

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA - BACHARELADO EM FÍSICA MÉDICA

FERNANDA DIAS DE MORAES

**APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA TERANÓSTICA E DA SEGURANÇA
RADIOLÓGICA EM FÍSICA MÉDICA: PERSPECTIVA ABRANGENTE SOBRE
NANOPARTÍCULAS DE CARBONO OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE.**

UBERLÂNDIA

2026

FERNANDA DIAS DE MORAES

**APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA TERANÓSTICA E DA SEGURANÇA
RADIOLÓGICA EM FÍSICA MÉDICA: PERSPECTIVA ABRANGENTE SOBRE
NANOPARTÍCULAS DE CARBONO OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE.**

Trabalho de Conclusão de Curso da Universidade Federal de Uberlândia como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel

Área de concentração: Física Médica

Orientadora: Profa. Dra. Viviane Pilla

Uberlândia

2026

FERNANDA DIAS DE MORAES

**APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA TERANÓSTICA E DA SEGURANÇA
RADIOLÓGICA EM FÍSICA MÉDICA: PERSPECTIVA ABRANGENTE SOBRE
NANOPARTÍCULAS DE CARBONO OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE.**

Trabalho de Conclusão de Curso da Universidade Federal de Uberlândia como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel

Área de concentração: Física Médica

Uberlândia, 07 de agosto de 2026

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Viviane Pilla – INFIS UFU

Prof. Dr. Lucio Pereira Neves– INFIS UFU

Prof. Dr. Marco Aurélio Boselli – INFIS UFU

Dedico este trabalho à minha família, razão primordial de cada uma de minhas vitórias. Esta conquista é, acima de tudo, reflexo da confiança que sempre depositaram em meu potencial, do estímulo constante e do apoio incondicional oferecido em cada etapa desta caminhada. O amor, a paciência e a compreensão de vocês foram os pilares que sustentaram a minha trajetória e viabilizaram a concretização deste importante ciclo.

Aos meus amigos, que caminharam lado a lado comigo dividindo os desafios e as alegrias, cuja cumplicidade e presença constante foram essenciais para suavizar a rotina universitária e tornar a jornada acadêmica verdadeiramente mais leve e memorável.

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

Eu, FERNANDA DIAS DE MORAES, matrícula nº 12211FMD010, declaro, para os devidos fins, que o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA TERANÓSTICA E DA SEGURANÇA RADIOLÓGICA EM FÍSICA MÉDICA: PERSPECTIVA ABRANGENTE SOBRE NANOPARTÍCULAS DE CARBONO OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE” é resultado de meu próprio trabalho acadêmico. Declaro que todas as ideias, informações, textos, imagens, dados, códigos e demais materiais provenientes de outras fontes foram devidamente identificados e referenciados, não tendo sido praticado plágio total ou parcial, falsificação de dados ou qualquer outra forma de apropriação indevida de autoria.

Quanto ao uso de ferramentas de Inteligência Artificial Generativa, assinalo:

☐ **Não utilizei** ferramentas de Inteligência Artificial Generativa na elaboração deste trabalho.

☒ **Utilizei** a(s) seguinte(s) ferramenta(s): Gemini 3.6 Flash, exclusivamente para revisão gramatical, melhoria da clareza, fluidez e auxílio na organização de ideias.

Declaro que o conteúdo produzido ou revisado com auxílio de Inteligência Artificial foi analisado, verificado e, quando necessário, corrigido por mim. A ferramenta não foi considerada autora ou fonte científica, e não foi utilizada para substituir minha responsabilidade intelectual, interpretar resultados sem revisão ou produzir referências não verificadas.

Assumo integral responsabilidade pela autoria, originalidade, exatidão, integridade científica e conteúdo final do trabalho.

Uberlândia, 18 de Setembro de 2026.

Fernanda Dias de Moraes
(Assinatura digital)



Documento assinado digitalmente

FERNANDA DIAS DE MORAES

Data: 18/09/2026 11:36:24-0300

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

RESUMO

A identificação precoce e o tratamento seletivo de tumores representam desafios críticos na oncologia contemporânea, uma vez que as modalidades diagnósticas e terapêuticas convencionais frequentemente esbarram em limitações de sensibilidade e toxicidade sistêmica não-alvo. Nesse cenário, o emprego de nanopartículas de carbono (*Carbon Dots*, CDs) obtidas por rotas de síntese verdes surge como uma alternativa promissora e fortemente sinérgica para a Física Médica. Este trabalho consiste em uma revisão bibliográfica com o objetivo de analisar criticamente o potencial dessas nanoplateformas para aplicações teranósticas e sua conformidade com os preceitos de segurança radiológica. Por meio de um levantamento da literatura científica recente, discute-se como as propriedades físicas e ópticas diferenciadas dos CDs viabilizam o diagnóstico por bioimagem fluorescente de alta resolução e orientam abordagens terapêuticas localizadas, tais como a terapia fotodinâmica (PDT) e a terapia fototérmica (PTT). Evidencia-se que a síntese ecológica baseada em precursores naturais confere excelente biocompatibilidade e controle de tamanho nanométrico. Essa escala geométrica favorece o direcionamento passivo tumoral por meio de efeitos de permeabilidade e retenção aprimorados (EPR) e garante uma clivagem renal eficiente, mitigando os riscos de bioacumulação sistêmica prolongada. Adicionalmente, aborda-se o potencial de dopagem estrutural para deslocar a resposta luminescente dos materiais rumo às janelas terapêuticas do infravermelho próximo (NIR I e NIR II), otimizando a penetração tecidual profunda com menor dose de excitação luminosa. Sob a óptica da proteção radiológica, conclui-se que o desenvolvimento racional dessas estruturas se alinha diretamente ao princípio da exposição à radiação no menor nível possível (ALARA, “as low as reasonably achievable”), ao viabilizar o monitoramento óptico em tempo real e os tratamentos sensíveis ao microambiente maligno, abrindo caminhos para mitigar a dependência de exames puramente baseados em radiação ionizante, embora a transição definitiva para a rotina clínica ainda demande uma compreensão sistemática de sua farmacocinética e biodistribuição.

Palavras-chave: Pontos de Carbono; Síntese Verde; Nanoteranóstica; Física Médica; Efeito EPR; Bioimagem.

ABSTRACT

Early identification and selective treatment of tumors represent critical challenges in contemporary oncology, since conventional diagnostic and therapeutic modalities frequently have limited sensitivity and cause non-target systemic toxicity. In this context, the use of carbon nanoparticles (Carbon Dots, CDs) obtained via green synthesis routes emerges as a promising alternative and is strongly synergistic with medical physics. This work presents a literature review that critically analyzes the potential of these nanoplatforms for theranostic applications and their compliance with radiological safety principles. Through a survey of recent scientific literature, it discusses how the distinctive physical and optical properties of CDs enable high-resolution fluorescent bioimaging for diagnosis and guide localized therapeutic approaches, such as photodynamic therapy (PDT) and photothermal therapy (PTT). It is evident that ecological synthesis based on natural precursors confers excellent biocompatibility and nanometric size control. This geometric scale favors passive tumor targeting via the enhanced permeability and retention (EPR) effect and ensures efficient renal clearance, thereby mitigating the risk of prolonged systemic bioaccumulation. Additionally, the potential for structural doping to shift the luminescent response of the materials toward the therapeutic windows of the near infrared (NIR I and NIR II) is addressed, optimizing deep tissue penetration with a lower dose of light excitation. From a radiation protection perspective, it is concluded that the rational development of these structures aligns directly with the principle of radiation exposure as low as reasonably achievable (ALARA), enabling real-time optical monitoring and treatments sensitive to the malignant microenvironment, paving the way to mitigate dependence on purely ionizing radiation based examinations, although the definitive transition to clinical routine still requires a systematic understanding of their pharmacokinetics and biodistribution.

Keywords: Carbon Dots; Green Synthesis; Nanotheranostics; Medical Physics; EPR Effect; Bioimaging.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	15
3 METODOLOGIA.....	16
4 FUNDAMENTAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE CARBONO: HISTÓRICO E PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS.....	17
4.1 Histórico e Descoberta das Nanopartículas de Carbono (CDs).....	17
4.2 Pontos de Carbono de Síntese Verde.....	19
4.3 Características Estruturais e Morfológicas.....	28
4.4 Propriedades Ópticas e Fotoluminescência (PL).....	32
4.4.1 Absorção Óptica.....	33
4.4.2 Fotoluminescência.....	34
4.4.3 Fluorescência por Conversão Ascendente e Descendente.....	37
4.4.4 Fosforescência em Temperatura Ambiente.....	38
4.4.5 Influência do pH e do Solvente na Emissão.....	38
5 ROTAS DE SÍNTESE E MÉTODOS DE OBTENÇÃO ECOLÓGICA.....	39
5.1 Abordagens Clássicas de Síntese: <i>Top-Down</i> e <i>Bottom-Up</i>	39
5.1.1 Abordagem Top-Down.....	40
5.1.2 Abordagem Bottom-Up.....	42
5.1.3 Desafios Comuns e Perspectiva.....	43
5.2 Rota Hidrotérmica e a Síntese Verde.....	44
5.2.1 Fundamentos da Química Verde Aplicados à Síntese de CDs.....	44
5.2.2 Princípios e Mecanismo da Rota Hidrotermal.....	45

5.2.3	Precusores de Biomassa: Categorias e Diversidade.....	47
5.2.4	Parâmetros Operacionais e Controle das Propriedades dos CDs.....	48
5.2.5	Métodos Complementares de Síntese Verde.....	49
5.2.6	Relevância da Síntese Verde para a Física Médica e a Nanotecnologia Teranóstica.....	50
5.3	Engenharia de Superfície: Mecanismos de Dopagem Estrutural e Funcionalização.....	51
5.3.1	Passivação Superficial e Purificação.....	51
5.3.2	Dopagem Estrutural em Green CDs.....	52
5.3.3	Funcionalização Superficial para Aplicações Teranósticas.....	54
5.3.4	Caracterização da Engenharia de Superfície.....	57
6	A PLATAFORMA TERANÓSTICA.....	58
6.1	Aplicações em Bioimagem e Diagnóstico de Alta Resolução	59
6.1.1	Mecanismos de Internalização Celular e Distribuição em Organelas.....	61
6.1.2	Biodistribuição, Eliminação e Influência da Carga Superficial.....	63
6.1.3	Estratégias de Bioimagem Direcionada a Tumores.....	65
6.1.4	Janelas Terapêuticas NIR I e NIR II em Bioimagem.....	67
6.2	Mecanismos Terapêuticos Celulares.....	70
6.2.1	Terapia Fotodinâmica (PDT).....	70
6.2.2	Terapia Fototérmica (PTT).....	71
6.2.3	Terapia Combinada PDT e PTT.....	73
6.2.4	Entrega Direcionada de Fármacos e Terapia Gênica.....	74
6.2.5	Terapias Combinadas Emergentes.....	75
6.3	O Mecanismo de Direcionamento Passivo: Efeito EPR no Microambiente Tumoral.....	76
6.3.1	Fundamentos Fisiopatológicos do Efeito EPR.....	76
6.3.2	Requisitos dos Nanocarriers para Exploração Eficiente do EPR.....	77

6.3.3 Heterogeneidade do EPR e Desafios para a Tradução Clínica.....	78
6.3.4 Estratégias para Amplificação do EPR em Plataformas Teranósticas.....	79
6.3.5 Imagem Guiada pelo EPR e Seleção de Pacientes.....	80
6.3.6 O EPR como Fundamento Físico da Plataforma Teranóstica com Green CDs.....	80
7 BIOCOPATIBILIDADE, PROTEÇÃO RADIOLÓGICA E ANÁLISE COMPARATIVA.....	81
7.1 Perfil de Segurança Biológica e Biocompatibilidade dos CDs Verdes.....	81
7.1.1 Conceitos Fundamentais: Biocompatibilidade e Citotoxicidade.....	81
7.1.2 Avaliação in vitro da Biocompatibilidade dos Green CDs.....	82
7.1.3 Mecanismos de Toxicidade: Relação Estrutura-Propriedade.....	84
7.1.4 Avaliação in vivo: Modelos Biológicos e Resultados Sistêmicos.....	85
7.1.5 Influência da Funcionalização Superficial e da Síntese Verde na Biossegurança.....	87
7.1.6 Limitações Atuais e Perspectivas para a Tradução Clínica.....	88
7.2 Farmacocinética de Eliminação: Diâmetro Hidrodinâmico e Clivagem Renal.....	89
7.2.1 O Diâmetro Hidrodinâmico: Conceito e Relevância Farmacocinética.....	90
7.2.2 Tamanho, Formato e Densidade: Influência no Comportamento Farmacocinético.....	91
7.2.3 A Barreira de Filtração Glomerular e o Mecanismo da Clivagem Renal.....	92
7.2.4 Evidências Experimentais da Excreção Renal dos Green CDs.....	94
7.2.5 Excreção Hepática: Via Secundária e Riscos Associados.....	95
7.2.6 Metabolismo dos CDs: Biodegradação e Implicações Para a Segurança.....	96
7.2.7 Implicações Para o Design de Green CDs em Física Médica.....	97
7.3 Análise Comparativa de Biossegurança frente a Nanopartículas Convencionais.....	97
7.3.1 Classificação das Subclasses de CDs: Base para a Análise Comparativa.....	98
7.3.2 Pontos Quânticos de Metais Pesados: Mecanismos de Toxicidade.....	99

7.3.3	Comparação Direta: CDs vs. QDs de Metais Pesados.....	100
7.3.4	Green CDs de Síntese Verde vs. CDs de Precursores Sintéticos.....	101
7.3.5	Desafios Para a Tradução Clínica e Perspectivas Regulatórias.....	102
8	CONCLUSÃO.....	103
9	REFERÊNCIAS.....	106

1. INTRODUÇÃO

A identificação precoce de tumores é um pilar crucial para aumentar as taxas de sobrevivência dos pacientes. Contudo, as ferramentas de diagnóstico por imagem e os exames convencionais atualmente utilizados apresentam severas limitações de sensibilidade, falhando em fornecer análises suficientemente robustas nas fases iniciais da doença [1]. No campo terapêutico, as intervenções tradicionais, como a quimioterapia convencional, frequentemente esbarram na falta de especificidade, o que resulta em danos severos aos tecidos saudáveis devido à toxicidade sistêmica [2-3]. Diante dessas limitações, a oncologia demanda novas alternativas capazes de combinar alta seletividade tumoral e eficácia clínica.

Nesse cenário de busca por inovação, a nanotecnologia surge como um campo em plena expansão, com forte sinergia com a Física Médica. Sistemas em escala nanométrica exibem particularidades ópticas, eletrônicas e físicas diferenciadas que abrem novos caminhos para superar as limitações intrínsecas dos métodos terapêuticos e diagnósticos convencionais [1], [2,4]. Devido às suas dimensões reduzidas, essas estruturas conseguem transitar pelo organismo e se concentrar preferencialmente na região tumoral. Essa retenção seletiva viabiliza o desenvolvimento de ensaios diagnósticos e de tratamentos significativamente mais eficazes e direcionados [1,3].

O ápice dessa evolução reside na abordagem teranóstica, uma vertente inovadora que integra, simultaneamente e em uma única plataforma, as funções de detecção e de terapia; além disso, dentre os materiais investigados para essa finalidade, as nanopartículas de carbono vêm ganhando protagonismo na literatura científica [1-2]. Essa classe recente de nanomateriais desperta o interesse da comunidade acadêmica por aliar características físicas e mecânicas singulares a uma excelente tolerância biológica, caracterizada por alta biocompatibilidade e baixa agressividade às células saudáveis [2-3].

Do ponto de vista físico e de imagem, os CDs funcionam como agentes de forte luminescência e de alta estabilidade frente à radiação luminosa, permitindo o mapeamento de células tumorais com alta resolução por meio de bioimagem fluorescente [2,4]. Adicionalmente, quando submetidas a modificações estruturais ou à dopagem com íons metálicos, essas nanopartículas atuam como excelentes agentes de contraste, potencializando a qualidade dos exames de fluorescência e de ressonância magnética [3].

Simultaneamente, a versatilidade dos pontos de carbono permite sua aplicação em múltiplas frentes terapêuticas. Eles podem atuar como transportadores em nanoescala para a entrega controlada de medicamentos e de genes diretamente ao alvo, minimizando os efeitos colaterais no corpo. Além disso, destacam-se na fototerapia oncológica por meio da ação combinada da terapia fotodinâmica (PDT) e da fototérmica (PTT); quando estimulados, os CDs promovem a destruição localizada do tumor por meio da liberação de calor e da indução de estresse oxidativo por espécies reativas de oxigênio (ROS) [2,3]. Assim, ao unificar o monitoramento espacial preciso e o tratamento localizado, essas estruturas consolidam-se como uma ferramenta de ponta para a evolução da nanoteranóstica. Enquanto os tratamentos oncológicos convencionais atingem as estruturas celulares de forma indiscriminada, os *Carbon Dots* podem ser quimicamente modificados em sua superfície para reconhecer e colonizar preferencialmente o tecido tumoral [5].

Essa bioacumulação seletiva baseia-se primordialmente no efeito de permeabilidade e retenção aumentadas (EPR), um fenômeno vascular que favorece a passagem e o aprisionamento de estruturas em escala nanométrica na região tumoral, além de respostas específicas às variações biológicas do microambiente maligno. Ao atuarem como nanotransportadores inteligentes que exploram essas propriedades físico-químicas, os pontos de carbono viabilizam a deposição de energia e a liberação de fármacos com alta sensibilidade espacial, estabelecendo um controle rigoroso na modulação das doses terapêuticas e mitigando a exposição dos tecidos saudáveis [5].

No âmbito do desenvolvimento de nanomateriais ecológicos, o conceito de síntese verde fundamenta-se na utilização de precursores naturais e renováveis, como frutas, vegetais, biomassa e subprodutos orgânicos, operando segundo os princípios da química verde [6]. Diferentemente das abordagens físicas ou químicas intensas de "cima para baixo" (*top-down*), a engenharia de pontos de carbono verdes adota predominantemente estratégias de "baixo para cima" (*bottom-up*) devido à sua simplicidade operacional, baixo custo e segurança ecológica [6].

Entre as diferentes estratégias, o tratamento hidrotérmico consolida-se como a metodologia mais utilizada e favorável, caracterizada pela reação térmica de matérias-primas biológicas em meio aquoso, no interior de autoclaves [6]. Esse processo não apenas se destaca pela eficiência energética e pela simplicidade experimental, mas também confere grande versatilidade à plataforma, permitindo converter uma ampla gama de precursores acessíveis em nanopartículas

com alta biocompatibilidade e propriedades ópticas extraordinárias para aplicações biomédicas [6].

Apesar do vasto potencial biomédico das nanoplateformas, a transição para a rotina clínica exige uma análise rigorosa de seus perfis de segurança, uma vez que os pontos quânticos semicondutores convencionais frequentemente exibem alta toxicidade e retenção prolongada em sistemas biológicos [7]. Nesse cenário, os pontos de carbono surgem como uma alternativa promissora em virtude de sua biocompatibilidade superior; contudo, a literatura científica adverte que sua baixa toxicidade não deve ser considerada universal, pois depende intrinsecamente de fatores como as estratégias de síntese e as modificações físico-químicas de sua superfície [7]. Sob a óptica da Física Médica e da proteção radiológica, a engenharia racional dessas nanopartículas, especialmente quando obtidas por rotas de síntese verdes à base de biomassa natural, alinha-se diretamente ao princípio ALARA (*“As Low As Reasonably Achievable”*). Ao atuarem como sistemas teranósticos de alta precisão e sensíveis a estímulos locais, essas estruturas viabilizam o monitoramento óptico em tempo real e a entrega direcionada de compostos ao sítio tumoral, o que potencializa a eficácia do mapeamento biológico, reduz a toxicidade fora do alvo e abre caminhos para otimizar ou mitigar a dependência de exames complementares puramente baseados em radiação ionizante [7].

Dessa forma, o emprego dos pontos de carbono por meio de síntese verde consolida-se como o grande diferencial para a viabilização prática desses sistemas teranósticos na Física Médica, unindo sustentabilidade a propriedades físicas otimizadas. A vantagem dessa abordagem reside na obtenção de um tamanho nanométrico ideal, que viabiliza o direcionamento passivo a tumores por meio do efeito de permeabilidade e retenção aprimorado (EPR), aproveitando a vascularização desorganizada e a ausência de drenagem linfática eficiente do microambiente maligno [8]. Simultaneamente, a manutenção de um diâmetro hidrodinâmico reduzido assegura uma clivagem renal eficiente, fator crítico para a segurança biológica, pois minimiza o tempo de residência do agente no organismo e reduz significativamente o risco de bioacumulação prolongada [4,9]. Sob a perspectiva do diagnóstico e do suporte terapêutico, o potencial de dopagem estrutural desses nanomateriais permite deslocar sua resposta óptica para as janelas terapêuticas do infravermelho próximo (NIR I e NIR II) [9]. Essa sintonia espectral reduz a atenuação e o espalhamento de fótons nos tecidos biológicos, permitindo obter imagens profundas com alta resolução a partir de menor dose de excitação luminosa, livres de ruído de autofluorescência [9,10]. Ao aliar essa excelente biocompatibilidade intrínseca à dupla

capacidade de atuar no mapeamento tumoral e na indução localizada de estresse oxidativo por meio de espécies reativas de oxigênio (ROS), os pontos de carbono verdes oferecem uma plataforma multifuncional de alta precisão para guiar terapias fotodinâmicas (PDT) e fototérmicas (PTT) [4,9,10]. Embora o progresso científico atual seja promissor, a transição definitiva para a rotina clínica ainda demanda uma compreensão sistemática de sua farmacocinética e biodistribuição [10]. Diante disso, o presente Trabalho de Conclusão de Curso justifica-se pela necessidade de mapear criticamente essas propriedades físicas e biológicas, estabelecendo os critérios fundamentais para que o uso de nanopartículas sustentáveis redefina os limites da segurança e da eficácia na medicina teranóstica contemporânea.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar, por meio de revisão bibliográfica, as aplicações em Física Médica de nanopartículas de carbono obtidas por síntese verde, analisando seu potencial na nanotecnologia teranóstica e sua conformidade com os requisitos de segurança radiológica.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o uso de nanopartículas de carbono (*Carbon Dots*, CDs) como agentes teranósticos para o monitoramento em tempo real de tecidos tumorais e para a entrega direcionada de fármacos.
- Investigar, por meio de revisão bibliográfica, os diferentes processos de síntese verde e as propriedades fotofísicas dos CDs reportados no diagnóstico e na terapia oncológica.
- Analisar as propriedades de fotoluminescência (PL) e de fotoestabilidade dos CDs, especialmente na janela terapêutica biológica (NIR), para exames de bioimagem de alta resolução.
- Explicar o mecanismo de direcionamento passivo (efeito EPR) decorrente do tamanho nanométrico para o monitoramento de tumores malignos.
- Analisar o uso de CDs em aplicações em nanotecnologia teranóstica, e comparar com os resultados reportados usando outros tipos de nanopartículas.

3. METODOLOGIA

Este trabalho consistiu em uma revisão bibliográfica sistemática voltada à busca e análise de produções científicas sobre o emprego de nanopartículas de carbono (CDs) em Física Médica, com ênfase em nanotecnologia teranóstica e proteção radiológica.

A estratégia de análise do material coletado fundamentou-se em três eixos principais:

- **Mecanismos de síntese e propriedades fotofísicas:** Foram avaliados os processos de obtenção de CDs aplicados à área da Física Médica, em especial a rota *bottom-up* hidrotérmica em meio aquoso, a partir de precursores de biomassa, para garantir a pureza e a biocompatibilidade do material. Este método permite o controle rigoroso do diâmetro hidrodinâmico das partículas, essencial para assegurar a clivagem renal eficiente e evitar o acúmulo sistêmico em órgãos críticos. Além disso, a capacidade de dopagem intrínseca desta síntese otimiza o rendimento quântico de fluorescência (FQY), possibilitando a obtenção de diagnósticos por imagem de alta resolução com a redução da dose de excitação luminosa necessária, alinhando-se aos protocolos de segurança e eficácia clínica. As caracterizações fotofísicas das propriedades de fotoluminescência (PL) foram avaliadas, com ênfase nos parâmetros de rendimento quântico (FQY) e de estabilidade óptica, bem como no tamanho nanométrico, para garantir o mecanismo de direcionamento passivo (EPR) e a eficiência da clivagem renal.
- **Avaliação em bioimagens e terapias:** Investigou-se o emprego de CDs funcionais obtidos por meio de síntese verde como plataformas de monitoramento óptico contínuo e agentes terapêuticos localizados, analisando seu papel como alternativas biocompatíveis e de baixa toxicidade, capazes de mitigar a dependência de exames puramente baseados em radiações ionizantes.
- **Análise comparativa de biossegurança:** Realizou-se um levantamento comparativo das propriedades fotofísicas e dos perfis de toxicidade dos pontos de carbono, em relação aos resultados reportados na literatura para outras classes de nanopartículas convencionais.

4. FUNDAMENTAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE CARBONO: HISTÓRICO E PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS

4.1 Histórico e Descoberta das Nanopartículas de Carbono (CDs)

O registro inicial do isolamento de nanoestruturas de carbono baseadas em pontos (Carbon Dots, CDs) ocorreu de forma imprevista em 2004, durante experimentos coordenados por Xu et al. (2004) voltados à purificação de nanotubos de carbono de parede simples. Ao submeter o resíduo carbonáceo bruto gerado na síntese a um processo de fracionamento por migração elétrica, utilizando suporte de agarose e matriz vítrea, a equipe identificou três perfis distintos de subprodutos [11,12]. A fração que apresentou a maior mobilidade eletroforética revelou uma assinatura óptica singular: uma emissão luminescente intensa quando exposta a um estímulo ultravioleta na faixa de 365 nm [12]. Exames de caracterização química por dispersão de raios-X (EDX) confirmaram a ausência de componentes metálicos na estrutura, revelando uma organização molecular elementar formada puramente por Carbono (53,93%), Oxigênio (40,33%), Hidrogênio (2,56%) e Nitrogênio (1,20%), o que indicava um cenário promissor quanto à biossegurança do material [11].

A legitimação do termo “carbon dots” e o direcionamento para o ecossistema biológico foram consolidados em 2006 por [13]. O propósito do grupo consistia em obter uma alternativa viável às nanopartículas e aos nanofios de silício, com foco em agentes hidrossolúveis e aplicáveis ao imageamento celular em meios fisiológicos [13]. A partir deste marco, as pesquisas internacionais se intensificaram, embora a pluralidade de nomenclaturas na literatura ainda suscite debates sobre a classificação exata dessas nanoestruturas [11]. Sob a óptica morfológica, os CDs compreendem dimensões entre 2 e 10 nm, caracterizados por uma arquitetura predominantemente amorfa, núcleo com estados de hibridização sp^2 e sp^3 , e uma periferia rica em grupos funcionais orgânicos. Quanto ao comportamento óptico, a resposta nativa dos CDs concentra-se majoritariamente na região espectral do azul, embora, conforme o grau de funcionalização e dopagem, a emissão possa ser deslocada para a faixa do infravermelho próximo (800–1600 nm) [11,14].

Entre 2004 e 2008, o esforço científico concentrou-se na modelagem e na compreensão dos atributos físico-químicos fundamentais das partículas, incluindo sua estabilidade, condutividade e perfil não tóxico [14]. Constatou-se que a luminescência do núcleo de carbono

isolado necessitava de ancoragem de cadeias orgânicas — processo denominado passivação de superfície, frequentemente realizado com derivados de polietilenoglicol — e de dopagem molecular estrutural para elevar o rendimento quântico de fluorescência (FQY) [11,14]. Ensaios desse mesmo período revelaram a capacidade de resposta dos CDs frente a fenômenos de absorção multifotônica na faixa do infravermelho próximo (NIR) e o controle dimensional por meio da pirólise de precursores citratados [14].

A transição para protocolos de síntese simplificados em etapa única (one-pot), incluindo rotas hidrotermais, solvotermiais e térmicas assistidas por radiação de micro-ondas, dominou a literatura entre 2009 e 2015 [11,14]. Esse refinamento químico culminou no primeiro ensaio documentado de bioimagem in vivo com pontos de carbono, estabelecendo o potencial do material para exames diagnósticos de alta fotoestabilidade no campo biomédico, além de viabilizar a construção de sensores luminescentes para detecção de metais e de matrizes optoeletrônicas [11,14]. Posteriormente, no período de 2016 a 2020, o escopo das pesquisas expandiu-se para o desenvolvimento de tintas fluorescentes biocompatíveis e para o deslocamento da emissão óptica para os comprimentos de onda do vermelho distante e do infravermelho próximo, otimizando o monitoramento de organelas celulares em tempo real [14]. Investigaram-se também dinâmicas de luminescência em modo triplo e a integração de partículas em matrizes poliméricas para fins de sensoriamento químico e de sistemas de segurança [14].

Por fim, o panorama científico, compreendido a partir de 2021, reflete o alinhamento da nanotecnologia às premissas ecológicas de sustentabilidade [14]. O foco contemporâneo prioriza a síntese verde hidrotérmica alimentada por resíduos de biomassa, como derivados de cascas de frutas, leguminosas e castanhas, gerando plataformas teranósticas cujos rendimentos quânticos (FQY) e propriedades ópticas finais estão diretamente vinculados à composição molecular e à origem ecológica da matéria-prima vegetal utilizada [11,14]. O crescimento exponencial do interesse científico nos pontos de carbono para aplicações em teranóstica oncológica pode ser evidenciado pela evolução anual do número de publicações indexadas na base de dados Web of Science, conforme representado na Figura 1 [15].

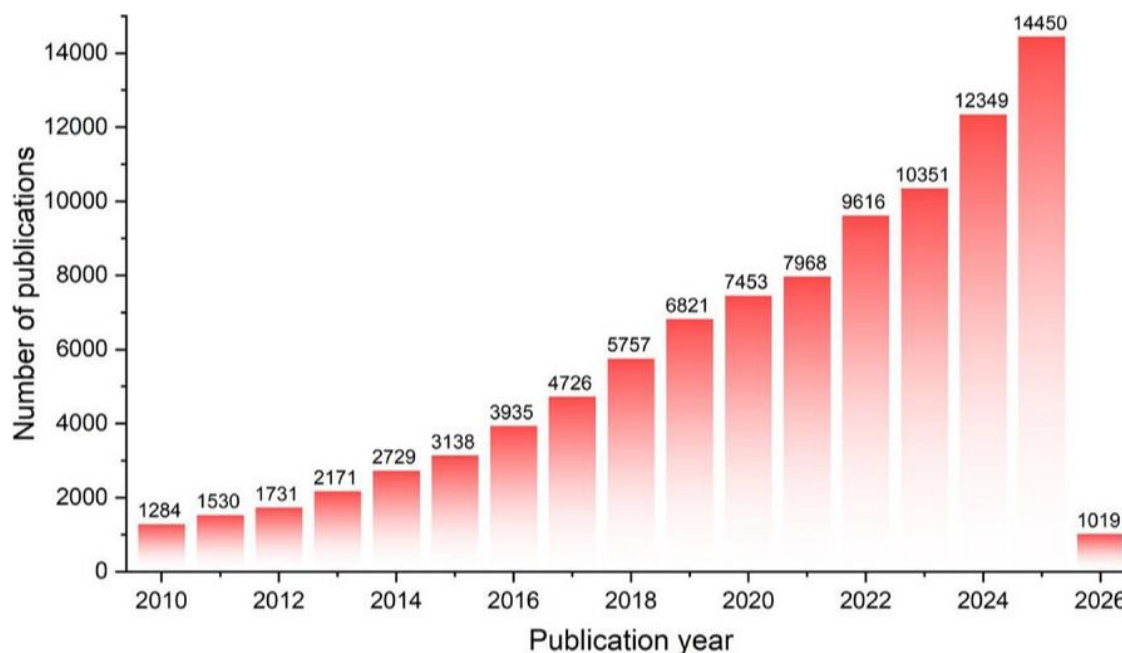


Figura 1 — Evolução anual do número de publicações científicas relacionadas à aplicação de pontos de carbono em bioimagem e em teranóstica do câncer, indexadas na base de dados Web of Science Core Collection (2010–2026). Fonte: Adaptado de Yan et al. (2026) [15].

4.2 Pontos de Carbono de Síntese Verde

Os pontos de carbono de síntese verde, denominados “*green carbon dots*” (CDs verdes), constituem uma subclasse específica dos CDs, definida pelo emprego exclusivo de precursores de origem biológica renovável como fonte de carbono na produção das nanopartículas [16,17]. Os CDs, por sua vez, são nanopartículas fluorescentes de dimensão zero (0D), com diâmetros tipicamente entre 1 e 10 nanômetros, compostas essencialmente por carbono, oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, e que apresentam como propriedade central a fotoluminescência (PL), isto é, a capacidade de absorver energia luminosa e reemitir-la em um comprimento de onda característico [18,19]. Ao contrário dos pontos quânticos semicondutores convencionais à base de metais pesados, como o cádmio e o chumbo, os CDs não apresentam toxicidade sistêmica crônica documentada e são biodegradáveis, o que os posiciona como alternativas nanofluorescentes mais seguras para aplicações biomédicas [17].

Os CDs verdes são sintetizados predominantemente por abordagens bottom-up, em especial pela rota hidrotermal, na qual a biomassa precursora é submetida à carbonização em meio aquoso, a temperaturas de 100 a 300 °C, em autoclave fechada, produzindo nanopartículas com superfícies ricas em grupos funcionais hidrofílicos (–COOH, –OH e –NH₂) que conferem

dispersibilidade aquosa, biocompatibilidade e pontos de ancoragem para funcionalização biomédica [16,18]. A fonte precursora pode ser composta por pequenas moléculas de origem natural, como ácidos orgânicos, aminoácidos e carboidratos, ou por resíduos de biomassa diretamente, como cascas de frutas, sucos vegetais, extratos de plantas medicinais e subprodutos alimentares, o que torna a síntese sustentável, de baixo custo e livre de reagentes tóxicos [17,19].

A Figura 2 apresenta uma linha do tempo (Timeline dos CDs) com alguns dos principais marcos no desenvolvimento dos CDs verdes para aplicações em nanotecnologia teranóstica. As informações incluem desde o primeiro relato histórico de CDs a partir de um precursor natural, em 2007, até os sistemas mais avançados descritos na literatura atual. Cada evento representa um avanço técnico relevante em termos de modalidade diagnóstica, eficácia terapêutica ou método de síntese, sendo os dados de tamanho indicados como referência morfológica para cada sistema. A Tabela 1 apresenta informações complementares sobre os precursores, tamanhos das nanopartículas, dopagens, métodos de síntese, aplicações e mecanismos de ação dos CDs [11,16-26].

