

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo deste
documento será disponibilizado
somente a partir de 29/07/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

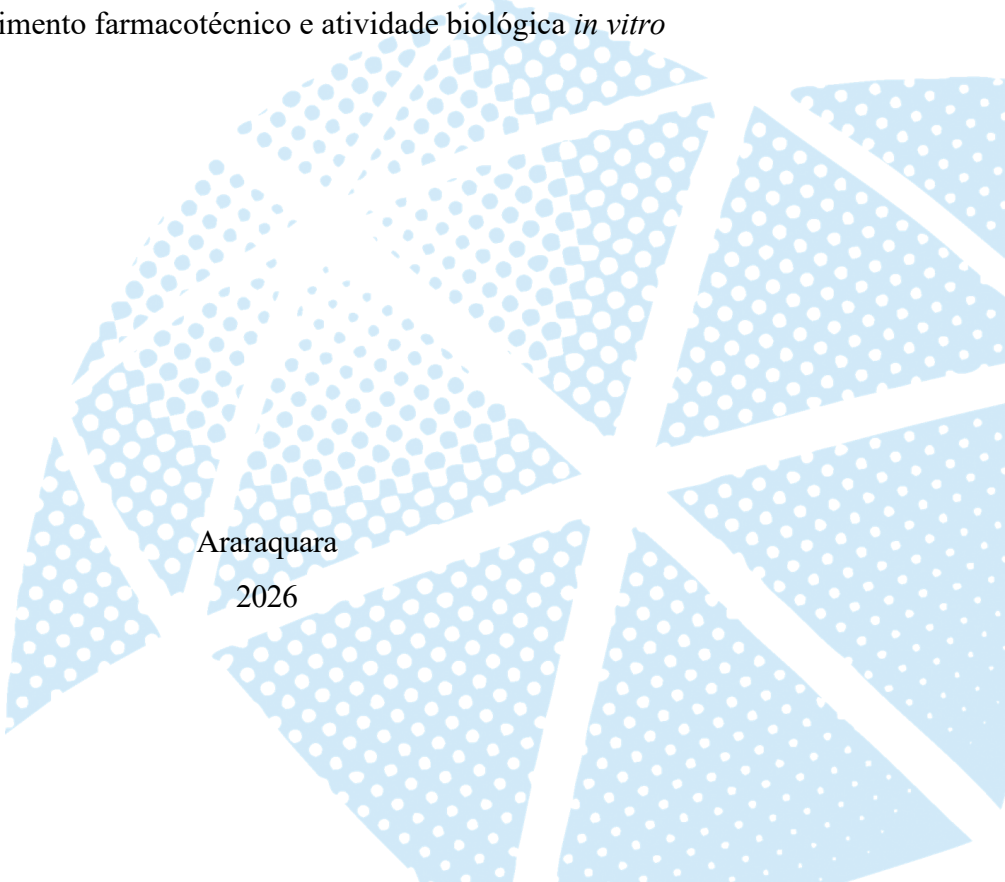
VITÓRIA RIBEIRO MANTOVANELLI

**NANOPARTÍCULAS CÓLON-ESPECÍFICAS DE ZEÍNA PARA CO-ENCAPSULAÇÃO
DE 5-FLUOROURACIL E PROPIONATO PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NO
TRATAMENTO DO CÂNCER COLORRETAL:**

desenvolvimento farmacotécnico e atividade biológica *in vitro*

Araraquara

2026



VITÓRIA RIBEIRO MANTOVANELLI

**NANOPARTÍCULAS CÓLON-ESPECÍFICAS DE ZEÍNA PARA CO-ENCAPSULAÇÃO
DE 5-FLUOROURACIL E PROPIONATO PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NO
TRATAMENTO DO CÂNCER COLORRETAL:**

desenvolvimento farmacotécnico e atividade biológica *in vitro*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Pesquisa e
Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Coorientadora: Dra. Suzana Gonçalves Carvalho

Araraquara

2026

M293n	Mantovanelli, Vitória Ribeiro Nanopartículas cólon-específicas de zeína para co-encapsulação de 5-fluorouracil e propionato para potencial aplicação no tratamento do câncer colorretal : desenvolvimento farmacotécnico e atividade biológica in vitro / Vitória Ribeiro Mantovanelli. -- , 2026 142 p. : il., tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, Orientador: Marlus Chorilli Coorientadora: Suzana Gonçalves Carvalho 1. Nanopartículas proteicas. 2. Câncer colorretal. 3. Sistemas de liberação de fármacos. 4. Ácidos graxos de cadeia curta. 5. Co-encapsulação. I. Título.
-------	---



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Nanopartículas cólon-específicas de zeína para co-encapsulação de 5-fluorouracil e propionato para potencial aplicação no tratamento do câncer colorretal: desenvolvimento farmacotécnico e atividade biológica *in vitro*

AUTORA: VITÓRIA RIBEIRO MANTOVANELLI

ORIENTADOR: MARLUS CHORILLI

COORIENTADORA: SUZANA GONÇALVES CARVALHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI (Participação Presencial)

Departamento de Fármacos e Medicamentos / UNESP / Câmpus de Araraquara - FCF

Profa. Dra. LUIZA ABRAHÃO FRANK (Participação Virtual)

Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. MICHELE GEORGES ISSA (Participação

Virtual) Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP

Araraquara, 29 de julho de 2026.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Câmpus de
Araraquara RODOVIA ARARAQUARA - JAÚ, Km 1,
14800903

<http://www2.fcfar.unesp.br/#!/pos-graduacao/ciencias-farmaceuticas/> - CNPJ: 48.031.918/0025-00.

AGRADECIMENTOS

Existe uma antiga piada italiana que conta a história de um pobre homem que diariamente rezava pedindo a um santo para que ganhasse na loteria. Um certo dia, de saco cheio, a estátua ganha vida e responde ao homem “Meu filho, por favor ... compre um bilhete!”. Dito isso, eu comprei o meu bilhete e hoje, ao olhar minha trajetória, vejo que não fiz isso há 3 anos atrás quando ingressei na UNESP, faço isso diariamente há muito mais tempo. Parte de mim não consegue acreditar na lei do acaso, as coisas acontecem por um motivo e a maioria dos fatos são decorrentes das decisões que tomamos no passado, bem como a maioria das pessoas que conhecemos são postas em nossa vida por uma razão. Portanto, agradeço por todas as sequências de fatos que me trouxeram até aqui.

Agradeço infinitamente a Deus, por me permitir viver essa vida extraordinária e ao meu santo protetor por me guiar e me proteger todos os dias (Salve, Jorge!).

Agradeço especialmente à Maria, Ariene e Niesio, por serem meu apoio e por sempre acreditarem nos meus sonhos e apoiarem minhas decisões. Somente nós quatro sabemos do preço de tudo que renunciamos nesse tempo e agradeço totalmente a compreensão nos momentos de ausência. Vocês me fazem me sentir em casa mesmo a quilômetros de distância e essa conquista é nossa. À China, Pingo e Zé por serem os seres mais adoráveis que conheço, os quais foram e são fonte de carinho genuíno e amor.

Agradeço de forma mais carinhosa possível os meus amigos, aqueles que em inúmeros momentos foram meu apoio, casa, amor e parceria. Cada momento de descontração, cada palavra de apoio, cada ajuda com assuntos de trabalho e também com aqueles de cunho pessoal contribuíram para que eu concluísse essa fase da melhor forma. Agradeço aos meus amigos do laboratório, aos meus amigos de Portugal, aos amigos que moraram comigo e aos meus amigos que a vida me deu.

Agradeço à professora Janaína por ter sido tão incentivadora da minha carreira de pesquisadora. Agradeço à Suzana por ser tudo que ela é e foi por mim, por ser minha orientadora e por todo apoio, mas sobretudo, por ser minha amiga. Agradeço ao professor Marlus por me acolher em seu laboratório e por ser um orientador tão carinhoso e incentivador. Agradeço ao professor João por também ter me acolhido em seu laboratório e por ter sido parte do meu processo de desenvolvimento profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2024/06447-1.

Agradeço também à UNESP e à UFES. Viva a universidade pública!

RESUMO

O câncer colorretal (CCR) ocupa a terceira posição em relação às mortes mundiais relacionadas ao câncer. O 5-fluorouracil (5-FU) é o fármaco de escolha para o tratamento do CCR; no entanto, apresenta uma série de limitações, como absorção instável no trato gastrointestinal (TGI), problemas relacionados a sua elevada hidrofília, meia vida plasmática curta e variação na sua farmacocinética, ocasionando muitos efeitos adversos. Sistemas de liberação cólon específicos contendo 5-FU a partir de nanopartículas poliméricas têm sido explorados na literatura, visando contornar essas limitações e possibilitar a administração oral desse quimioterápico. Nesse contexto, nanopartículas de zeína tem ganhado cada vez mais destaque principalmente devido à sua capacidade de resistir à degradação da porção superior do TGI. Adicionalmente, a co-encapsulação com o propionato poderia ampliar a eficácia da terapia, já que esse metabólito ativo possui relação com a homeostase intestinal, com a manutenção da integridade da mucosa intestinal, além de também possuir ação anti-inflamatória, imunomoduladora e potencial anticâncer. Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo desenvolver nanopartículas à base de zeína para a liberação cólon-específica do 5-FU e propionato com potencial aplicação no tratamento do CCR. As nanopartículas foram preparadas pela técnica de nanoprecipitação e posteriormente foram caracterizadas quanto aos aspectos físico-químicos e frente atividade *in vitro*. Em razão da instabilidade desses sistemas, realizou-se um estudo visando a estabilização das nanopartículas por meio dos polissacarídeos quitosana (QS) e alginato de sódio (AS). As partículas contendo AS em sua composição apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio (DHM) entre 192 e 259 nm, índice de polidispersão (PdI) de $\sim 0,145$, potencial zeta (PZ) entre -32 e -53 mV e eficiência de encapsulação (EE%) entre 49 e 50% para 5-FU e 58 e 65% para PROP. Já as partículas contendo QS apresentaram DHM entre 120 e 190 nm, PdI entre 0,190 e 0,286, PZ variando entre 39 e 53 mV e EE% entre 34 e 44% para 5-FU e 49 e 68% para PROP. As nanopartículas contendo QS apresentaram maior estabilidade em condições elevadas de sal e as nanopartículas contendo AS exibiram maior estabilidade frente às diferentes condições de pH. As nanopartículas contendo maior concentração de AS exibiram uma alta estabilidade em todas as análises realizadas, sendo selecionada para a continuidade do trabalho. Ensaio de caracterização físico-química da formulação escolhida evidenciaram a presença de nanopartículas esféricas com distribuição de tamanho uniforme, além de indicarem estabilidade térmica e interação entre 5-FU, PROP e os polímeros utilizados, indicando sucesso na formação das nanopartículas. Os ensaios de corona proteica e de capacidade de interação com a mucina evidenciaram a interação das NPs com proteínas e sua capacidade de interação com a mucina. O perfil de liberação *in vitro* do fármaco pelas nanopartículas demonstrou liberação controlada ao longo do tempo e capacidade das nanopartículas em proteger o fármaco em condições gástricas. A biocompatibilidade das NPs foi avaliada em células HCT116, exibindo citotoxicidade dose-dependente e efeito aditivo entre os fármacos. Um efeito hormético foi observado nos ensaios de migração celular. As análises por microscopia confocal e citometria de fluxo demonstraram a capacidade de internalização celular das nanopartículas em células HCT116. Esse achado é desejável, considerando o mecanismo de ação intracelular do 5-FU. Frente modelo 3D, as NPs demonstraram efeito citotóxico tempo e dose-dependente. Ademais, as NP foram efetivas em controlar a permeabilidade do 5-FU e do propionato através de monocamada de células Caco-2. Em conjunto, os resultados obtidos evidenciam o potencial das nanopartículas desenvolvidas como uma estratégia promissora para a entrega direcionada de fármacos no cólon, abrindo perspectivas para o aprimoramento de terapias voltadas ao tratamento de doenças colorretais.

