

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ELAINE NUNES DA SILVA TEIXEIRA

**ESTUDO DE NANOESTRUTURAS HÍBRIDAS COMO SISTEMAS AVANÇADOS
PARA O TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DE 5-FLUOROURACIL NA TERAPIA
CONTRA O CÂNCER**

São Luís – MA

2022

ELAINE NUNES DA SILVA TEIXEIRA

**ESTUDO DE NANOESTRUTURAS HÍBRIDAS COMO SISTEMAS AVANÇADOS
PARA O TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DE 5-FLUOROURACIL NA TERAPIA
CONTRA O CÂNCER**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Química do Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Clécia Santos de Alcântara.

São Luís – MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Teixeira, Elaine Nunes da Silva.

ESTUDO DE NANOESTRUTURAS HÍBRIDAS COMO SISTEMAS
AVANÇADOS PARA O TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DE 5-FLUOROURACIL
NA TERAPIA CONTRA O CÂNCER / Elaine Nunes da Silva
Teixeira. - 2022.

63 f.

Orientador(a): Ana Clécia Santos de Alcântara.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2022.

1. 5-Fluorouracil. 2. Câncer. 3. Hidróxidos duplos
lamelares. 4. Pontos quânticos de carbono. 5. Sistemas
de liberação de fármacos. I. Alcântara, Ana Clécia Santos
de. II. Título.

ELAINE NUNES DA SILVA TEIXEIRA

**ESTUDO DE NANOESTRUTURAS HÍBRIDAS COMO SISTEMAS AVANÇADOS
PARA O TRANSPORTE E LIBERAÇÃO DE 5-FLUOROURACIL NA TERAPIA
CONTRA O CÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 28/03/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Ana Clécia Santos de Alcântara (Orientadora-UFMA)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Roberto Batista da Silva (UFMA)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Gilvan Pereira de Figueiredo (IFMA)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão-IFMA

AGRADECIMENTOS

A Deus, que de forma incondicional me amou, todas as palavras escritas aqui não seriam suficientes para expressar o quão grata sou por tudo que fizeste por mim. Você me aceitou, me conduziu e deu-me forças nos momentos difíceis. Muito obrigada Abba, toda honra e glória pertencem só a Ti.

À minha família, por ter me dado todo suporte, apoio e incentivo, em especial à minha mãe Lurde Ana, minha irmã Erika, meu marido Jean, minha sobrinha Ana Liz e meu pai Ezequias, que sempre acreditaram e investiram parte de seus sonhos em mim, estiveram ao meu lado e me deram toda e a melhor base e educação para que eu me tornasse quem sou hoje, motivo pelo o qual se tornou possível o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Ao meu grande amor, Luna, que ainda no ventre me acompanhou durante parte dessa jornada. Muito obrigada por me mostrar o lado mais leve e mais simples das coisas. Você é meu grande incentivo, te amo!

À minha orientadora, Professora Ana Alcântara, por ter confiado a mim o desenvolvimento de um de seus projetos e me aceitado como sua orientanda, pelo seu incentivo, por ter se mostrado solícita e compreensiva, pela paciência, amizade e por ter mostrado caminhos mais leves e tranquilos, tanto profissionais quanto pessoais.

À Elizaura, por sempre ter estado disposta a me auxiliar em todo o desenvolvimento deste trabalho de forma dedicada. Pela amizade nos momentos de alegria e nos momentos de dificuldades, pela paciência e compreensão.

À toda equipe do Bionanos, em especial a Elaine, Wemerson e Rebecca, por todo apoio e dedicação de forma integral na realização desse trabalho, sabendo que sem vocês não teria sido possível chegar até aqui.

À banca examinadora pela disponibilidade de avaliar e contribuir com este trabalho.

À FAPEMA pela concessão da bolsa.

À Central Analítica de Química- UFMA pelas análises de FTIR e DSC.

À Central Analítica de Materiais- UFMA pelas análises de DRX.

À Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos pelas análises de MEV e EDS.

À Universidade Federal do Maranhão e a todos os professores e funcionários que possibilitaram a realização de cada passo do mestrado.

**“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”
(Isaac Newton)**

RESUMO

O 5-Fluorouracil (5-FU) é um agente quimioterápico muito utilizado para o tratamento de diversos tipos de tumores sólidos. Entretanto, devido a sua baixa especificidade, apresenta alta toxicidade sobre o trato gastrointestinal e ação não seletiva contra células saudáveis. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi preparar e caracterizar um material híbrido baseado em *carbon quantum dots* (CQD) os quais são combinados com o composto de intercalação formado pelo 5-FU e sólido inorgânico hidróxido duplo lamelar (HDL), a fim de desenvolver um sistema que apresente capacidade de transporte e liberação do quimioterápico para células alvos específicas. O sistema resultante (CQD@HDL-5FU) e seus compostos isolados foram caracterizados por meio de diferentes técnicas físico-químicas e analíticas. A partir das técnicas de espectroscopia e análise de propriedades ópticas foi possível identificar a presença de CQD no híbrido. Os espectros de FTIR sugeriram que as principais interações entre o CQD com o fármaco e lamelas do HDL é estabelecida por pontes de hidrogênio. Além disso, a intercalação do fármaco no híbrido o concedeu maior estabilidade térmica, como apontado pelos estudos por DSC. Imagens de MEV demonstraram que a mistura física de CQD e HDL-5FU não provocou destruição da estrutura lamelar do HDL. As fórmulas mínimas obtidas a partir de EDS confirmaram a presença dos elementos Mg, Al e O no híbrido apontando uma distribuição homogênea de Mg e Al nas lamelas do HDL. Os ensaios de liberação mostraram que o agente quimioterápico liberado pelo sistema CQD@HDL-5FU denota maior seletividade de liberação no ambiente tumoral (pH 5,0).

Palavras-chave: 5-Fluorouracil. Hidróxidos duplos lamelares. Pontos quânticos de carbono. Sistemas de liberação de fármacos. Câncer.

ABSTRACT

5-Fluorouracil (5-FU) is a chemotherapeutic agent widely used for the treatment of several types of solid tumors. However, due to its low specificity, it presents high toxicity on the gastrointestinal tract and non-selective action against healthy cells. In this sense, the objective of this work was to prepare and characterize a hybrid material based on carbon quantum dots (CQD) which are combined with the intercalation compound composed by 5-FU drug and the Layered Double Hydroxide (LDH) inorganic solid, in order to develop a system that presents capacity of transport and release of the chemotherapeutic agent to specific target cells. The resulting system (CQD@LDH-5FU) and its isolated compounds were characterized using different physicochemical and analytical techniques. From spectroscopy techniques and optic properties analysis it was possible to identify the presence of CQD in the hybrid. The FTIR spectra suggested that the main interactions between the CQD with the drug and LDH lamellae is established by hydrogen bonds. Furthermore, the intercalation of the drug into the hybrid granted it higher thermal stability, as pointed out by DSC studies. SEM images demonstrated that the physical mixing of CQD and LDH-5FU did not cause destruction of the lamellar structure of the LDH. The minimum formulas obtained from EDS confirmed the presence of the elements Mg, Al and O in the hybrid indicating a homogeneous distribution of Mg and Al in the lamellae of the LDH. The release assays showed that the chemotherapeutic agent released by the CQD@LDH-5FU system denotes higher release selectivity in the tumor environment (pH 5.0).

Keywords: 5-Fluorouracil. Layered double hydroxide. Carbon quantum dots. Drug delivery system. Cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do perfil de concentração plasmática de um fármaco modelo no sangue com dosagem convencional (azul) e com liberação controlada (vermelho).	15
Figura 2. Representação esquemática da estrutura do HDL.	17
Figura 3. Representação esquemática, composição química do núcleo e da área superficial de um ponto quântico de carbono.	21
Figura 4. Estrutura química do 5-Fluorouracil.....	22
Figura 5. Representação esquemática para síntese do HDL pelo método de coprecipitação.....	27
Figura 6. CQD após processo de (a) purificação e liofilização; (b) maceração e (c) CQD em solução.	31
Figura 7. (a) HDL-5FU; (b) resultado do processo de mistura mecânica entre CQD e HDL-5FU e (c) CQD@HDL-5FU após processo de lavagem e secagem.	32
Figura 8. Soluções aquosas excitadas por radiação UV (365 nm): (a) CQD; (b)HDL-5FU e (c) CQD@HDL-5FU.	33
Figura 9. Espectros de absorção na região do UV-Vis para 5-FU, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.	34
Figura 10. Difratogramas de raios- X do 5-FU, CQD, HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.	35
Figura 11. Espectro de absorção na região do UV-vis da água da lavagem do CQD.	36
Figura 12. Representação esquemática do espaçamento basal do (b) HDL, (c) HDL-5FU e (d) CQD@HDL-5FU.	37
Figura 13. Espectros de infravermelho do CQD, 5-FU, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.....	39
Figura 14. Representação esquemática (a) estrutura externa do CQD dopado com nitrogênio, (b) molécula do 5-Fluorouracil e (c) molécula da Pirimidina multisubstituída.	40
Figura 15. Comparação dos espectros do CQD@HDL-5FU e HDL-5FU.....	41
Figura 16. Imagens de MEV do (a e a.1) CQD, (b e b.1) HDL-5FU e (c e c.1) CQD@HFL-5FU.	42
Figura 17. Espectros de EDS para (a) HDL-5FU e (b) CQD@HDL-5FU.	43
Figura 18. Curvas de DSC do (a) 5-FU, (b) CQD, (c) HDL, (d) HDL-5FU e (e) CQD@HDL-5FU realizadas em atmosfera de nitrogênio.	45
Figura 19. Perfil de liberação in vitro do 5-FU puro e intercalado nos híbridos HDL-5FU e CQD@HDL-5FU em tampão acetato (a) e tampão fosfato (b) e em detalhe, o perfil de liberação de até 8h em cada tampão.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de espaçamentos basais típicos para estruturas do tipo MgAl- (An-)-HDL.....	18
Tabela 2. Distâncias interplanares e ângulos $2\theta^\circ$ do HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FU - 5-Fluorouracil

CQD- Pontos quânticos de carbono (do inglês *Carbon quantum dots*)

CQD@HDL-5FU- Híbrido de Hidróxido Duplo Lamelar ,5-Fluorouracil e Pontos Quânticos de Carbono

DRX - Difração de Raios X

DSC- Calorimetria de varredura diferencial (do inglês *Differential sScanning cCalorimetry*)

DTA- análise térmica diferencial (do inglês *Differential thermal analysis*)

EDS- Espectroscopia por energia dispersiva

FTIR - Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

HDL - Hidróxido Duplo Lamelar

HDL-5FU - Híbrido de Hidróxido Duplo Lamelar e 5-Fluorouracil

MET- Microscopia Eletrônica de Transmissão

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Sistemas de Liberação Controlada	14
2.1.1 <i>Hidróxidos Duplos Lamelares</i>	17
2.1.2 <i>Pontos Quânticos de Carbono</i>	20
2.2 5-Fluorouracil	22
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Materiais	25
4.2 Métodos	25
4.2.1 <i>Síntese do Hidróxido duplo lamelar</i>	25
4.2.2 <i>Síntese do sistema HDL-5FU</i>	26
4.2.3 <i>Síntese do sistema CQD@HDL-5FU</i>	26
4.3 Caracterizações	27
4.3.1 <i>Quantificação de fármaco intercalado</i>	27
4.3.2 <i>Quantificação de CQD</i>	28
4.3.3 <i>Difração de Raios- X</i>	28
4.3.4 <i>Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier</i>	29
4.3.5 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	29
4.3.6 <i>Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)</i>	29
4.3.7 <i>Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)</i>	29
4.4 Ensaios de Liberação Controlada	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
5.1 Síntese do CQD@HDL-5FU	31
5.2 Caracterização do material CQD@HDL-5FU	34
5.3 Ensaios prévios de Liberação Controlada do quimioterápico 5-FU	45
6 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49
Apêndice A- Curva de calibração do 5-Fluorouracil	58
Apêndice B- Curva de calibração do CQD	60
Apêndice C- Síntese do híbrido CQD@HDL-5FU pelo método de troca iônica	61
Apêndice D- Síntese do híbrido CQD@HDL-5FU pelo método de reconstrução	62
Apêndice E – Refinamento estrutural pelo método de Rietveld	63

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 14 milhões de pessoas são diagnosticadas com câncer a cada ano, de tal forma que o câncer é considerado umas das maiores causas de mortalidade, com aproximadamente 9,6 milhões de mortes em 2018, superando outras doenças como HIV/AIDS, tuberculose e malária combinadas (WHO, 2019). Estima-se que entre 2020 e 2022 no Brasil haverá um aumento significativo de 625 mil novos casos de câncer (INCA, 2020).

Atualmente, existem vários tipos de tratamento para o câncer. O tratamento convencional, no entanto, baseia-se principalmente em terapia cirúrgica, radioterapia ou quimioterapia (JEMAL et al., 2017; FIDELES et al., 2021). A quimioterapia é uma das principais escolhas para o tratamento do câncer estando disponíveis diversos agentes quimioterápicos que são utilizados de acordo com a histopatologia do tumor e do tecido de origem (MARTINS et al., 2016; SHIELDS, 2017). Não obstante, apesar da quimioterapia ser direcionada às células tumorais, células saudáveis que possuem alta taxa de proliferação também são afetadas, como as células capilares, do trato gastrointestinal e da medula óssea (RAJI, 2005; SMITH; PREWETT, 2017; GEORGAKOPOULOU; STEBBING; SCULLY, 2018). Isso ocorre porque os agentes utilizados na quimioterapia convencional não distinguem as células saudáveis das neoplásicas, acarretando em efeitos colaterais indesejáveis como: alopecia, mielossupressão, anemia, linfomas e leucemia, o que reflete o alto nível de toxicidade associado a tais tratamentos (FEITELSON et al., 2015; SHARMA et al., 2015; ANSARIZADEH; SINGH; RICHARDS, 2017).

Uma alternativa viável para reverter esse quadro é a tecnologia dos sistemas de liberação de fármaco, que promovem um tratamento contínuo e com administração de pequenas doses do princípio ativo (DING; LI, 2017). O emprego de plataformas de liberação em terapias, devido suas dimensões, depende principalmente das propriedades físico-químicas da superfície do carreador (HERVAULT; THANH, 2014). Dessa forma, a superfície do carreador pode ser funcionalizada, proporcionando o aumento da biodisponibilidade de várias moléculas ativas, protegendo a molécula ativa contra inativação enzimática, direcionamento para regiões específicas na qual a ação terapêutica é desejada, além do aumento da solubilidade e eficiência de absorção pelos diferentes tecidos (VURAL; SARISOZEN; OLMEZ, 2011; DÜNNHAUPT et al., 2015; WANG et al, 2017).

Diversos sistemas para liberação controlada de drogas têm sido engendrados e descritos, com suas vantagens e desvantagens comparadas, podendo ser classificados em quatro grupos principais: carregadores virais, compostos catiônicos orgânicos, proteínas recombinantes e nanopartículas inorgânicas. Exemplos incluem: pontos quânticos (*quantum dots*) ou nanocompósitos magnético-fluorescentes; géis poliméricos; nanotubos de carbono ou sílica funcionalizados; cápsulas multilamelares de polieletrólitos; nanopartículas de ouro e hidróxidos duplos lamelares (DANIEL; ASTRUC, 2004; DROTTLEFF et al., 2004; MALMSTEN, 2006; SKRABALAK et al., 2007; CUNHA et al., 2010).

As vantagens no uso de plataformas de liberação em escala nanométrica residem na possibilidade de que: i) esses sistemas conseguem passar por vasos capilares devido ao baixo volume, além de minimizarem a ação de macrófagos do sistema de defesa, aumentando o tempo de permanência na corrente sanguínea; ii) conseguem penetrar em células e tecidos até chegar em alvos desejados, e; iii) aumentam a eficácia do tratamento e reduzem efeitos colaterais nos pacientes (LIU, 2008). Dessa forma, o estudo e desenvolvimento de materiais capazes de carrear o princípio ativo de forma segura no organismo é de suma importância para redução dos efeitos colaterais presentes nos tratamentos quimioterápicos, além de melhorar a performance de diversos fármacos que já estão no mercado, diminuindo a procura incessante de novos princípios ativos (DE SOUSA et al., 2020).

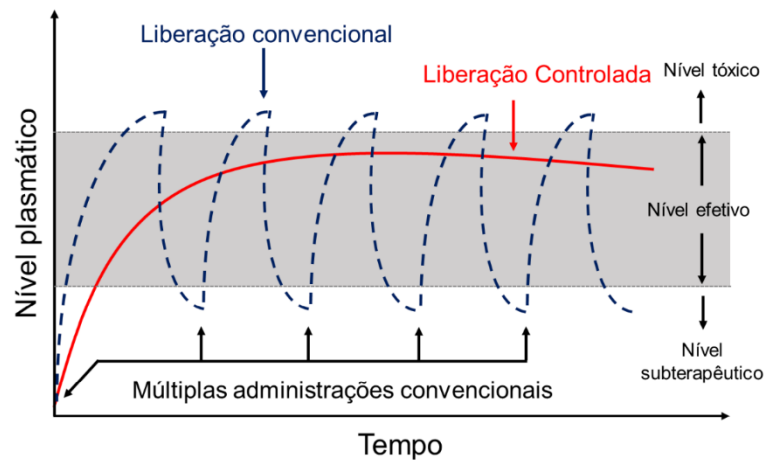
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sistemas de Liberação Controlada

Quando Paracelso, o precursor da quimioterapia e famoso alquimista da idade média, afirmou que: “A dose diferencia um veneno de um remédio”, ele abriu o leque para o desenvolvimento da toxicologia moderna, ressaltando a importância da relação dose-resposta, que tem sido base conceitual para a terapia farmacêutica. Entretanto, a primeira iniciativa para o desenvolvimento de um sistema que controlasse a administração de fármacos, surgiu quatro décadas depois da morte de Paracelso, no início do século XX, quando Paul Ehrlich propôs o seu modelo, que ficou conhecido como “bala mágica de Ehrlich” (*magic bullets*) (DURÁN; MATTOSO; MORAIS, 2006; HOFFMAN, 2008). Nesse modelo, o fármaco ligava-se a um suporte transportador, exercendo a sua atividade farmacológica no tecido alvo (LANZILLOTTI, 2012). Já em 1952, Smith Kline lançou no mercado o *Spansule* (dextroanfetamina), que consistia em cápsulas cheias de grânulos revestidos que dissolviam em diferentes velocidades, estimulando diversas pesquisas para outros tipos de formas farmacêuticas (ANSEL; ALLEN; POPOVICH, 2007; DAS; DAS, 2003; SANTOS et al., 2004).

Hoje, seguindo a mesma ideia, pesquisas têm sido dedicadas ao desenvolvimento de novas tecnologias para sistemas de liberação controlada. Os sistemas de liberação são materiais responsáveis por acumular o princípio ativo em sua composição e realizar o transporte ao alvo, como o próprio nome sugere. Em geral, os sistemas de liberação controlada oferecem várias vantagens quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos. Dentre essas vantagens é possível citar o direcionamento e facilitação da absorção do fármaco em um ponto específico do organismo ou grupo de células; proteção do princípio ativo de condições severas do organismo e de enzimas; possibilidade de utilizar substâncias hidrofílicas e lipofílicas e diminuição da quantidade de dosagens do fármaco ingerido pelo paciente, reduzindo o tempo do tratamento clínico. A Figura 1 apresenta o perfil de concentração plasmática de um fármaco modelo com administração tradicional e com liberação controlada (COELHO et al., 1984; PANYAM et al., 2003a; TIWARI et al., 2012; YAMASHITA; HASHIDA, 2013; DING; LI, 2017; DUMITRIU; POPA 2019).