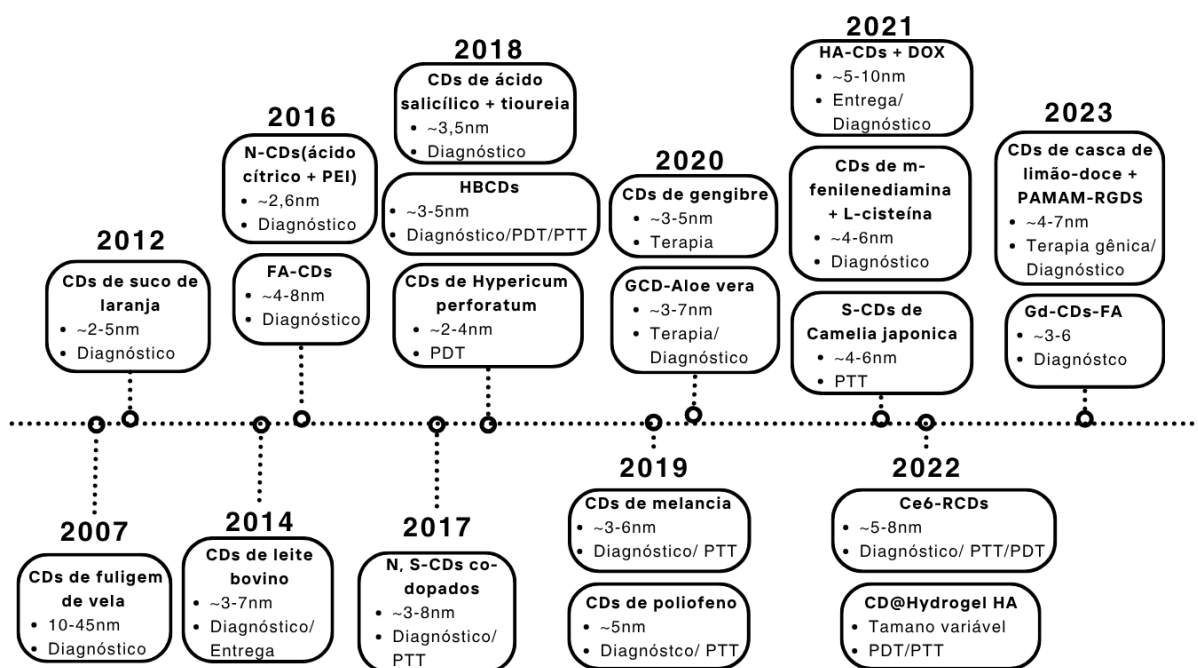


Figura 2 — Linha do tempo das sínteses de CDs. Refs [11,16-26].

Tabela 1: Precursores, tamanhos das nanopartículas, dopagens, métodos de síntese, aplicações em bioimagens e diagnósticos, e mecanismos de ação dos CDs.

Ano	Nome/ Precursor	Tamanho (nm)	Dopagem	Método de síntese	Aplicação	Mecanismo de ação
2007* [21]	CDs de fuligem de vela (Candle soot CDs) <i>Marco histórico</i>	10–45	O (oxidação por HNO ₃)	Top-Down (refluxo em ácido nítrico)	Bioimagem celular multicolorida, primeiro relato de CDs de biomassa natural.	Fragmentação de fuligem de vela (cera = biomassa natural) por ácido; CDs hidrofílicos com grupos –OH e –COOH; emissão multicolorida dependente de λ_{ex} .
2012 [22]	CDs de suco de laranja	~2–5	N ₂ O (intrínseco da fruta)	Hidrotermal	Diagnóstico Bioimagem celular, primeiro, CDs de fruta via síntese verde.	Emissão fluorescente dependente de λ_{ex} ; marcação de células vivas.
2014 [23]	CDs de leite bovino (Milk-CDs)	~3–7	N, O (proteínas do leite)	Hidrotermal	Diagnóstico Entrega Bioimagem e entrega de DOX.	Fluorescência para rastreamento; liberação de DOX em pH 5,0 com localização nuclear seletiva em células cancerígenas.
2016 [24]	N-CDs (ácido cítrico + PEI)	~2,6	N (PEI)	Hidrotermal	Diagnóstico Bioimagem nuclear em tempo real e travessia da BBB in vitro.	Superfície catiônica (PEI) facilita a penetração nuclear e a transposição da barreira hematoencefálica in vitro; bioimagem de glioma.
2016 [25]	FA-CDs (CDs derivados de ácido fólico)	~4–8	N, O (ácido fólico)	Hidrotermal	Diagnóstico Bioimagem direcionada ao receptor de folato (FR) autodirecionamento sem agente externo.	O precursor de ácido fólico confere afinidade intrínseca ao FR; endocitose mediada por receptor; seletividade entre HeLa (FR+) e NIH-3T3 (FR–) confirmada em mistura celular.
2017 [26]	N,S-CDs co-dopados (ácido cítrico + L-cisteína)	~3–8	N + S (co-dopagem)	Hidrotermal	Diagnóstico PTT Bioimagem NIR e fototerapia de maior FQY documentada para CDs verdes de biomassa.	S elimina estados superficiais de O e estabiliza estados de N; a codopagem sinérgica eleva o FQY de 5,3% para 73%; e a absorção NIR para PTT.
2018 [11]	CDs de ácido salicílico + tioureia	~3,5	S (tioureia)	Hidrotermal	Diagnóstico Segurança Bioimagem in vivo com fotoestabilidade superior à dos corantes orgânicos, referência em segurança biológica.	Penetração celular por dispersibilidade aquosa; fotoestabilidade superior à dos corantes orgânicos; histologia de órgãos normais em camundongos.
2018 [20]	HBCDs (Hypocrella bambusae CDs)	~3–5	N, O (fungo bambusae)	Extração + hidrotermal	Diagnóstico PDT PTT Bioimagem bimodal FL/PA, PDT e PTT combinados, primeiros CDs verdes de fungo para teranóstica.	Geração de ¹ O ₂ e calor sob laser de 635 nm; inibição total do tumor, sem recidiva no 14º dia; peso corporal inalterado; baixa biotoxicidade sistêmica comprovada in vivo.
2018 [16]	CDs de Hypericum	~2–4	N, O (extrato botânico)	Hidrotermal	PDT	Geração intrínseca de ROS direcionada a

	perforatum (erva-de-são-João)				PDT mitocondrial com ROS intrínseco: primeira síntese de CDs verdes; botânico para PDT mitocondrial seletiva.	mitocôndrias; indução de disfunção mitocondrial e apoptose seletiva em células cancerígenas
2019 [18]	CDs de melancia (Watermelon CDs)	~3–6	N, O (suco de melancia)	Hidrotermal	Diagnóstico PTT Bioimagem NIR-II (900–1200 nm) e PTT, marco da segunda janela biológica em CDs verdes.	Emissão NIR-II excitada a 808 nm; PCT de 30,6%; penetração tecidual > 5 mm; excreção renal rápida; FQY baixo, compensado pela alta PCT para PTT eficaz.
2019 [17]	CDs de politiofeno (Polythiophene CDs)	~5	S (politiofeno)	Hidrotermal	Diagnóstico PTT Bioimagem em FL, PA e PTT, com maior PCT documentado para CDs verdes (superior ao ouro).	PCT de 78% a 808 nm; diagnóstico simultâneo por fluorescência e por imagem fotoacústica; hipertermia in vivo em camundongos; superior ao ouro como agente fototérmico.
2020 [16]	CDs de gengibre (Ginger CDs)	~3–5	N, O (extrato de gengibre)	Hidrotermal	Terapia Segurança Citotoxicidade seletiva tumoral, com preservação de células normais, CDs verdes e ação pró-apoptótica seletiva mediada por p53.	IC ₅₀ seletivo contra HepG2; elevação de p53 e de ROS intracelulares nas células tumorais; preservação de MCF-10A e FL83B (células normais).
2020 [17]	GCD-Aloe vera (CDs de Aloe vera)	~3–7	N, O (polissacarídeos de aloe)	Microondas / Hidrotermal	Terapia Diagnóstico Citotoxicidade antitumoral intrínseca + bioimagem; IC ₅₀ de 52,2 µg/mL em MCF-7, devido à geração intrínseca de ROS.	Polissacarídeos da Aloe vera (alocina, acemanana) incorporados à carbonização; geração intrínseca de ROS sem fármaco exógeno; atividade antitumoral dependente de fitoquímicos naturais.
2021 [18]	S-CDs de Camellia japonica (CDs de flores de camélia)	~4–6	S (flores de camélia)	Hidrotermal	PTT PTT com ablação tumoral completa em baixas potências, CDs verdes, florístico com PCT de 55,4%.	Dopagem intrínseca por S das flores sem fonte de dopante externo; PCT 55,4% a 808 nm; dose eficaz 45 µg/mL; ablação tumoral completa em baixas potências de laser.
2021 [19]	HA-CDs + DOX (CDs de ácido hialurônico)	~5–10	N, O (ácido hialurônico)	Bottom-Up (hidrotermal + conjugação)	Entrega Diagnóstico Entrega direcionada de DOX via receptor CD44 + EPR + bioimagem, inibição tumoral 78,53% vs. 57,07% do DOX livre.	Linker pH-sensível (p-CBA) libera DOX em pH 5,0; direcionamento ativo via CD44 superexpresso + EPR passivo; monitoramento fluorescente em tempo real da distribuição no tumor.
2021 [17]	CDs de m-fenilenediamina + L-cisteína	~4–6	N, S (L-cisteína)	Hidrotermal	Diagnóstico Imagem nucleolar de alta resolução	Localização seletiva no nucléolo; emissão RGB com excitação única a 405 nm; viabilidade >90% em MCF-7 a 10–50 µg/mL; desempenho superior ao do único

						corante nucleolar comercial disponível.
2022 [19]	Ce6-RCDs (CDs vermelhos + Ce6)	~5–8	N, O + Ce6 conjugado	Síntese química + conjugação covalente	Diagnóstico PDT PTT PDT e PTT combinados e imagem.	FRET entre CDs e Ce6 amplifica 1O_2 ; PDT+PTT reduziram o tumor para ~30% do tamanho inicial após 13 dias; morte celular imunogênica, com ativação de NK, CD4+ e CD8+.
2022 [18]	CD@Hydrogel HA (Hidrogel injetável de CDs + HA)	variável	N, O (ácido hialurônico)	Síntese + encapsulamento em hidrogel	PDT PTT PDT e PTT locais por meio de hidrogel injetável.	Liberção controlada de CDs pela matriz de HA; irradiação por NIR a 660 nm; efeito inibitório pronunciado no crescimento tumoral, sem alteração do peso corporal.
2023 [17]	CDs de cascas de limão-doce + PAMAM-RGDS	~4–7	N, O (cascas de limão)	Hidrotermal + conjugação	Terapia gênica Diagnóstico Terapia gênica em TNBC e bioimagem.	Dendrômero PAMAM condensa o ácido nucleico; peptídeo RGDS direciona a integrina $\alpha v \beta 3$ superexpressa no TNBC; extinção de fluorescência por Cu(II) como sinal diagnóstico.
2023 [19]	Gd-CDs-FA (CDs dopados com Gd + ácido fólico)	~3–6	Gd ³⁺ + N, O (ácido cítrico/fólico)	Hidrotermal	Diagnóstico Imagem bimodal FL e MRI direcionada a células cancerígenas, FR e câncer de fígado.	Coordenação de Gd ³⁺ com superfícies –COOH e –NH ₂ para MRI; conjugação com ácido fólico para direcionamento a células FR+ de câncer de fígado; imagem bimodal FL e MRI simultânea.

Legenda: PCT: eficiência de conversão fototérmica | PDT: terapia fotodinâmica | PTT: terapia fototérmica | FR: receptor de folato | BBB: barreira hematoencefálica | TNBC: câncer de mama triplo-negativo | EPR: efeito de permeabilidade e retenção aumentadas | MRI: ressonância magnética | PA: imagem fotoacústica Refs. [11-26].

A partir dos dados sistematizados na Tabela 1, é possível observar a evolução cronológica dos CDs verdes ao longo de quase duas décadas de pesquisa. O marco inicial remonta a 2007, com os pontos de carbono obtidos a partir da fuligem de vela, ainda limitados à bioimagem celular multicolorida básica [21]. Nos anos seguintes, precursores alimentares como suco de laranja, leite bovino e ácido fólico consolidaram a rota hidrotérmica como método preferencial de síntese verde, ampliando o uso dos CDs para aplicações diagnósticas mais específicas, como a bioimagem nuclear e a travessia in vitro da barreira hematoencefálica [22-25]. A partir de 2018, nota-se uma clara transição funcional: os CDs verdes passam a incorporar não apenas capacidade diagnóstica, mas também ação terapêutica direta, por meio de sistemas fototérmicos e fotodinâmicos derivados de fungos, extratos botânicos e frutas, culminando em plataformas

plenamente teranósticas, capazes de diagnosticar e tratar simultaneamente, como os sistemas conjugados com Ce6, os hidrogéis fotoativos e os complexos com gadolínio para imagem bimodal, apresentados posteriormente em 2022 e 2023 [6,27-28]. Essa progressão, apresentada na linha do tempo da Figura 2 dos CDs, evidencia a maturação do uso dos CDs verdes: de simples sondas fluorescentes de origem natural a sistemas multifuncionais direcionados, o que reflete a crescente sofisticação das estratégias de dopagem estrutural e de funcionalização superficial.

Os principais sistemas de CDs verdes apresentados na Tabela 1 são descritos a seguir. Em 2007, com os CDs de fuligem de vela, o primeiro relato documentado de nanopartículas de carbono fluorescentes produzidas a partir de um precursor de origem natural ocorreu quando Liu, Ye e Mao sintetizaram CDs por refluxo de fuligem de vela em ácido nítrico [21]. A fuligem de vela, subproduto da combustão incompleta da cera, um material de origem biológica, foi utilizada como fonte de carbono bruto; o tratamento ácido introduziu grupos hidrofílicos (–OH e –COOH) na superfície das partículas, tornando-as dispersíveis em meios aquosos. Os CDs obtidos, com tamanhos entre 10 e 45 nm, exibiram emissão fluorescente multicolorida dependente do comprimento de onda de excitação, característica que se tornaria uma das assinaturas ópticas mais exploradas dos CDs nas décadas seguintes. Embora o processo use ácido forte e não seja estritamente hidrotermal, esse trabalho constitui o marco precursor do uso de biomassa natural como fonte carbonácea para produção de CDs fluorescentes [21]. Por outro lado, em 2012, foram relatados CDs sintetizados a partir de suco de laranja. Neste caso, Sahu e colaboradores formalizaram a síntese verde hidrotermal como rota viável para a produção de CDs verdes, ao reportarem a primeira síntese one-pot de CDs altamente luminescentes a partir de suco de laranja puro, sem adição de reagentes químicos externos [22]. Os CDs obtidos, com FQY de 26% e tamanho de 2 a 5 nm, demonstraram alta fotoestabilidade e baixa toxicidade, sendo empregados como excelentes sondas para bioimagem celular. Esse trabalho estabeleceu o paradigma, replicado em centenas de estudos subsequentes, de que biomassas vegetais prontamente disponíveis e de baixo custo, carbonizadas hidrotermalmente, são adequadas à produção de CDs verdes com propriedades fluorescentes para aplicações biomédicas [22].

Em 2014, CDs foram sintetizados a partir de leite bovino, conforme relatado por Wang e Zhou, por meio de um método completamente verde. Os CDs foram dopados com nitrogênio usando o leite bovino, um precursor de origem animal, rico em proteínas e aminoácidos, que atuam como fontes naturais de carbono e nitrogênio durante a carbonização hidrotermal [23]. Os CDs

de leite, com tamanho médio de 3 nm, reportaram bioimagem de alta resolução de células de glioma humano U87 e tornaram-se a base para os sistemas de entrega direcionada de doxorubicina (DOX), com liberação máxima no pH ácido do microambiente tumoral e localização nuclear seletiva nas células cancerígenas, característica relevante para a física médica oncológica [23].

Em 2016 foram reportados N-CDs sintetizados hidrotermalmente a partir de ácido cítrico e polietilenimina (PEI), com FQY de 51% e tamanho de $\sim 2,6$ nm, representando um avanço relevante para o diagnóstico de tumores cerebrais. Neste caso, a superfície catiônica conferida pelo PEI possibilitou a penetração no núcleo celular após 8 horas de incubação em células vivas e a travessia do modelo in vitro da barreira hematoencefálica (BBB), condição necessária para que sondas de bioimagem atinjam tecidos tumorais intracranianos após administração sistêmica [24]. Esses CDs demonstraram bioimagem em tempo real de células de glioma, consolidando a estratégia de dopagem com polímero catiônico como uma abordagem eficaz para o diagnóstico de cânceres de difícil acesso [24]. Também, Bhunia e colaboradores reportaram, em 2016, a síntese de CDs produzidos a partir do próprio ácido fólico como único precursor, que atuou simultaneamente como fonte de carbono e como ligante autodirecionador para o receptor de folato (FR), superexpresso em células cancerígenas [25]. Os FA-CDs exibiram autodirecionamento natural ao FR de células HeLa, SKOV3, MCF-7 e HepG2, em que após 6 horas de incubação em mistura de células tumorais (FR+) e normais (FR-), apenas as células cancerígenas emitiram fluorescência brilhante, sem necessidade de qualquer agente direcionador externo adicional, o que demonstrou, pela primeira vez, a viabilidade do autodirecionamento intrínseco como estratégia de bioimagem diagnóstica seletiva [25].

No período entre 2013 e 2017, o sistema de codopagem simultânea de nitrogênio e enxofre (N, S-CDs codopados) a partir de ácido cítrico e L-cisteína, por via hidrotermal, foi descrito originalmente por Dong et al. em 2013 e aplicado em sistemas teranósticos a partir de 2017. Essas sínteses representaram o maior salto documentado em rendimento quântico para CDs verdes; a codopagem de N e S elevou a FQY de 5,3% (CDs não dopados) para 73% (N, S-CDs), com o tempo de vida da fluorescência aumentado de 7,45 ns para 12,11 ns [26]. O mecanismo reside na capacidade do enxofre de eliminar estados superficiais do oxigênio e estabilizar estados do nitrogênio, gerando centros emissivos adicionais que inibem o decaimento não radiativo. A emissão independente do comprimento de onda de excitação desses CDs viabiliza

bioimagem em comprimentos de onda fixos, propriedade de grande valor para diagnóstico oncológico in vivo [26].

Em 2018, os CDs obtidos por síntese hidrotermal a partir de ácido salicílico dopado com tiourea, com diâmetro médio de 3,5 nm, foram demonstrados como sondas de bioimagem in vivo com fotoestabilidade superior à dos corantes orgânicos. Em ensaios in vivo em camundongos, a ausência de efeitos colaterais foi confirmada por análise histológica de coração, fígado e rim, estabelecendo esse sistema como referência de segurança biológica para CDs verdes destinados à bioimagem in vivo, o que é de especial relevância para a segurança radiológica e biológica em física médica [11]. Também, em 2018, os CDs derivados do fungo *Hypocrella bambusae* (HBCDs) foram os primeiros CDs verdes de origem fúngica a demonstrar capacidade teranóstica dupla, com imagem bimodal (fluorescência e fotoacústica), combinada com PDT e PTT simultâneas. Sob irradiação com laser de 635 nm, os HBCDs geraram $^1\text{O}_2$ e calor simultaneamente, obtendo-se inibição total do tumor, sem recidiva, no 14º dia após o tratamento nos grupos PDT e PTT, com o peso corporal dos animais inalterado, o que confirma baixa biotoxicidade sistêmica. Esse sistema evidenciou o potencial da síntese fúngica verde para a obtenção de agentes teranósticos de alta eficácia [20]. Por outro lado, os CDs produzidos por extração hidrotermal de *Hypericum perforatum* (erva-de-são-jão) representaram o primeiro relato de CDs verdes de extrato botânico para terapia fotodinâmica direcionada especificamente às mitocôndrias: os fitoquímicos naturalmente presentes na planta foram incorporados à estrutura dos CDs durante a carbonização, conferindo capacidade intrínseca de geração de ROS direcionada especificamente ao compartimento mitocondrial das células cancerígenas, induzindo disfunção mitocondrial e apoptose seletiva, sem necessidade de fotossensibilizante exógeno adicional [16].

Em 2019, os CDs verdes sintetizados hidrotermalmente a partir de suco de melancia estabeleceram um marco para a bioimagem na segunda janela biológica (NIR-II), com emissão na faixa de 900 a 1200 nm excitada a 808 nm, FQY de 0,4% (típico e adequado para emissores NIR-II), PCT de 30,6% e rápida depuração renal. Esses CDs constituíram a primeira plataforma teranóstica dupla de bioimagem NIR-II e PTT, obtida por síntese verde a partir de uma fruta [18]. A profundidade de penetração tecidual da janela NIR-II é de 5 a 7 mm, em comparação com a NIR-I, o que os torna especialmente adequados para o diagnóstico de tumores profundos em física médica [18]. Também, em 2019, os CDs sintetizados hidrotermalmente a partir de politiofeno demonstraram a maior eficiência de conversão fototérmica (PCT) documentada

para CDs verdes, de 78% sob excitação a 808 nm, superior à das nanoestruturas de ouro amplamente utilizadas como referência em PTT. Aplicados em camundongos vivos, esses CDs permitiram diagnóstico e terapia simultâneos por fluorescência vermelha, imagem fotoacústica e hipertermia fototérmica com ablação tumoral, consolidando a PTT mediada por CDs verdes como modalidade terapêutica de elevada eficácia in vivo [17].

Em 2020, foram reportados CDs produzidos por carbonização hidrotermal do extrato de gengibre, que apresentaram o perfil de seletividade oncológica mais clinicamente relevante entre os CDs verdes de biomassa vegetal: baixa toxicidade para células normais (MCF-10A e FL83B), combinada com forte efeito inibitório seletivo sobre células HepG2, decorrente da elevação de p53 e de ROS especificamente nas células tumorais, efeito atribuído aos gingeróis e shogaóis incorporados durante a carbonização hidrotermal [16]. Também, os CDs verdes de Aloe vera demonstraram citotoxicidade antitumoral intrínseca contra células MCF-7 ($IC_{50} = 52,2 \mu\text{g/mL}$) pela geração direta de ROS, atividade antitumoral independente de fármaco exógeno, atribuída aos polissacarídeos bioativos da Aloe vera (alocina, acemanana) incorporados à estrutura dos CDs durante a carbonização [17]. Esse exemplo paradigmático ilustra como a síntese verde pode transferir propriedades biológicas intrínsecas do precursor natural à nanopartícula sintetizada.

Em 2021, os CDs dopados com enxofre, produzidos hidrotermalmente a partir de flores de *Camellia japonica*, demonstraram ablação tumoral completa em baixas potências de laser por PTT, com PCT de 55,4% a 808 nm, resultado atribuído à dopagem intrínseca por enxofre presente nas flores da camélia, sem necessidade de fontes externas de dopante. Esse sistema evidencia que a síntese verde florística pode produzir agentes fototérmicos de alto desempenho de forma sustentável e de baixo custo [18]. Também, em 2021, os CDs funcionalizados com ácido hialurônico e carregados com doxorrubicina via ligante sensível ao pH (p-CBA) obtiveram o resultado mais expressivo documentado para a entrega direcionada de quimioterápico mediada por CDs verdes: inibição do crescimento tumoral de 78,53% em camundongos portadores de câncer 4T1, em comparação a 57,07% do DOX livre [19]. A superioridade foi atribuída ao direcionamento ativo, por meio do receptor CD44 superexpresso, combinado ao acúmulo passivo pelo efeito EPR e à liberação controlada de DOX em pH 5,0 do microambiente tumoral. Em 2021, os CDs produzidos por hidrotermalização a partir de m-fenilenediamina e L-cisteína apresentaram imagens nucleolares de alta qualidade em células fixas e vivas, com desempenho superior ao do único corante nucleolar comercialmente

disponível (SYTO RNASelect), possibilitando a marcação seletiva de compartimentos celulares com excitação única a 405 nm [17]. O valor diagnóstico é elevado, dado que as disfunções nucleolares são marcadores precoces do desenvolvimento tumoral.

Já em 2022, o sistema Ce6-RCDs, formado por CDs emissivos vermelhos conjugados ao fotossensibilizante clorina e6 (Ce6), apresentou o resultado mais expressivo para terapia combinada PDT e PTT com CDs verdes: redução dos volumes tumorais para aproximadamente 30% do tamanho inicial após 13 dias em camundongos portadores de câncer 4T1, em comparação ao crescimento de 6,5 vezes (PDT) e 3,5 vezes (PTT) nos grupos de monoterapia [19]. A sinergia foi potencializada pelo efeito FRET entre CDs e Ce6 e pela morte celular imunogênica, com ativação de NK, CD4⁺ e CD8⁺. Também, em 2022, o sistema CD@Hydrogel, com CDs encapsulados em matriz injetável de ácido hialurônico (HA), representou uma abordagem para fototerapia local controlada: a matriz proporciona liberação lenta e contínua dos CDs no sítio tumoral após a injeção, enquanto a irradiação NIR a 660 nm ativa simultaneamente PDT e PTT. Os resultados in vivo confirmaram um efeito inibitório pronunciado sobre o tumor, sem alterações no peso corporal [18].

Em 2023, os CDs verdes de cascas de limão-doce conjugados a PAMAM e RGDS constituíram o primeiro sistema teranóstico de terapia gênica direcionada à TNBC baseado em CDs verdes. O RGDS direciona a integrina $\alpha\beta_3$, superexpressa no TNBC; já o PAMAM condensa e protege o ácido nucleico para a entrega celular; e a extinção de fluorescência por Cu(II) funciona como sinal diagnóstico integrado [17]. Também em 2023, os CDs dopados com gadolínio e conjugados com ácido fólico (Gd-CDs-FA) representaram a plataforma de imagem bimodal (fluorescência e MRI) mais completa baseada em CDs verdes, a coordenação de Gd³⁺ com grupos superficiais confere propriedades paramagnéticas para contraste de MRI, enquanto a conjugação com ácido fólico direciona os CDs ao FR⁺ de células de carcinoma hepatocelular, combinando a resolução anatômica da MRI com a sensibilidade molecular da fluorescência em uma única nanossonda de síntese verde [19].

4.3 Características Estruturais e Morfológicas

Sob a perspectiva da física do estado sólido e da mecânica ondulatória, a compreensão dos pontos de carbono (CDs) requer a análise de sua configuração eletrônica de base. O átomo de carbono fundamental apresenta a distribuição eletrônica $[(1s^2)(2s^2 2p^2)]$, na qual os elétrons de valência residem nos subníveis 2s, 2p_x, 2p_y e 2p_z [11]. As funções de onda que descrevem

esses orbitais quantificam patamares energéticos inferiores ao nível s e superiores ao nível p; contudo, a barreira energética existente entre ambos é menor do que a energia de uma ligação química estável [11]. Essa proximidade viabiliza o rearranjo tridimensional dos orbitais em um processo de hibridização, cuja geometria resultante minimiza a repulsão eletrônica e estabelece o estado de menor energia do sistema [11]. Consequentemente, as hibridizações dos tipos sp , sp^2 e sp^3 dão origem a conformações estruturais lineares (cadeias), planares e tetragonais, respectivamente [11].

No domínio dos nanomateriais de carbono, os CDs caracterizam-se por uma arquitetura eletrônica híbrida, composta pela coexistência de ligações sp^2 e sp^3 [11,29]. Estruturalmente, essas nanopartículas são descritas por um modelo do tipo núcleo-casca (core-shell) [29]. O núcleo central é constituído por domínios predominantemente grafíticos e cristalinos de hibridização sp^2 , organizados em redes hexagonais compactas análogas às do grafeno [11]. Interrupções nesses domínios geram pontos defectivos e regiões amorfas formadas por carbonos sp^3 tetragonais, conferindo ao núcleo uma natureza mista e não-cristalina, frequentemente classificada como turboestrática [11,29]. O grau de grafitização do núcleo está diretamente vinculado à termodinâmica de síntese: temperaturas operacionais superiores a 300 °C favorecem a organização cristalina sp^2 , ao passo que tratamentos térmicos mais amenos resultam em matrizes predominantemente amorfas [29].

A arquitetura núcleo-casca característica dos CDs é esquematicamente representada na Figura 3. Observa-se um núcleo carbônico predominantemente grafítico (sp^2), envolvido por uma camada superficial funcionalizada contendo grupos oxigenados e nitrogenados hidrofílicos, responsáveis por grande parte da reatividade química e da dispersibilidade em meio aquoso [30]. Embora a Figura 3 não represente explicitamente as regiões amorfas de hibridização sp^3 , elas estão associadas a defeitos estruturais e a carbonos superficiais que ancoram esses grupos funcionais. Morfológica e geometricamente, os pontos de carbono pertencem à classe dos materiais de dimensão zero (0D), apresentando conformação espacial predominantemente esférica ou quase esférica, com diâmetros confinados na faixa de 2 a 10 nm [11,30,31]. Análises ultraestruturais revelam que o tamanho isolado dos núcleos pode se restringir a faixas de 2 a 3 nm, com espaçamento atômico característico de aproximadamente 0,2 nm [29]. Devido ao severo confinamento espacial em todas as três direções cartesianas, o nível de energia eletrônica próximo ao nível de Fermi deixa de apresentar comportamento contínuo e assume características discretas [11]. É imperativo ressaltar, contudo, que, embora o confinamento

quântico atue em nanoestruturas derivadas de folhas planas de grafeno, alterando diretamente o bandgap em função do diâmetro físico, nos pontos de carbono legítimos a dependência óptica está primariamente associada a defeitos de superfície e efeitos de borda [11]. Por essa razão, a terminologia "ponto quântico de carbono" tem vindo a cair em desuso na comunidade científica [11].

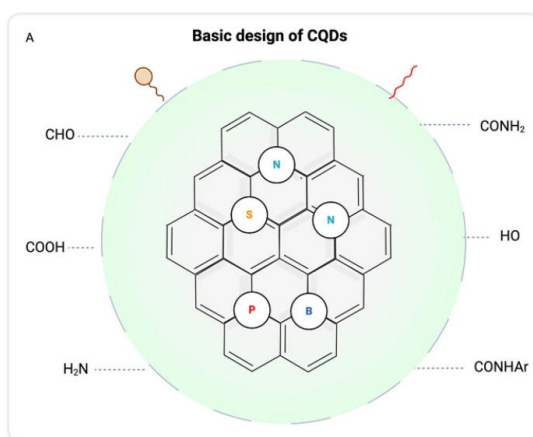


Figura 3 — Representação esquemática da arquitetura núcleo-casca dos pontos de carbono, evidenciando um núcleo carbônico predominantemente grafitico (sp^2) envolvido por uma camada superficial funcionalizada contendo grupos hidrofílicos, como hidroxila, carboxila, amina e amida, além de heteroátomos dopantes (N, S, P e B). **Fonte:** Adaptado de PECHNIKOVA et al. (2025) [30].

A periferia ou casca dos CDs é rica em grupos funcionais oxigenados e nitrogenados decorrentes da fragmentação e condensação dos precursores orgânicos [11,29]. A identificação e a quantificação dessa organização morfológica-estrutural são realizadas por um conjunto de técnicas espectroscópicas e microscópicas, descritas a seguir:

- Microscopia Eletrônica de Transmissão de Alta Resolução (HRTEM) e Varredura (SEM): fornecem o mapeamento morfológico direto, determinando a geometria, a distribuição de tamanho das nanopartículas e o espaçamento dos planos de rede [29];
- Difração de Raios X (XRD) e Difração de Elétrons de Área Seleccionada (SAED): atestam o grau de cristalinidade do material. A fase amorfa manifesta-se por um pico largo em $2\theta \approx 23^\circ$, ao passo que a fase grafitica de baixo ordenamento é identificada por picos em 25° e 44° , correspondentes aos planos cristalográficos (002) e (100); a fase turboestrática, por sua vez, apresenta pico característico em $2\theta \approx 18^\circ$ [11,29];

- Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Fotoelétrons de Raios-X (XPS): confirmam a assinatura molecular da superfície, mapeando bandas características de estiramento de hidroxilas (-OH , $\approx 3442 \text{ cm}^{-1}$), carboxilas (-COOH , $\approx 1710 \text{ cm}^{-1}$), epóxidos ($\approx 1244 \text{ cm}^{-1}$) e ligações aromáticas $\text{C}=\text{C}$ / C-H [2,29];
- Espectroscopia Raman: identifica o caráter misto do carbono por meio das bandas D ($\approx 1350 \text{ cm}^{-1}$, associada a hibridizações sp^3 e desordem estrutural) e G ($\approx 1600 \text{ cm}^{-1}$, associada ao estiramento planar de ligações sp^2) [11];
- Potencial Zeta: mede a densidade de carga elétrica líquida na superfície, indicando a intensidade da estabilização eletrostática em meios aquosos, sendo um parâmetro crítico para evitar a aglomeração de partículas em fluidos biológicos [29,31].

A manipulação da estrutura eletrônica e o controle dos defeitos da casca para fins de aplicação biomédica podem ser realizados por meio de duas estratégias de engenharia de superfície: a passivação e a dopagem eletrônica [11]. A passivação consiste em um pós-tratamento no qual a superfície é recoberta por uma camada protetora uniforme, geralmente de polímeros como o polietilenoglicol, o que reduz os fenômenos de recombinação não radiativa do sistema π -conjugado e melhora a resposta óptica por meio da transferência de carga do ligante para o núcleo [11]. Adicionalmente, modificações covalentes, como reações de silação, reduzem a toxicidade intrínseca e conferem hidrofiliabilidade e seletividade à entrega direcionada de fármacos [11]. Por outro lado, a dopagem eletrônica é realizada de forma intrínseca durante o processo de síntese, introduzindo heteroátomos, como nitrogênio (N) e enxofre (S), diretamente na rede de carbono [11,31]. O nitrogênio atua ao inserir novos estados discretos de energia entre os orbitais π e π^* , estreitando a lacuna de energia entre o orbital ocupado de maior energia (HOMO) e o orbital desocupado de menor energia (LUMO) [11]. O enxofre potencializa esse rearranjo por meio de um efeito cooperativo, no qual seu maior raio atômico e menor eletronegatividade expandem a densidade da nuvem eletrônica local, otimizando as transições radiativas [11].

Por fim, a morfologia interfacial dos CDs confere ao material alta sensibilidade a perturbações do meio externo, como variações de pH e de polaridade do solvente [11]. Mudanças na natureza química do solvente alteram o arranjo energético superficial; meios polares propiciam ligações de hidrogênio com os estados excitados das nanopartículas, elevando as energias de transição eletrônica (deslocamento hipsocrômico), ao passo que solventes apolares reduzem o intervalo HOMO-LUMO (deslocamento batocrômico) [11]. De forma análoga, a oscilação do pH do

meio induz fenômenos de protonação e desprotonação das carboxilas e aminas periféricas [11], [31]. Essa reorganização de cargas superficiais afeta as interações do par elétron-buraco, alterando as taxas de decaimento radiativo e o equilíbrio prótico molecular, o que é relevante para o desenvolvimento de sensores ópticos responsivos a variações ambientais [11].

4.4 Propriedades Ópticas e Fotoluminescência (PL)

A Figura 4 apresenta um diagrama de Jablonski simplificado, utilizado para representar as principais transições eletrônicas envolvidas nos fenômenos fotofísicos observados em materiais luminescentes, incluindo os CDs. O diagrama ilustra a absorção de fótons, a relaxação vibracional, a conversão interna entre estados excitados, o cruzamento intersistema para estados de tripleto, bem como os processos radiativos de fluorescência e fosforescência. Esses mecanismos constituem a base física para compreender a emissão luminosa dos CDs e serão discutidos individualmente nos tópicos seguintes, incluindo os efeitos de absorção óptica, fotoluminescência, conversão ascendente e descendente e fosforescência à temperatura ambiente [32].