Palavras-chave: nanopartículas proteicas; câncer colorretal; sistemas de liberação de fármacos; ácidos graxos de cadeia curta; co-encapsulação.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) ranks third among global cancer-related deaths. 5-Fluorouracil (5-FU) is the drug of choice for treating CRC; however, it presents several limitations, such as unstable absorption in the gastrointestinal tract (GIT), issues related to its high hydrophilicity, a short plasma half-life, and pharmacokinetic variability, all of which lead to numerous adverse effects. Colon-specific delivery systems utilizing polymeric nanoparticles to carry 5-FU have been explored in the literature as a means to overcome these limitations and enable the oral administration of this chemotherapeutic agent. In this context, zein nanoparticles have gained increasing prominence, primarily due to their ability to resist degradation in the upper GIT. Additionally, co-encapsulation with propionate could enhance therapeutic efficacy, given that this active metabolite is linked to intestinal homeostasis and the maintenance of intestinal mucosal integrity, while also exhibiting anti-inflammatory, immunomodulatory, and potential anticancer properties. Thus, the present study aims to develop zein-based nanoparticles for the colon-specific delivery of 5-FU and propionate, with potential application in CRC treatment. The nanoparticles were prepared using the nanoprecipitation technique and subsequently characterized regarding their physicochemical properties and *in vitro* activity. Due to the instability of these systems, a study was conducted to stabilize the nanoparticles using the polysaccharides chitosan (CS) and sodium alginate (SA). Particles containing AS exhibited a mean hydrodynamic diameter (MHD) between 192 and 259 nm, a polydispersity index (PDI) of ~0.145, a zeta potential (ZP) between -32 and -53 mV, and an encapsulation efficiency (EE%) of 49–50% for 5-FU and 58–65% for PROP. In contrast, particles containing QS showed an MHD between 120 and 190 nm, a PDI between 0.190 and 0.286, a ZP ranging from 39 to 53 mV, and an EE% of 34–44% for 5-FU and 49–68% for PROP. QS-containing nanoparticles demonstrated greater stability under high-salt conditions, whereas AS-containing nanoparticles exhibited greater stability across varying pH conditions. Nanoparticles with the highest AS concentration showed high stability in all analyses performed and were selected for the continuation of the study. Physicochemical characterization assays of the selected formulation revealed spherical nanoparticles with a uniform size distribution, as well as thermal stability and interactions between 5-FU, PROP, and the polymers used, indicating successful nanoparticle formation. Protein corona and mucin interaction assays demonstrated the interaction of the NPs with proteins and their ability to interact with mucin. The *in vitro* drug release profile showed controlled release over time and the nanoparticles' ability to protect the drug under gastric conditions. NP biocompatibility was evaluated using HCT116 cells, revealing dose-dependent cytotoxicity and an additive effect between the drugs. A hormetic effect was observed in cell migration assays. Confocal microscopy and flow cytometry analyses demonstrated the cellular internalization of the nanoparticles in HCT116 cells. This finding is desirable, given the intracellular mechanism of action of 5-FU. In a 3D model, the NPs exhibited a time- and dose-dependent cytotoxic effect. Furthermore, the NPs were effective in controlling the permeability of 5-FU and propionate across a Caco-2 cell monolayer. Taken together, the results highlight the potential of the developed nanoparticles as a promising strategy for targeted colonic drug delivery, opening up prospects for improving therapies for colorectal diseases.

Keywords: protein nanoparticles; colorectal cancer; drug delivery systems; short-chain fatty acids; co-encapsulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do 5-fluorouracil.....	22
Figura 2 - Estrutura química do propionato.....	25
Figura 3 - Estrutura química do alginato de sódio.....	31
Figura 4 - Estrutura química da quitosana.....	33
Figura 5 - Plano de trabalho com as etapas realizadas ao longo do mestrado	37
Figura 6 - Representação gráfica da síntese de nanopartículas de zeína-polissacarídeo contendo 5-FU e PROP pela técnica de nanoprecipitação.....	38
Figura 7 - Aparência visual de nanopartículas de zeína obtidas por nanoprecipitação na presença de alginato ou quitosana.....	49
Figura 8 - Gráficos de distribuição de tamanho hidrodinâmico por intensidade de espalhamento de luz obtidos por meio do DLS para as nanopartículas contendo (A) alginato e (B) quitosana.....	50
Figura 9 - Efeito de diferentes pHs (2 ao 8) sobre a estabilidade de nanopartículas de zeína co-encapsuladas com 5-FU e propionato. As análises foram realizadas em DLS sob ângulo de detecção de 173 °C a 25 °C. As colunas representam a média $\pm$ DP de três experimentos independentes (n=3). (A) diâmetro médio (B) Índice de polidispersão	54
Figura 10 - Registros fotográficos dos efeitos macroscópicos de diferentes pHs sobre a estabilidade de nanopartículas zeína co-encapsuladas com 5-FU e propionato.....	55
Figura 11 - Efeito na estabilidade das nanopartículas em concentrações de NaCl variando de 10 a 200mM. As análises foram realizadas em DLS sob ângulo de detecção de 173 °C a 25 °C. As colunas representam a média $\pm$ DP de três experimentos independentes (n=3). (A) diâmetro médio (B) Índice de polidispersão	57
Figura 12 - Registros fotográficos dos efeitos macroscópicos de diferentes concentrações de sal sobre a estabilidade de nanopartículas zeína co-encapsuladas com 5-FU e propionato.....	57
Figura 13 - Estabilidade física das nanopartículas ao longo de 120 dias, avaliadas por meio da análise de tamanho hidrodinâmico médio (A), índice de polidispersão (B) e potencial zeta (C). As análises foram realizadas em DLS sob ângulo de detecção de 173 °C a 25 °C. As colunas representam a média $\pm$ DP de três experimentos independentes (n=3)	59
Figura 14 - Distribuição de tamanho da nanopartícula pela técnica de NTA. (A) partículas NP 5-FU+P contendo os ativos, (B) contendo 5-FU e (C) sem fármaco.....	63
Figura 15 - Fotomicrografias das nanopartículas NP 5-FU+P e NP Branca obtidas por MEV-FEG obtidas em aumento entre 50.000 e 100.000 vezes e imagens do mapeamento químico das nanopartículas NP 5-FU+P	64
Figura 16 - Espectros FTIR de uma amostra controle de 5-fluorouracil, propionato, zeína, alginato, nanopartículas sem fármaco e nanopartículas com fármaco.....	66
Figura 17 - Termogramas referentes a análise termogravimétrica (TGA) da zeína, alginato, 5-FU, propionato, NP branca e NP de 5-FU+P	68

Figura 18 - Espectros de dicroísmo circular normalizados da zeína, NP branca, NP 5-FU e NP 5-FU+P, com comprimento de excitação em 185 a 320 nm.....	71
Figura 19 - Avaliação da estabilidade das nanopartículas de zeína e de sua interação com proteínas em meio suplementado com soro fetal bovino. Variação do tamanho hidrodinâmico (A), índice de polidispersão (B) e potencial zeta (C) das nanopartículas durante a formação da corona proteica ao longo de 120 minutos. Os valores representam a média $\pm$ D.P. (n=3).....	73
Figura 20 - Análise da interação de diferentes nanopartículas com mucina em diferentes concentrações e em pH 1,2 (A) e 6,8 (B), por avaliação do potencial zeta. Os valores representam a média $\pm$ D.P. (n=3) .	76
Figura 21 - Perfil de liberação do 5-FU e do PROP a partir de nanopartículas de zeína e alginato em meio ácido (pH 1,2). Cada ponto representa a média $\pm$ desvio padrão de quatro experimentos independentes (n=3)	78
Figura 22 - Perfil de liberação do 5-FU e do PROP a partir de nanopartículas de zeína e alginato em tampão fosfato (pH 7,4). Cada ponto representa a média $\pm$ desvio padrão de quatro experimentos independentes (n=3).....	79
Figura 23 - Perfil de liberação do 5-FU e do PROP a partir de nanopartículas de zeína e alginato em tampão fosfato (pH 6,8). Cada ponto representa a média $\pm$ desvio padrão de quatro experimentos independentes (n=3).....	80
Figura 24 - Curva de crescimento em modelo 2D de HCT116 plaqueadas em diferentes densidades celulares e avaliadas ao longo do tempo.....	87
Figura 25 - Biocompatibilidade <i>in vitro</i> de células HCT116 pelo método de MTT, (A) 48 horas e (B) 72 horas após diferentes tratamentos. Letras diferentes mostram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as análises realizadas nas diferentes amostras e nas diferentes concentrações (n=3)	89
Figura 26 - Gráficos representativos de dispersão bidimensionais. Cada gráfico representa um tratamento diferente, sendo A-D grupos do tempo 48 horas e (E-H) do tempo 72 horas. O eixo X corresponde à intensidade de fluorescência do corante e o eixo Y ao lateral. A região delimitada indica o gate de células viáveis.....	92
Figura 27 - Caracterização de esferóides de HCT116 ao longo de 7 dias. (A) Morfologia de esferóides. (B) Gráfico contendo diâmetro e atividade metabólica dos esferóides. Os valores representam a média $\pm$ D.P. (n=3). Barra de escala 100 μ m.....	93
Figura 28 - Avaliação da atividade metabólica de esferóides de células HCT116 após (A) 48 horas e (B) 72 horas de tratamento, através da quantificação de adenosina trifosfato utilizando CellTiter-Glo®. Letras diferentes mostram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as análises realizadas nas diferentes amostras e nas diferentes concentrações (n=3)	95
Figura 29 - Imagens representativas do ensaio de migração celular com linhagem HCT116 frente tratamento com NP 5-FU+P, NP 5-FU e NP Branca, bem como sem tratamento. As imagens demonstram a lesão após a realização e após 24 e 48 horas.....	98

