



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

PAULO ROBSON MONTEIRO DE SOUSA

**INTERCALAÇÃO DO IBUPROFENO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS
LAMELARES: CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS**

**Belém – PA
2016**

PAULO ROBSON MONTEIRO DE SOUSA

**INTERCALAÇÃO DO IBUPROFENO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS
LAMELARES: CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte do requisito para obtenção do grau de Doutor em Química.

Área de concentração: Físico-Química.

Subárea: Físico-Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva.

**Belém – PA
2016**

Dados Internacionais de Catalogação - na- Publicação (CIP)
Biblioteca de Pós-Graduação do ICEN/UFPA

Sousa, Paulo Robson Monteiro de
Intercalação de ibuprofeno em hidróxidos duplos lamelares:
Caracterizações físico-químicas e avaliações biológicas / Paulo Robson
Monteiro de Sousa; orientador, Jerônimo Lameira Silva. - 2016
136 f.: il.; 29 cm
Inclui bibliografias

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Programa de Pós-Graduação em
Química, Belém, 2016.

1. Química inorgânica. 2. Sistema carregador de fármaco. 3. Hidróxido
duplo lamelar. 4. Ibuprofeno. I. Título.
CDD – 22 ed. 546

PAULO ROBSON MONTEIRO DE SOUSA

**INTERCALAÇÃO DO IBUPROFENO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS
LAMELARES: CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte do requisito para obtenção do grau de Doutor em Química.

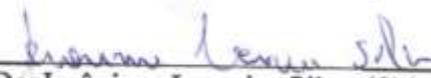
Área de concentração: Físico-Química.

Subárea: Físico Química Inorgânica.

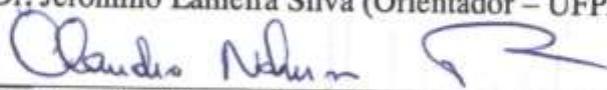
Orientador: Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva.

BANCA EXAMINADORA:

Belém, 14 de Outubro de 2016.



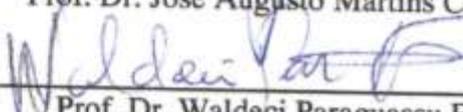
Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva (Orientador – UFPA)



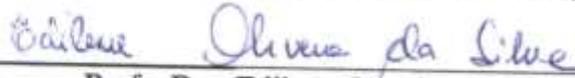
Prof. Dr. Claudio Nahum Alves (Co-orientador - UFPA)



Prof. Dr. José Augusto Martins Correia (UFPA)



Prof. Dr. Waldeci Paraguassu Feio (UFPA)



Profa. Dra. Edilene Oliveira da Silva (UFPA)

1 | Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) – Lab. Química Pesquisa – Cidade
Universitária José Silveira Neto – Setor Básico – Rua Augusto Corrêa S/N.
E-mail: ppgq@ufpa.br, Tel: 3201 – 7363 / Fax: 3201 - 7635.
<http://www.ufpa.br/ppgq>

Conceito: Aprovado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus; por tudo que Ele representa em minha vida;

À minha família, por tudo que ela representa em minha vida, especialmente à minha mãe Maria Durcirene M. Sousa;

Agradeço a minha esposa Helita Wilhena Maia, por toda a ajuda, companheirismo e confiança;

Agradeço aos meus irmãos e irmãs;

Agradeço aos meus avós “pais” Jorge Agripino e Maria Leocádia (em memória) pelos esforços por eles realizados para a minha educação e caráter e em memória ao meu primo Brendo Sousa;

Ao Laboratório LPDF (Laboratório de Planejamento e Desenvolvimento de Fármaco), pela infraestrutura para o desenvolvimento das sínteses;

Ao Laboratório SPCTS (Science des Procédés Céramiques et de Traitements de Surface, França), pela infraestrutura oferecida para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao Laboratório LNMC (Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular) pelos testes de atividade analgésica in vivo, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Gilmara de Nazareth Tavares Bastos;

Ao Laboratório LABNANO-AMAZON pelas análises de DRX, IR e Raman, coordenado pelos Professores Doutores Cláudio Márcio Rocha Remédios e Waldeci Paraguassu Feio;

Ao Prof. Dr. José Augusto Martins Corrêa, pela análise de TG/DSC;

Ao Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva, pela orientação, paciência, confiança e amizade;

Ao Prof. Dr. Claudio Nahum Alves, pela co-orientação e confiança;

