grau espectroscópico (2%, m/m), no equipamento IR Prestige-21 na faixa de 4000-400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e 64 scans/min (Camargo et al. 2021).

4.5.4 Avaliação por difração de raio-X

Os compostos foram analisados em difratômetro de raio X modelo Ultima IV (RIGAKU, Tóquio, Japão), operado com scan de $2^\circ.\text{min}^{-1}$, 2θ e varredura de 5° a 50° , radiação $\text{K}\alpha$ de cobre ($\lambda=1.5418\text{\AA}$), corrente de 30 mA e voltagem 40 kV (Macedo, 2024).

4.6 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS NANOPARTÍCULAS

A estabilidade das nanopartículas foi avaliada ao longo de 90 dias, sendo analisadas nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta. Durante o período experimental, as nanosuspensões foram mantidas sob refrigeração ($4 \pm 2^\circ\text{C}$).

Todas as amostras foram analisadas em triplicata, e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os dados obtidos foram analisados utilizando o software GraphPad Prism, versão 6.01 para Windows. A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey, considerando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4.7 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE INCORPORAÇÃO

A quantificação de quercetina foi realizada por método direto, com base na quantificação da fração incorporada presente no precipitado obtido após a centrifugação da suspensão nanoparticulada a 10.000 rpm por 30 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado contendo as nanopartículas foi cuidadosamente coletado. O precipitado foi então dissolvido em 1

mL de metanol grau HPLC, assegurando a ruptura da matriz polimérica e a liberação da quercetina incorporada. A concentração de quercetina foi determinada por espectrofotometria UV-Vis, em comprimento de onda de 373 nm, utilizando uma curva de calibração construída com soluções padrão de quercetina em metanol nas concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Macedo, 2024). A equação da reta obtida foi:

$$y = 0,074683x + 0,00222 \quad (R^2 = 0,99)$$

onde y representa a absorbância e x a concentração de quercetina ($\mu\text{g/mL}$). Essa equação foi utilizada para calcular a concentração de quercetina incorporada a partir da absorbância das amostras. A eficiência de incorporação (EI%) foi calculada conforme a equação:

$$EI \% = \left(\frac{Q_{incorporada}}{Q_{total}} \right) \times 100$$

onde Q_{total} corresponde à quantidade total de quercetina inicialmente adicionada à formulação e $Q_{incorporada}$ à quantidade de quercetina recuperada no precipitado após centrifugação.

4.8 ESTUDO DE MUCOADESIVIDADE

A mucoadesividade das formulações nanoparticuladas foi avaliada *in vitro* por meio da interação com mucina de porco, utilizada como modelo de mucosa biológica. O objetivo foi avaliar a capacidade das nanopartículas de interagir com a mucina, simulando o contato com o muco presente nas superfícies do trato gastrointestinal.

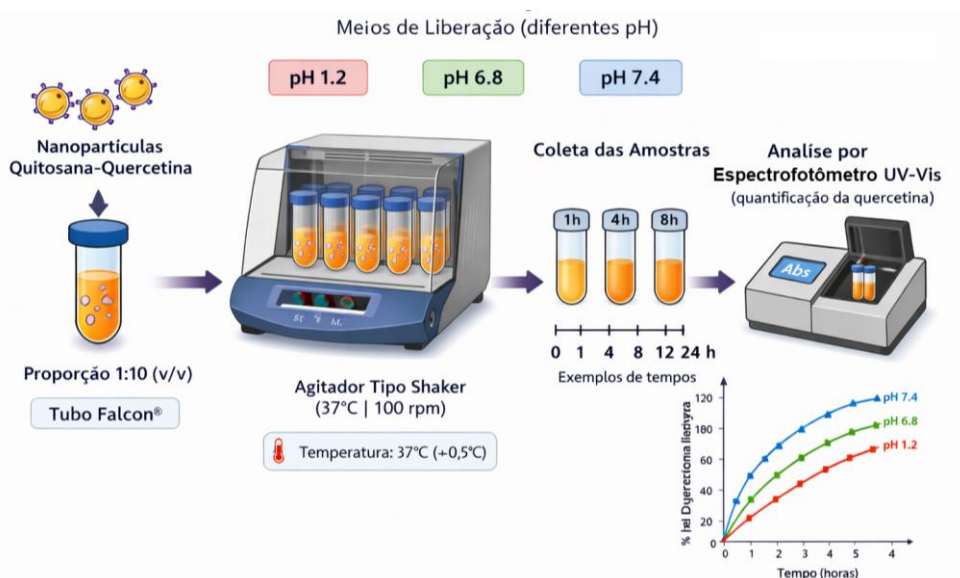
Para isso, foram preparadas soluções de mucina em diferentes concentrações: 0,1%, 0,25% e 0,5% (m/v), previamente dissolvidas em tampão fosfato (pH 6,8) sob agitação magnética. As suspensões das nanopartículas foram incubadas com cada uma dessas soluções de mucina a 37 °C com agitação a 70 rpm por 30 minutos (Ludwig et al 2025).

O tamanho de partícula, PDI e potencial zeta dos sistemas nanoparticulados foram avaliados antes e depois da interação com mucina e a interação mucoadesiva foi inferida a partir de alterações significativas nesses parâmetros físicos.

4.9 ENSAIO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

O perfil de liberação *in vitro* da quercetina a partir das nanopartículas foi avaliado, seguindo adaptações ao método descrito por Turanli e Acartürk (2022). O ensaio foi conduzido em agitador orbital do tipo shaker a 100 rpm a 37 °C (430-RDBP, ETHIK TECHNOLOGY, Brasil) (Figura 9).

Figura 9 - Representação esquemática do procedimento experimental do ensaio de liberação *in vitro* das nanopartículas de quitosana contendo quercetina.



Fonte: O autor

Para o ensaio, tubos Falcon foram preparados com as suspensões contendo as nanopartículas e o meio de dissolução na proporção de 1:10 (v/v). Foram utilizados diferentes meios de dissolução, preparados com solução de ácido clorídrico (HCl) e tampão fosfato ajustado a diferentes valores de pH, a fim de simular as condições fisiológicas do trato gastrointestinal. Aos meios de dissolução foi adicionado 0,5% de Tween 80, com o objetivo de favorecer a solubilização da quercetina. Foram avaliadas três condições de pH: meio ácido (pH 1,2) preparado com solução de HCl, e tampão fosfato PBS ajustado para pH 6,8 e PBS pH 7,4, sendo cada condição experimental conduzida de forma independente.

Para o ensaio em pH 1,2, as amostras foram incubadas por 2 horas, com coleta de alíquotas de 2 mL a cada 30 minutos. Para os ensaios conduzidos em PBS pH 6,8 e PBS pH 7,4, as amostras foram avaliadas por um período de 6 horas, com coletas realizadas a cada 1 hora. Após cada coleta, o volume retirado foi imediatamente

reposto com igual volume de meio fresco previamente aquecido, de modo a manter o volume constante do sistema e garantir condições *sink* durante o ensaio.

A quantificação da quercetina liberada foi realizada pelo método espectrofotométrico previamente validado, utilizando comprimento de onda de 373 nm. Para isso, as amostras foram centrifugadas em ultracentrífuga (10.000 rpm, por 10 minutos, a 4 °C), e o sobrenadante obtido foi utilizado para a determinação da concentração de quercetina (Macedo, 2024).

4.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

A atividade anti-inflamatória das formulações foi avaliada por meio do ensaio de inibição da desnaturação da albumina, seguindo a metodologia descrita por Pandiyan et al. (2022), com algumas modificações. As amostras de nanopartículas contendo quercetina (NQ) foram preparadas nas concentrações de 10 e 25 µg/mL para a formulação NQ1 e de 10, 25 e 50 µg/mL para a formulação NQ3. As nanopartículas vazias (NB1 e NB3) foram preparadas nas mesmas concentrações correspondentes, permitindo a comparação entre as formulações com e sem o composto ativo.

Para o ensaio, foram adicionados 500 µL de solução de albumina a 0,5% a 500 µL de cada amostra de nanopartículas carregadas (NQ1 e NQ3) ou vazias (NB1 e NB3), totalizando 1 mL de mistura reacional em tubos de ensaio. Paralelamente, foram preparados tubos para avaliação do branco das nanopartículas (branco NP), contendo 500 µL da dispersão de nanopartículas e 500 µL de tampão fosfato (pH 6,8), sem a adição da albumina, utilizados para correção de possíveis interferências das nanopartículas na leitura espectrofotométrica devido à turbidez inata das nanosuspensões. A amostra controle foi preparada, sendo composta por 500 µL de solução de albumina e 500 µL de tampão fosfato (pH 6,8).

As misturas foram inicialmente incubadas a 37 °C por 10 minutos e a absorbância foi determinada a 660 nm em espectrofotômetro. Em seguida, as amostras foram submetidas a aquecimento a 70 °C por 5 minutos para induzir a desnaturação proteica, sendo posteriormente mantidas em repouso por 10 minutos à temperatura ambiente. Após esse período, as leituras de absorbância foram realizadas novamente no mesmo comprimento de onda, a fim de se obter a variação da absorbância antes e após o aquecimento (ΔA).

A porcentagem de inibição da desnaturação da albumina foi calculada utilizando-se a equação:

$$\% \text{ Inibição} = \left(\frac{\Delta A_{\text{controle}} - (\Delta A_{\text{amostra}} - \Delta A_{\text{branco.NP}})}{\Delta A_{\text{controle}}} \right) \times 100$$

em que ΔA corresponde à diferença entre as leituras de absorbância obtidas antes e após o aquecimento de todas as amostras (nanopartículas carregadas e vazias, branco NP e controle).

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

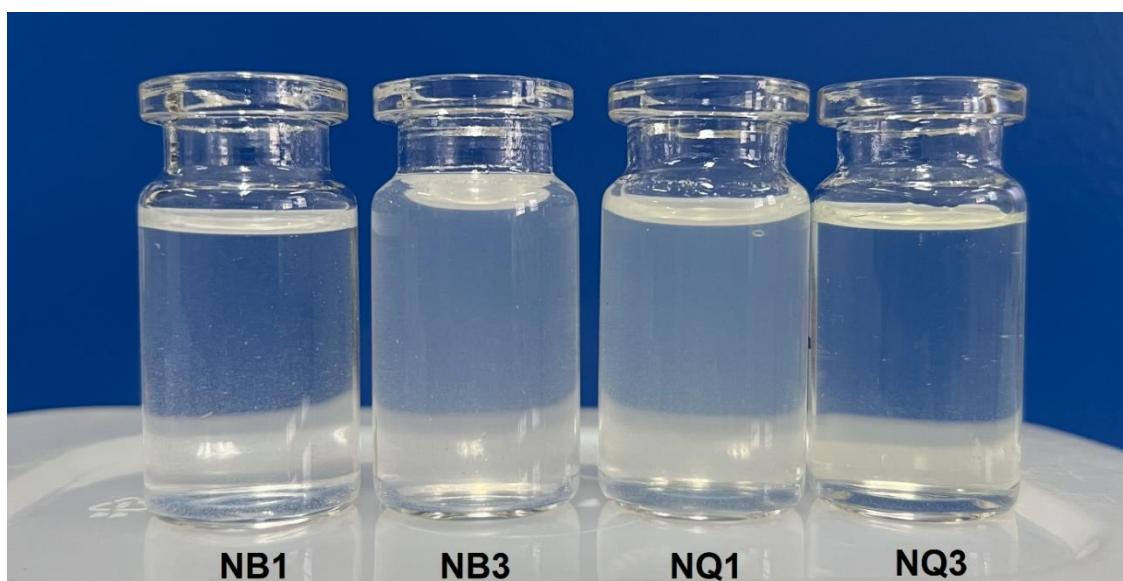
Todas as análises foram realizadas com o software estatístico GraphPadPrism versão 6 (San Diego, CA, EUA) e os resultados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. A significância estatística entre os grupos foi avaliada por ANOVA, seguida pelo teste post-hoc de Tukey. O nível de significância aceito para os testes foi $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO QUERCETINA

As nanopartículas poliméricas foram obtidas com sucesso por meio da técnica de gelificação ionotrópica. As formulações apresentaram aspecto claro e transparente, exibindo leve turbidez (Figura 10). Todas as suspensões mantiveram-se visualmente homogêneas durante o período inicial após o preparo, com volume final de 10 mL.

Figura 10 - Nanopartículas poliméricas preparadas pela técnica de gelificação ionotrópica



Fonte: O autor

A técnica de preparo utilizada baseia-se na formação de uma rede polimérica por meio de reticulação iônica, resultante das interações eletrostáticas entre os grupos amino protonados da quitosana e os grupos fosfato do agente reticulante, o tripolifosfato de sódio (TPP). Em meio ácido, os grupos amino da quitosana encontram-se protonados, conferindo caráter catiônico à molécula. A adição gradual do TPP, um polifosfato aniônico, promove a formação de pontes iônicas entre as cadeias poliméricas, levando à organização estrutural e à formação das nanopartículas por gelificação ionotrópica (Gadziński et al. 2022; Huang; Lapitsky, 2012).

A concentração de quercetina incorporada nas formulações foi de 0,05 mg/mL para NQ1 e 0,1 mg/mL para NQ3, definida com base em estudos prévios e na

viabilidade de encapsulamento da substância em sistemas poliméricos à base de quitosana, sendo compatível com o perfil lipofílico da quercetina e com a capacidade da matriz de quitosana em encapsular compostos hidrofóbicos (Abbaszadeh et al. 2020; Mu et al. 2024).

5.2 DETERMINAÇÃO DA QUERCETINA INCORPORADA NAS NANOPARTICULAS

A eficiência de incorporação (EI) das formulações foi avaliada com o objetivo de quantificar a fração de quercetina efetivamente incorporada às nanopartículas durante o processo de preparação. Os resultados obtidos demonstraram valores elevados de EI para ambas as concentrações de TPP testadas, sendo de $90,63 \pm 0,071\%$ para as nanopartículas preparadas com 0,05% de TPP (NQ1), e $85,63 \pm 0,23\%$ para aquelas com 0,1% de TPP (NQ3). Esses valores indicam que o sistema baseado em quitosana apresenta elevada capacidade de incorporar compostos lipofílicos como a quercetina, o que pode ser atribuído à presença de grupos amino protonados na quitosana, que interagem com o fármaco por meio de interações eletrostáticas (Jaferník et al. 2023).

A redução da EI com o aumento da concentração de TPP pode estar relacionada à maior densidade de reticulação iônica na matriz polimérica, o que pode restringir o espaço disponível para o fármaco ou promover a exclusão de moléculas não incorporadas durante a formação da rede. Esses achados estão de acordo com os estudos de Huang & Lapitsky, 2012; Mohanbhai et al. 2022. Zhou, 2022; Choudhary, 2020 que relatam eficiências de incorporação variando entre 70% e 90% em sistemas semelhantes, dependendo das proporções dos reagentes e das condições de preparo.

Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que a técnica de gelificação ionotrópica empregada foi eficaz na incorporação da quercetina, com excelente desempenho mesmo em concentrações baixas de agente reticulante, o que pode representar uma vantagem em termos de custo e biocompatibilidade do sistema final.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

5.3.1 Determinação do Diâmetro Médio e Potencial Zeta

Os resultados da determinação do tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão para as nanopartículas poliméricas estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das nanopartículas poliméricas.

Formulação	Tamanho de partícula (nm)		Índice de Polidispersão		Potencial Zeta (mV)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
NB1	329,30	67,22	0,36	0,20	48,26	1,25
NQ1	264,83	8,68	0,22	0,06	45,13	6,36
NB3	296,03	53,58	0,29	0,17	41,53	10,08
NQ3	306,66	17,74	0,32	0,27	41,16	2,30

Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as formulações para os parâmetros avaliados ($p > 0,05$), conforme análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey.

Fonte: O autor

Em relação ao tamanho médio de partícula, as formulações apresentaram valores médios entre 264,83 nm (NQ1) e 329,30 nm (NB1), resultados compatíveis com a literatura para nanopartículas poliméricas preparadas pelo método da gelificação ionotrópica. Segundo o teste ANOVA, não houve diferença estatística entre o tamanho das nanopartículas, dessa forma, todas apresentam diâmetro médio similar (Ciocheta, 2017; Alehosseini, 2022; Aguilera et al. 2025; Elmowafy et al. 2023).

O índice de polidispersão (PDI) variou de $0,225 \pm 0,067$ (NQ1) a $0,364 \pm 0,209$ (NB1). Apesar da variação observada entre as formulações, todos os valores permaneceram abaixo de 0,4, indicando uma distribuição de tamanho aceitável para sistemas nanoparticulados. O menor PDI foi observado na formulação NQ1, indicando uma população de partículas mais homogênea. Ainda assim, não houve diferença

estatisticamente significativa entre os grupos avaliados quanto a esse parâmetro (Danaei et al., 2018).

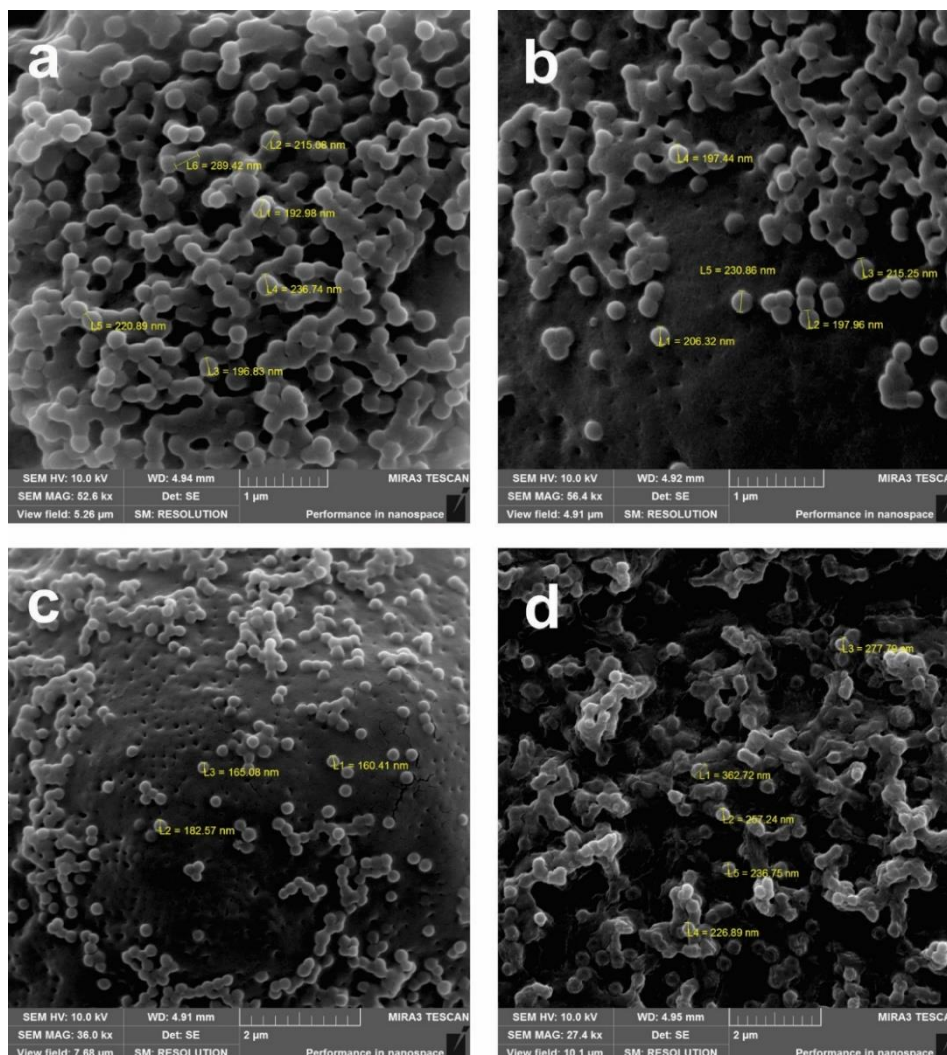
Os valores de potencial zeta ficaram entre $41,16 \pm 2,30$ mV (NQ3) e $48,26 \pm 1,25$ mV (NB1). Todas as formulações apresentaram cargas positivas, atribuídas à presença da quitosana, um polímero catiônico. Esses valores indicam boa estabilidade eletrostática das nanopartículas, já que potenciais acima de +30 mV geralmente indicam repulsão suficiente para evitar a agregação das partículas. A análise estatística também demonstrou que não houve diferença significativa no potencial zeta entre as formulações ($p > 0,05$) (Warsito et al. 2020; Honary e Zahir, 2013).

De maneira geral, os resultados sugerem que as variações nas formulações, incluindo a adição de quercetina, não tiveram impacto significativo nas propriedades físico-químicas das nanopartículas, indicando que a metodologia de preparação utilizada é robusta e reproduzível.

5.4 ANÁLISE DA MORFOLOGIA E SUPERFÍCIE

A morfologia das nanopartículas foi analisada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG), conforme ilustrado na Figura 11.

Figura 11- Fotomicrografias das nanopartículas poliméricas liofilizadas: (a) NB-1; (b) NB-3; (c) NQ-1; (d) NQ-3 por MEV-FEG.



Fonte: O autor

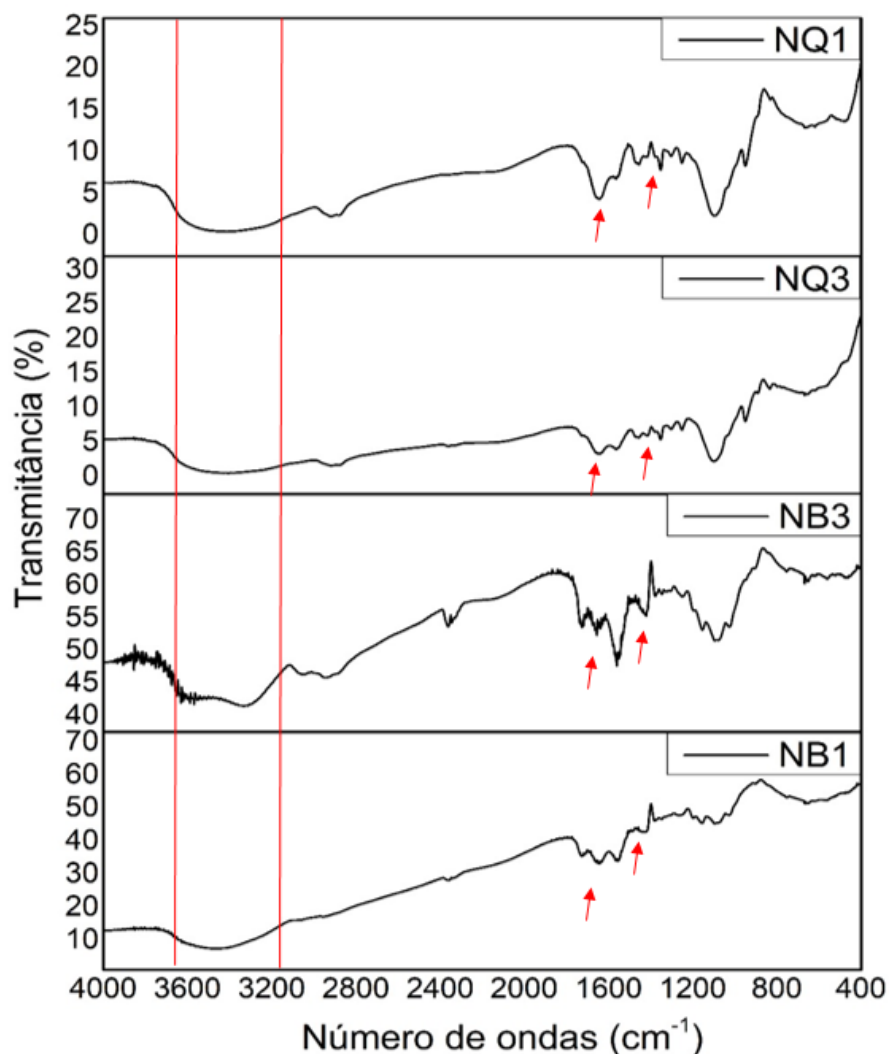
As imagens mostram que todas as formulações apresentaram partículas com formato predominantemente esférico e tendência à agregação superficial. No entanto, observa-se que as formulações contendo quercetina, em especial NQ1, exibiram partículas com morfologia mais regular e esférica em comparação às formulações sem o fármaco (NB1 e NB3), que apresentaram maior variabilidade de forma e contornos menos definidos. Essa maior uniformidade nas amostras com quercetina pode estar relacionada à interação do fármaco com os componentes da matriz polimérica, o que favorece uma organização mais simétrica durante o processo de formação das nanopartículas. As medidas de tamanho obtidas diretamente nas imagens estão de acordo com os dados obtidos por DLS, reforçando a consistência entre as técnicas empregadas.

Por fim, os resultados observados nas formulações NQ1 e NQ3 estão em concordância com estudos anteriores que empregam quitosana e quercetina por meio de gelificação ionotrópica ou nanoprecipitação. Por exemplo, Kim et al. (2021) relataram partículas com morfologia semelhante por microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão e tamanho dentro da mesma faixa. Estudos adicionais mostram que a quercetina reforça a esfericidade das partículas, especialmente em sistemas fluorescentes, corroborando a influência positiva do fármaco na organização matricial.

5.5 Análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) foi utilizada para verificar a presença de grupos funcionais nas estruturas das nanopartículas poliméricas e avaliar o perfil dos espectros obtidos por esta técnica. A Figura 12 apresenta os espectros obtidos para cada formulação.

Figura 12 - Espectros de FTIR das nanopartículas poliméricas (2 cm⁻¹, 64 scans, pastilha com KBr)



Fonte: O autor

A Figura 12 apresenta os espectros de FTIR das formulações NB1, NB3 (nanopartículas vazias) e NQ1, NQ3 (nanopartículas contendo quercetina). Em todos os espectros, observa-se uma banda larga na região de 3200–3400 cm⁻¹, atribuída às vibrações de estiramento dos grupos hidroxila (–OH), característica tanto da quitosana quanto da quercetina. Essa banda aparece mais intensa nas formulações com quercetina (NQ1 e NQ3), sugerindo a presença do fármaco e possíveis interações intermoleculares com os grupos funcionais da matriz polimérica (Erdoğan, 2023; Pavia et al. 2010; Taubner, 2020; Rosiak et al. 2023).

A banda em 1643 cm⁻¹ e 1654 cm⁻¹ no espectro de NB1 e NB3, respectivamente, pode ser atribuída, às vibrações de estiramento C=O (ligação amida

I), enquanto que em 1728 cm^{-1} e 1718 cm^{-1} estão relacionadas às vibrações N–H (ligação amida II), típicas da quitosana. Nas amostras NQ1 e NQ3, essas bandas apresentaram deslocamentos sutis em relação às formulações NB1 e NB3, indicando possíveis interações entre os grupos funcionais da quercetina e da quitosana, como interações de hidrogênio (Erdoğan, 2023; Pavia et al. 2010; Taubner, 2020; Rosiak et al. 2023).

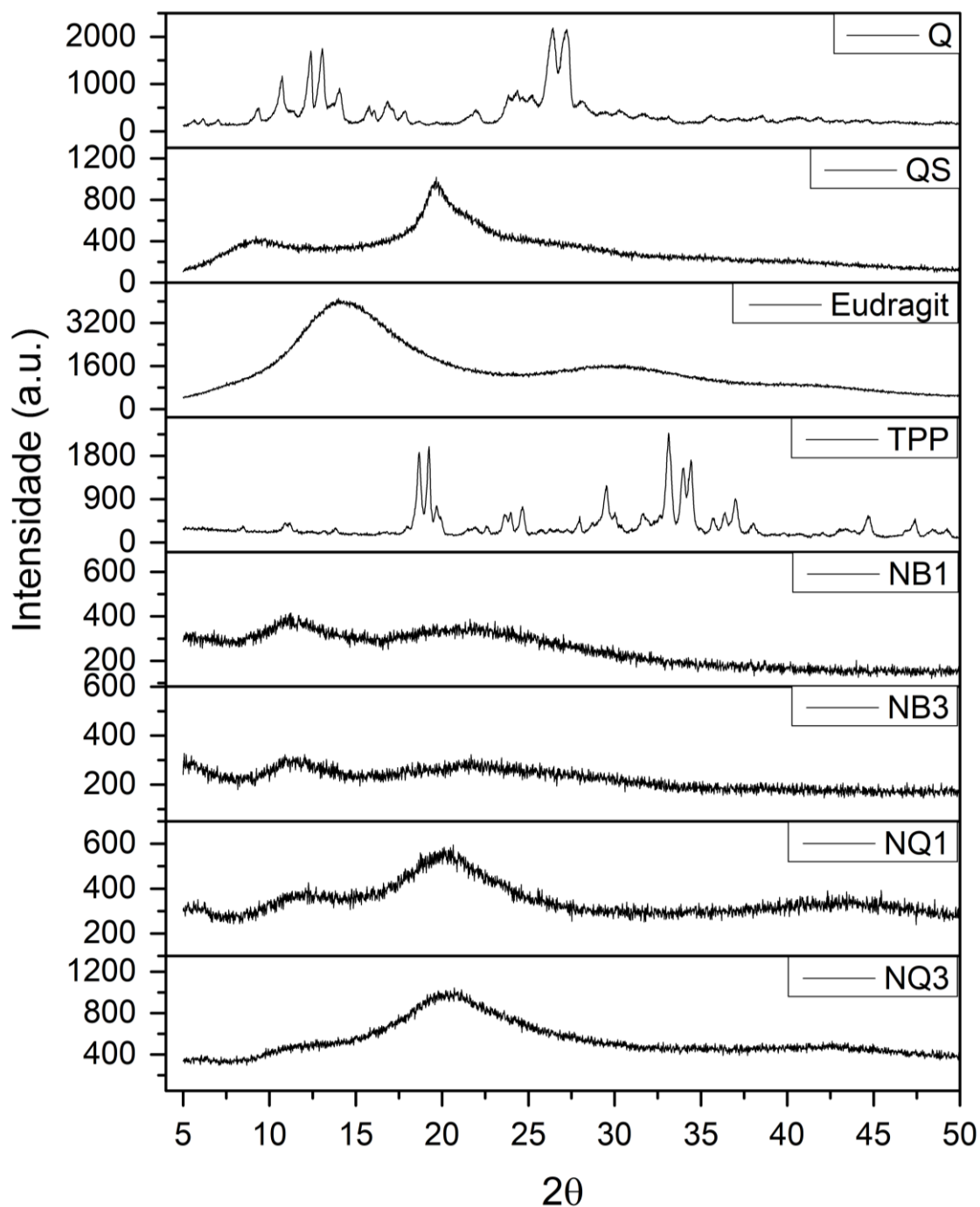
Além disso, bandas características da quercetina podem ser observadas nas amostras NQ1 (1357 cm^{-1}) e NQ3 (1350 cm^{-1}) na região de $1500\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$, atribuídas às vibrações de anéis aromáticos e de grupos fenólicos. A presença dessas bandas nas formulações contendo o fármaco sugerem sua incorporação na matriz nanoparticulada (Pavia et al. 2010; Rosiak et al. 2023).