Figura 1. Representação esquemática do perfil de concentração plasmática de um fármaco modelo no sangue com dosagem convencional (azul) e com liberação controlada (vermelho).



Fonte: CORRÊA, 2021.

Existem diversas classificações para os sistemas de liberação controlada de drogas, segundo alguns critérios. De acordo com a rota de administração, por exemplo, tais sistemas podem ser classificados em quatro classes: oral, transdérmico, injetável e inalável. Segundo o tipo de liberação eles podem ser de liberação sustentada, prolongada ou retardada. O tipo de mecanismo que controla a liberação do fármaco também determina a sua classificação, que é feita tomando-se por base o mecanismo principal. Existem três mecanismos primários pelos quais os fármacos podem ser liberados a partir de um dispositivo: (1) difusão, (2) reação química ou enzimática e (3) ativação pelo solvente por meio de osmose ou inchamento do sistema. Em função desses mecanismos, os sistemas podem ser classificados em: sistemas controlados por difusão, sistemas controlados quimicamente, sistemas osmoticamente controlados e sistemas controlados por expansão e contração (RATNER, 1996; SIMÓ; CIFUENTES; GALLARDO, 2003).

Uma outra abordagem na investigação do mecanismo de liberação de fármacos é a compreensão da cinética de liberação. Sendo este um aspecto crítico do processo e, portanto, deve ocorrer de maneira precisamente controlada a fim de que o fármaco desempenhe sua atividade biológica. As mais comumente usadas, devido à simplicidade de aplicação, são as de modelo de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Ritger-Peppas ou de Krosmeier. São modelos que, devido à complexidade dos sistemas de liberação, têm sido desenvolvidos com a finalidade de descrever a liberação do fármaco em função de alguns parâmetros relacionados

com a sua formulação farmacêutica (o tipo de fármaco, sua forma polimórfica, a cristalinidade, tamanho de partícula, solubilidade e quantidade incorporada). Entretanto, para a maior parte dos sistemas de liberação controlada de fármacos descritos na literatura, o mecanismo de liberação da droga pode ser modelado baseado nas expressões simplificadas de Higuchi. (RITGER; PEPPAS, 1987; LI et al., 2004; CHIME; ONUNKWO; ONYISHI, 2013; RIBEIRO; ESTESO, 2018).

O modelo de Higuchi descreve o mecanismo de liberação dos fármacos como um processo de difusão baseado na lei de Fick. A difusão de Fick é o processo pelo qual o fármaco é dissolvido antes de atravessar a membrana, sendo um fenômeno que não necessita de energia, é de primeira ordem, ou seja, atinge o equilíbrio quando as concentrações se tornam iguais de um lado e de outro da membrana e quando a velocidade de passagem é proporcional à quantidade que permanece por absorver; a liberação ocorre devido à diferença de concentração entre matriz e meio de dissolução. E é representado segundo a equação abaixo (equação 1), onde M_t/M_∞ é a fração de fármaco liberado em um tempo t e K corresponde a constante de velocidade de liberação (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; CHIAPPETTA et al., 2006).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^{1/2}$$

Dessa forma, o estudo da viabilidade de novos carreadores que possam modificar a liberação de fármacos e o desenvolvimento de cinéticas de liberação é fundamental, pois irá fornecer se realmente o sistema estudado apresenta capacidade ou não de modificar esse perfil (DASH et al., 2010). Alguns dos carreadores estudados afim de modular a taxa de liberação de medicamentos são: lipossomas, micelas, emulsões, sistemas poliméricos e uso de partículas inorgânicas. Essa última mostra-se promissora, tanto isolada quanto combinada. As nanopartículas inorgânicas também são interessantes para aplicação como carregadores de drogas, citando as nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono, sílica funcionalizada, hidróxidos duplos lamelares, *quantum dots*, dentre outras (CUNHA et al., 2010).

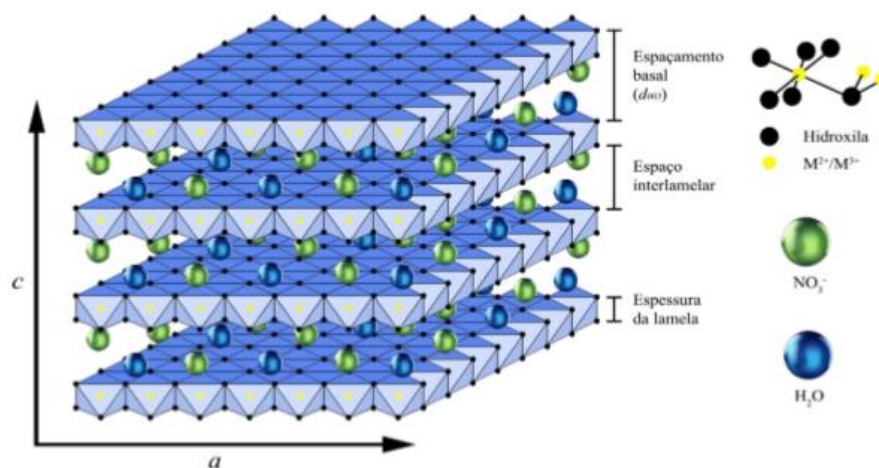
A estabilidade química dos carregadores inorgânicos possibilita maior tempo de armazenamento do fármaco, possibilidade de desenvolver sistemas de liberação controlada e sistemas alvo-específico, além de sensores para diagnóstico. O uso da nanotecnologia encontra-se, assim, entre as estratégias mais promissoras para as limitações das terapias convencionais, devido às suas características únicas podendo ser usadas estrategicamente como veículos

transportadores de fármacos (CUNHA et al., 2010; PELGRIFT; FRIEDMAN, 2013; GUPTA; LANDIS; ROTELLO, 2016).

2.1.1 Hidróxidos Duplos Lamelares

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL), também chamados argilas aniônicas, constituem grande família de sólidos lamelares que possuem formulação genérica do tipo $[M^{+2}_{1-x}M^{+3}_x(OH)_2]^{x+}(A^{m-})_{x/m}.nH_2O$, onde M^{+3} e M^{+2} representam cátions metálicos tri e divalentes, respectivamente, passíveis de ocuparem sítios octaédricos (Figura 2); e A^{m-} representa um ânion de compensação e X representando a razão molar ($M^{+3} / (M^{+2} + M^{+3})$) (RIVES; DEL ARCO; MARTIN, 2013). Nesses compostos, o cátion trivalente substitui isomorficamente um cátion divalente da estrutura do hidróxido, criando cargas residuais que são compensadas com a intercalação de ânions hidratados (SUAREZ; MOZO; OYAMA, 2004).

Figura 2. Representação esquemática da estrutura do HDL.



Fonte: PONTES-NETO, 2016.

A substituição dos cátions das lamelas é bastante flexível, podendo-se fazer uso de cátions de metais como: Zn, Co, Cu, Ni, Mg, Fe (divalentes) e Cr, Co, Fe, Al, Mn, Ga, lantanídeos (trivalentes). Entretanto, a variação na composição depende da natureza dos cátions e das razões molares M^{2+}/M^{3+} (X na fórmula geral) bem como do tipo de ânion intercalado. A razão molar entre os cátions pode variar em uma ampla faixa de $0,14 < x < 0,5$. Essa razão determina a densidade de carga da lamela do HDL, influenciando diretamente nas propriedades do material como na cristalinidade e na capacidade de troca iônica (CREPALDI; VALIM, 1998; MISHRA; DASH; PANDEY, 2018). Geralmente, o aumento desta razão diminui a

crystalinidade do material. Para valores fora deste intervalo são obtidos hidróxidos metálicos individuais ou sais dos metais envolvidos (GOH; LIM; DONG, 2008).

A mesma flexibilidade se aplica ao ânion presente no espaço interlamelar, com objetivo de balancear a carga positiva das lamelas, podendo ser substituído por diversos ânions como: CO_3^{2-} , Cl^- , NO_3^- , ou polioxametalatos, biomoléculas, fármacos ou até DNA (CREPALDI; VALIM, 1998; NEWMAN; JONES, 1998; LIANG et al., 2013; RIVES; DEL ARCO; MARTIN, 2014). Esta possibilidade de variação na composição do HDL proporciona a grande gama de materiais para as mais diferentes aplicações. A magnitude dos espaçamentos basais (d) e a estabilidade da estrutura lamelar são influenciadas pela geometria, tamanho, carga e orientação do ânion intercalado. A Tabela 1 apresenta os espaçamentos basais típicos para estruturas do tipo $\text{MgAl}-(\text{A}^n)\text{-HDL}$ com diferentes ânions intercalados, determinados pelo renomado pesquisador na área de HDLs, Myata, em 1983 (MIYATA, 1983).

Tabela 1. Valores de espaçamentos basais típicos para estruturas do tipo $\text{MgAl}-(\text{An})\text{-HDL}$.

Ânion	Espaçamento basal (d)/ Å
OH^-	7,55
CO_3^{2-}	7,65
F^-	7,66
Cl^-	7,86
Br^-	7,95
I^-	8,16
NO_3^-	8,79

Entretanto, os ânions podem ser facilmente trocados devido a forma desorganizada e a liberdade de movimentação que íons e moléculas têm nos espaçamentos interlamelares. Quanto mais fraca a interação do ânion com a lamela do HDL, maior será a facilidade de troca iônica. A sequência de interação dos ânions inorgânicos pode ser assim representada em ordem decrescente de estabilização da estrutura lamelar: $\text{CO}_3^{2-} / \text{OH}^- / \text{F}^- / \text{Cl}^- / \text{SO}_4^{2-} / \text{Br}^- / \text{NO}_3^- / \text{I}^-$ (MIYATA, 1983; BAIKOUSI et al., 2013).

Uma grande variedade de combinações e de proporção de cátions metálicos divalentes e trivalentes bem como métodos de síntese tem sido estudada para a obtenção de HDL. Os métodos para a síntese podem ser divididos em duas categorias: métodos de síntese direta e métodos de síntese indireta. Nos métodos diretos estão os de coprecipitação (ou sal- base), método sal-óxido, método hidrotérmico, hidrólise induzida, sol-gel e síntese eletroquímica. Os métodos indiretos empregam normalmente a troca iônica com ataque ácido ou a troca iônica com reconstrução do precursor calcinado (CREPALDI; VALIM, 1998; VACCARI, 1998; CUNHA et al., 2010; BENÍCIO et al., 2015; QU et al., 2016; MISHRA; DASH; PANDEY, 2018).

A metodologia mais comumente utilizada é a coprecipitação, nas quais as reações geralmente usam um sal solúvel dos cátions desejados (por exemplo, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$; $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$; $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ou $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) para obtenção de uma solução de metal misto, o qual é preparado com a mesma relação de cátions conforme desejado no produto final. A coprecipitação pode ocorrer a pH constante ou variável, onde o primeiro apresenta algumas vantagens como maior homogeneidade, melhor pureza de fase e melhor cristalinidade sobre o método que utiliza pH variável (THEISS; AYOKO; FROST, 2016). Para a síntese a pH constante, uma solução dos sais dos cátions é gotejada lentamente em uma solução do ânion a ser intercalado com a adição simultânea de uma solução alcalina que aumente o pH, levando a precipitação do HDL (SILVA et al., 2020).

Por apresentar uma rota simples e de baixo custo, diversos estudos têm sido dirigidos para a utilização dos HDL, destacam-se aplicações ambientais, em catálise, na agricultura, retardantes de chamas, estabilizantes térmicos, aplicações biológicas e medicinais. Na área da saúde, o uso dos hidróxidos duplos lamelares são amplamente explorados devido a boa biocompatibilidade, promoção da solubilidade de fármacos pouco solúveis, estabilidade térmica e eficiência como antiácidos (CUNHA et al., 2010; WANG; OHARE, 2012; KUTHATI; KANKALA; LEE, 2015).

O fator importante nos HDLs é a possibilidade de liberar os agentes ativos de maneira constante no local de destino. Tal efeito é possível devido a sua capacidade de melhorar a solubilidade dos fármacos sem modificar a estrutura química, conseqüentemente sua atividade farmacológica. Além, do perfil de liberação característico do HDL, que ocorre em duas etapas, inicialmente rápida, seguida por uma liberação mais lenta e contínua, geralmente relacionada à

troca aniônica com ânions do meio (PERIOLI; PAGANO, 2012; ROJAS et al., 2012; PERIOLI; MUTASCIO; PAGANO, 2013; LIU et al., 2014; MISHRA; DASH; PANDEY, 2018).

Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para uso como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada (CUNHA et al., 2010).

2.1.2 Pontos Quânticos de Carbono

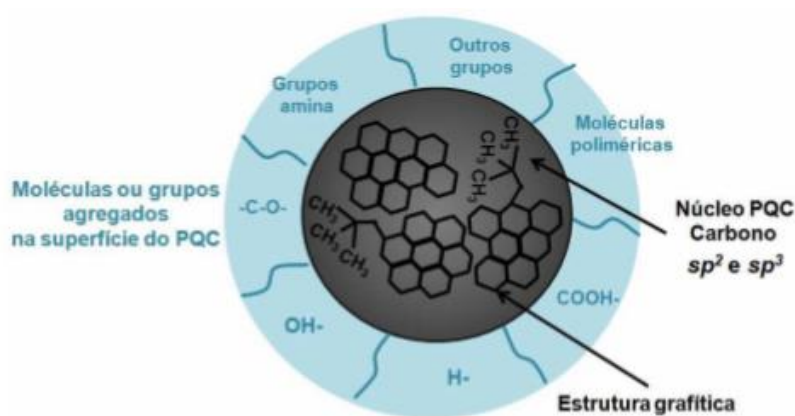
Atualmente, grande interesse tem surgido em nanomateriais de carbono devido às suas propriedades únicas. Pode-se dizer que a descoberta dos fulerenos em 1985 por Kroto, Smalley e Curl (KROTO et al., 1985), dos nanotubos de carbono por Iijima em 1991 (IJIMA, 1991), juntamente com a descoberta dos grafenos em 2004 por Geim e Konstantin (NOVOSELOV et al., 2004), abriram uma nova fronteira na química e na física do carbono. Esses nanomateriais de carbono têm sido considerados um tópico de interesse nas pesquisas atuais. Mais recentemente, uma nova classe de nanomateriais de carbono foi descoberta, os chamados pontos quânticos de carbono. De forma acidental, foram obtidos pela primeira vez em 2004 durante o processo de purificação de nanotubos de carbono de parede única por eletroforese (HERBST; MACÊDO; ROCCO, 2004; MIRTCHEV et al., 2012; BARUAH et al., 2013).

Comparado com nanocristais inorgânicos, os pontos quânticos de carbono (CQDs, do inglês “*carbon quantum dots*”), constituem uma nova classe de materiais de carbono fluorescentes apresentando diâmetro inferior a 10 nm (TUERHONG; XU; YIN, 2017). Esses materiais apresentam diversos grupos funcionais em sua superfície (Figura 3), tais como, amino, carbonila, hidroxila e epóxi que garantem elevada solubilidade em água e facilidade para funcionalização com moléculas ou espécies biológicas (CUTRIM et al., 2021).

Quanto à obtenção dos pontos quânticos de carbono, diversos métodos sintéticos podem ser empregados, podem ser subdivididos em dois grupos, *top-down* e *bottom-up*, que diferem na estratégia de síntese e também nos precursores utilizados. Nos métodos *top-down*, os CQDs são preparados a partir de precursores de carbono maiores, tais como diamante, grafite, nanotubos de carbono e óxido de grafite. Já nas abordagens *bottom-up* os CQDs são sintetizados a partir de precursores moleculares, como ácido cítrico, glicose e resina, que podem adicionalmente, ser purificados por meio de centrifugação, diálise, eletroforese, ou outra técnica de separação (MACHADO et al., 2015).

Devido a fácil síntese, possibilidade de funcionalização (HU et al., 2017; WANG et al., 2018), estabilidade fotoluminescente (HUANG et al., 2014b) e biocompatibilidade (LIAO; CHENG; ZHOU, 2016), os CQDs têm sido bastante estudados. Associando essas propriedades, os CQDs podem ser aplicados em diversas áreas, como fotocatálise (LI et al., 2010), nanomedicina (PENG et al., 2017) e como sensores de pesticidas (LIN et al., 2018).

Figura 3. Representação esquemática, composição química do núcleo e da área superficial de um ponto quântico de carbono.



Fonte: PARK et al., 2016.

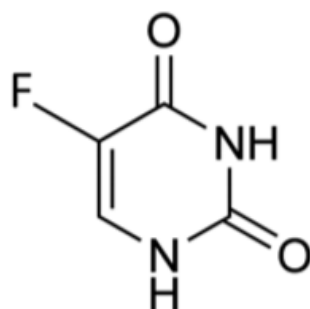
Entretanto, a fotoluminescência é uma das principais características que tornam esse material interessante. Na biomedicina, por exemplo, ela permite o monitoramento do sistema de liberação por meio de bioimagem, sendo possível acompanhar as interações do nanocarreador com o sistema biológico. Esse processo acontece pelo fato deles possuírem uma banda de valência preenchida por elétrons e uma banda de condução vazia, que estão separadas por uma lacuna de energia denominada *band gap* (ZHENG et al., 2015).

De modo geral, as propriedades óticas dos CQDs estão diretamente ligadas ao confinamento quântico desses elétrons na banda de valência e da sua transição para a banda de condução. A energia (E_g) necessária para que ocorra a transição de uma banda para a outra está relacionada com o tamanho das nanopartículas e conseqüentemente com as cores emitidas. Por este motivo, o tamanho da partícula constitui um dos aspectos mais estudados, uma vez que esse controle permite alterações nas propriedades químicas e eletrônicas desses materiais (SAMIR et al., 2012).

2.2 5-Fluorouracil

O 5-Fluorouracil foi sintetizado na década de 1950 e é um composto orgânico aromático heterocíclico com uma estrutura semelhante à das moléculas de pirimidina de DNA e RNA (MIRANDA et al., 2019; ZHANG et al., 2008); trata-se de um análogo de uracila com um átomo de flúor na posição C-5, em vez de hidrogênio (KUMAR et al., 2010). Além disso, o fármaco é uma substância sólida, fornecido na forma de cristais, estável à temperatura ambiente, branco com moderada solubilidade em água (12,2 mg/mL). Sua fórmula molecular é $C_4H_3FN_2O_2$ e sua estrutura molecular está representada na Figura 4. Seu espectro de UV-Vis apresenta uma banda característica de uma transição π - π^* , com absorção em 266 nm e fluorescência em 391 nm quando excitada em 315 nm (BAYOMI; AL-BADR, 1990).

Figura 4. Estrutura química do 5-Fluorouracil



Fonte: LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003.

Devido à sua estrutura, o 5-FU interfere com o metabolismo de nucleotídeo e pode ser incorporada no RNA e DNA (THOMAS et al., 2015), levando a morte celular e citotoxicidade (ZHANG et al., 2008; UDOFOT et al., 2015). Sua ação antineoplásica se baseia principalmente em seus três metabólitos secundários que causam danos às células em nível genômico, culminando em morte celular. Dentre esses metabólitos destaca-se o Fluorodeoxiuridina monofosfato (FdUMP), que se liga à enzima timidilato sintase (TS), causando um desequilíbrio no *pool* de nucleotídeos, que por sua vez diminui a concentração de desoxinucleotídeos (dTTP e dATP), 25 nucleotídeos estes essenciais para o reparo do DNA. O Fluorodeoxiuridina trifosfato (FdUTP), por sua vez se liga ao DNA inibindo a sua replicação e transcrição, e, finalmente o 5 fluorouridina trifosfato (FUTP) que é capaz de se ligar ao RNA levando-o à perda de função (LONGLEY; HARKIN; JOHNSTON, 2003; SONIS, 2004b; MIURA et al., 2010).