Ao Prof. Dr. Olivier Masson pela orientação e ensinamentos no meu período de estágio na França;

Ao Prof. Dr. Phillipe Thomas pela ajuda e orientação no meu período de estágio na França;

Ao Prof. Dr. Marcos Anicete dos Santos pela oportunidade;

Ao Prof. Dr. Waldinei Monteiro pela ajuda;

Aos técnico(a)s Graziela Telles, Liliane N. da Silva, Kelly Oliveira; J. Jouin; M. Colas; J. Cornette; A. Meguekam-Sado; R. Mayet pela grande ajuda nas análises das amostras;

Aos amigos: Nelson Alencar, José Gomes, José Rogério, Alberto Santos, Alessandra Silva, Anderson Lima, Gleiciane Moraes, Isaque Gemaque, Augusto Rocha, Natália Silva, Silvana Araújo, Ricardo Miranda, Carla Carolina, Railda Moreira Araújo, Amarilis Aragão, Biatriz Alves, Glualber Cardoso, Joice Ribeiro, Renato Reis, Meyre Reis, Ricardo Miranda de Deus e a todos os colegas que me ajudaram nessa trajetória;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Pará e as agências financiadoras, CNPq, CAPES e CAPES-COFECUB, pela ajuda financeira.

“A educação é a arma mais poderosa que
você pode usar para mudar o mundo.”
(Nelson Mandela).

RESUMO

INTERCALAÇÃO DO IBUPROFENO EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES: CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS

Ibuprofeno intercalado em hidroxidos duplos lamelares (IBU-HDL) foi sintetizado com sucesso via método da co-precipitação com uma razão nominal de $[Al^{3+}]/[Mg^{2+}]$ 0,5 e uma relação molar variável de $IBU/([Al^{3+}] + [Mg^{2+}])$ de 0, 0,15, 0,18, 0,24, 0,36 e 0,72. Após uma determinação precisa da composição, natureza das espécies intercaladas e do efetivo rendimento de intercalação dos NO_3^- pelos IBU, verificou-se que a rota de síntese utilizada permite um bom controle da quantidade de IBU intercalado dentro da estrutura do HDL. Isto resulta em diferentes amostras com a completa ou parcial intercalação do IBU no espaço interlamelar na troca dos ânions nitrato. A análise das reflexões basais de difração de raios X revelam que a intercalação do IBU na estrutura apenas aumenta as distâncias basais sem alteração das lamelas do tipo brucita. Além disso, um estudo computacional utilizado para modelar as posições e formas das reflexões basais mostrou que a estrutura dos compostos não totalmente intercalado segue um esquema de interstratificação aleatória. Finalmente, foram selecionadas três amostras que variam desde galerias ligeiramente a totalmente intercaladas com IBU para ensaios *in vivo* preliminares. Estes testes mostraram uma forte tendência que após 24 horas, o baixo rendimento de compostos intercalados com IBU é quase tão eficiente como a amostra completamente intercalada.

Palavras Chave: Hidróxido Duplo Lamelar. Hidrotalcita de Mg-Al. Ibuprofeno. Processo de Intercalação. Caracterização Estrutural. Co-precipitação.

ABSTRACT

INTERCALATION OF IBUPROFEN IN LAYERED DOUBLE HYDROXIDES: PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL EVALUATION

Ibuprofen-intercalated layered double hydroxides (LDH-IBU) have been successfully synthesized via a co-precipitation method with a nominal $[\text{Al}^{3+}]/[\text{Mg}^{2+}]$ ratio of 0.5 and a variable molar $\text{IBU}/([\text{Al}^{3+}]+[\text{Mg}^{2+}])$ ratio of 0, 0.15, 0.18, 0.24, 0.36 and 0.72. After an accurate determination of the composition, the nature of the intercalated species and the effective intercalation yield from NO_3^- to IBU, it is shown that the synthesis route used allows a good control of the quantity of intercalated IBU within the LDH framework. This results in different samples with full or partial IBU intercalation in the interlayer space in exchange of nitrate anions. The analysis of the X-ray diffraction basal reflections reveals that the intercalation of IBU in the framework only increases the basal distances with no alteration of the brucite-type layers. Also, a computational study used to model the positions and shapes of the basal reflections showed that the structure of the non-fully intercalated compounds follows a random interstratification scheme. Finally three samples ranging from slightly to fully IBU-intercalated galleries were selected for preliminary *in vivo* assays. These tests showed a strong tendency that after 24 hours the low yield of IBU-intercalated compounds are almost as efficient as the fully intercalated sample.