Portanto, os espectros de FTIR corroboram a presença da quercetina nas formulações NQ1 e NQ3 e indicam a existência de interações físico-químicas entre o fármaco e os componentes poliméricos das formulações.

5.6 Análise por Difração de Raios X

A Figura 13 apresenta os difratogramas de raios X da quercetina (QC), quitosana (QS), tripolifosfato (TPP), Eudragit® e das nanopartículas desenvolvidas (NB1, NB3, NQ1 e NQ3). A quercetina pura (Q) apresentou múltiplos picos intensos e bem definidos ao longo da faixa de 2θ , característicos de um material altamente cristalino, conforme amplamente descrito na literatura (Li et al., 2009; Kumari et al., 2010; Dash, 2010). Esse comportamento está associado à elevada organização estrutural do fármaco no estado sólido, fator que contribui para sua baixa solubilidade em meio aquoso.

Figura 13 - Difratomogramas de raios X (DRX) das matérias-primas e das nanopartículas



Fonte: O autor

A quitosana (QS) apresentou um halo amplo centrado em aproximadamente 20° , evidenciando seu caráter predominantemente amorfo ou semicristalino, típico de polímeros naturais. De forma semelhante, o Eudragit® exibiu perfil difuso, sem picos definidos, confirmando sua natureza amorfa. Em contrapartida, o TPP apresentou picos bem definidos, indicando estrutura cristalina. Esses resultados estão de acordo

com a literatura, que descreve a quitosana e polímeros acrílicos como materiais amorfos e o TPP como um composto cristalino (Rinaudo, 2006; Dash et al. 2011; Thakral et al. 2013; Patel, 2012)

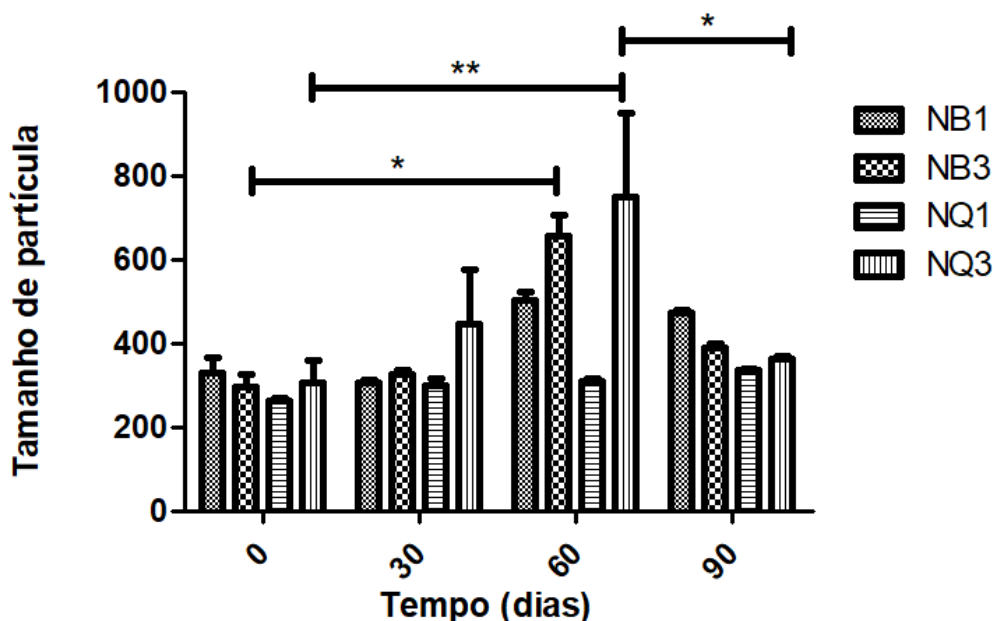
As nanopartículas brancas (NB1 e NB3) apresentaram difratogramas caracterizados por halos amplos e ausência de picos cristalinos definidos, evidenciando a formação de uma matriz predominantemente amorfa. Esse comportamento pode ser atribuído à interação entre a quitosana e o TPP durante o processo de gelificação ionotrópica, que promove reorganização estrutural e redução da cristalinidade dos componentes individuais. A formação de sistemas amorfos em nanopartículas poliméricas é frequentemente relatada na literatura e está associada à reticulação entre polímeros e agentes reticulantes (Calvo et al., 1997; Grenha, 2012).

De maneira semelhante, as formulações contendo quercetina (NQ1 e NQ3) também exibiram perfis predominantemente amorfos, sem a presença dos picos cristalinos característicos da quercetina, sugerindo que o processo de nanoparticulação promoveu a dispersão do fármaco na matriz polimérica, possivelmente em estado amorfo ou molecularmente distribuído. Entre essas formulações, a NQ1 apresentou um halo amorfo menos intenso, com discreto alargamento na região próxima a 20°, enquanto a NQ3 exibiu uma banda amorfa mais pronunciada na mesma região. A ausência de reflexões cristalinas da quercetina indica que sua incorporação às nanopartículas ocorreu sem manutenção de sua estrutura cristalina original, o que é compatível com uma elevada eficiência de encapsulamento e maior interação entre o fármaco e a matriz polimérica.

5.7 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS NANOPARTÍCULAS

A estabilidade das formulações foi avaliada nos tempos de 0, 30, 60 e 90 dias, por meio da análise do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta. As variações nesses parâmetros permitem identificar possíveis alterações no sistema, como agregação, aumento da heterogeneidade e mudanças na carga superficial das nanopartículas (Kumari et al., 2010; Honary; Zahir, 2013).

Figura 14 - Variação do tamanho de partícula das nanopartículas ao longo do estudo de estabilidade (0, 30, 60 e 90 dias)



Fonte: O autor

A variação do tamanho de partícula das formulações ao longo de 90 dias de armazenamento está apresentada na Figura 14. De modo geral, observa-se que as formulações apresentaram comportamento relativamente estável ao longo do período, com variações mais pronunciadas aos 60 dias.

No tempo inicial (0 dias), todas as formulações exibiram tamanhos de partícula na faixa de aproximadamente 260 a 330 nm, sem diferenças expressivas entre si. Após 30 dias, verificou-se um leve aumento no tamanho das partículas, especialmente para a formulação NQ3, indicando possível início de processos de reorganização estrutural ou interação entre partículas (Honary e Zahir, 2013).

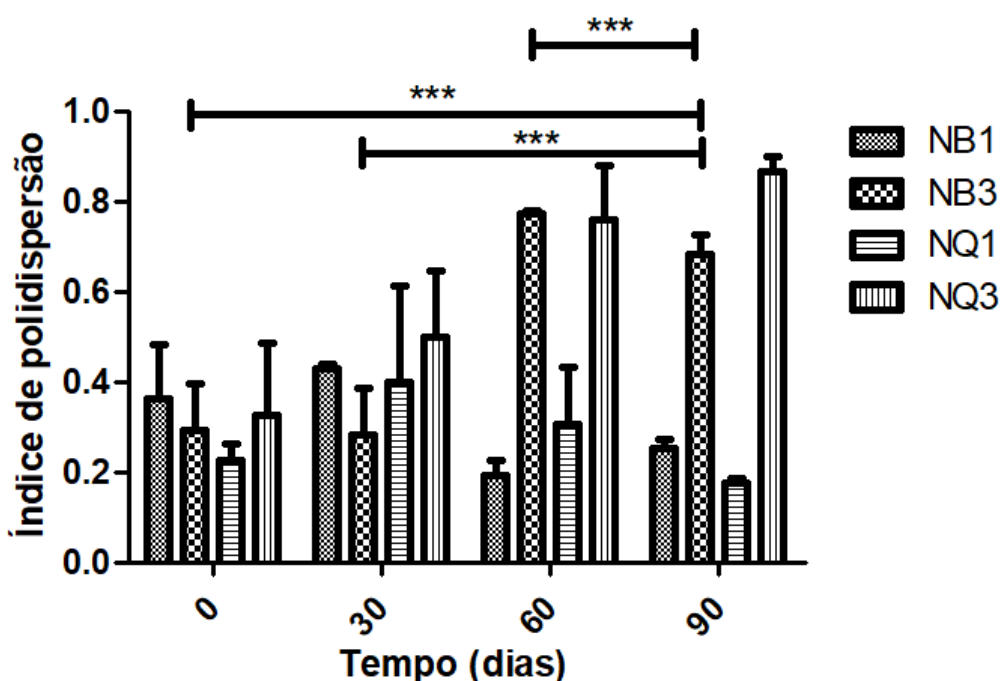
Aos 60 dias, observou-se aumento mais acentuado no tamanho de partícula para algumas formulações, com destaque para NQ3, que apresentou os maiores valores, seguido por NB3 e NQ1. Esse aumento foi estatisticamente significativo em comparação com tempos anteriores ($p < 0,05$; $*p < 0,01$), sugerindo a ocorrência de agregação parcial ou instabilidade transitória do sistema.

Entretanto, aos 90 dias, os valores de tamanho de partícula retornaram a faixas próximas às iniciais, indicando possível reequilíbrio do sistema coloidal. Esse comportamento sugere que, apesar das variações intermediárias, as formulações

mantiveram sua integridade estrutural ao longo do armazenamento sob refrigeração (4 °C) (Kumari et al., 2010; Honary; Zahir, 2013).

De maneira geral, as formulações contendo quercetina (NQ1 e NQ3) apresentaram maior variação ao longo do tempo, possivelmente devido à interação do fármaco com a matriz polimérica, o que pode influenciar a organização interna das nanopartículas. Ainda assim, a ausência de aumento progressivo e irreversível no tamanho de partícula indica adequada estabilidade coloidal dos sistemas desenvolvidos.

Figura 15 - Variação do índice de polidispersão (IPD) das nanopartículas ao longo do estudo de estabilidade (0, 30, 60 e 90 dias)



Fonte: O autor

A variação do índice de polidispersão (IPD) das formulações ao longo de 90 dias está apresentada na Figura 15. No tempo inicial (0 dias), todas as formulações apresentaram valores de IPD inferiores a 0,5, indicando distribuição de tamanho relativamente homogênea e adequada dispersão do sistema nanoparticulado.

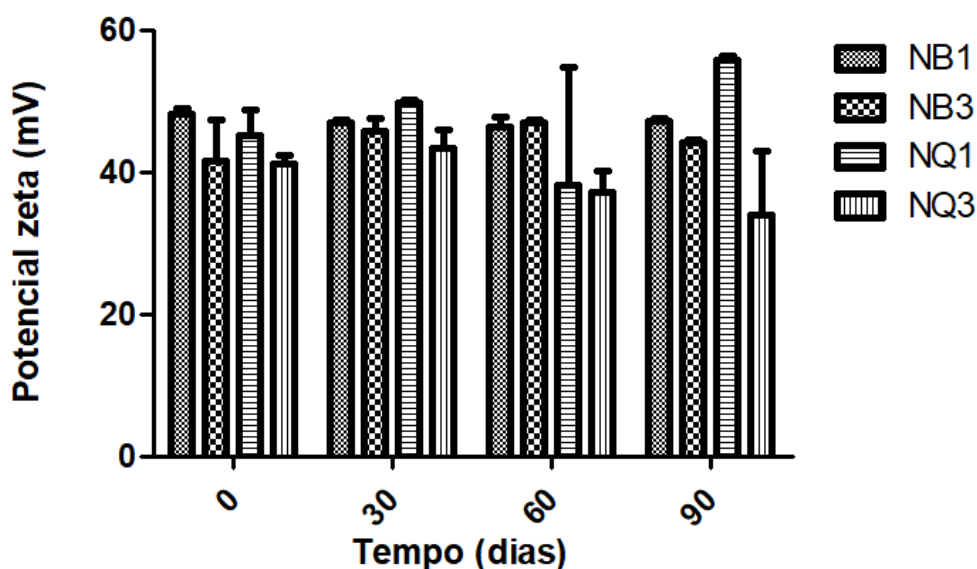
Ao longo do período de armazenamento, observou-se aumento nos valores de IPD, especialmente a partir de 60 dias, com destaque para as formulações NB3 e NQ3, que apresentaram valores mais elevados. Esse aumento foi estatisticamente

significativo (**p < 0,001), indicando maior heterogeneidade do sistema e possível ocorrência de agregação ou reorganização das partículas (Danaei, 2018).

A formulação NQ3 apresentou os maiores valores de IPD ao longo do tempo, atingindo valores próximos de 0,9 aos 90 dias, sugerindo maior instabilidade e distribuição de tamanho mais ampla. Em contraste, a formulação NQ1 manteve valores de IPD relativamente baixos ao longo do período, indicando maior homogeneidade e melhor estabilidade coloidal.

De maneira geral, o aumento do IPD ao longo do tempo sugere que, apesar de as nanopartículas manterem dimensões médias dentro da faixa nanométrica, houve aumento na dispersidade do sistema, possivelmente relacionado a processos de agregação parcial ou interação entre partículas. Esse comportamento é coerente com as variações observadas no tamanho de partícula, reforçando a influência do tempo de armazenamento na organização do sistema nanoparticulado (Bhattacharjee, 2016; Mohanraj; Chen, 2006).

Figura 16 - Variação do potencial zeta das nanopartículas ao longo do estudo de estabilidade (0, 30, 60 e 90 dias)



Fonte: O autor

Os valores de potencial zeta das formulações ao longo de 90 dias de armazenamento estão apresentados na Figura 16. De modo geral, todas as formulações apresentaram valores elevados de potencial zeta, variando

aproximadamente entre +40 e +55 mV, indicando boa estabilidade eletrostática do sistema nanoparticulado.

A análise estatística não demonstrou diferenças significativas entre as formulações nem ao longo do tempo ($p > 0,05$), sugerindo que a carga superficial das nanopartículas permaneceu estável durante todo o período de armazenamento.