O 5-FU está na lista de fármacos essenciais designada pela Organização Mundial da Saúde, sendo muito utilizado nos tratamentos de diversos tipos de câncer, como por exemplo: câncer de estômago, mama, cérebro, fígado, pâncreas, pulmão e colorretal, mas, apesar da versatilidade, o 5-FU apresenta algumas limitações. A incompleta e não uniforme absorção devido à rápida metabolização do 5-FU pela dihidropirimidine dehidrogenase, estudos revelaram que a enzima desativa cerca de 80% do fármaco, exigindo altas doses do quimioterápico para que a concentração terapêutica seja atingida. (MOLET-MARTINO; JOLIMAITRE; MARTINO,2002). Por fazer parte de um tratamento, os pacientes necessitam de administração sistemática do 5-FU, potencializando as reações adversas do quimioterápico, sendo apresentado inicialmente sintomas como anorexia e náusea, seguidas por estomatite e diarreia. Efeitos mucocutâneos como estomatites podem ocorrer, demonstrando sinais iniciais de toxicidade severa (SKEEL; LACHANT, 1995).

Ocasionalmente pode ocorrer hiperpigmentação da pele, mãos, e veias usadas para infusão do fármaco, onde a exposição ao sol pode agravar as reações cutâneas (SKEEL; LACHANT, 1995). Alterações das mucosas ocorrem em todo o trato gastrointestinal e podem levar à diarreia fulminante, choque e morte, principalmente em pacientes que estão recebendo infusões contínuas de 5-FU. Outras reações que podem ocorrer são trombocitopenia, anemia, perda de cabelos (alopecia), alterações ungueais, dermatite, pigmentação aumentada e atrofia da pele podem ser observadas. Além disso, manifestações neurológicas, incluindo uma síndrome cerebelar aguda e mielopatia foram relatados após administração intratecal (GENNARO, 1987; GILMAN, 1996). Assim, devido a esses fatores, torna-se indispensável a busca por alternativas terapêuticas que visem diminuir ou amenizar os efeitos colaterais resultante do tratamento quimioterápico com 5-FU. (MENDES, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar sistema híbrido composto por pontos quânticos de carbono, hidróxido duplo lamelar e 5-Fluorouracil, que apresente capacidade de transporte e liberação do quimioterápico.

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar o hidróxido duplo lamelar a base de Magnésio/Alumínio;
- Intercalar o fármaco 5-Fluorouracil no hidróxido duplo lamelar formando o composto HDL-5FU;
- Conjugar os pontos quânticos de carbono ao composto de intercalação HDL-5FU formando o composto CQDs@HDL-5FU;
- Caracterizar o sistema CQDs@HDL-5FU e seus compostos isolados por meio de instrumentação analítica e físico-química adequada;
- Avaliar e quantificar *in vitro* a eficiência de encapsulação e taxa de liberação do agente quimioterápico a partir das formulações terapêuticas a base de CQD@HDL-5FU.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os materiais empregados na realização deste trabalho foram: água destilada, água deionizada obtida pelo sistema Direct-Q®, Merck Millipore (condutividade $\leq 0,18 \mu\text{S cm}^{-1}$), membrana de diálise (MWCO= 2kDA) adquirida da Sigma-Aldrich, pH-metro da Hanna Instruments modelo HI-2002, centrífuga Sigma 2-16P, agitador magnético Fisotam modelo 752A. A lista abaixo reúne os reagentes utilizados para o desenvolvimento deste trabalho.

- Acetonitrila – Merck (HPLC);
- Ácido acético – Isofar ($\geq 99,7\%$);
- Ácido clorídrico – Cinética (36,5%);
- Cloreto de alumínio hexahidratado – Cinética ($\geq 95\%$);
- Cloreto de magnésio hexahidratado – Dinâmica ($\geq 99\%$);
- Cloreto de potássio – Isofar ($\geq 99\%$);
- Cloreto de sódio – Dinâmica ($\geq 99\%$);
- Dihidrogenofosfato de potássio – Merck ($\geq 99\%$);
- 5-Fluorouracil- Sigma – Aldrich ($\geq 99\%$);
- Hidrogenofosfato de sódio – Merck ($\geq 99\%$);
- Hidróxido de sódio – Merck ($\geq 99\%$).

4.2 Métodos

4.2.1 Síntese do Hidróxido duplo lamelar

A síntese do HDL ocorreu pelo método de coprecipitação (Figura 5), seguindo o descrito na literatura e proposto por SHAFIEI e seus colaboradores (2013). Uma solução dos sais $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ e $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ em uma proporção 2:1 Mg/Al foi gotejada lentamente em 150 mL de água destilada e previamente descarbonatada com gás nitrogênio por 15 minutos. Este processo foi realizado sob agitação constante, pH do meio reacional entre 9,5 e 10,0 ajustado mediante gotejamento de uma solução de NaOH na concentração 1 mol. L^{-1} e sob atmosfera de nitrogênio. Após o termino do gotejamento, a suspensão foi mantida em agitação por 20 horas. Passado o tempo de crescimento dos cristais, a suspensão foi centrifugação por 20 minutos em 12000 rpm e lavado duas vezes com água destilada e descarbonatada. E posteriormente, seco em estufa a 50°C por duas horas. Depois de seco, o sólido foi macerado e reservado em dessecador.

4.2.2 Síntese do sistema HDL-5FU

A síntese do sistema seguiu a metodologia proposta por SILVA et al., (2020), por meio do processo de troca iônica. Uma solução de 5-Fluorouracil (5-FU) na concentração de 0,08 mol. L⁻¹ foi preparada em 100 mL de água destilada que após a completa solubilização teve o pH ajustado para 10,0, com uma solução de NaOH na concentração 1 mol. L⁻¹. Essa solução foi descarbonata com gás nitrogênio por 15 minutos. Após a descarbonatação, o HDL no estado *fresh* (sem secagem) foi adicionada a solução. A suspensão foi mantida em agitação por 20 horas. O precipitado foi centrifugação por 20 minutos em 12000 rpm e lavado duas vezes com água destilada e descarbonatada. E posteriormente, seco em estufa a 50°C por duas horas. Depois de seco, o sólido foi macerado e reservado em dessecador.

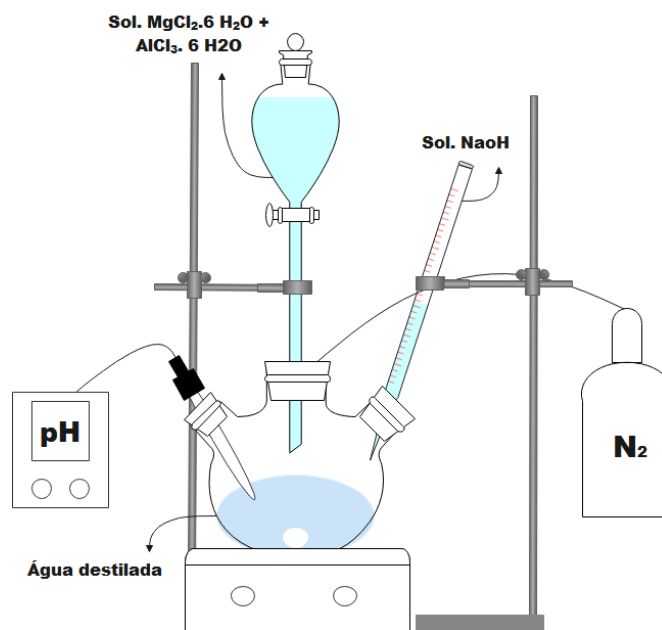
4.2.3 Síntese do sistema CQD@HDL-5FU

A obtenção do material CQD@HDL-5FU deu-se em duas etapas:

i) *Obtenção dos pontos quânticos de carbono*: Para a preparação dos CQDs, seguiu-se a metodologia reportada por CUTRIM et al. (2021), onde 1g (5,2 mM) de ácido cítrico e 2 g (33,3 mM) de ureia foram solubilizados em 10 mL de dimetilformamida, com o auxílio do banho ultrassônico durante 30 minutos. Após a solubilização, a mistura foi transferida para um reator de teflon, com capacidade de 15 mL, sendo este sistema hermeticamente fechado, alocado em uma estufa e mantido a uma temperatura de 160°C por um período de 6 horas. Decorrido o tempo de reação, o reator foi resfriado até atingir a temperatura ambiente e, em seguida, ao seu conteúdo foram adicionados 20 mL de uma solução de hidróxido de sódio 50 g.L⁻¹ (1,25 mol.L⁻¹). Após homogeneização, a mistura foi centrifugada a 15000 rpm por 30 minutos, sendo o sobrenadante descartado e o sólido resultante lavado 2 vezes com água deionizada nas mesmas condições supracitadas. Por fim, o sólido resultante das lavagens foi disperso com um pequeno volume de água deionizada, congelado, liofilizado por um período de 72 horas e condicionado em um dessecador até posterior utilização.

ii) *Conjugação do CQD no sistema HDL-5FU*: A junção do CDQs preparados na etapa anterior e o material HDL-5FU para formação do sistema CQD@HDL-5FU deu-se pelo processo de mistura mecânica. Para isso, em um almofariz, 0,2 g do híbrido HDL-5FU foram macerados juntos a 4,8 mg de CQD até a obtenção de um sistema homogêneo. Em seguida, adicionaram-se 100 mL de água destilada. O sólido foi isolado por filtração usando papel filtro qualitativo, e posteriormente, seco em estufa a 50°C por duas horas. Depois de seco, o sólido foi macerado e reservado em dessecador.

Figura 5. Representação esquemática para síntese do HDL pelo método de coprecipitação.



Fonte: Autor, 2022.

4.3 Caracterizações

4.3.1 Quantificação de fármaco intercalado

4.3.1.1 Sistema HDL-5FU

Para determinar a quantidade de fármaco intercalado ao HDL, uma curva de calibração para o 5-FU foi construída (ver Apêndice A, Figura 1A) e as medidas de quantificação foram realizadas utilizando um espectrofotômetro Phox UV-12, no comprimento de onda de 266 nm. A fim de se obter a solubilização máxima das amostras, o preparo das mesmas foi realizado usando uma solução de ácido clorídrico 1 mol. L⁻¹, seguido de agitação por quatro horas. A porcentagem de fármaco intercalado foi calculada usando a equação 1, abaixo:

$$\% \text{ fármaco incorporado} = \frac{\text{massa de fármaco no híbrido (mg)}}{\text{massa de híbrido (mg)}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

4.3.1.2 Sistema CQD@HDL-5FU

Para determinar a quantidade de fármaco intercalado ao HDL, uma curva de calibração para o 5-FU foi construída (ver Apêndice A, Figura 2A) e as medidas de quantificação foram

realizadas em um cromatógrafo Shimadzu, modelo LC20AT, sistema HPLC em coluna C18 (Kinetex da Phenomenex, 50mm x 2,10 mm). Foram seguidos os seguintes parâmetros de análise: fase móvel de 1% de acetonitrila em água deionizada, taxa de fluxo de 0,5 mL.min⁻¹, injeção de 20µL, temperatura da coluna foi mantida a 25° C constantes e 5-FU foi detectado por absorção de UV a 266 nm. O preparo das amostras foi realizado com uma solução de ácido clorídrico 1 mol. L⁻¹, seguido de agitação por quatro horas. Após agitação, uma alíquota de 1 mL da mistura foi diluída em 1 mL de solução de acetonitrila 1%. A porcentagem de fármaco intercalado foi calculada usando a equação 1.

4.3.2 Quantificação de CQD

A porcentagem de CQD adsorvida no híbrido foi determinada analisando-se a quantidade de CQD na água da lavagem após o processo de filtração do material CQD@HDL-5FU. Esse valor foi medido utilizando um espectrofotômetro Phox UV-12, no comprimento de onda de 523 nm. Uma curva de calibração foi construída anteriormente (ver Apêndice B, Figura 1B). A porcentagem de CQD carregada ao híbrido foi calculada usando a equação 2, como segue abaixo:

$$\% \text{ CQD incorporado} = \frac{\text{massa inicial (mg)} - \text{massa final (mg)}}{\text{massa de híbrido (mg)}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

4.3.3 Difração de Raios- X

As análises de difração de raios-X foram realizadas em um difratômetro D8 Advance, da Bruker, equipado com tubo de raios-X de Cu ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), utilizando uma corrente de 40 mA e tensão de 40 kV. Os dados foram coletados na faixa de 5 a 70° (2 θ), com passos de 0,05 com tempo de aquisição de 0,3 passos por segundo. Os espaçamentos interplanares foram calculados pela equação de Bragg (equação 3) e os parâmetros de rede *a* e *c* pela equação 4 e 5, como segue abaixo respectivamente:

$$\lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Equação 3}$$

$$a = 2d_{110} \quad \text{Equação 4}$$

$$c = 3d_{003} \quad \text{Equação 5}$$

Onde,

λ = comprimento de onda dos raios X incidentes; d = espaçamento basal para o pico d_{001} ; 2θ = valor do pico obtido no difratograma.

4.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros de infravermelho foram registrados por um espectrômetro Shimadzu, modelo IR-Prestige-2, empregando a faixa de trabalho de 4000 a 400 cm^{-1} , número de varreduras igual a 40 e resolução de 2 cm^{-1} .

4.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV foram obtidas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP) em um equipamento ZEISS LEO 440 (Cambridge, England) com detector OXFORD (model 7060), operando com feixe de elétrons de 15kV, corrente de 2,82A e I probe de 200pA. As amostras foram recobertas com 6nm de ouro em um metalizador Coating System BAL-TEC MED 020 (BAL-TEC, Liechtenstein) e mantidas em dessecador até o momento de análise. Condições de metalização: pressão na câmara = $2,00 \times 10^{-2}$ mbar; corrente = 60 mA; taxa de deposição 0,60 nm/s.

4.3.6 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As análises de Energia Dispersiva (EDS) foram realizadas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP) em um equipamento EDX LINK ANALYTICAL, (Isis System Series 300), com detetor de SiLi Pentafet, janela ultrafina ATW II (Atmosphere Thin Window), de resolução de 133 eV à 5,9 keV e área de 10 mm^2 quadrado, acoplado a um Microscópio Eletrônico ZEISS LEO 440 (Cambridge, England). Utilizou-se padrão de Co para calibração, feixe de elétrons de 20 kV, distância focal de 25 mm, dead time de 30 %, corrente de 2,82 A e I probe de 2,5 nA. A área da amostra analisada foi de 320 x 320 μm .

4.3.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em um equipamento Shimadzu, modelo DSC – 60, sendo todas as análises realizadas em cadinho de alumínio e sob os seguintes parâmetros: razão de aquecimento 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, temperatura inicial ambiente e final de 550 $^{\circ}\text{C}$ e atmosfera dinâmica de nitrogênio com arraste de 100mL/min.

4.4 Ensaios de Liberação Controlada

Para obtenção dos perfis de liberação do 5-FU pelos híbridos HDL-5FU e CQD@HDL-5FU, 5 mg dos híbridos foram adicionados em 10 mL de meio de liberação e dialisados por membrana de diálise contra 300 mL de tampão acetato (pH 5,0) ou fosfato salino (pH 7,4). O sistema foi mantido em agitação constante a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ e sob abrigo de luz. Alíquotas de 3,0 mL foram retiradas nos tempos de 0,5, 1, 2, 4, 8, 24 e 48 horas, e lidas por espectrofotômetro UV-Vis em 266 nm, sendo devolvidas ao meio após análise. A concentração de 5-FU liberada foi calculada utilizando-se curvas de calibração previamente obtida em cada tampão utilizado (ver Apêndice A, Figuras 3A e 4A). O tampão acetato (pH 5,0) e fosfato salino (pH 7,4) utilizados nesse experimento, tiveram como função mimetizar o ambiente fisiológico do organismo humano e o microambiente tumoral, respectivamente. As soluções foram preparadas da seguinte forma:

Tampão acetato (pH 5,0): Em 800,0 mL de água destilada foram adicionados 5,7 mL de $\text{CH}_3\text{COOH}_{(\text{aq})}$ que teve pH ajustado em 5,0 com solução de NaOH 1,0 mol. L^{-1} . Após o ajuste, o volume foi completado com água destilada até 1,0 L.

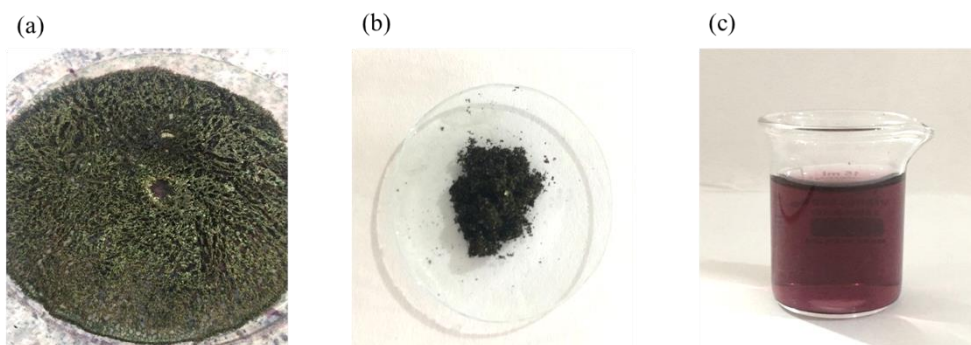
Tampão fosfato (pH 7,4): Em 800,0 mL de água destilada foram adicionados 8,0 g de NaCl, 0,2 g de KCl, 1,44g de Na_2HPO_4 e 0,24g de KH_2PO_4 . Essa solução teve o pH ajustado em 7,4 com solução de HCl 1,0 mol. L^{-1} . Após o ajuste, o volume foi completado com água destilada até 1,0 L.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Síntese do CQD@HDL-5FU

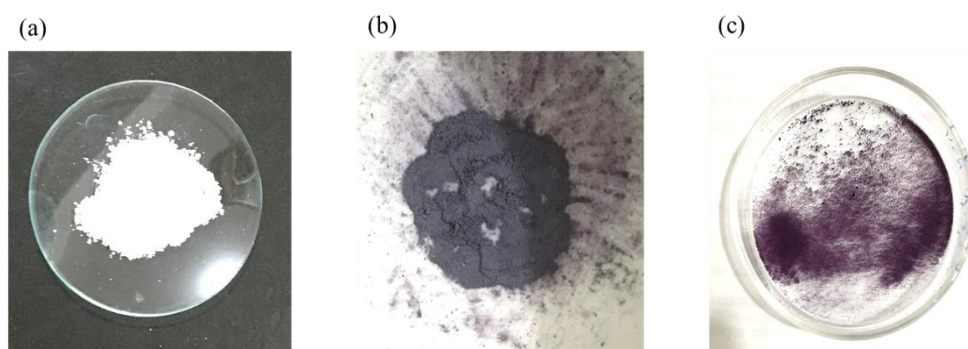
Para a síntese dos CQDs, empregou-se a metodologia apresentada por CUTRIM et al. (2021), utilizando-se o tratamento solvotérmico, onde o ácido cítrico é utilizado como fonte de carbono e a ureia como agente de dopamento. Como pode ser observado na Figura 6, após o processo de purificação e liofilização (Figura 6 a), e maceração (Figura 6 b), o material resultante apresentou cor verde escuro, que em solução, exibiu coloração roxa (Figura 6 c).