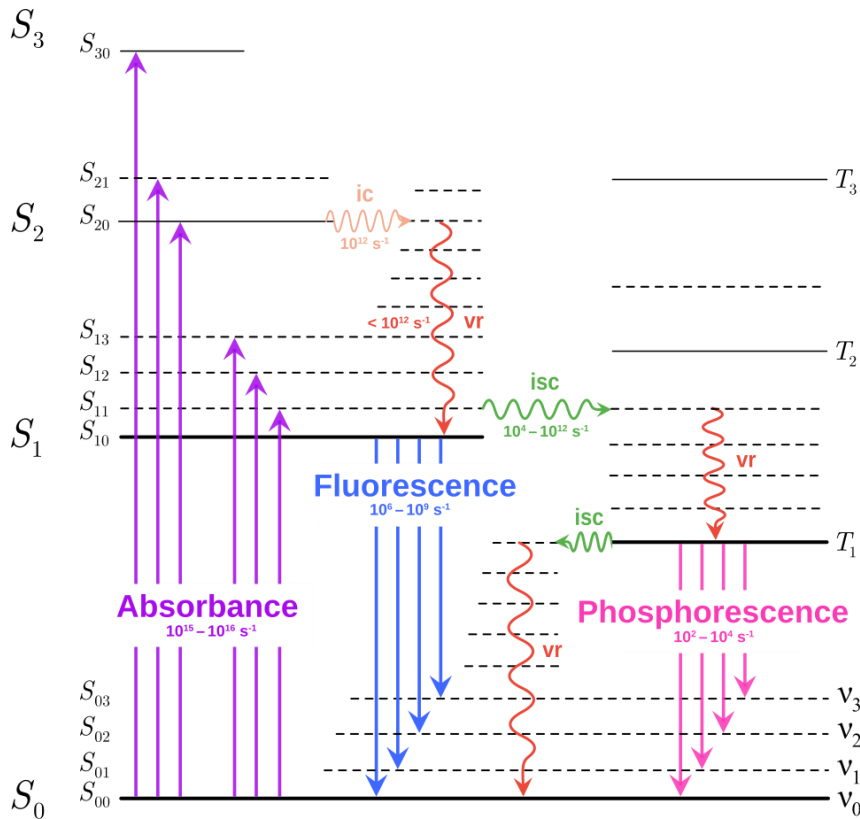


Figura 4 – Diagrama de Jablonski ilustrando os principais processos fotofísicos envolvidos na absorção, fluorescência e fosforescência. Fonte: Adaptado de Wikimedia Commons (2025) [32].

4.4.1 Absorção Óptica

As propriedades ópticas dos pontos de carbono (CDs) constituem um dos aspectos mais investigados desses nanomateriais, dada a sua implicação direta em aplicações biomédicas, de sensoriamento e em dispositivos optoeletrônicos [31,33]. De modo geral, os CDs apresentam absorção óptica de banda larga na região ultravioleta (UV), compreendendo a faixa de 200 a 400 nm, com uma cauda que se estende até o visível [6,33].

A Figura 5 apresenta, de forma esquemática, as principais bandas de absorção óptica dos CDs e sua relação com a estrutura eletrônica desses nanomateriais. Observa-se que a absorção é dominada por três contribuições principais: a banda associada às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos domínios grafíticos sp^2 , predominante na região do ultravioleta; a banda correspondente às transições $n \rightarrow \pi^*$, provenientes de grupos funcionais contendo oxigênio e nitrogênio presentes na superfície; e uma banda de menor energia que se estende em direção à região visível, atribuída aos estados eletrônicos superficiais originados por defeitos estruturais e pela funcionalização da superfície. A posição e a intensidade relativa dessas bandas variam em função da composição química, da rota de síntese, do grau de funcionalização superficial e da incorporação de heteroátomos, fatores que influenciam diretamente a resposta óptica dos CDs [34].

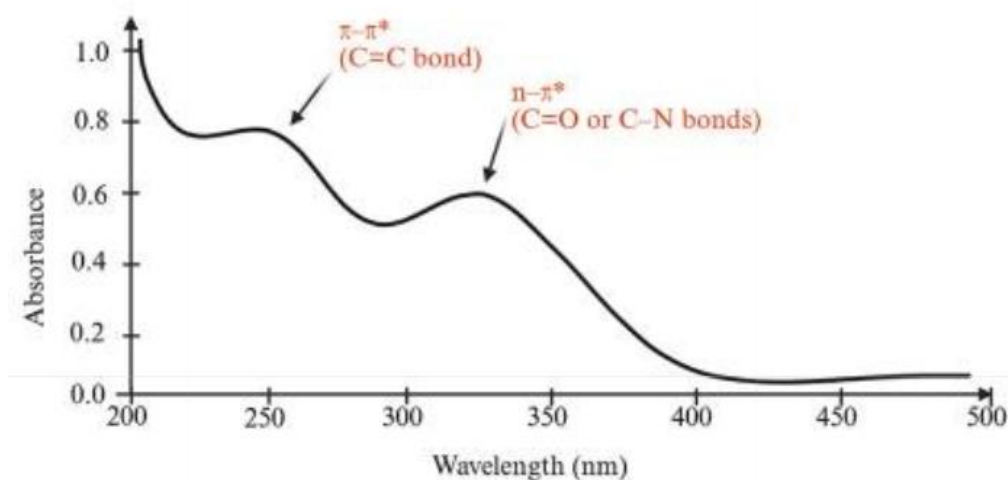


Figura 5– Representação esquemática das principais bandas de absorção óptica dos CDs, evidenciando as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$. Fonte: Adaptado de Kamal, Hong e Ju (Biosensors, 2025) [34].

Conforme ilustrado na Figura 5, esse comportamento de absorção é governado por dois tipos principais de transições eletrônicas: as transições $\pi-\pi^*$, oriundas das ligações C=C dos domínios grafíticos sp^2 , com picos típicos entre 230 e 320 nm; e as transições $n-\pi^*$, associadas às ligações C=O e C=N dos grupos funcionais de superfície, com picos na faixa de 300 a 360

nm [6,11,29]. As variações observadas entre diferentes estudos quanto às posições exatas dessas bandas decorrem, sobretudo, da natureza do precursor carbonáceo utilizado, do método de síntese empregado e da densidade e do tipo dos grupos funcionais presentes na superfície das nanopartículas [6,29,33].

Os CDs obtidos por rotas de síntese verde, especialmente aqueles derivados de biomassa vegetal por via hidrotermal, apresentam características de absorção que refletem diretamente a composição química da matéria-prima de origem, podendo ser moduladas pela variação dos teores de oxigênio e nitrogênio nos núcleos carbonosos [6,33]. Além disso, o processo de passivação superficial amplia o espectro de absorção para comprimentos de onda maiores, podendo estendê-lo até a faixa de 350 a 550 nm, à medida que a camada protetora introduzida reduz os defeitos superficiais e estabiliza os domínios π -conjugados [29]. De forma análoga, a dopagem com heteroátomos como nitrogênio (N), enxofre (S), boro (B) e fósforo (P) promove ajustes na estrutura eletrônica, reduzindo o intervalo energético entre HOMO e LUMO (bandgap), deslocando as bandas de absorção e ampliando a resposta óptica dos CDs [29,33]. CDs com emissão na faixa do vermelho ou do infravermelho próximo (NIR), por sua vez, apresentam elétrons π -conjugados nos domínios sp^2 e/ou em grupos periféricos, resultando em absorção em comprimentos de onda longos, entre 500 e 800 nm [33].

4.4.2 Fotoluminescência

A fotoluminescência (photoluminescence, PL) é reconhecida como a propriedade óptica de maior destaque dos CDs, tanto do ponto de vista científico fundamental quanto da perspectiva de suas aplicações práticas [11,33]. Em comparação a outros materiais fluorescentes convencionais, como pontos quânticos semicondutores contendo cádmio ou chumbo, nanomateriais de terras raras e corantes orgânicos, os CDs oferecem vantagens significativas em termos de fotoestabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e disponibilidade de precursores de baixo custo, o que os torna candidatos relevantes para aplicações em física médica e nanotecnologia teranóstica [31,33].

A Figura 6 ilustra a influência da estrutura eletrônica dos CDs sobre suas propriedades fotoluminescentes. Observa-se que a variação no tamanho dos domínios conjugados de carbono sp^2 altera o intervalo de energia (bandgap) entre os estados eletrônicos fundamental e excitado. Domínios menores apresentam maior bandgap e, conseqüentemente, emitem fótons de maior

energia, correspondentes à região azul do espectro. À medida que o tamanho desses domínios aumenta, ocorre redução do bandgap, o que promove emissões em comprimentos de onda maiores, inicialmente na região verde e, posteriormente, nas regiões vermelha e do infravermelho próximo. Esse comportamento evidencia a estreita relação entre a organização estrutural do núcleo carbônico e as propriedades ópticas dos CDs [34].

O rendimento quântico de fluorescência (FQY) é o parâmetro que quantifica o brilho da emissão fotoluminescente e é diretamente influenciado pela fonte de carbono, pela abordagem sintética e pelos procedimentos de pós-tratamento superficial [33]. Em seu estado nativo, sem modificações, os CDs tipicamente apresentam FQY de cerca de 10% [11]. A passivação superficial, que consiste na deposição de uma fina camada protetora sobre a superfície das nanopartículas, representa a principal estratégia para elevar esse valor, podendo aumentar a FQY em até 55–60% ao reduzir as recombinações não radiativas e ao aprimorar a integridade do sistema π -conjugado [29]. Em casos específicos de pontos de carbono poliméricos (Carbon Polymer Dots, CPDs), valores de FQY de até 99% já foram relatados na literatura [33]. Rotas de síntese do tipo bottom-up, como as hidrotermais amplamente utilizadas na síntese verde, tendem a produzir CDs com FQY superior ao das rotas top-down, como a oxidação eletroquímica e a ablação a laser [33].

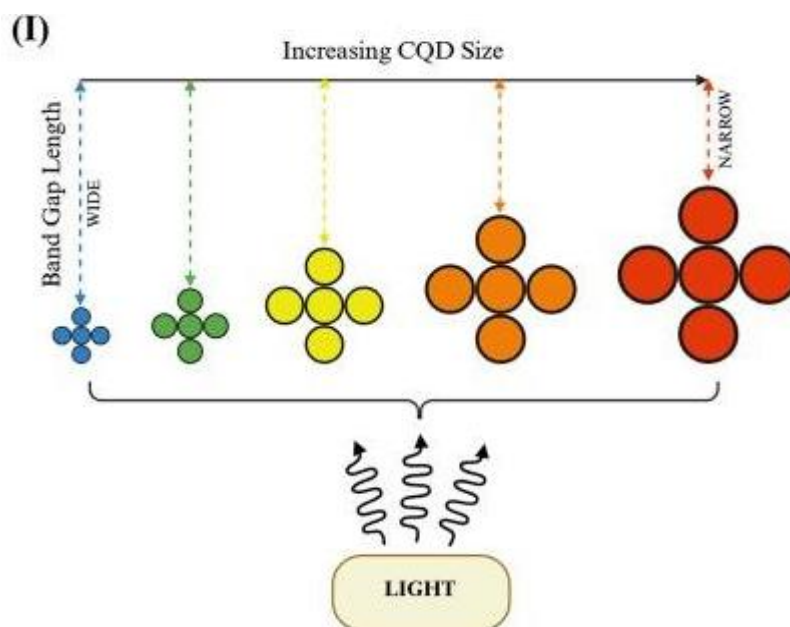


Figura 6 – Representação esquemática da influência do tamanho dos domínios conjugados de carbono sp^2 sobre o intervalo energético (bandgap) e a emissão fotoluminescente dos CDs, evidenciando o deslocamento da emissão da região azul para comprimentos de onda mais elevados à medida que aumenta o tamanho dos domínios grafíticos. Fonte: Adaptado de Mohanaraman e Chidambaram (2024) [34].

Os espectros de emissão dos CDs são notavelmente amplos, abrangendo desde o UV até o infravermelho próximo, com emissão mais intensa nas regiões do azul e do verde [6]. A maioria dos CDs exibe emissão dependente do comprimento de onda de excitação (λ_{ex}), de modo que o pico de emissão se desloca progressivamente para comprimentos de onda maiores à medida que λ_{ex} aumenta, um comportamento associado à presença de múltiplos centros emissivos na superfície e à ampla distribuição de tamanhos das partículas [6,31,33]. Essa característica viabiliza a bioimagem multicolorida sem que seja necessária qualquer modificação química ou dimensional das nanopartículas [33]. Por outro lado, CDs com emissão de banda estreita, exibindo largura à meia altura (FWHM) entre 20 e 40 nm, também foram sintetizados com sucesso, associados à alta pureza de cor, à distribuição uniforme de tamanho e à presença de um único centro de PL [33].

A Figura 7 apresenta um esquema simplificado do mecanismo de fotoluminescência dos CDs. Inicialmente, a absorção de radiação promove elétrons do estado fundamental a estados eletrônicos excitados. Durante o processo de relaxação eletrônica, parte da energia absorvida pode ser dissipada por vias não radiativas, enquanto outra parcela é liberada na forma de fluorescência quando o sistema retorna ao estado fundamental. O diagrama também evidencia que a emissão luminosa pode ser influenciada tanto pelos domínios π -conjugados presentes no núcleo quanto pelos estados eletrônicos de superfície, associados a defeitos estruturais e grupos funcionais. A contribuição desses centros emissores depende da composição química, da funcionalização superficial e da presença de heteroátomos incorporados durante a síntese [34].

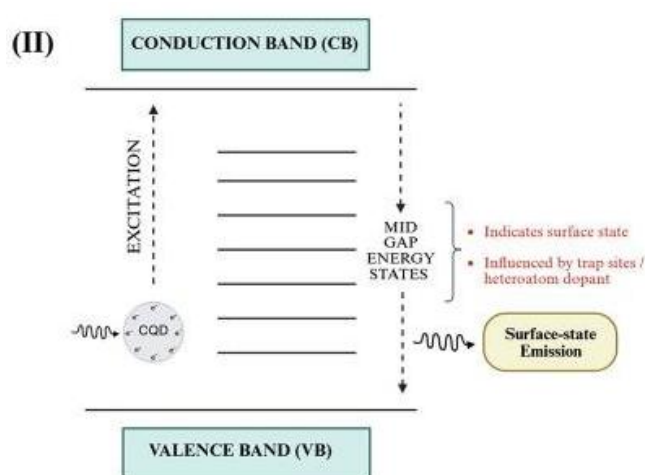


Figura 7 – Representação esquemática do mecanismo de fotoluminescência dos CDs, destacando os processos de absorção, relaxação eletrônica e emissão de fluorescência, bem como a participação dos estados eletrônicos do núcleo e dos estados superficiais na recombinação radiativa. Fonte: Adaptado de Mohanaraman e Chidambaram (2024) [34].

Os mecanismos responsáveis pela PL dos CDs ainda não possuem uma definição consensual na literatura científica, o que constitui uma fronteira ativa de investigação [6,11]. As hipóteses mais amplamente discutidas podem ser organizadas em três categorias: fatores internos, que incluem efeitos de conjugação π , estados superficiais e interações sinérgicas entre heteroátomos; fatores externos, relacionados a estados moleculares e influências do ambiente químico, como pH e polaridade do solvente; e emissões aprimoradas por reticulação cruzada, observadas em CPDs [6]. De modo mais específico, dois mecanismos são apontados como predominantes: o primeiro atribui a fluorescência às transições eletrônicas nos domínios π -conjugados de carbono sp^2 , de forma análoga ao comportamento de moléculas aromáticas com bandgap definido [29]; o segundo associa a emissão a defeitos superficiais, efeitos de passivação e de funcionalização, e armadilhas emissivas presentes na casca das nanopartículas [6,29].

4.4.3 Fluorescência por Conversão Ascendente e Descendente

Os CDs apresentam dois fenômenos de conversão luminescente com implicações distintas para aplicações biomédicas. A fluorescência por conversão descendente, modalidade mais comum, ocorre quando o comprimento de onda de emissão é maior do que o de excitação, sendo gerada por múltiplas origens, como centros multiemissivos, éxcitons auto autoaprisionados, defeitos de borda e estados superficiais [31]. A fluorescência por conversão ascendente, por sua vez, caracteriza-se pelo fenômeno inverso, em que o comprimento de onda de excitação é maior do que o de emissão, resultando na emissão de fótons de maior energia a partir de excitação com radiação NIR [6,31].

Essa modalidade apresenta vantagens significativas para aplicações em física médica, uma vez que a excitação no NIR propicia maior profundidade de penetração tecidual, reduz a autofluorescência biológica de fundo e minimiza a fototoxicidade associada à radiação ultravioleta [6,31]. CDs sintetizados por via hidrotermal a partir de biomassa, como grãos de café, demonstraram capacidade de exibir simultaneamente PL ascendente e descendente, evidenciando o potencial dos materiais obtidos por síntese verde para aplicações teranósticas multimodais [6].

4.4.4 Fosforescência em Temperatura Ambiente

Além da fotoluminescência, os CDs podem exibir fosforescência à temperatura ambiente (Room Temperature Phosphorescence, RTP), uma propriedade de interesse crescente para aplicações de bioimagem com resolução temporal e para sistemas de segurança [29,33]. Diferentemente da fluorescência, que envolve transições radiativas a partir do estado excitado singlete mais baixo (S_1) para o estado fundamental singlete (S_0), a fosforescência ocorre por meio de transições a partir do estado tripleto excitado mais baixo (T_1) para S_0 , processo classicamente proibido pelas regras de seleção de spin e, por isso, caracterizado por tempos de vida de emissão muito mais longos [29,33]. A geração eficiente de RTP requer dois processos críticos, um cruzamento inter-sistemas (ISC) eficaz entre S_1 e T_1 , e a supressão das transições não radiativas a partir de T_1 [33]. Grupos funcionais como C=O e C=N contribuem para o RTP por meio de forte acoplamento spin-órbita, enquanto heteroátomos dopantes como N, P e halogênios favorecem a transição $n-\pi^*$ e potencializam o processo de ISC [33].

Do ponto de vista experimental, Deng et al. (2013) [35] descreveram pela primeira vez a fosforescência em CDs dispersos em matriz de álcool polivinílico (PVA), obtendo emissão máxima a 500 nm e vida útil média de 380 ns [29]. Posteriormente, pontos quânticos de carbono fosforescentes de vida útil ultralonga (P-CQDs) foram sintetizados por micro-ondas, exibindo emissão amarelo-esverdeada a 525 nm por até 9 segundos após excitação [29]. Para CDs convencionais, matrizes sólidas como PVA são necessárias para imobilizar os centros emissivos e impedir a extinção dos estados tripletos; no entanto, para CPDs, a RTP pode ser alcançada sem matrizes adicionais, uma vez que as estruturas covalentes de reticulação e as interações supramoleculares intrínsecas cumprem essa função de forma mais eficaz [33].

4.4.5 Influência do pH e do Solvente na Emissão

O comportamento fotoluminescente dos CDs é fortemente sensível a perturbações do microambiente químico, particularmente às variações de pH e à polaridade do solvente, propriedades diretamente exploráveis em sistemas de sensoriamento e em plataformas teranósticas responsivas [11,31]. A emissão dependente do pH decorre dos processos de protonação e desprotonação dos grupos funcionais superficiais, especialmente carboxilas e aminas, que alteram a configuração de cargas na interface da nanopartícula e modificam as taxas de recombinação radiativa e não radiativa [11,31]. Em condições de pH entre 3 e 12, os

CDs demonstram notável resistência ao fotobranqueamento, mantendo sinais de fluorescência estáveis por períodos prolongados, inclusive em meio aquoso [31]. A variação da polaridade do solvente, por sua vez, atua sobre as energias de transição eletrônica da superfície: meios polares favorecem a formação de ligações de hidrogênio com os estados excitados, elevando as energias de transição e promovendo deslocamento hipsocrômico; meios apolares, ao contrário, reduzem o intervalo HOMO-LUMO e induzem deslocamento batocrômico [11]. Essas respostas tornam os CDs obtidos por síntese verde plataformas promissoras para o desenvolvimento de nanossondas sensíveis a microambientes biológicos, com potencial de aplicação no diagnóstico oncológico e no monitoramento de processos fisiológicos em tempo real [6,11].

5. ROTAS DE SÍNTESE E MÉTODOS DE OBTENÇÃO ECOLÓGICA

5.1 Abordagens Clássicas de Síntese: *Top-Down* e *Bottom-Up*

A produção controlada de pontos de carbono (CDs) é uma etapa determinante para a obtenção de nanomateriais com propriedades ópticas, morfológicas e superficiais adequadas às suas aplicações pretendidas [11,29]. A seleção criteriosa do método de síntese deve considerar, simultaneamente, a natureza físico-química do precursor carbonáceo disponível, as condições operacionais requeridas e as características finais desejadas para o material, uma vez que variações nesses parâmetros resultam em estruturas, mecanismos de fluorescência e perfis de superfície completamente distintos [11,36]. De modo consensual na literatura, as estratégias sintéticas para a preparação de CDs são classificadas em duas grandes categorias, a abordagem de cima para baixo (*top-down*) e a de baixo para cima (*bottom-up*) [4,14,31].

As duas principais estratégias empregadas na síntese de pontos de carbono são apresentadas na Figura 8. Observa-se que a abordagem *top-down* baseia-se na fragmentação de materiais carbonáceos macroscópicos por processos físicos ou químicos de elevada energia, enquanto a abordagem *bottom-up* utiliza pequenos precursores moleculares ou biomateriais, que são convertidos em nanopartículas por meio de reações de condensação e de carbonização. Além da distinção entre os tipos de precursores e os principais métodos empregados, a figura evidencia as vantagens e limitações de cada rota sintética, permitindo uma visão geral das estratégias discutidas nas seções subsequentes [5,14,29,36,37].

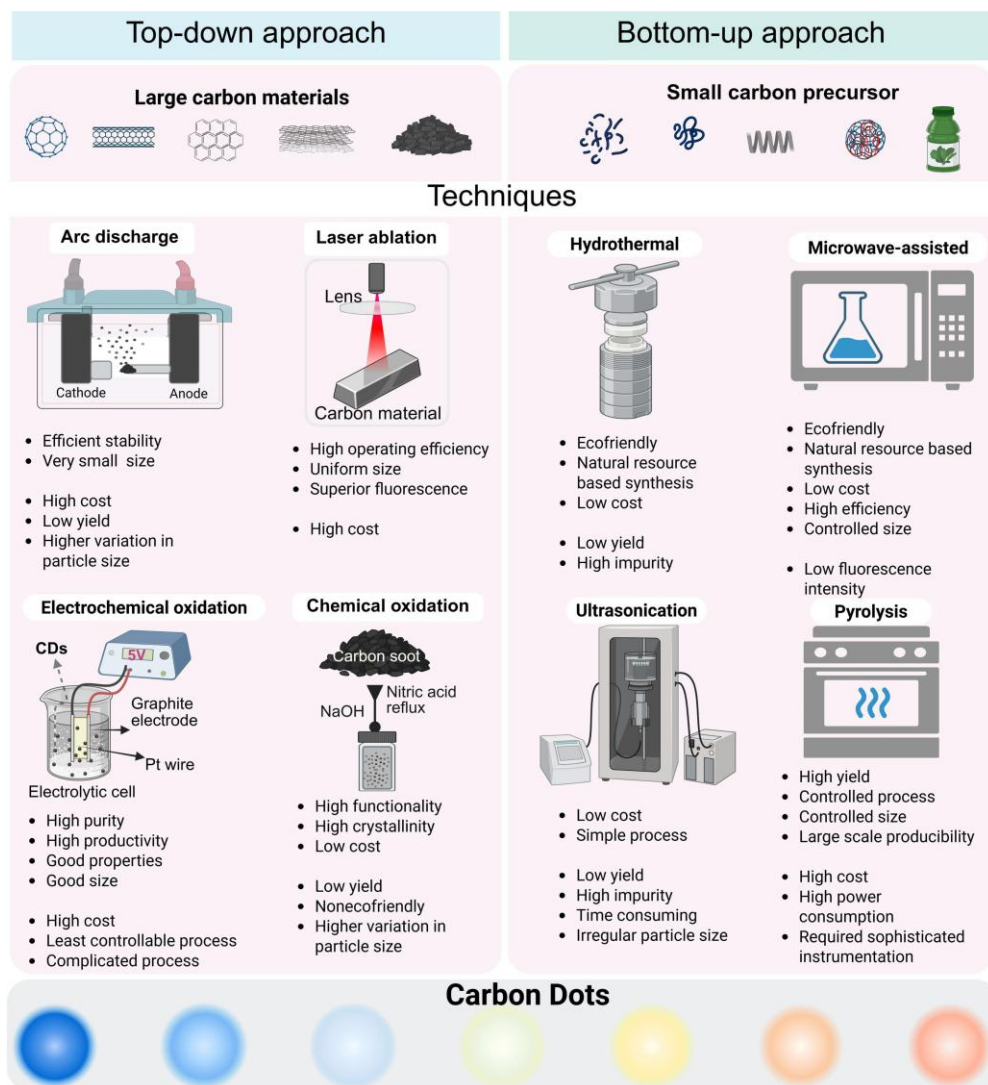


Figura 8 – Representação esquemática das abordagens *top-down* e *bottom-up* empregadas na síntese de pontos de carbono. Destacando os principais tipos de precursores, métodos de obtenção, vantagens, limitações e características gerais das nanopartículas produzidas. Fonte: Singh *et al.* (2025) [37].

5.1.1 Abordagem Top-Down

Na abordagem top-down, fontes de carbono macroscópicas, como grafite, grafeno, nanotubos de carbono, fulerenos, carvão ativado e fuligem de carbono, são submetidas a processos físicos ou químicos de alta energia que promovem sua fragmentação progressiva até a escala nanométrica [29,36,37]. As técnicas mais difundidas nessa categoria compreendem a descarga por arco elétrico, a ablação a laser, a oxidação eletroquímica e o tratamento ultrassônico, todas realizadas sob condições termodinâmicas severas, como alta acidez, elevado potencial eletroquímico e energia radiante intensa [31,37,38].

Historicamente, os primeiros CDs descritos na literatura foram obtidos justamente por meio de rotas top-down, especificamente pela descarga por arco elétrico em nanotubos de carbono de parede simples, o que evidencia o papel pioneiro dessas técnicas no estabelecimento do campo [4]. No método de descarga por arco, a desintegração dos precursores carbonosos em plasma de alta energia resulta em partículas de morfologia heterogênea e de ampla distribuição de tamanhos, além de apresentar dificuldades inerentes à etapa de purificação [31,29,37]. A ablação a laser, por sua vez, envolve a irradiação de um alvo de carbono sólido com pulsos de laser de alta fluência, gerando um plasma localizado que condensa em nanopartículas; embora permita certo ajuste das propriedades superficiais pela variação da energia e do tempo de irradiação, os CDs resultantes frequentemente apresentam baixo rendimento quântico de fluorescência e heterogeneidade dimensional, demandando etapas adicionais de passivação superficial para a ativação óptica do material [29,36,37].

O método de oxidação eletroquímica destaca-se entre as rotas top-down por oferecer maior controle sobre o tamanho dos CDs produzidos, uma vez que a distribuição dimensional e as propriedades ópticas das nanopartículas são diretamente moduláveis pelo potencial e pela temperatura de oxidação aplicados [38]. Nesse processo, eletrodos à base de carbono, como hastes de grafite ou nanotubos, são submetidos a reações redox em eletrólito aquoso, resultando na esfoliação controlada de fragmentos nanodimensionados [29,31,37]. Não obstante suas vantagens em termos de baixo custo, ausência de reagentes altamente perigosos e facilidade operacional, os CDs obtidos por oxidação eletroquímica tendem a apresentar menor densidade de grupos funcionais de superfície em comparação com os produzidos por rotas bottom-up, o que pode comprometer sua dispersibilidade em meios aquosos e, conseqüentemente, sua aplicabilidade biomédica [5].

De maneira geral, a abordagem top-down é valorizada por sua simplicidade operacional, elevado desempenho produtivo, ausência de emissão de gases tóxicos durante o processamento e capacidade de produção em larga escala [11]. Em contrapartida, suas limitações estruturais são relevantes: a impossibilidade de obter nanomateriais de alta pureza diretamente a partir do precursor macroscópico, o elevado custo das etapas de purificação e a dificuldade em controlar com precisão a morfologia e a distribuição de tamanhos dos CDs gerados constituem obstáculos significativos para aplicações que exigem nanomateriais monodispersos e com propriedades ópticas bem definidas [5,14,29,37].

5.1.2 Abordagem Bottom-Up

Em contraposição à estratégia anterior, a abordagem bottom-up parte de precursores moleculares de baixa massa, como pequenas moléculas orgânicas, aminoácidos, carboidratos, polímeros e biomateriais, que sob condições controladas de temperatura, pressão e tempo de reação, passam por uma sequência de transformações que inclui desidratação, condensação, polimerização e carbonização, culminando na nucleação e no crescimento das nanopartículas de carbono [11,36,37]. Esse conjunto de processos resulta em CDs com morfologia mais homogênea, distribuição de tamanhos mais estreita e propriedades reprodutíveis em comparação com os produzidos por rotas top-down [5].

Os métodos bottom-up mais amplamente empregados na literatura são a carbonização hidrotermal, a síntese assistida por irradiação de micro-ondas, a pirólise térmica, os processos solvotérmicos e a síntese assistida por ultrassom [11,14,31,37]. A síntese assistida por micro-ondas fundamenta-se na interação de ondas eletromagnéticas na faixa de 1 mm a 1 m com as moléculas precursoras polares, promovendo aquecimento rápido e uniforme que acelera a decomposição das ligações químicas e a carbonização dos precursores em tempos de reação muito reduzidos [36,38]. Embora esse método seja reconhecido por sua praticidade, economia e potencial de síntese em larga escala, a estreita dependência entre os parâmetros de irradiação, como potência e propriedades de absorção do precursor, e as características do produto final pode resultar em CDs com elevado grau de polidispersidade quando esses parâmetros não são adequadamente controlados, frequentemente exigindo etapas adicionais de purificação [5,36].

A pirólise constitui outro método relevante dentro da categoria bottom-up, caracterizando-se pela decomposição térmica endotérmica dos precursores carbonáceos em temperaturas elevadas, tipicamente acima de 300 °C, sob pressão controlável e, em muitos casos, em atmosfera inerte [29,36]. As condições pirolíticas promovem a fragmentação progressiva das ligações químicas orgânicas, convertendo os precursores em nanopartículas coloidais cujas propriedades físico-químicas são moduláveis pela variação da temperatura, do pH e da duração do processo [36]. As vantagens associadas à pirólise incluem praticabilidade, repetibilidade, escalabilidade e baixo custo; sua principal limitação reside na dificuldade de separar os CDs formados dos precursores residuais não convertidos [29,37].

A abordagem solvotérmica, variante do método hidrotermal em que solventes orgânicos substituem, total ou parcialmente, a água como meio reacional, também se insere no conjunto de rotas bottom-up. Nessa rota, compostos geradores de carbono são aquecidos em solventes

de alto ponto de ebulição, como etanol, dimetilformamida (DMF) ou formamida, seguidos de etapas de extração e purificação [36]. Embora permita a produção de CDs tanto hidrofílicos quanto hidrofóbicos a partir do mesmo precursor, por meio do ajuste do pH e da composição do meio, o uso de solventes orgânicos potencialmente nocivos em condições de alta temperatura representa um aspecto desvantajoso sob a óptica da segurança e da sustentabilidade ambiental [38].

O método do molde (template), por sua vez, utiliza suportes mesoporosos, geralmente esferas de sílica, para guiar a nucleação e o crescimento dos CDs em seu interior, controlando com precisão o tamanho e prevenindo a aglomeração das partículas durante a carbonização [31], [29]. Apesar dessas vantagens, a etapa de remoção do molde após a síntese por gravação química é um processo complexo que pode comprometer a pureza e as propriedades ópticas dos CDs obtidos, o que torna esse método menos frequente na literatura em comparação às rotas hidrotermais e de micro-ondas [31].

De forma abrangente, a abordagem bottom-up consolidou-se como a estratégia dominante na síntese de CDs nas últimas décadas, impulsionada por suas condições operacionais mais brandas, pela possibilidade de utilizar precursores naturais e não tóxicos e pela maior facilidade de controle simultâneo das propriedades estruturais, superficiais e ópticas das nanopartículas produzidas [4,31,37,39]. Em especial, rotas bottom-up a partir de biomassa e de fontes de carbono renováveis mostram-se plenamente alinhadas aos princípios da química verde e da síntese sustentável, constituindo o eixo central das investigações contemporâneas voltadas ao desenvolvimento de CDs para aplicações em física médica e nanotecnologia teranóstica, tema que será aprofundado na seção subsequente [5,6,39].

5.1.3 Desafios Comuns e Perspectivas

Independentemente da abordagem adotada, a síntese de CDs enfrenta desafios transversais que permanecem como fronteiras abertas na literatura especializada [14,36]. O controle preciso da distribuição de tamanho constitui a preocupação mais recorrente, uma vez que a polidispersidade dimensional altera diretamente as propriedades ópticas das nanopartículas e dificulta a reprodutibilidade dos resultados entre diferentes grupos de pesquisa [14,36]. A tendência à agregação carbonácea durante a carbonização, o ajuste das características superficiais para o controle da solubilidade e a escalabilidade dos processos produtivos são

obstáculos igualmente reportados na maioria dos métodos convencionais [36]. A padronização das etapas de purificação, realizadas por meio de centrifugação, diálise, eletroforese em gel ou cromatografia de exclusão por tamanho, é apontada como indispensável para a obtenção de materiais com propriedades consistentes e resultados comparáveis entre diferentes estudos [11]. Abordagens emergentes, como o microplasma não térmico, têm sido investigadas como alternativas capazes de superar a distribuição não uniforme de tamanho característica dos métodos convencionais, operando sob pressão atmosférica e a temperaturas moderadas, com elevada pureza do produto [36]. A adoção de precursores moleculares bem definidos, a incorporação de heteroátomos durante a síntese e o uso de estratégias computacionais, como a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), para o planejamento racional dos CDs são recomendados para superar essas limitações e consolidar a nanotecnologia dos pontos de carbono como uma plataforma confiável para aplicações biomédicas [14].

5.2 Rota Hidrotérmica e a Síntese Verde

5.2.1 Fundamentos da Química Verde Aplicados à Síntese de CDs

O avanço das metodologias de síntese de pontos de carbono nas últimas décadas foi impulsionado, em grande parte, pela necessidade de superar as limitações ambientais e econômicas inerentes às abordagens convencionais discutidas na seção anterior. Nesse contexto, a química verde emerge como um referencial orientador de grande relevância. Estabelecida por Anastas e Warner a partir dos doze princípios formalizados na Lei de Prevenção da Poluição de 1990, essa filosofia científica propõe o desenvolvimento de produtos e processos químicos que eliminem ou minimizem o uso e a geração de substâncias nocivas desde a concepção do método, atuando no mais elevado nível da hierarquia de prevenção da poluição [40]. Aplicados à síntese de CDs, esses princípios se traduzem objetivamente na substituição de solventes orgânicos tóxicos por água ou solventes benignos (ou solventes verdes), na preferência por precursores renováveis e de baixo custo em detrimento de hidrocarbonetos aromáticos potencialmente carcinogênicos, na redução do consumo energético por meio de rotas a temperatura moderada e no desenvolvimento de protocolos capazes de minimizar a geração de subprodutos e resíduos ao longo do processo [27,40].