Pequenas variações nos valores de potencial zeta foram observadas entre os tempos avaliados, com destaque para a formulação NQ1 aos 90 dias, que apresentou valores mais elevados, e para NQ3, que exibiu uma leve redução ao longo do tempo. No entanto, essas variações não foram estatisticamente significativas e não comprometem a estabilidade coloidal do sistema. Valores elevados de potencial zeta (superiores a ± 30 mV) estão associados à repulsão eletrostática entre partículas, reduzindo a tendência à agregação. Nesse contexto, os resultados obtidos indicam que as nanopartículas mantiveram adequada estabilidade coloidal ao longo do armazenamento, corroborando parcialmente os resultados de tamanho de partícula e índice de polidispersão (Danaei, 2018; Bhattacharjee, 2016).

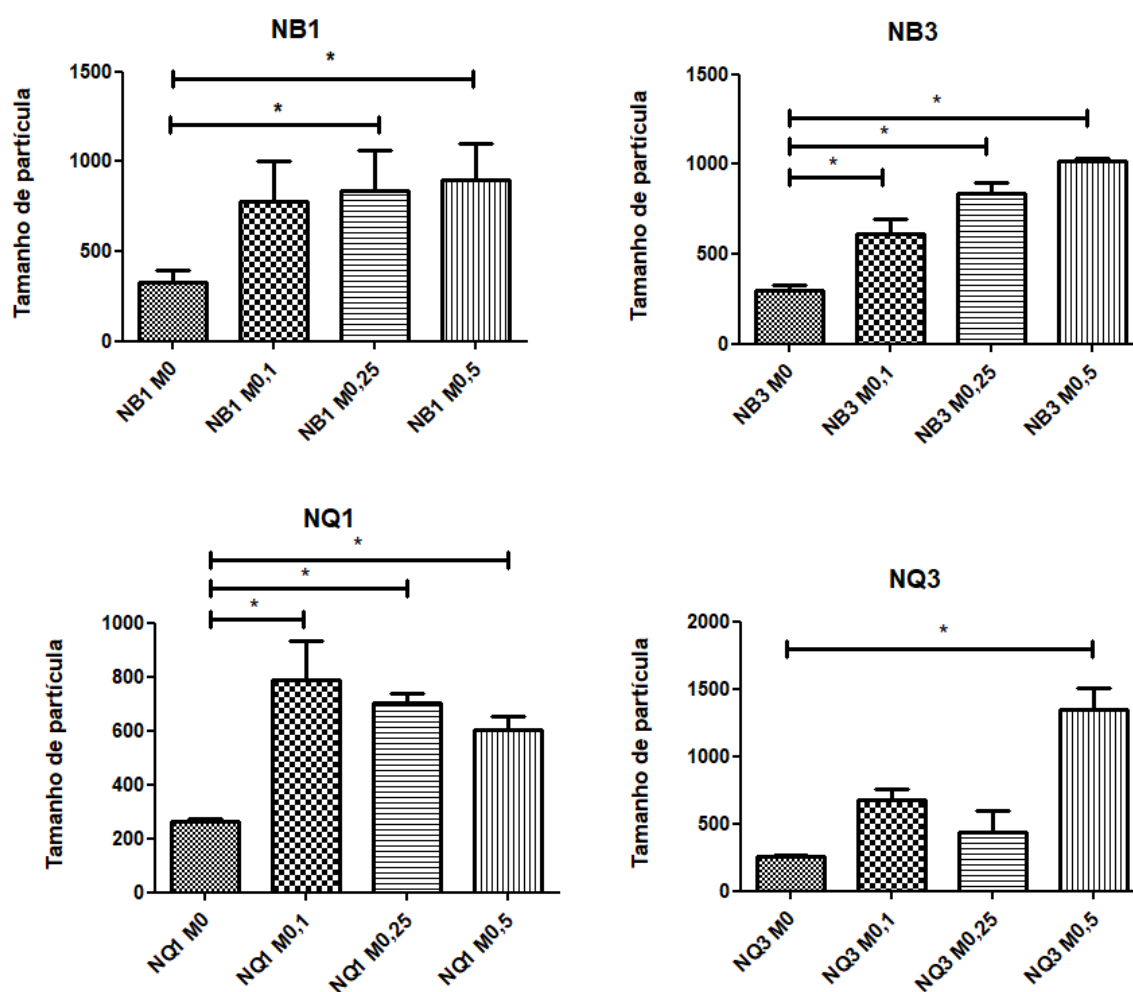
De forma geral, a análise conjunta dos parâmetros de tamanho de partícula, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta indica que as nanopartículas apresentaram adequada estabilidade ao longo dos 90 dias de armazenamento sob refrigeração. Embora tenha sido observado aumento temporário no tamanho de partícula e no IPD, especialmente aos 60 dias, esses efeitos não foram progressivos nem acompanhados por alterações significativas no potencial zeta, sugerindo que não houve agregação irreversível do sistema. A manutenção de elevados valores de potencial zeta ao longo do tempo evidencia a preservação da repulsão eletrostática entre as partículas, contribuindo para a estabilidade coloidal. Assim, os resultados indicam que as formulações desenvolvidas apresentam comportamento estável e adequado para aplicações farmacêuticas, mesmo após períodos prolongados de armazenamento (Schafazick et.al. 2003; José et al. 2018; Deng et al. 2020).

5.8 ENSAIO DE MUCOADESIVIDADE

5.8.1 Tamanho de partícula

A influência da mucina no tamanho de partícula foi avaliada para os quatro grupos de nanopartículas (NB1, NB3, NQ1 e NQ3), sob concentrações crescentes de mucina (0%, 0,1%, 0,25% e 0,5%), ilustrada na Figura 17. A análise estatística foi realizada por ANOVA seguida de pós-teste de Tukey.

Figura 17- Efeito da concentração de mucina no tamanho de partícula das nanopartículas poliméricas com e sem quercetina



Fonte: O autor

No grupo NQ1, observou-se aumento significativo no tamanho de partícula com a adição de mucina. As concentrações de 0,1%, 0,25% e 0,5% resultaram em

partículas significativamente maiores quando comparadas à condição controle (0% mucina) ($p < 0,05$). Esses resultados indicam que a presença de mucina promove interação com as nanopartículas de quitosana contendo quercetina, o que pode estar associado ao estabelecimento de interações mucoadesivas, refletindo-se no aumento do tamanho hidrodinâmico (Kim, 2021).

No grupo NB1, a presença de mucina também levou a aumentos significativos no tamanho de partícula nas concentrações de 0,25% e 0,5% em relação ao controle. Esse comportamento sugere que, mesmo na ausência de quercetina, as nanopartículas à base de quitosana podem interagir com a mucina, promovendo alterações estruturais mensuráveis pelo aumento do diâmetro médio.

A principal força envolvida na interação entre nanopartículas de quitosana e mucina é a eletrostática, que ocorre entre as cargas opostas deles. A quitosana, em meio ácido ou levemente ácido ($\text{pH} < 6,5$), apresenta os grupos amina primários ($-\text{NH}_2$) protonados, conferindo à molécula uma carga positiva predominante ($-\text{NH}_3^+$), como observado pelo elevado valor do potencial zeta das nanopartículas. Já a mucina é uma glicoproteína com estrutura complexa, rica em resíduos de ácido siálico e grupos sulfatos, que conferem à sua cadeia uma carga negativa global em condições fisiológicas (pH neutro ou levemente ácido) (Ahmad et al. 2024; Collado-González et al. 2019).

Essa diferença de carga cria uma forte atração eletrostática entre a quitosana e a mucina, facilitando a formação de complexos polieletrólíticos ou promovendo a adsorção da mucina à superfície das nanopartículas. Quanto maior o potencial zeta positivo das nanopartículas, maior tende a ser a intensidade dessa interação, pois as partículas altamente carregadas positivamente são mais propensas a se ligar a substratos com cargas negativas, como o muco (Bernkop-Schnürch & Dünnhaupt, 2012).

Além disso, o pH do meio influencia diretamente essa interação: em pH mais ácido, há maior grau de protonação da quitosana, o que aumenta a densidade de carga positiva e favorece a mucoadesão. Por outro lado, em pH neutro ou alcalino, a desprotonação dos grupos amina pode reduzir significativamente a força de interação com a mucina, prejudicando a adesão (Sogias et al. 2008; Smart, 2005).

A interação eletrostática pode ser evidenciada experimentalmente por alterações em parâmetros físico-químicos, como aumento do tamanho médio de partícula, alterações no índice de polidispersão ou modificações no potencial zeta,

quando as nanopartículas são incubadas com mucina. Essas mudanças sugerem a formação de uma camada de mucina na superfície das partículas ou de agregados induzidos por pontes iônicas (He et al. 2010).

No grupo NB3 foi observada diferença estatística para todas as concentrações de mucina, enquanto que o grupo NQ3 teve diferença estatística somente na concentração de mucina de 0,5%. Esses grupos, formulados com maior concentração de TPP, parecem apresentar menor sensibilidade à mucina, o que pode estar relacionado à maior reticulação da matriz polimérica, reduzindo as cargas disponíveis e, assim, a flexibilidade das nanopartículas para interações com o muco (Chuah et al. 2011; Kim, 2021).

A maior concentração de TPP utilizada nas formulações NB3 e NQ3 promove um grau mais elevado de reticulação iônica da matriz de quitosana, uma vez que o TPP atua como agente reticulante aniônico, formando pontes de ligação com os grupos amina protonados da quitosana. Esse aumento da densidade de reticulação resulta em estruturas mais compactas e rígidas, com menor mobilidade das cadeias poliméricas, o que pode reduzir a capacidade de rearranjo conformacional necessário para a interação eficaz com a mucina. Como a mucoadesão depende, em parte, da difusão e da interpenetração das cadeias poliméricas com a rede mucosa, sistemas excessivamente reticulados podem apresentar menor flexibilidade e menor extensão de contato com o muco, o que limita a formação de interações eletrostáticas ou de hidrogênio (Andrews et al. 2009; Peppas & Huang, 2002).

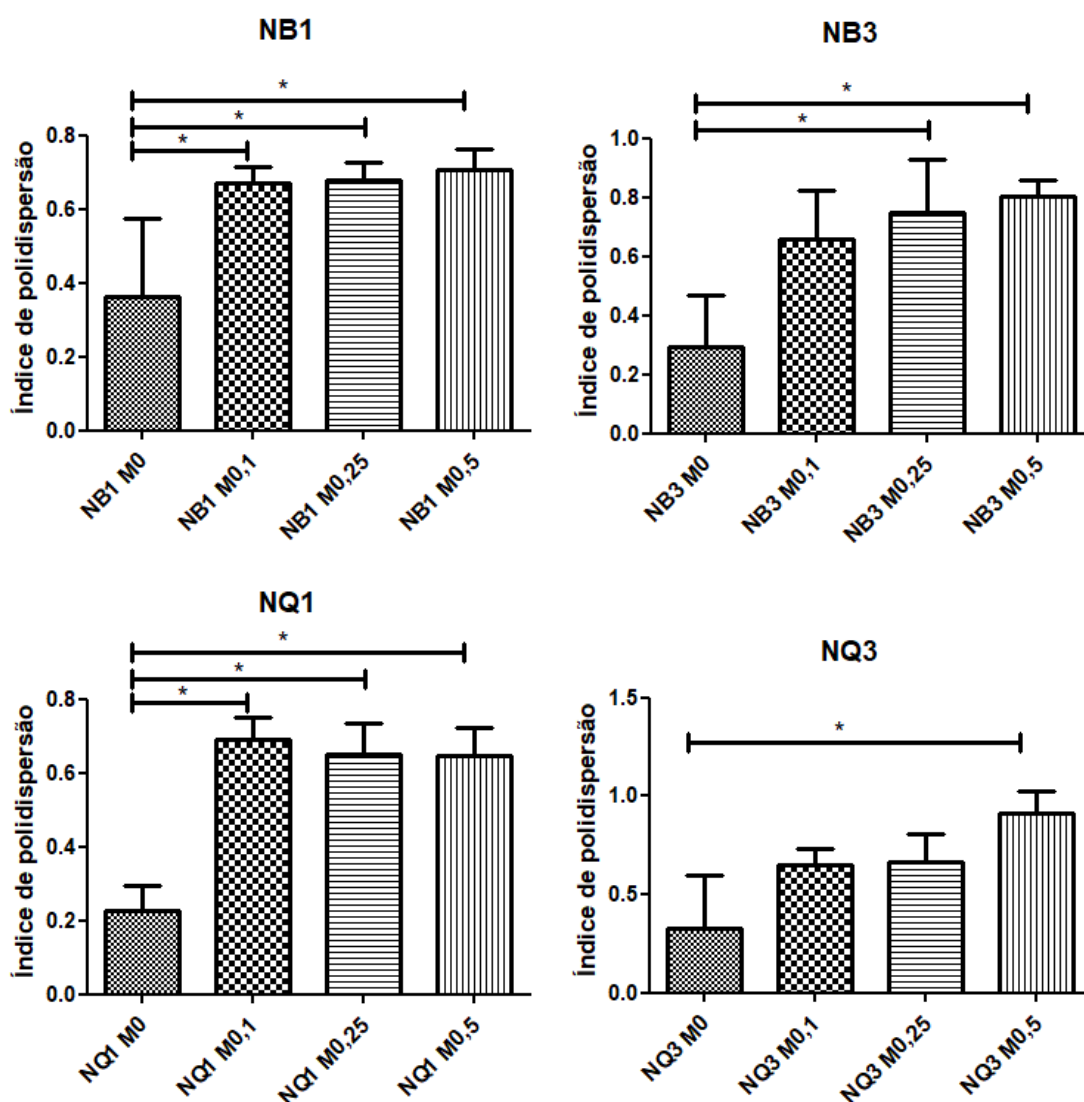
Além disso, a incorporação da quercetina pode reduzir ainda mais a flexibilidade das cadeias poliméricas, por interagir também com a quitosana, conforme sugerido pelo FTIR. Assim, a interação entre a NQ3 e a mucina é dose-dependente, com menor sensibilidade em baixas concentrações de mucina, diferentemente do observado na nano vazia (NB3), que pode estar associada à restrição física da matriz polimérica.

De forma geral, os dados indicam que a composição das nanopartículas influencia diretamente a resposta à mucina, sendo a formulação NQ1 a que apresentou maior sensibilidade e alto potencial mucoadesivo em baixas concentrações de mucina.

5.8.3 Índice de polidispersão

A Figura 18 apresenta os valores de índice de polidispersão (PDI) das formulações NB1, NB3, NQ1 e NQ3 em diferentes concentrações de mucina (0%, 0,1%, 0,25% e 0,5%). Observou-se que, de modo geral, a adição de mucina resultou em aumento significativo do PDI, indicando maior heterogeneidade no tamanho das partículas formadas.