Figura 30 - Imagens representativas da microscopia confocal de células HCT116 tratadas com (A) NP 5-FU+P, (B) NP 5-FU, (C) NP Branca e (D) sem tratamento, após 4 h de tratamento. As amostras foram coradas para visualização das nanopartículas com rodamina (laranja) e do núcleo com DAPI (azul). A linhagem celular estudada possui marcador de citoplasma com GFP (verde)	99
Figura 31 - Quantificação da internalização de nanopartículas contendo rodamina expressa como intensidade média de fluorescência, em 48 e 72 h após tratamento. Letras diferentes mostram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as análises realizadas nas diferentes amostras e nos diferentes tempos de análise (n=3).....	101
Figura 32 - Valores de TEER do 5-FU e propionato livres, bem como da NP 5-FU e NP 5-FU+P ao longo do ensaio de permeabilidade. Os dados são apresentados como média $\pm$ DP (n = 3).....	103
Figura 33 - Permeabilidade em modelo de Caco-2 do 5-FU a partir de NP 5-FU (A) e do 5-FU e PROP a partir de NP 5-FU+P (B) bem como dos insumos ativos livres em diferentes pontos de tempo (n=3)	104
Figura 34 - Cromatograma do 5-FU (tempo de retenção: 3,634) e do propionato (tempo de retenção: 6,219) nas concentrações de 2,5 μ g/mL e 2500 μ g/mL respectivamente, obtido por UV-DAD (216 nm)	130
Figura 35 - Cromatogramas do 5-FU, propionato, zeína e alginato. Os cromatogramas foram obtidos por UV-DAD (216 nm) a 25 °C. (A) 5-FU e propionato, (B) alginato e (C) zeína.....	132
Figura 36 - Gráficos de avaliação da linearidade. (A) Curva analítica do 5-FU e (B) propionato, ambas obtidas por CLAE.....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diâmetro hidrodinâmico médio (nm), índice de polidispersão (PdI) e potencial zeta (mV) das nanopartículas de zeína preparadas com diferentes polissacarídeos e concentrações. As análises foram realizadas em DLS sob ângulo de detecção de 173° a 25°C. Os valores apresentados representam a média $\pm$ DP de três experimentos independentes (n=3).	50
Tabela 2 - Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento do 5-FU e do propionato para as formulações desenvolvidas. Os valores representam a média $\pm$ D.P. (n=3).....	52
Tabela 3 - Diâmetro hidrodinâmico médio (nm), índice de polidispersão e potencial zeta (mV) das nanopartículas de zeína contendo ou não rodamina. As análises foram realizadas em DLS sob ângulo de detecção de 173° a 25°C. Os valores apresentados representam a média $\pm$ DP de três experimentos independentes (n=3)	61
Tabela 4 - Variação da entalpia (ΔH), temperatura máxima e área do pico obtidas na análise de DSC dos componentes da formulação isolados (zeína, 5-FU, propionato e alginato), da formulação escolhida contendo o fármaco e branca	69
Tabela 5 - Coeficientes de modelos matemáticos aplicados aos perfis de liberação em meio ácido (pH 1,2) a partir das nanopartículas, sendo eles Baker, primeira ordem, Higuchi, Hixon, Peppas e Weibull	81
Tabela 6 - Coeficientes de modelos matemáticos aplicados aos perfis de liberação em tampão fosfato (pH 7,4) a partir das nanopartículas, sendo eles Baker, primeira ordem, Higuchi, Hixon, Peppas e Weibull.....	83
Tabela 7 - Coeficientes de modelos matemáticos aplicados aos perfis de liberação no tampão fosfato (pH 6,8) a partir das nanopartículas, sendo eles Baker, primeira ordem, Higuchi, Hixon, Peppas e Weibull.....	84
Tabela 8 - Resumo da pontuação de sinergia obtida pelo software SynergyFinder+.....	91
Tabela 9 - Porcentagem da área de lesão ($A\% \pm DP$) no ensaio de migração celular com células HCT 116. Letras diferentes mostram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as análises realizadas na mesma amostra nos diferentes tempos de análise e nos diferentes tratamentos	97
Tabela 10 - Resultados da permeabilidade aparente (P_{app}) e seus respectivos valores de desvio padrão (DP) (n=3).....	105
Tabela 11 - Parâmetros avaliados na conformidade do método cromatográfico para quantificação do 5-FU e propionato	131
Tabela 12 - Resultados obtidos pelo teste de repetibilidade para o 5-FU e propionato	134
Tabela 13 - Resultados obtidos pelo teste de precisão intermediária do 5-FU e propionato	134

Tabela 14 - Resultados obtidos no teste de exatidão pelo método analítico do 5-FU.....	135
Tabela 15 - Resultados obtidos no teste de exatidão pelo método analítico do propionato	135
Tabela 16 - Resultados obtidos para o 5-FU e o propionato na robustez pelo método analítico proposto em amostras com concentração teórica de 1,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o 5-FU e propionato, respectivamente	136

LISTA DE ABREVIATURAS

5-FU - 5-fluorouracil

AS - Alginato de sódio

CCR - Câncer colorretal

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

DLS - Espalhamento de luz dinâmico

DMSO - Dimetilsulfóxido

DSC - Calorimetria diferencial de varredura

EE% - Eficiência de encapsulação

SFB – Soro Fetal Bovino

FDA - *Food and Drug Administration* (Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA)

FTIR - Espectroscopia no infravermelho por transformada de fourier

HCl - Ácido clorídrico

KBr - Brometo de potássio

Min - Minutos

MEV-FEG - Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo

MTT - (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromide)

NaCl - Cloreto de sódio

NaOH- Hidróxido de sódio

NP - Nanopartícula

NTA - Análise de rastreamento de nanopartículas

PBS - Solução Salina Tamponada com Fosfato

PDI - Índice de polidispersão

PFA - Paraformaldeído

PFTE - Politetrafluoretileno

pH - Potencial hidrogeniônico

PROP – Propionato de sódio

PZ - Potencial zeta

QS - Quitosana

RPM - Rotações por minuto

TG - Análise termogravimétrica

TGI - Trato gastrointestinal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Câncer colorretal	20
2.2 5-Fluorouracil.....	22
2.3 Propionato	24
2.4 Sistemas de liberação cólon-específicos.....	26
2.5 Nanopartículas proteicas de zeína	28
2.5.1 POLISSACARÍDEOS UTILIZADOS NA ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA	31
3 OBJETIVOS.....	35
3.1 Objetivo Geral.....	35
3.2 Objetivos Específicos	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 Material.....	36
4.1.1 PRINCIPAIS MATERIAIS E REAGENTES	36
4.1.2 PRINCIPAIS MATERIAIS E REAGENTES DA CULTURA CELULAR	36
4.2 Delineamento e desenvolvimento de nanopartículas de zeína contendo 5-FU e propionato.....	37
4.3 Análise do diâmetro hidrodinâmico médio, do índice de polidispersão e do potencial zeta das nanopartículas por DLS.....	39
4.4 Eficiência de encapsulação	39
4.5 Ensaios de estabilidade da dispersão de nanopartículas	40
4.5.1 ESTABILIDADE EM FUNÇÃO DO PH	40
4.5.2 ESTABILIDADE EM FUNÇÃO DA FORÇA IÔNICA	40
4.5.3 ANÁLISE DE ESTABILIDADE FÍSICA DAS NANOPARTÍCULAS EM FUNÇÃO DO TEMPO.....	40
4.6 Análise de rastreamento de nanopartículas (NTA)	40
4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG)	40
4.8 Espectroscopia de Raios X por Dispersão de Energia (EDS).....	41
4.9 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	41
4.10 Análises térmicas.....	41
4.10.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	41

4.10.2 CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)	41
4.11 Análises da estrutura conformacional da zeína por dicroísmo circular	42
4.12 Caracterização das interações nano-bio por meio da formação de corona proteica	42
4.13 Avaliação da interação entre nanopartículas e mucina.....	42
4.14 Estudo do perfil de liberação <i>in vitro</i> do 5-FU	43
4.14.1 ESTUDO DA SOLUBILIDADE DO 5-FU	43
4.14.2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO 5-FU.....	43
4.15 Ensaios celulares	44
4.15.1 CONDIÇÕES DA CULTURA CELULAR.....	44
4.15.2 CURVA DE CRESCIMENTO CELULAR.....	44
4.15.3 ESTUDO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i> DE NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA EM CÉLULAS HCT116	44
4.15.4 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM MODELOS DE ESFERÓIDES 3D.....	45
4.15.5 CITOMETRIA DE FLUXO	46
4.15.6 MICROSCOPIA CONFOCAL.....	47
4.15.7 ESTUDO DE MIGRAÇÃO CELULAR	47
4.15.8 PERMEABILIDADE INTESTINAL DO 5-FU EM MONOCAMADA DE CÉLULAS CACO-2.....	47
4.16 Análises estatísticas	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Delineamento e desenvolvimento de nanopartículas de zeína contendo polissacarídeos.....	49
5.1.1 DIÂMETRO HIDRODINÂMICO MÉDIO, ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO E POTENCIAL ZETA POR DLS.....	49
5.1.2 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO	52
5.1.3 ENSAIOS DE ESTABILIDADE DA DISPERSÃO DE NANOPARTÍCULAS.....	54
5.2 Caracterização físico-química da nanopartícula selecionada	60
5.2.1 CARACTERIZAÇÃO DO DIÂMETRO HIDRODINÂMICO MÉDIO, ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO E POTENCIAL ZETA POR DLS.....	60
5.2.2 ANÁLISE DE RASTREAMENTO DE NANOPARTÍCULAS (NTA)	62
5.2.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS) (MEV-FEG)	64
5.2.4 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	65
5.2.5 ANÁLISES TÉRMICAS	67

5.2.6 ANÁLISES DA ESTRUTURA CONFORMACIONAL DA ZEÍNA POR DICROÍSMO CIRCULAR	70
5.2.7 CARACTERIZAÇÃO DAS INTERAÇÕES NANO-BIO POR MEIO DA FORMAÇÃO DE CORONA PROTEICA.....	72
5.2.8 ESTUDO DAS PROPRIEDADES MUCOADESIVAS DAS NANOPARTÍCULAS	75
5.3 Estudo do perfil de liberação <i>in vitro</i> do 5-FU	78
5.4.1 CURVA DE CRESCIMENTO	87
5.4.2 ESTUDO DA VIABILIDADE <i>IN VITRO</i> DE CÉLULAS HCT116 EM MODELO 2D.....	88
5.4.3 ESTUDO DA VIABILIDADE <i>IN VITRO</i> DE CÉLULAS HCT116 EM MODELO 3D.....	92
5.4.4 ESTUDO DE MIGRAÇÃO CELULAR	96
5.4.5 CAPTAÇÃO CELULAR	99
5.4.6 PERMEABILIDADE INTESTINAL DO 5-FU EM MONOCAMADA DE CÉLULA CACO-2.....	102
6 CONCLUSÕES.....	107
PRODUÇÕES BIBLIOGRÁFICAS DO PERÍODO.....	108
REFERÊNCIAS.....	109
APÊNDICE A – QUADRO DAS FORMULAÇÕES TESTADAS AO LONGO DA ETAPA DE DELINEAMENTO	127
APÊNDICE B – VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DO 5-FU E DO PROPIONATO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).....	128
APÊNDICE C – CURVA ANALÍTICA DO 5-FU E DO PROPIONATO EM DIFERENTES TAMPÕES.....	137

1 INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é definido como sendo uma patologia que envolve o crescimento desordenado de células cancerígenas na porção final do sistema digestivo, mais especificamente no cólon e no reto (Schaedler *et al.*, 2024). Segundo dados epidemiológicos, o CCR é um dos cânceres que mais acomete a população no mundo inteiro, possuindo altas taxas de mortalidade, as quais podem ser evitadas nos casos em que há diagnóstico precoce (Siegel; Giaquinto; Jemal, 2024). Apesar dos avanços na medicina, estudos indicam que nos próximos anos esses números devem continuar aumentando, com expectativa de que no ano de 2026 haja aproximadamente 53.000 novos casos no Brasil e aumento de 60% de casos até 2030 no mundo (INCA, 2026; Deng *et al.*, 2025). Mesmo que seu surgimento esteja associado a mutações em genes específicos, já foi estabelecido a correlação entre a promoção de hábitos de vida saudáveis e a probabilidade de ser acometido por essa patologia (Lea *et al.*, 2025). Com isso, a principal estratégia para a redução de casos de CCR consiste em prevenção primária, que inclui a adoção de hábitos saudáveis para reduzir os fatores de risco e o rastreio preventivo da doença, por meio de exames laboratoriais (Xi; Xu, 2021), o qual é fundamental, pois o diagnóstico precoce aumenta consideravelmente a sobrevida do paciente (Dekker *et al.*, 2019).

As principais abordagens terapêuticas para o tratamento do CCR incluem procedimentos cirúrgicos, ressecção endoscópica, quimioterapia, radioterapia e imunoterapia, os quais são definidos levando em consideração a extensão, tamanho e localização do tumor, bem como a condição geral de saúde do paciente (Ribeiro *et al.*, 2023). A intervenção cirúrgica é a primeira linha de tratamento para casos de pacientes em estágios iniciais de CCR. Em estágios intermediários, comumente é indicada a associação de intervenção cirúrgica com tratamento quimioterápico. Por fim, casos mais graves, onde há presença de metástase, a indicação geral é consiste no tratamento quimioterápico, já que a cirurgia não é mais eficaz (Mneimneh; Darwiche; Mehanna, 2024). O uso de mais de um tipo de método terapêutico também pode ser indicado, buscando reduzir o estágio tumoral e até mesmo otimizar o processo de ressecção (Alinia *et al.*, 2024).