Keywords: Layered Double Hydroxide, Mg-Al hydrotalcite, Ibuprofen, Intercalation process, Structure characterisation, Co-precipitation.

LISTA DE TABELAS

	p
Tabela 1. Raios iônicos de alguns cátions metálicos.	24
Tabela 2. Possíveis ânions de intercalação na estrutura lamelar dos HDL e seus respectivos exemplos.	24
Tabela 3. Valores do primeiro espaçamento basal para os HDL contendo diferentes ânions interlamelares.	26
Tabela 4. Faixa de pH sobre o qual os HDL selecionados são estáveis com suspensão em água. Adaptado de Bravo-suárez et al. (2004a).	38
Tabela 5. Condições de síntese para os HDL puros e para os complexos de IBU-HDL preparados pelo método de coprecipitação a pH ~ 10.	60
Tabela 6. Informações cristalográficas extraídas a partir do drx das amostras. *d e *t são valores médios.	68
Tabela 7. Espectros vibracionais de Raman e Infravermelho atribuído ao ibuprofeno (IBU) livre, dos HDL puros e aos híbridos IBU-HDL.	77
Tabela 8. Propriedades e composição química das amostras sintetizadas pelo método de coprecipitação.	85
Tabela 9. Valores das absorvâncias do IBU obtidos por espectrofotometria. **Valor médio e *Desvio padrão obtidos em triplicata.	86
Tabela 10. Quantidade de ibuprofeno intercalado no HDL de Mg/Al = 2, IBU-HDL2. Valores experimental e teórico.	93
Tabela AII1. Propriedades e composição química das amostras sintetizadas pelo método de coprecipitação.	113
Tabela AII2. Informações cristalográficas das amostras.	117

LISTA DE FIGURAS

	p
Figura 1. Representação esquemática da estrutura da brucita. (a) visão lateral da lamela. (b) visão de cima da lamela. (c) borda octaédrica com cátion de metal bivalente (Mg) no centro (esfera verde) e átomos de oxigênio (O) dos íons hidroxilas nos vértices da lamela octaédrica na parte superior (esferas tracejadas) e na parte inferior (esferas vermelha). Adaptado de Arizaga et al., 2007; Richardson (2013).	21
Figura 2. Representação esquemática da estrutura de um HDL genérico. (a) visão lateral e (b) lamela vista de cima. Adaptado de Arizaga et al. (2007).	22
Figura 3. Representação esquemática da estrutura dos HDL, onde neste modelo são representados os ânions nitrato (NO_3^-) e moléculas de água (H_2O) (escolha do autor), porém existem HDL com outros ânions. Adaptado de Cunha et al. (2010).	23
Figura 4. Comparação da relação entre metal trivalente (M^{3+}) versus razão de metais bivalente (M^{2+}) e os limites para as composições dos HDL correspondentes. Adaptado de Roy, 1998, apud Feng (2006).	25
Figura 5. Modelos para o rearranjo dos íons nitrato em HDL- NO_3 nas razões de cátions metálicos $\text{Mg}/\text{Al} = 2$ e $\text{Mg}/\text{Al} = 3$. Adaptado de Xu et al. (2001a).	27
Figura 6. Esquema representando os possíveis polítipos dos HDL. Adaptado de Crepaldi e Valim (1998).	28
Figure 7. Estrutura esquemática dos HDL de Mg/Al . (a) uma sequência hexagonal. (b) uma sequência romboédrica, exemplo de hidrotalcita, onde em vermelho são Al^{3+} octaédrico centrado, azul são Mg^{2+} centrado. Adaptado de Wang (2012).	29
Figura 8. Abordagem de cima para baixo e de baixo para cima para a preparação de nanomateriais inorgânicos. Adaptado de Reverchon e Adami (2006).	30
Figura 9. Diagrama esquemático do processo de nucleação e crescimento mostrando os cinco passos e a dependência da energia livre de Gibbs (G) com o tamanho do cristal. Adaptado de Leite e Ribeiro (2012).	31
Figura 10. Diagrama do balanço de massa $\text{M}^{(II)}/\text{M}^{(III)}$ mostrando a coprecipitação e rota de síntese de oxidação. Adaptado de Ruby et al. (2006).	33