Figura 18 - Efeito da concentração de mucina no índice de polidispersão das nanopartículas de quitosana com e sem quercetina



Fonte: O autor

Na formulação NB1, a presença de mucina em todas as concentrações testadas (0,1%, 0,25% e 0,5%) promoveu aumento significativo do PDI em comparação à amostra controle (M0), com diferenças estatisticamente significativas entre NB1 M0 e os demais grupos ($p < 0,05$). Resultado semelhante foi observado na formulação NB3, que apresentou elevação do PDI com o aumento da concentração de mucina, especialmente entre os grupos NB3 M0 e NB3 M0,25 e NB3 M0,5 ($p < 0,05$).

Para as formulações contendo quercetina, NQ1 apresentou aumento estatisticamente significativo do PDI entre o grupo controle (NQ1 M0) e os grupos contendo mucina (M0,1, M0,25 e M0,5). O grupo NQ1 destacou-se por apresentar o maior valor de PDI, com diferença significativa em relação aos demais grupos. Já a formulação NQ3 apresentou um padrão menos acentuado, mas com aumento significativo do PDI na maior concentração de mucina em comparação ao grupo controle (NQ3 M0).

Esses achados sugerem que a interação entre os grupos catiônicos da quitosana e os grupos aniônicos da mucina (como ácido siálico e resíduos sulfatos) pode induzir aglomeração parcial ou reorganização estrutural das nanopartículas, promovendo maior dispersão no tamanho das partículas. Tal comportamento está de acordo com a literatura, que descreve que a quitosana, devido à sua natureza policatiônica, apresenta elevada afinidade por superfícies mucosas negativamente carregadas, o que pode comprometer a estabilidade coloidal em meio com excesso de mucina (Rashki et al., 2021; Jaferník et al., 2023).

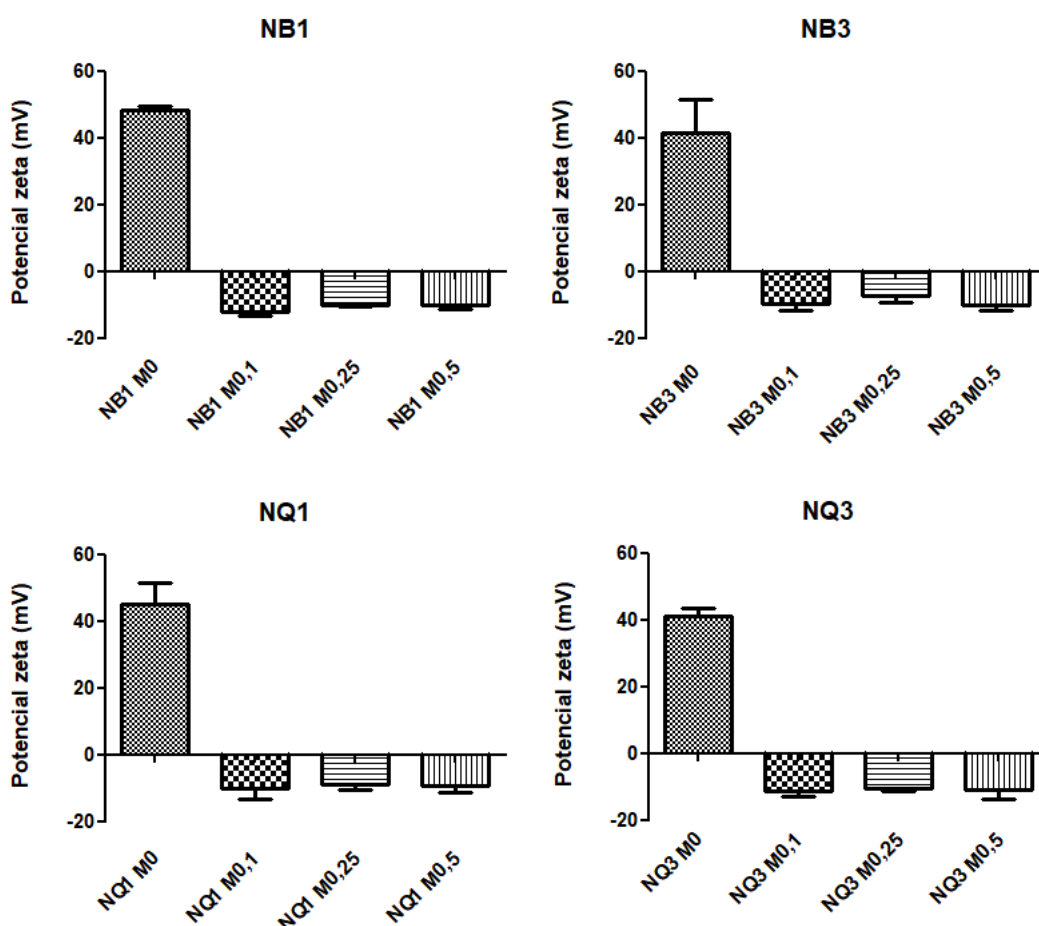
O aumento do índice de polidispersão (PDI) observado nas formulações com adição de mucina evidencia um impacto direto na homogeneidade das nanopartículas desenvolvidas. Em especial, as formulações NB1, NB3 e NQ1 demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controle (sem mucina) e os grupos com concentrações crescentes de mucina, revelando uma tendência clara de maior dispersão no tamanho das partículas à medida que a concentração de mucina aumenta.

A formulação NQ1, que apresentou o maior valor de PDI no grupo M0,1, sugere que a combinação entre quercetina e mucina pode favorecer ainda mais essas interações desfavoráveis à homogeneidade, possivelmente por alterações na densidade superficial de carga ou por rearranjos estruturais induzidos pela presença do fármaco.

5.8.2 Potencial zeta

O potencial zeta foi avaliado para os quatro grupos de nanopartículas (NB1, NB3, NQ1 e NQ3) em diferentes concentrações de mucina (0%, 0,1%, 0,25% e 0,5%). Em todos os grupos, a análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey indicou alteração estatisticamente significativa do potencial zeta com o contato com a mucina ($p < 0,05$) (Figura 19).

Figura 19- Efeito da concentração de mucina no potencial zeta das nanopartículas de quitosana com e sem quercetina



Fonte: O autor

Na ausência de mucina (M0), todas as formulações apresentaram potencial zeta positivo, o que reflete a presença de grupos amina protonados da quitosana, conferindo caráter catiônico à superfície das nanopartículas (Bernkop-Schnürch et al. 2001). Esse comportamento é típico de sistemas baseados em quitosana, especialmente em pH levemente ácido, onde o polímero se encontra ionizado.

Com a adição de mucina, houve inversão da carga superficial das nanopartículas, passando de positiva para negativa em todas as formulações e concentrações testadas. Essa inversão é atribuída à interação eletrostática entre os grupos catiônicos da quitosana e os grupos aniônicos presentes na mucina, como ácido siálico e resíduos sulfatos (Sogias et al. 2008; Xu et al. 2022).

A redução do potencial zeta após a exposição à mucina confirma a adsorção da mucina sobre a superfície das nanopartículas, um dos principais mecanismos associados à mucoadesividade (Andrews et al. 2009). Esses resultados demonstram que as interações com a mucina ocorrem independentemente da presença de quercetina, da concentração de TPP ou da concentração da mucina, sugerindo que o polímero base (quitosana) é o principal responsável pela interação com o muco.

Portanto, a mudança no potencial zeta pode ser interpretada como um indicador físico-químico da interação mucoadesiva, conforme já descrito na literatura (Mura et al. 2015). A presença de mucina modifica diretamente a superfície das nanopartículas, o que é consistente com o comportamento esperado para sistemas desenvolvidos com finalidade de liberação controlada por via mucosa.

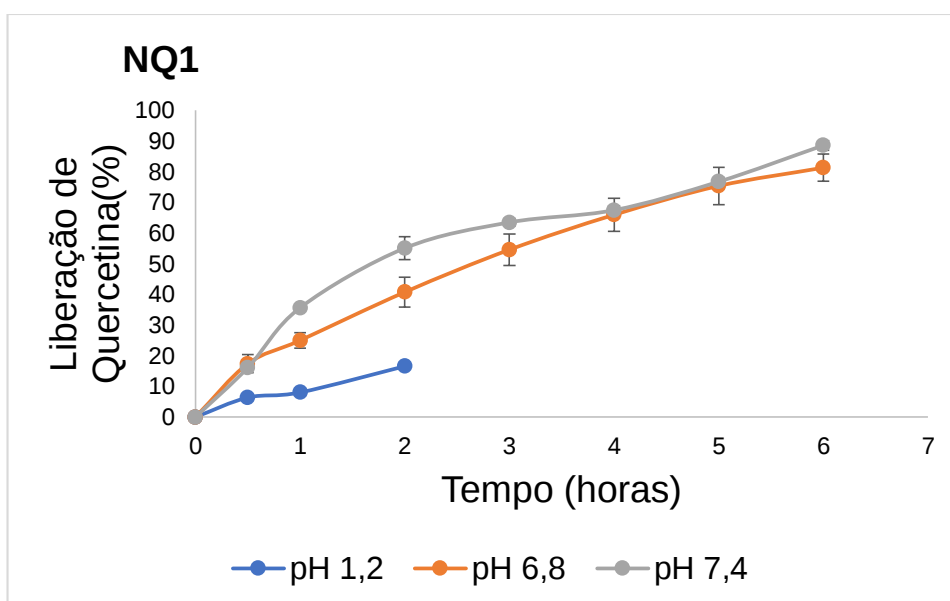
Os resultados do ensaio de mucoadesividade indicam que as nanopartículas desenvolvidas apresentam potencial significativo de interação com a mucina, especialmente nas formulações com menor grau de reticulação, que demonstraram maior sensibilidade à presença do muco. Essa capacidade de interação é desejável em sistemas destinados à administração oral para tratamento de colite ulcerativa, uma vez que a adesão à mucosa intestinal inflamada pode prolongar o tempo de permanência no sítio de ação, favorecendo a liberação local controlada do fármaco e aumentando sua biodisponibilidade na região afetada (Kim, 2021; Ahmad et al. 2024; Andrews et al. 2009; Peppas & Huang, 2002).

Além disso, a mucoadesão pode contribuir para proteger o princípio ativo da degradação no trato gastrointestinal e para permitir uma exposição mais prolongada às células-alvo inflamatórias. Assim, os dados obtidos reforçam o potencial das nanopartículas de quitosana, especialmente das formulações com menor reticulação, como sistemas promissores para o direcionamento local de fármacos anti-inflamatórios no tratamento da colite ulcerativa por via oral (Lang et al 2020; Yadav et al. 2024).

5.9 ENSAIO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

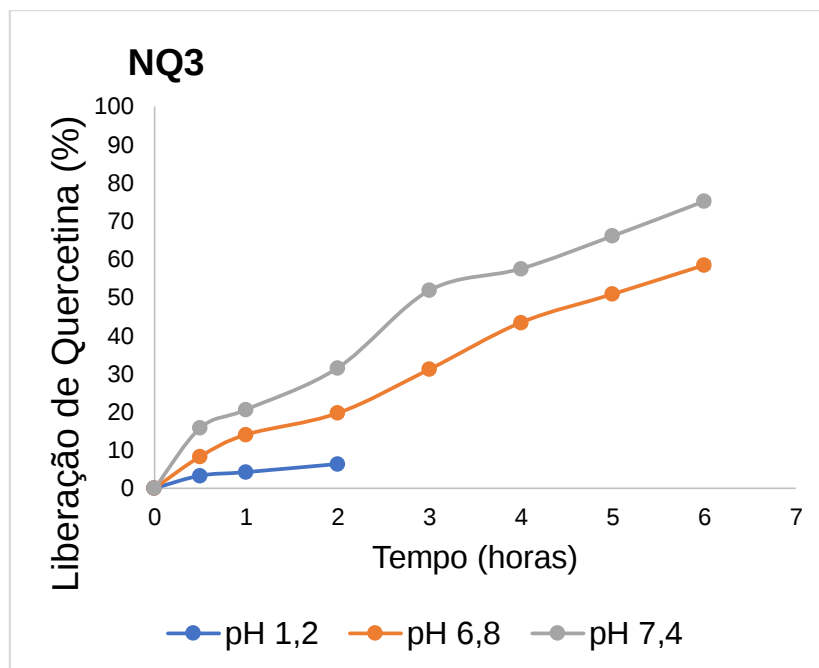
O perfil de liberação da quercetina a partir das formulações NQ1 e NQ3 foi avaliado em meios de dissolução com diferentes valores de pH (1,2; 6,8 e 7,4), simulando condições do trato gastrointestinal. De maneira geral, ambas as formulações apresentaram perfil de liberação dependente do pH, com menor liberação em meio ácido e aumento progressivo a medida que o pH aumentava.

Figura 20 - Perfil de liberação *in vitro* da quercetina a partir da formulação NQ1 em diferentes pHs (1,2; 6,8 e 7,4)



Fonte: O autor

Figura 21 - Perfil de liberação *in vitro* da quercetina a partir da formulação NQ3 em diferentes pHs (1,2; 6,8 e 7,4)



Fonte: O autor

Em pH 1,2, condição que simula o ambiente gástrico, observou-se liberação limitada de quercetina em ambas as formulações. A formulação NQ1 (Figura 20) apresentou liberação de aproximadamente 16,57% após 2 horas, enquanto a NQ3 (Figura 21) apresentou valor de aproximadamente 6,35% no mesmo período. Esse comportamento sugere que as nanopartículas mantêm estabilidade relativa em meio ácido, limitando a difusão do fármaco.

Quando avaliadas em pH 6,8, ambas as formulações apresentaram aumento significativo da liberação ao longo do tempo. A formulação NQ1 atingiu aproximadamente 81,31% de liberação após 6 horas, enquanto a NQ3 apresentou liberação de cerca de 58,46% no mesmo período. Esse resultado indica que, embora ambas as formulações apresentem liberação aumentada no pH intestinal, a NQ1 demonstrou maior taxa de liberação quando comparada à NQ3.

Em pH 7,4, observou-se novamente um aumento progressivo na liberação da quercetina ao longo do tempo. A formulação NQ1 apresentou aproximadamente 88,57% de liberação após 6 horas, enquanto a NQ3 atingiu cerca de 75,21% no mesmo período. Apesar dessa diferença, ambas as formulações mantiveram uma tendência semelhante de liberação, dependente do pH.