O 5-fluorouracil (5-FU) é um agente quimioterápico amplamente utilizado para o tratamento de CCR, principalmente devido a sua segurança, custo acessível e eficácia comprovada (Schmitt *et al.*, 2025). Sua ação ocorre por meio da inibição da enzima timidilato sintetase, que desempenha um papel crucial na síntese de pirimidinas, resultando em danos no DNA e RNA (Vodenkova *et al.*, 2020). Mesmo com sua popularidade, alguns pontos negativos, como seu metabolismo hepático, farmacocinética instável, inespecificidade e resistência celular, ainda são fatores que limitam sua aplicabilidade (Vodenkova *et al.*, 2020; Francipane; Bulanin;

Lagasse, 2019).

Dada as limitações que envolvem a entrega oral de agentes quimioterápicos, sistemas de liberação de fármacos vêm sendo cada vez mais estudados como alternativas ao tratamento convencional, visto serem capazes de remodelar o comportamento farmacocinético *in vivo* dos fármacos, favorecer sua biodisponibilidade e velocidade de metabolização, reduzir os efeitos tóxicos e aumentar a superfície de contato (Gogoi; Kaur; Singh, 2022). A liberação cólon específica é uma abordagem terapêutica promissora no tratamento do CCR, garantindo a entrega direcionada de quimioterápicos ao cólon, capazes de promover o tratamento local, reduzindo os efeitos adversos e a dose de tratamento (Mneimneh; Darwiche; Mehanna, 2024). Sistemas de liberação cólon-específicos podem ser delineados explorando as variações fisiológicas do trato gastrointestinal (TGI), podendo ser desenvolvidos sistemas que são pH e/ou tempo dependentes, sistemas dependentes da pressão luminal e aqueles que são degradáveis pela microbiota colônica (Dos Santos *et al.*, 2021).

Ao longo dos últimos anos, diversos estudos envolvendo sistemas de liberação de fármacos baseados em nanotecnologia foram realizados e uma maior ênfase tem sido dado para o desenvolvimento de nanopartículas proteicas. Essas são definidas como sendo sistemas nanométricos compostos principalmente por proteínas, sejam elas de origem animal, vegetal ou sintética (Hajipour *et al.*, 2023). Dentre as características que as torna promissoras na vetorização de fármacos, destacam-se a alta eficiência de encapsulação, baixa toxicidade e variedade estrutural e funcional, atributo esse que permite personalizar o sistema de acordo com os objetivos pretendidos (Lin *et al.*, 2025; Habibi *et al.*, 2022). De mesmo modo, outro ponto vantajoso das nanopartículas proteicas é sua boa biocompatibilidade, fruto de uma afinidade natural entre as células do corpo humano com materiais que possuem composição orgânica (Aljabali *et al.*, 2022). Todas essas características corroboram para a popularização desses sistemas para a vetorização de fármacos, atribuindo ao tratamento maior especificidade do alvo, de forma controlada e direcionada, juntamente com o prolongamento do tempo de circulação sanguínea e melhora da estabilidade dos fármacos (Habibi *et al.*, 2022).

A zeína, uma proteína proveniente do milho, tem sido amplamente utilizada no desenvolvimento de nanocarreadores devido sua capacidade resistir à degradação causada pelo ácido gástrico e de enzimas gastrointestinais (De Marco, 2022). A zeína demonstra uma boa compatibilidade celular, sendo definida pelo *Food and Drug Administration* (FDA) como um dos materiais mais bioseguros (Borges *et al.*, 2022). Ademais, é um material natural, oriundo de fontes renováveis e biodegradáveis, o que a torna mais atraente para uso como excipiente farmacêutico (Liu *et al.*, 2025). Sua composição consiste basicamente em uma série de resíduos

de aminoácidos polares e aminoácidos não polares, conferindo-a perfil hidrofóbico, o que reduz sua solubilidade em água, sendo melhor solúvel em soluções aquosas de etanol (Borges *et al.*, 2022; Shukla; Cheryan, 2001). Sua hidrofobicidade a torna capaz de realizar formação espontânea na presença de solventes polares, da mesma forma que também favorece a administração de fármacos destinados à liberação colônica (Zheng *et al.*, 2022; Berardi *et al.*, 2018).

Apesar das inúmeras vantagens de nanopartículas proteicas de zeína, uma desvantagem é sua baixa estabilidade coloidal, a qual favorece a formação de precipitados e agregados nas formulações. Um dos fatores que leva a essa baixa estabilidade é seu ponto isoelétrico, que em soluções com pH próximo de 6,2 faz com que haja carga superficial neutra nessas partículas (Shehzad *et al.*, 2024). Outro fator associado a essa característica é o tipo de interação que ocorre entre as partículas. A força de interação presente em sistemas contendo zeína é do tipo interação de van der Waals e quando esse sistema é submetido a alteração de pH ou força iônica, comumente ocorre o aumento dessa força de interação entre as cadeias proteicas, levando a formação de agregados (Dai *et al.*, 2016).

Com isso, uma abordagem utilizada para contornar as limitações envolvendo a instabilidade da zeína é a utilização de sistemas polissacarídeos-proteína, já que essa associação pode fornecer ao complexo grupos ionizáveis que diminuem a agregação dessas partículas devido ao aumento de interações do tipo ligações de hidrogênio (Yong *et al.*, 2026). Dentre os polissacarídeos disponíveis, a pectina (Huang; Li; Li, 2023), goma arábica (Jin *et al.*, 2022), quitosana (Cai *et al.*, 2022), caseinato de sódio (Chen; Zhong, 2014) e o alginato de sódio (Zhu *et al.*, 2023) estão entre os mais frequentemente utilizados. A interação polissacarídeo-proteína pode ocorrer por meio de ligações covalentes ou não covalentes, sendo que nas ligações covalentes ocorrem interações que resultam na alteração das propriedades de ambos. Por outro lado, na interação do tipo não covalente ocorre a formação de complexos que podem ser permanentes ou temporários. Forças de van der Waals, ligação de hidrogênio, interação hidrofóbica e eletrostáticas são alguns dos tipos de interação do tipo covalente, enquanto a ligação de hidrogênio, interação eletrostática, exclusão estérica e hidrofobicidade são as do tipo não covalente (Babu *et al.*, 2024). Além disso, sistemas polissacarídeo-proteínas geralmente estão associados a um aumento da eficiência de encapsulação de fármacos hidrofílicos. A alta hidrofobicidade da zeína pode resultar em baixa encapsulação de fármacos hidrofílicos, seja devido à baixa afinidade com a matriz hidrofóbica ou as interações moleculares limitadas. Entretanto, a inclusão de polissacarídeos no sistema forma matrizes mais estáveis e estruturadas a partir do estabelecimento de interações intermoleculares, resultando em melhor e maior

aprisionamento de fármacos hidrofílicos e reduzindo a liberação deles para a fase aquosa (Yong *et al.*, 2026).

Uma prática que vêm se popularizando no meio farmacêutico é a co-encapsulação de fármacos. A liberação de dois fármacos distintos no local de ação pode resultar em um efeito aditivo que aprimora a terapia e contribui para resultados mais expressivos quando comparado com sistema contendo apenas um fármaco (Stevanovic *et al.*, 2025; Zumaya *et al.*, 2022). A co-encapsulação com compostos bioativos se trata de uma estratégia promissora, especialmente com aqueles do tipo ácido graxos de cadeia curta, já que esses compostos são multifuncionais e desempenham funções imunomoduladoras, antioxidantes e anticâncer, além de também favorecerem o desenvolvimento de bactérias probióticas (Shen; Zhang; Qi, 2026).

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) são um grupo de pequenos ácidos carboxílicos orgânicos, que são gerados através do processo de fermentação de fibras alimentares e também podem ser produtos resultantes de outros processos metabólicos da microbiota intestinal (Adame; Stringer; Dickson, 2026; Liu; Wang; Wu, 2022). Portanto, são produtos resultantes dos processos metabólicos da microbiota intestinal que resultam no efeito benéfico do hospedeiro e da própria microbiota (Liu; Wang; Wu, 2022; Scarpellini *et al.*, 2021). Adicionalmente, os ácidos graxos de cadeia curta também possuem notória relação com a diminuição da incidência de casos de CCR, constituindo do principal metabólito bacteriano gerado a partir das fibras alimentares, sendo o propionato o mais abundante dessa categoria (Liu *et al.*, 2024).

Ao longo dos últimos anos, várias atividades importantes para a saúde humana foram associadas ao propionato e mesmo que ainda sejam necessários mais estudos para elucidar seu mecanismo de ação e efeitos a longo prazo, já foi observada a correlação entre esse metabólito e efeitos benéfico para a saúde intestinal (Sylwestrzak *et al.*, 2025; Nogal; Valdes; Menni, 2021; Osto, 2021). Esse AGCC contribui para a integridade da mucosa intestinal e para o processo de regeneração do tecido local (Mirzaei *et al.*, 2022). Adicionalmente, a pesquisa da atividade anticâncer dessa substância tem aumentado ao longo dos últimos anos. Alguns estudos encontraram resultados sugestivos de apoptose de células anormais no geral, especialmente daquelas de CCR (Hague *et al.*, 1995; Scheppach; Bartram; Richter, 1995).

Portanto, o presente trabalho objetiva o desenvolvimento de um nanocarreador oral para liberação cólon-específica de 5-FU e propionato a partir de nanopartículas de zeína, e avaliação do seu potencial biológico *in vitro* no tratamento do câncer colorretal. Para isso, a estratégia de trabalho é desenvolver nanopartículas proteicas de zeína associadas à polissacarídeos para proteção dos fármacos frente às condições ácidas do trato gastrointestinal superior.

6 CONCLUSÕES

O desenvolvimento de nanocarreadores para o tratamento de câncer pode se tratar de uma ferramenta que contorna uma série de limitações apresentadas por quimioterápicos de primeira escolha. Nesse contexto, como parte do delineamento experimental, foi possível preparar nanopartículas de zeína contendo 5-FU e propionato estabilizadas com AS e QS, obtendo-se nanopartículas com características adequadas para o emprego em sistemas de entrega. As formulações foram avaliadas por diversos ensaios de caracterização físico-químicas, demonstrando diâmetro, índice de polidispersão e potencial zeta de acordo com os valores sugeridos pela literatura. Na eficiência de encapsulação, as formulações demonstraram capacidade de encapsular os dois princípios ativos estudados, além de apresentarem alta estabilidade frente à diferentes condições de pH, força iônica e tempo. Entretanto, as nanopartículas contendo AS exibiram maior estabilidade frente às diferentes condições de pH. Dessa forma, com base nas análises iniciais de caracterização físico-química, as nanopartículas compostas por zeína e alginato foram selecionadas para a continuidade do estudo, em função de suas propriedades físico-químicas favoráveis, incluindo parâmetros de estabilidade adequados para aplicação em sistemas destinados à via oral e à ação colônica.