As abordagens convencionais de síntese, tanto top-down quanto bottom-up, baseadas em reagentes sintéticos, apresentam fragilidades significativas sob essa perspectiva: exigem

solventes tóxicos, precursores de alto custo, moléculas orgânicas perigosas e elevado aporte de energia, o que compromete sua viabilidade em um contexto de desenvolvimento sustentável [40]. A síntese verde, por sua vez, emprega técnicas como a carbonização hidrotérmica, a irradiação por micro-ondas, a ultrassonação e a termólise a partir de biorrecursos, substituindo insumos prejudiciais por matérias-primas naturalmente disponíveis e abundantes no ecossistema [27], [40]. Dentre esses métodos, a rota hidrotérmica consolidou-se como a estratégia de maior adoção na síntese verde de CDs, dada a combinação única de simplicidade operacional, eficiência energética, baixo custo e compatibilidade com uma ampla gama de precursores de biomassa [6,27,41].

5.2.2 Princípios e Mecanismo da Rota Hidrotérmica (ou Hidrotermal)

O método hidrotermal fundamenta-se na promoção de reações químicas em meio aquoso sob condições de temperatura e pressão superiores aos pontos de ebulição e à pressão atmosférica normais, confinadas em um sistema fechado [41]. Operacionalmente, o processo é conduzido em autoclaves de aço inoxidável com revestimento interno de politetrafluoretileno (Teflon), que funcionam como reatores de pressão capazes de suportar as condições termodinâmicas necessárias para a carbonização dos precursores orgânicos [27, 41,42]. A solução precursora, composta por fonte de carbono, água e eventuais agentes auxiliares, é inserida na autoclave, que é então hermeticamente selada e submetida ao aquecimento em forno de ar, a temperaturas tipicamente compreendidas entre 100 e 300 °C, por períodos de 3 a 12 horas [27,41]. A proporção entre água e biomassa no meio reacional pode variar de 5:1 a 75:1, sendo esse parâmetro determinante para o rendimento e as características morfológicas dos CDs obtidos [41].

O sistema experimental empregado na síntese hidrotermal é ilustrado na Figura 8. Observa-se que a reação é conduzida em um recipiente interno de politetrafluoroetileno (Teflon), acomodado no interior de uma autoclave de aço inoxidável hermeticamente fechada. Esse arranjo permite o aquecimento da solução precursora sob elevada pressão autogerada, mantendo a água no estado líquido mesmo em temperaturas acima de seu ponto de ebulição atmosférico. Nessas condições, favorecem-se as reações de carbonização responsáveis pela formação dos CDs, conforme descrito anteriormente [27,41,42].

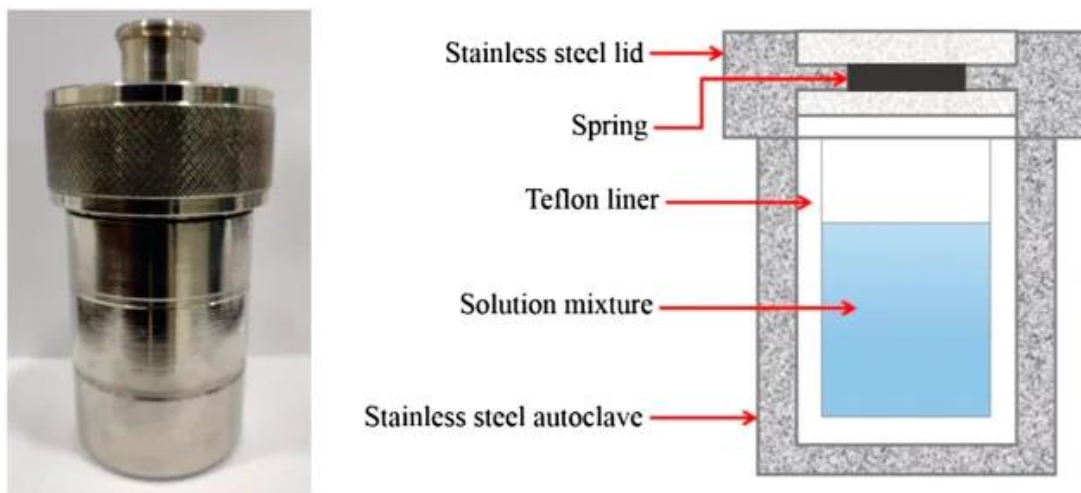


Figura 9 – Esquema do sistema experimental utilizado na síntese hidrotermal de pontos de carbono, constituído por um recipiente interno de Teflon, inserido em uma autoclave de aço inoxidável, capaz de suportar elevadas temperaturas e pressões durante o processo de carbonização. Fonte: Adaptado de He et al. (2018) [42].

Do ponto de vista mecanístico, a formação dos CDs por rota hidrotermal ocorre em quatro estágios sequenciais e interdependentes: polimerização, aromatização, nucleação e crescimento [27,40,43]. As principais transformações químicas envolvidas na formação dos CDs pela rota hidrotermal são esquematicamente representadas na Figura 10. Inicialmente, os compostos orgânicos provenientes da biomassa sofrem reações de condensação e de acoplamento térmico, gerando intermediários poliméricos. Em seguida, esses intermediários evoluem por processos de polimerização e aromatização, formando estruturas conjugadas ricas em carbono sp^2 . A continuidade do aquecimento promove a nucleação e o crescimento das nanopartículas, culminando na carbonização e na obtenção de CDs funcionalizados. Embora represente um mecanismo geral, o esquema evidencia as principais etapas responsáveis pela evolução estrutural das nanopartículas durante a síntese hidrotérmica [27,40,43].

Na etapa de polimerização, as moléculas do precursor carbonáceo sofrem desidratação e condensação, formando oligômeros e polímeros de cadeia curta. A aromatização subsequente promove o rearranjo e a ciclização dessas cadeias em estruturas conjugadas de domínios sp^2 , análogas a fragmentos grafíticos. A nucleação marca o início da formação das nanopartículas propriamente ditas, com a agregação progressiva das estruturas aromatizadas em núcleos incipientes. Por fim, o estágio de crescimento define as dimensões finais dos CDs, cuja distribuição de tamanho é governada pela temperatura, pela duração da reação, pelo pH do meio e pela natureza química do precursor [27,41,43]. Ao término da reação, a autoclave é retirada

do forno e resfriada naturalmente, e o conteúdo é recuperado e submetido a etapas de purificação por filtração e centrifugação para remoção de precursores não reagidos e subprodutos indesejados [41].

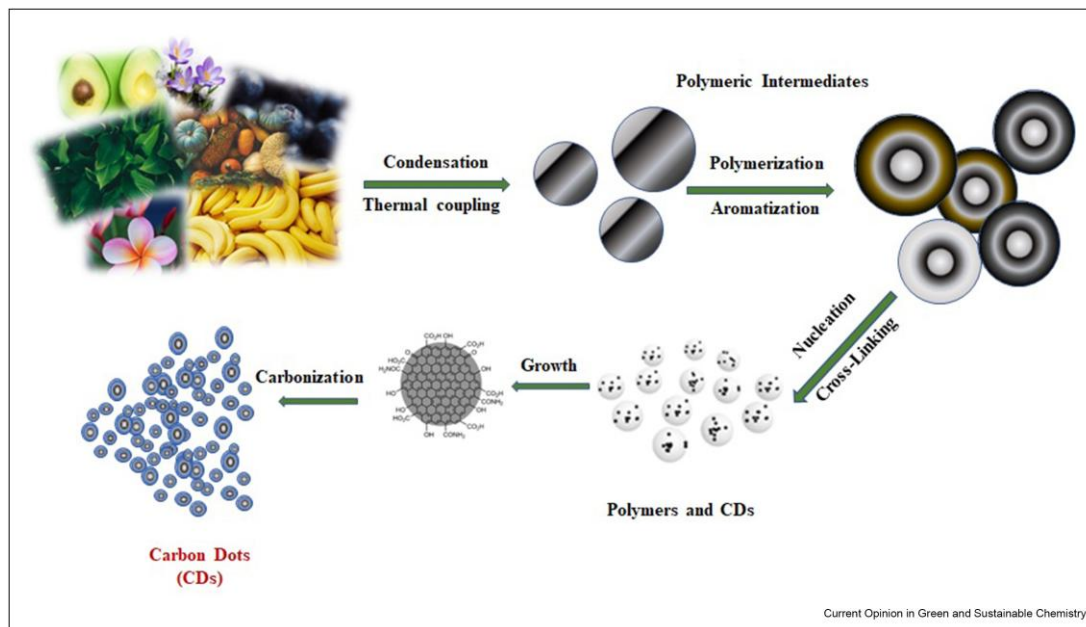


Figura 10 – Representação esquemática do mecanismo de formação de CDs por rota hidrotérmica, evidenciando as etapas sucessivas de condensação, polimerização, aromatização, carbonização, nucleação e crescimento das nanopartículas até a obtenção dos CDs. Fonte: Bressi *et al.* (2023) [43].

Uma das características mais relevantes da rota hidrotérmica sob a óptica da síntese verde é a capacidade do processo de incorporar heteroátomos naturalmente presentes nas fontes de biomassa, como nitrogênio (N), enxofre (S) e fósforo (P), diretamente na estrutura dos CDs por meio do mecanismo de autodopagem, sem necessidade de etapas adicionais de modificação química [27]. Essa incorporação intrínseca de heteroátomos confere aos CDs produzidos por rota verde propriedades ópticas aprimoradas e superfícies ricas em grupos funcionais hidrofílicos, aspectos que serão tratados em detalhe no tópico subsequente [27,40].

5.2.3 Precursores de Biomassa: Categorias e Diversidade

A síntese verde de CDs por rota hidrotérmica admite uma diversidade notável de precursores de origem biológica, que podem ser organizados em duas grandes categorias: pequenas moléculas derivadas da biomassa e resíduos de biomassa [40,43]. A primeira categoria compreende compostos de baixa massa molecular, como monossacarídeos (glicose e frutose), polissacarídeos (celulose e amido), aminoácidos (glicina, entre outros), proteínas (albumina,

lisoizima e caseína) e polímeros de uso corrente como o polietilenoglicol (PEG) e a polietilenoimina (PEI) [40]. Esses compostos são ricos em grupos funcionais como hidroxila (-OH), carbonila (-C=O) e amina (-NH₂), que participam ativamente das reações de condensação e carbonização durante o processo hidrotermal e conferem aos CDs resultantes propriedades de solubilidade aquosa, biocompatibilidade e funcionalidade superficial [40].

Na segunda categoria, os resíduos de biomassa representam a vertente mais alinhada aos princípios da economia circular e do desenvolvimento sustentável, uma vez que transformam materiais descartados em nanomateriais de alto valor agregado [40,41]. Nesse grupo incluem-se folhas de plantas (Tulsi, bambu, ginkgo, aloe, salgueiro), cascas de frutas e vegetais (banana, laranja, toranja, abacate, arroz, nozes, romã, maçã, repolho), resíduos de alimentos (escamas de peixe, folhas de couve-flor, borras de café, papel de escritório), sucos e extratos naturais (cana-de-açúcar, morango, mamão, pepino, melancia) e biomateriais de origem animal (seda de casulo, gelatina, ovos) [27,40,41]. A abundância, o baixo custo e a renovabilidade dessas fontes, aliados à ausência de toxicidade intrínseca, tornam os resíduos de biomassa precursores ideais para a produção de CDs destinados a aplicações biomédicas, nas quais o perfil de segurança do material é um requisito fundamental [6,40].

Do ponto de vista químico, a vantagem dos precursores de biomassa reside no fato de que materiais naturais frequentemente contêm heteroátomos, como nitrogênio e enxofre, em sua composição molecular nativa, dispensando etapas externas de dopagem e permitindo a obtenção de CDs com propriedades ópticas aprimoradas em uma única etapa reacional [40], [41,43]. Estudos reportam, a título de exemplo, que CDs sintetizados a partir de seda de casulo e de gelatina por via hidrotermal apresentaram rendimentos quânticos de 31,6% e 38%, respectivamente, valores expressivamente superiores à média dos CDs não dopados [14]. CDs obtidos a partir de ovos de galinha, com ovalbumina como precursor proteico, alcançaram FQY de 34,5%, enquanto CDs sintetizados a partir de resíduos de agarose atingiram 62% [6,41].

5.2.4 Parâmetros Operacionais e Controle das Propriedades dos CDs

O controle das propriedades finais dos CDs sintetizados por rota hidrotermal é diretamente determinado pela otimização de um conjunto de parâmetros operacionais interrelacionados, cuja manipulação permite ajustar com precisão as características morfológicas, estruturais e ópticas das nanopartículas [27,40,41]. A temperatura de reação constitui o parâmetro de maior

impacto, em que operações conduzidas em temperaturas mais elevadas favorecem a grafitização do núcleo, resultando em maior ordenamento cristalino sp^2 , enquanto temperaturas mais brandas tendem a produzir núcleos predominantemente amorfos com maior densidade de grupos funcionais de superfície [27]. O tempo de reação, por sua vez, influencia o estágio de crescimento dos CDs, em que tempos prolongados promovem maior cristalinidade e intensidade de fluorescência, ao passo que tempos excessivamente longos podem induzir o crescimento descontrolado das partículas e comprometer a monodispersidade do produto [41]. O pH do meio reacional condiciona a protonação e desprotonação dos grupos funcionais do precursor, afetando diretamente a cinética de condensação e o perfil de emissão fotoluminescente dos CDs resultantes [27,40]. A natureza e a concentração do precursor, bem como a proporção água/biomassa, completam o conjunto de variáveis críticas a serem controladas para a obtenção de CDs com as características desejadas [40,41,43]. Dados quantitativos reportados na literatura ilustram essas relações, em que CDs sintetizados a partir de cascas de toranja a 200 °C por 3 horas resultaram em partículas de 2 a 4 nm, com FQY de 6,9%; CDs de mamão a 200 °C por 5 horas produziram partículas de 2 a 6 nm, com FQY de 18%; CDs de repolho a 140 °C por 5 horas geraram partículas esféricas de 2 a 6 nm, com FQY de 16,5%; e CDs de pêssegos verdes com amônia aquosa como fonte de nitrogênio produziram partículas de aproximadamente 8 nm, com FQY de 15% [40]. Essa variabilidade demonstra que mesmo dentro de uma mesma faixa de temperatura e tempo, a composição química do precursor exerce influência determinante sobre as propriedades finais dos CDs, reforçando a importância da seleção criteriosa da biomassa de partida [41].

5.2.5 Métodos Complementares de Síntese Verde

Embora a rota hidrotermal seja a estratégia predominante na síntese verde de CDs, outros métodos, igualmente alinhados aos princípios da química verde, desempenham um papel complementar relevante na literatura, diferenciando-se principalmente pelo mecanismo de aquecimento, pelo tempo de reação e pela distribuição de tamanho do produto [27,41].

A síntese assistida por irradiação de micro-ondas utiliza a interação de ondas eletromagnéticas com moléculas polares do precursor para promover aquecimento rápido, uniforme e volumétrico, convertendo a matéria-prima em CDs em tempos de reação significativamente menores do que os requeridos pela rota hidrotermal convencional [41]. Estudos demonstram que esse método é capaz de produzir CDs a partir de diversas biomassas, como cascas de

palmeira (FQY de 44%, tamanho de 6–7 nm), caseína do leite (FQY de 18,7%), albumina sérica bovina com ureia (FQY de 14%), entre outras fontes vegetais e proteicas [40,41]. Apesar da praticidade e da velocidade, a síntese por micro-ondas pode gerar produtos com maior grau de polidispersidade quando os parâmetros de potência e tempo não são adequadamente controlados, o que demanda etapas adicionais de purificação [41].

A síntese assistida por ultrassom baseia-se no fenômeno de cavitação acústica, que gera o colapso de microbolhas induzidas por ondas sonoras de alta intensidade, produzindo pontos localmente elevados de temperatura e pressão, suficientes para promover a carbonização dos precursores em temperatura ambiente do meio reacional [41]. Esse mecanismo elimina a necessidade de equipamentos de alta pressão e simplifica o protocolo de síntese, embora os rendimentos quânticos obtidos variem entre 2,4% e 60,18%, dependendo da natureza do precursor e das condições operacionais [41]. A pirólise de biomassa, por fim, opera em temperaturas entre 300 e 1000 °C sob atmosfera inerte, sendo aplicável a fontes sólidas como cascas de arroz, folhas de plantas, resíduos agrícolas e subprodutos alimentares; sua principal vantagem reside na escalabilidade e na ausência de solventes, enquanto a principal limitação é a necessidade de passivação posterior dos CDs para ativação de suas propriedades ópticas [40,41].

5.2.6 Relevância da Síntese Verde para a Física Médica e a Nanotecnologia Teranóstica

A convergência entre a rota de síntese verde, os requisitos da física médica e da nanotecnologia teranóstica não é casual, mas decorre de exigências estruturais intrínsecas às aplicações biomédicas de nanomateriais. Plataformas teranósticas destinadas ao diagnóstico e à terapia simultâneos em organismos vivos impõem restrições rigorosas quanto à biocompatibilidade, à toxicidade residual, à estabilidade química em meios fisiológicos e à reprodutibilidade das propriedades ópticas dos agentes nanométricos empregados [6,27]. Nesse cenário, CDs produzidos por síntese verde a partir de biomassa atendem naturalmente a essas exigências, em que a ausência de metais pesados em sua composição elementar, a presença de grupos funcionais hidrofílicos na superfície, como carboxilas e hidroxilas, que conferem dispersibilidade em meios aquosos, e o perfil de baixa citotoxicidade documentado para a maioria das fontes naturais testadas posicionam esses materiais como candidatos privilegiados para uso em sistemas de bioimagem, entrega direcionada de fármacos e diagnóstico oncológico [6,27,40].

Estudos reportam, como exemplos de aplicação direta, a utilização de CDs hidrotermais derivados do leite como sondas fluorescentes de alta resolução para o imageamento de linhagens celulares de glioma, bem como o desenvolvimento de CDs responsivos ao pH a partir de fontes verdes para a detecção seletiva de células cancerígenas por fluorescência [27]. CDs amino-funcionalizados sintetizados a partir da quitosana por rota hidrotermal demonstraram propriedades de luminescência por conversão ascendente, potencialmente exploráveis em bioimagem por excitação no infravermelho próximo, modalidade de particular interesse em física médica por propiciar maior profundidade de penetração tecidual e menor fototoxicidade ao organismo [27]. Esses resultados apontam para a síntese verde hidrotermal não apenas como uma escolha ecologicamente responsável, mas também como um caminho tecnicamente superior para a obtenção de CDs com as características necessárias às aplicações teranósticas que constituem o objeto central deste trabalho.

5.3 Engenharia de Superfície: Mecanismos de Dopagem Estrutural e Funcionalização

Os pontos de carbono obtidos por síntese verde, em especial pela rota hidrotérmica a partir de biomassa, frequentemente apresentam FQY nativo inferior a 5% e funcionalidades de superfície limitadas em seu estado bruto, o que restringe significativamente sua aplicabilidade em plataformas biomédicas de alta exigência, como os sistemas teranósticos destinados ao diagnóstico e à terapia oncológica simultâneos [27,40]. Essa limitação decorre da presença de defeitos superficiais não controlados, como grupos epóxi e carboxílicos residuais, que atuam como armadilhas de energia, facilitando a recombinação não radiativa de pares elétron-lacuna e comprometendo a eficiência luminescente do material [27]. A engenharia de superfície surge como o conjunto de estratégias deliberadas para modificar, de forma controlada, as propriedades eletrônicas, ópticas, químicas e biológicas dos CDs verdes, compreendendo dois eixos complementares e indissociáveis: a dopagem estrutural, que atua sobre a rede interna de carbono, e a funcionalização superficial, que opera na casca periférica das nanopartículas [2,7,14].

5.3.1. Passivação Superficial e Purificação

A passivação superficial constitui a etapa fundamental e preliminar de qualquer estratégia de engenharia de superfície aplicada a CDs verdes, consistindo no bloqueio dos defeitos e

armadilhas presentes na superfície das nanopartículas por meio da deposição de uma camada protetora de moléculas orgânicas ou poliméricas [40]. Ao suprimir as vias de recombinação não radiativa e aprimorar a eficiência de recombinação radiativa de elétrons e lacunas, a passivação resulta em um incremento típico de 10 a 30% nos valores de FQY dos CDs tratados, além de conferir maior estabilidade coloidal, hidrofilicidade e grupos funcionais reativos, como carbonilas, aminas e carboxilas, que servem de âncoras para modificações subsequentes voltadas às aplicações biomédicas [40]. Os agentes passivantes mais amplamente empregados em sínteses verdes de CDs são o polietilenoglicol (PEG), a polietileneimina (PEI), a ureia, a etilenediamina e a amônia, que podem ser incorporados por ligação covalente, pelo método sol-gel ou por coordenação química aos grupos funcionais superficiais das nanopartículas [40]. É relevante destacar que, em sínteses a partir de biomassa, a passivação pode ocorrer de forma intrínseca, por meio do mecanismo de autodopagem, quando heteroátomos naturalmente presentes no precursor são incorporados à superfície durante a carbonização hidrotermal, dispensando etapas externas adicionais e alinhando-se aos princípios da síntese verde [27].

Paralelamente à passivação, as etapas de purificação pós-síntese são indispensáveis para garantir a confiabilidade das propriedades ópticas dos CDs verdes e a reprodutibilidade dos resultados em contextos biomédicos [11]. Os métodos mais empregados são a centrifugação, a filtração por membrana, a diálise e a cromatografia de exclusão por tamanho, que modulam o produto de acordo com o parâmetro desejado. Por exemplo, filtração e diálise para controle dimensional e centrifugação para determinação da densidade específica [11]. Um alerta crítico da literatura diz respeito à purificação insuficiente, em que fluoróforos de pequenas moléculas orgânicas, gerados como subprodutos da síntese de biomassa, podem atravessar membranas de 0,25 μm e contaminar o produto, gerando sinais de fluorescência não atribuíveis aos CDs propriamente ditos e, assim, comprometendo a validade dos ensaios de biocompatibilidade e toxicidade, de particular relevância para o Capítulo 7 deste trabalho [11]. Recomenda-se, portanto, que CDs verdes derivados de fontes de biomassa sejam submetidos a múltiplas etapas de purificação combinadas, dado que nenhuma ferramenta isolada tem demonstrado eficácia suficiente para materiais de origem natural complexa [11].

5.3.2. Dopagem Estrutural em CDs verdes

A dopagem estrutural dos CDs consiste na introdução intencional de heteroátomos ou íons metálicos na rede de carbono durante o processo de síntese, com o objetivo de modificar a

estrutura eletrônica do material, ampliar o número de estados emissivos e elevar o FQY de fluorescência aos patamares exigidos pelas aplicações em física médica e teranóstica [14,38]. No contexto da síntese verde por rota hidrotermal, essa dopagem pode ocorrer de forma intrínseca, quando os heteroátomos já estão presentes na composição da biomassa precursora, ou de forma dirigida, por meio da adição de fontes específicas de dopantes à solução precursora [38,40]. Durante o processo de dopagem, os orbitais atômicos do dopante e do carbono se fundem, alterando a distribuição da densidade eletrônica, a largura da banda proibida (bandgap) e as propriedades ópticas do material resultante, com impacto direto na fotoluminescência e na capacidade de absorção na região do infravermelho próximo (NIR), faixa de comprimento de onda de interesse para aplicações de bioimagem e fototerapia [2,14].

O nitrogênio (N) é o heteroátomo mais amplamente empregado na dopagem de CDs verdes, devido à semelhança de seu raio atômico com o do carbono, o que facilita a substituição de átomos de carbono na rede sem distorção estrutural significativa [38]. A incorporação de N introduz novos estados superficiais que facilitam a recombinação radiativa e reduzem a probabilidade de decaimento não radiativo dos elétrons excitados; os grupos amino associados ao nitrogênio elevam o grau de conjugação do sistema π , potencializando as transições eletrônicas e o FQY do material [27,38]. O nitrogênio pode ser incorporado em configurações piridínicas, pirrólicas, grafíticas ou de amina, sendo a natureza do precursor nitrogenado, como ureia, etilenediamina ou aminoácidos presentes naturalmente na biomassa, o fator determinante para a configuração predominante e, portanto, para o perfil óptico resultante [7]. O enxofre (S), por sua vez, atua criando estados de energia que capturam elétrons fotoexcitados, funcionando como armadilhas emissivas que evitam a autoextinção do sinal de fluorescência; fontes de enxofre como tioureia e cisteína, frequentemente presentes em biomassas proteicas, introduzem funcionalidades de tiol, sulfonato e C–S/C=S que alteram a distribuição de carga e as vias de recombinação radiativa [7,38].

A codopagem simultânea de N e S representa a estratégia de dopagem de maior impacto documentada para os CDs verdes destinados a aplicações biomédicas: investigações demonstraram que a codopagem de N e S elevou o FQY de 5,3% (CDs não dopados) para 16,9% (N-CDs) e para 73% (N, S-CDs), com vida útil de fluorescência aumentada de 7,45 ns para 12,11 ns, valores expressivos para sondas de bioimagem e para monitoramento terapêutico in vivo [38]. Esse efeito resulta da capacidade do átomo de S de eliminar estados superficiais do oxigênio e estabilizar estados superficiais do nitrogênio, gerando centros emissivos

adicionais que inibem o decaimento não radiativo [7,38]. CDs codopados com N e S, sintetizados por meio de um método hidrotermal a partir de ácido cítrico e cisteína, em que ambos os precursores são abundantes e de baixo custo, apresentaram FQY de até 73%, atribuído ao efeito sinérgico da dopagem, que inibe o decaimento não radiativo e amplia os centros emissivos, confirmando a viabilidade dessa estratégia no contexto da síntese verde [7].

A dopagem por íons metálicos, em particular com lantanídeos como Yb^{3+} e Nd^{3+} , abre uma dimensão de especial relevância para a física médica: esses dopantes criam estados intermediários dentro da banda proibida dos CDs que deslocam a emissão fotoluminescente para a faixa de 998 nm e 1068 nm, respectivamente, inserindo os materiais nas janelas terapêuticas do infravermelho próximo NIR I e NIR II, condição que propicia maior profundidade de penetração tecidual, menor dispersão fotônica e reduzida autofluorescência biológica de fundo em ensaios de bioimagem e em modalidades de fototerapia como PDT e PTT [2,38]. Metais de transição como Mn^{2+} , Fe^{3+} , Gd^{3+} e Ni^{2+} também têm sido reportados como dopantes eficazes, em que os CDs dopados com gadolínio possibilitam imagens multimodais por fluorescência e ressonância magnética (MRI) simultâneas, enquanto CDs tri-dopados com N, S, e Ni demonstraram FQY absoluto de 54,7%, atribuído ao aumento da grafitização promovido pelo Ni^{2+} , aliado à redução das vias não radiativas pelos heteroátomos, configuração diretamente aplicável a plataformas teranósticas de diagnóstico e terapia oncológica [7].

Um ponto crítico que não pode ser negligenciado na síntese verde de CDs a partir de biomassa de baixo custo é o risco de dopagem involuntária. Os materiais de origem vegetal e animal frequentemente contêm traços de íons metálicos e heteroátomos em sua composição natural, que podem ser incorporados inadvertidamente à estrutura dos CDs durante a carbonização hidrotermal, resultando em mudanças imprevisíveis nas propriedades ópticas e, principalmente, no perfil toxicológico do produto [40]. Esse fenômeno reforça a necessidade de caracterização analítica rigorosa e de etapas de purificação criteriosas para quaisquer CDs verdes destinados a aplicações biomédicas, aspecto que será retomado no capítulo dedicado à biocompatibilidade e segurança biológica [40].

5.3.3. Funcionalização Superficial para Aplicações Teranósticas

A funcionalização superficial dos CDs verdes compreende o conjunto de modificações químicas realizadas na casca periférica das nanopartículas para adaptar suas interações com o

meio biológico, ampliar sua estabilidade coloidal em fluidos fisiológicos, aprimorar suas propriedades ópticas e viabilizar o reconhecimento molecular específico de estruturas celulares relevantes para o diagnóstico e a terapia oncológica [7,20,44]. Essa estratégia organiza-se em dois níveis hierárquicos: primeiro, a funcionalização primária, que estabelece os grupos funcionais reativos de base; e, posteriormente, a funcionalização secundária, que utiliza esses grupos como âncoras para conjugação com moléculas de interesse biomédico [20,44]. A Figura 11 resume o processo de engenharia de superfície descrito acima, distinguindo a etapa de funcionalização primária, na qual grupos hidrofílicos, como carboxila, amino e hidroxila, são incorporados à casca do ponto de carbono. A funcionalização primária pode ser definida pela escolha adequada dos precursores na síntese bottom-up ou pela oxidação de estruturas obtidas por rotas top-down. Devido à funcionalização secundária, esses grupos primários servem de ancoradouro para a conjugação, covalente ou não, de moléculas funcionais adicionais, como ligantes de reconhecimento, fármacos e fotossensibilizadores [20,44]. Essa distinção esquemática ajuda a compreender por que a funcionalização superficial não apenas corrige defeitos que favorecem a recombinação não radiativa, mas também abre caminho para a incorporação de funcionalidades biomédicas voltadas à oncológica teranóstica [20].

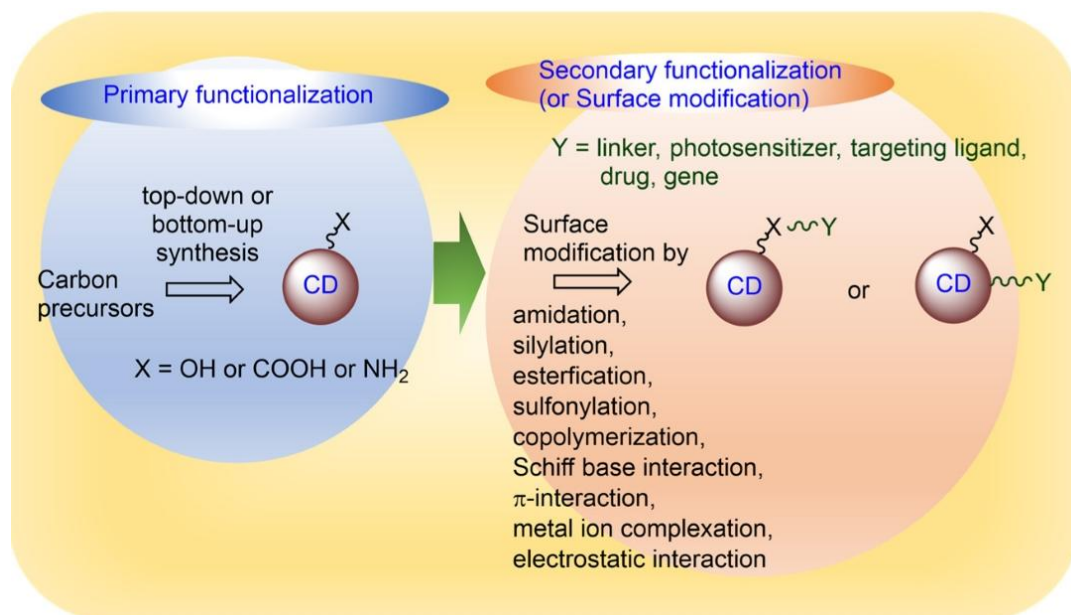


Figura 11 – Etapas de funcionalização da superfície dos pontos de carbono: incorporação de grupos hidrofílicos primários e conjugação secundária com moléculas funcionais. Fonte: Adaptado de Tegafaw et al. (2025) [20].

A funcionalização primária consiste na geração ou preservação de grupos funcionais hidrofílicos na superfície dos CDs, como a carboxila (–COOH), o amino (–NH₂) e a hidroxila

(-OH), que conferem dispersibilidade em meios aquosos e servem de sítios reativos para as estratégias subsequentes [20]. No contexto da síntese verde, esses grupos são obtidos naturalmente pela escolha adequada dos precursores de biomassa, que são fontes ricas em aminoácidos, proteínas e carboidratos, gerando CDs com superfícies funcionalizadas desde a etapa de carbonização hidrotermal, sem necessidade de etapas adicionais de oxidação [7], [20].

Entre as estratégias de funcionalização covalente secundária, a amidação com os reagentes EDC/NHS é a mais empregada na bioconjugação de CDs verdes em aplicações oncológicas [7,20]. O mecanismo envolve a reação da EDC com grupos carboxila da superfície dos CDs para formar um intermediário instável de O-acilisoúrea, imediatamente estabilizado pelo NHS em um éster semi-estável que reage seletivamente com grupos amina de biomoléculas, ligantes direcionados, fotossensibilizadores ou fármacos anticâncer, estabelecendo uma ligação amida estável e covalente [20]. A esterificação, por sua vez, forma ligações éster entre grupos álcool dos CDs e ácidos carboxílicos de moléculas de interesse, sendo essas ligações suscetíveis à hidrólise em pH ácido, condição prevalente no microambiente tumoral ($\text{pH} \approx 5$), o que a torna uma estratégia de funcionalização intrinsecamente responsiva à liberação controlada de fármacos anticâncer no sítio tumoral [20]. A reação de base de Schiff, que liga aminas primárias dos CDs a compostos carbonílicos para formar ligações imina igualmente hidrolisáveis em pH ácido, compartilha essa mesma propriedade de responsividade ao microambiente tumoral, o que possibilita sistemas de entrega de fármacos com liberação seletiva no tecido cancerígeno [20]. A sililação com APTES introduz ligações O-Si covalentes e grupos amina adicionais, ampliando as possibilidades de conjugação, aumentando a biocompatibilidade e a dispersibilidade aquosa dos CDs, sendo especialmente relevante para aplicações em sistemas de entrega direcionada de fármacos que requerem encapsulamento controlado [20].

No plano das estratégias não covalentes, a interação eletrostática entre CDs carregados positivamente e ácidos nucleicos carregados negativamente, como DNA plasmidial ou RNA de interferência, fundamenta as aplicações de terapia gênica, nas quais os CDs atuam simultaneamente como carreadores de material genético e como sondas de bioimagem para o monitoramento da transfecção [20]. A complexação de íons metálicos por ligações de coordenação com grupos carboxila e amina superficiais permite a formação de complexos metal-CD com propriedades ópticas e magnéticas modificadas: a coordenação de íons Gd^{3+} , por exemplo, habilita o material para imagem multimodal por fluorescência e ressonância

magnética simultâneas, constituindo uma plataforma diagnóstica de elevada resolução espacial e sensibilidade funcional [7,20].

A funcionalização polimérica com PEG e PEI representa uma etapa crítica para a viabilização clínica dos CDs verdes: CDs PEGilados demonstraram ausência de efeitos tóxicos em ensaios *in vivo* em camundongos após 28 dias de tratamento, e sua biocompatibilidade, em concentrações muito superiores às necessárias para bioimagem celular, foi documentada em múltiplos estudos [27]. A funcionalização com PEI, cujas cargas catiônicas intensificam a interação com membranas celulares carregadas negativamente, manteve a viabilidade dos fibroblastos acima de 80% até a concentração de 1000 µg/mL, o que constitui um limiar de segurança relevante para a segurança radiológica e biológica das nanopartículas em aplicações clínicas [7].