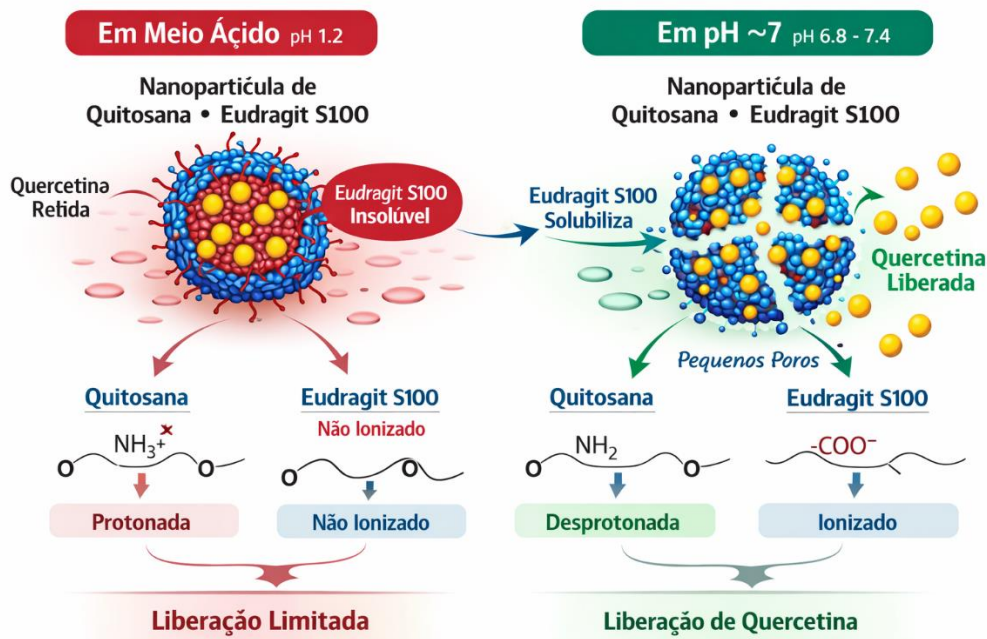
Os resultados obtidos para as formulações NQ1 e NQ3 estão de acordo com estudos descritos na literatura sobre nanopartículas baseadas em quitosana reticulada com tripolifosfato (TPP) utilizadas como sistemas de liberação oral. Em geral, esses sistemas apresentam liberação reduzida em meio ácido e aumento progressivo da liberação em pH neutro ou levemente alcalino, comportamento associado às propriedades de ionização da quitosana e aos polímeros pH-responsivos presentes na formulação (Gosh et al. 2022; Raj et al. 2018).

Além disso, as diferenças observadas entre as formulações NQ1 e NQ3 estão diretamente relacionadas ao grau de reticulação da matriz polimérica, influenciado pela concentração de tripolifosfato (TPP). O TPP atua como agente reticulante iônico, promovendo interações eletrostáticas com os grupos amina protonados da quitosana, resultando na formação de uma rede mais densa e compacta. Formulações com maior teor de TPP apresentam maior grau de reticulação, o que reduz a mobilidade das cadeias poliméricas e dificulta a difusão do fármaco. Esse comportamento justifica a menor liberação observada para a formulação NQ3 em relação à NQ1, sugerindo que a matriz mais compacta atua como uma barreira à difusão da quercetina (Agnihotri, et al. 2004; Calvo et al. 1997; Dung et al. 2007).

Em estudos envolvendo nanopartículas de quitosana desenvolvidas para liberação intestinal de fármacos, observa-se que a liberação do composto encapsulado é significativamente maior em pH alcalino quando comparada a condições ácidas, indicando que esses sistemas são sensíveis às variações de pH ao longo do trato gastrointestinal. Esse comportamento tem sido atribuído a alterações nas interações entre a quitosana e o agente reticulante, bem como ao aumento da hidratação da matriz polimérica e da difusão do fármaco em meios menos ácidos (Al-Nemrawi et al, 2018; Dung et al. 2007)

A presença do Eudragit® S100 na composição das formulações também contribui para o perfil de liberação observado, conforme representado esquematicamente na Figura 22. Esse polímero aniônico apresenta solubilidade dependente do pH, dissolvendo-se preferencialmente em pH acima de aproximadamente 7. Em meio ácido, o polímero permanece predominantemente insolúvel, limitando a difusão do fármaco. Em pHs mais elevados, ocorre a ionização dos grupos carboxílicos do polímero, promovendo maior solubilidade e desestruturação do sistema, o que favorece a liberação da quercetina (Nikam et al., 2023).

Figura 22 - Representação esquemática do comportamento pH-dependente das nanopartículas de quitosana/Eudragit® S100 contendo quercetina e seu impacto no perfil de liberação *in vitro*.



Fonte: O autor

Esse comportamento é consistente com o perfil observado nas formulações NQ1 e NQ3 do presente estudo, nas quais a liberação da quercetina foi limitada em pH 1,2, enquanto valores significativamente maiores foram observados em pH 6,8 e 7,4.

As diferenças observadas entre as formulações podem estar relacionadas a variações na composição ou na organização estrutural das nanopartículas, o que pode influenciar fatores como o grau de reticulação da matriz polimérica, a densidade da rede formada entre quitosana e tripolifosfato (TPP), bem como as interações com o Eudragit® S100 presente nas formulações.

De forma geral, os resultados indicam que ambas as formulações apresentam perfil de liberação controlado e dependente do pH, característica desejável para sistemas destinados à liberação intestinal de fármacos, especialmente para o tratamento de doenças inflamatórias intestinais, como a colite ulcerativa.

Para interpretar o mecanismo de liberação, modelos matemáticos clássicos podem ser utilizados para ajustar os perfis de liberação de sistemas nanoparticulados, incluindo os modelos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer–Peppas

(Chen et al. 2020). Os ajustes obtidos para os diferentes modelos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Ajuste dos modelos cinéticos de liberação da quercetina a partir das nanopartículas (NQ1 e NQ3) em diferentes pHs, com respectivos coeficientes de determinação (R^2) e valores do expoente n

Formulação	pH	Ordem zero (R^2)	Primeira ordem (R^2)	Higuchi (R^2)	Korsmeyer-Peppas (R^2)	n
NQ1	1,2	0,9647	0,9600	0,9902	0,9243	0,68
NQ1	6,8	0,9991	0,9972	0,9913	0,9947	0,64
NQ1	7,4	0,9638	0,9999	0,9900	0,9700	0,88
NQ3	1,2	0,9983	0,9979	0,9804	0,9786	0,46
NQ3	6,8	0,9928	0,9869	0,9689	0,9855	0,79
NQ3	7,4	0,9733	0,9687	0,9568	0,9644	0,65

Fonte: O autor

De modo geral, todos os modelos avaliados apresentaram bom ajuste aos dados experimentais ($R^2 > 0,95$), indicando que os perfis de liberação podem ser descritos por diferentes abordagens matemáticas. No entanto, o modelo de Korsmeyer–Peppas foi selecionado para a interpretação do mecanismo de liberação, não apenas pelo ajuste obtido, mas principalmente por sua ampla aplicação em sistemas poliméricos, especialmente em partículas esféricas, como nanopartículas, nas quais permite avaliar os mecanismos envolvidos no processo de liberação do fármaco (Costa; Sousa Lobo, 2001; Korsmeyer et al., 1983).

Para sistemas poliméricos de geometria esférica, o modelo de Korsmeyer–Peppas permite avaliar o mecanismo de liberação por meio do expoente de difusão (n). De acordo com a literatura, valores de $n < 0,45$ indicam difusão Fickiana, enquanto valores de $n > 0,89$ estão associados ao transporte do tipo Caso II. Valores intermediários ($0,45 < n < 0,89$) indicam transporte anômalo, em que a liberação ocorre pela combinação entre difusão do fármaco através da matriz polimérica e relaxamento das cadeias do polímero (Chassot, 2013; Camargo et al., 2021; Costa, 2002).

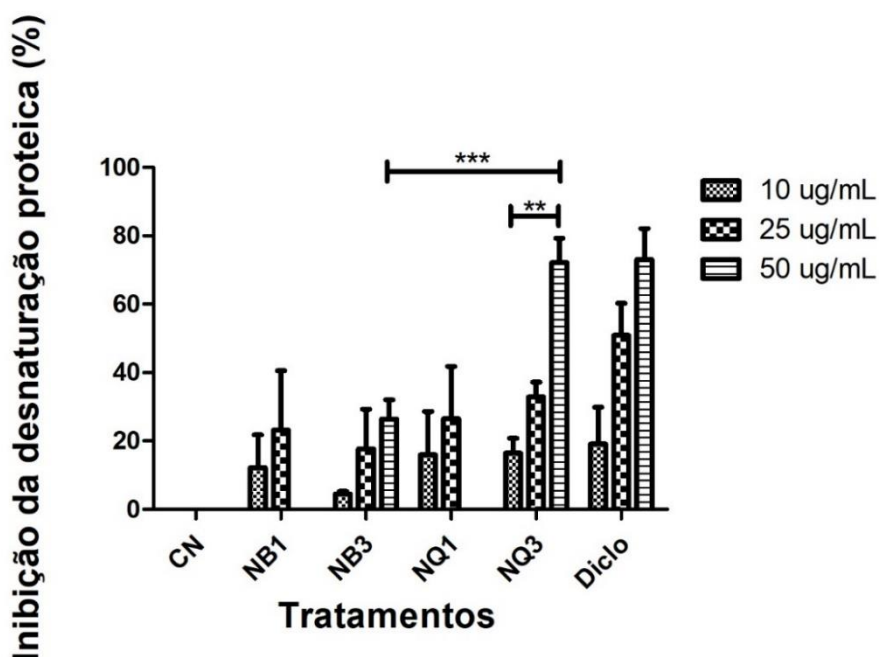
No presente estudo, os valores do expoente de difusão variaram entre 0,46 e 0,88, indicando que a liberação da quercetina ocorre predominantemente por transporte anômalo, característico de sistemas poliméricos.

O comportamento de transporte anômalo observado pode ser explicado pela natureza híbrida da matriz polimérica utilizada, composta por quitosana reticulada com tripolifosfato (TPP) e associada ao polímero Eudragit®. Nesses sistemas, a liberação do fármaco não ocorre exclusivamente por difusão simples, mas envolve também o relaxamento e a reorganização das cadeias poliméricas, bem como a hidratação progressiva da matriz em função do pH do meio. Em condições de pH mais elevadas, a desprotonação dos grupos funcionais da quitosana e a solubilização do Eudragit® favorecem a expansão da rede polimérica, aumentando a mobilidade das cadeias e facilitando a difusão da quercetina. Esse conjunto de fenômenos contribui para o perfil de liberação observado e reforça a predominância do mecanismo de transporte anômalo nas formulações avaliadas (Siepmann; Peppas, 2011; Agnihotri et al., 2004).

5.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATORIA

A atividade anti-inflamatória das formulações, avaliada por meio do ensaio de inibição da desnaturação proteica, é apresentada na Figura 23. De modo geral, observou-se aumento da porcentagem de inibição com o incremento da concentração para todas as amostras avaliadas.

Figura 23 - Inibição da desnaturação proteica (%) promovida por nanopartículas contendo ou não quercetina e pelo diclofenaco em diferentes concentrações.



Fonte: O autor

Os dados representam a média $\pm$ desvio padrão ($n = 3$). CN: controle negativo; NB: nanopartículas brancas; NQ: nanopartículas contendo quercetina; Diclo: diclofenaco. Os valores indicam as concentrações ($\mu\text{g/mL}$). *** $p < 0,001$ indica diferença significativa entre NB3 e NQ3 na mesma concentração.

Observou-se que as nanopartículas brancas (NB), mesmo na ausência de quercetina, apresentaram valores de inibição da desnaturação proteica. Esse comportamento pode estar relacionado às propriedades intrínsecas do polímero utilizado na formulação, como a quitosana, que apresenta atividade biológica descrita na literatura, incluindo propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Além disso, a presença de cargas superficiais positivas da quitosana e a sua capacidade de interação eletrostática com proteínas podem contribuir para a estabilização estrutural da albumina, reduzindo sua desnaturação sob condições de estresse térmico (Kumar et al., 2004; Kean; Thanou, 2010). Por isso, o ensaio foi otimizado para evitar artefatos (BSA 0,5% e 70 °C/5 min), mantendo a absorbância < 1 e minimizando a precipitação decorrente da interação quitosana-albumina. Assim, a confiabilidade foi reforçada pela avaliação das nanopartículas vazias pareadas (NB1 e NB3), permitindo atribuir o aumento da porcentagem de inibição exclusivamente à quercetina quando a nanopartícula carregada supera a vazia na mesma dose.

A amostra NQ3 apresentou aumento significativo da % de inibição em relação à NB3 apenas a 50 µg/mL ($***p < 0,001$) evidenciando o efeito da quercetina, comparável ao efeito do diclofenaco na mesma dose, enquanto NQ1 não diferiu de NB1 nas doses testadas. Dessa forma, os resultados sugerem que a matriz polimérica pode exercer um efeito parcial na inibição da desnaturação proteica. Além disso, a formulação NQ3 apresentou efeito dose-dependente, com porcentagens crescentes de inibição em $10 < 25 < 50$ µg/mL, com diferença estatística significativa entre elas ($**p < 0,01$). Quando comparamos as formulações NQ1 e NQ3, ambas apresentaram inibição semelhante entre si nas doses de 10 e 25 µg/mL e não diferiram em relação às nanopartículas vazias. Essas observações podem estar relacionadas à baixa dosagem ou ao prolongamento da liberação da quercetina a partir das nanopartículas, conforme demonstrado no estudo de liberação *in vitro*, no qual o fármaco encontra-se encapsulado nessas nanopartículas.

A maior atividade anti-inflamatória observada nas formulações contendo quercetina pode ser atribuída às propriedades intrínsecas desse flavonoide, amplamente descrito na literatura por sua ação antioxidante e anti-inflamatória. A quercetina é capaz de inibir mediadores inflamatórios, como prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias, além de reduzir a desnaturação proteica induzida pelo estresse térmico (Boots et al., 2008; Li et al., 2016). Resultados semelhantes foram reportados por Pandiyan et al. (2022), que demonstraram maior capacidade de inibir a desnaturação proteica por compostos fenólicos, reforçando o papel desses compostos na estabilização estrutural de proteínas sob condições de estresse. Além disso, sistemas nanoestruturados contendo compostos bioativos têm demonstrado melhora na eficácia terapêutica, devido à proteção contra degradação e ao aumento da biodisponibilidade (Kumar et al., 2016).

Adicionalmente, o aumento da atividade anti-inflamatória com o aumento da concentração sugere um comportamento de dose-dependência, característica comumente observada em compostos bioativos. Nesse contexto, a ausência de diferença estatisticamente significativa entre algumas formulações contendo quercetina (NQ) e suas respectivas nanopartículas brancas (NB) pode estar associada à menor concentração de quercetina, possivelmente insuficiente para promover um efeito anti-inflamatório mensurável nas condições experimentais avaliadas. Esse comportamento está de acordo com estudos que demonstram que os efeitos biológicos de flavonoides, como a quercetina, são fortemente dependentes da

concentração, sendo mais pronunciados em concentrações mais elevadas (Li et al., 2016; Comalada et al., 2005).

O diclofenaco, utilizado como controle positivo, apresentou os maiores valores de inibição, conforme esperado, em virtude de seu mecanismo de ação, bem estabelecido, que é a inibição da ciclooxygenase (COX). Contudo, é importante destacar que a formulação NQ3 apresentou % de inibição semelhante à do diclofenaco nas três concentrações avaliadas, sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre elas, indicando atividade correspondente.