Figura 6. CQD após processo de (a) purificação e liofilização; (b) maceração e (c) CQD em solução.



O híbrido CQD@HDL-5FU foi sintetizado pelo método de mistura mecânica, onde os pontos de carbono são macerados juntos com o híbrido HDL-5FU. Essa metodologia foi adotada por ser considerada a mais eficiente frente a outros métodos empregados (ver Apêndice C e D, Figura 1C e 1D). Inicialmente, o material HDL-5FU que possui cor branca (Figura 7 a), ao misturar-se com os CQDs de cor verde escuro, resultou em uma mistura física de coloração roxa acinzentada (Figura 7b). No entanto, ao final do processo de lavagem e secagem, o material adquiriu uma coloração roxa (Figura 7c), indicando a formação de um novo material contendo pontos quânticos de carbono.

Figura 7. (a) HDL-5FU; (b) resultado do processo de mistura mecânica entre CQD e HDL-5FU e (c) CQD@HDL-5FU após processo de lavagem e secagem.

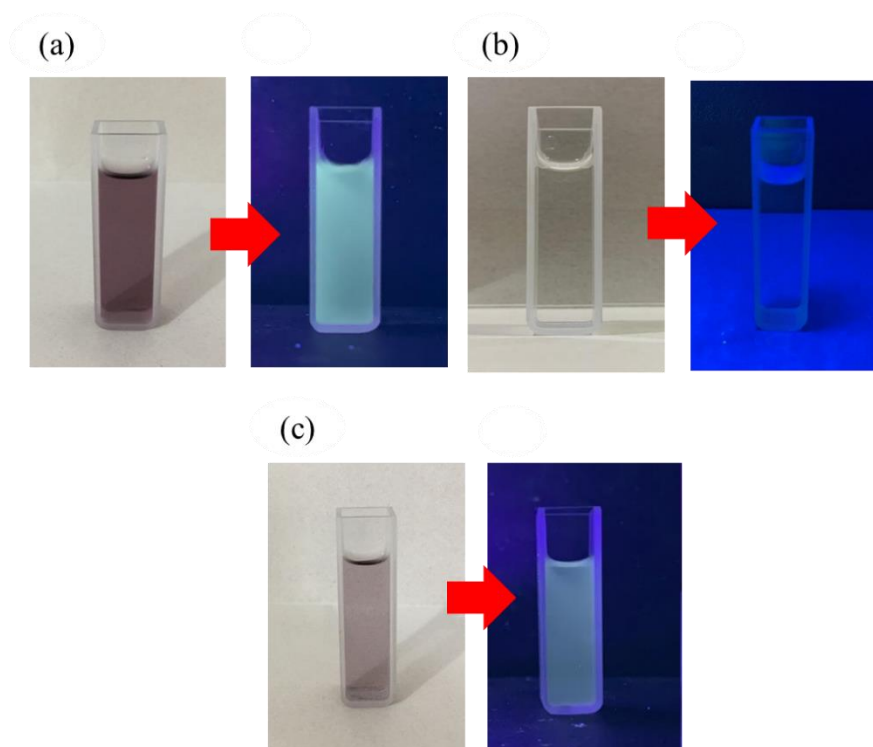


Para investigar a presença do CQD no híbrido CQD@HDL-5FU, foram preparadas soluções de CQD@HDL-5FU e comparadas com aquelas de CQD e HDL-5FU empregando uma solução de ácido clorídrico 1 mol. L^{-1} . Após o preparo, as soluções obtidas foram excitadas por radiação UV a 365 nm, como apresentado na Figura 8. A solução aquosa dos CQDs quando excitada apresentou uma intensa fotoluminescência na região do amarelo (Figura 8a), apontando a formação de CQDs com níveis altos de grupos oxigenados na superfície.

Vale ressaltar que, o mecanismo de fotoluminescência dos CQDs ainda não é totalmente elucidado na comunidade científica, porém, há alguns indícios que sua origem pode estar relacionada aos seus defeitos e estados de superfície, ao efeito de confinamento quântico, e a recombinação de pares de elétron-buraco (domínios isolados de clusters sp^2 incorporados na matriz sp^3). De qualquer forma, a fotoluminescência dos pontos quânticos de carbono deve ser atribuída seja a um efeito de combinação ou de competição entre a emissão do estado intrínseco e a emissão do estado de defeito (NGUYEN et al., 2015; GAO et al., 2017; YANG et al., 2018).

Para o híbrido HDL-5FU, nenhuma emissão foi observada, como mostra a Figura 8b. Entretanto, após adição de CQD no sistema HDL-5FU, nota-se o aparecimento de fotoluminescência na região do amarelo, quando excitado, corroborando assim, a presença de CQD no híbrido CQD@HDL-5FU (Figura 8c).

Figura 8. Soluções aquosas excitadas por radiação UV (365 nm): (a) CQD; (b) HDL-5FU e (c) CQD@HDL-5FU.

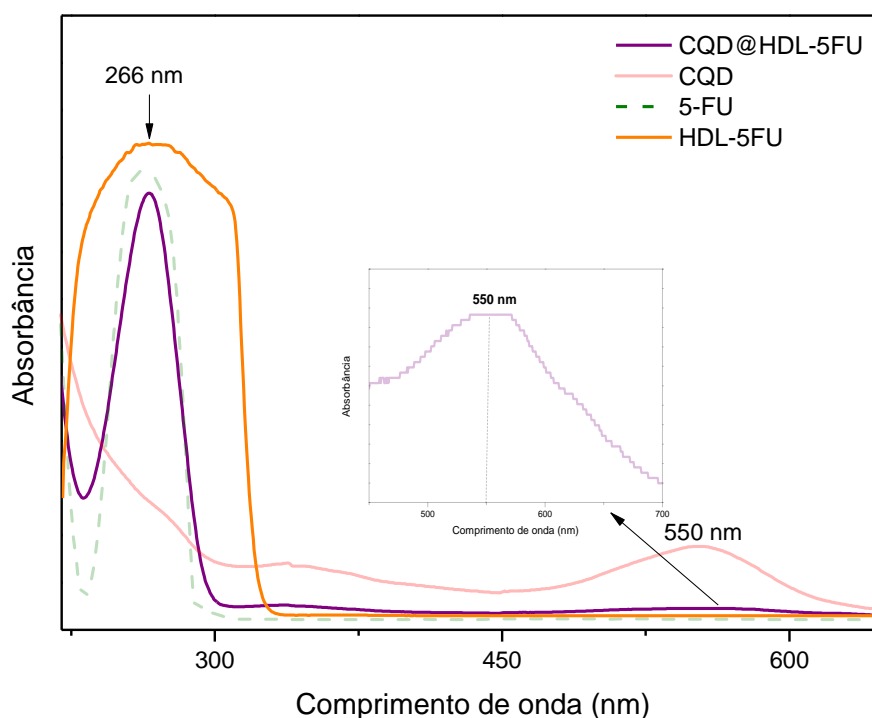


O espectro de absorção na região do UV-Vis para 5-FU, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU, foram comparados na Figura 9. O espectro do HDL-5FU, exibe uma única banda com máximo em 266 nm, não demonstrando nenhuma diferença significativa ao ser comparado com o espectro de absorção do 5-FU. Esse resultado semelhante pode sugerir a intercalação efetiva do 5-FU nas interlamelas do HDL, chegando-se ao material pretendido.

Já para o CQD@HDL-5FU, além de apresentar a banda referente ao 5-FU em 266 nm, é possível evidenciar o surgimento de uma nova banda de baixa intensidade em torno de 550 nm, indicando a presença de pontos quânticos de carbono no material híbrido conjugado. Ainda que a eficiência de incorporação de CQD no material CQD@HDL-5FU, determinada pela técnica de espectroscopia, foi de 78,7 % com relação a massa inicial de CQD empregada, este valor é bastante pequeno quando comparado à relação de massa total do sistema final conjugado, correspondendo a apenas 1,90 % de CQD no sistema CQD@HDL-5FU. Ressalta-se que diferentes concentrações em massa de CQD foram empregadas no estudo, partindo-se de 2,4 a 4,8 mg, não obstante, foi encontrado uma quantidade muito próxima de CQD incorporado, indicando uma possível saturação da superfície do material HDL-5FU no sistema CQD@HDL-5FU.

De acordo com a literatura, quando ânions orgânicos são intercalados, os valores de área superficial tendem a diminuir pela possibilidade de adsorção destes íons na superfície, preenchendo os poros de menor diâmetro, causando uma rápida saturação da superfície do sólido lamelar (MITTAL, 2021).

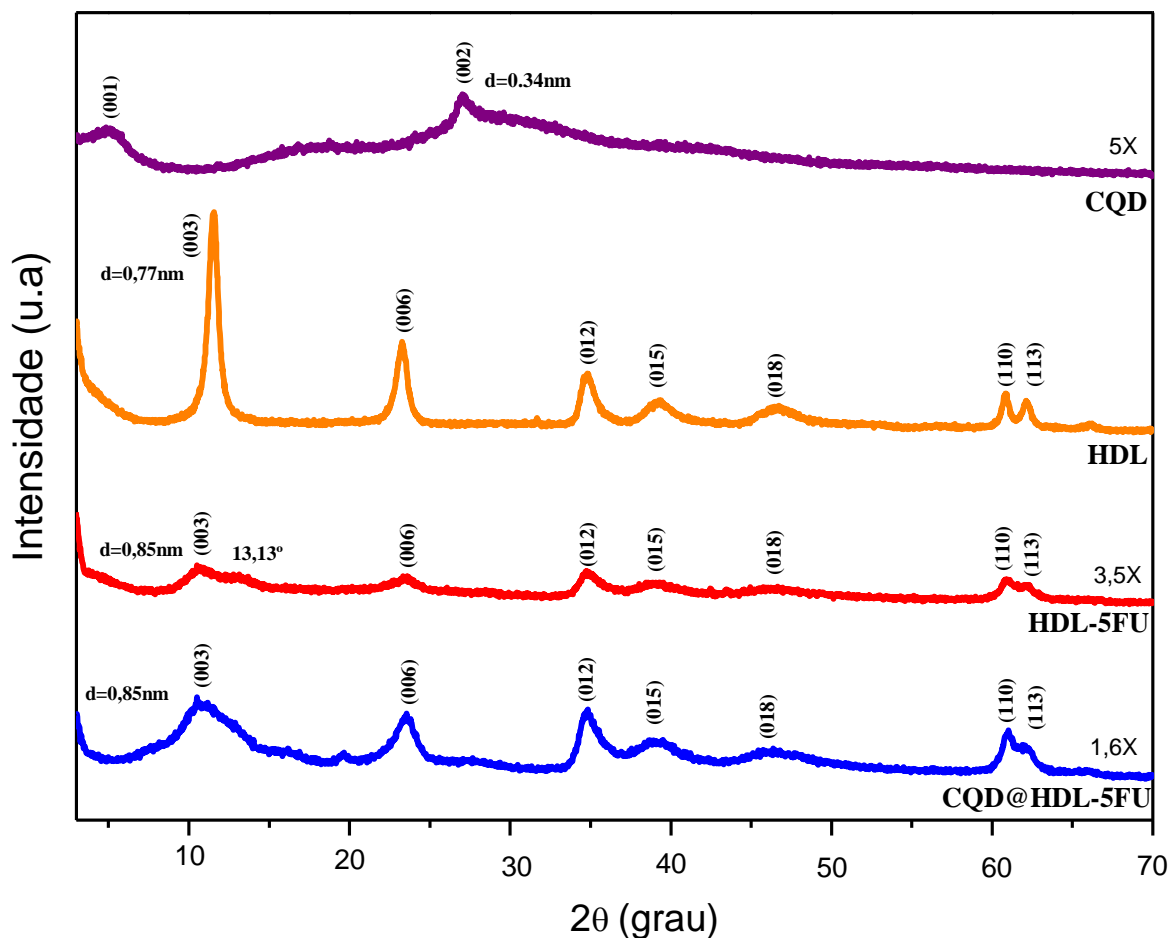
Figura 9. Espectros de absorção na região do UV-Vis para 5-FU, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.



5.2 Caracterização do material CQD@HDL-5FU

Os padrões de difração para as amostras de CQD, HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU são apresentados na Figura 10. O difractograma do CQD mostra reflexões atribuídas ao carbono amorfo em torno de $26,50^\circ$ ($d_{002} = 0,34$ nm) e $10,60^\circ$ ($d_{001} = 1,78$ nm), caracterizadas pelas bandas largas nos nanopontos de carbono (CUTRIM et al., 2021). Para o HDL, é possível observar reflexões características dos planos basais dos HDL do tipo hidrotalcita, para os planos (003), (006), (012), (015), (018), (110) e (113), conforme verificado na ficha do banco de dados JCPDS 14-0191 (BABAR et al., 2018; YAN et al., 2019). Neste difractograma, a reflexão (003) refere-se ao somatório da espessura da lamela e do espaçamento interlamelar. Esse espaçamento basal foi calculado usando a equação de Bragg (equação 3) e apresentou valor $d_{003} = 0,77$ nm, o que está de acordo com a literatura para a presença de ânions cloreto proveniente dos sais de magnésio e alumínio como compensadores de carga da lamela do HDL (MIYATA, 1983; SILVA; MANGRICH; WYPYCH, 2014).

Figura 10. Difratomogramas de raios-X do 5-FU, CQD, HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.

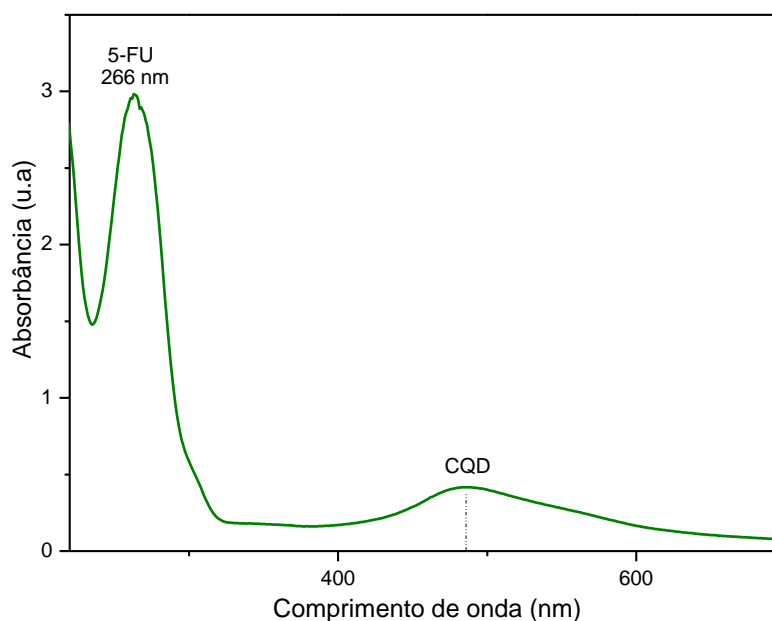


O material híbrido HDL-5FU apresentou padrão de difração semelhante ao do HDL precursor, sendo observadas reflexões características do sólido inorgânico, o que evidencia que através do método de síntese por troca iônica, onde os íons cloretos são trocados pelo 5-FU na forma aniônica, não provoca destruição na estrutura do HDL. Contudo, observa-se uma clara diminuição na cristalinidade do híbrido, tendo seus picos mais largos e menos intensos, sugerindo que o fármaco provocou um desarranjo nas lamelas do HDL (SILVA, 2020). Além disso, o difratograma para o híbrido HDL-5FU apresenta um pequeno deslocamento da reflexão 003 do HDL para menores valores de 2θ , o que indica a intercalação do fármaco, apresentando-se em aproximadamente $10,50^\circ$, resultando em um novo valor de espaçamento basal de $d_{003}=0,85$ nm. Adicionalmente, um pico adicional em torno de $13,13^\circ$ ($d=0,68$ nm) é evidenciado, e segundo estudos de refinamento estrutural pelo método de Rietveld realizados em amostra análoga (SILVA et al., 2020 – ver Tabela 1E, Apêndice E), este novo sinal pode ser atribuído a uma nova fase de intercalação do fármaco em sua fase desprotonada, desde que duas espécies são esperadas para este fármaco (5-FU^- e 5-FU^{2-}).

De forma semelhante, o híbrido CDQ@HDL-5FU apresentou padrão de difração de raios -X correspondente ao precursor HDL-5FU, exibindo, também, espaçamento basal (003) em torno de $10,50^\circ$ ($d_{003} = 0,85$ nm) correspondente a intercalação do 5-FU no HDL. Este resultado é esperado, visto que a relação em massa (mg) do CQD no HDL é muito pequena, causando um claro efeito de diluição do material carbonáceo no sistema CDQ@HDL-5FU. Dessa forma, observa-se que a pequena quantidade de carbono e sua intensidade de difração relativamente baixa favoreceu a não observação de reflexões adicionais de CQD no material CDQ@HDL-5FU.

Quantificações determinadas por análises de espectrofotometria UV-vis e cromatografia, revelam que a quantidade de fármaco intercalado no HDL-5FU representa cerca de 21,5 % em massa de 5-FU no híbrido, enquanto no material CQD@HDL-5FU esse valor corresponde a apenas 15,2 % de fármaco. Este resultado é o indicativo que, ainda que nenhuma reflexão referente ao 5-FU em sua forma livre é exibida no padrão de difração do material HDL-5FU (Figura 10), há moléculas do fármaco adsorvidas na superfície do sólido lamelar, onde a sua liberação, provavelmente, foi promovida durante as etapas de maceração/lavagem realizadas na síntese do material CDQ@HDL-5FU. O espectro de absorção na região do UV-Vis da água da lavagem após o processo de filtração do material conjugado CQD@HDL-5FU é apresentado na Figura 11, e indica a perda de aproximadamente 6,3% de fármaco ao final da síntese.

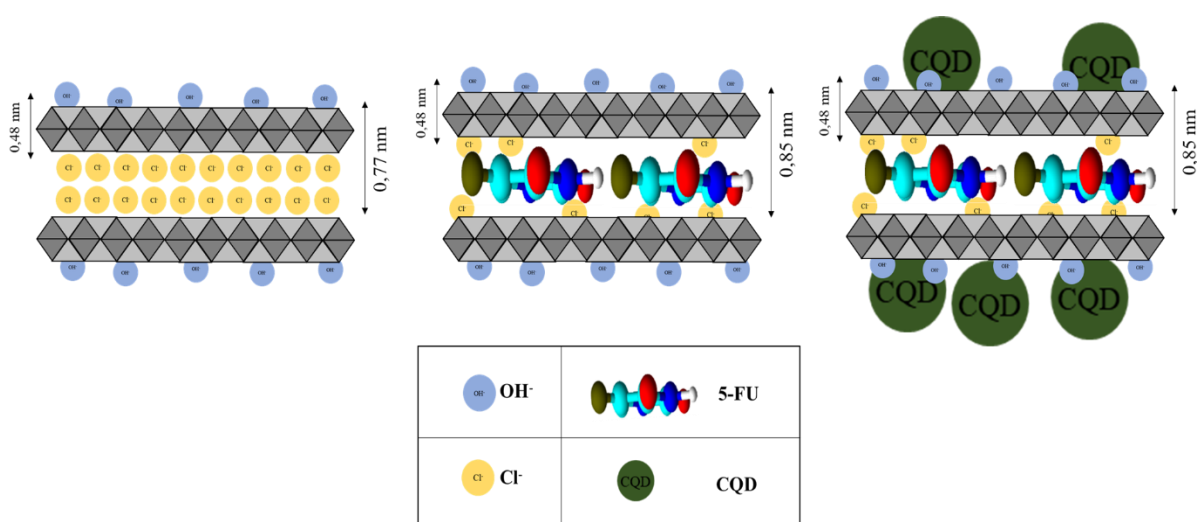
Figura 11. Espectro de absorção na região do UV-vis da água da lavagem do CQD.