O nível mais avançado da funcionalização superficial, e de maior relevância para o tema deste trabalho, é a bioconjugação com ligantes direcionados que conferem aos CDs verdes a capacidade de reconhecimento molecular específico de células cancerígenas [1,27]. CDs conjugados com ácido fólico reconhecem o receptor de folato superexpresso em diversas linhagens tumorais, desencadeando endocitose mediada por receptor, com entrega intratumoral seletiva e redução dos efeitos fora do alvo, o que é um requisito fundamental para a segurança radiológica e biológica dos sistemas teranósticos [7,27]. O aptâmero AS1411, um oligonucleotídeo que se liga à nucleolina, proteína superexpressa na superfície de células cancerígenas, quando conjugado a CDs dopados com gadolínio, demonstrou amplificação significativa do sinal em imagens de ressonância magnética em células de adenocarcinoma, integrando diagnóstico de alta sensibilidade e especificidade em uma única nanopartícula [7]. Peptídeos iRGD conjugados a CDs aumentam ativamente a permeabilidade dos vasos tumorais por meio da interação com integrinas sobreexpressas no endotélio tumoral, potencializando a entrega das nanopartículas ao microambiente tumoral por mecanismo de transporte ativo, fenômeno que será aprofundado no capítulo seguinte, quando discutido em conjunto com o efeito EPR [27].

5.3.4. Caracterização da Engenharia de Superfície

A confirmação efetiva das modificações introduzidas pela dopagem e pela funcionalização em CDs verdes requer técnicas analíticas específicas, complementares às empregadas na

caracterização morfológica descrita no Capítulo 4 [14]. A espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS) é a técnica central para a verificação elementar da dopagem, identificando as ligações C–N, C–S e C–P formadas e revelando as configurações específicas dos heteroátomos incorporados, como piridínico, pirrólico ou grafítico, o que permite correlacionar diretamente a estrutura de dopagem com o comportamento óptico observado [14]. A espectroscopia FTIR mapeia os grupos funcionais introduzidos pela funcionalização, detectando as vibrações características de ligações de interesse biomédico como C–S, Si–O–Si, P=O e C–N, além de confirmar a formação de amidas, ésteres e iminas resultantes das reações de funcionalização secundária; a dopagem por íons metálicos, contudo, é indetectável por essa técnica, demandando análise complementar por XPS ou espectrometria de massas [14]. A espectroscopia Raman quantifica a razão entre as bandas D ($\approx 1350\text{ cm}^{-1}$) e G ($\approx 1600\text{ cm}^{-1}$), denominada razão D/G, em que valores mais elevados indicam maior densidade de defeitos estruturais introduzidos pela dopagem, informação relevante para correlacionar o grau de modificação da rede com o FQY obtido [14]. O potencial zeta avalia a carga superficial líquida resultante da funcionalização, sendo essencial para verificar se a modificação conferiu aos CDs a estabilidade coloidal necessária à sua dispersão em fluidos biológicos e às interações eletrostáticas pretendidas com membranas celulares [14]. O espalhamento dinâmico da luz (DLS), por fim, mede o diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas em solução, fornecendo informações sobre a extensão das camadas de funcionalização depositadas na superfície e sobre a tendência à agregação, parâmetro diretamente associado à farmacocinética de eliminação renal dos CDs, tema que será abordado no Capítulo 7 [14].

6. A PLATAFORMA TERANÓSTICA

A Figura 12 apresenta uma visão integrada das principais aplicações teranósticas dos CDs [45]. A multifuncionalidade dessas nanopartículas permite combinar bioimagem, entrega direcionada de fármacos e diferentes modalidades terapêuticas em uma única plataforma, possibilitando o monitoramento do tratamento em tempo real. Essa integração constitui um dos principais fundamentos para o emprego dos CDs verdes como nanoagentes teranósticos em oncologia e complementa os mecanismos de direcionamento passivo discutidos neste capítulo [45].

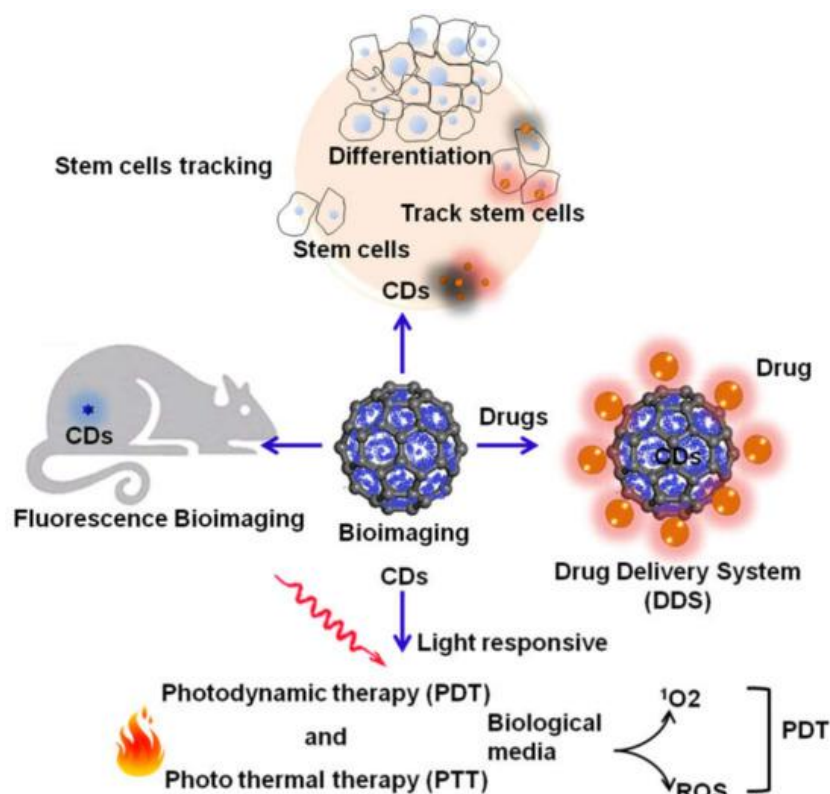


Figura 12 – Principais aplicações teranósticas dos CDs em plataformas oncológicas. Representação esquemática das aplicações multifuncionais dos CDs, integrando bioimagem fluorescente, entrega de fármacos, terapia fotodinâmica (PDT), terapia fototérmica (PTT), terapia gênica e monitoramento terapêutico. A combinação dessas funções em uma única nanopartícula caracteriza o conceito de teranóstica, permitindo o diagnóstico e o tratamento de forma integrada. Fonte: Adrita *et al.* (2020) [45].

6.1 Aplicações em Bioimagem e Diagnóstico de Alta Resolução

A bioimagem é uma técnica que permite visualizar diretamente eventos biológicos em tempo real e de forma não invasiva, por meio de sondas fluorescentes e detectores ópticos. Dentre as modalidades de bioimagem disponíveis, como PET, imagem ultrassônica, TC, RM e imagem óptica, a imagem por fluorescência ganhou destaque por ser de fácil execução, acessível, altamente sensível e capaz de gerar fotografias de alta resolução de estruturas celulares e processos intracelulares, com fotobranqueamento e citotoxicidade mínimos [31,33]. No entanto, os fluoróforos convencionais, como os pontos quânticos à base de cádmio e os corantes orgânicos, apresentam preocupações quanto à toxicidade ou ao baixo desempenho de fluorescência, o que impulsionou o desenvolvimento dos pontos de carbono de síntese verde (CDs verdes) como sondas fluorescentes de próxima geração [1,33,45].

Os CDs verdes se destacam para aplicações em bioimagem devido às suas propriedades de fotoluminescência relativamente alta, resistência ao fotobranqueamento superior à dos corantes orgânicos, excelente biocompatibilidade, baixa citotoxicidade, emissão multicolorida ajustável por meio de um único comprimento de onda de excitação, tamanho nanométrico favorável à penetração celular e à eliminação renal, além de grupos funcionais superficiais que permitem funcionalização direcionada a estruturas tumorais específicas [11,31,33]. Os CDs apresentam maior durabilidade luminescente sob exposição ao laser, em comparação aos corantes convencionais, que sofrem degradação progressiva da fluorescência, enquanto os CDs mantêm o sinal relativamente estável, o que representa uma vantagem crítica em ensaios de longa duração [11]. Um exemplo representativo do potencial dos pontos de carbono para bioimagem in vivo de alta resolução é o estudo de Bao et al. [46], no qual pontos de carbono quânticos com emissão no infravermelho próximo (NIR) foram administrados por via intravenosa em camundongos portadores de tumores H22 [46,47]. A escolha dos fluoróforos emissores nessa faixa espectral, situada entre 650 e 900 nm, conhecida como janela óptica biológica, reduz a absorção e o espalhamento da luz pelos cromóforos teciduais, como a hemoglobina e a água, permitindo maior profundidade de penetração do sinal e melhor discriminação entre a fluorescência da sonda e a autofluorescência de fundo dos tecidos [47]. Esse comportamento também foi demonstrado por Tao et al. [48], cujos pontos de carbono derivados de nanotubos de carbono, ao serem rastreados por imagem de fluorescência in vivo, acumularam-se inicialmente no fígado e no baço e, em seguida, foram captados de forma expressiva pelos rins, evidenciando a passagem das partículas pelo glomérulo renal e sua eliminação final pela urina e pelas fezes [47,48]. No caso dos pontos de carbono emissores no NIR, a fluorescência de corpo inteiro progrediu de forma sistêmica logo após a injeção e, poucas horas depois, o sinal de fundo já havia diminuído o suficiente para que a região tumoral se destacasse nitidamente do tecido circundante, revelando o acúmulo preferencial das nanopartículas no sítio neoplásico (Figura 13) [46, 47].

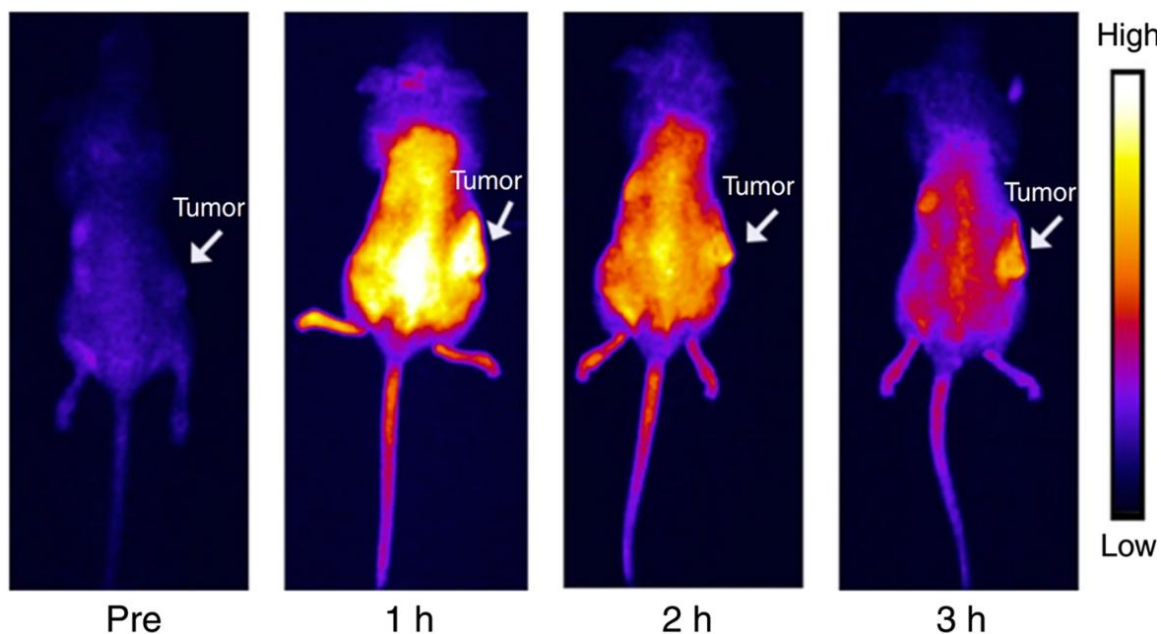


Figura 13 – Imagens de fluorescência no infravermelho próximo (NIR) do corpo inteiro de camundongos, obtidas em diferentes intervalos de tempo após a administração intravenosa de pontos de carbono, evidenciando a biodistribuição sistêmica e o acúmulo progressivo no sítio tumoral. Fonte: Bao et al. (2018) [46].

Nos instantes iniciais após a administração intravenosa, o sinal fluorescente dos pontos de carbono se espalhou por todo o corpo do animal, refletindo sua distribuição sistêmica no sangue. Com o decorrer do tempo, essa fluorescência de fundo foi sendo progressivamente depurada dos tecidos saudáveis, de modo que, cerca de três horas após a injeção, o sinal difuso já havia diminuído sensivelmente. Foi nesse intervalo que a região tumoral passou a se sobressair com nitidez em relação ao restante do corpo, uma vez que as nanopartículas permaneceram retidas preferencialmente no sítio neoplásico enquanto o sinal circulante já se dissipava, comportamento condizente com o acúmulo seletivo de nanomateriais em tecidos tumorais [46], [47]. Embora o exemplo utilize pontos de carbono obtidos por síntese solvotérmica convencional, e não por rota verde, o comportamento óptico e farmacocinético observado ilustra bem os princípios gerais de bioimagem NIR e de depuração renal, que também se aplicam, possivelmente, aos CDs verdes discutidos neste trabalho.

6.1.1 Mecanismos de Internalização Celular e Distribuição em Organelas

A internalização celular é o processo pelo qual os CDs atravessam a membrana plasmática e penetram no interior das células. Os CDs entram predominantemente por endocitose, processo

ativo, dependente de energia e temperatura, e por vias complementares, como a macropinocitose, a endocitose mediada por clatrina, a endocitose mediada por caveolae e a endocitose mediada por balsas lipídicas [33]. Uma vez no interior celular, os CDs se distribuem seletivamente entre organelas, como mitocôndrias, lisossomos, retículo endoplasmático, aparato de Golgi e nucléolo, dependendo das características superficiais e do tipo celular [2], [33]. A imagem de organelas tem valor expressivo em diagnóstico, sendo que disfunções mitocondriais e nucleolares estão associadas ao câncer, à doença de Alzheimer, à doença de Parkinson, ao diabetes e à disfunção cardíaca [33]. Essa distribuição intracelular não ocorre exclusivamente em função do tamanho da nanopartícula, mas também está relacionada à presença de grupos funcionais específicos, de heteroátomos incorporados à estrutura carbonácea e de modificações superficiais introduzidas durante a síntese. Dessa forma, a engenharia da superfície dos CDs constitui uma estratégia importante para controlar sua localização intracelular e direcionar aplicações específicas em diagnóstico e terapia [20,49].

A capacidade de direcionamento subcelular é de grande relevância para aplicações biomédicas, uma vez que alterações funcionais em determinadas organelas estão associadas a diversas doenças. A mitocôndria, por exemplo, desempenha papel central em processos relacionados ao metabolismo energético, à apoptose e à produção de espécies reativas de oxigênio, enquanto alterações nucleares e nucleolares estão associadas à proliferação celular desregulada, incluindo mecanismos envolvidos no desenvolvimento tumoral. Assim, CDs capazes de realizar marcação seletiva de organelas podem fornecer informações relevantes para a investigação de mecanismos patológicos e para o desenvolvimento de estratégias diagnósticas mais precisas [33,47].

Os CDs verdes apresentam vantagens adicionais no contexto celular e/ou organelas devido à possibilidade de obtenção a partir de precursores renováveis que contêm grupos funcionais naturais, como compostos fenólicos, aminoácidos, açúcares e derivados lignocelulósicos. Essas características podem favorecer a elevada hidrofilicidade, a estabilidade coloidal e a biocompatibilidade, além de permitir a modulação da interação com estruturas celulares por meio do controle da composição superficial. Entretanto, diferenças na fonte de carbono e nas condições de síntese podem alterar significativamente a distribuição intracelular dos CDs, tornando essencial a caracterização detalhada de suas propriedades físico-químicas [6,17]. Estudos demonstram que a funcionalização superficial dos CDs influencia diretamente a capacidade de marcação intracelular. CDs verdes sintetizados a partir de m-fenilenodiamina e

L-cisteína apresentaram elevada eficiência para a imagem da nucleolar em células fixadas e vivas, com desempenho superior ao do marcador comercial SYTO RNASelect, evidenciando o potencial desses nanomateriais para aplicações em bioimagem de alta resolução [2]. Além disso, CDs com emissão multicolorida (RGB) demonstraram capacidade de marcação diferencial de compartimentos celulares distintos, mantendo elevada viabilidade celular em células MCF-7 após 24 horas de exposição a concentrações entre 10 e 50 µg/mL, indicando potencial para estudos de dinâmica celular com baixa citotoxicidade [2].

Outro aspecto relevante diz respeito à capacidade de determinados CDs de atravessar barreiras biológicas complexas. Carbon dots nitrogenados obtidos por síntese hidrotermal apresentaram FQY elevado (51%), tamanho aproximado de 2,6 nm e capacidade de penetração nuclear após oito horas de incubação celular. Além disso, esses nanomateriais demonstraram atravessar modelos in vitro da barreira hematoencefálica, um comportamento atribuído à combinação entre o tamanho reduzido e as características superficiais catiônicas, o que indica potencial de aplicação em sistemas de diagnóstico e monitoramento de tumores cerebrais [38].

Apesar das vantagens observadas, a internalização celular excessiva ou a permanência prolongada em determinadas organelas pode influenciar a resposta biológica dos CDs. A interação com mitocôndrias, por exemplo, pode alterar o equilíbrio oxidativo celular, dependendo da concentração e da composição superficial das nanopartículas. Dessa forma, a avaliação da localização intracelular, da citotoxicidade e dos mecanismos de eliminação torna-se essencial para o desenvolvimento de CDs, obtidos por síntese verde, seguros para aplicações biomédicas [20,49]. Assim, a compreensão dos mecanismos de internalização e distribuição intracelular dos CDs verdes permite otimizar sua funcionalização superficial e direcionamento biológico, favorecendo o desenvolvimento de plataformas mais eficientes para bioimagem, diagnóstico precoce e terapias personalizadas.

6.1.2 Biodistribuição, Eliminação e Influência da Carga Superficial

A biodistribuição representa o conjunto de processos que determinam a localização dos CDs nos diferentes órgãos e tecidos após sua administração, enquanto a eliminação corresponde aos mecanismos responsáveis pela remoção dessas nanopartículas do organismo. Esses parâmetros são fundamentais para aplicações biomédicas, especialmente em sistemas de bioimagem e teranósticos, pois o desempenho do nanomaterial depende da capacidade de alcançar o tecido de interesse, permanecer por tempo suficiente para produzir o sinal desejado e ser

posteriormente eliminado de forma segura, evitando bioacumulação e efeitos adversos prolongados [47,49].

O comportamento farmacocinético dos CDs é diretamente influenciado por suas propriedades físico-químicas, incluindo o tamanho hidrodinâmico, a composição elementar, o grau de funcionalização superficial e a carga elétrica. Nos CDs verdes, essas características são fortemente determinadas pelo precursor renovável utilizado e pelas condições de síntese, uma vez que compostos naturais provenientes de biomassa podem originar superfícies enriquecidas com grupos contendo oxigênio, nitrogênio ou outros heteroátomos. Essas funcionalidades controlam a interação das nanopartículas com proteínas plasmáticas, membranas celulares e componentes do sistema imunológico, modificando sua distribuição no organismo [6,17,27].

A carga superficial, frequentemente avaliada pelo potencial zeta, é um dos principais fatores responsáveis pela interação biológica dos CDs. Nanopartículas com elevada carga positiva apresentam maior interação eletrostática com membranas celulares negativamente carregadas, favorecendo sua internalização; entretanto, essa mesma característica pode aumentar a adsorção de proteínas plasmáticas e promover maior reconhecimento pelo sistema fagocítico mononuclear, resultando em maior retenção em órgãos como o fígado e o baço. Em contraste, CDs com superfícies neutras ou próximas à neutralidade tendem a apresentar menor interação inespecífica com componentes biológicos, favorecendo maior tempo de circulação e maior probabilidade de eliminação renal eficiente [20,49].

Estudos de biodistribuição com técnicas avançadas de imagem, como a fluorescência no infravermelho próximo (NIRF), demonstraram que os CDs apresentam padrões de distribuição distintos, dependendo de suas propriedades superficiais. CDs fluorescentes administrados em modelos animais foram detectados inicialmente na circulação e posteriormente distribuídos principalmente em órgãos associados ao metabolismo e eliminação, incluindo fígado, rins e intestino. A intensidade e duração desses sinais dependeram da composição superficial das nanopartículas, evidenciando a importância da engenharia de superfície para controlar o destino biológico dos CDs [48]. Além disso, estudos que utilizaram sistemas de imagem in vivo demonstraram o potencial dos CDs para aplicações no direcionamento tumoral [48]. Bao et al. (2018) [46] observaram que CDs emissores no infravermelho próximo apresentaram acúmulo tumoral após administração intravenosa, associado ao aumento da permeabilidade e retenção (EPR), o que permite o acompanhamento por imagem e a aplicação fototérmica simultâneos.

Após o desempenho da função terapêutica, essas nanopartículas apresentaram redução progressiva do sinal nos órgãos, indicando processos de eliminação e baixa retenção sistêmica prolongada [46].

A eliminação dos CDs está relacionada principalmente à capacidade de filtração renal, processo favorecido por partículas de pequeno tamanho hidrodinâmico e elevada dispersibilidade em meio aquoso. Nanopartículas de dimensões reduzidas podem ser excretadas pela urina, reduzindo o risco de acúmulo persistente nos tecidos. Entretanto, modificações superficiais que aumentam excessivamente a interação com proteínas ou promovem agregação podem alterar esse comportamento, favorecendo retenção em órgãos do sistema reticuloendotelial e aumentando a necessidade de avaliação toxicológica detalhada [48,49]. Embora os CDs verdes sejam frequentemente associados à maior biocompatibilidade devido à utilização de fontes renováveis e ausência de metais pesados em sua composição, sua segurança depende das características finais da nanopartícula. A presença de grupos amina em elevada concentração, por exemplo, pode modificar a interação celular e aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), enquanto processos inadequados de purificação podem deixar resíduos da síntese, incluindo moléculas orgânicas, agentes passivantes ou outros contaminantes capazes de interferir na resposta biológica [17,20]. Nesse contexto, a otimização da superfície dos CDs verdes torna-se uma etapa essencial para o desenvolvimento de plataformas biomédicas seguras e eficientes. A obtenção de nanopartículas com tamanho adequado, elevada estabilidade coloidal, superfície hidrofílica e carga controlada permite equilibrar propriedades fundamentais como capacidade de bioimagem, direcionamento tecidual, baixa toxicidade e eliminação eficiente. Dessa forma, o controle da química superficial representa uma estratégia determinante para aproximar os CDs verdes de aplicações clínicas em diagnóstico e terapias personalizadas [6,27,49].

6.1.3 Estratégias de Bioimagem Direcionada a Tumores

A bioimagem direcionada a tumores compreende estratégias destinadas a aumentar a seletividade das sondas de imagem para o tecido neoplásico, permitindo maior contraste entre regiões tumorais e tecidos saudáveis. Esse direcionamento é essencial para o diagnóstico precoce, o monitoramento da progressão tumoral e a avaliação da resposta terapêutica, pois reduz sinais inespecíficos e melhora a resolução das imagens. Nesse contexto, os CDs, especialmente os CDs verdes, apresentam vantagens devido às suas propriedades ópticas

ajustáveis, elevada estabilidade fotoquímica, biocompatibilidade e possibilidade de modificação superficial para reconhecimento específico de células tumorais [2,4,46,47].

A capacidade dos CDs verdes de atuar como agentes de bioimagem tumoral está diretamente relacionada à engenharia de suas superfícies. A incorporação de grupos funcionais contendo oxigênio, nitrogênio ou moléculas biologicamente ativas permite modificar a interação das nanopartículas com componentes celulares, aumentando sua retenção em determinados tecidos ou favorecendo o reconhecimento de estruturas específicas associadas ao câncer. Dessa forma, a escolha do precursor verde e das condições de síntese torna-se determinante para a obtenção de nanopartículas com propriedades adequadas de emissão, estabilidade e direcionamento biológico [6,17,27,46].

Atualmente, quatro estratégias principais são exploradas para direcionamento tumoral utilizando CDs: acumulação passiva, baseada no aumento da permeabilidade e da retenção (EPR); resposta ao microambiente tumoral; direcionamento ativo mediado por ligantes específicos; e reconhecimento intrínseco proporcionado pelas características superficiais da própria nanopartícula [4,5,46].

A estratégia de direcionamento passivo baseia-se no efeito EPR, fenômeno associado às alterações estruturais da vasculatura tumoral, caracterizada por maior permeabilidade vascular e por deficiência na drenagem linfática. Essas características permitem que nanopartículas com tamanho e propriedades adequadas atravessem os vasos sanguíneos tumorais e permaneçam acumuladas no tecido neoplásico. Embora o efeito EPR seja amplamente explorado em sistemas nanométricos, sua eficiência depende de fatores como o tamanho da partícula, a circulação sanguínea, a heterogeneidade tumoral e as características do microambiente [8,50,51]. Em CDs, o tamanho reduzido e a emissão no infravermelho próximo favorecem aplicações de imagem in vivo com menor interferência dos tecidos superficiais [46,48].

Outra estratégia envolve o desenvolvimento de CDs sensíveis às características específicas do microambiente tumoral. Os tumores apresentam características distintas em relação aos tecidos normais, incluindo redução do pH extracelular, maior concentração de espécies reativas de oxigênio (ROS), alterações metabólicas e a presença de enzimas específicas. A funcionalização dos CDs com grupos sensíveis a essas condições permite modificar sua fluorescência ou comportamento biológico em resposta ao ambiente tumoral, aumentando a especificidade do sinal de imagem [4,5,46,49].

O direcionamento ativo representa uma abordagem mais seletiva, baseada na conjugação de CDs a moléculas capazes de reconhecer biomarcadores superexpressos em células tumorais. Entre os ligantes utilizados encontram-se ácido fólico, anticorpos, peptídeos e outras moléculas de reconhecimento celular. Esses sistemas exploram diferenças moleculares entre células tumorais e normais, aumentando a internalização dos CDs em populações celulares específicas. A funcionalização com ácido fólico, por exemplo, tem sido explorada devido à elevada expressão de receptores de folato em determinados tipos de câncer, o que permite maior seletividade em processos de imagem celular [25,46,52].

Além do direcionamento mediado por moléculas externas, alguns CDs apresentam capacidade intrínseca de reconhecimento decorrente de sua composição superficial. Grupos funcionais derivados dos precursores utilizados na síntese verde podem favorecer interações específicas com células tumorais, alterando a internalização ou retenção intracelular. Esse comportamento é particularmente interessante nos GCDs obtidos a partir de moléculas biologicamente ativas, nas quais compostos provenientes da biomassa podem conferir propriedades adicionais de reconhecimento ou de atividade biológica [6,17]. Um exemplo relevante, apresentado por Bao et al. (2018) [46], que desenvolveram CDs emissores no infravermelho próximo para aplicações teranósticas, combinando acompanhamento por fluorescência in vivo e terapia fototérmica após administração intravenosa. Os autores observaram acúmulo dessas nanopartículas no tecido tumoral por meio de direcionamento passivo, associado ao efeito de permeabilidade e retenção aumentadas (EPR), demonstrando a possibilidade de utilização dos CDs como plataformas integradas de diagnóstico e tratamento [46].

Apesar dos avanços, a tradução clínica dos CDs verdes direcionados a tumores ainda depende da otimização de fatores como a estabilidade em condições fisiológicas, o controle da biodistribuição, a redução da captação inespecífica e a avaliação completa da toxicidade. Assim, a combinação entre síntese verde, funcionalização superficial e estratégias de direcionamento representa uma abordagem promissora para o desenvolvimento de agentes de bioimagem tumoral mais seguros, sustentáveis e eficientes [4,27,49].

6.1.4 Janelas Terapêuticas NIR I e NIR II em Bioimagem

As regiões espectrais do infravermelho próximo (NIR) têm recebido grande atenção em aplicações biomédicas devido às vantagens decorrentes da menor interação da luz com os

tecidos biológicos. Essas regiões são geralmente divididas em primeira janela do infravermelho próximo (NIR-I, aproximadamente 650–950 nm) e segunda janela do infravermelho próximo (NIR-II, aproximadamente 1000–1700 nm), sendo consideradas faixas promissoras para bioimagem devido à menor dispersão da luz, menor absorção por componentes biológicos e redução da autofluorescência de fundo em comparação aos métodos baseados na região UV-visível [20,36]. Em contraste, técnicas convencionais fundamentadas na região UV-visível apresentam maior interferência decorrente da absorção e do espalhamento da luz pelos tecidos, limitando, em geral, a profundidade de penetração a aproximadamente 1–3 mm, enquanto as regiões do NIR permitem a obtenção de imagens em maiores profundidades e com melhor relação sinal/ruído [20,36].

A utilização de sondas fluorescentes emissoras nessas regiões permite maior profundidade de penetração da radiação nos tecidos, o que melhora o contraste e a resolução das imagens obtidas. Enquanto técnicas convencionais baseadas em emissão UV-visível apresentam limitações devido à intensa absorção e ao espalhamento da luz pelos tecidos, especialmente em aplicações *in vivo*, a fluorescência NIR apresenta menor interferência do meio biológico e possibilita a visualização de estruturas mais profundas. Estudos relatam que imagens com fluorescência NIR podem atingir profundidades superiores às das técnicas convencionais, com valores de aproximadamente 5–7 mm, podendo alcançar cerca de 8,5 mm em determinados modelos experimentais e até 20 mm em tecidos de peito de galinha, demonstrando o potencial dessas janelas espectrais para aplicações biomédicas avançadas [20]. Os CDs, especialmente os modificados por dopagem com heteroátomos, apresentam características favoráveis à exploração dessas regiões espectrais, devido à possibilidade de ajustar suas propriedades ópticas durante a síntese. A incorporação de elementos como nitrogênio e enxofre pode alterar a estrutura eletrônica da nanopartícula, favorecendo deslocamentos de emissão para regiões de maior comprimento de onda e ampliando sua aplicabilidade em sistemas de imagem *in vivo* [36,38]. Por outro lado, os CDs dopados com S, N (S,N-CDs) foram reportados sua absorção e emissão na região do infravermelho próximo, associada a propriedades adequadas para bioimagem, incluindo distribuição biológica favorável, acúmulo tumoral e eliminação renal. Essas características evidenciam a importância da modificação química da superfície e da estrutura eletrônica dos CDs para obtenção de sondas com desempenho aprimorado em ambientes biológicos [36].

No contexto dos CDs verdes, a utilização de precursores naturais representa uma alternativa sustentável para a obtenção de nanopartículas emissoras no NIR. Compostos derivados de biomassa podem fornecer heteroátomos e grupos funcionais capazes de modificar as propriedades ópticas dos CDs, permitindo o desenvolvimento de materiais com emissão ajustável e potencial de aplicação em diagnóstico e terapia. Por exemplo, os CDs obtidos a partir de melancia são reportados como apresentando emissão na região NIR-II, entre 900 e 1200 nm, e FQY de 0,4%, elevada eficiência de conversão fototérmica sob excitação a 808 nm e rápida eliminação renal, demonstrando o potencial dessas nanopartículas sustentáveis para aplicações teranósticas [31,36].

Além da fluorescência convencional, os CDs também podem ser empregados em técnicas híbridas de imagem, como a imagem fotoacústica (PA). Essa modalidade combina as vantagens da absorção óptica com a detecção acústica, na qual a energia luminosa absorvida pelo agente de contraste é convertida em ondas ultrassônicas por meio de expansão termoelástica. Como resultado, a imagem fotoacústica apresenta maior profundidade de penetração e resolução espacial em comparação à fluorescência tradicional, sendo particularmente interessante para o acompanhamento de tecidos profundos e de estruturas tumorais [36,38]. Diversos estudos relatam a aplicação de CDs em sistemas fotoacústicos e fototérmicos. Por exemplo, N-CDs foram utilizados para a visualização de linfonodos sentinelas em tempo real, enquanto S, N-CDs foram empregados em estratégias que combinam imagem fotoacústica e terapia fototérmica *in vivo*, evidenciando a capacidade dessas nanopartículas de atuar simultaneamente como agentes diagnósticos e terapêuticos [36,38]. Essas aplicações reforçam o conceito de plataformas teranósticas, nas quais um único nanomaterial integra detecção, monitoramento e tratamento.

Nanopartículas de carbono nitrogenadas com elevada capacidade de absorção de dois fótons apresentaram seção transversal de absorção de aproximadamente 61.200 GM e rendimento quântico de 63%, permitindo a visualização de células vivas e de tecidos hepáticos em profundidades de até 440 μm [38,45]. Esses resultados demonstram o potencial dos CDs como sondas fluorescentes avançadas para microscopia multifotônica e destacam o papel da engenharia estrutural na obtenção de propriedades ópticas superiores em materiais de carbono sem metais [38,45]. Apesar dos avanços, o desenvolvimento de CDs verdes para aplicações nas regiões NIR-I e NIR-II ainda depende do equilíbrio entre propriedades ópticas, estabilidade fisiológica, biocompatibilidade e eliminação eficiente. Dessa forma, estratégias de síntese verde

associadas à dopagem, à funcionalização superficial e ao controle estrutural representam caminhos promissores para produzir agentes de imagem mais seguros, sustentáveis e adequados para aplicações clínicas futuras [6,17,27].

6.2 Mecanismos Terapêuticos Celulares

As mesmas propriedades ópticas que habilitam a bioimagem, via absorção de NIR, geração de ROS sob irradiação e conversão fototérmica eficiente, fundamentam as estratégias terapêuticas dos CDs verdes, em terapia fotodinâmica (PDT) e terapia fototérmica (PTT), entrega direcionada de fármacos e terapia gênica, combinadas em sistemas teranósticos multimodais [4,16,31,33].

6.2.1 Terapia Fotodinâmica (PDT)

A PDT é uma modalidade terapêutica não invasiva que utiliza três componentes indispensáveis: fotossensibilizante, luz de comprimento de onda específico e oxigênio molecular. O fotossensibilizante absorve a energia luminosa e a transfere para moléculas de oxigênio próximas, gerando ROS — $\bullet\text{OH}$, $\text{O}_2^{\bullet-}$ e $^1\text{O}_2$ — que induzem danos oxidativos e morte das células tumorais por apoptose ou necrose [31,53].

O mecanismo geral da terapia fotodinâmica mediada por CDs envolve a ativação das nanopartículas por uma fonte luminosa adequada, promovendo a transferência de energia ou de elétrons para as moléculas do microambiente celular. Esse processo resulta na formação de espécies reativas de oxigênio, responsáveis pelo estresse oxidativo e pelos danos a componentes celulares essenciais, culminando na morte das células tumorais. A representação esquemática desse processo é apresentada na Figura 14 [2].

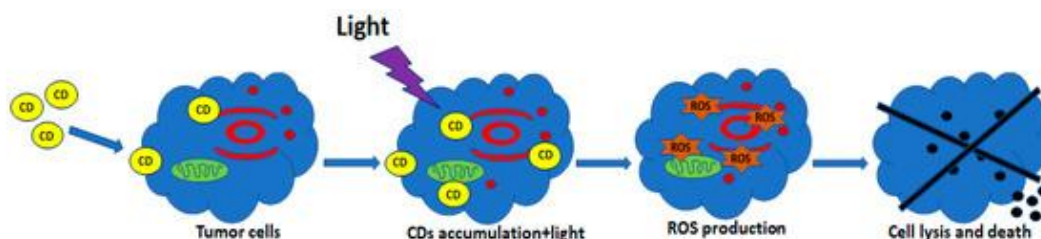


Figura 14 – Representação esquemática do mecanismo de terapia fotodinâmica mediada por CDs. A ativação dos CDs pela irradiação luminosa promove a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), responsáveis pela indução de estresse oxidativo e de danos celulares, o que contribui para a eliminação de células tumorais. Fonte: Adaptado de Nocito et al. (2021) [2].