- Figura 11.** Representação esquemática da formação de Fármaco-HDL nanohíbrido via método de coprecipitação. Adaptado de Barkhordari et al. (2014). 35
- Figura 12.** Reações de intercalação competitividade de argilas aniônicas. 36
- Figura 13.** Representação esquemática simplificada do processo de reconstrução de um HDL (Vieira, 2009). 37
- Figura 14.** Representação esquemática de intercalação por esfoliação do ibuprofeno em HDL, complexo Ibuprofeno-HDL. Adaptado de Lu et al. (2013). 37
- Figura 15.** Representações esquemática do mecanismo de intercalação. H = hospedeiro, G = hóspede, I = fase de interação, EH = lamelas esfoliada do hospedeiro, APB = fronteira de fase avançada, Sn = fases de teste/preparação e HT = Hendricks-Teller é a intercalação de composto desordenado. Adaptado de Beneš et a. (1998). 42
- Figura 16.** Visão esquemáticas dos diferentes tipos de intercalação: (a) movimento rápido dos intercalados nas galerias interlamelares abertas; (b) intercalação lamela por lamela; (c) interestratificação aleatória, (d) fases; (e) abrandamento do movimento do intercalado e abertura simultânea das galerias interlamelares; (f) movimento muito lento do intercalado, com clara formação de um limite de fase um "perfil cinzeiro - ashtray profile"; (g) superação de defeitos tipo Daumas-Hérolde. Adaptado de Lerf (2014). 43
- Figure 17.** Possíveis informações estruturais obtidos por diferentes técnicas de caracterização. Adaptado de Prevot 1999, Apud Feng (2006). 44
- Figura 18.** (a) Difratoograma de DRX típico de HDL e as relações entre a célula primitiva romboédrica, a célula hexagonal e as respectivas equações para os cálculos dos parâmetros de rede (a,b,c). Fonte: elaborado pelo autor. 45
- Figura 19.** Possíveis aplicações dos HDL. Adaptado de Mingos (2006). 49
- Figura 20.** Estruturas química dos enantiômeros R e S do ibuprofeno, (RS)-2-(4-(2-metilpropil) fenil) ácido propanóico. 52
- Figura 21.** Mecanismo proposto da inversão quiral do ibuprofeno. Adaptado de Reichel et al. (1997). 53
- Figura 22.** Locais determinantes das isoformas da COX. Adaptado de Antman (2005). 54
- Figura 23.** Representação esquemática das diferenças estruturais entre 55

os sítios de ligação do substrato à COX-1 e COX-2, que permitiram o desenvolvimento de inibidores seletivos. Adaptado de Grosser et al. (2006).

- Figura 24.** Esquema experimental para obtenção dos materiais de HDL pelo método de coprecipitação. (a) obtenção de HDL, (b) intercalação de fármaco nos HDL de Mg/Al. Fonte: Elaborado pelo autor. 59
- Figura 25.** Amostras sintetizadas por coprecipitação usando ibuprofeno (IBU) e HDL nas razões molares de Mg/Al = 2,0, 2,5 e 3,0. As proporções entre IBU-HDL foram 1:X, com X variando de 1 a 10 e massa total igual a 4,5 gramas 65
- Figura 26.** Difrátogramas de raios X do IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 (Mg_2Al-NO_3) puro e dos híbridos IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10. 67
- Figura 27.** Espectros vibracionais na região do infravermelho para o IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 ($Mg/Al-NO_3^-$) puro e amostras híbridas IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10. 72
- Figura 28.** Evolução da intensidade dos ânions nitrato (em u. a.) versus quantidade de IBU (em mol). 74
- Figura 29.** Espectros vibracionais Raman para o IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 ($MgAl-NO_3$) puro e dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10. 76
- Figura 30.** Curvas TG/DSC do Ibuprofeno (IBU) livre. 78
- Figura 31.** Esquema da via de decomposição térmica do HDL de nitrato, $HDL-NO_3^-$. Adaptado de Xu (2001b). 79
- Figura 32.** Curvas TG/DSC do HDL2 (Mg_2Al-NO_3) puro. 80
- Figura 33.** Curvas TG/DSC dos materiais híbridos. IBU-HDL2 1:2 (a), 1:4 (b), 1:6 (c), 1:8 (d), 1:10 (e) e (f) curvas DSC para todas as amostras. 81
- Figure 34.** Curvas TG/DSC das amostras. IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 ($MgAl-NO_3$) puro, dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10. 82
- Figura 35.** Espectros de absorção e representação gráfica do IBU livre. 87
- Figura 36.** Espectros de absorção e representação gráfica das amostras. Ibuprofeno (IBU) livre, (a) HDL2 (Mg_2Al-NO_3) e dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2 (b), 1:4 (c), 1:6 (d), 1:8 (e) e 1:10 (f). 88