Considerando-se que uma lamela de HDL possui 0,48 nm de espessura, e que o valor o espaçamento basal para o material CQD@HDL-5FU pelos dados de DRX é de 0,85 nm, é

calculado um valor de incremento basal de 0,37 nm para o sistema conjugado, valor este idêntico ao encontrado para o HDL-5FU. Por outro lado, tendo em conta que o fármaco possui dimensões de 0,3 nm x 0,53 nm x 0,49 nm (WANG et al., 2005), é possível sugerir que as moléculas do 5-FU se encontram em orientação espacial planar, formando uma monocamada em relação às lamelas do sólido inorgânico, enquanto que os CQDs se encontram adsorvidos na superfície externa do material, tal como representado na Figura 12. Estudos prévios sobre a intercalação do 5-FU em HDL pelo método troca iônica, divulgaram valores análogos de incremento basal relatados no presente estudo (WANG et al., 2005; YASUTAKE et al., 2008; LI et al., 2014; SILVA et al., 2020), e por consequente, uma representação espacial do fármaco na região intercrystalina do sólido lamelar semelhante.

Figura 12. Representação esquemática das estruturas do (b) HDL, (c) HDL-5FU e (d) CQD@HDL-5FU.



Fonte: Autor, 2022.

O parâmetro de rede “c”, que corresponde a espessura da lamela do tipo brucita e a distância interlamelar, foi alcançado utilizando-se o espaçamento basal do pico de maior ordem possível (d_{003}), que foi devidamente multiplicado pelo índice da reflexão basal usado (simetria 3R, equação 3), obtendo valores de 23,10 Å para o HDL, e de 25,50 Å para ambos HDL-5FU e CQD@HDL-5FU. De mesmo modo, o parâmetro de rede “a”, que corresponde a distância entre os cátions M^{2+} e M^{3+} nas lamelas, foi obtido a partir da reflexão (110) (equação 2), encontrado valor de 3,40 Å. Na tabela 2, é apresentada a comparação entre as distâncias interplanares e ângulos 2θ para o HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.

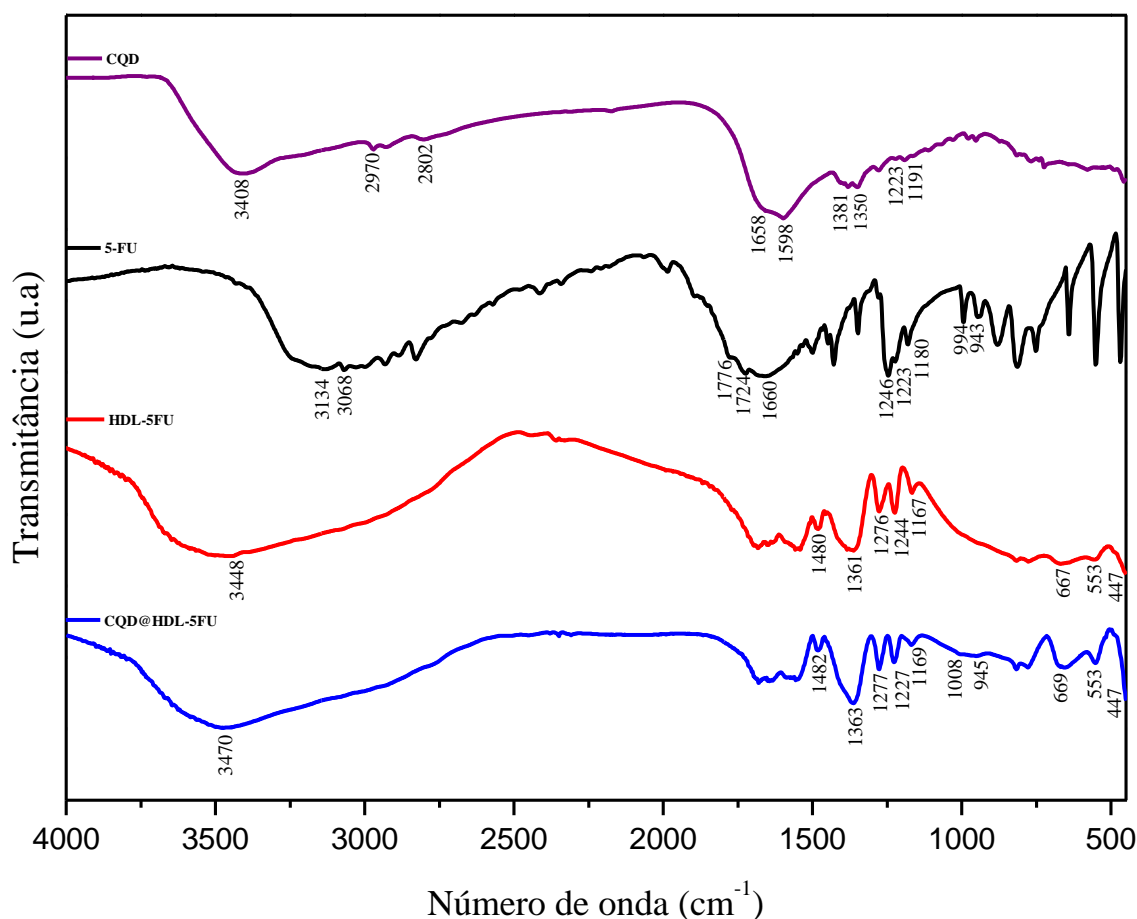
Tabela 2. Distâncias interplanares e ângulos $2\theta^\circ$ do HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.

<i>hkl</i>	HDL		HDL-5FU		CQD@HDL-5FU	
	$2\theta^\circ$	d (nm)	$2\theta^\circ$	d (nm)	$2\theta^\circ$	d (nm)
003	11,56	0,77	10,50°	0,85	10,50°	0,85
006	23,28	0,39	23,59°	0,38	23,52°	0,38
012	34,80	0,27	34,76°	0,27	34,81°	0,27
015	39,29	0,24	39,08°	0,24	39,08°	0,24
018	46,73	0,21	46,49°	0,21	46,41°	0,21
110	60,82	0,17	60,95°	0,17	61,02°	0,17
113	62,10	0,17	62,17°	0,17	62,03°	0,17

A fim de compreender possíveis interações no material conjugado, os espectros de infravermelho para o CQD, 5-FU, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU foram comparados na Figura 13. O espectro do CQD exibe uma banda de absorção ampla em 3048 cm^{-1} , atribuída a vibração de estiramento da ligação O-H presente na superfície do material. As bandas em 2970 e 2802 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento da ligação C-H, que podem surgir devido ao metil ou grupos metileno associados com os hidrocarbonetos alifáticos (RAJENDER; GIRI, 2016). Por absorverem em regiões próximas no espectro, se observa em 1658 e 1598 cm^{-1} uma sobreposição característica das vibrações de estiramento das ligações C=O e C=C, respectivamente (PAIVA et al., 2010). Outra banda correspondente a grupos oxigenados pode ser observada em torno de 1381 cm^{-1} , que pode ser atribuído às vibrações de estiramento do carboxilato (COO^-) (LU et al., 2012; ZHOU et al., 2012). Em 1350 cm^{-1} observa-se a vibração de estiramento da ligação C-N, o que corresponde ao dopamento de nitrogênio durante o processo de sínteses dos CQDs (MING et al., 2012; XU et al., 2017; CUTRIM et al., 2021). Além disso, as bandas de absorção em 1223 e 1191 cm^{-1} , correspondem ao estiramento da ligação C – O, de modo que assegura a presença do grupo carboxila no material (ZAMAN et al., 2021). O perfil espectroscópico dos CQDs apresentou bandas de absorção condizentes a uma estrutura aromática dopados com nitrogênio, com diversos grupos funcionais em sua superfície (Figura 14a).

No espectro do 5-Fluorouracil livre, é possível evidenciar bandas em 3134 e 3068 cm^{-1} , as quais são atribuídas a vibração de estiramento das ligações N1-H e C6-H, enquanto que, bandas associadas a deformações fora do plano das ligações C6-H e N3-H são observadas em 994 e 943 cm^{-1} , respectivamente (JUBEEN et al., 2020). Em 1776, 1724 e 1660 cm^{-1} , nota-se a sobreposição das bandas que podem ser assignadas à vibração de estiramento para os grupos carbonila (C2=O e C4=O) e da ligação C6=C5, respectivamente. (DOBROWOLSKI, et al., 2005). Por fim, as bandas em 1246, 1223 e 1180 cm^{-1} são correspondentes ao modo de vibração de estiramento das ligações C-N, C-F e C-O, respectivamente (DATT et al., 2013; YADAV; SINGH; MEHROTRA, 2012). De forma geral, o espectro de absorção para o fármaco é condizente com as ligações químicas presentes em sua estrutura (Figura 14b).

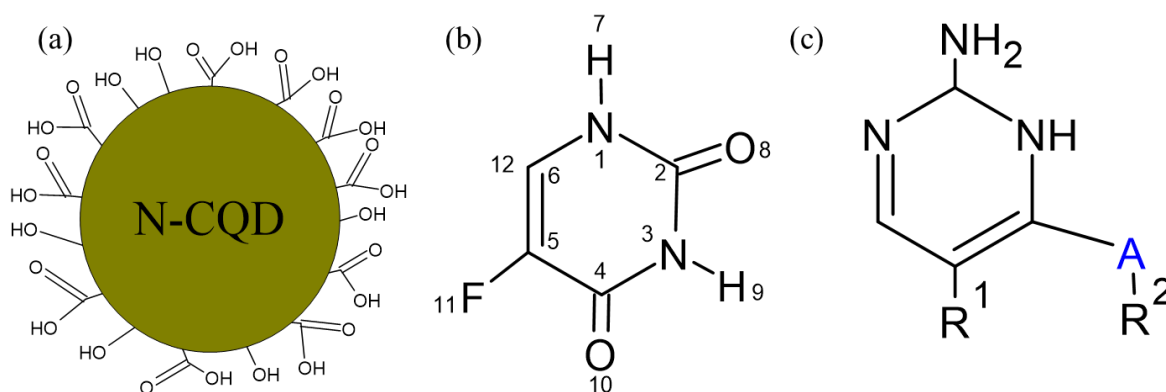
Figura 13. Espectros de infravermelho do CQD, 5-FU, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU.



No que se refere ao composto de intercalação HDL-5FU, observa-se bandas características que evidenciam a não alteração da estrutura do HDL durante o processo de intercalação do 5-FU no espaço interlamelar, tal como as bandas de absorção em 3448 cm^{-1} , que é atribuída a vibração de estiramento da ligação O-H das hidroxilas presentes nas lamelas

do HDL, e aquelas na região de baixa frequência, em 667 e 553 cm^{-1} as quais são correspondentes à vibração da rede de $M - O$ (metal-oxigênio) e $M - O - M$ (metal-oxigênio-metal) ($M = \text{Mg}, \text{Al}$) na matriz inorgânica (WANG et al., 2005). Além de apresentar bandas de absorção típica para HDLs preparados a partir dos íons magnésio e alumínio, em 447 cm^{-1} (SENAPATI et al., 2016; XU; BRATERMAN, 2010). Em destaque, é possível evidenciar bandas típicas do 5-FU no composto de intercalação, tal como em 1276 , 1244 e 1167 cm^{-1} . No entanto, essas bandas apresentam deslocamentos no espectro do híbrido para números de onda mais positivos em aproximadamente 30 e 21 cm^{-1} , o que sugere que esses grupos (C-N (1276 cm^{-1}) e C-F (1244 cm^{-1})) estejam envolvidos em interações entre fármaco e lamelas no HDL. Além disso, observa-se o surgimento de novas bandas em 1480 e 1361 cm^{-1} , que podem ser atribuídas a vibração do composto de pirimidina multisubstituída (Figura 14c), composto análogo a fluoropirimidina (classificação pertencente ao 5-FU) (WANG et al., 2005).

Figura 14. Representação esquemática (a) estrutura externa do CQD dopado com nitrogênio, (b) molécula do 5-Fluorouracil e (c) molécula da Pirimidina multisubstituída.

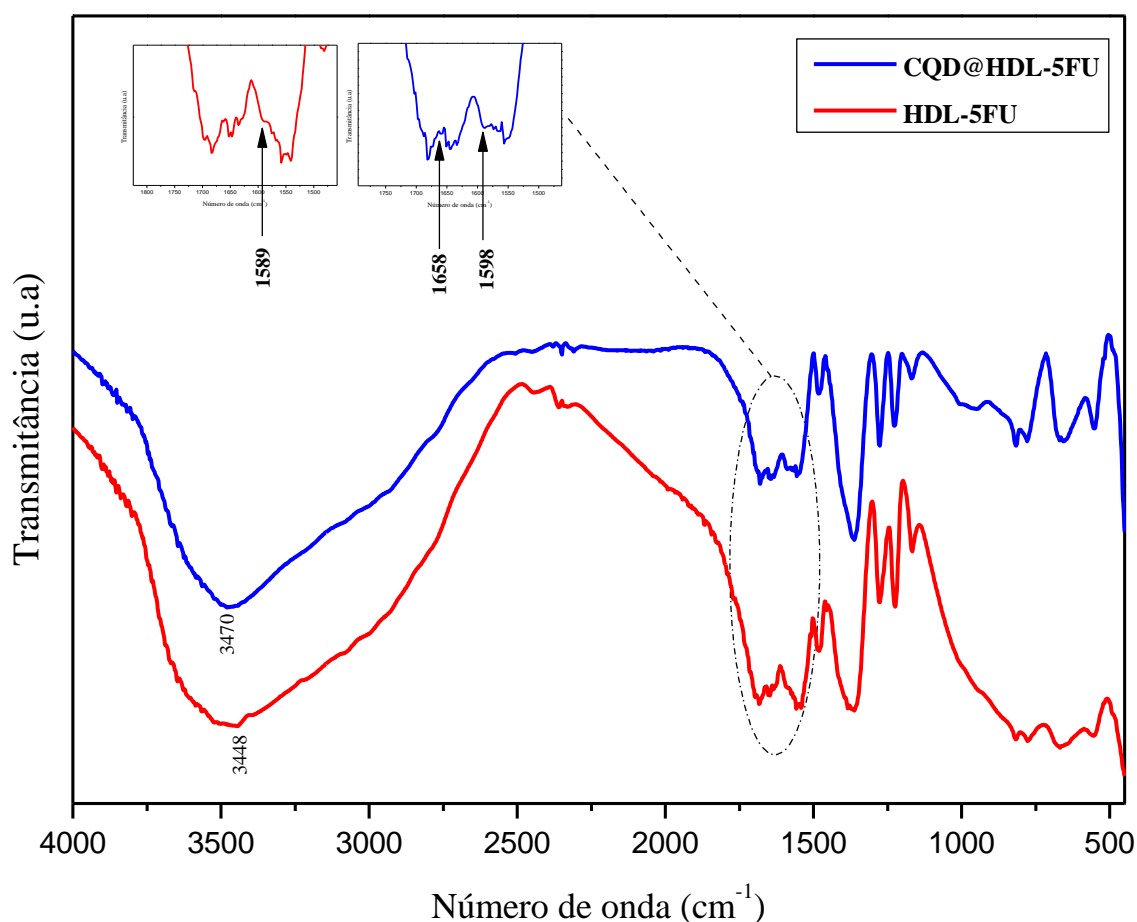


FONTE: Autor, 2022.

Ao comparar em detalhe o espectro do CQD@HDL-5FU com os dos seus percursos (CQD e HDL-5FU), observa-se um perfil semelhante ao HDL-5FU, entretanto com sutis características do espectro de absorção do CQD. As bandas referentes as vibrações de estiramento das ligações C=O (1658 cm^{-1}) e C=C (1598 cm^{-1}) do CQD são observadas no espectro do CQD@HDL-5FU (Figura 15), o que pode indicar a presença de pontos quânticos de carbono no híbrido. Entretanto, vale ressaltar que tais ligações absorvem em números de onda próximos, tanto o 5-FU quanto o CQD. Além disso, é possível observar um deslocamento importante de aproximadamente 22 cm^{-1} , onde a banda de 3448 cm^{-1} atribuída à vibração de estiramento da ligação O-H no composto HDL-5FU é deslocada para 3470 cm^{-1} no composto

conjugado CQD@HDL-5FU. Tal deslocamento no espectro do CQD@HDL-5FU pode sugerir interações entre as hidroxilas proveniente do composto de intercalação HDL-5FU e os diferentes grupos oxigenados na superfície CQD causando um incremento no estabelecimento de ligações mediante pontes de hidrogênio. Nota-se também, o surgimento de novas bandas em 1008 e 945 cm^{-1} , que podem ser atribuídas a deformações fora do plano das ligações C6-H e N3-H, respectivamente, pertencente ao fármaco.

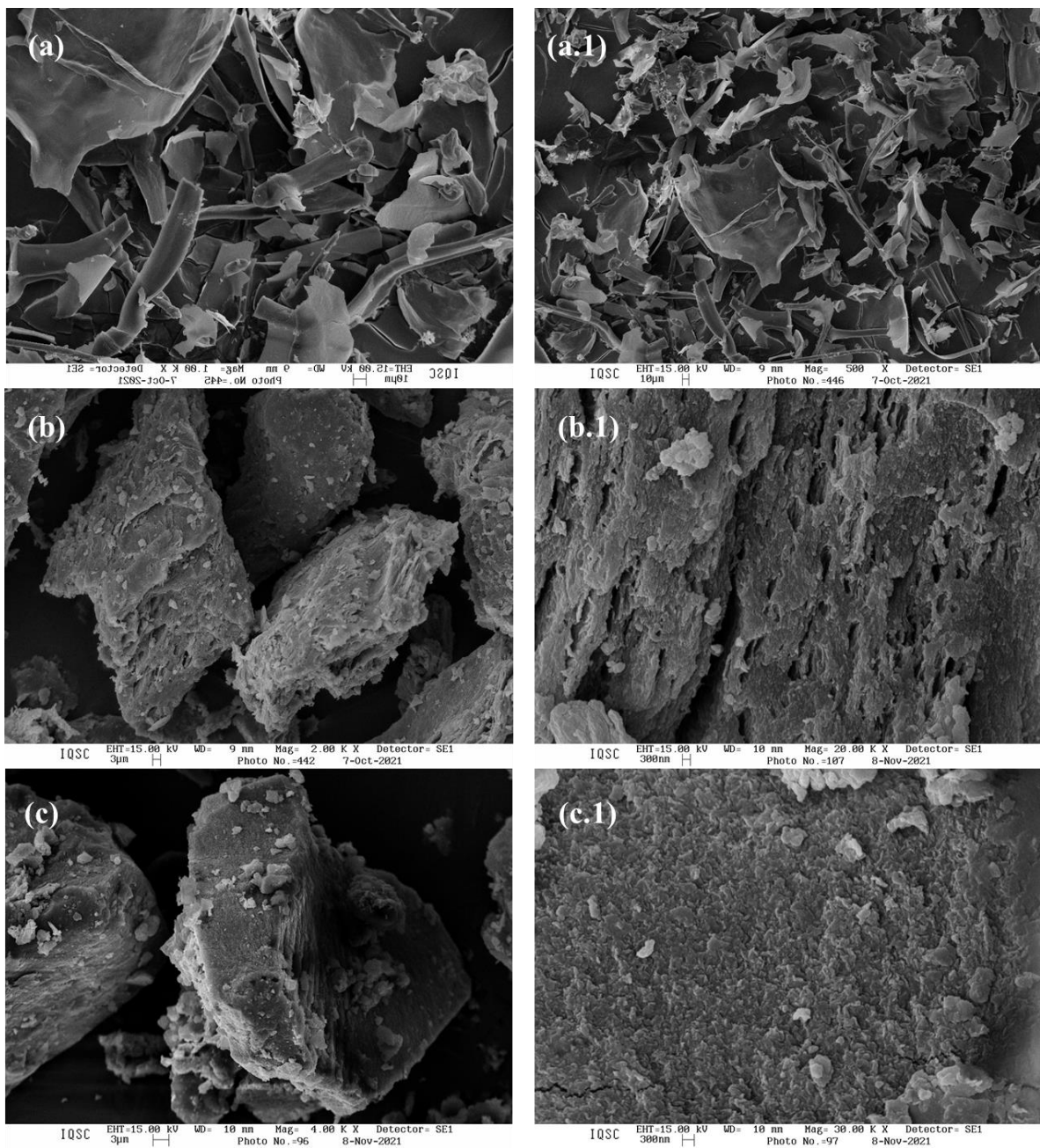
Figura 15. Comparação dos espectros do CQD@HDL-5FU e HDL-5FU.