Apesar dos resultados promissores, algumas limitações devem ser consideradas. O ensaio de inibição da desnaturação proteica constitui um modelo *in vitro* simplificado, que não reproduz integralmente a complexidade dos processos inflamatórios *in vivo* (Mizushima; Kobayashi, 1968; Umapathy et al., 2010). Além disso, a possível interferência das nanopartículas nas leituras espectrofotométricas, devido à turbidez ou dispersão da luz, pode influenciar os valores de absorbância obtidos (Singh; Lillard, 2009). Adicionalmente, a ausência de diferença estatística significativa em algumas formulações pode estar relacionada à concentração de quercetina empregada ou à liberação lenta proveniente do controle da liberação das nanopartículas, que possivelmente é insuficiente para promover um efeito detectável nas condições experimentais avaliadas, uma vez que os efeitos biológicos de flavonoides são dependentes da dose (Li et al., 2016). Dessa forma, estudos complementares, incluindo modelos celulares e *in vivo*, são necessários para elucidar melhor o potencial terapêutico das formulações desenvolvidas.

Em conjunto, os resultados indicam que a incorporação da quercetina nas nanopartículas potencializa a atividade anti-inflamatória do sistema, sugerindo que essas formulações representam uma estratégia promissora para a liberação controlada de compostos bioativos no tratamento de processos inflamatórios, como a colite ulcerativa.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram desenvolvidas e caracterizadas nanopartículas poliméricas de quitosana revestidas com Eudragit® S-100 contendo quercetina, com o objetivo de propor um sistema de liberação modificada por via oral para o tratamento da colite ulcerativa. As formulações foram obtidas com sucesso pelo método de gelificação ionotrópica, apresentando aspecto homogêneo, morfologia predominantemente esférica e tamanho manométrico, homogeneidade de tamanho e alto potencial zeta, indicando a adequada estabilidade coloidal dos sistemas desenvolvidos para a aplicação pretendida. Além disso, as nanopartículas apresentaram estabilidade quando armazenadas em geladeira por até 90 dias.

A eficiência de incorporação da quercetina foi elevada em todas as formulações, demonstrando a eficiência da técnica de gelificação ionotrópica e a capacidade da matriz de quitosana em incorporar compostos lipofílicos. A análise por DRX demonstrou a predominância de uma estrutura amorfa nas nanopartículas, especialmente para a formulação NQ3, sugerindo que a quercetina encontra-se dispersa na matriz polimérica em estado amorfo ou molecularmente distribuído. De modo geral, a amorfização da quercetina após a encapsulação pode contribuir para o aumento de sua solubilidade e melhoria da biodisponibilidade.

O ensaio de mucoadesividade evidenciou interação significativa entre as nanopartículas e a mucina, com significativas variações nos parâmetros físico-químicos após incubação, incluindo aumento no tamanho de partícula, índice de polidispersão e alterações no potencial zeta. A concentração de TPP parece ter impactado na capacidade mucoadesiva das nanopartículas, uma vez que a formulação com menor reticulação mostrou maior interação com a mucina, o que pode ser atribuído à menor densidade de reticulação e, conseqüentemente, menor rigidez estrutural.

A associação da quitosana com o revestimento entérico Eudragit® S-100 confere ao sistema potencial para proteção do fármaco em meio ácido e liberação direcionada em pH colônico, com perfil sustentado pela combinação entre difusão do fármaco e relaxamento das cadeiras poliméricas, reforçando sua aplicabilidade como sistema de liberação oral cólon-específica.

Os resultados do ensaio de inibição da desnaturação proteica sugerem que a incorporação da quercetina nas nanopartículas está associada à atividade anti-inflamatória do sistema, com destaque para a formulação NQ3, que apresentou efeito significativo e dose-dependente, comparável ao diclofenaco na maior concentração avaliada. A ausência de diferença significativa em concentrações mais baixas e na formulação NQ1 sugere influência da dose e da liberação controlada do fármaco no desempenho biológico. Em conjunto, esses achados reforçam o potencial das nanopartículas desenvolvidas como sistemas promissores para a liberação controlada de quercetina no tratamento de processos inflamatórios, como a colite ulcerativa, ainda que estudos complementares sejam necessários para sua confirmação em modelos biológicos mais complexos.

Dessa forma, as nanopartículas de quitosana e Eudragit® S100 contendo quercetina podem ser consideradas como uma estratégia para o tratamento da colite ulcerativa, podendo contribuir para o aumento da biodisponibilidade do fármaco, redução de efeitos sistêmicos e modulação da ação anti-inflamatória no local de inflamação.

REFERÊNCIAS

- ABBASZADEH, S.; RASHIDIPOUR, M. et al. Biocompatibility, cytotoxicity, antimicrobial and epigenetic effects of novel chitosan-based quercetin nanohydrogel in human cancer cells. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 5963-5975, ago. 2020.
- ADAMS, S. M.; BORNEMANN, P. H. Ulcerative colitis. **American Family Physician**, v. 87, n. 10, p. 699-705, maio 2013.
- AGUILERA, L. F.; ARAUJO, L. O. et al. Blue-light photoactivated curcumin-loaded chitosan nanoparticles prepared by nanoprecipitation and ionic gelation: a promising approach for antimicrobial photodynamic inactivation. **ACS Applied Bio Materials**, v. 8, n. 5, p. 4055-4064, maio 2025.
- AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 100, n. 1, p. 5-28, 2004.
- AHMAD, K.; ZHANG, Y. et al. Chitosan interaction with stomach mucin layer to enhances gastric retention and mucoadhesive properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 333, p. 121926, jun. 2024.
- AHMED, T. A.; ALJAEID, B. M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 483-507, 2016.
- ALCALÁ-ALCALÁ; QUINTANAR-GUERRERO. La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. **Mundo Nano**, v. 7, n. 12, p. 1-15, jan./jun. 2014.
- ALEHOSSEINI, E.; TABARESTANI, H. S. et al. Physicochemical, thermal, and morphological properties of chitosan nanoparticles produced by ionic gelation. **Foods**, v. 11, n. 23, p. 3841, nov. 2022.
- AL-NEMRAWI, N. K.; ALSHARIF, S. S. M.; DAVE, R. H. Preparation of chitosan-TPP nanoparticles: the influence of chitosan polymeric properties and formulation variables. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 10, n. 5, p. 60-65, 2018.
- ANDRADE, A. W. L. **Avaliação do potencial de extratos ricos em flavonoides de *Kalanchoe laciniata* (L.) DC e *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) no tratamento de doença inflamatória intestinal: um estudo fitoquímico, de segurança e eficácia em modelos *in vivo***. 2021. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021.

ANDRES, S.; PEVNY, S. et al. Safety aspects of the use of quercetin as a dietary supplement. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, p. 1700447, 2018.

ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 505-518, 2009.

ANSARI, F.; POURJAFAR, H. et al. Effect of Eudragit S100 nanoparticles and alginate chitosan encapsulation on the viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. **AMB Express**, v. 7, p. 144, jul. 2017.

BAHAMONDE-NORAMBUENA, D.; PEREIRA, M. A.; CANTIN, M. Polymeric nanoparticles in dermocosmetic. **International Journal of Morphology**, v. 33, n. 4, p. 1563-1568, 2015.

BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; DÜNNHAUPT, S. Chitosan-based drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n. 3, p. 463-469, 2012.

BERTH, G.; DAUTZENBERG, H. The degree of acetylation of chitosans and its effect on the chain conformation in aqueous solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, n. 1, p. 39-51, 2002.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – what they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337-351, 2016.

BOOTS, A. W.; HAENEN, G. R. M. M.; BAST, A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. **European Journal of Pharmacology**, v. 585, n. 2-3, p. 325-337, 2008.

CALVO, P. et al. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, n. 1, p. 125-132, 1997.

CARULLO, G.; CAPPELLO, A. R. et al. Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management. **Future Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 79-93, 2017.

COLLADO-GONZÁLEZ, M.; ESPINOSA, Y. G.; GOYCOOLEA, F. M. Interaction between chitosan and mucin: fundamentals and applications. **Biomimetics**, v. 4, n. 2, p. 32, abr. 2019.

COMALADA, M. et al. The effects of flavonoids on inflammation in intestinal diseases. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 21, n. 12, p. 1415-1426, 2005.

CONTE, R.; MARTURANO, V. Recent advances in nanoparticle-mediated delivery of anti-inflammatory phytochemicals. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 709, mar. 2017.

COSTA, P.; SOUSA LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

CAMARGO, G. A. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação da eficiência de encapsulação de nanocápsulas poliméricas contendo tacrolimus**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020.

CAMARGO, G. A.; FERREIRA, L.; SCHEBELSKI, D. J.; LYRA, A. M.; BARBOZA, F. M. et al. Characterization and in vitro and in vivo evaluation of tacrolimus-loaded poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules for the management of atopic dermatitis. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2013, nov. 2021.

CHAUDHURY, A.; DAS, S. Recent advancement of chitosan-based nanoparticles for oral controlled delivery of insulin and other therapeutic agents. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 1, p. 10-20, dez. 2010.

CHASSOT, J. M. **Desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas para liberação pulmonar do dipropionato de beclometasona**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Área de Concentração em Controle de Qualidade e Avaliação Biofarmacêutica de Insumos e Medicamentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

CHEN, K.; CHEN, X.; HAN, X.; FU, Y. A comparison study on the release kinetics and mechanism of bovine serum albumin and nanoencapsulated albumin from hydrogel networks. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 1291-1300, nov. 2020.

CHOUDHARY, A.; KANT, V. et al. Quercetin loaded chitosan tripolyphosphate nanoparticles accelerated cutaneous wound healing in Wistar rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 880, p. 173172, 2020.

CHUAH, L. H.; BILLA, N. et al. Curcumin-containing chitosan nanoparticles as a potential mucoadhesive delivery system to the colon. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, n. 5, p. 1-9, 2011.

CIOCHETA, T.; BENDER, E. A. M.; COLOMÉ, L. M. **Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de nanopartículas poliméricas contendo óleo de romã**. In: Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 9., 2017. Anais [...]. Bagé: Universidade Federal do Pampa, 2017.

COSTA, P. J. C. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, jun. 2002.

DANAEI, M. et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 57, 2018.
DAS, N. G.; DAS, S. K. Controlled-release of oral dosage forms. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 4, p. 350-356, 2003.

DASH, S. et al. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 67, n. 3, p. 217-223, 2010.

DATE, A. A.; HANES, J. H. et al. Nanoparticles for oral delivery: design, evaluation and state-of-the-art. **Journal of Controlled Release**, v. 240, p. 504–526, 28 out. 2016.

DENG, S. et al. Polymeric nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: current status, challenges and opportunities. **Nanomaterials**, v. 10, n. 5, p. 1–36, 2020.

DHARMADEVA, S.; GALGAMUWA, L. S. In vitro anti-inflammatory activity of Ficus racemosa L. bark using albumin denaturation method. **AYU: An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda**, v. 39, n. 4, out./dez. 2018.

DING, B.; CHEN, P. et al. Preparation and evaluation of folate-modified lipid nanocapsules for quercetin delivery. **Journal of Drug Targeting**, v. 22, n. 1, p. 67–75, 2014.

DU, L.; HA, C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 49, n. 4, p. 643-654, 2020.

DUNG, N. T. et al. Preparation and characterization of chitosan nanoparticles for drug delivery. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 104, n. 1, p. 453-459, 2007.

DUNG, T. H.; LEE, S. R.; HAN, S. D. et al. Chitosan-TPP nanoparticle as a release system of antisense oligonucleotide in the oral environment. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 7, p. 3695-3699, 2007.

ELMOWAFY, M. et al. Exploring the potential of quercetin/aspirin-loaded chitosan nanoparticles coated with Eudragit L100 in the treatment of induced-colorectal cancer in rats. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 13, n. 10, p. 2568–2588, out. 2023.

ERDOĞMUŞ, S. F. Production of fungal chitosan and fabrication of fungal chitosan/polycaprolactone electrospun nanofibers for tissue engineering. **Microscopy Research and Technique**, v. 86, n. 10, p. 1309-1321, 2023.

ERLUND, I.; KOSONEN, T. et al. Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 56, p. 545-553, 2000.

EVONIK. Eudragit® application guidelines. Darmstadt: Evonik Industries, 2020.

FELTON, L. A. Mechanisms of polymeric film formation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 457, n. 2, p. 423-427, 2013.

FRANK, L. A.; CONTRI, R. V.; BECK, R. C.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Improving drug biological effects by encapsulation into polymeric nanocapsules. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 7, n. 5, p. 623-639, set./out. 2015.

FREITAS, T. J. P.; SOUZA, D. A. F. Corticosteróides sistêmicos na prática dermatológica. Parte I: principais efeitos adversos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 82, n. 1, p. 63-71, fev. 2007.

FRENT, O. D.; DUTEANU, N. et al. Preparation and characterization of chitosan-alginate microspheres loaded with quercetin. **Polymers**, v. 14, n. 3, p. 490, jan. 2022.

GADZIŃSKI, P.; FROELICH, A. et al. Ionotropic gelation and chemical crosslinking as methods for fabrication of modified-release gellan gum-based drug delivery systems. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 108, jan. 2023.

GEORGE, A.; SHAH, P. A.; SHRIVASTAV, P. S. Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: a review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 561, p. 244-264, abr. 2019.

GHOSH, D.; PRAMANIK, P. Low molecular weight biodegradable polymer based nanoparticles as potential delivery systems for therapeutics: the way forward? **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v. 2, n. 1, p. 31-34, 2010.

GHOSH, R.; MONDAL, S. et al. Oral drug delivery using a polymeric nanocarrier: chitosan nanoparticles in the delivery of rifampicin. **Materials Advances**, v. 3, p. 4622-4628, 2022.

GOMES, M. L. S. **Desenvolvimento tecnológico e caracterização de nanocápsulas poliméricas contendo cilostazol**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

GOMES, M. L. S. **Desenvolvimento, caracterização e estudo *in vitro* e *in vivo* de nanocápsulas poliméricas contendo cilostazol**. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

GONG, L.; ZHANG, Y. et al. All-in-one biomimetic nanoplatform based on hollow polydopamine nanoparticles for synergistically enhanced radiotherapy of colon cancer. **Small**, v. 18, n. 14, p. e2107656, abr. 2022.

GONZALEZ, M. C.; ESTEBAN, M. A. Chitosan-nanoparticles effects on mucosal immunity: a systematic review. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 130, p. 1-8, nov. 2022.

HANNAN, A.; AKHTAR, B. et al. Quercetin-loaded chitosan nanoparticles ameliorate adjuvant-induced arthritis in rats by regulating anti-oxidant enzymes and downregulating pro- and inflammatory cytokines. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 1, p. 287-300, fev. 2023.

HANCOCK, B. C.; ZOGRAFI, G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 1, p. 1-12, 1997.

HE, P.; DAVIS, S. S.; ILLUM, L. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 166, p. 75-88, 1998.

HONARY, S.; ZAHIR, F. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems: a review (Part 2). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, p. 265-273, 2013.

HUANG, Y.; LAPITSKY, Y. Salt-assisted mechanistic analysis of chitosan/tripolyphosphate micro- and nanogel formation. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 12, p. 3868-3876, 2012.