Dois mecanismos fotoquímicos operam na PDT, o Tipo I (transferência de elétrons, gerando radicais) e o Tipo II (predominantemente transferência de energia ao O₂ molecular, produzindo ¹O₂) [14,31,53]. Os fotossensibilizantes evoluíram em três gerações históricas, primeira (porfirinas, baixa seletividade), segunda (clorinas e ftalocianinas, maior especificidade) e terceira (conjugação com nanopartículas e anticorpos, maior precisão), categoria na qual os CDs verdes se inserem plenamente [53].

Os CDs verdes atuam como fotossensibilizantes autônomos, como nanoportadores de fotossensibilizantes hidrofóbicos convencionais ou como doadores de energia por meio de FRET [3]. Cu-CDs demonstraram FQY de ¹O₂ de 36% em neuroblastoma e câncer cervical, tanto in vitro quanto in vivo [31]. TPP-CDs alcançaram inibição tumoral de 82,87% versus 52,74% da TPP livre em hepatocarcinoma H22 [20]. R-CDs codopados com N e P reduziram significativamente o volume tumoral in vivo em carcinoma pulmonar A549 [3], [20]. A PDT ativa mecanismos imunológicos, em que o estresse oxidativo induzido por ROS provoca a liberação de DAMPs (HMGB1, ATP, proteínas de choque térmico), ativando PRRs/TLRs, recrutando células imunes e estimulando a produção de IL-1, IL-6 e TNF- α para a eliminação de células tumorais residuais [53]. Ce6-RCDs desencadearam morte celular imunogênica, com elevação de CD80, CD86 e aumento de NK, CD4+ e CD8+ [21]. A hipóxia tumoral é a principal limitação da PDT. CDs com C₃N₄ promovem a fotólise da água, elevando a concentração de O₂ intratumoral e revertendo a resistência hipóxica [33,53]. Mn-CDs com atividade catalítica decompõem H₂O₂ tumoral em O₂ in situ, o que amplifica a geração de ROS [53].

6.2.2 Terapia Fototérmica (PTT)

A terapia fototérmica (PTT) é uma modalidade terapêutica minimamente invasiva baseada na conversão de energia luminosa, especialmente na região do infravermelho próximo (NIR), em energia térmica localizada por meio de agentes fototérmicos. Após a absorção da radiação incidente, esses materiais convertem a energia dos fótons em calor por meio de processos de relaxação não radiativa, elevando a temperatura no microambiente tumoral. Quando a temperatura ultrapassa aproximadamente 42 °C, ocorre comprometimento da viabilidade celular devido à desnaturação de proteínas, à alteração da fluidez das membranas lipídicas, a danos mitocondriais, com redução da produção de ATP, e à ativação de mecanismos associados à resposta ao choque térmico celular [4,31,53]. A eficiência dessa estratégia é determinada

principalmente pela eficiência de conversão fototérmica (PCE ou PCT), parâmetro que representa a capacidade do nanomaterial de transformar a energia luminosa absorvida em calor. Valores elevados de PCT indicam maior aproveitamento da radiação incidente e, conseqüentemente, maior potencial terapêutico com menores doses de material e menor intensidade de irradiação, sendo um parâmetro fundamental para avaliação de agentes fototérmicos destinados à aplicação biomédica [4].

Os CDs verdes apresentam características favoráveis para aplicações em PTT devido à presença de domínios conjugados sp^2 , estados superficiais ajustáveis e à possibilidade de dopagem com heteroátomos, propriedades que favorecem processos de relaxação não radiativa e a dissipação eficiente da energia absorvida na forma de calor. Diferentemente de nanomateriais metálicos tradicionalmente utilizados em PTT, os CDs verdes apresentam vantagens, como maior biocompatibilidade, menor risco associado à acumulação de metais pesados e a possibilidade de obtenção por rotas sustentáveis, utilizando precursores renováveis [20,31]. A capacidade fototérmica dos CDs foi inicialmente explorada em sistemas híbridos, como CDs incorporados em matrizes porosas de carbono contendo Fe_2O_3 , o que permite a integração de múltiplas funções, incluindo ressonância magnética (MRI), bioimagem fluorescente, carregamento de fármacos e conversão fototérmica simultânea [9]. Esses sistemas demonstraram o potencial dos CDs como plataformas multifuncionais capazes de integrar diagnóstico e tratamento em uma única nanopartícula.

Diversos estudos demonstram a eficiência dos CDs e dos CDs modificados em aplicações fototérmicas. CDs verdes derivados de politiofeno apresentaram eficiência de conversão fototérmica de 78% sob irradiação a 808 nm, valor superior ao observado para nanopartículas de ouro, o que permite aplicações simultâneas de diagnóstico e terapia em modelos animais [4]. N-O-CDs demonstraram capacidade de promover a destruição tumoral completa em modelos in vivo, sem causar danos significativos às células saudáveis adjacentes, evidenciando sua seletividade terapêutica [31]. Em outro estudo, CDs dopados com N (N-CDs), administrados por via intratumoral em um modelo de células HepG2, elevaram a temperatura de 27 °C para 50 °C após a irradiação, resultando no desaparecimento completo do tumor, confirmado por análises histológicas [38].

Além disso, modificações superficiais podem melhorar o desempenho fototérmico e biológico dos CDs. Nanopartículas de carbono funcionalizadas com PEG800 apresentaram eficiência de

conversão fototérmica de 38,7% e promoveram aproximadamente 91% de inibição tumoral, o que se deveu à modificação superficial com polietilenoglicol (PEG), que contribuiu para o aumento da estabilidade coloidal e da biocompatibilidade, bem como para a alteração das propriedades eletrônicas superficiais, favorecendo o deslocamento da absorção para maiores comprimentos de onda e o aumento da conversão térmica por meio da modulação do intervalo energético HOMO-LUMO [9,20]. De forma semelhante, os CDs derivados de *Camellia japonica* dopados com enxofre demonstraram capacidade de promover ablação tumoral completa com baixas potências de laser, reforçando o potencial dos CDs derivados de fontes naturais como agentes fototérmicos eficientes e sustentáveis [9].

6.2.3 Terapia Combinada PDT e PTT

A terapia combinada PDT e PTT apresenta efeito sinérgico devido à atuação complementar de dois mecanismos fototerapêuticos. A PTT promove hipertermia localizada, podendo aumentar a perfusão sanguínea tumoral e favorecer a disponibilidade de oxigênio, o que contribui para maior eficiência da PDT. Em contrapartida, as espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pela PDT podem danificar proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*, HSP), reduzindo a termotolerância celular e aumentando a sensibilidade das células tumorais ao aquecimento induzido pela PTT. A atuação simultânea desses mecanismos promove diferentes vias de morte celular, dificultando o desenvolvimento de resistência terapêutica [4,33]. Por outro lado, os CDs verdes destacam-se como plataformas multifuncionais para essa abordagem, pois podem combinar propriedades fotossensibilizantes e fototérmicas em uma única nanoestrutura, permitindo a geração de ROS e a conversão de energia luminosa em calor simultaneamente [4], [33]. Resultados experimentais demonstram a eficácia dessa estratégia. Ce6-RCDs em modelo murino 4T1 apresentaram crescimento tumoral de aproximadamente 6,5 vezes no grupo tratado apenas com PDT e de 3,5 vezes no grupo tratado apenas com PTT, enquanto a combinação de PDT e PTT reduziu o tumor para aproximadamente 30% do tamanho inicial após 13 dias, com necrose evidente já no terceiro dia [3,20].

Os CDs codopados com S e N (S, N-CDs) aplicados em camundongos com tumores HeLa sob irradiação a 660 nm promoveram ablação tumoral quase completa no grupo combinado, enquanto os grupos tratados apenas com N-CDs ou com laser isolado não apresentaram efeito significativo [20]. Além disso, CDs derivados de *Hypocrella bambusae*, obtidos por síntese

verde, promoveram a inibição completa do crescimento tumoral, sem recidiva até o 14º dia experimental, mantendo o peso corporal dos animais, o que indica baixa biotoxicidade [20]. Sistemas híbridos CD@Hydrogel de ácido hialurônico, desenvolvidos para PDT e PTT simultâneos, também demonstraram efeito inibitório significativo sob laser NIR de 660 nm, sem alterações relevantes no peso corporal [20]. Dessa forma, os CDs verdes representam plataformas promissoras para terapias combinadas contra o câncer, pois associam elevada versatilidade óptica, possibilidade de funcionalização e capacidade de integrar diferentes mecanismos terapêuticos em um único sistema nanométrico.

6.2.4 Entrega Direcionada de Fármacos e Terapia Gênica

A entrega direcionada de fármacos utiliza nanocarreadores capazes de transportar agentes terapêuticos ao tecido tumoral, promovendo liberação controlada no local de ação e aumentando a eficiência terapêutica, enquanto reduz os efeitos adversos associados à quimioterapia convencional [4,31]. Nesse contexto, os CDs verdes apresentam vantagens devido à combinação de capacidade de carregamento molecular, biocompatibilidade e propriedades fluorescentes, que permitem acompanhar, em tempo real, a distribuição e a liberação do fármaco [4,33]. Alguns sistemas baseados em CDs apresentaram elevada capacidade de carregamento, alcançando valores próximos de 96%, sem alterações significativas na morfologia celular ou na indução inflamatória nos modelos avaliados [4]. Diversos estudos demonstram a eficácia dos CDs verdes como plataformas de liberação de fármacos. Por exemplo, CDs derivados de leite associados à doxorubicina (DOX) apresentaram liberação favorecida em meio ácido (pH 5,0), além de localização preferencial no núcleo celular e maior indução de apoptose quando comparados à DOX livre [6], [39]. Sistemas HA-CDs/DOX contendo o ligante pH-sensível p-CBA promoveram inibição tumoral de 78,53% no modelo murino 4T1, superior à observada com DOX livre (57,07%), devido à combinação entre direcionamento ativo mediado pelo receptor CD44 e acumulação passiva pelo efeito EPR [20]. Da mesma forma, CDs emissores na região vermelha, associados à DOX, reduziram a viabilidade das células HeLa para 21%, enquanto a DOX livre apresentou aproximadamente 50% de viabilidade celular na mesma concentração [5].

Além da liberação de fármacos convencionais, os CDs podem atuar como plataformas para pró-fármacos e moléculas bioativas. Sistemas contendo cisplatina (IV) incorporada a polímeros

responsivos ao pH apresentaram conversão da carga terapêutica no microambiente tumoral (pH de aproximadamente 6,8), favorecendo a internalização seletiva e maior eficácia *in vivo*, com redução dos efeitos adversos [4]. CDs verdes derivados de *Aloe vera* apresentaram atividade contra células MCF-7, com IC₅₀ de 52,2 µg/mL, associada à geração intrínseca de ROS, enquanto CDs de quitosano contendo curcumina induziram apoptose em aproximadamente 67% das células MCF-7 em pH 5,4, mantendo baixa toxicidade em células normais [27].

Além da entrega de fármacos, os CDs também têm potencial para terapia gênica. Suas superfícies catiônicas permitem a condensação e a proteção de moléculas de DNA, siRNA e miRNA, facilitando a internalização celular por endocitose e possibilitando o rastreamento fluorescente do processo, constituindo uma alternativa promissora aos sistemas tradicionais de entrega gênica [31,33]. Sistemas CD-PEI demonstraram eficiência de transfecção comparável ou superior à do PEI25k, porém com menor citotoxicidade. Além disso, CD-PEI-siRNA promoveu silenciamento gênico eficiente e inibição do crescimento tumoral *in vivo* em um modelo de câncer de mama, com localização citoplasmática confirmada após 12 horas [2]. Outro exemplo envolve CDs derivados da casca de limão-doce, funcionalizados com PAMAM e RGDS, que permitem o direcionamento ao receptor de integrina $\alpha v \beta 3$, associado ao câncer de mama triplo negativo (TNBC). Esse sistema apresentou propriedades teranósticas, combinando entrega gênica, direcionamento tumoral e resposta fluorescente modulada pela presença de Cu (II) [39].

6.2.5 Terapias Combinadas Emergentes

As terapias combinadas emergentes integram os CDs verdes a modalidades complementares à PDT e à PTT para superar as limitações de cada abordagem e ampliar o espectro de ação sobre o tumor [4]. A combinação de PDT e quimiodinâmica (CDT), que envolve a geração de ROS por meio da reação de Fenton a partir do H₂O₂ endógeno tumoral, eleva os níveis totais de ROS intratumorais para além das capacidades antioxidantes das células cancerígenas [4]. A associação entre PDT e quimioterapia é justificada pela inibição da proteína P-gp, responsável pela resistência a múltiplos fármacos, induzida pelos ROS fotogerados [4].

Sistemas o-MOF@RCDs com anti-PD-L1 demonstraram potencialização simultânea da PDT, CDT e PTT, com inibição de tumores primários e prevenção de metástases distantes em modelos murinos, abrindo perspectivas para a integração dos CDs verdes à imunoterapia

oncológica de próxima geração [53]. A terapia com óxido nítrico (NO), gerado a partir de nitreto de carbono grafitico modificado com poli-L-arginina sob irradiação por laser de 660 nm, induz apoptose de células tumorais sem consumo de O₂, superando especificamente o desafio da hipóxia que limita a PDT convencional [4].

Em síntese, a plataforma teranóstica baseada em CDs verdes integra, em uma única nanopartícula de síntese sustentável a partir de biomassa, capacidades de diagnóstico por fluorescência de alta resolução nas janelas NIR I e II, PDT e PTT, com sinergia comprovada in vivo, entrega direcionada de quimioterápicos e de material genético, com liberação responsiva ao microambiente tumoral. Também apresentam potencial de integração com modalidades imunológicas e quimiodinâmicas emergentes, constituindo uma das ferramentas mais promissoras para a oncologia de precisão em física médica, com potencial de tradução clínica dependente de padronização dos protocolos de síntese, purificação e avaliação de segurança de longo prazo [4,7,27,33,53].

6.3 O Mecanismo de Direcionamento Passivo: Efeito EPR no Microambiente Tumoral.

As estratégias de bioimagem diagnóstica e de terapia fotodinâmica, fototérmica e de entrega de fármacos descritas nos tópicos anteriores dependem de um pressuposto físico fundamental para que funcionem de forma eficaz no tecido cancerígeno: a capacidade das nanopartículas de se acumular preferencialmente no microambiente tumoral, em detrimento dos tecidos saudáveis adjacentes. Esse pressuposto é sustentado pelo efeito de Permeabilidade e Retenção Aprimoradas, do inglês Enhanced Permeability and Retention (EPR), descrito pela primeira vez por Matsumura e Maeda em 1986, ao observarem o acúmulo seletivo de macromoléculas em tecidos tumorais de modelos animais, fenômeno que, desde então, se consolidou como um dos pilares conceituais da nanomedicina oncológica [50,54,55].

6.3.1 Fundamentos Fisiopatológicos do Efeito EPR

O efeito EPR é definido como o acúmulo seletivo e a retenção prolongada de macromoléculas e nanopartículas no interstício de tumores sólidos, resultante de duas características fisiopatológicas distintivas desses tecidos, a hiperpermeabilidade vascular e a drenagem linfática comprometida [50,56]. Para suprir a demanda crescente de oxigênio e nutrientes imposta pelo crescimento tumoral acelerado, as células cancerígenas estimulam a formação de

novos vasos sanguíneos, processo denominado angiogênese tumoral, desencadeada pela superexpressão do VEGF e de outros mediadores pró-angiogênicos, como FGF e TNF- α [55], [56]. Ao contrário dos vasos normais, os vasos tumorais são estruturalmente anômalos, com lúmens irregulares, membranas basais deficientes, escassez de perícitos funcionais e lacunas endoteliais alargadas, com fenestrações variando entre 100 e 780 nm. Em contraste, os poros inferiores a 5 nm nos vasos normais permitem a extravasação de nanopartículas de 10 a 500 nm para o espaço intersticial tumoral [54,55,56].

A manutenção dessa hiperpermeabilidade é mediada por fatores vasculares endógenos produzidos em altas concentrações no tumor. A bradicinina induz a abertura de lacunas endoteliais de 20 nm a 2 μ m por vasodilatação e pela contração do citoesqueleto das células endoteliais, estimulando ainda a síntese de óxido nítrico (NO) [50,56]. O NO, produzido em grandes quantidades pela iNOS em leucócitos infiltrantes, eleva a permeabilidade vascular tumoral; seu derivado peroxinitrito (ONOO⁻) ativa MMPs que degradam componentes da ECM e amplificam o EPR [55,56]. As prostaglandinas E1 e I2 contribuem adicionalmente para a vasodilatação e extravasação por mecanismos análogos [55,56].

O componente de retenção prolongada decorre da ausência de drenagem linfática funcionalmente eficaz nos tumores sólidos. A linfangiogênese induzida por VEGF-C e VEGF-D gera vasos linfáticos estruturalmente comprometidos, incapazes de drenar eficientemente o fluido acumulado [56]. O crescimento tumoral eleva a pressão do fluido intersticial (IFP) para 5 a 40 mmHg, em comparação a 0 a 3 mmHg em tecidos normais, comprimindo mecanicamente os vasos linfáticos e agravando a retenção de macromoléculas extravasadas [50,56]. O fenômeno é demonstrado classicamente pela injeção de corante azul de Evans conjugado à albumina, que se acumula seletivamente no tecido tumoral após 24 horas [54].

6.3.2 Requisitos dos Nanocarriers para Exploração Eficiente do EPR

Para que os CDs verdes explorem efetivamente o EPR, devem satisfazer requisitos físico-químicos rigorosos [51,56]. O tamanho é o parâmetro mais crítico; nanopartículas menores que 6 a 8 nm são eliminadas pelo filtro glomerular renal; maiores que 200 nm são capturadas pelo sistema fagocitário mononuclear no fígado e no baço. A faixa ótima para a exploração do EPR situa-se entre 10 e 200 nm, com estudos indicando que partículas entre 50 e 100 nm alcançam o melhor equilíbrio entre evasão renal, circulação prolongada e extravasamento pela vasculatura

tumoral permeável [51,56]. Os CDs verdes, com diâmetros típicos de 2 a 10 nm, situam-se na faixa inferior; sua funcionalização com PEG eleva o diâmetro hidrodinâmico efetivo e prolonga o tempo de circulação, ampliando a janela temporal para acúmulo tumoral mediado por EPR [56].

A carga superficial influencia decisivamente o tempo de circulação e a biodistribuição: nanopartículas com carga neutra ou ligeiramente negativa exibem maior evasão do sistema fagocitário e meia-vida plasmática prolongada, condição necessária para acúmulo tumoral suficiente via EPR [50,56]. A PEGilação cria uma camada de hidratação que reduz a opsonização, confere neutralidade de carga efetiva e pode elevar a meia-vida plasmática de minutos para horas, viabilizando o gradiente de acúmulo tumoral por EPR, com meia-vida ideal superior a 8 horas [56]. A forma e a rigidez dos nanocarriers também modulam o transporte baseado em EPR, em que nanopartículas não esféricas apresentam maior difusividade intratumoral devido à maior força de empuxo radial; nanopartículas mais macias têm menor reconhecimento fagocitário e maior acúmulo intratumoral [50,51].

6.3.3 Heterogeneidade do EPR e Desafios para a Tradução Clínica

A heterogeneidade tumoral é o principal obstáculo para a tradução clínica consistente do EPR: apenas cerca de 0,7% da dose de nanopartículas administrada por via intravenosa se acumula efetivamente no tumor em média, refletindo a diversidade entre pacientes, tipos tumorais e localização anatômica das lesões [50]. Tumores com alta densidade vascular, como o carcinoma hepatocelular, exibem EPR intenso, enquanto tumores com vasculatura escassa, como o câncer pancreático, apresentam EPR fraco, devido a barreiras estromais densas que dificultam a penetração das nanopartículas [55].

A heterogeneidade decorre de variações na densidade e maturidade dos vasos entre regiões do mesmo tumor; de gradientes de IFP que impedem a penetração de nanopartículas no núcleo tumoral, concentrando o acúmulo na região peritumoral; da densidade variável da ECM, rica em colágeno e ácido hialurônico, que atua como barreira mecânica à difusão; e da presença de macrófagos associados ao tumor (TAM), que capturam nanopartículas como depósitos de liberação lenta [8,56]. A taxa de fluxo sanguíneo em órgãos humanos normais é aproximadamente 800 vezes superior à de camundongos, o que gera maior força de

cisalhamento vascular e lavagem mais rápida das nanopartículas, o que explica o hiato entre resultados pré-clínicos e clínicos [54].

Análises de formulações clinicamente aprovadas, como o Doxil®, que atinge concentrações 10 a 15 vezes superiores no tumor em relação ao tecido normal, demonstram que o EPR efetivamente ocorre em tumores humanos; o problema observado nos ensaios clínicos foi a PEGilação excessiva, que reduziu a taxa de liberação e a potência citotóxica da doxorubicina encapsulada, não a ausência do EPR, distinção conceitual fundamental para o design de nanoplateformas teranósticas [54].

6.3.4 Estratégias para Amplificação do EPR em Plataformas Teranósticas

Diversas estratégias farmacológicas e físicas amplificam o EPR para melhorar o acúmulo intratumoral de nanomedicinas [8,50]. Entre as estratégias farmacológicas, a normalização vascular com bevacizumabe (anti-VEGF) ou sorafenibe, em doses intermediárias, restaura parcialmente a arquitetura vascular, aumenta a perfusão e reduz a IFP. Dados clínicos documentam que o bevacizumabe, associado ao Doxil® no câncer de ovário, elevou a sobrevida global de 10 para 33 meses [8]. Bloqueadores do receptor de angiotensina II, como o losartán, reduzem o estresse sólido que comprime os vasos e diminuem a expressão de colágeno I na ECM, com um ensaio clínico de fase II em câncer pancreático mostrando uma sobrevida de 2 anos superior a 60% [8]. A angiotensina II administrada exogenamente induz vasoconstrição seletiva nos vasos normais, enquanto os vasos tumorais imaturos permanecem relaxados, resultando em aumento seletivo do fluxo sanguíneo tumoral de até 5,7 vezes [8,55]. O TNF- α , em doses adequadas, perturba as junções de adesão das células endoteliais, resultando em um acúmulo de lipossomos até 10 vezes maior em modelos tumorais [8].

Entre as estratégias físicas, a radioterapia induz apoptose das células endoteliais e regula positivamente VEGF e FGF, aumentando a permeabilidade vascular e reduzindo a IFP, elevando a taxa de remissão com Doxil® radiomarcado para mais de 70% em ensaio clínico precursor [8,50]. A hipertermia moderada (39–43 °C) promove vasodilatação local e aumenta o fluxo sanguíneo tumoral, favorecendo a extravasação de nanopartículas. Há evidências de que temperaturas acima de 42 °C induzem danos vasculares contraprodutivos, o que define uma faixa terapêutica precisa [50,55].

6.3.5 Imagem Guiada pelo EPR e Seleção de Pacientes

A heterogeneidade interindividual do EPR constitui também uma oportunidade diagnóstica, na qual a visualização não invasiva do acúmulo tumoral de nanopartículas pode permitir a pré-seleção de pacientes com maior probabilidade de resposta, constituindo uma estratégia denominada imagem teranóstica guiada por EPR [8,50]. Essa abordagem desdobra-se em três modalidades: imagem indireta, que correlaciona parâmetros vasculares mensuráveis com o acúmulo de nanomedicinas; imagem por nanodiagnósticos companheiros, que emprega nanopartículas análogas às terapêuticas carregadas com agentes de contraste radioativos (^{89}Zr ou ^{64}Cu) para visualização por PET, prevendo o acúmulo tumoral antes da dose terapêutica completa; e a abordagem noteranóstica direta, na qual a mesma nanopartícula carrega simultaneamente o agente terapêutico e o agente de imagem [8].

Os CDs verdes são agentes de arquitetura particularmente favoráveis à imagem guiada por EPR, pois integram naturalmente fluorescência diagnóstica nas janelas NIR I e II com ação terapêutica por PDT, PTT ou entrega de fármacos em uma única nanopartícula, sem necessidade de agentes de contraste exógenos adicionais, permitindo o monitoramento em tempo real do acúmulo e da distribuição intratumoral após a administração [8,50].

6.3.6 O EPR como Fundamento Físico da Plataforma Teranóstica com Green CDs

A compreensão integrada do EPR revela por que as estratégias terapêuticas e diagnósticas dos tópicos anteriores são fisicamente viáveis no microambiente tumoral. Sem o diferencial de permeabilidade vascular e de retenção intersticial proporcionado pelo EPR, as nanopartículas distribuir-se-iam de forma relativamente homogênea pelos tecidos, diluindo a dose efetiva no alvo, exatamente o problema que a quimioterapia convencional enfrenta [55,56].

Para que os CDs verdes explorem o EPR de forma consistente, o design da nanoplataforma deve contemplar: diâmetro hidrodinâmico entre 10 e 200 nm após a funcionalização; carga superficial neutra ou ligeiramente negativa, conferida pela PEGilação ou pela presença de grupos carboxila superficiais dos CDs de síntese verde; e meia-vida plasmática superior a 8 horas, alcançável pela combinação de tamanho adequado e funcionalização protetora [50,56]. A síntese verde por rota hidrotermal a partir de biomassa natural favorece intrinsecamente a obtenção dessas características: a carbonização de precursores ricos em oxigênio e nitrogênio gera CDs com superfícies hidrofílicas, ricas em grupos $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$, que conferem

dispersibilidade aquosa, carga superficial controlável e pontos de ancoragem para PEGilação. Esse conjunto de propriedades posiciona os CDs verdes como nanoagentes teranósticos bem adaptados às exigências físicas do direcionamento passivo mediado por EPR em tumores sólidos [50,54,56].

7. BIOCOMPATIBILIDADE, PROTEÇÃO RADIOLÓGICA E ANÁLISE COMPARATIVA

7.1 Perfil de Segurança Biológica e Biocompatibilidade dos CDs Verdes

A viabilidade clínica de qualquer nanomaterial destinado a aplicações biomédicas está condicionada, antes de qualquer consideração de eficácia terapêutica ou diagnóstica, à demonstração rigorosa de seu perfil de segurança biológica. No contexto da nanotecnologia teranóstica, essa exigência torna-se ainda mais crítica, pois os agentes nanométricos são administrados sistemicamente em organismos já em estado patológico, como pacientes oncológicos submetidos a protocolos de diagnóstico por fluorescência ou de fototerapia [7,20]. Os pontos de carbono obtidos por síntese verde (CDs verdes) apresentam, devido à sua composição elementar exclusivamente baseada em carbono, oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, ausência de metais pesados tóxicos em sua estrutura e um perfil de biocompatibilidade intrínseca que os diferencia substancialmente dos pontos quânticos semicondutores convencionais [20,38]. No entanto, a afirmação de que os CDs são intrinsecamente seguros deve ser tratada com rigor científico: a toxicidade desses materiais não é uma propriedade universal, mas uma função complexa de variáveis como a química da superfície, a carga superficial, o tamanho das partículas, os dopantes incorporados, a concentração utilizada e a duração da exposição — parâmetros que determinam, em conjunto, os mecanismos de interação celular e o destino sistêmico das nanopartículas no organismo [7,57].

7.1.1 Conceitos Fundamentais: Biocompatibilidade e Citotoxicidade

A biocompatibilidade é definida como a capacidade de um material de desempenhar suas funções pretendidas em um ambiente biológico sem induzir respostas tóxicas, imunogênicas, trombogênicas ou carcinogênicas indesejáveis no organismo hospedeiro [7]. No contexto dos

nanomateriais, ela é avaliada por um conjunto hierárquico de ensaios que progridem da escala celular, denominados testes *in vitro*, para as escalas orgânica e sistêmica, em que os ensaios *in vivo* investigam aspectos complementares, como viabilidade celular, integridade morfológica, progressão do ciclo celular, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), resposta inflamatória, biodistribuição tecidual e vias de eliminação [28,57].

A citotoxicidade, conceito central nessa avaliação, refere-se à capacidade de uma substância de causar dano ou morte celular por meio de mecanismos que incluem a perturbação da membrana plasmática, o estresse oxidativo, caracterizado pela geração excessiva de ROS que supera a capacidade antioxidante da célula, a disfunção mitocondrial, com comprometimento da síntese de ATP, a fragmentação do DNA e a indução de apoptose ou necrose [7]. Vale ressaltar que, embora a geração de ROS possa estar associada à toxicidade em condições não controladas, essa propriedade também é explorada intencionalmente em aplicações terapêuticas, como a terapia fotodinâmica.

Para os CDs, os ensaios de citotoxicidade mais amplamente empregados são o MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), o CCK-8 (Cell Counting Kit-8) e o WST-1 (water-soluble tetrazolium), que medem indiretamente a viabilidade celular por meio da capacidade redutora metabólica das células viáveis [20]. Análises complementares incluem a avaliação da progressão do ciclo celular por citometria de fluxo, a investigação de marcadores de apoptose e a análise de genotoxicidade, que, em conjunto, fornecem uma caracterização mais completa do potencial citotóxico dos nanomateriais em estudo [57].

7.1.2 Avaliação *in vitro* da Biocompatibilidade dos Green CDs

Estudos *in vitro* demonstram que carbon dots, incluindo sistemas puros, funcionalizados e obtidos por síntese verde, geralmente apresentam elevada biocompatibilidade em diferentes linhagens celulares. Em diversos modelos experimentais, a viabilidade celular permanece superior a 80–95%, mesmo em concentrações elevadas, próximas de 1000 µg/mL, valores muito superiores às concentrações normalmente empregadas em bioimagem ou em aplicações terapêuticas baseadas em PDT e PTT [20,57]. Entretanto, a resposta biológica depende de parâmetros como o tamanho, a composição superficial, a carga, o método de síntese e o grau de purificação.

A modificação superficial desempenha um papel fundamental na segurança dos CDs. Estudos com CDs passivados com PEG₁₅₀₀N em células HT-29 e MCF-7 demonstraram elevada viabilidade celular em concentrações de até 200 µg/mL, evidenciando que a passivação superficial pode melhorar a compatibilidade biológica desses nanomateriais [57]. De forma semelhante, CQDs funcionalizados com PEI, PPEI-EI e PAA apresentaram baixa citotoxicidade em concentrações adequadas para aplicações de imagem e detecção, embora os efeitos dependentes do tempo de exposição demonstrem a importância da concentração e do período de incubação na avaliação toxicológica [57].

Estudos envolvendo GQDs e N-CDs também reforçam o perfil de segurança desses materiais. GQDs derivados de fibras de carbono apresentaram toxicidade negligenciável em células MDA-MB-231 e T47D, mantendo elevada viabilidade celular após exposições de 24 e 48 horas. GQDs avaliados em células HeLa, em concentrações elevadas, mantiveram viabilidade superior a 90%, sem alterações morfológicas significativas [57]. N-CDs sintetizados por micro-ondas a partir de glicose e etilenodiamina também apresentaram viabilidade superior a 80% em altas concentrações, enquanto S-GQDs dopados com enxofre mantiveram viabilidade superior a 90% após 72 horas de incubação [2,57].

No contexto específico dos green CDs, a síntese com precursores naturais apresenta vantagens, como a redução do uso de reagentes potencialmente tóxicos e a possibilidade de obter superfícies ricas em grupos funcionais oxigenados e nitrogenados após purificação adequada [7], [10]. CDs derivados de hortelã-pimenta demonstraram elevada biossegurança, enquanto CDs obtidos de grãos de café não provocaram alterações bioquímicas ou histológicas significativas em modelos animais, indicando ausência de toxicidade sistêmica detectável [10].

Além da segurança geral, alguns green CDs apresentam comportamento seletivo frente a células tumorais. CDs derivados de gengibre apresentaram baixa toxicidade para as células normais MCF-10A e FL83B, mas induziram efeitos citotóxicos em células HepG2 devido ao aumento de ROS intracelulares e à ativação da proteína supressora tumoral p53, sugerindo potencial seletividade terapêutica [10].

Avaliações complementares demonstram que CDs adequadamente projetados não alteram significativamente processos celulares fundamentais. Análises por citometria de fluxo indicaram que N-CQDs em células HeLa causaram apenas pequenas alterações no ciclo celular, sem induzir apoptose significativa, enquanto CDs funcionalizados com moléculas terapêuticas

podem promover alterações específicas em células tumorais devido à ação combinada do nanomaterial e da carga terapêutica [57]. Além disso, CD-Ureia apresentou propriedades hemocompatíveis e efeito pró-angiogênico em células HUVECs, evidenciando potencial para aplicações intravenosas e regenerativas [2].

7.1.3 Mecanismos de Toxicidade: Relação Estrutura-Propriedade

A compreensão dos mecanismos pelos quais os CDs podem exercer efeitos tóxicos é essencial para o projeto racional de nanoplataformas teranósticas seguras. A toxicidade dos CDs não é um fenômeno monolítico, mas resulta de uma relação estrutura-propriedade bem definida, na qual a química da superfície e a carga superficial são os determinantes críticos mais relevantes dos desfechos biológicos [7,20].

O mecanismo primário de toxicidade é o estresse oxidativo, desencadeado pela geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) que supera os mecanismos antioxidantes celulares. O excesso de ROS promove a peroxidação lipídica das membranas celulares, a desnaturação de proteínas estruturais e enzimáticas e danos ao DNA, processos que aumentam a permeabilidade das membranas, levando ao edema celular e, subsequentemente, à morte por apoptose ou necrose, conforme documentado em modelos bacterianos e em células mamíferas [7]. A geração de ROS é amplificada em CDs que possuem grupos funcionais contendo oxigênio e nitrogênio em sua superfície, bem como em CDs submetidos à irradiação de luz, fenômeno denominado fotodegradação, no qual os CDs se decompõem em moléculas reativas menores e radicais livres, aumentando a citotoxicidade mesmo em células normais [7,20]. Esse fenômeno é relevante para as aplicações em PDT, onde a geração intencional de ROS faz parte do mecanismo terapêutico, mas deve ser cuidadosamente delimitado para as células tumorais alvo a fim de preservar os tecidos saudáveis adjacentes.

A carga superficial exerce influência determinante sobre os mecanismos de interação celular e, consequentemente, sobre o perfil de citotoxicidade. CDs carregados positivamente, especialmente aqueles funcionalizados com polietilenimina (PEI), que confere uma densa camada de grupos amina catiônicos à superfície, interagem eletrostaticamente com os fosfolípidos carregados negativamente das membranas celulares, promovendo maior captação celular por endocitose e, em concentrações elevadas, penetrando no núcleo celular onde interagem diretamente com o DNA, alterando a regulação do ciclo celular e induzindo estresse

oxidativo e disfunção mitocondrial [7,20]. CDs neutros e carregados negativamente, como aqueles funcionalizados com PEG ou dotados de grupos carboxila ($-\text{COOH}$) e hidroxila ($-\text{OH}$) superficiais, característicos dos green CDs de síntese hidrotermal, permanecem predominantemente no citoplasma após internalização por endocitose, sem penetração nuclear, e apresentam geração mínima de ROS, integridade mitocondrial preservada e ausência de genotoxicidade detectável, o que configura o perfil de segurança ideal para aplicações biomédicas sistêmicas [7]. Essa relação foi sistematicamente documentada por estudos comparativos que demonstraram que CDs neutros são consistentemente os menos tóxicos, enquanto CDs carregados positivamente são os mais citotóxicos em fibroblastos e em outras linhagens celulares [7].