As morfologias do CQD, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU foram investigadas por microscopia eletrônica de varredura, como mostrado na Figura 16. O CQD puro (Figura 16a e a.1) exibiu partículas semelhantes a folhas finas, apresentando partículas de tamanhos e formas heterogêneas. O material híbrido HDL-5FU (Figura 16b e b.1) apresenta uma morfologia típica de compostos de intercalação a base de HDL, mostrando aglomerados que são formados por uma microestrutura de rede porosa que consiste em nanoplacas de HDL ultrafinas empilhadas com tamanhos e formas variados, característico de composto do tipo hidrotalcita. O sistema CQD@HDL-5FU (Figura 16c e c.1) revela uma morfologia semelhante ao sistema HDL-5FU,

onde aglomerados com superfície homogênea é observada, indicando que a mistura física de CQD e HDL-5FU não provoca grandes modificações na morfologia do composto de intercalação do HDL. Entretanto, não foi possível observar a presença de CQD no sistema, uma vez que se trata de um material que possui tamanho médio de 5 nm (CUTRIM et al., 2021), sendo esses 20 vezes menor comparado aos hidróxidos duplos lamelares, necessitando assim, para visualização, estudos através de microscopia eletrônica de transmissão (MET).

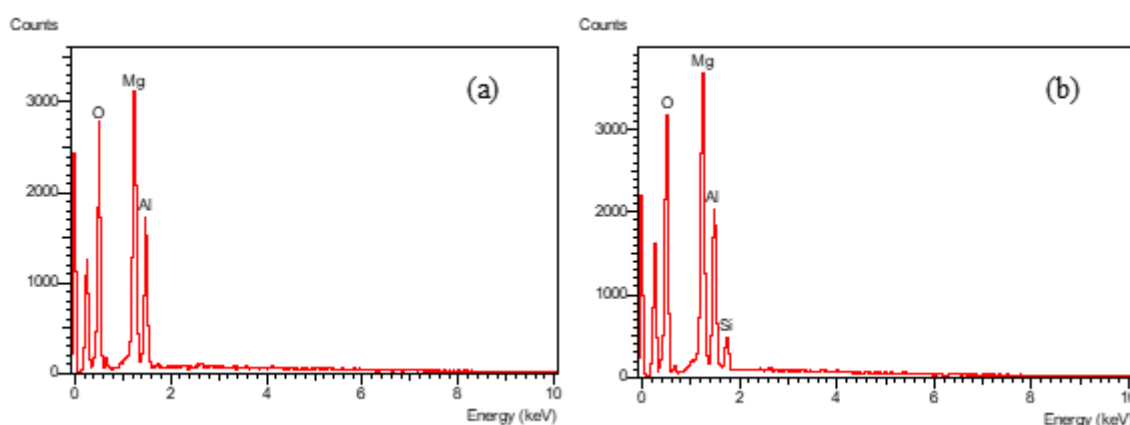
Figura 16. Imagens de MEV do (a e a.1) CQD, (b e b.1) HDL-5FU e (c e c.1) CQD@HFL-5FU.



Além disso, a composição química dos materiais HDL-5FU e CQD@HDL-5FU também foram investigadas por análises de energia dispersa, conforme apresentado na Figura 17. Os espectros de EDS para o HDL-5FU, confirmam a presença dos elementos Mg, Al e O no híbrido, apontando a formação de hidróxidos duplo lamelar com proporção de 1,6:1 (Mg/Al), adotando um valor próximo ao que foi preestabelecido para os cátions metálicos (2:1). Esse resultado indica que houve uma distribuição regular dos cátions Mg^{2+}/Al^{3+} nas lamelas do HDL sintetizado. Ao comparar os espectros do CQD@HDL-5FU com o do seu precursor HDL-5FU, observa-se que não há diferença de proporções, sendo também adotada razão de 1,6:1 (Mg/Al), mostrando que a adição de CQD no híbrido não afeta a razão molar dos cátions metálicos.

A partir dos dados da quantidade de 5-FU presentes nos híbridos, da proporção molar dos cátions metálicos Mg^{2+}/Al^{3+} e adotando valores idealizados para a quantidade de água interlamelar, foi possível determinar a fórmula mínima para os compostos HDL-5FU e CQD@HDL-5FU. Adotando a fórmula geral, $[M^{2+}_{1-x} M^{3+}_x (OH)_2]^{x+} A^{m-}_{x/m} \cdot nH_2O$, onde: M^{2+} representa um cátion metálico divalente; M^{3+} representa um cátion metálico trivalente; A^{m-} representa um ânion intercalado com carga m^- , e x representa a razão $M(III)/(M(II) + M(III))$, chegou-se a fórmula calculada de $[Mg_{0,62} Al_{0,38}(OH)_2]5-FU_{0,38} \cdot 1H_2O$ para o HDL-5FU, e $[Mg_{0,62} Al_{0,38}(OH)_2]5-FU_{0,20} \cdot 1,4H_2O$ para o sistema CQD@HDL-5FU.

Figura 17. Espectros de EDS para (a) HDL-5FU e (b) CQD@HDL-5FU.



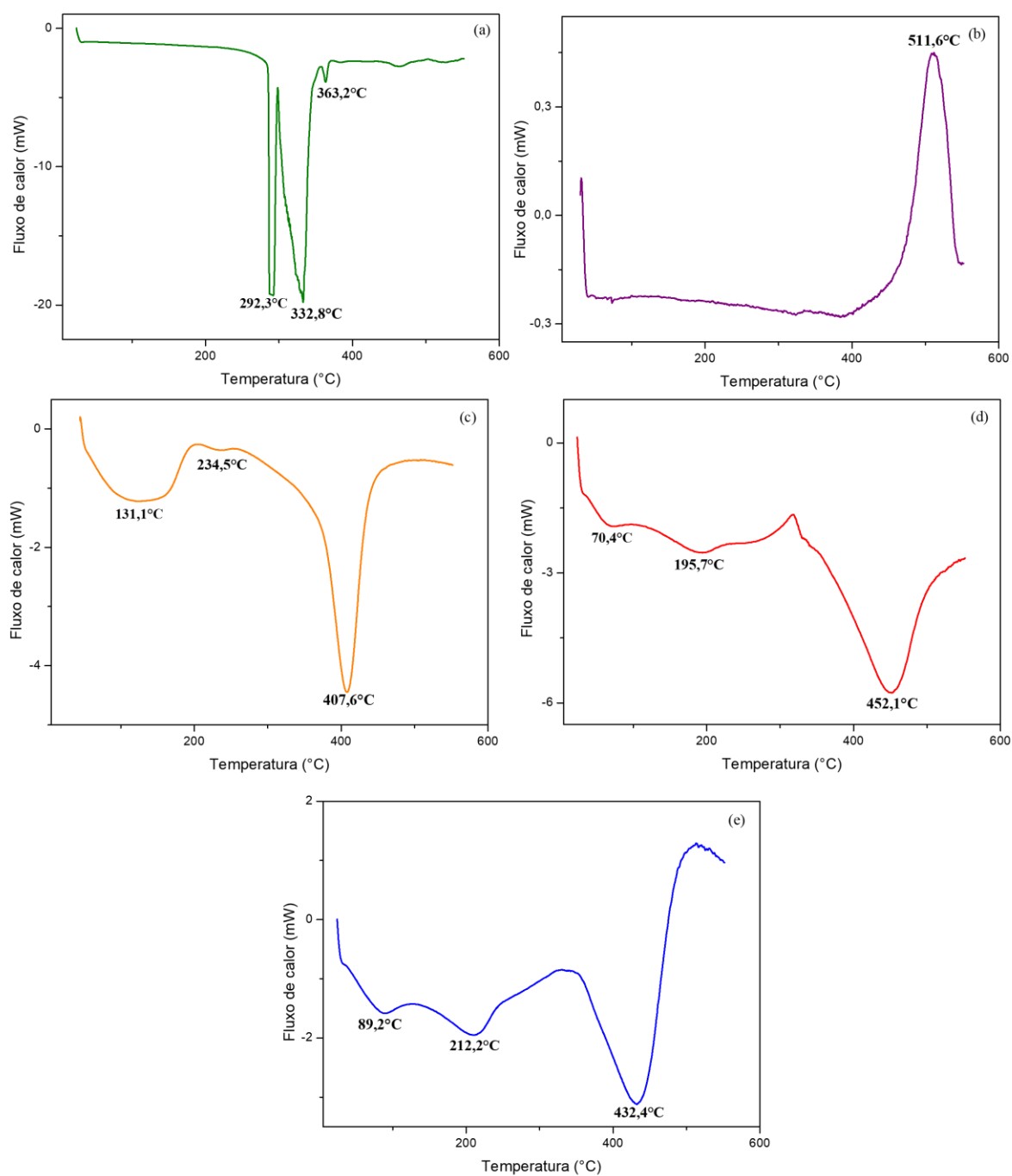
Com o objetivo de avaliar o comportamento térmico das amostras, análise empregando DSC foi realizada para o 5-FU, CQD, HDL, HDL-5FU e CQD@HDL-5FU, as quais são ilustrados na Figura 18. A curva de DSC do 5-FU (Figura 18a) exibiu um pico intenso em 292,3°C que está associado ao ponto de fusão do fármaco (SING et al., 2009). Além disso, outros eventos endotérmicos foram observados em 332,8 e 363,2°C, que podem ser atribuídos

a decomposição térmica do fármaco (TAN et al., 2017). Para a curva do CQD (Figura 18b), um único evento exotérmico foi observado em torno de 511,6°C, o qual pode ser atribuído a decomposição de grupos funcionais presentes na superfície dos pontos quânticos, tais como, hidroxilas, carbonilas e íons carboxilatos (CUTRIM et al., 2021). A curva de DSC do HDL (Figura 18c) apresenta um perfil típico de decomposição térmica da hidrotalcita, sendo exibidos em dois eventos endotérmicos: i) o primeiro em 131,1 e 234,5 °C, os quais correspondem a perda de água adsorvida e interlamelar, respectivamente; ii) já o segundo pico endotérmico em 407,6°C é relacionado a decomposição dos grupos hidroxilas, pertencentes as lamelas do HDL, e dos íons cloretos (CAVANI; TRIFIRÓ; VACCARI, 1991; XIAO et al., 2018).

Em relação ao híbrido HDL-5FU (Figura 18d), observa-se uma decomposição térmica semelhante ao HDL precursor, apresentando perda de água adsorvida e intercalada no híbrido em 70,4 e 195,7°C. Em seguida, nota-se um pico endotérmico em 452,1°C, que está associado a decomposição dos grupos hidroxilas e dos ânions de 5-FU intercalados. Entretanto, é válido destacar que no HDL-5FU, esta decomposição ocorre em torno de 44,5°C acima comparada ao HDL precursor, denotando que a intercalação do fármaco no HDL garantiu maior estabilidade térmica ao material.

No que se refere ao CQD@HDL-5FU (Figura 18e), também nota-se comportamento térmico semelhante ao híbrido HDL-5FU. Neste caso, é observado dois eventos endotérmicos característicos em 89,2 e 212,2 °C, sendo correspondentes a perda de água adsorvida e intercalada no híbrido, respectivamente. Observa-se que a presença de CQDs no material conjugado causa um atraso na liberação de água intercalada em torno de 16,5 °C, em comparação ao composto de intercalação HDL-5FU. Por outro lado, a presença de espécies carbonáceas na superfície do HDL-5FU parece diminuir a temperatura associada à decomposição dos grupos hidroxilas e dos ânions de 5-FU intercalados no composto CQD@HDL-5FU em torno de 20 °C. Essa diminuição na temperatura pode estar associada com uma decomposição parcial dos grupos funcionais presentes nos CQDs, tal como hidroxilas.

Figura 18. Curvas de DSC do (a) 5-FU, (b) CQD, (c) HDL, (d) HDL-5FU e (e) CQD@HDL-5FU realizadas em atmosfera de nitrogênio.



5.3 Ensaios prévios de Liberação Controlada do quimioterápico 5-FU

Ensaios prévios de liberação de 5-FU para o sistema conjugado CQD@HDL-5FU, foi realizado em tampão acetato (pH 5,0) e fosfato salino (pH 7,4), que tiveram como função mimetizar o microambiente tumoral e ambiente fisiológico do organismo humano, respectivamente. Os dados obtidos comparados aos dados obtidos para 5-FU livre e intercalado

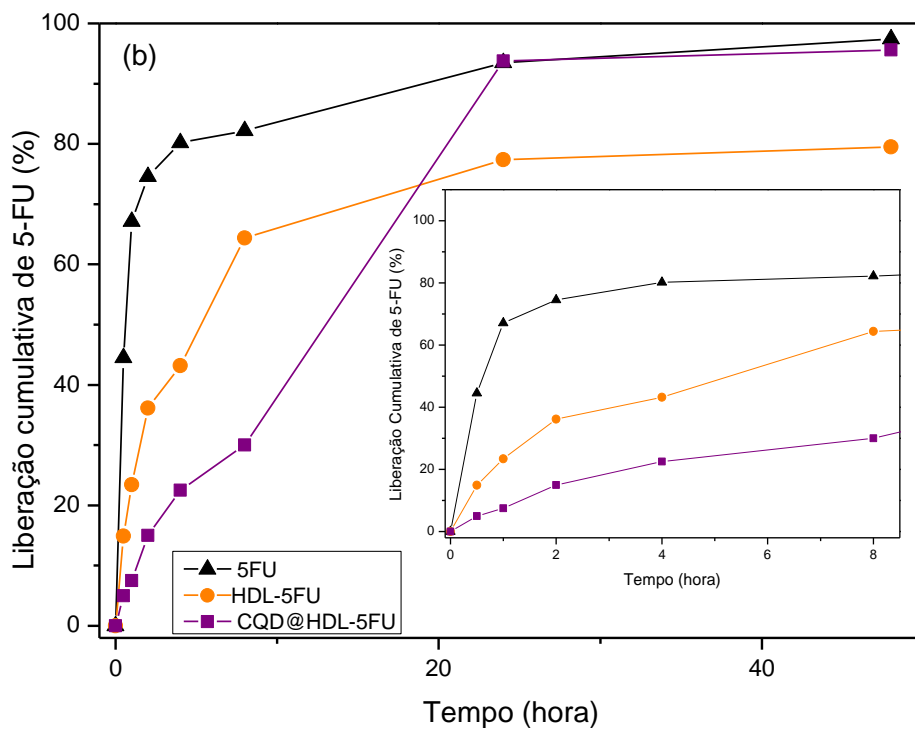
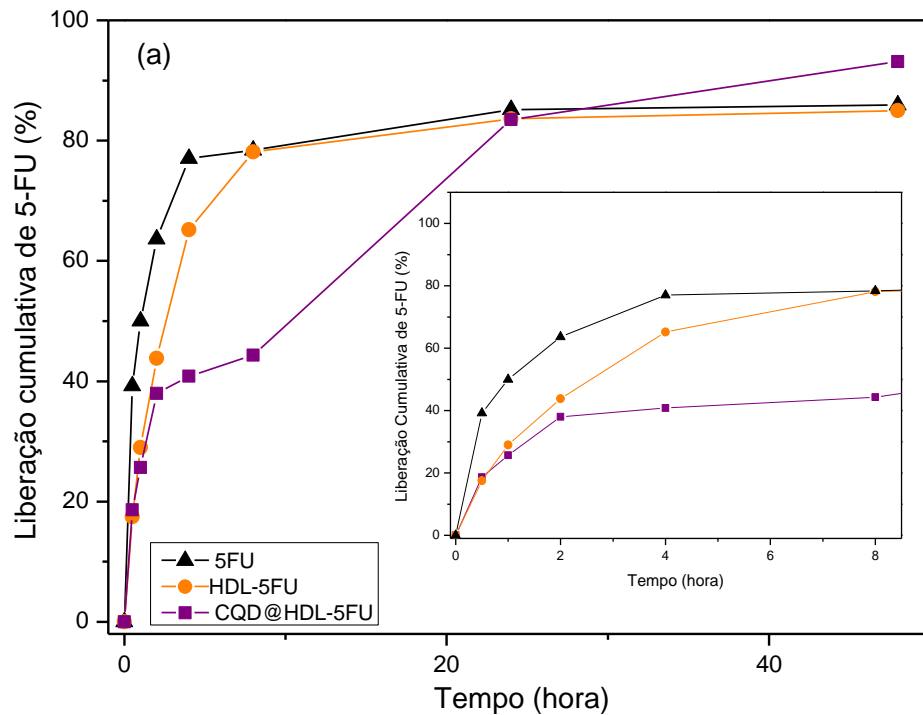
no HDL-5FU realizados nas mesmas condições são mostrados na Figura 19. O perfil de liberação do fármaco puro, apresentou uma liberação rápida nos primeiros momentos de ensaios em ambos os meios estudados, apresentando mais de 60% de liberação durante as 2 horas de ensaio em tampão acetato. Essa liberação torna-se mais acentuada em tampão fosfato, representado mais de 70% de fármaco liberado em 2 horas de ensaio, prosseguindo a liberação de mais de 90% de 5-FU em até 48 horas. Esses resultados indicam que o fármaco no estado puro não apresenta liberação controlada, nem seletividade ao meio de liberação.

Entretanto, ao comparar com o híbrido HDL-5FU, nota-se uma liberação mais lenta e seletiva, tendo liberação de mais de 60% de fármaco em até 8 horas em fosfato, seguida por uma liberação sustentada por mais de 48 horas de ensaio. Por outro lado, em tampão acetato, segue uma taxa de liberação relativamente mais rápida do que o fosfato, apresentando mais de 60% de liberação do fármaco em 4 horas de ensaio e seguindo liberação total por mais de 48 horas. Este efeito é devido a solubilização das lamelas do HDL em meio ácido, causando uma liberação mais rápida do agente antineoplásico localizado na região interlamelar.