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que o objetivo de desenvolver um nanocarreador oral baseado em nanopartículas de zeína para liberação cólon-específica de 5-FU e propionato foi alcançado. As análises de caracterização físico-química evidenciaram nanopartículas com tamanho médio e concentração adequados, morfologia esférica e distribuição homogênea, além de sugerirem interação entre a matriz polimérica e o fármaco. Estudos de mucoadesão e corona proteica mimetizaram e confirmaram comportamento adequado do sistema frente a interações nanopartículas: interface biológica. O perfil de liberação *in vitro* demonstrou um comportamento de liberação controlada dos compostos encapsulados, indicando o potencial do sistema para aplicação em estratégias de entrega oral direcionada. Ademais, os ensaios *in vitro* com a linhagem celular HCT116 e Caco-2 permitiram avaliar o potencial biológico do sistema, evidenciando efeito citotóxico dose-dependente, capacidade de internalização e baixa permeabilidade intestinal, favorecendo ação local, atividade antitumoral e capacidade de internalização celular. Os modelos celulares 3D expressaram o efeito citotóxico tempo e dose-dependente frente célula de linhagem de câncer. Em conjunto, esses resultados demonstram o potencial das nanopartículas de zeína associadas a polissacarídeos como sistema promissor para a entrega oral cólon-específica de 5-FU e propionato no tratamento do câncer colorretal, fornecendo subsídios para a continuidade das investigações em etapas posteriores.

REFERÊNCIAS

- ABDELSALAM, A. M. *et al.* Surface-Tailored zein nanoparticles: Strategies and applications. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1354, 2021.
- ABKA-KHAJOU EI, R. *et al.* Structures, properties and applications of alginates. **Marine Drugs**, v. 20, n. 6, p. 364, 2022.
- ADAME, M. D.; STRINGER, K. A.; DICKSON, R. P. The gut microbiome and short-chain fatty acid metabolites in sepsis. **Clinics in Chest Medicine**, v. 47, n. 1, p. 119–128, 2026.
- ADAMIAK, K.; SIONKOWSKA, A. State of innovation in alginate-based materials. **Marine Drugs**, v. 21, n. 6, p. 353, 2023.
- ADEL, S. *et al.* Fabrication and optimization of itraconazole-loaded zein-based nanoparticles in coated capsules as a promising colon-targeting approach pursuing opportunistic fungal infections. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 13, n. 12, p. 2982-3002, 2023.
- AHMAD, K. *et al.* Chitosan interaction with stomach mucin layer to enhances gastric retention and mucoadhesive properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 333, p. 121926, 2024.
- AHMADI, M. *et al.* A review on protein corona formation on nanoparticles and prediction of its composition using artificial intelligence tools. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 683, n. 126094, p. 126094, 2025.
- AHMED, S. *et al.* Preparation of nanoformulation of 5-fluorouracil to improve anticancer efficacy: integrated spectroscopic, docking, and MD simulation approaches. **Journal of biomolecular structure & dynamics**, v. 42, n. 22, p. 12523-12536, 2024.
- AHMED, T.; ALJAEID, B. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 28, n. 10, p. 483-507, 2016.
- ALHARBI, H. M. *et al.* Exploring the potential of zein nanoparticles in personalised cancer therapy, highlighting their various methodologies, applications and challenges. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 29, n. 15, 2025.
- ALINIA, S. *et al.* Exploring the impact of stage and tumor site on colorectal cancer survival: Bayesian survival modeling. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 4270, 2024.
- ALJABALI, A. A. A. *et al.* Protein-based nanomaterials: a new tool for targeted drug delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 13, n. 6, p. 321–338, 2022.
- ALVANDI, E. *et al.* Short-chain fatty acid concentrations in the incidence and risk-stratification of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. **BMC Medicine**, v. 20, n. 1, p. 323, 2022.
- ARANAZ, I. *et al.* Chitosan: An overview of its properties and applications. **Polymers**, v. 13, n. 19, p. 3256, 2021.

ARNOLD, M. *et al.* Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. **Gut**, v. 66, n. 4, p. 683-691, 2017.

BABADI, D. *et al.* Nanoformulation strategies for improving intestinal permeability of drugs: A more precise look at permeability assessment methods and pharmacokinetic properties changes. **Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society**, v. 321, p. 669–709, 2020.

BABU, A. *et al.* Protein-polysaccharide complexes and conjugates: structural modifications and interactions under diverse treatments. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 18, p. 101510, 2024.

BAKER, R. W.; LONSDALE, H. K. Controlled release: mechanisms and rates. **Controlled release of biologically active agents**, p. 15–72, 1975.

BANSIL, R.; TURNER, B. S. The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 124, p. 3–15, 2018.

BASPINAR, Y. *et al.* Curcumin and piperine loaded zein-chitosan nanoparticles: Development and *in-vitro* characterisation. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 26, n. 3, p. 323–334, 2018.

BATEMAN, A. C. Pathology of colorectal polyps and cancer. **Surgery (Oxford)**, v. 44, n. 1, p. 16–23, 2026.

BAULETH-RAMOS, T. *et al.* Colorectal cancer triple co-culture spheroid model to assess the biocompatibility and anticancer properties of polymeric nanoparticles. **Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society**, v. 323, p. 398–411, 2020.

BEACH, M. A. *et al.* Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery. **Chemical reviews**, v. 124, n. 9, p. 5505-5616, 2024.

BECKHOFF, B. Traceable characterization of nanomaterials by x-ray spectrometry using calibrated instrumentation. **Nanomaterials**, v. 12, n. 13, p. 2255–2255, 2022.

BEHREND, L. *et al.* Manganese superoxide dismutase induces p53-dependent senescence in colorectal cancer cells. **Molecular and Cellular Biology**, v. 25, n. 17, p. 7758–7769, 2005.

BERARDI, A. *et al.* Zein as a pharmaceutical excipient in oral solid dosage forms: state of the art and future perspectives. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 5, p. 2009–2022, 2018.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, n. 2, p. 567–590, 1990.

BILATI, U. *et al.* Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 24, n. 1, p. 67–75, 2005.

BLONDY, S. *et al.* 5-Fluorouracil resistance mechanisms in colorectal cancer: From classical pathways to promising processes. **Cancer Science**, v. 111, n. 9, p. 3142–3154, 2020.

BORGES, I. *et al.* Nanoparticles obtained from zein for encapsulation of mesalazine. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 12, p. 2830–2830, 2022.

BOUMAN, J. *et al.* Controlled Release from zein matrices: Interplay of drug hydrophobicity and pH. **Pharmaceutical Research**, v. 33, n. 3, p. 673–685, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos. Diário Oficial da União: Brasília, DF, 25 jul. 2017.

CAI, Z. *et al.* Effect of molecular weight of chitosan on the formation and properties of zein-nisin-chitosan nanocomplexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 292, p. 119664, 2022.

CALABRESE, E. J. Cancer biology and hormesis: human tumor cell lines commonly display hormetic (biphasic) dose responses. **Critical reviews in toxicology**, v. 35, n. 6, p. 463-582, 2005.

CALABRESE, E. J. *et al.* Hormesis, biological plasticity, and implications for clinical trial research. **Ageing research reviews**, v. 90, p.102028, 2023.

CAMPOS, A. *et al.* Zein nanoparticles for drug delivery: Preparation methods and biological applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 635, p. 122754, 2023.

CAO, S. *et al.* Zein/pectin/sodium caseinate composite nanoparticles as an efficient delivery system for loquat flower flavonoids: characterization, stability, in vitro release, and absorption-transport. **Food Bioscience**, v. 72, n. 107394, 2025.

CHALABI-DCHAR, M. *et al.* A novel view on an old drug, 5-fluorouracil: an unexpected RNA modifier with intriguing impact on cancer cell fate. **NAR Cancer**, v. 3, n. 3, 2021.

CHEN, H.; ZHONG, Q. Processes improving the dispersibility of spray-dried zein nanoparticles using sodium caseinate. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 358–366, 2014.

CHEN, S. *et al.* Effect of molecular weight of hyaluronan on zein-based nanoparticles: Fabrication, structural characterization and delivery of curcumin. **Carbohydrate Polymers**, v. 201, p. 599–607, 2018.

CHING, S. H.; BANSAL, N.; BHANDARI, B. Alginate gel particles: A review of production techniques and physical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 1133–1152, 2015.

CHOU, T. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. **Cancer Research**, v. 70, n. 2, p. 440–446, 2010.

CONDE, J. *et al.* Self-assembled RNA-triple-helix hydrogel scaffold for microRNA modulation in the tumor microenvironment. **Nature Mater**, v. 15, p. 353–363, 2016.

COSTA, P.; LOBO, J. M. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123–133, 2001.

- DAI, L. *et al.* The interaction between zein and lecithin in ethanol-water solution and characterization of zein–lecithin composite colloidal nanoparticles. **Plos One**, v. 11, n. 11, p. e0167172, 2016.
- 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, S. *et al.* Quercetin and 5-Fu loaded chitosan nanoparticles trigger cell-cycle arrest and induce apoptosis in HCT116 cells via modulation of the p53/p21 axis. **ACS Omega**, v. 8, n. 40, p. 36893–36905, 2023.
- DE JESUS, V. S. *et al.* Advancements in techniques for analyzing cell permeability. **Heliyon**, v. 11, n. 14, p. e43832, 2025.
- DE MARCO, I. Zein microparticles and nanoparticles as drug delivery systems. **Polymers**, v.14, n. 11, p. 2172, 2022.
- DEKKER, E. *et al.* Colorectal Cancer. **The Lancet**, v. 394, n. 10207, p. 1467–1480, 2019.
- DENG, Y. *et al.* Global, regional, and national disease burden and prediction analysis of colorectal cancer attributable to tobacco, alcohol, and obesity from 1990 to 2030. **Frontiers in Oncology**, v. 15, 2025.
- DEY, P. Targeting gut barrier dysfunction with phytotherapies: Effective strategy against chronic diseases. **Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society**, v. 161, n. 105135, p. 105135, 2020.
- DONETTI, E. *et al.* Caco2/HT-29 in vitro cell co-culture: Barrier integrity, permeability, and tight junctions' composition during progressive passages of parental cells. **Biology**, v. 14, n. 3, p. 267, 2025.
- DOS SANTOS, A. M. *et al.* Oral delivery of micro/nanoparticulate systems based on natural polysaccharides for intestinal diseases therapy: Challenges, advances and future perspectives. **Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society**, v. 334, p. 353–366, 2021.
- DUARTE, D.; VALE, N. Evaluation of synergism in drug combinations and reference models for future orientations in oncology. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 3, n. 100110, p. 100110, 2022.
- DULAI, P. S.; SANDBORN, W. J.; GUPTA, S. Colorectal cancer and dysplasia in inflammatory bowel disease: A review of disease epidemiology, pathophysiology, and management. **Cancer Prevention Research**, v. 9, n. 12, p. 887–894, 2016.
- EDQM - EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES & HEALTHCARE. **Monografia: Sodium alginate**. European Pharmacopoeia. 10. ed. Strasbourg: Council of Europe, 2020.

- EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. **EFSA Journal**, v. 12, n. 3, p. 3779, 2014.
- EKER, F. *et al.* A comprehensive review of nanoparticles: from classification to application and toxicity. **Polymers**, v. 29, n. 15, p. 3482, 2024.
- EL FAWAL, G. *et al.* Nanofibers based on zein protein loaded with tungsten oxide for cancer therapy: fabrication, characterization and in vitro evaluation. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 2023.
- ELTAYB, E. K. *et al.* Preparation and characterization of Meta-bromo-thiolactone calcium alginate nanoparticles. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 30, n. 7, p. 946–953, 2022.
- EZEKIEL, C. I. *et al.* Ultrasound-triggered release of 5-Fluorouracil from soy lecithin echogenic liposomes. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 6, p. 821–821, 2021.
- FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, v. 61, n. 5, p. 759–767, 1990.
- FERNANDEZ-MUÑOZ, K. V. *et al.* Natural alternatives in the treatment of colorectal cancer: A mechanisms perspective. **Biomolecules**, v. 15, n. 3, p. 326–326, 2025.
- FOURCHE, G. An overview of the basic aspects of polymer adhesion. Part I: Fundamentals. **Polymer Engineering & Science**, v. 35, n. 12, p. 957–967, 1995.
- FRANCIPANE, M. G.; BULANIN, D.; LAGASSE, E. Establishment and characterization of 5-fluorouracil-resistant human colorectal cancer stem-like cells: Tumor dynamics under selection pressure. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 8, p. 1817, 2019.
- GAO, M.; TANG, H.; ZHU, H. Advances in extraction, utilization, and development of chitin/chitosan and its derivatives from shrimp shell waste. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 23, n. 5, 2024.
- GARCÍA, M. A. *et al.* In Vitro Methodologies for Evaluating Colon-Targeted Pharmaceutical Products and Industry Perspectives for Their Applications. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 2, p. 291–291, 2022.
- GE, X. *et al.* The thermal resistance and targeting release of zein-sodium alginate binary complexes as a vehicle for the oral delivery of riboflavin. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 92–102, 2022.
- GHEORGHITA, R. *et al.* Applications of biopolymers for drugs and probiotics delivery. **Polymers**, v. 13, n. 16, p. 2729, 2021.
- GOGOI, P.; KAUR, G.; SINGH, N. K. Nanotechnology for colorectal cancer detection and treatment. **World Journal of Gastroenterology**, v. 28, n. 46, p. 6497–6511, 2022.
- GOMES, S. D. *et al.* The role of diet related short-chain fatty acids in colorectal cancer metabolism and survival: Prevention and therapeutic implications. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 24, p. 4087–4108, 2020.

GREM, J. L. 5-Fluorouracil: Forty-plus and still ticking. A review of its preclinical and clinical development. **Investigational New Drugs**, v. 18, n. 4, p. 299–313, 2000.

GUPTA, A. *et al.* Factorial designed 5-fluorouracil-loaded microsponges and calcium pectinate beads plugged in hydroxypropyl methylcellulose capsules for colorectal cancer. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 5, n. 4, p. 234, 2015.

HABIBI, N. *et al.* Protein nanoparticles: Uniting the power of proteins with engineering design approaches. **Advanced Science**, v. 9, n. 8, p. 2104012, 2022.

HAGUE, A. *et al.* Apoptosis in colorectal tumor cells: Induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. **International Journal of Cancer**, v. 60, n. 3, p. 400–406, 1995.

HAJIPOUR, M. J. *et al.* An overview of nanoparticle protein corona literature. **Small**, v. 19, n. 36, p. e2301838, 2023.

HANDALI, S. *et al.* A novel 5-Fluorouracil targeted delivery to colon cancer using folic acid conjugated liposomes. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 1259–1273, 2018.

HASAN, N. *et al.* Nanoparticle-based drug delivery system for oral cancer: Mechanism, challenges, and therapeutic potential. **Results in Chemistry**, p. 102068–102068, 2025.

HASHIM, F. A. *et al.* Fick's law algorithm: A physical law-based algorithm for numerical optimization. v. 260, p. 110146–110146, 2023.

HAYAT, M. A. *et al.* Characteristics and potential applications of nano-enhanced phase change materials: A critical review on recent developments. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 50, p. 101799, 2022.

HE, K. Y. *et al.* *Akkermansia muciniphila* protects the intestine from irradiation-induced injury by secretion of propionic acid. **Gut microbes**, v. 15, n. 2, p. 2293312, 2023.

HEIDELBERGER, C. *et al.* Fluorinated pyrimidines, A new class of tumor-inhibitory compounds. **Nature**, v. 179, n. 4561, p. 663–666, 1957.

HEYDARIAN, R. *et al.* Folic acid-targeted β -lactoglobulin nanocarriers for enhanced delivery of 5-fluorouracil and sodium butyrate in colorectal cancer treatment. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 671, p. 125262, 2025.

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

HIXSON, A.W.; CROWELL, J.H. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 923-931, 1931.

HOSSAIN, S. *et al.* Colorectal cancer: A review of carcinogenesis, global epidemiology, current challenges, risk factors, preventive and treatment strategies. **Cancers**, v. 14, n. 7, p. 1732, 2022.

HOU, J. *et al.* Nanoparticle tracking analysis versus dynamic light scattering: Case study on the effect of Ca²⁺ and alginate on the aggregation of cerium oxide nanoparticles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 360, p. 319–328, 2018.

HU, K.; MCCLEMENTS D. J. Fabrication of biopolymer nanoparticles by antisolvent precipitation and electrostatic deposition: Zein-alginate core/shell nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 101–108, 2015.

HU, L. *et al.* Preparation and characterization study of zein–sodium caseinate nanoparticle delivery systems loaded with allicin. **Foods**, v. 13, n. 19, p. 3111, 2024.

HUANG, X. *et al.* Enhancement of curcumin water dispersibility and antioxidant activity using core–shell protein–polysaccharide nanoparticles. **Food Research International**, v. 87, p. 1–9, 2016.

HUANG, X.; LI, T.; LI, S. Encapsulation of vitexin-rhamnoside based on zein/pectin nanoparticles improved its stability and bioavailability. **Current Research in Food Science**, v. 6, p. 100419, 2023.

IANEVSKI, A; GIRI, A. K.; AITTOKALLIO, T. SynergyFinder 3.0: an interactive analysis and consensus interpretation of multi-drug synergies across multiple samples. **Nucleic Acids Research**, v. 50, n. 1, p. 739–743, 2022.

ICH – INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION. ICH Q2(R2): Guideline for validation of analytical procedures – Step 5. Amsterdam: European Medicines Agency, 2024.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2026** : incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2026.

JASKI, A.C. *et al.* Zein: a plant-based material of growing importance: new perspectives for innovative uses. **Industrial Crops and Products**, v. 186, p. 115250, 2022.

JIANG, K. *et al.* Synthesis and biological evaluation of N-Alkylamide derivatives as anti-tumor agents. **Journal Of Traditional Chinese Medical Sciences**, v. 7, n. 4, p. 393-403, 2020.

JIN, J. *et al.* Encapsulation of EGCG by zein-gum arabic complex nanoparticles and *in vitro* simulated digestion of complex nanoparticles. **Foods**, v. 11, n. 14, p. 2131, 2022.

JUG, M. *et al.* An overview of *in vitro* dissolution/release methods for novel mucosal drug delivery systems. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 350–366, 2018.

JUSTUS, C. R. *et al.* *In vitro* cell migration and invasion assays. **Journal of Visualized Experiments**, v. 88, p. e51046, 2014.

JYOTI; DEY, P. Mechanisms and implications of the gut microbial modulation of intestinal metabolic processes. **Npj Metabolic Health and Disease**, v. 3, n. 1, p. 24, 2025.

KALYANARAMAN, B.; CHENG, G.; HARDY, M. The role of short-chain fatty acids in cancer prevention and cancer treatment. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 761, n. 110172, p. 110172, 2024.

KAMAKURA, R. *et al.* Colonic delivery of nutrients for sustained and prolonged release of gut peptides: A novel strategy for appetite management. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 66, n. 19, p. e2200192, 2022.

KAMGUYAN, K. *et al.* Bioadhesive tannic-acid-functionalized zein coating achieves engineered colonic delivery of IBD therapeutics via reservoir microdevices. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, p. 2536–2536, 2022.

KARTHIKA, C. *et al.* 5-fluorouracil and curcumin with pectin coating as a treatment regimen for titanium dioxide with dimethylhydrazine-induced colon cancer model. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 42, p. 63202–63215, 2022.

KHAN, A.; ALAMRY, K. A. Recent advances of emerging green chitosan-based biomaterials with potential biomedical applications: A review. **Carbohydrate Research**, v. 506, p. 108368, 2021.

KHAN, I. H. *et al.* Chitosan-based polymer matrix for pharmaceutical excipients and drug delivery. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 14, p. 2502–2513, 2019.

KHOURY, A. *et al.* Potent anticancer 5-fluorouracil platinum (IV) prodrugs. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, v. 276, p. 113165, 2026.

KIANFAR, E. Protein nanoparticles in drug delivery: animal protein, plant proteins and protein cages, albumin nanoparticles. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, 2021.

KIM, J. *et al.* Propionate suppresses colitis-associated colorectal cancer in mice by Or51e2. **Biomedecine & pharmacotherapie [Biomedicine & Pharmacotherapy]**, v. 189, n. 118268, p. 118268, 2025.

KIM, J.; DE JESUS, O. **Medication routes of administration**. StatPearls Publishing, 2023.

KLUCZKA, J. Chitosan: Structural and chemical modification, properties, and application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 1, p. 554–554, 2023.

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.

KOTLA, N. G. *et al.* Bioresponsive drug delivery systems in intestinal inflammation: State-of-the-art and future perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 146, p. 248–266, 2019.

KRASTEVA, N.; GEORGIEVA, M. Promising therapeutic strategies for colorectal cancer treatment based on nanomaterials. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 6, p. 1213, 2022.

- KRAUB, J.; BRACHER, F. Pharmacokinetic enhancers (Boosters): Escort for drugs against degrading enzymes and beyond. **Scientia Pharmaceutica**, v. 86, n. 4, p. 43, 2018.
- KUMAR, R.; ISLAM, T.; NURUNNABI, M. Mucoadhesive carriers for oral drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 351, p. 504–559, 2022.
- LAFFLEUR, F. *et al.* Comprehensive mucoadhesive study of anionic polymers and their derivate. **European Polymer Journal**, v. 93, p. 314–322, 2017.
- LAI, L. F.; GUO, H. X. Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein nanoparticles for liver targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1-2, p. 317–323, 2011.
- LATCHMAN, J.; GUASTELLA, A.; TOFTHAGEN C. 5-Fluorouracil toxicity and dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme: implications for practice. **Clin J Oncol Nurs.**, v. 18, n. 5, p. 581-585, 2014.
- LATREILLE, P. *et al.* *In situ* characterization of the protein corona of nanoparticles *in vitro* and *in vivo*. **Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)**, v. 34, n. 38, p. e2203354, 2022.
- LAYEK, B.; MANDAL, S. Natural polysaccharides for controlled delivery of oral therapeutics: a recent update. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115617, 2020.
- LEA, V. *et al.* Oncogenic mutations of clinical significance in colorectal cancer. **Pathology**, v. 57, n. 5, p. 555–563, 2025.
- LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, n. 1, p. 106–126, 2012.
- LEE, S. *et al.* Zein-alginate based oral drug delivery systems: Protection and release of therapeutic proteins. **International journal of pharmaceutics**, v. 515, n. 1-2, p. 300–306, 2016.
- LEE, S. H. *et al.* Strategic approaches for colon targeted drug delivery: An overview of recent advancements. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 1, p. 68, 2020.
- LETOCHA, A.; MIASTKOWSKA, M.; SIKORA, E. Preparation and characteristics of alginate microparticles for food, pharmaceutical and cosmetic applications. **Polymers**, v. 14, n. 18, p. 3834, 2022.
- LEYVA-PORRAS, C. *et al.* Application of differential scanning calorimetry (DSC) and modulated differential scanning calorimetry (MDSC) in food and drug industries. **Polymers**, v. 12, n. 1, p. 5, 2020.
- LI, D.; WEI, Z.; XUE, C. Alginate-based delivery systems for food bioactive ingredients: An overview of recent advances and future trends. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 6, p. 5345-5369, 2021.
- LI, M. *et al.* The formation of zein-chitosan complex coacervated particles: Relationship to encapsulation and controlled release properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 1232–1239, 2018.