Uma dimensão adicional de segurança relevante refere-se à interação entre os CDs e as proteínas plasmáticas no ambiente fisiológico. Estudos com N-CDs decorados com grupos carboxila, hidroxila e amina demonstraram que essas nanopartículas podem extinguir a fluorescência intrínseca da albumina sérica humana (HSA), a proteína plasmática mais abundante, por meio da formação de um complexo estabilizado por forças hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, o que induz mudanças na estrutura secundária da HSA, com desdobramento dos polipeptídeos e alteração da hidrofobicidade das regiões ao redor dos resíduos de triptofano e tirosina [38]. Embora esse fenômeno seja reportado com uma ressalva importante, que pode perturbar parcialmente as funções normais de transporte das proteínas plasmáticas, sendo, dessa forma fundamental contextualizar que essas interações foram observadas em modelos de ambiente fisiológico simulado e que a relevância clínica desse fenômeno em doses terapêuticas realistas ainda requer avaliação sistemática [38].

7.1.4 Avaliação in vivo: Modelos Biológicos e Resultados Sistêmicos

Os ensaios in vitro, por mais informativos que sejam, não conseguem replicar a complexidade biológica dos organismos vivos, nem capturar aspectos cruciais como biodistribuição tecidual, metabolismo, biodegradabilidade, rotas de eliminação e toxicidade em órgãos específicos, cujas variáveis determinam a segurança real de um nanomaterial em contexto biomédico [28]. Os estudos in vivo com green CDs são conduzidos principalmente em dois modelos complementares: o peixe-zebra (*Danio rerio*), especialmente na fase embrionária, e roedores (camundongos), nos quais se avaliam a toxicidade sistêmica, a biodistribuição e a integridade dos órgãos principais.

O peixe-zebra é um modelo amplamente adotado na avaliação de nanotoxicidade em razão de sua semelhança genética com humanos, da transparência do embrião, que permite a observação direta em tempo real, do rápido desenvolvimento e do baixo custo de manutenção [28,57]. Estudos com CDs sintetizados hidrotermalmente a partir de glicose e etilenediamina demonstraram que sua introdução em embriões de peixe-zebra não causa toxicidade embrionária detectável: a sobrevivência foi superior a 80% em embriões microinjetados com 1,5 mg/mL ou imersos em concentrações de até 1,5 mg/mL, e as larvas mantiveram sobrevivência inalterada em concentrações de até 625 µg/mL [57]. CDs de melaço de cana-de-açúcar sintetizados hidrotermalmente, precursor tipicamente utilizado em síntese verde, exibiram ausência de toxicidade embrionária evidente em concentrações de até 150 µg/mL, com LC50 de 257,2 µg/mL e TD50 de 194,7 µg/mL a 96 horas após a fertilização; segundo os critérios de avaliação de toxicidade aquática aguda do FWS dos EUA, um LC50 de 100 a 1000 mg/L classifica o composto como "Praticamente Não Tóxico", categoria em que esses CDs se enquadram — confirmando a excelente biocompatibilidade dos materiais de síntese verde [57]. Em concentrações superiores a 200 µg/mL, foram observados efeitos adversos como edema pericárdico e do saco vitelino, crescimento retardado e diminuição da atividade locomotora larval, com redução dos neurônios dopaminérgicos, efeitos cujos mecanismos subjacentes ainda não estão completamente elucidados e que justificam investigação adicional, particularmente no que diz respeito a neurotoxicidade potencial em aplicações de uso repetido [57].

Nos modelos murinos, os estudos *in vivo* demonstram, de forma consistente, que os green CDs são seguros em condições de dose controlada. O primeiro estudo *in vivo* de toxicidade com CDs, conduzido em 2009, não demonstrou indícios de reações toxicológicas agudas após injeção intravenosa em camundongos [57]. Estudos posteriores com N-CDs injetados por via intravenosa em camundongos, nas dosagens de 5 e 10 mg/kg de peso corporal, demonstraram, após 30 dias de observação, aumento do peso corporal dentro dos padrões esperados e ausência de mudanças significativas no peso dos principais órgãos e no conteúdo proteico tecidual, com parâmetros antioxidantes, hematológicos e histopatológicos dentro dos valores de referência, com conclusão de boa biocompatibilidade [57]. Estudos com N-CDs injetados intravenosamente em camundongos por 30 dias, com avaliação histológica de coração, fígado, baço, pulmões e rins, não revelaram destruição visível de órgãos ou reação inflamatória, resultados atribuídos à alta taxa de eliminação renal das nanopartículas [38].

Ensaio histopatológico extensivo com cortes de tecido corados por hematoxilina-eosina (H&E) de órgãos principais como coração, fígado, pulmões, rins e baço, não revelaram sinais de inflamação, necrose ou outras alterações patológicas até sete dias após a administração intravenosa, com miócitos cardíacos bem organizados, lóbulos hepáticos claramente definidos, estrutura pulmonar intacta, glomérulos renais preservados e glóbulos esplênicos saudáveis [20]. CDs sintetizados a partir de *Hypocrella bambusae*, na concentração de 2000 µg/mL, injetados intravenosamente em camundongos, incluindo portadores de tumor, não produziram mudanças repentinas no peso corporal nem exibiram alterações histológicas nos principais órgãos avaliados em múltiplos pontos temporais, indicando biotoxicidade muito baixa [57].

Estudos de toxicidade crônica documentam que CDs administrados por via intravenosa em dose única de 20 mg/kg apresentaram toxicidade baixa ou desprezível até 90 dias após a administração; camundongos submetidos a doses diárias de 100 mg/kg por 7 dias também apresentaram baixa toxicidade até 90 dias de acompanhamento, o que demonstra a robustez do perfil de segurança mesmo em regimes de dosagem repetida [20]. A capacidade dos CDs de modular o sistema imunológico, induzindo respostas imunes de células Th1 e Tc em camundongos BALB/c, foi documentada sem provocar alterações morfológicas nos órgãos imunológicos, indicando que o impacto imunológico dos CDs, embora presente, permanece dentro de limites que não comprometem a integridade estrutural dos tecidos linfoides [20].

7.1.5 Influência da Funcionalização Superficial e da Síntese Verde na Biossegurança

A engenharia racional da superfície dos CDs constitui a estratégia mais eficaz para equilibrar a funcionalidade biomédica e a segurança biológica, exercendo influência determinante sobre praticamente todos os aspectos do perfil de biocompatibilidade das nanopartículas [7], [28]. A funcionalização superficial cuidadosa aumenta a estabilidade coloidal e a solubilidade aquosa das nanopartículas, previne a agregação, fenômeno associado ao aumento da captação pelo sistema fagocitário e ao acúmulo em órgãos. Desta forma, reduz a adsorção inespecífica de proteínas plasmáticas, prolonga a meia-vida circulatória e mitiga as respostas de estresse oxidativo e inflamatório [28].

A PEGilação que é a conjugação de cadeias de polietilenoglicol à superfície dos CDs, se torna uma estratégia de funcionalização de maior impacto comprovado na melhoria da biocompatibilidade: CDs PEGilados ou com carga neutra apresentam baixa geração de ROS,

estresse oxidativo mínimo, integridade mitocondrial preservada, ausência de genotoxicidade e diminuição da interação e da absorção inespecífica pelas células, com morfologia celular e progressão regular do ciclo celular inalteradas mesmo em concentrações relativamente altas [7]. CDs funcionalizados dopados com nitrogênio e modificados com ácido fólico demonstraram alterações bioquímicas, hematológicas e histopatológicas mínimas em modelos animais, sugerindo que a combinação de dopagem com heteroátomos e funcionalização com ligantes direcionadores não compromete, e pode até aprimorar o perfil de segurança sistêmica [7].

No contexto específico da síntese verde, a seleção de matérias-primas seguras e não tóxicas representa um mecanismo adicional de controle da biossegurança intrínseco ao próprio protocolo de produção, sem necessidade de etapas pós-sintéticas separadas. CDs à base de biomassa, fabricados a partir de compostos naturais, como extratos vegetais, frutas e resíduos alimentares, são mais biocompatíveis devido às suas vias de síntese menos nocivas e às menores concentrações de subprodutos tóxicos gerados durante a carbonização hidrotermal [7,10]. Essa vantagem é evidenciada pela comparação entre os estudos com green CDs de precursores vegetais — como hortelã-pimenta, gengibre, grãos de café e repolho, todos demonstrando alta biossegurança sistêmica — e os estudos com CDs sintetizados a partir de precursores químicos sintéticos, nos quais o perfil de segurança está mais diretamente condicionado à caracterização rigorosa da funcionalização [10].

Em perspectiva comparativa direta entre CDs e outros tipos de nanotransportadores, estudos que avaliaram simultaneamente seis tipos de CDs e pontos quânticos semicondutores de metais pesados em *Chlorella pyrenoidosa* documentaram a seguinte ordem crescente de toxicidade: CuInS₂/ZnS QDs e CDs não dopados aproximadamente iguais; CDs dopados; N-CDs; S,N-CDs; QDs de CdS; QDs de CdTe, resultado que demonstra empiricamente que a toxicidade dos CDs, em suas diversas formas, é desprezível em comparação à dos pontos quânticos de metais pesados, configurando uma vantagem fundamental de biossegurança que será explorada em detalhe no tópico de análise comparativa [38].

7.1.6 Limitações Atuais e Perspectivas para a Tradução Clínica

Apesar do conjunto expressivo de evidências que sustenta o perfil de segurança dos green CDs, algumas limitações relevantes do estado atual da pesquisa precisam ser reconhecidas para uma avaliação honesta e completa da prontidão clínica desses materiais [7,20]. A primeira e mais

crítica é a escassez de estudos de toxicidade crônica de longo prazo com múltiplas doses: praticamente todos os estudos de toxicidade realizados até o momento são experimentos agudos de dose única, e regimes de múltiplas doses, necessários para protocolos clínicos de terapia oncológica, foram investigados de forma limitada, com os dados disponíveis cobrindo períodos de até 90 dias [20]. A ausência de estudos padronizados e de protocolos consensuais de avaliação toxicológica dificulta a comparação entre estudos e a consolidação de um banco de dados normativo que oriente a regulação clínica dos CDs [7,28]. A toxicidade associada à fotodegradação, na qual a irradiação de luz pode converter CDs em moléculas fotolisadas com potencial citotóxico em células normais e malignas, representa uma preocupação específica para as aplicações de PDT e de bioimagem contínua, que ainda requer investigação aprofundada antes da tradução clínica [57]. Questões relacionadas à neurotoxicidade potencial em regimes de exposição repetida, evidenciada pela redução de neurônios dopaminérgicos em modelos de zebrafish expostos a altas concentrações, bem como à interação dos CDs com proteínas plasmáticas em condições fisiológicas reais, também demandam estudos adicionais [38,57]. Metodologias emergentes baseadas em inteligência artificial e aprendizado de máquina têm sido investigadas como ferramentas para acelerar a predição da citotoxicidade com base em descritores físico-químicos dos CDs, potencialmente reduzindo a dependência de estudos extensivos em animais e antecipando o design de materiais mais seguros, uma perspectiva metodológica que representa uma fronteira ativa de investigação no campo [28].

Em síntese, os green CDs obtidos por síntese verde a partir de biomassa apresentam um perfil de biocompatibilidade robusto, fundamentado em múltiplas linhas de evidência *in vitro* e *in vivo*, sustentado por mecanismos físico-químicos bem compreendidos e reforçado pela ausência de metais pesados em sua composição elementar. Sua biossegurança é intrinsecamente favorecida pela síntese a partir de precursores naturais não tóxicos e pode ser adicionalmente otimizada por estratégias de funcionalização superficial, em particular a PEGilação e o controle da carga superficial, que modulam as vias de interação celular, a geração de ROS e os padrões de biodistribuição sistêmica. Esses atributos, em conjunto com o perfil de eliminação renal eficiente discutido no tópico seguinte, posicionam os green CDs como candidatos de alto potencial para a tradução clínica em plataformas teranósticas de diagnóstico e terapia oncológica em física médica [7,20,10].

7.2 Farmacocinética de Eliminação: Diâmetro Hidrodinâmico e Clivagem Renal

A farmacocinética é o ramo da farmacologia que estuda o comportamento de substâncias no organismo ao longo do tempo, descrevendo quantitativamente os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção — conjunto frequentemente abreviado como ADME. Para nanomateriais destinados a aplicações biomédicas, como os green CDs empregados em plataformas teranósticas, a compreensão desses processos é tão importante quanto a caracterização de sua eficácia terapêutica ou diagnóstica, pois determina a dose ativa que efetivamente atinge o tecido-alvo, o tempo de residência no organismo e a ausência de acúmulo em órgãos não-alvo que poderia gerar toxicidade crônica [7,49]. O comportamento farmacocinético dos green CDs é governado, em primeira instância, por seu diâmetro hidrodinâmico, conceito distinto do diâmetro geométrico mensurado em imagens de microscopia eletrônica, como discutido a seguir, sendo esse parâmetro o principal determinante da via de eliminação predominante no organismo [49].

7.2.1 O Diâmetro Hidrodinâmico: Conceito e Relevância Farmacocinética

O diâmetro hidrodinâmico é definido como o diâmetro de uma esfera hipotética que apresentaria o mesmo coeficiente de difusão translacional da partícula real em solução, medido experimentalmente pela técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS) [49]. Esse valor é sistematicamente maior do que o diâmetro do núcleo da nanopartícula observado em imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM), pois inclui não apenas o núcleo de carbono propriamente dito, mas também as camadas de solvatação, os grupos funcionais superficiais e quaisquer polímeros ou biomoléculas conjugadas à superfície, como as cadeias de PEG frequentemente utilizadas na funcionalização dos green CDs [49]. No caso dos CDs verdes sintetizados por rota hidrotermal a partir de biomassa, os núcleos de carbono apresentam diâmetros típicos entre 2 e 10 nm; após funcionalização com PEG ou outros polímeros hidrofílicos, o diâmetro hidrodinâmico efetivo pode aumentar para 15 a 30 nm ou mais, alterando substancialmente o perfil farmacocinético das nanopartículas [7,49].

A relevância do diâmetro hidrodinâmico para a farmacocinética dos CDs decorre de uma relação de limiar bem estabelecida: nanopartículas com diâmetro hidrodinâmico inferior a 6 nm são preferencialmente filtradas pelo glomérulo renal e excretadas pela urina em horas; nanopartículas entre 6 e 8 nm situam-se em uma zona de transição; e aquelas com diâmetro acima de 8 nm continuam circulando no sangue e são predominantemente processadas pelo fígado e baço por via do sistema fagocitário mononuclear (SFM), podendo permanecer no

organismo por horas a meses, com risco de toxicidade por acúmulo [7,49]. Para nanomateriais com diâmetro superior a 200 nm, a captura pelo SFM e pelo fígado é praticamente total, com meia-vida circulatória muito curta [51]. Compreender e controlar o diâmetro hidrodinâmico dos CDs verdes é, portanto, uma exigência de design crítica para garantir simultaneamente a segurança sistêmica, por meio da excreção eficiente, e a eficácia terapêutica, por meio do tempo de residência suficiente para o acúmulo tumoral mediado pelo efeito EPR [49,51].

7.2.2 Tamanho, Formato e Densidade: Influência no Comportamento Farmacocinético

Embora o diâmetro seja o parâmetro de maior impacto na farmacocinética dos CDs, outras propriedades físicas, como o formato e a densidade das nanopartículas, também modulam seu comportamento no organismo de forma não negligenciável [49].

Em relação ao tamanho, é importante distinguir dois conceitos frequentemente confundidos: o diâmetro do núcleo de carbono e o diâmetro hidrodinâmico. Os CDs obtidos pela síntese verde apresentam núcleos entre 2 e 10 nm, faixa que os posiciona como candidatos favoráveis à excreção renal, mas essa propriedade pode ser, simultaneamente, um atributo e uma limitação [49]. Como atributo, a rápida excreção minimiza a toxicidade por acúmulo e demonstra que os CDs serão eficientemente removidos do organismo após a conclusão de sua função diagnóstica ou terapêutica. Como limitação, se as interações com o tecido-alvo não forem suficientemente fortes para reter os CDs, eles serão excretados antes de completar o efeito terapêutico pretendido, sem possibilidade de retorno à circulação para uma segunda passagem pelos tecidos [49]. Adicionalmente, partículas com diâmetro inferior a 10 nm não são candidatas ideais para a entrega tumoral baseada exclusivamente no efeito EPR em tumores sólidos, pois a eliminação renal e a fagocitose pelos macrófagos hepáticos ocorrem de forma competitiva com o acúmulo tumoral, reduzindo a dose efetiva que atinge o sítio de ação [51]. A faixa ótima de tamanho para nanomedicamentos baseados em EPR situa-se entre 20 e 70 nm, o que permite a penetração profunda nos núcleos dos tumores sólidos, sem eliminação renal precoce [51].

No que diz respeito ao formato, os CDs são frequentemente descritos como esféricos nas imagens de TEM; contudo, análises por microscopia de força atômica (AFM) revelam que muitos apresentam perfil mais característico de discos cilíndricos, com altura diferente da largura, morfologia que pode resultar em retenção corporal mais prolongada em comparação com equivalentes esféricos, pois a menor área de contato frontal reduz a resistência

hidrodinâmica e a força de empuxo radial nas diferentes superfícies, alterando o padrão de difusão e convecção nos vasos [49]. Nanoportadores não esféricos, em geral, apresentam maior difusividade intratumoral em razão de interações mais intensas com as paredes vasculares, além de meia-vida circulatória mais longa devido à menor absorção por macrófagos, propriedades que têm valor terapêutico relevante [51].

A densidade das nanopartículas é um parâmetro frequentemente negligenciado no projeto de nanomedicamentos, mas que exerce influência real sobre o comportamento farmacocinético. Os CDs apresentam densidade de aproximadamente $1,5 \text{ g/cm}^3$, valor próximo ao do carbono amorfo, semelhante ao do grafite e expressivamente inferior ao das nanopartículas de ouro ($19,3 \text{ g/cm}^3$), um dos nanotransportadores mais amplamente estudados para comparação [49]. Nanopartículas de ouro de 4 a 22 nm foram documentadas como ionizadas pelas células e, posteriormente, recristalizadas em estruturas biopersistentes, levantando preocupações quanto à toxicidade e à excreção, fenômeno que não é esperado para os CDs carbonosos, em razão de sua baixa densidade e composição isenta de metais pesados [49]. A lei de Stokes-Einstein para difusão afirma que partículas do mesmo tamanho e composição devem ter o mesmo coeficiente de difusão; no entanto, a inércia, o momento e a aceleração gravitacional das nanopartículas em movimento nos fluidos corpóreos dependem fortemente da densidade, o que significa que CDs de baixa densidade apresentam um comportamento difusivo distinto em relação a nanopartículas metálicas de tamanho equivalente [49].

7.2.3 A Barreira de Filtração Glomerular e o Mecanismo da Clivagem Renal

A excreção renal é a via primária e mais rápida de eliminação dos CDs com diâmetro hidrodinâmico inferior a 6 nm e constitui um dos atributos de segurança mais importantes dos green CDs para aplicações em física médica, pois garante a remoção eficiente das nanopartículas do organismo após o cumprimento de sua função diagnóstica ou terapêutica [7], [49]. Para compreender esse processo, é necessário descrever a estrutura e o funcionamento da barreira de filtração glomerular, o principal mecanismo de triagem molecular dos rins.

Os rins atuam como filtros moleculares pressurizados que mantêm a homeostase do organismo ao filtrar o sangue arterial e selecionar seletivamente os constituintes a serem retidos ou excretados. O sangue arterial renal é transportado pela arteríola aferente até os capilares do glomérulo, estrutura esférica composta por um tufo de capilares altamente especializados, onde

os constituintes sanguíneos são filtrados pela barreira de filtração glomerular antes de entrar no espaço de Bowman e seguir para o lúmen do néfron [49]. Essa barreira é composta por três camadas celulares principais, com características físicas e funcionais distintas, que, em conjunto, determinam quais moléculas e nanopartículas podem ser excretadas pela urina [49].

A primeira camada é o endotélio fenestrado (FE), constituído por células endoteliais com fenestrações, aberturas de 70 a 90 nm entre si, que impedem fisicamente o movimento de partículas grandes para o espaço de filtração. O FE é carregado negativamente devido à presença do glicocálice, composto por proteoglicanos sulfatados, glicoproteínas e glicosaminoglicanos, que cria repulsão eletrostática adicional a partículas com carga negativa pronunciada, retardando sua filtração independentemente do tamanho [49]. A segunda camada é a membrana basal glomerular (GBM), uma matriz de filtração composta pela lâmina rara interna, lâmina densa e lâmina rara externa, que controla a passagem de moléculas com base simultaneamente no tamanho (2 a 8 nm) e na carga superficial, sendo a camada de maior restrição dimensional da barreira [49]. A terceira camada é formada pelos podócitos, células epiteliais especializadas que possuem projeções citoplasmáticas que se ramificam e se entrelaçam formando uma rede com tamanho de poro entre 4 e 14 nm; os diafragmas de fenda entre as projeções dos podócitos constituem a última barreira seletiva antes que a molécula ou nanopartícula entre definitivamente no espaço de Bowman e seja direcionada ao túbulo renal para excreção [49].

A combinação das três camadas resulta em um limiar funcional de filtração glomerular situado em torno de 6 nm de diâmetro hidrodinâmico: nanopartículas abaixo desse limiar atravessam o conjunto glomerular com relativa facilidade e são excretadas pela urina em horas; nanopartículas entre 6 e 8 nm atravessam parcialmente, com excreção mais lenta; e aquelas acima de 8 nm não ultrapassam a barreira glomerular e continuam circulando no sangue até serem processadas pelo fígado [49]. Além do tamanho, a carga superficial é uma variável crítica nesse processo: proteoglicanos sulfatados carregados negativamente presentes na barreira glomerular retardam a excreção de nanopartículas carregadas negativamente por repulsão eletrostática, enquanto nanopartículas carregadas positivamente são excretadas mais rapidamente pela atração com as cargas negativas da barreira resultado confirmado por estudos comparativos diretos entre CDs com carga positiva (+23,4 mV) e negativa (-52 mV), nos quais as partículas positivas foram detectadas na urina em quantidade muito maior do que as negativas, que se acumularam preferencialmente no fígado [49].

7.2.4 Evidências Experimentais da Excreção Renal dos Green CDs

A rápida excreção renal dos green CDs com diâmetro hidrodinâmico inferior a 6 nm foi confirmada por múltiplos estudos experimentais que acompanharam a distribuição e a eliminação das nanopartículas por meio de técnicas combinadas de fluorescência e espectrometria [49]. Em um estudo com CDs sintetizados a partir de ácido cítrico e ureia por rota solvotérmica, com diâmetros entre 2 e 5 nm e potencial zeta de $-20,1$ mV, as nanopartículas se acumularam no tecido tumoral, nos rins e no fígado após administração intravenosa; o fígado foi eliminado de qualquer sinal de fluorescência em até 3 horas, enquanto os rins apresentaram emissão fluorescente por até 24 horas; a urina coletada entre 30 minutos e 1 hora apresentou as maiores concentrações de CDs, com desaparecimento total do sinal após 24 horas, confirmando a excreção renal rápida e quase completa das partículas [49].

Em um estudo comparativo de vias de administração com CDs de diâmetro hidrodinâmico de 4,1 nm funcionalizados com PEG e corante ZW800, os CDs foram administrados a camundongos por três rotas diferentes: intravenosa (IV), intramuscular (IM) e subcutânea (SC). O grupo administrado por via subcutânea apresentou maior retenção tumoral ao longo de 24 horas em comparação com as outras vias; quanto à excreção, todos os grupos eliminaram eficientemente os CDs pelo sistema renal em até 24 horas, sem acúmulo significativo em órgãos, seguindo a ordem de velocidade de eliminação: $IV > IM > SC$ [31]. O estudo de biodistribuição demonstrou que a maioria dos CDs se acumulou transitoriamente nos rins 1 hora após a administração, na ordem $IM > IV > SC$, e que os CDs remanescentes no organismo após 24 horas foram mínimos em todos os órgãos nas três vias de administração, indicando que a excreção urinária foi completa ou quase completa [49].

Em outro estudo de distribuição de longo prazo com CDs rastreados por espectrometria de massa, técnica mais precisa que a fluorescência para esse fim, pois elimina os fatores de interferência como variações de pH, agregação e mascaramento por fluidos biológicos, os resultados mostraram que CDs apresentaram apenas 2% de retenção por grama de dose injetada no pulmão e 5% no baço, com o fígado exibindo a maior retenção (menos de 12% por grama de dose), e baixas quantidades nos demais órgãos após 30 dias, perfil de acúmulo muito mais favorável do que o de nanotubos de carbono e óxido de grafeno, que apresentaram 55% e 43% de retenção nos pulmões, respectivamente, com anomalias funcionais em rins e fígado [49].

7.2.5 Excreção Hepática: Via Secundária e Riscos Associados

Para CDs cujo diâmetro hidrodinâmico supera o limiar de filtração glomerular, seja por tamanho intrínseco do núcleo ou por adsorção de proteínas plasmáticas que elevam o tamanho hidrodinâmico efetivo,, a via hepática constitui o principal mecanismo de eliminação, caracterizando-se por ser um processo mais lento e potencialmente associado à retenção prolongada e toxicidade cumulativa [7,49].

Os CDs que não são excretados pelos rins entram no fígado pela artéria hepática ou pela veia porta e são transportados pelo fluxo sanguíneo até os sinusoides hepáticos, microestruturas vasculares únicas, revestidas por células endoteliais sinusoidais do fígado (LSECs), que formam uma barreira porosa entre o sangue e os hepatócitos [49]. As fenestrações das LSECs, com diâmetro médio de 100 a 120 nm, permitem a passagem de pequenas moléculas e de nanopartículas menores, enquanto retêm a maioria dos microrganismos e das partículas maiores. Os CDs que passam pelas LSECs interagem com os hepatócitos e podem ser transportados de volta à corrente sanguínea ou, por excreção biliar, direcionados às fezes [49].

As células de Kupffer, que são macrófagos hepáticos residentes com alta atividade fagocítica, têm papel central no processamento dos CDs no fígado, atuando por dois mecanismos: endocitose e pinocitose de nanopartículas, de um lado, e secreção de citocinas pró-inflamatórias, de outro, podendo desencadear resposta imune local em caso de sobrecarga [49]. O tamanho é o fator dominante no acúmulo hepático: estudos com GQDs de 5, 7, 12 e 21 nm de diâmetro demonstraram aumento gradual da retenção hepática à medida que o tamanho aumentava, com nanomateriais de 10 nm apresentando o dobro de retenção no sinusoide hepático em comparação com partículas de mais de 90 nm, e nanopartículas ultrapequenas sendo preferencialmente processadas nos sinusoides em relação a outras regiões extra-hepáticas [49]. A excreção hepática pode ser um processo extremamente lento, resultando em acúmulo indesejado e potencial toxicidade crônica; no entanto, evidências de degradação enzimática dos núcleos de carbono pelo organismo podem reduzir progressivamente o tamanho das nanopartículas acumuladas, facilitando sua posterior excreção renal [49].

O processo de opsonização, adsorção de proteínas plasmáticas à superfície dos CDs, é uma das forças mais importantes que determinam se os CDs serão eliminados pela via renal ou pela via hepática. Quando proteínas do sistema circulatório se adsorvem à superfície das nanopartículas,

elas formam uma camada denominada "corona proteica" que pode elevar o diâmetro hidrodinâmico efetivo dos CDs acima do limiar de filtração glomerular (~6 nm), direcionando-os ao processamento pelo SFM no fígado e baço [49]. CDs que se ligam fortemente às proteínas plasmáticas formam complexos acima do limiar da barreira de filtração e são processados predominantemente pelo fígado e pelo baço, razão pela qual a prevenção da opsonização por PEGilação é crítica não apenas para prolongar o tempo de circulação, mas também para manter o diâmetro hidrodinâmico efetivo abaixo do limiar renal e garantir a excreção urinária preferencial [49].

7.2.6 Metabolismo dos CDs: Biodegradação e Implicações Para a Segurança

Os núcleos de carbono dos CDs são recalcitrantes à modificação química nos sistemas corporais e são amplamente considerados excretados do organismo sem sofrerem metabolismo no sentido bioquímico clássico [49]. Essa característica difere substancialmente da dos fármacos orgânicos de baixo peso molecular, que são amplamente biotransformados pelas enzimas do citocromo hepático P450 antes da excreção. No entanto, a persistência dos CDs no organismo está associada não apenas ao tamanho, mas também à estabilidade e à natureza de seus grupos funcionais superficiais, e evidências recentes indicam que mecanismos enzimáticos podem promover a biodegradação parcial dos núcleos de carbono *in vivo* [49].

Foi demonstrado experimentalmente que a mieloperoxidase humana e a peroxidase eosinofílica, enzimas produzidas por neutrófilos e eosinófilos em condições inflamatórias, são capazes de promover a degradação de pontos de grafeno na presença de H₂O₂, com imagens de TEM revelando "desgaste" progressivo da superfície dos pontos, confirmado por espectroscopia Raman pela perda progressiva das regiões "defeituosas" e "grafíticas", e com redução das intensidades de fluorescência para menos de 30% do controle após 5 horas de incubação [49]. Essa degradação enzimática tem implicações diretas para a segurança dos green CDs: à medida que o núcleo de carbono é erodido pelas enzimas, o raio hidrodinâmico das nanopartículas diminui progressivamente até atingir o limiar de filtração glomerular, tornando possível a excreção renal de partículas que, inicialmente, eram grandes demais para esse processo, o que transforma a biodegradação enzimática em um mecanismo de autolimpeza do organismo [49].

7.2.7 Implicações Para o Design de Green CDs em Física Médica

A integração do conhecimento farmacocinético descrito neste tópico com os requisitos das aplicações teranósticas em física médica conduz a um conjunto de princípios de design que deve orientar a produção de CDs verdes para uso clínico [7,49,51].

O diâmetro hidrodinâmico efetivo dos CDs verdes após funcionalização deve ser cuidadosamente calibrado para equilibrar dois objetivos aparentemente contraditórios: ser suficientemente pequeno para garantir a excreção renal eficiente após o cumprimento da função terapêutica ou diagnóstica, que é favorecido por diâmetros abaixo de 6 nm; e ser suficientemente grande para permanecer em circulação tempo suficiente para o acúmulo tumoral via efeito EPR e para a captação celular mediada por receptores, favorecida por diâmetros entre 20 e 70 nm [49,51]. Essa tensão pode ser resolvida por estratégias de design que explorem a degradação controlada, como CDs encapsulados em nanocarreadores biodegradáveis maiores que, após atingirem o tumor, liberam os CDs de menor dimensão para excreção renal; ou CDs funcionalizados com ligantes que promovem rápida internalização celular, seguida de degradação lisossômica, reduzindo o tempo de exposição sistêmica [49].

A carga superficial deve ser projetada como neutra ou ligeiramente negativa, característica intrínseca dos green CDs hidrotermais ricos em grupos $-\text{COOH}$ e $-\text{OH}$ — para minimizar a opsonização, evitar a captura pelo SFM e propiciar a excreção renal preferencialmente urinária [7,49]. A PEGilação, além de prevenir a opsonização e prolongar o tempo de circulação, confere neutralidade de carga efetiva e aumenta a probabilidade de excreção renal de partículas que, sem o polímero, poderiam ser capturadas pelo fígado [7]. Finalmente, a origem da matéria-prima e os parâmetros da síntese verde devem ser rigorosamente monitorados para evitar a dopagem involuntária por traços de metais pesados que alterem a densidade, a carga superficial ou o comportamento biológico dos CDs, garantindo que o perfil farmacocinético favorável observado em estudos com materiais bem caracterizados seja reproduzível em escala de produção [7].

7.3 Análise Comparativa de Biossegurança frente a Nanopartículas Convencionais

A avaliação comparativa do perfil de biossegurança dos pontos de carbono de síntese verde frente a outras classes de nanopartículas, especialmente os pontos quânticos semicondutores à base de metais pesados, que historicamente dominaram as pesquisas em nanomedicina, é

fundamental para situar os green CDs no panorama regulatório e clínico atual e para justificar tecnicamente a escolha desses materiais como candidatos de maior segurança para plataformas teranósticas em física médica [38,58].

7.3.1 Classificação das Subclasses de CDs: Base para a Análise Comparativa

Para uma comparação adequada de biossegurança, é necessário distinguir as subclasses de CDs entre si, uma vez que seus comportamentos farmacológicos e toxicológicos diferem em função de suas características estruturais e dos métodos de síntese empregados [58]. Os CDs são classificados em quatro categorias principais: os pontos quânticos de carbono (CQDs), nanosferas cristalinas ricas em grupos funcionais que contribuem para sua luminescência e confinamento quântico; os pontos quânticos de grafeno (GQDs), fragmentos de grafeno em camadas com efeitos de borda pronunciados; os nanodots de carbono (CNDs), altamente carbonizados mas carentes de estrutura cristalina clara e confinamento quântico; e os pontos de polímero de carbono (CPDs), nanohíbridos com núcleo carbonoso e camada polimérica externa [58]. Além dessas classificações estruturais, uma abordagem crescente na literatura diferencia os CDs quanto à origem dos precursores, destacando os CDs derivados de biomassa, frequentemente denominados green CDs, cuja principal característica está associada ao método de síntese sustentável e não necessariamente a uma estrutura distinta, que oferecem uma alternativa mais sustentável, segura e ecologicamente responsável tanto em relação aos QDs metálicos quanto aos CDs aromáticos de hidrocarbonetos [58].

Do ponto de vista funcional, cada subclasse apresenta vantagens e limitações específicas: GQDs oferecem condutividade e fotoestabilidade superiores, mas enfrentam barreiras de escalabilidade e custo; CQDs apresentam fotoluminescência sintonizável e síntese relativamente simples, mas com heterogeneidade que compromete a reprodutibilidade; CNDs destacam-se em biocompatibilidade, mas sofrem de menor rendimento quântico; CPDs mitigam isso com alta eficiência de emissão por passivação polimérica, mas com estabilidade química de longo prazo incerta em ambientes fisiológicos; e CDs de biomassa oferecem a rota mais sustentável e ecológica, com biocompatibilidade intrínseca favorecida, mas com variabilidade de lote para lote e menor controle sobre uniformidade de tamanho [58].

7.3.2 Pontos Quânticos de Metais Pesados: Mecanismos de Toxicidade

Os pontos quânticos semicondutores convencionais, como CdSe/ZnS, CdTe e InP/ZnS, constituem os nanomateriais fluorescentes com o maior histórico de uso na pesquisa biomédica, apresentando rendimentos quânticos elevados, fotoestabilidade superior e emissão sintonizável em uma ampla faixa espectral [38]. Contudo, a viabilidade clínica desses materiais é fundamentalmente comprometida pelos riscos toxicológicos associados aos metais pesados presentes em sua composição, em particular o cádmio, o chumbo e o selênio, elementos com toxicidade sistêmica comprovada, mecanismos de bioacumulação em órgãos vitais e potencial carcinogênico e mutagênico [38,58].