Um padrão de liberação semelhante ao HDL-5FU também é observado no CQD@HDL-5FU. Neste caso, é exibido um perfil de liberação mais retardada em tampão fosfato, seguido por uma liberação mais acentuada em meio acetato, no qual a liberação do fármaco em ambos os meios ocorre por mais de 48 horas de ensaio. Os resultados mostraram que para o CQD@HDL-5FU em tampão fosfato, a liberação de 30% do fármaco ocorre em 8 horas de ensaio, enquanto que para o tampão acetato esse tempo cai para 2 horas de ensaio. Esses resultados para os híbridos HDL-5FU e CQD@HDL-5FU, sugerem que o mecanismo de liberação do 5-FU intercalado no HDL são um efeito de mistura, decorrente de troca iônicas entre os íons intercalados e os ânions fosfato presente no meio, provocando menor taxa de liberação e pela dissolução das lamelas em acetato, promovida pela sensibilidade dos HDLs em meio, acentuado maior liberação.

Em suma, esse comportamento é favorável para a liberação em um sistema *in vivo*, pois retarda a liberação do 5-FU quando transportado pela corrente sanguínea (pH 7,4), enquanto que, uma liberação mais acentuada do fármaco é alcançada quando o híbrido atinge o microambiente tumoral, ou seja, o sítio alvo específico na célula cancerígena (pH 5,0), produzindo uma maior eficácia nas terapias que empregam o 5-FU como agente antineoplásico (SILVA et al., 2020).

Figura 19. Perfil de liberação *in vitro* do 5-FU puro e intercalado nos híbridos HDL-5FU e CQD@HDL-5FU em tampão acetato (a) e tampão fosfato (b) e em detalhe, o perfil de liberação de até 8h em cada tampão.



6 CONCLUSÃO

Os resultados reportados ao longo deste trabalho demonstraram que o material híbrido composto por hidróxidos duplos lamelares intercalados com 5-Fluorouracil e conjugados por pontos quânticos de carbono, foi alcançado com sucesso.

As caracterizações iniciais demonstraram que a solução de CQD@HDL-5FU quando excitada com radiação UV (365 nm) apresenta fotoluminescência na região do amarelo, o que não é observado na solução excitada dos HDL-5FU, apontando assim, a presença de CQD no sistema CQD@HDL-5FU. A presença do CQD também foi confirmada a partir da comparação dos espectros de absorção na região do UV-Vis dos materiais, com o surgimento da banda referente ao CQD quando esse é adicionado ao composto HDL-5FU.

Os dados de difração de raios- X do material CDQ@HDL-5FU mostraram padrão correspondente ao precursor HDL-5FU, exibindo também o espaçamento basal (003) em torno de $10,50^\circ$ ($d_{003} = 0,85$ nm), além de apresentar um aumento de intensidade no híbrido após adição de CQD no sistema, indicando que o tamanho das partículas do híbrido tornou-se menor e mais fino.

Os espectros de FTIR sugeriram que a conjugação dos CQDs com o material HDL-5FU se dá por meio de interações envolvendo pontes de hidrogênio entre grupos oxigenados localizados na superfície do CQD e grupos hidroxila do HDL-5FU. Por outro lado, a decomposição térmica do fármaco intercalado ao híbrido concedeu maior estabilidade ao 5-FU, ao ser comparado com o fármaco puro, entretanto, ao comparar o híbrido CQD@HDL-5FU com o seu precursor HDL-5FU, nota-se a diminuição da temperatura associada à decomposição dos grupos hidroxilas e dos ânions de 5-FU intercalados no composto, podendo estar associada com uma decomposição parcial dos grupos hidroxilas presentes nos CQDs. Imagens de MEV demonstrou que a mistura física de CQD e HDL-5FU não provocou grandes mudanças na morfologia, apresentando-se similar ao composto HDL-5FU.

Os ensaios de liberação controlada mostraram que o fármaco liberado pelo sistema CQD@HDL-5FU denota maior seletividade de liberação para o 5-FU. Apresentando liberação lenta e sustentada na corrente sanguínea e mais acentuada no ambiente tumoral, produzindo assim, maior eficácia nas terapias que empregam o 5-FU.

REFERÊNCIAS

- ANSARIZADEH, F.; SINGH, M.; RICHARDS, D. Modelling of tumor cells regression in response to chemotherapeutic treatment. **Applied mathematical modelling**, v. 48, p. 96-112, 2017.
- ANSEL, H.C.; ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G. Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. Porto Alegre: **Editora Artmed**, 8ª. Ed. 2007.
- BABAR, Pravin et al. Cobalt iron hydroxide as a precious metal-free bifunctional electrocatalyst for efficient overall water splitting. **Small**, v. 14, n. 7, p. 1702568, 2018.
- BAIKOUSI, M. et al. Thiamine pyrophosphate intercalation in layered double hydroxides (LDHs): An active bio-hybrid catalyst for pyruvate decarboxylation. **Applied Clay Science**, v. 75–76, n. April, p. 126–133, 2013.
- BARUAH, U. et al. Capped fluorescent carbon dots for detection of hemin: role of number of –OH groups of capping agent in fluorescence quenching. **The Scientific World Journal**, 2013.
- BAYOMI, S. M.; AL-BADR, A. A. Analytical profile of 5-fluorouracil. In: **Analytical Profiles of Drug Substances**. Academic Press, p. 599-639, 1990.
- BENÍCIO, L. P. F. et al. **Layered Double Hydroxides: Nanomaterials for applications in agriculture**. **R Bras Ci Solo**, v. 39, n. 1, p. 1-13, 2015.
- CAVANI, F.; TRIFIRO, F.; VACCARI, a. Hydrotalcite-type anlonlc clays: preparation, properties and applications. **Catalysis Today**, v. 69, n. 3, p. 173– 301, 1991.
- CHIAPPETTA, D. A. et al. Comprimidos bioadhesivos formulados con excipientes hidrofílicos para uso bucofaríngeo. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 25, n. 3, p. 360-365, 2006.
- CHIME, S. A.; ONUNKWO, G. C.; ONYISHI, I. I. Kinetics and mechanisms of drug release from swellable and non swellable matrices: a review. **Research Journal of Pharmaceutical: Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 97-103, 2013.
- COELHO, A. R. F. et al. Can Foliar Pulverization with CaCl₂ and Ca (NO₃)₂ Trigger Ca Enrichment in Solanum tuberosum L. **J. Environ. Stud**, v. 23, p. 249-253, 1984.
- CORRÊA, Á. G. S. Nanocompósitos híbridos ureasil-polióxido de etileno e hidróxidos duplos lamelares para liberação controlada de fármacos – Araraquara: [s.n.], 2021 103 f.: il. **Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química**. Orientador: Sandra Helena Pulcinell, 2021.
- CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: Síntese, estrutura, propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 300–311, 1998.
- CUNHA, V. R. R. et al. Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 159–171, 2010.

CUTRIM, E. S.M. et al. Preparation, characterization and in vitro anticancer performance of nanoconjugate based on carbon quantum dots and 5-Fluorouracil. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111781, 2021.

DANIEL, M. -C; ASTRUC, Didier. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical reviews**, v. 104, n. 1, p. 293-346, 2004.

DAS, N. G.; DAS, S. K. Controlled-release of oral dosege forms. **Formulation Fill & Finish (Supplement of Pharmaceutical Techonology)**, p.10-16, 2003.

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

DATT, A. et al. Loading and release of 5-fluorouracil from HY zeolites with varying SiO₂/Al₂O₃ ratios. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 167, p. 182-187, 2013.

DING, C.; LI, Z. A review of drug release mechanisms from nanocarrier systems. **Materials Science and Engineering C**. 1440-1453, 2017.

DOBROWOLSKI, J. C et al. Ar-matrix IR spectra of 5-halouracils interpreted by means of DFT calculations. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 109, n. 10, p. 2167-2182, 2005.

DROTTLEFF, S. et al. Biomimetic polymers in pharmaceutical and biomedical sciences. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 385-407, 2004.

DUMITRIU, Severian; POPA, Valentin (Ed.). **Polymeric Biomaterials: Structure and Function, Volume 1**. CRC Press, 2019.

DÜNNHAUPT, S. et al. Thiolated nanocarriers for oral delivery of hydrophilic macromolecular drugs. **Carbohydrate Polymers**, vol. 117, p. 577-584, 2015.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C.; Nanotecnologia. São Paulo: **Editora Artiber**, 2006.

FEITELSON, M. A. et al. Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. **Seminars in Cancer Biology**. Amsterdam: Elsevier, p. S25-S54, 2015.

FIDELES, Lázaro S. et al. Investigação científica e tecnológica do efeito protetor da rutina na mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e32710615625-e32710615625, 2021.

GAO, J. et al. Advances, challenges and promises of carbon dots. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 4, n. 12, p. 1963-1986, 2017.

GENNARO, A. A. R. et al. Remington Farmacia. 17. ed. **Buenos Aires: Panamericana**, 1987.

GEORGAKOPOULOU, E.; STEBBING, J.; SCULLY, C. Targeted cancer therapies: Oral health care implications. **The Journal of the American Dental Association**, v. 149, p. 100-111, 2018.

GILMAN, A. G. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 9. ed. Rio de Janeiro: **Mc Graw Hill Interamericana Editores**, 1996.

GOH, K. H.; LIM, T. T.; DONG, Z. Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: A review. **Water Research**, v. 42, n. 6–7, p. 1343–1368, 2008.

GU, Zi et al. In vitro sustained release of LMWH from MgAl-layered double hydroxide nanohybrids. **Chemistry of Materials**, v. 20, n. 11, p. 3715-3722, 2008.

GUPTA, Akash; LANDIS, Ryan F.; ROTELLO, Vincent M. Nanoparticle-based antimicrobials: surface functionality is critical. **F1000Research**, v. 5, 2016.

HERBST, M. H.; MACÊDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. **Química Nova** 27, 986, 2004.

HERVAULT, A.; THANH, N. T. K. Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer. **Nanoscale**, vol. 6, p. 11553-11573, 2014.

HOFFMAN, A. S. The origins and Evolution of “controlled” drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, Vol.132, p. 153-163, 2008.

https://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/18th_EML.pdf. Acesso em: 12/01/22.

HU, J. *et al.* Functionalized carbon quantum dots with dopamine for tyrosinase activity analysis. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 995, p. 99–105, 2017.

HUANG, Z. *et al.* Carbon dots with tunable emission, controllable size and their application for sensing hypochlorous acid. **Journal of Luminescence**, [s. l.], v. 151, p. 100– 105, 2014. b.

IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **nature**, v. 354, n. 6348, p. 56-58, 1991.

INCA. Brasil terá 625 mil novos casos de câncer a cada ano do triênio 2020- 2022. Disponível em: [Buscar | INCA - Instituto Nacional de Câncer](#) .

JEMAL, D. *et al.* Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975–2014, Featuring Survival. **Journal of the National Cancer Institute**, v.109, n.9, p.1-22, 2017.

JUBEEN, F. et al. Synthesis of 5-fluorouracil cocrystals with novel organic acids as cofomers and anticancer evaluation against HCT-116 colorectal cell lines. **Crystal Growth & Design**, v. 20, n. 4, p. 2406-2414, 2020.

KROTO, H. W. et al. C 60: buckminsterfullerene. **nature**, v. 318, n. 6042, p. 162-163, 1985.

- KUMAR, S. et al. Anticancer drug 5-fluorouracil induces reproductive and developmental defects in *Caenorhabditis elegans*. **Reproductive Toxicology**, v. 29, p. 415–420, 2010.
- KUTHATI, Y.; KANKALA, R. K.; LEE, C. H. Layered double hydroxide nanoparticles for biomedical applications: Current status and recent prospects. **Applied Clay Science**, v. 112–113, p. 100–116, 2015.
- LANZILLOTTI, Paula Floriano et al. Sistemas para liberação modificada de fármacos. 2012.
- LI, H. *et al.* Water-Soluble Fluorescent Carbon Quantum Dots and Photocatalyst Design. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 49, n. 26, p. 4430–4434, 2010.
- LI, H.; et al. Numerical simulation of controlled nifedipine release from chitosan microgels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93 (4), p. 1928-1937, 2004.
- LI, Haitao et al. Carbon nanodots: synthesis, properties and applications. **Journal of materials chemistry**, v. 22, n. 46, p. 24230-24253, 2012.
- LIANG, X. et al. Sorption of metal cations on layered double hydroxides. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 433, p. 122-131, 2013.
- LIAO, J.; CHENG, Z.; ZHOU, L. Nitrogen-Doping Enhanced Fluorescent Carbon Dots: Green Synthesis and Their Applications for Bioimaging and Label-Free Detection of Au³⁺ Ions. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 3053–3061, 2016.
- LIN, B. *et al.* Modification-free carbon dots as turn-on fluorescence probe for detection of organophosphorus pesticides. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 245, p. 1176–1182, 2018.
- LIU, X. et al. Transesterification of tributyrin with methanol over MgAl mixed oxides derived from MgAl hydrotalcites synthesized in the presence of glucose. **Fuel Processing Technology**, v. 106, p. 761–768, 2014.
- LIU, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, vol. 60, p. 1650-1662, 2008.
- LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. P.; JOHNSTON, P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. **Nat Rev Cancer**, v. 3(5), p. 330-338; 2003.
- LU, W. B. et al. M.; Al-Youbi, AO; Sun, XP Economical, Green Synthesis of Fluorescent 78 Carbon Nanoparticles and Their Use as Probes for Sensitive and Selective 79 Detection of Mercury (II) Ions. **Anal. Chem**, v. 84, p. 5351-5357, 2012.
- MACHADO, C. E. et al. Pontos Quânticos de Carbono: Síntese Química, Propriedades e Aplicações. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1306–1346, 2015.
- MALMSTEN, Martin. Soft drug delivery systems. **Soft Matter**, v. 2, n. 9, p. 760-769, 2006.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 375-399, 2002.

MARTINS, D. *et al.* Manipulação de quimioterápicos pelos profissionais da saúde. **Revista da Universidade Ibirapuera**, v. 10, 2016.

MENDES, T.S. Via colinérgica anti-inflamatória: Um Alvo terapêutico no curso da mucosite intestinal induzida experimentalmente por 5-fluorouracil. **Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2019.

MING, H. *et al.* Large scale electrochemical synthesis of high quality carbon nanodots and their photocatalytic property. **Dalton transactions**, v. 41, n. 31, p. 9526-9531, 2012.

MIRANDA, J. A.L. *et al.* Troxerrutina previne alterações morfológicas na mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil: papel da via ciclooxigenase-2. 2019.

MIRTICHEV, P. *et al.* Solution phase synthesis of carbon quantum dots as sensitizers for nanocrystalline TiO₂ solar cells. **Journal of Materials Chemistry** 22, 1265, 2012.

MISHRA, G.; DASH, B.; PANDEY, S. Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. **Applied Clay Science**, v. 153, n. June 2017, p. 172–186, 2018.

MITTAL, J. Recent progress in the synthesis of Layered Double Hydroxides and their application for the adsorptive removal of dyes: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 295, p. 113017, 2021.

MIURA, K., *et al.* 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs. **Cancers (Basel)**. 2, 1717–1730, 2010.

MIYATA, S. Anion-exchange properties of hydrotalcite-like compounds. **Clays & Clay Minerals**, v. 31, n. 4, p. 305–311, 1983.

MOLET-MARTINO, M.; JOLIMAITE, P.; MARTINO, R. The Prodrugs of 5-fluorouracil **Current Medicinal Chemistry- Anti- Cancer Agents**, (33), 267-310, 2002.

NEWMAN, S. P.; JONES, W. Synthesis, characterization and applications of layered double hydroxides containing organic guests. **New Journal of Chemistry**, v. 22, n. 2, p. 105–115, 1998.

NGUYEN, V. *et al.* Electron-hole recombination dynamics in carbon nanodots. **Carbon**, v. 95, p. 659–663, 2015.

NOVOSELOV, K. S. *et al.* Electric field effect in atomically thin carbon films. **science**, v. 306, n. 5696, p. 666-669, 2004.

PAIVA, D. L. *et al.* Introdução À Espectroscopia. Tradução Da 4ª Edição Norte-Americana. **Editora Cengage Learning**, 2012.

PANYAM, J. et al. Polymer degradation and in vitro release of a model protein from poly (D,L, - lactide-co-glycolide) nano- and microparticles. **J. Control. Release**, 92, 173-187, 2003.

PARK, K. *et al.* Controlled drug delivery systems: past forward and future back. **Journal of Controlled Release**, vol. 190, p. 3-8, 2016.

PELGRIFT, Robert Y.; FRIEDMAN, Adam J. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 13-14, p. 1803-1815, 2013.

PENG, Z. *et al.* Carbon dots: Biomacromolecule interaction, bioimaging and nanomedicine. **Coordination Chemistry Reviews**, [s. l.], v. 343, p. 256–277, 2017.

PERIOLI, L.; PAGANO, C. Inorganic matrices: an answer to low drug solubility problem. **Expert opinion on drug delivery**, v. 9, n. 12, p. 1559-1572, 2012.

PONTES-NETO, J. G. Sistemas de Liberação de Olanzapina À Base de Hidróxidos Duplo Lamelares. 2016. 158f. **Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, Pernambuco, Brasil, 2016.

QU, J. et al. Mechanochemical approaches to synthesize layered double hydroxides: A review. **Applied Clay Science**, v. 119, p. 185–192, 2016.

RAJENDER, G; GIRI, P. K. Formation mechanism of graphene quantum dots and their edge state conversion probed by photoluminescence and raman spectroscopy **J. Mater. Chem.C4** 10852–65, 2016.

RAJI, M. A. Management of chemotherapy-induced side-effects. **The Lancet Oncology**, v. 6, n. 6, p. 357, 2005.

RATNER, B.D. Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine. San Diego: **Academic Press**, 484 p, 1996.

RIBEIRO, A. C., ESTESO, M. A. Transport Properties for Pharmaceutical Controlled Release Systems: A Brief Review of the Importance of Their Study in Biological Systems. **Biomolecules**, v 8, p 178 – 184, 2018.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 37-42, 1987.

RIVES, V.; DEL ARCO, M.; MARTÍN, C. Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. **Applied Clay Science**, v. 88-89, p. 239-269, 2014.

RIVES, V.; DEL ARCO, M.; MARTÍN, C. Layered double hydroxides as drug carriers and for controlled release of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs): a review. **J Control Release**. 2013.

SAMIR, T. M. *et al.* Quantum dots: heralding a brighter future for clinical diagnostics. **Nanomedicine**, v. 7, n. 11, p. 1755-1769, 2012.

SANTOS, H.M.M. Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica. Parte I. Avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. **Rev. Bras. Cienc. Fram. Braz. J. Pharm. Sci.** Vol. 40, n.4, 2004.

SENAPATI, S. *et al.* Layered double hydroxides as effective carrier for anticancer drugs and tailoring of release rate through interlayer anions. **Journal of Controlled Release**, v. 224, n. 3, p. 186–198, 2016.

SHAFIEI, S. S. *et al.* Synthesis and characterization of nanocrystalline Ca–Al layered double hydroxide {[Ca₂Al(OH)₆]NO₃.nH₂O}: in vitro study. **Advances in Applied Ceramics**, v. 112, n. 1, p. 59-65, 2013.

SHARMA, B.*et al.* In vitro and in vivo evaluation of antitumor activity of methanolic extract of *Argyrea nervosa* leaves on Ehrlich ascites carcinoma. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 10, n. 2, p. 399-408, 2015.

SHIELDS, M. Chemotherapeutics. In: MCCREATH, S.B.; DELGODA, R. Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategies. **Amsterdam: Elsevier**, p. 295 – 313, 2017.