- LI, M.; YU, M. Development of a nanoparticle delivery system based on zein/polysaccharide complexes. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 12, p. 4108–4117, 2020.
- LI, S. *et al.* Application of chitosan/alginate nanoparticle in oral drug delivery systems: prospects and challenges. **Drug Delivery**, v. 29, n. 1, p. 1142–1149, 2022.
- LIANG, X. *et al.* Tannic acid-fortified zein-pectin nanoparticles: Stability, properties, antioxidant activity, and *in vitro* digestion. **Food Research International**, v. 145, p. 110425, 2021.
- LIN, Z. *et al.* Advances in oral treatment of inflammatory bowel disease using protein-based nanoparticle drug delivery systems. **Drug Delivery**, v. 32, n. 1, p. 2544689–2544689, 2025.
- LIU, G. *et al.* Zein-based nanoparticles: Preparation, characterization, and pharmaceutical application. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1120251, 2023.
- LIU, L. *et al.* Pectin/zein beads for potential colon-specific drug delivery: Synthesis and *in vitro* evaluation. **Drug Delivery**, v. 13, n. 6, p. 417–423, 2006.
- LIU, L. *et al.* Polysaccharide-Zein composite nanoparticles for enhancing cellular uptake and oral bioavailability of curcumin: Characterization, anti-colorectal cancer effect, and pharmacokinetics. **Frontiers in nutrition**, v. 9, p. 846282, 2022.
- LIU, M. *et al.* Role of short-chain fatty acids in host physiology. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 7, n. 5, p. 641–652, 2024.
- LIU, Q. *et al.* Thermal decomposition kinetics of 5-fluorouracil from thermogravimetric analysis. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n. 5, p. 980–981, 2008.
- LIU, Q. *et al.* Zein/fucoidan-based composite nanoparticles for the encapsulation of pterostilbene: Preparation, characterization, physicochemical stability, and formation mechanism. **International journal of biological macromolecules**, v. 158, p. 461–470, 2020.
- LIU, Y. *et al.* Zein-based nanocarriers: Advances in oral drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 7, p. 944, 2025.
- LIU, Y. S. *et al.* Dual drug-loaded nanoliposomes encapsulating curcumin and 5-Fluorouracil with advanced medicinal applications: Self-monitoring and antitumor therapy. **Molecules**, v. 28, n. 11, p. 4353, 2023.
- LIU, Y. *et al.* Development of high-drug-loading nanoparticles. **ChemPlusChem**, v. 85, n. 9, p. 2143–2157, 2020.
- LIU, Y.; WANG, J.; WU, C. Modulation of gut microbiota and immune system by probiotics, pre-biotics, and post-biotics. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 2022.
- LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. P.; JOHNSTON, P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. **Nature reviews. Cancer**, v. 3, n. 5, p. 330–8, 2003.
- LOPES, G. *et al.* Early detection for colorectal cancer: ASCO resource-stratified guideline. **Journal of Global Oncology**, n. 5, p. 1–22, 2019.

- LOUIS, P.; FLINT, H. J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29–41, 2016.
- LU, H.; STENZEL, M. H. Multicellular tumor spheroids (MCTS) as a 3D *in vitro* evaluation tool of nanoparticles. **Small**, v. 14, n. 13, p. e1702858, 2018.
- MACHADO-SANTELLI, G. M.; CHAVES, J. B.. Hormesis and cancer therapy. **Progress in Brain Research**, v. 295, p. 333–350, 2025.
- MADERUELO, C.; LANAO, J. M.; ZARZUELO, A. Enteric coating of oral solid dosage forms as a tool to improve drug bioavailability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 138, p. 105019, 2019.
- MAFI, A. *et al.* Melatonin and 5-fluorouracil combination chemotherapy: opportunities and efficacy in cancer therapy. **Cell Communication and Signaling**, v. 21, n. 1, 2023.
- MAHANTY ARPAN *et al.* Zein-based nanomaterials in drug delivery and biomedical applications. **Elsevier eBooks**, p. 497–518, 2021.
- MALEKI, M. *et al.* Comparative kinetic modeling and mathematical analysis of monoterpene release from nanocarrier systems. **AAPS PharmSciTech**, v. 27, n. 3, 2026.
- MANJULA, B. *et al.* Preparation and characterization of sodium alginate-based hydrogels and their *in vitro* release studies. **Advances in Polymer Technology**, v. 32, n. 2, p. 21340, 2013.
- MARIA-ALEXIA, P. *et al.* Familial colorectal cancer: risk factors, screening strategies and personalized medicine. **Cancer Genetics**, v. 302-303, p. 166–175, 2026.
- MARQUES, C. S. *et al.* β -Cyclodextrin inclusion complexes with essential oils: Obtention, characterization, antimicrobial activity and potential application for food preservative sachets. **Food Research International**, v. 119, p. 499–509, 2019.
- MCKINNON, K. M. Flow cytometry: An overview. **Current Protocols in Immunology**, v. 120, p. 5.1.1–5.1.11, 2018.
- MELNIKOVA, N. *et al.* Design and study of nanoceria modified by 5-fluorouracil for gel and polymer dermal film preparation. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 8, p. 1082, 2023.
- MEYIAH, A. *et al.* The colorectal cancer microenvironment: Preclinical progress in identifying targets for cancer therapy. **Translational Oncology**, v. 53, p. 102307, 2025.
- MIODUSZEWSKA, K. *et al.* Overview of experimental and computational methods for the determination of the pKa values of 5-fluorouracil, cyclophosphamide, ifosfamide, imatinib and methotrexate. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 283–296, 2017.
- MIRZAEI, R. *et al.* Dual role of microbiota-derived short-chain fatty acids on host and pathogen. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 145, p. 112352, 2022.

- MNEIMNEH, A. T.; DARWICHE, N.; MEHANNA, M. M. Investigating the therapeutic promise of drug-repurposed-loaded nanocarriers: A pioneering strategy in advancing colorectal cancer treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 124473–124473, 2024.
- NASKAR, S.; KOUTSU, K.; SHARMA, S. Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems: a review on two decades of research. **Journal of Drug Targeting**, v. 27, n. 4, p. 379–393, 2019.
- NEVES, M. A. *et al.* Zein nanoparticles-loaded flavonoids-rich fraction from fridericia platyphylla: Potential antileishmanial applications. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 12, p. 1603–1603, 2024.
- NIKHIL, K. S. *et al.* Sodium alginate: The wonder polymer for controlled drug delivery. **Journal of Pharmacy Research**, v. 2, n. 8, p. 1191–1199, 2009.
- NOGAL, A.; VALDES, A. M.; MENNI, C. The role of short-chain fatty acids in the interplay between gut microbiota and diet in cardio-metabolic health. **Gut Microbes**, v. 13, n. 1, p. 1–24, 2021.
- OLEANDRO, E. *et al.* Zein-based nanoparticles as active platforms for sustainable applications: Recent advances and perspectives. **Nanomaterials**, v. 14, n. 5, p. 414, 2024.
- OLIVEIRA, B. *et al.* 5-Fluorouracil, innovative drug delivery systems to enhance bioavailability for topical use. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102155, 2021.
- OSTO, E. The promise of the gut metabolite propionate for a novel and personalized lipid-lowering treatment. **European Heart Journal**, v. 43, n. 6, p. 534–537, 2021.
- OYEKANMI, A. A. *et al.* Adsorption of rhodamine B dye from aqueous solution onto acid treated banana peel: Response surface methodology, kinetics and isotherm studies. **PLOS ONE**, v. 14, n. 5, p. e0216878, 2019.
- OZTURK, K. Effects of nanoparticle size, shape, and zeta potential on drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 666, p. 124799–124799, 2024.
- PANDIT, S.; DUTTA, D.; NIE, S. Active transcytosis and new opportunities for cancer nanomedicine. **Nature Materials**, v. 19, n. 5, p. 478–480, 2020.
- PASCOLI, M.; DE LIMA, R.; FRACETO, L. F. Zein nanoparticles and strategies to improve colloidal stability: A mini-review. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, n. 6, 2018.
- PATEL, A. R.; VELIKOV, K. P. Zein as a source of functional colloidal nano- and microstructures. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 450–458, 2014.
- PEDERSEN, P. V.; MYRICK, J. W. Versatile kinetic-approach to analysis of dissolution data. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 67, n. 10, p. 1450–1455, 1978.

PORTINCASA, P. *et al.* Gut Microbiota and short chain fatty acids: Implications in glucose homeostasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1105, 2022.

POZO-PUERTAS, S. G. *et al.* A matrix exponential framework for modeling Fickian and non-Fickian diffusion in pharmaceutical systems. **Next Research**, v. 11, n. 101976, p. 101976, 2026.

PUC CETTI, M. *et al.* Biologics, theranostics, and personalized medicine in drug delivery systems. **Pharmacological Research**, v. 201, p. 107086, 2024.

RAHIMIEH, A. *et al.* Propionate production and degradation in the biological wastewater treatment: A mini review on the role of additives in anaerobic digestion. **Desalination and Water Treatment**, v. 319, n. 100555, p. 100555, 2024.

REGATTIERI, A. B.; DE SENA, G. L.; DA SILVA FILHO, E. A. Preparation and characterization of ternary emulsion chitosan/SDS/hexane. **Revista Virtual de Química**, v. 8, 2016.

RIBEIRO, W. A. *et al.* Fatores de risco e rastreamento do câncer de colorretal na perspectiva da medicina: um estudo reflexivo e sistemático. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 10, p. 24364–24392, 2023.

RODRIGUES, M. C. Padrões da incidência do câncer colorretal no brasil de 1990 a 2016. **Journal of Coloproctology**, v. 39, p. 168-169, 2019.

ROGERS, D. M. *et al.* Electronic circular dichroism spectroscopy of proteins. **Chem**, v. 5, n. 11, p. 2751–2774, 2019.

RYU, T. *et al.* Downregulation of PRMT1, a histone arginine methyltransferase, by sodium propionate induces cell apoptosis in colon cancer. **Oncology Reports**, v. 41, n. 3, p. 1691-1699, 2018.

RYU, T. Y. *et al.* Human gut-microbiome-derived propionate coordinates proteasomal degradation via HECTD2 upregulation to target EHMT2 in colorectal cancer. **The ISME Journal**, v. 16, p. 1205-1221, 2022.

SAHA, S. *et al.* Unraveling the complexities of colorectal cancer and its promising therapies – An updated review. **International Immunopharmacology**, v. 143, p. 113325–113325, 2024.

SAHOO, D. R.; BISWAL, T. Alginate and its application to tissue engineering. **SN Applied Sciences**, v. 3, n. 1, 2021.

SAMAD, T. *et al.* Spatial configuration of charge and hydrophobicity tune particle transport through mucus. **Biophysical Journal**, v. 121, n. 2, p. 277–287, 2022.

SANDHU, S.; BLANDON, C.; KUMAR, S. Evaluating risk factors for early-onset colorectal cancer in a large, prospective cohort. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 70, n. 8, p. 2834-2842, 2025.

SCARPELLINI, E. *et al.* From pre- and probiotics to post-biotics: A Narrative review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 1, p. 37, 2021.

SCHAEDLER, A. C. *et al.* Socio-demographic disparities in colorectal cancer in Brazil, 1990-2019. **Saúde em Debate**, v. 48, n. 143, 2024.

SCHEPPACH, W.; BARTRAM, H. P.; RICHTER, F. Role of short-chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer. **European Journal of Cancer**, v. 31, n. 7-8, p. 1077–1080, 1995.

SCHMITT, A. *et al.* Trifluridine- and tipiracil-induced DPD inhibition mimicking DPD deficiency: a case report. **Frontiers in Oncology**, v. 15, 2025.

SHAIKH, R. *et al.* Mucoadhesive drug delivery systems. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 3, n. 1, p. 89–100, 2011.