HUANG, Y.; DAI, W.-G. Fundamental aspects of solid dispersion technology. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 4, n. 1, p. 18-25, 2014.

HUANG, X.; BRAZEL, C. S. On the importance of burst release in drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, n. 2-3, p. 121-136, 2001.

HUSSAIN, Y.; MIRZAEI, S. et al. Quercetin and its nano-scale delivery systems in prostate cancer therapy: paving the way for cancer elimination and reversing chemoresistance. **Cancers**, v. 13, n. 7, p. 1602, abr. 2021.

HUSSAIN, A.; ALTAMIMI, M. A.; KHAN, S.; ALROWAIS, F.; ALKHARFY, K. M. Nanomedicines as drug delivery carriers of polyphenols: a review. **Current Drug Delivery**, v. 14, n. 4, p. 442-453, 2017.

JAFERNIK, K.; LADNIAK, A. et al. Chitosan-based nanoparticles as effective drug delivery systems: a review. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1963, fev. 2023.

JAIN, S. K. et al. Expedition of Eudragit® polymers in the development of novel drug delivery systems. **Current Drug Delivery**, v. 17, n. 6, p. 448-469, 2020.

JOSE, C. et al. Polymeric lipid hybrid nanoparticles: properties and therapeutic applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 35, n. 6, p. 555-588, 2018.

KAENKUMCHORN, T.; WAHBEH, G. Ulcerative colitis. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 49, n. 4, p. 655-669, 2020.

KESHARWANI, S. S.; SAYRE, C. L.; BURROWS, A. Quercetin-Eudragit® polymer complexes with enhanced loading, solubility, stability, and site-specific targeting. **Therapeutic Delivery**, p. 1-10, 2025.

KIM, B. Y.; RUTKA, J. T.; CHAN, W. C. Nanomedicine. **New England Journal of Medicine**, v. 363, n. 25, p. 2434-2443, dez. 2010.

KIM, E. S.; KIM, D. Y. et al. Quercetin delivery characteristics of chitosan nanoparticles prepared with different molecular weight polyanion cross-linkers. **Carbohydrate Polymers**, v. 267, p. 118157, set. 2021.

KOBAYASHI, T.; SIEGMUND, B. et al. Ulcerative colitis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, p. 74, 2020.

KORSMEYER, R. W. et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 25-35, 1983.

KUCHARZIK, T.; KOLETZKO, S. et al. Ulcerative colitis—diagnostic and therapeutic algorithms. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 117, p. 564-574, 2020.

KUMAR, S. et al. Nanotechnology-based approaches for enhancing the bioavailability of flavonoids. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 31, p. 11-19, 2016.

KUMAR, M. N. et al. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6017-6084, 2004.

KUMARI, A.; JAIN, A. et al. Eudragit S100 coated microsponges for colon targeting of prednisolone. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 6, p. 902-913, 2018.

KUMARI, A.; YADAV, S. K.; YADAV, S. C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 75, n. 1, p. 1-18, 2010.

LANG, X.; WANG, T. et al. Advances and applications of chitosan-based nanomaterials as oral delivery carriers: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 154, p. 433-445, jul. 2020.

LI, S. J.; LIAO, Y. F. et al. Research and application of quercetin-loaded nano drug delivery system. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 43, n. 10, p. 1978-1984, maio 2018.

LI, H. et al. Preparation and characterization of quercetin solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3-4, p. 254-260, 2009.

LI, Y.; YAO, J. et al. Quercetin, inflammation and immunity. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 167, mar. 2016.

LIANG et al. Fabrication and characterization of quercetin loaded casein phosphopeptides-chitosan composite nanoparticles by ultrasound treatment: factor optimization, formation mechanism, physicochemical stability and antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 80, p. 105830, nov. 2021.

LIU, Z.; JIAO, Y.; WANG, Y.; ZHOU, C.; ZHANG, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 15, p. 1650-1662, dez. 2008.

LUDWIG et al. Chitosan-coated PLGA nanospheres for improved amphotericin B delivery: characterization, mucoadhesion, and cytotoxicity assessment. **BioNanoScience**, v. 15, p. 56, 2025.

MACEDO, B. J. **Nanopartículas magnéticas e lipídicas para liberação direcionada de quercetina no câncer de cólon**. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2024.

MALEKI, H.; DOOSTAN, M. et al. Achillea wilhelmsii-incorporated chitosan Eudragit nanoparticles intended for enhanced ulcerative colitis treatment. **AAPS PharmSciTech**, v. 24, p. 112, 2023.

MATOS, B. N.; OLIVEIRA, P. M.; AREDA, C. A.; FILHO, M. S. S. C.; GRATIERI, T.; GELFUSO, G. M. Preparações farmacêuticas e cosméticas com uso de nanotecnologia. **Brasília Médica**, v. 52, n. 1, p. 8-20, 2015.

MIZUSHIMA, Y.; KOBAYASHI, M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 20, n. 3, p. 169-173, 1968.

MOHANBHAI, S. J.; SARDOIWALA, M. N.; GUPTA, S. et al. Colon targeted chitosan-melatonin nanotherapy for preclinical inflammatory bowel disease. **Journal of Biomaterials Advances**, v. 136, p. 212796, 2022.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 1, p. 561-573, 2006.

MU, D.; ZHOU, L. et al. Quercetin-crosslinked chitosan nanoparticles: a potential treatment for allergic rhinitis. **Scientific Reports**, v. 14, p. 4021, 2024.

MURA, P.; MAESTRELLI, F.; CIRRI, M.; MENNINI, N. Mucoadhesive polymers for buccal delivery. In: **Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches and Development**. Boca Raton: CRC Press, 2015. p. 255-284.

MURRAY, A.; NGUYEN, T. M. et al. Oral 5-aminosalicylic acid for induction of remission in ulcerative colitis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 10, 2020.

NAN, W.; DING, L. Topical use of quercetin-loaded chitosan nanoparticles against ultraviolet B radiation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 826, jul. 2018.

NAEEM, M.; AWAN, U. A. Advances in colon-targeted nano-drug delivery systems: challenges and solutions. **Archives of Pharmacal Research**, v. 43, p. 153-169, 2020.

NAKAMURA, F.; ONISHI, H.; MACHIDA, Y.; NAGAI, T. Lysozyme-catalyzed degradation properties of the conjugates between chitosans having some deacetylation degrees and methotrexate. **Yakuzaigaku**, v. 52, p. 59-67, 1992.

NEWMAN, A. et al. Characterization of amorphous solids. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 11, p. 4840-4856, 2008.

NIKAM, A.; SAHOO, P. R. et al. A systematic overview of Eudragit® based copolymer for smart healthcare. **Pharmaceutics**, v. 15, p. 587, 2023.

NIDDK, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. **Ulcerative colitis**. Bethesda: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, s.d.

NURUNNABI, M. et al. Polysaccharide based nano/microformulation: an effective and versatile oral drug delivery system. In: **Nanostructures for Oral Medicine**. [S.l.]: Elsevier, 2017. p. 409-433.

ORDÁS, I.; ECKMANN, L. et al. Ulcerative colitis. **The Lancet**, v. 380, n. 9853, p. 1606-1619, 2012.

PANDIYAN, I.; SRI, S. D. et al. Antioxidant, anti-inflammatory activity of Thymus vulgaris-mediated selenium nanoparticles: an in vitro study. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 25, n. 3, p. 241-245, jun. 2022.

PATRIOTA, Y. B. G.; ARRUDA, I. G. S. S. Synthesis of Eudragit® L100-coated chitosan-based nanoparticles for oral enoxaparin delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 193, pt. A, p. 450-456, dez. 2021.

PATEL, A. et al. Preparation and evaluation of solid dispersions using Eudragit. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 2, p. 615-625, 2012.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4. ed. norte-americana. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEDRO, V. **Avaliação do efeito do extrato hidroalcólico das folhas de *Anacardium occidentale* L. em ratos submetidos à colite ulcerativa**. 2015. Dissertação (Mestrado em Biologia Estrutural e Funcional) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

PEPPAS, N. A.; HUANG, Y. Polymers and gels as molecular recognition agents. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 5, p. 578-587, maio 2002.

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

PINHEIRO, R. G. R.; PINHEIRO, M. et al. Nanotechnology innovations to enhance the therapeutic efficacy of quercetin. **Nanomaterials**, v. 11, n. 10, p. 2658, out. 2021. PINHEIRO, R. G. R.; GRAMMEL, N.; SILVA, R. P. F. Chitosan-based nanoparticles for quercetin delivery: formulation optimization, physicochemical characterization and in vitro evaluation. **Carbohydrate Polymers**, v. 265, p. 118121, 2021.

PRECUPAS, A.; SANDU, R.; POPA, V. T. Quercetin influence on thermal denaturation of bovine serum albumin. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 120, n. 35, p. 9361-9367, 2016.

POOL, H.; QUINTANAR, D. et al. Polymeric nanoparticles as oral delivery systems for encapsulation and release of polyphenolic compounds: impact on quercetin antioxidant activity and bioaccessibility. **Food Biophysics**, v. 7, p. 276-288, 2012.

RAJ, P.; KHATIK, R.; RAJ, R.; JAIN, N.; PATHAK, A. pH-sensitive Eudragit S-100 coated chitosan nanoparticles of 5-amino salicylic acid for colon delivery. **Journal of Biomaterials and Tissue Engineering**, v. 4, n. 10, p. 822-829, 2014.

RASHKI, S.; ASGARPOUR, K. et al. Chitosan-based nanoparticles against bacterial infections. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, p. 117108, 2021.

RAJ, P. M.; RAJ, R. et al. Biodistribution and targeting potential assessment of mucoadhesive chitosan nanoparticles designed for ulcerative colitis via scintigraphy. **RSC Advances**, v. 8, n. 37, p. 20809-20821, 2018.

RODRÍGUEZ, N. I.; DUARTE, M. A. C.; FANARRAGA, M. L. Controlled drug delivery systems for cancer based on mesoporous silica nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 3389-3401, maio 2019.

ROSIK, N.; CIELECKA-PIONTEK, J. et al. Do rutin and quercetin retain their structure and radical scavenging activity after exposure to radiation? **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2713, mar. 2023.

SBALQUEIRO, G. R.; BALVEDI, L. T.; BETTIATO, R.; RIBAS, J. L. C. Uso da nanotecnologia para o desenvolvimento de fármacos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 10, p. 1-15, 2018.

SAKATA, S.; UCHIDA, K.; KAETSU, I.; KITA, Y. Programming control of intelligent drug releases in response to single and binary environmental stimulation signals using sensor and electroresponsive hydrogel. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 76, n. 4, p. 733-737, abr. 2007.

SANTOS, A. C.; MORAIS, F.; SIMÕES, A.; PEREIRA, I. Nanotechnology for the development of new cosmetic formulations. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 16, n. 4, p. 313-330, abr. 2019.

SANTOS, et al. Quitosana: da química básica à bioengenharia. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 4, p. 312-320, nov. 2017.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SHAH, S.; FAMTA, P.; BAGASARIYA, D.; CHARANKUMAR, K. Nanotechnology based drug delivery systems: does shape really matter? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 625, p. 122101, set. 2022.

SHAH, B. et al. Amorphous solid dispersions: theory and practice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 233-252, 2014.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Modeling of diffusion controlled drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 161, n. 2, p. 351-362, 2012.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. A. Higuchi equation: derivation, applications, use and misuse. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 418, n. 1, p. 6-12, 2011.

SIEPMANN, J.; PEPPAS, N. Modeling of drug release from delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 2-3, p. 139-157, 2001.

SINGH, H.; LILLARD, D. A. Nanoparticle-based targeted drug delivery. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 86, n. 3, p. 215-223, 2009.

SINHA, V. R.; KUMRIA, R. Polysaccharide matrices for microbially triggered drug delivery to the colon. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30, n. 2, p. 143-150, 2004.

SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1556-1568, nov. 2005.

SOGIAS, I. A.; WILLIAMS, A. C.; KHUTORYANSKIY, V. V. Why is chitosan mucoadhesive? **Biomacromolecules**, v. 9, n. 7, p. 1837-1842, 2008.

SONI, J. M.; SARDOIWALA, M. N. et al. Melatonin-loaded chitosan nanoparticles endows nitric oxide synthase 2 mediated anti-inflammatory activity in inflammatory bowel disease model. **Materials Science and Engineering: C**, v. 124, p. 112038, maio 2021.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir da polimerização de monômeros. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 96-100, 2012.

TAUBNER, T. et al. Preparation and characterization of hydrophobic and hydrophilic amidated derivatives of carboxymethyl chitosan and carboxymethyl β -glucan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 1433-1443, 2020.

TAKEUCHI, H.; YAMAMOTO, H. et al. Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, n. 1, p. 39-54, mar. 2001.

THAKKAR, V. T.; PATEL, H. V. Colon targeted drug delivery system. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 2, p. 81-87, 2011.

THAKRAL, S. et al. Eudragit®: a versatile polymer for pharmaceutical applications. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, n. 10, p. 1421-1435, 2013.

THANOU, M. Oral drug absorption enhancement by chitosan and its derivatives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 52, n. 2, p. 117-126, nov. 2001.

TUMMALA, S.; KUMAR, M. N. S. et al. Formulation and characterization of 5-fluorouracil enteric coated nanoparticles for sustained and localized release in treating colorectal cancer. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, n. 3, p. 308-314, jul. 2015.

TURANLI, Y.; ACARTÜRK, F. Preparation and characterization of quercetin-loaded nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 35, p. 175-182, 2016.

UMAPATHY, E. et al. In vitro anti-inflammatory activity of methanolic extract of *Aerva lanata*. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 1, n. 4, p. 994-999, 2010.

WATHONI, N.; NGUYEN, A. N. et al. Enteric-coated strategies in colorectal cancer nanoparticle drug delivery system. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 4387-4405, out. 2020.

WAHLICH, J. et al. Nanomedicines for the delivery of biologics. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 5, p. 1-14, 2019.

WARSITO, M. F.; AGUSTIANI, F. A review on factors affecting chitosan nanoparticles formation. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 1011, p. 012027, 2021.

XU, Q.; TANAKA, Y.; CZERNUSZKA, J. T. Interactions between chitosan and mucin: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 278, p. 118956, 2022.

YADAV, S.; SINGH, A. et al. Chitosan-based nanoformulations: preclinical investigations, theranostic advancements, and clinical trial prospects for targeting diverse pathologies. **AAPS PharmSciTech**, v. 25, n. 8, p. 263, nov. 2024.

ZHANG, E.; XING, R. et al. Advances in chitosan-based nanoparticles for oncotherapy. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, p. 115004, out. 2019.

ZHANG, J. et al. Assessing the anti-inflammatory effects of quercetin using network pharmacology and in vitro experiments. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 24, n. 2, p. 1-10, 2022.

ZHOU, J. et al. Preparation of fluorescently labeled chitosan-quercetin drug-loaded nanoparticles with excellent antibacterial properties. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 13, n. 3, p. 141, set. 2022.