Os mecanismos de toxicidade dos QDs metálicos atuam por múltiplas vias simultâneas. O cádmio livre liberado pela oxidação da superfície dos QDs de CdSe inibe a atividade de enzimas dependentes de zinco e cálcio, perturba a homeostase dos íons intracelulares e induz apoptose mitocondrial em concentrações nanomolares [58]. A geração de ROS induzida pelos QDs metálicos resulta em peroxidação lipídica, desnaturação proteica e danos ao DNA, por um mecanismo análogo ao dos CDs catiônicos, porém, com a agravante de que os metais liberados amplificam a produção de ROS de forma catalítica e cumulativa [58]. Dados experimentais documentam que pontos quânticos de CdTe são significativamente mais tóxicos do que os de CdS, e que a dependência da toxicidade em relação à carga, ao tamanho e à dose é pronunciada. QDs menores entram nas células mais facilmente por endocitose inespecífica, o que resulta em maior estresse oxidativo, enquanto QDs maiores causam ruptura de membrana com mais frequência [58]. A bioacumulação de metais pesados em tecidos corporais, especialmente rins, fígado e cérebro, persiste por meses ou anos após a exposição, tornando esses materiais particularmente desafiadores para aplicações sistêmicas repetidas em humanos, devido ao risco de retenção prolongada e de liberação de íons metálicos tóxicos [58].

Os nanoconjugados metálicos à base de prata (Ag@CDs), na concentração de 100 µg/mL em células HeLa, exibiram alterações morfológicas pronunciadas, redução da densidade celular e aumento da apoptose mediada por ROS, com fluorescência intensa de indicadores de estresse oxidativo, enquanto os nanoconjugados de ouro (Au@CDs), na mesma concentração, induziram apenas 10% de morte celular, confirmando a maior citotoxicidade dos compostos de prata [58]. Ensaio comparativos com CQDs dopados com diferentes metais documentaram a seguinte ordem decrescente de toxicidade em fibroblastos C2C12: Ag-CQDs > Fe-CQDs > Cu-CQDs ≈ Mn-CQDs > CDs não dopados. As nanopartículas de Ag-CQDs produzindo 100% de

letalidade em todas as doses testadas (10–500 µg/mL), os Fe-CQDs produzindo ~20,6% de letalidade em 50 µg/mL e letalidade total em concentrações ≥ 100 µg/mL, e os CDs não dopados produzindo 89,4% de letalidade apenas na dose máxima de 500 µg/mL [58].

7.3.3 Comparação Direta: CDs vs. QDs de Metais Pesados

A análise comparativa direta entre CDs e QDs de metais pesados revela diferenças fundamentais nos perfis de biossegurança que justificam a preferência por CDs como plataformas teranósticas em contextos clínicos. O estudo de referência que avaliou simultaneamente seis tipos de CDs e pontos quânticos semicondutores em *Chlorella pyrenoidosa* documentou a seguinte ordem crescente de toxicidade: CuInS₂/ZnS QDs $\approx$ CDs não dopados < CDs dopados < N-CDs << S, N-CDs < QDs de CdS < QDs de CdTe [38]. Essa hierarquia demonstra que, mesmo entre os CDs de maior toxicidade relativa, os S, N-CDs apresentam toxicidade substancialmente inferior à dos QDs de CdS, que, por sua vez, são menos tóxicos que os de CdTe, os QDs de maior toxicidade documentada em uso biomédico [38].

As vantagens comparativas dos CDs em relação aos QDs de metais pesados podem ser sistematizadas em três dimensões principais. Na dimensão da composição elementar, os CDs são constituídos por carbono, oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, elementos abundantes no ecossistema biológico, sem potencial de bioacumulação como os metais pesados e sem toxicidade intrínseca em condições fisiológicas; os QDs metálicos contêm cádmio, selênio, chumbo ou índio, elementos com toxicidade sistêmica documentada que continuam a ser liberados por oxidação ou degradação química mesmo após o encapsulamento superficial [38,58]. Na dimensão da farmacocinética, os CDs com DH inferior a 6 nm são excretados eficientemente pelo rim em horas, sem bioacumulação detectável nos órgãos; os QDs metálicos, em razão de sua maior densidade e da resistência à degradação dos núcleos metálicos, tendem a acumular-se no fígado, no baço e, potencialmente, no cérebro por períodos que podem exceder meses, risco crítico para a segurança de longo prazo no uso clínico [49,58]. Na dimensão do impacto ambiental, os CDs de biomassa são sintetizados a partir de matérias-primas renováveis e não tóxicas, com geração mínima de resíduos perigosos; os QDs metálicos dependem de precursores químicos tóxicos e geram resíduos contaminados por metais pesados, que representam risco de contaminação de ecossistemas aquáticos e da microbiota do solo [58].

Comparados a outras nanopartículas carbonáceas convencionais, como nanotubos de carbono e óxido de grafeno, os CDs também apresentam vantagens farmacocinéticas expressivas: enquanto nanotubos e óxido de grafeno demonstraram alta retenção pulmonar de 55 a 43% da dose injetada e causaram anomalias na função renal e hepática em modelos murinos, os CDs exibiram apenas 2% de retenção pulmonar e alta biocompatibilidade sem efeitos adversos, atribuídos ao seu menor tamanho, maior hidrofiliabilidade e perfis liberáveis pelo rim [49].

7.3.4 CDs de Síntese Verde vs. CDs de Precursores Sintéticos

Dentro da categoria dos CDs, a distinção entre aqueles produzidos por síntese verde a partir de biomassa natural e aqueles sintetizados a partir de precursores químicos aromáticos hidrocarbonáceos é relevante do ponto de vista da biossegurança e da viabilidade translacional [27,58]. CDs quimicamente derivados, sintetizados a partir de compostos como o-fenilenediamina ou outros hidrocarbonetos aromáticos, podem alcançar maior controle sobre o tamanho e a sintonização óptica, mas são limitados pelo uso de precursores potencialmente tóxicos, pelo maior custo, pela menor biocompatibilidade intrínseca e pela necessidade de extensas modificações pós-síntese para adequação biomédica [58]. Os CDs de hidrocarbonetos aromáticos apresentam ainda risco adicional de contaminação por compostos policíclicos aromáticos (PAHs), subprodutos da síntese com atividade carcinogênica documentada, que podem persistir como impurezas nos lotes quando as etapas de purificação forem inadequadas [58].

Os CDs verdes, ao contrário, utilizam matérias-primas naturais que reduzem a complexidade e a toxicidade da síntese, alinham-se às metas de sustentabilidade ambiental e apresentam biocompatibilidade intrínseca, favorecida pela origem biológica dos precursores [27,58]. CDs derivados de biomassa, como extratos vegetais, cascas de frutas e resíduos alimentares, exibem maior biocompatibilidade devido a vias de síntese menos nocivas e a menores concentrações de subprodutos tóxicos, além de se alinharem plenamente aos princípios da química verde que norteiam o design de nanomateriais seguros e sustentáveis para uso médico [7,27]. CDs derivados de plantas demonstraram ainda propriedades adicionais de interesse oncológico: CDs de gengibre e de *Nerium oleander*, por exemplo, exibiram citotoxicidade seletiva contra células cancerígenas, com preservação das células normais adjacentes, propriedade atribuída à presença de fitoquímicos bioativos incorporados durante a carbonização, que contribuem para mecanismos antitumorais independentes da ação fototerapêutica [58].

7.3.5 Desafios Para a Tradução Clínica e Perspectivas Regulatórias

Apesar das vantagens de biossegurança documentadas, a tradução clínica dos CDs verdes enfrenta desafios que precisam ser sistematicamente abordados antes da aprovação regulatória para uso em seres humanos [5,7,20]. O principal desafio consiste na escassez de estudos de toxicidade crônica de longo prazo, superiores a um ano, incluindo ensaios imunológicos, genotoxicidade e exposição a múltiplas doses em regimes terapêuticos realistas, que estão ausentes na maioria dos estudos publicados até o momento [20]. A variabilidade de lote para lote, decorrente da heterogeneidade das fontes de biomassa, compromete a reprodutibilidade e a padronização necessárias à aprovação clínica, uma vez que mesmo pequenas mudanças nos precursores ou nas condições de síntese podem resultar em variações significativas nas propriedades ópticas, no perfil de toxicidade e na funcionalização superficial dos CDs produzidos [58].

A ausência de protocolos padronizados de síntese, critérios estabelecidos de caracterização e ensaios toxicológicos reprodutíveis constitui um obstáculo regulatório crítico: tanto a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA quanto a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) não possuem diretrizes específicas para nanomateriais à base de carbono, o que torna o processo de aprovação incerto e variável entre regiões [7]. A toxicidade associada à fotodegradação dos CDs sob irradiação de luz, relevante para as aplicações de PDT e bioimagem contínua, requer investigação aprofundada, assim como os potenciais interações de longo prazo com proteínas plasmáticas, o sistema do complemento e células imunes, em concentrações e durações de exposição realistas [20].

Perspectivas metodológicas emergentes apontam para o uso de inteligência artificial e aprendizado de máquina, bem como de modelos supervisionados e não supervisionados, treinados com descritores físico-químicos dos CDs, como ferramentas para a predição de citotoxicidade e a otimização do design de nanomateriais mais seguros, potencialmente acelerando o processo de desenvolvimento e reduzindo a dependência de estudos extensivos em animais [53]. A consolidação dos green CDs como plataformas teranósticas clinicamente aprovadas dependerá da construção de um banco de dados normativo de toxicidade, da padronização dos protocolos de síntese verde, do desenvolvimento de tecnologias de reatores de fluxo contínuo para produção escalável e reprodutível, e da condução de ensaios clínicos multicêntricos em larga escala que validem a segurança e a eficácia desses materiais em populações diversas de pacientes oncológicos [5,7,58].

Em síntese, os CDs obtidos por síntese verde a partir de biomassa representam a subclasse de nanomateriais fluorescentes com o perfil de biossegurança mais favorável disponível na atualidade para aplicações em física médica oncológica, superando os QDs de metais pesados em todas as dimensões de segurança, composição elementar, mecanismos de toxicidade, farmacocinética de eliminação e impacto ambiental, e apresentando vantagens adicionais de biocompatibilidade intrínseca e sustentabilidade ecológica em relação aos CDs de precursores sintéticos aromáticos. Sua consolidação como agentes teranósticos aprovados clinicamente depende de esforços coordenados em padronização, escalabilidade e avaliação toxicológica de longo prazo, desafios que, ao serem superados, posicionarão os green CDs como componentes fundamentais da próxima geração de terapias oncológicas de precisão [27,38,58]. Sob a perspectiva da Física Médica, o perfil de biossegurança dos CDs verdes apresenta ainda uma implicação adicional relacionada aos princípios da proteção radiológica. Em procedimentos de medicina nuclear e de imagem molecular, o princípio ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*) estabelece que as exposições à radiação ionizante devem ser mantidas tão baixas quanto razoavelmente possível, sem comprometer a qualidade diagnóstica ou terapêutica. Nesse contexto, o desenvolvimento de plataformas teranósticas altamente sensíveis e biocompatíveis, como os CDs verdes, pode contribuir para a otimização dos procedimentos ao favorecer maior eficiência na detecção e no monitoramento tumoral, reduzindo potencialmente a necessidade de repetição de exames ou do emprego de atividades radioativas acima do estritamente necessário. Ressalta-se, entretanto, que essa contribuição é indireta e depende da validação clínica de cada sistema, não decorrendo da capacidade dos CDs de reduzir ou bloquear a radiação ionizante, mas de seu desempenho como nanoagentes de imagem e de terapia mais seguros e eficientes [5,7,58,59].

8. CONCLUSÃO

A presente revisão da literatura buscou investigar o estado da arte das nanopartículas de carbono obtidas por síntese verde (green carbon dots, CDs) e suas aplicações em física médica, com ênfase particular na nanotecnologia teranóstica, bem como na segurança radiológica e biológica desses materiais. O conjunto de evidências reunido ao longo dos capítulos permite afirmar que os CDs obtidos por síntese verde constituem, atualmente, uma das plataformas nanométricas de grande potencial para a oncologia de precisão.

Do ponto de vista estrutural e fotofísico, os CDs verdes revelaram-se nanomateriais de arquitetura eletrônica híbrida, com coexistência de domínios sp^2 grafíticos e regiões amorfas sp^3 , cuja fotoluminescência, absorção óptica e propriedades de conversão de energia são intrinsecamente moduláveis pela composição do precursor de biomassa, pelos parâmetros da síntese hidrotermal e pelas estratégias de dopagem e de funcionalização superficial adotadas. A emissão dependente do comprimento de onda de excitação, a fotoestabilidade superior aos corantes orgânicos convencionais e a sintonizabilidade da emissão para as janelas terapêuticas NIR I e NIR II, com profundidades de penetração tecidual de 5 a mais de 20 mm, superiores às da imagem óptica convencional, fundamentam a aptidão técnica desses materiais para as aplicações de bioimagem de alta resolução investigadas. A fosforescência à temperatura ambiente e as propriedades de conversão ascendente e descendente ampliam ainda mais o espectro de modalidades diagnósticas acessíveis com uma única nanopartícula de síntese verde.

No plano das rotas de obtenção, a síntese hidrotérmica bottom-up a partir de biomassa consolidou-se como a estratégia mais adequada para a produção de green CDs destinados à física médica, não apenas por sua operacionalidade simples, baixo custo e ausência de reagentes tóxicos, mas sobretudo por sua capacidade de transferir heteroátomos naturalmente presentes nos precursores, como nitrogênio e enxofre, diretamente para a estrutura das nanopartículas por autodopagem, gerando materiais com rendimentos quânticos e propriedades ópticas superiores em uma única etapa reacional. A codopagem com os elementos N e S, com elevação reportada da eficiência quântica de fluorescência (FQY) de 5,3% para 73% e do tempo de vida de fluorescência de 7,45 ns para 12,11 ns, exemplifica o potencial desses nanomateriais. As estratégias de engenharia de superfície, por meio de passivação, dopagem estrutural e/ou funcionalização, demonstraram ser determinantes críticos do desempenho dos CDs, habilitando a bioconjugação com ligantes direcionadores, a responsividade ao pH tumoral e a complexação de íons metálicos para imagem, sem comprometer o perfil de segurança dos materiais quando aplicadas adequadamente.

A plataforma teranóstica baseada em CDs verdes revelou-se capaz de integrar, em uma única nanopartícula de síntese sustentável, algumas capacidades simultaneamente: diagnóstico por fluorescência de alta resolução nas janelas NIR I e NIR II; terapia fotodinâmica com geração eficaz de espécies reativas de oxigênio; terapia fototérmica com eficiências de conversão fototérmica de até 78%, superiores às de nanoestruturas de ouro; e entrega direcionada de quimioterápicos com liberação responsiva ao microambiente tumoral ácido. O efeito EPR,

analisado como o fundamento físico que viabiliza o direcionamento passivo de todas essas modalidades ao microambiente tumoral, revelou sua heterogeneidade clínica como principal obstáculo translacional, bem como as estratégias de amplificação farmacológica e física como caminhos promissores para superar essa limitação no contexto dos CDs obtidos por síntese verde.

No que diz respeito à segurança biológica, dimensão central para qualquer agente destinado à física médica clínica, o conjunto de evidências *in vitro* e *in vivo* revisado sustenta que os CDs verdes apresentam o perfil de biocompatibilidade mais favorável entre os nanomateriais fluorescentes estudados para aplicações oncológicas. A farmacocinética de eliminação renal preferencial, associada à densidade reduzida e à ausência de núcleos metálicos biopersistentes, distingue, de forma fundamental, os CDs verdes dos nanomateriais metálicos em termos de segurança de longo prazo.

Ademais, a revisão da literatura identificou um conjunto de limitações que condicionam a tradução clínica dos CDs verdes e definem as fronteiras mais relevantes da área. A ausência de estudos de toxicidade crônica com duração superior a um ano e em regimes de múltiplas doses representa a lacuna mais crítica, visto que os protocolos terapêuticos oncológicos tipicamente exigem administrações repetidas ao longo de semanas ou meses. A heterogeneidade do efeito EPR em tumores humanos e a interação dos CDs com proteínas plasmáticas em condições fisiológicas reais são dimensões que demandam investigação aprofundada antes do emprego clínico sistemático desses materiais.

A síntese verde sustentável, a engenharia de superfície dirigida e as plataformas teranósticas posicionam os CDs verdes não apenas como objetos de pesquisa básica, mas como candidatos reais à próxima geração de agentes de diagnóstico e terapia oncológica em física médica, e reúnem, em uma única nanopartícula de origem ecologicamente responsável, as capacidades de ver, tratar e confirmar o tratamento do câncer simultaneamente, sem os riscos toxicológicos associados aos nanomateriais fluorescentes convencionais.

Conclui-se, portanto, que os pontos de carbono de síntese verde representam uma convergência tecnologicamente viável e cientificamente fundamentada às exigências da física médica moderna. Os resultados revisados indicam que sua efetiva consolidação como ferramentas clínicas aprovadas dependerá do preenchimento das lacunas aqui identificadas, desafios que, quando superados, posicionarão os CDs verdes como componentes fundamentais das plataformas teranósticas de próxima geração para a oncologia de precisão.

9. REFERÊNCIAS

- [1] SINGH, Gurpreet; KAUR, Harpreet; SHARMA, Anjali; SINGH, Jaswinder; ALAJANGI, Harikrishna K.; KUMAR, Sunil; SINGLA, Neha; KAUR, Inderpreet; BARNWAL, Ravi Pratap. Carbon Based Nanodots in Early Diagnosis of Cancer. *Frontiers in Chemistry*, v. 9, 669169, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.669169>
- [2] NOCITO, Giuseppe; CALABRESE, Giuseppe; FORTE, Salvatore; PETRALIA, Salvatore; PUGLISI, Carmen; CAMPOLO, Mariangela; ESPOSITO, Emanuela; CONOCI, Sebastiano. Carbon Dots as Promising Tools for Cancer Diagnosis and Therapy. *Cancers*, v. 13, n. 9, 1991, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13091991>
- [3] GONZÁLEZ, Myriam; ROMERO, Maria P. Surface-Modified Carbon Dots for Cancer Therapy: Integrating Diagnostic and Therapeutic Applications. *International Journal of Nanomedicine*, v. 20, p. 7715–7741, 2025. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S508181>
- [4] SHEN, Cheng-Long; LIU, Hang-Rui; LOU, Qing; WANG, Feng; LIU, Kai-Kai; DONG, Lin; SHAN, Chong-Xin. Recent progress of carbon dots in targeted bioimaging and cancer therapy. *Theranostics*, v. 12, n. 6, p. 2860–2893, 2022. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.70721>
- [5] ZAYED, D. G.; ABDEL GALIL, R. M.; EBRAHIM, S. M. Carbon dots: Synthesis and applications in cancer therapy. *Trends in Pharmacology and Drug Delivery*, v. 1, n. 1, p. 89–100, 2025. DOI: <https://doi.org/10.62184/tpdd.jtpdd110020255>
- [6] SHANG, Jie; ZHOU, Qi; WANG, Kaijun; WEI, Yaping. Green Carbon Dots Engineering for Biomedical and Biotechnology Applications. *Molecules*, v. 29, artigo 4508, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules29184508>
- [7] KHAN, Muhammad Sohail; ZAFAR, Imran; HAM, Dayeon; KANG, Ki Sung; PARK, Il-Ho. Carbon Dots in Nanomedicine: Advanced Fabrication, Biomedical Applications, and Future Clinical Perspectives. *Pharmaceutics*, v. 18, n. 5, artigo 632, 2026. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics18050632>
- [8] GOLOMBEK, Sebastian K.; MAY, J. N.; THEEK, Boris; APPOLD, Laura; DRUDE, Niklas; KIESSLING, Fabian; LAMMERS, Twan. Tumor targeting via the EPR effect: Strategies to enhance patient responses. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 130, p. 17–38, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.007>

- [9] BALOU, Shima; SHANDILYA, Pramod; PRIYE, Arti. Carbon dots for photothermal applications. *Frontiers in Chemistry*, v. 10, artigo 1023602, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1023602>
- [10] ZHAO, Donghui; DENG, Yunhao; JIANG, Xianmeng; BAI, Yang; QIAN, Chen; SHI, Honglei; WANG, Jianhao. Advances in Carbon Dot Based Enhancement of Photodynamic Therapy of Tumors. *ACS Applied Bio Materials*, v. 7, n. 12, p. 8149–8162, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c01349>
- [11] SCHIAVON, Marco Antonio; MACHADO, Wagner Souza; LIMA, Luana Caroline de Oliveira. Pontos de carbono: síntese química, propriedades e aplicações – uma revisão. *Revista Virtual de Química*, v. 15, n. 6, 2023. DOI: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20230010>
- [12] XU, X.; RAY, R.; GU, Y.; PLOEHN, H. J.; GEARHEART, L.; RAKER, K.; SCRIVENS, W. A. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 40, p. 12736-12737, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja040082h>
- [13] SUN, Y. P.; ZHOU, B.; LIN, Y.; WANG, W.; FERNANDO, K. A.; PATHAK, P.; MEZIANI, M. J.; HARRUFF, B. A.; WANG, X.; WANG, H.; LUO, P. G.; YANG, H.; KOSE, M. E.; CHEN, B.; VECA, L. M.; XIE, S. Y. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence. *Journal of the American Chemical Society*, v. 128, n. 24, p. 7756-7757, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja062677d>
- [14] PRIYA, Rachna Chaudhary. Historical review and recent advances in the field of carbon dots with their applications. *Materials Chemistry and Physics: Sustainability and Energy*, v. 4, artigo 100028, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.macse.2025.100028>.
- [15] YAN, Z.; LIU, Y.; TAN, J.; QU, S. Carbon Dots for Cancer Theranostics: Synthesis Strategies, Luminescence Properties, and Advances in Bioimaging-Guided Diagnosis and Therapy. *Chemistry – A European Journal*, artigo e03605, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.202503605>
- [16] KUMAWAT, Manoj Kumar et al. A recent update on development, synthesis methods, properties and application of natural products derived carbon dots. *Natural Products and Bioprospecting*, v. 13, artigo 47, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-023-00415-x>

- [17] JAVED, Rabia et al. Green Carbon Dots: Synthesis, Characterization, Properties and Biomedical Applications. *Biology*, v. 12, n. 2, artigo 108, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology12020108>
- [18] ZARE, I. et al. Advancements in the green synthesis of carbon dots for sustainable development. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, v. 47, artigo 100910, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2024.100910>
- [19] KHAN, W. U. et al. Carbon dots for multifarious applications. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 496, artigo 215397, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215397>
- [20] TEGAF AW, Tadesse; MULUGETA, Endale; ZHAO, Dong; LIU, Yifan; CHEN, Xiaoyan; BAEK, Aeri; KIM, Jihye; CHANG, Yong; LEE, Geon-Hyeong. Surface Modification, Toxicity, and Applications of Carbon Dots in Cancer Theranostics: A Review. *Nanomaterials*, v. 15, n. 11, artigo 781, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano15110781>
- [21] LIU, Huan-Ping; YE, Tao; MAO, Chuanbin. Fluorescent Carbon Nanoparticles Derived from Candle Soot. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 46, n. 34, p. 6473–6475, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200701271>
- [22] SAHU, Swapan Kumar; BEHERA, Bhabani Shankar; MISHRA, Tirthankar Kumar; MOHAPATRA, Subhash Chandra. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents. *Chemical Communications*, v. 48, n. 70, p. 8835–8837, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1039/C2CC33796G>
- [23] WANG, Li; ZHOU, Huan-Sheng. Green Synthesis of Luminescent Nitrogen-Doped Carbon Dots from Milk and Its Imaging Application. *Analytical Chemistry*, v. 86, n. 18, p. 8902–8905, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac502646x>
- [24] LU, Shaobin et al. Hydrothermal synthesis of nitrogen-doped carbon dots with real-time live-cell imaging and blood–brain barrier penetration capabilities. *International Journal of Nanomedicine*, v. 11, p. 6325–6336, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S119252>
- [25] BHUNIA, Swagat Kumar et al. Imaging Cancer Cells Expressing the Folate Receptor with Carbon Dots Produced from Folic Acid. *ChemBioChem*, v. 17, n. 7, p. 614–619, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.201500694>

- [26] DONG, Yiqing et al. Carbon-Based Dots Co-doped with Nitrogen and Sulfur for High Quantum Yield and Excitation-Independent Emission. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 52, n. 30, p. 7800–7804, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201301114>
- [27] FATHI-KARKAN, Sonia; NASIRI, Sina; HASANNIA, Maliheh; RAHDAR, Abbas; NOURI, Mohammad; NAJAFI, Mehrdad; BASIRI, Arezoo; TEHRANI, Fatemeh Soltani; HASHEMI, Seyed Mehdi; FERREIRA, Luiz Fernando Romanholo. Green carbon dots and theranostic applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 108, artigo 106861, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106861>
- [28] SEZER, Emre; ULUCAN KARNAK, Fatma; AKGÖL, Serap. Green carbon dots in the AI era: Sustainable synthesis, smart drug delivery, advanced diagnostics, and bioimaging. *Turkish Journal of Biology*, v. 49, n. 5, p. 498–533, 2025. DOI: <https://doi.org/10.55730/1300-0152.2762>
- [29] YADAV, P. K.; CHANDRA, S.; KUMAR, V.; KUMAR, D.; HASAN, S. H. Carbon Quantum Dots: Synthesis, Structure, Properties, and Catalytic Applications for Organic Synthesis. *Catalysts*, v. 13, n. 2, artigo 422, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal13020422>
- [30] PECHNIKOVA, N. A.; DOMVRI, K.; PORPODIS, K.; ISTOMINA, M. S.; IAREMENKO, A. V.; YAREMENKO, A. V. Carbon Quantum Dots in Biomedical Applications: Advances, Challenges, and Future Prospects. *Aggregate*, v. 6, artigo e707, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1002/agt2.707>
- [31] MANSURIYA, Bhavin D.; ALTINTAS, Zeynep. Carbon dots: Classification, properties, synthesis, characterization, and applications in health care—An updated review (2018–2021). *Nanomaterials*, v. 11, n. 10, artigo 2525, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11102525>
- [32] LUMICHEMIST. *Jablonski Diagram.svg*. 2025. 1 imagem. Wikimedia Commons. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Jablonski_Diagram.svg
- [33] LIU, Junjun; LI, Rui; YANG, Bai. Carbon Dots: A New Type of Carbon-Based Nanomaterial with Wide Applications. *ACS Central Science*, v. 6, n. 12, p. 2179–2195, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01306>
- [34] MAAN, J. S.; SANTHOSH, M. K.; LEE, S. J. X.; LEOW, N. Z. Y.; MOHD ADLI, A. S. B.; TAI, C. J. Q.; LIM, J. H.; MUNIANDY, Y.; MAI, C. W.; TAN, T. L.; CHYE, S. M.; KOH, R. Y.; LIM, C. L. Carbon Quantum Dots as Versatile Nanosystems for Biomedical Innovation:

Mechanisms, Applications, and Translational Perspectives. *British Journal of Biomedical Science*, v. 83, artigo 15960, 2026. DOI: <https://doi.org/10.3389/bjbs.2026.15960>

[35] DENG, Y.; ZHAO, D.; CHEN, X.; WANG, F.; SONG, H.; SHEN, D. Pure organic long-lasting phosphorescence based on water-soluble carbon dots. *Chemical Communications*, v. 49, n. 51, p. 5751-5753, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3cc42600a>

[36] BEHI, Mahdi; GHOLAMI, Leila; NAFICY, Saeed; PALOMBA, Silvia; DEHGHANI, Fariba. Carbon dots: An innovative platform for biomedical applications. *Nanoscale Advances*, v. 4, n. 2, p. 353–376, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1039/D1NA00559F>

[37] SINGH, H.; RAZZAGHI, M.; GHORBANPOOR, H.; EBRAHIMI, A.; AVCI, H.; AKBARI, M.; HASSAN, S. Carbon dots in drug delivery and therapeutic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 224, artigo 115644, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2025.115644>

[38] ANSARI, Leila; HALLAJ, Somayeh; HALLAJ, Tahereh; AMJADI, Mohammad. Doped-carbon dots: Recent advances in their biosensing, bioimaging and therapy applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 203, artigo 111743, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111743>

[39] RADNIA, Farzaneh; MOHAJERI, Neda; ZARGHAMI, Nosratollah. New insight into the engineering of green carbon dots: Possible applications in emerging cancer theranostics. *Talanta*, v. 209, artigo 120547, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120547>

[40] KHAN, Afaq Ullah; LIU, Yanhong; WANG, Song; ULLAH, Muhammad Wajid; CHEN, Qitao; ZHANG, Dongxu; KANG, Zhenhui; MAO, Baodong. Advancements in the green synthesis of carbon dots for sustainable development. *Sustainable Materials and Technologies*, v. 41, artigo e01004, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2024.e01004>

[41] USMAN, Muhammad; CHENG, Sha. Recent trends and advances in green synthesis of biomass-derived carbon dots. *Eng*, v. 5, n. 3, p. 2223–2263, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/eng5030116>

[42] MAGESH, V.; SUNDRAMOORTHY, A. K.; GANAPATHY, D. Recent Advances on Synthesis and Potential Applications of Carbon Quantum Dots. *Frontiers in Materials*, v. 9, artigo 906838, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmats.2022.906838>

- [43] BRESSI, V.; BALU, A. M.; IANNAZZO, D.; ESPRO, C. Recent advances in the synthesis of carbon dots from renewable biomass by high-efficient hydrothermal and microwave green approaches. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, v. 40, artigo 100742, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100742>
- [44] KHOBREKAR, Pritesh P.; JADHAV, Ratan W.; KUNKALKAR, Rupesh A.; BUGDE, Sandesh T. Emerging Trends in Carbon Dots as Next Generation Biomaterials. *ACS Applied Bio Materials*, v. 8, n. 8, p. 6722–6744, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.5c01128>
- [45] ADRITA, S. H.; TASNIM, K. N.; RYU, J. H.; SHARKER, S. M. Nanotheranostic Carbon Dots as an Emerging Platform for Cancer Therapy. *Journal of Nanotheranostics*, v. 1, p. 58-77, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/jnt1010006>
- [46] BAO, Xiaodong; YUAN, Yifan; CHEN, Jiaqing; ZHANG, Bo; LI, Danlei; ZHOU, Dan et al. In vivo theranostics with near-infrared-emitting carbon dots—highly efficient photothermal therapy based on passive targeting after intravenous administration. *Light: Science & Applications*, v. 7, artigo 91, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41377-018-0090-1>
- [47] DAS, Surya; MONDAL, Somnath; GHOSH, Dhiman. Carbon quantum dots in bioimaging and biomedicines. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 11, artigo 1333752, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1333752>
- [48] TAO, Huiquan; YANG, Kai; MA, Zhen; WAN, Jianmei; ZHANG, Youjiu; KANG, Zhenhui; LIU, Zhuang. In vivo NIR fluorescence imaging, biodistribution, and toxicology of photoluminescent carbon dots produced from carbon nanotubes and graphite. *Small*, v. 8, n. 2, p. 281-290, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/smll.201101706>
- [49] TRUSKEWYCZ, Aleksandra; YIN, Hao; HALBERG, Nicole; LAI, David T. H.; BALL, Andrew S.; TRUONG, Vi Khanh; RYBICKA, Anna M.; COLE, Ivan. Carbon Dot Therapeutic Platforms: Administration, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity, and Therapeutic Potential. *Small*, v. 18, n. 10, artigo 2106342, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/smll.202106342>
- [50] KHAN, Mohammad Sameer; ALQAHTANI, Taha; AL SHMRANY, Humood; GUPTA, Garima; GOH, Khang Wen; SAHEBKAR, Amirhossein; KESHARWANI, Prashant. Enhanced permeability and retention (EPR) effect: Advances in nanomedicine for improved tumor targeting. *Biomaterials Advances*, v. 181, artigo 214636, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2025.214636>

- [51] SHARIFI, Mohammad; CHO, William Chi Shing; ANSARIESFAHANI, Amir; TARHAROUDI, Reza; MALEKISARVAR, Hamid; SARI, S.; BLOUKH, Salah H.; EDIS, Z.; AMIN, M.; GLEGHORN, Jason P. et al. An updated review on EPR-based solid tumor targeting nanocarriers for cancer treatment. *Cancers*, v. 14, n. 12, artigo 2868, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14122868>
- [52] LIU, Hui et al. Synthesis of Luminescent Carbon Dots with Ultrahigh Quantum Yield and Inherent Folate Receptor-Positive Cancer Cell Targetability. *Scientific Reports*, v. 8, artigo 893, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19373-3>
- [53] PATYAL, Rajan; WARJURKAR, Khushboo; SHARMA, Vinay. Carbon Dots for Next-Generation Cancer Theranostics: From Advanced Imaging to Targeted Therapy. *ACS Applied Bio Materials*, v. 8, n. 12, p. 10576–10602, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.5c01797>
- [54] WU, Jian. 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, artigo 771, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm11080771>
- [55] HUANG, Dong; SUN, Lin; HUANG, Lei; CHEN, Yuhua. Nanodrug delivery systems modulate tumor vessels to increase the enhanced permeability and retention effect. *Journal of Personalized Medicine*, v. 11, n. 2, artigo 124, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm11020124>
- [56] VAGENA, Ioanna-Angeliki; MALAPANI, Christina; GATOU, Maria-Alexandra; LAGOPATI, Niki; PAVLATOU, Eleni A. Enhancing the EPR Effect for Passive Tumor Targeting: Current Status and Future Perspectives. *Applied Sciences*, v. 15, n. 6, artigo 3189, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/app15063189>
- [57] BARTKOWSKI, Mateusz; ZHOU, Yifan; MUSTAFA, M. Nabil Amin; EUSTACE, A. J.; GIORDANI, Silvia. Carbon Dots: Bioimaging and Anticancer Drug Delivery. *Chemistry – A European Journal*, v. 30, artigo e202303982, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.202303982>
- [58] BHATTACHARYA, T.; DAS, T. Recent advances in biological waste-derived carbon dots for cancer theranostics toward a green solution to toxic metal quantum dots. *Discover Nano*, v. 20, artigo 223, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11671-025-04407-3>

- [59] MENDONÇA, R. P. et al. Principles of radiological protection and application of ALARA, ALADA, and ALADAIP: a critical review. *Brazilian Oral Research*, v. 39, artigo e14, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39936713/>
- [60] MOHKAM, Mohammad; SADRAEIAN, Mahdi; LAUTO, Antonio et al. Exploring the potential and safety of quantum dots in allergy diagnosis. *Microsystems & Nanoengineering*, v. 9, artigo 145, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41378-023-00608-x>
- [61] GHOSH, S.; GHOSAL, K.; MOHAMMAD, S. A.; SARKAR, K. Dendrimer functionalized carbon quantum dot for selective detection of breast cancer and gene therapy. *Chemical Engineering Journal*, v. 373, p. 468-484, 2019a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.05.023>
- [62] GEDDA, G.; SANKARANARAYANAN, S. A.; PUTTA, C. L.; GUDIMELLA, K. K.; RENGAN, A. K.; GIRMA, W. M. Green synthesis of multifunctional carbon dots from medicinal plant leaves for antimicrobial, antioxidant, and bioimaging applications. *Scientific Reports*, v. 13, artigo 6371, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33652-8>
- [63] AZAM, N.; ALI, M. N.; KHAN, T. J. Carbon Quantum Dots for Biomedical Applications: Review and Analysis. *Frontiers in Materials*, v. 8, artigo 700403, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmats.2021.700403>
- [64] YUAN, F.; LI, Y.; LI, X.; JIA, P.; FAN, L.; ZHOU, S.; ZHANG, Y.; ZHOU, J. Nitrogen Rich D- π -A Structural Carbon Quantum Dots with Bright Two-Photon Fluorescence for Deep-Tissue Imaging. *ACS Applied Bio Materials*, v. 1, n. 3, p. 853-858, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.8b00276>