SHAO, H. *et al.* Polysaccharide-based drug delivery targeted approach for colon cancer treatment: A comprehensive review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 139177, 2025.

SHARMA, S. *et al.* Interfacial and colloidal properties of emulsified systems. **Elsevier eBooks**, p. 149–172, 2014.

SHEHZAD, Q. *et al.* The role of polysaccharides in improving the functionality of zein coated nanocarriers: Implications for colloidal stability under environmental stresses. **Food Chemistry**, v. 431, p. 136967–136967, 2023.

SHEN, S. *et al.* High drug-loading nanomedicines: progress, current status, and prospects. **International Journal of Nanomedicine**, v. 12, p. 4085–4109, 2017.

SHEN, S.; ZHANG, J.; QI, X. The role of short-chain fatty acids as key mediators of gut microbiota - host crosstalk in thyroid diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 25, n. 9, p. 104123, 2026.

SHIN, H. J. *et al.* Quantification of cellular uptake of gold nanoparticles via scattering intensity changes in flow cytometry. **Nanoscale Advances**, v. 16, n. 7, p. 3558-3567, 2025.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, n. 3, p. 171–192, 2001.

SIDDARAMAIAH *et al.* Sodium alginate and its blends with starch: Thermal and morphological properties. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, n. 6, p. 4075–4081, 2008.

SIEGEL, R. L.; GIAQUINTO, A. N.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2024. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 74, n. 1, 2024.

SRINIVASAN, B. *et al.* TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. **Journal of Laboratory Automation**, v. 20, n. 2, p. 107–126, 2015.

SONG, M.; CHAN, A. T. Environmental factors, gut microbiota, and colorectal cancer prevention. **Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association**, v. 17, n. 2, p. 275–289, 2019.

STEVANOVIC, M. M. *et al.* PLGA-based co-delivery nanoformulations: Overview, strategies, and recent advances. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 12, p. 1613–1613, 2025.

SU, Z. *et al.* Inclusion complex of *Exocarpium citri grandis* essential oil with β -Cyclodextrin: Characterization, stability, and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 6, p. 1592–1599, 2019.

SUBRAMANIAN, P. Mucoadhesive delivery system: A smart way to improve bioavailability of nutraceuticals. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 6, p. 1362, 2021.

SUN, C. *et al.* Effect of heat treatment on physical, structural, thermal and morphological characteristics of zein in ethanol-water solution. **Food Hydrocolloids**, v. 58, p. 11–19, 2016.

SUN, C.; DAI, L.; GAO, Y. Interaction and formation mechanism of binary complex between zein and propylene glycol alginate. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1638–1649, 2017.

SYLWESTRZAK, T. *et al.* Fecal short-chain fatty acids in colorectal cancer patients versus healthy controls: A systematic review and meta-analysis. **Journal of clinical medicine**, v. 14, n. 24, p. 8949, 2025.

SZEKALSKA, M. *et al.* Alginate: Current use and future perspectives in pharmaceutical and biomedical applications. **International Journal of Polymer Science**, v. 2016, p. 1–17, 2016.

TAWFIK, E. *et al.* Prolonged exposure of colon cancer cells to 5-fluorouracil nanoparticles improves its anticancer activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 2, p. 206–213, 2017.

TCHORYK, A. *et al.* Penetration and uptake of nanoparticles in 3D tumor spheroids. **Bioconjugate Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 1371–1384, 2019.

THULASINATHAN, B. *et al.* The impact of gut microbial short-chain fatty acids on colorectal cancer development and prevention. **Gut Microbes**, v. 17, n. 1, 2025.

TIAN, Y. *et al.* Critical parameters to standardize the size and concentration determination of nanomaterials by nanoparticle tracking analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 656, p. 124097–124097, 2024.

TONNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Alginate in drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 621–630, 2002.

TUMMALA, S. *et al.* 5-Fluorouracil enteric-coated nanoparticles for improved apoptotic activity and therapeutic index in treating colorectal cancer. **Drug Delivery**, v. 23, n. 8, 2016.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology: Guidance for Industry. Silver Spring, MD: FDA, 2014.

USP - UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Sodium alginate**. USP-NF Monographs, Rockville, MD: United States Pharmacopeia, 2023.

VOCI, S. *et al.* Antitumor features of vegetal protein-based nanotherapeutics. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 1, p. 65, 2020.

VODENKOVA, S. *et al.* 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 206, p. 107447, 2020.

VOORHEES, P. W. A teoria do amadurecimento de Ostwald. **J. Estado Física**, v. 38, p. 231, 1985.

WAN, M. *et al.* Colorectal cancer (CRC) as a multifactorial disease and its causal correlations with multiple signaling pathways. **Bioscience Reports**, v. 40, n. 3, 2020.

WANG, R.; WANG, Y. Fourier transform infrared spectroscopy in oral cancer diagnosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 3, p. 1206, 2021.

WANG, T.; FLEMING, E.; LUO, Y. An overview of the biochemistry, synthesis, modification, and evaluation of mucoadhesive polymeric nanoparticles for oral delivery of bioactive compounds. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v. 6, n. 1, 2023.

WAYS, T. M. M.; LAU, W. M.; KHUTORYANSKIY, V. V. Chitosan and Its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems. **Polymers**, v. 10, n. 3, p. 267, 2018.

WEI, Y. *et al.* Structure, physicochemical stability and in vitro simulated gastrointestinal digestion properties of β -carotene loaded zein-propylene glycol alginate composite nanoparticles fabricated by emulsification-evaporation method. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 149–158, 2018.

WEIBULL, W. A statistical distribution function of wide applicability. **Journal of Applied Mechanics**, p. 293-297, 1951.

WELLS, M. J. M. *et al.* Multi-laser nanoparticle tracking analysis (NTA): A unique method to visualize dynamic (shear) and dynamic (Brownian motion) light scattering and quantify nonliving natural organic matter (NNOM) in environmental water. **The Science of The Total Environment**, v. 949, p. 174985–174985, 2024.

WENG, Y. *et al.* Alginate-based materials for enzyme encapsulation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 318, p. 102957–102957, 2023.

WU, J. The Enhanced permeability and retention (EPR) effect: The significance of the concept and methods to enhance its application. **Journal of Personalized Medicine**, v. 11, n. 8, p. 771, 2021.

WU, T. *et al.* Fabrication and characterization of zein-sodium alginate complex nanoparticles as an effective naringenin delivery system: Physicochemical stability, solubility, antioxidant activity. **Journal of Molecular Liquids**, v. 386, p. 122569, 2023.

XI, Y.; XU, P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. **Translational Oncology**, v. 14, n. 10, p. 101174, 2021.

XIAO, Q. *et al.* The effects of protein corona on *in vivo* fate of nanocarriers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 186, n. 114356, p. 114356, 2022.

XU, N. *et al.* Cell growth measurement. **Cell Growth**, 2020.

XUE, T. *et al.* Accurate determination of the degree of deacetylation of chitosan using UPLC–MS/MS. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8810, 2022.

YADAV, B. *et al.* Searching for drug synergy in complex dose-response landscapes using an interaction potency model. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 13, p. 504–513, 2015.

YAKUT, M. Z. *et al.* Impact of energy efficient design parameters on energy consumption in hot-humid climate zones. **Research on Engineering Structures and Materials**, 2020.

YAN, P.; LAN, W.; XIE, J. Modification on sodium alginate for food preservation: A review. **Trends in food science & technology**, v. 143, p. 104217–104217, 2024.

YAN, X. *et al.* Zein-based nano-delivery systems for encapsulation and protection of hydrophobic bioactives: A review. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022.

YANAT, M.; SCHROËN, K. Preparation methods and applications of chitosan nanoparticles; with an outlook toward reinforcement of biodegradable packaging. **Reactive and Functional Polymers**, v. 161, p. 104849, 2021.

YANG, C. *et al.* Transcriptome analysis reveals GA induced apoptosis in HCT116 human colon cancer cells through calcium and p53 signal pathways. **RSC Advances**, v. 8, n. 22, p. 12449–12458, 2018.

YANG, L.; CHU, J. S.; FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and *in vitro/in vivo* evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, n. 1-2, p. 1–15, 2002.

YE, W. *et al.* Fabrication of polysaccharide-stabilized zein nanoparticles by flash nanoprecipitation for doxorubicin sustained release. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 70, p. 103183, 2022.

YONG, F.-X. *et al.* pH-responsive self-assembly of quercetin-loaded zein-sodium caseinate-fucoidan hybrid nanoparticles: nanostructure, stability and *in vitro* digestive behavior. **Frontiers in Nutrition**, v. 13, 2026.

YU, S. *et al.* Chitosan and chitosan coating nanoparticles for the treatment of brain disease. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 560, p. 282–293, 2019.

YUAN, Z. M.; YANG, M. H.; DONG, C. M. Production, function, modification and application of zein. **Life Research**, v. 7, n. 4, p. 25, 2024.

ZHANG, C. *et al.* Impact of a 3-months vegetarian diet on the gut microbiota and immune repertoire. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 908, 2018.

ZHANG, D. *et al.* Delivery of curcumin using a zein-xanthan gum nanocomplex: Fabrication, characterization, and *in vitro* release properties. **Colloids and Surfaces B Biointerfaces**, v. 204, p. 111827, 2021.

ZHANG, M. *et al.* Butyrate inhibits interleukin-17 and generates tregs to ameliorate colorectal colitis in rats. **BMC Gastroenterol**, v. 16, n. 1, p. 84, 2016.

ZHANG, T. *et al.* Protein corona formed in the gastrointestinal tract and its impacts on oral delivery of nanoparticles. **Medicinal Research Reviews**, v. 41, n. 3, p. 1835–1850, 2020.

ZHANG, X. *et al.* Differential Dynamic Microscopy: Diffusion Measurements Where You Want Them. **Macromolecules**, v. 57, n. 1, p. 3–20, 2023.

ZHANG, Y. *et al.* In situ study of structural changes: Exploring the mechanism of protein corona transition from soft to hard. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 654, p. 935–944, 2024.

ZHANG, Z. *et al.* Recent advances in the formation and identification of nanoparticle protein coronas and their effects on the digestion and absorption of polyphenols. **Trends in Food Science & Technology**, v. 146, n. 104418, 2024.

ZHAO, S. *et al.* Recent research advances on oral colon-specific delivery system of nature bioactive components: A review. **Food Research International**, v. 173, p. 113403, 2023.

ZHDANOV, V. P. How the partial-slip boundary condition can influence the interpretation of the DLS and NTA data. **Journal of Biological Physics**, v. 46, n. 2, p. 169–176, 2020.

ZHENG, H. *et al.* Preparation and characterization of carvacrol-loaded caseinate/zein-composite nanoparticles using the anti-solvent precipitation method. **Nanomaterials**, v. 12, n. 13, p. 2189–2189, 2022.

ZHENG, S. *et al.* SynergyFinder plus: Toward better interpretation and annotation of drug combination screening datasets. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, v. 20, n. 3, p. 587–596, 2022.

ZHONG, H. *et al.* The structural characteristics of seaweed polysaccharides and their application in gel drug delivery systems. **Marine Drugs**, v. 18, n. 12, p. 658, 2020.

ZHU, D. *et al.* Size-dependent penetration depth of colloidal nanoparticles into cell spheroids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 222, n. 115593, p. 115593, 2025.

ZHU, Y. *et al.* Oral delivery of bioactive glass-loaded core–shell hydrogel microspheres for effective treatment of inflammatory bowel disease. **Advanced Science**, v. 10, n. 18, 2023.

ZUMAYA, A. L. V. Antibody conjugated PLGA nanocarriers and superparamagnetic nanoparticles for targeted delivery of oxaliplatin to cells from colorectal carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1200, 2022.