SILVA, E. H. C. Desenvolvimento De Nanodispositivo Híbrido A Base De Hidróxido Duplo Lamelar Para Liberação Controlada De 5-Fluorouracil. **Dissertação (Mestrado Química Analítica) - Universidade Federal do Maranhão**, São Luís, 2020.

SILVA, Valentim da; MANGRICH, Antonio Salvio; WYPYCH, Fernando. Liberação de nitrato de hidróxidos duplos lamelares como potenciais fertilizantes de liberação lenta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 821-830, 2014.

SIMÓ, C., CIFUENTES, A. GALLARDO, A. Drug delivery systems: polymers and drugs monitored by capillary electromigration methods. **Journal of Chromatography B**, v. 797, p. 37-49, 2003.

SINGH, P. *et al.* Thermal stability studies of 5-fluorouracil using diffuse reflectance infrared spectroscopy. **Drug testing and analysis**, v. 1, n. 5, p. 240-244, 2009.

SKEEL, R. T., LACHANT, N. A., Handbook of Cancer Chemotherapy. 4 ed., New York: **Little Bronw and Company**, 1995.

SKRABALAK, S.ara E. *et al.* Gold nanocages for biomedical applications. **Advanced Materials**, v. 19, n. 20, p. 3177-3184, 2007.

SMITH, S; PREWETT, S. Principles of chemotherapy and radiotherapy. **Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine**, v. 27, n. 7, p. 206-212, 2017.

SONIS, S. T. The pathobiology of mucositis. **Nat. Rev. Cancer** 4, 277–284, 2004b.

SUAREZ, J. J. B.; MOZO, E. A. P.; OYAMA, S. T. Review of the synthesis of layered double hydroxides: a thermodynamic approach. **Química Nova**, v.27, n.4, p.601-614, 2004.

SUI, L. et al. Ultrafast carrier dynamics of carbon nanodots in different pH environments. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 5, p. 3838–3845, 2016.

TAN, D. et al. Selective loading of 5-fluorouracil in the interlayer space of methoxy-modified kaolinite for controlled release. **Appl. Clay Sci.**, v. 159, p. 102-106, 2017.

THEISS, F. L.; AYOKO, G. A.; FROST, R. L. Synthesis of layered double hydroxides containing Mg²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺ and Al³⁺ layer cations by co-precipitation methods - A review. **Applied Surface Science**, v. 383, p. 200–213, 2016.

THOMAS, S. A. et al. Fluorouracil-induced Hyperammonemia in a Patient with Colorectal Cancer. **Anticancer research**, v. 35, p. 6761-64, 2015.

TIWARI, G. et al. Drug delivery systems: An updated review. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 2, n. 1, p. 2-11, 2012.

TUERHONG, M.; XU, Y.; YIN, X. Review on Carbon Dots and Their Applications. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 139–150, 2017.

UDOFOT, O. et al. Cytotoxicity of 5-fluorouracil-loaded pH-sensitive liposomal nanoparticles in colorectal cancer cell lines. **Integr Cancer Sci Therap**, v. 2, n. 5, p. 245-252, 2015.

VACCARI, Angelo. Preparation and catalytic properties of cationic and anionic clays. **Catalysis today**, v. 41, n. 1-3, p. 53-71, 1998.

VURAL, I.; SARISOZEN, C.; OLMEZ, S. S. Chitosan coated furosemide liposomes for improved bioavailability. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, vol. 7, p. 426-430, 2011.

WANG, J. et al. Synthesis, characterization and cells and tissues imaging of carbon quantum dots. **Opt. Mat.**, v.72, p.15-19, 2017.

WANG, Y. et al. Facile synthesis of carbon quantum dots loaded with mesoporous g-C₃N₄ for synergistic absorption and visible light photodegradation of fluoroquinolone antibiotics. **Dalton Transactions**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 1284–1293, 2018.

WANG, Z. et al. Synthesis and properties of Mg₂Al layered double hydroxides containing 5-fluorouracil. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 178, n. 3, p. 736–741, 2005.

WHO. Guide To Cancer Early Diagnosis. [s.l: s.n]

XIAO, G-F. et al. Facile preparation of modifying layered double hydroxide nanoparticles for drug delivery. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 18, n. 8, p. 5256-5265, 2018.

XU, Z. P.; BRATERMAN, P. S. Synthesis, structure and morphology of organic layered double hydroxide (LDH) hybrids: Comparison between aliphatic anions and their oxygenated analogs. **Applied Clay Science**, v. 48, n. 1–2, p. 235–242, 2010.

XU, Y. et al., Nitrogen-doped carbon dots: a facile and general preparation method, photoluminescence investigation, and imaging applications. **Chem. Eur. J.** 19 (7) 2276–2283, 2017.

YADAV, N.; SINGH, P.; MEHROTRA, R. Evaluation of Stability of 5- Fluorouracil under Different Stress Conditions: High Performance Liquid Chromatography and Infrared Spectroscopic Approach. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 8, n. 1, p. 49–55, 2012.

YAMASHITA, Fumiyoshi; HASHIDA, Mitsuru. Pharmacokinetic considerations for targeted drug delivery. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 1, p. 139-147, 2013.

YAN, Q. et al. A highly efficient and durable water splitting system: platinum sub-nanocluster functionalized nickel–iron layered double hydroxide as the cathode and hierarchical nickel–iron selenide as the anode. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 7, n. 6, p. 2831-2837, 2019.

YANG, W. et al. Carbon dots with red-shifted photoluminescence by fluorine doping for optical bio-imaging. **Carbon**, v. 128, p. 78-85, 2018.

YASUTAKE, A. et al. INTERCALATION BEHAVIOR OF 5-FLUOROURACIL INTO Mg-Al LAYERED DOUBLE HYDROXIDE. **Clay science**, v. 14, n. 1, p. 49-54, 2008.

ZAMAN, Alif Syafiq Kamarol et al. Properties and molecular structure of carbon quantum dots derived from empty fruit bunch biochar using a facile microwave-assisted method for the detection of Cu²⁺ ions. **Optical Materials**, v. 112, p. 110801, 2021.

ZHANG, N. et al. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Resistance and Reversal Strategies. **Molecules**, v. 13, p. 1551-1569, 2008.

ZHENG, X. T. *et al.* Glowing Graphene Quantum Dots and Carbon Dots: Properties, Syntheses, and Biological Applications. **Small**, [s. l.], v. 11, n. 14, p. 1620–1636, 2015.

ZHOU, Li et al. Carbon nanodots as fluorescence probes for rapid, sensitive, and label-free detection of Hg²⁺ and biothiols in complex matrices. **Chemical communications**, v. 48, n. 8, p. 1147-1149, 2012.

Apêndice A- Curva de calibração do 5-Fluorouracil.

Figura 1A. Curva de calibração do 5-Fluorouracil em ácido clorídrico 1 mol. L⁻¹.

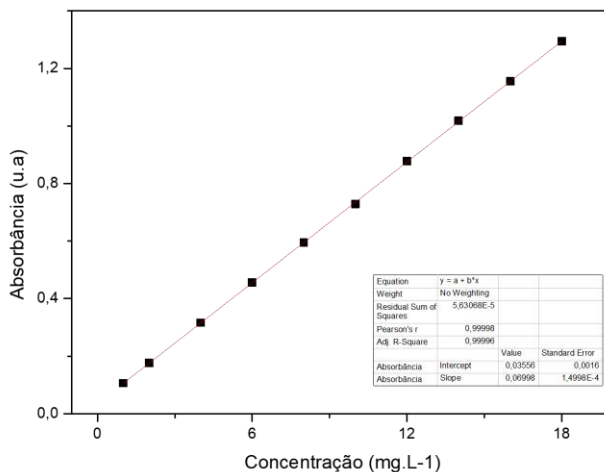


Figura 2A. Curva de calibração do 5-Fluorouracil em acetronitrila a 1% em água deionizada.

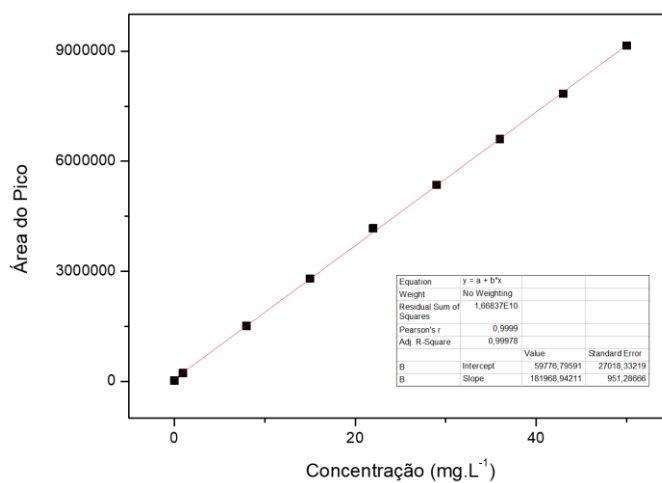


Figura 3A. Curva de calibração do 5-Fluorouracil em tampão fosfato salino (pH 7,4).

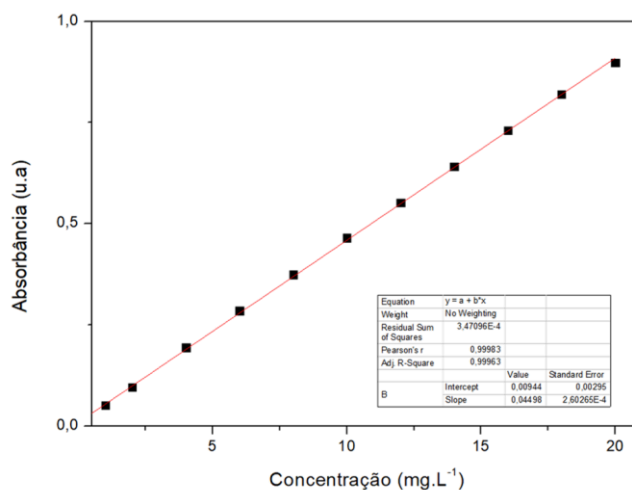
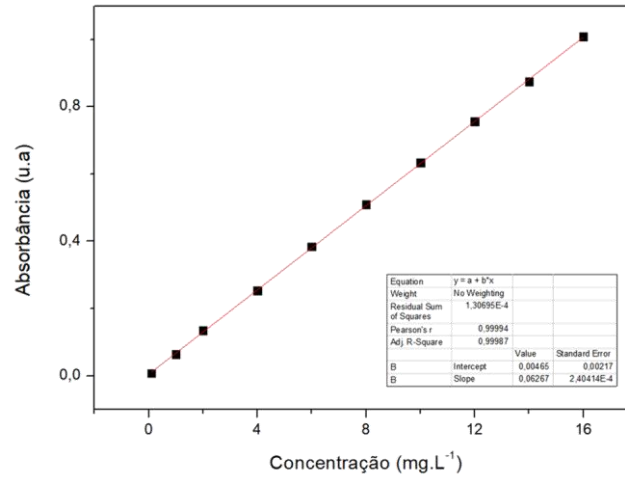
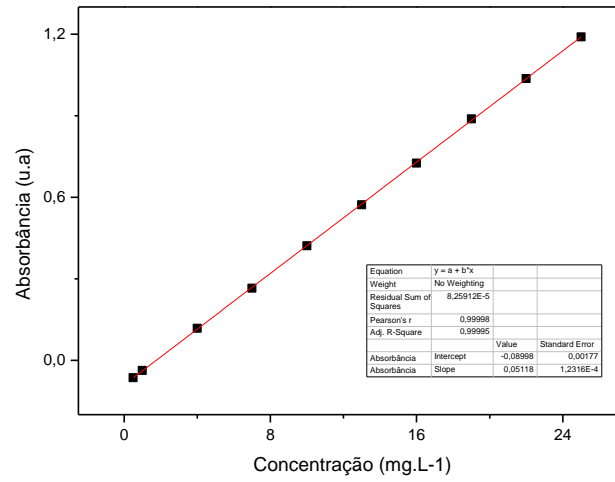


Figura 4A. Curva de calibração do 5-Fluorouracil em tampão acetato (pH 5,0).

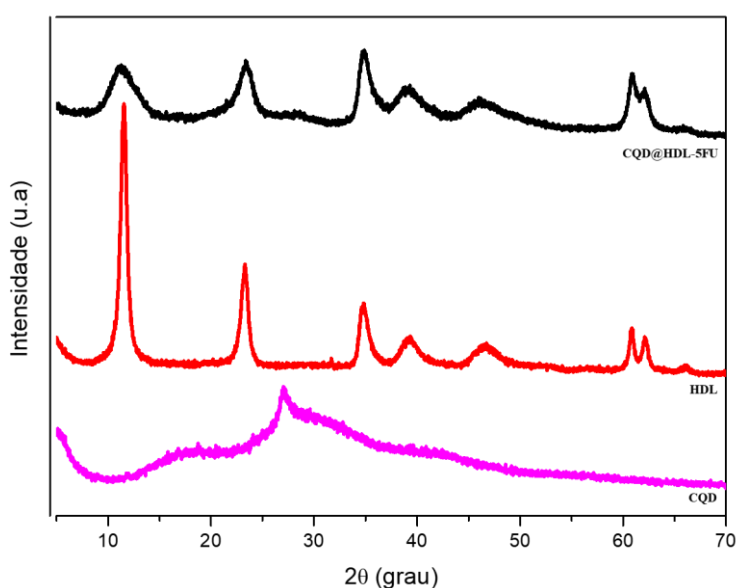


Apêndice B- Curva de calibração do CQD.**Figura 1B.** Curva de calibração do CQD em água destilada.

Apêndice C- Síntese do híbrido CQD@HDL-5FU pelo método de troca iônica.

Para a síntese do híbrido pelo método de troca iônica, uma solução dos sais $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ e $AlCl_3 \cdot 6 H_2O$ em uma proporção 2:1 Mg/Al foi gotejada lentamente em 150 ml de água destilada e previamente decarbonatada com gás nitrogênio por 15 min. Este processo foi realizado sob agitação constante, pH do meio reacional entre 9,5 e 10,0 ajustado mediante gotejamento de uma solução de NaOH 1 mol. L^{-1} e sob atmosfera de nitrogênio. Após o término do gotejamento, a suspensão foi mantida em agitação por 20 h. Passado o tempo de crescimento dos cristais, a suspensão foi centrifugação por 20 min. em 12000 rpm e lavado duas vezes com água destilada e decarbonatada. Posteriormente, uma solução contendo 0,012g de CQD e 0,7326g de 5-Fluorouracil (5-FU) foi preparada em 100 mL de água destilada que após a completa solubilização teve o pH ajustado para 10,0 com uma solução de NaOH na concentração 1 mol. L^{-1} . Essa solução foi decarbonatada com gás nitrogênio por 15 min. Após a decarbonatação, a suspensão no estado *fresh* (sem secagem) foi adicionada a solução. A suspensão foi mantida em agitação por 20 h. O precipitado foi centrifugação por 20 min em 12000 rpm e lavado duas vezes com água destilada e decarbonatada. E posteriormente, seco em estufa a 50°C por duas horas. Depois de seco, o sólido foi macerado e reservado em dessecador.

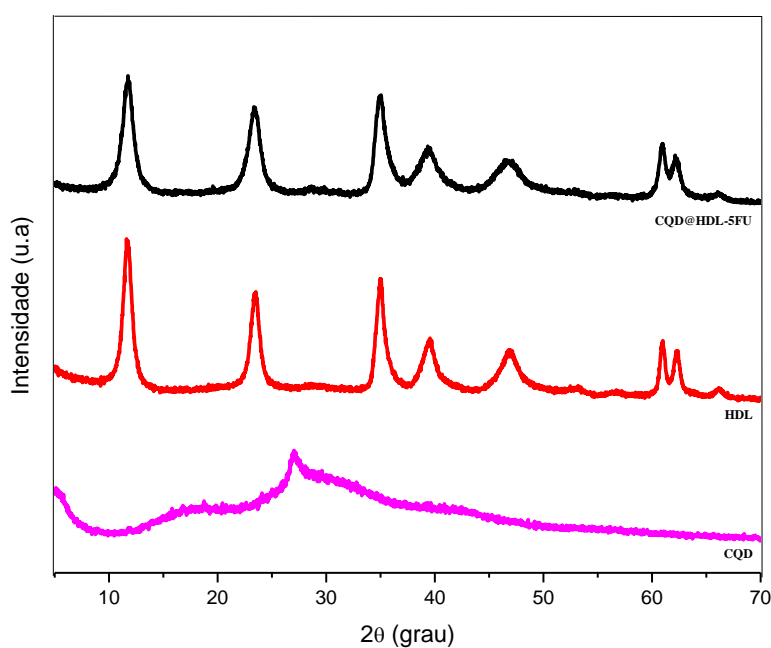
Figura 1C. Difratoograma de raio- X do CQD@HDL-5FU, HDL e CQD para o método de troca iônica.



Apêndice D- Síntese do híbrido CQD@HDL-5FU pelo método de reconstrução.

Para a síntese do híbrido pelo método de reconstrução, uma solução dos sais $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ e $AlCl_3 \cdot 6 H_2O$ em uma proporção 2:1 Mg/Al foi gotejada lentamente em uma solução de Na_2CO_3 $0,13 \text{ mol. L}^{-1}$. Este processo foi realizado sob agitação constante e pH do meio reacional entre 9,5 e 10,0, ajustado mediante gotejamento de uma solução de NaOH na concentração 1 mol. L^{-1} . Após o término do gotejamento, a suspensão foi mantida em agitação por 20h. Passado o tempo de crescimento dos cristais, a suspensão foi centrifugação por 20 min em 12000 rpm e lavado duas vezes com água destilada. E posteriormente, seco em estufa a 50°C por duas horas. Depois de seco, o sólido foi macerado e calcinado à 500°C por 4h. Após a calcinação, o sólido contido no cadinho, em temperatura ambiente, foi acrescentado em 100 mL de uma solução contendo 0,73 g de 5-FU e 0,01 g de CQD, preparada em água destilada que após a solubilização teve o pH ajustado para 10,0. Anteriormente, essa solução foi descarbonatada por 15 min com nitrogênio gasoso. A suspensão foi mantida sob agitação por 22 h. O precipitado foi centrifugado, lavado com água destilada e descarbonatada, seco em estufa a 60°C e estocado.

Figura 1D. Difratoograma de raio- X do CQD@HDL-5FU, HDL e CQD para o método de reconstrução.



Apêndice E –Refinamento estrutural pelo método de Rietveld

Tabela 1E. Parâmetros de rede, tamanhos de cristalito, microlinhagens médias e concentrações de fase das amostras de LDH e 5-FU-LDH obtidas a partir do refinamento de Rietveld.

	LDH	5-FU-LDH		
		5-FU intercalated ^a	Disturbed LDH	5-FU intercalated ^b
<i>a</i> (nm)	0.3048(1)	0.3042(5)	0.3045(2)	0.2997(7)
<i>c</i> (nm)	2.2942(3)	2.495(4)	2.275(2)	1.992(5)
<i>D</i>_⊥ (nm)	166(2)	75(5)	83(2)	44(2)
<i>D</i>_∥ (nm)	13.2(3)	8.9(6)	11.3(9)	4.7(3)
mean strain	0.077	0.147	0.148	0.344
Concentrations (%)	-	17(1)	54(1)	29(1)

^aReferring to phase with reflection at $2\theta = 10.73^\circ$.

^bReferring to phase with reflection at $2\theta = 13.25^\circ$.

Fonte: SILVA et al., 2020.