- Figura 37.** Evolução do rendimento de IBU intercalado em função da razão nominal determinado por ICP, TG e UV-vis. 89
- Figura 38.** Comparação entre os padrões experimentais das amostras IBU-HDL2 1:4 (a), 1:6 (b), 1:8 (c) e 1:10 (d) e os padrões calculados com o modelo de interestratificação aleatória. Para a amostra IBU-HDL2 1:8 (c), os cálculos obtidos com modelo de estágio secundário é também plotado para comparação, onde as linhas pontilhadas representa o estágio secundário e a linha sólida em negrito a interestratificação aleatória. 92
- Figura 39.** Imagem da microscopia eletrônica de varredura para (a) HDL2 puro e dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2 (b), 1:4 (c), 1:6 (d), 1:8 (e) e 1:10 (f). 94
- Figura 40.** Esquema construído a partir de informações da literatura e dos dados de DRX, IR, Raman, TG, ICP e UV-vis para o complexo IBU-HDL deste trabalho. 95
- Figura 41.** Difractogramas das amostras IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10 usadas nos teste in vivo sobre atividade antinoceptiva. 96
- Figura 42.** Efeito de contorções induzida em camundongos após 24 horas para o ibuprofeno (IBU) livre, HDL2 (Mg_2Al-NO_3) puro, amostras híbridas IBU-HDL2 1:10, 1:6 e 1:4 e o veículo puro (salina 0,9%). O gráfico de barras representa o número de contorções, expressos como média \pm S.E.M. Os números acima das barras correspondem à percentagem de diminuição do número de contorções em relação ao obtido com o veículo sozinho. 97
- Figura 43.** Gráfico da hemólise RBCs após o tratamento de várias concentrações das amostras híbridas IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10 por 2 horas. A hemoglobina no sobrenadante vermelho indica o dano do RBCs. Triton-X foi utilizado como controle positivo. O HDL2 e DMSO foram usados como controles negativos. As misturas foram centrifugadas para detectar a presença de hemoglobina (vermelho) por absorção a 540 nm. 99
- Figura AI1.** Difractogramas de raios X das amostras híbridas IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2 sintetizadas por coprecipitação. O símbolo (*) é devido à presença de IBU livre. Esse resultado mostra que não é necessário usar um excesso de fármaco para se obter materiais parecido em relação a intensidade e posição do espaçamento basal (d_{001}). 102
- Figura AI2.** Difractogramas de raios X da triplicata de IBU-HDL2 1:2. Amostra A sintetizada no laboratório LPDF em Belém-Brasil e as amostras B e C sintetizadas no laboratório SPCTS na Limoges-França (ver Tabela 5), mostrando que houve reprodutibilidade do material sintetizado interlaboratorial pela mesma pessoa. 103

- Figura AI3.** Espectros vibracionais na região no infravermelho das amostras híbridas IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2. O símbolo (*) é devido à presença de IBU livre na amostra IBU-HDL2 1:1 em vermelho (veja o drx na Figura AI1). 104
- Figura AI4.** (A) Fotografias da hemólise RBC após o tratamento com as amostras HDL e IBU-HDL em 1 h. A hemoglobina no sobrenadante vermelho indicou o dano de RBCs. Triton-x e DMSO são usadas como controles positivos e negativos, respectivamente. (B) As misturas foram centrifugadas para detectar a presença de hemoglobina (vermelho) por absorção a 541 nm. Média \pm SEM *, significativamente diferente do veículo ($p < 0,05$, teste t de ANOVA, Student-Newman-Keuls). 105
- Figura AI5.** Efeito das contorções induzida em camundongos em até 48 horas para o ibuprofeno (IBU) livre, HDL2 puro e dos híbridos IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2. Ordenada, o número de contorções. Média \pm SEM *, significativamente diferente do veículo ($p < 0,05$, ANOVA, Student-Newman-Keuls, t-teste). 106
- Figura AI6.** Difractogramas de raios X para. (a) HDL puro nas razões de Mg/Al = 2, 2,5 e 3. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2. O asterístico (*) na amostra HDL3 indica a presença do sal nitrato de sódio (NaNO_3) que não foi removido na lavagem do material. 107
- Figura AI7.** Razão molar dos cátions versus densidade de carga (d_c) das amostras IBU-HDL2 1:2, IBU-HDL2,5 1:2 e IBU-HDL3 1:2. 108
- Figura AI8.** Espectros vibracionais na região do infravermelho para. (a) HDL puro nas razões de Mg/Al = 2, 2,5 e 3. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2. 109
- Figura AI9.** Espectros vibracionais Raman para. (a) HDL puros nas razões de Mg/Al = 2, 2,5 e 3. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2. 109
- Figura AI10.** Curvas TG/DSC das amostras. (a) HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3^-$). (b) HDL2,5 ($\text{Mg}_{2,5}\text{Al-NO}_3^-$). (c) HDL3 ($\text{Mg}_3\text{Al-NO}_3^-$). 110
- Figura AI11.** Curvas TG/DSC das amostras híbridas. (a) IBU-HDL2 1:2. (b) IBU-HDL2,5 1:2. (c) IBU-HDL3 1:2. 111
- Figura AI12.** Curvas TG/DSC. (a) HDL puros. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2 e os produtos das reações da degradação térmica. 112
- Figura AI13.** Espectros de absorção e representação gráfica para as amostras híbridas IBU-HL2 (1:2), IBU-HL2,5 (1:2), IBU-HL3 (1:2), e IBU (Ibuprofeno) livre. 113

LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS

DRX	Difratometria de raios X
Raman	Espectroscopia Raman
IR	Espectroscopia no Infravermelho
UV-vis	Ultravioleta visível
TG	Termogravimétrica
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
IBU	Ibuprofeno (ácido α -metil-4-(2-metilpropil)benzeno-acético)
HDL	Hidróxidos Duplos Lamelares
IBU-HDL	Complexo de ibuprofeno e Hidróxidos Duplos Lamelares (IBU-HDL)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
PPGQ	Programa de Pós-Graduação em Química
PPGF	Programa de Pós-Graduação em Física
SDM	Simulações de Dinâmica Molecular
DFT	Teoria do Funcional de Densidade (Density Functional Theory)
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente
M^{2+}	Metal com carga divalente
M^{3+}	Metal com carga trivalente
A^{m-}	Ânion com carga negativa
Å	Ângstron
G	Energia livre de Gibbs
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
FWHM	Full-width at half maximum (largura à meia-altura)
ICC	Coefficiente de Correlação Intraclasse
LNE	Laboratório de Neurofarmacologia Experimental
LNMC	Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular
LP	Laboratório de Protozoologia
EtO \cdot	Ânions Etóxido
HOMO	Orbital Molecular ocupado mais alto (Highest Occupied Molecular Orbital)
LUMO	Orbital molecular não ocupado mais baixo (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
COX	Enzima Cicloxigenase
NOS	Enzima Óxido Nítrico Sintase

ÍNDICE

CAPÍTULO 1. Revisão da literatura sobre hidróxidos duplos lamelares	p
1.1. INTRODUÇÃO	22
1.2. BREVE HISTÓRICO SOBRE OS HDL	23
1.2.1. Arranjo dos cátions dentro das lamelas como a da brucita	24
1.2.2. Distribuição dos ânions nas galerias interlamelares	28
1.2.3. Sequência do empilhamento das lamelas	31
1.3. SÍNTESES DE NANOPARTÍCULAS – UMA VISÃO GERAL	33
1.3.1. Síntese de HDL	36
1.3.2. Método de coprecipitação	36
1.3.2.1. Coprecipitação em alta supersaturação	38
1.3.2.2. Coprecipitação em baixa supersaturação	38
1.3.3. Método de Troca-lônica	39
1.3.4. Método de Reconstrução	40
1.3.5. Método por esfoliação	41
1.4. PROPRIEDADES IMPORTANTES PARA SÍNTESE DE HDL	42
1.4.1. Faixa do pH	42
1.4.2. Velocidade de adição dos reagentes	43
1.4.3. Fatores relacionados com os cátions	43
1.4.4. Estabilização da estrutura lamelar pelo ânion intersticial	44
1.4.5. Cristalização	44
1.4.6. Controle do tamanho da partícula	44
1.4.7. Controle da morfologia	45
1.5. MECANISMO DE INTERCALAÇÃO	45
1.6. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS HDL	48
1.6.1. Estudos de modelagem molecular	51
1.6.2. Aplicações Das Argilas Aniônicas	52
1.7. OBJETIVOS DA TESE	54
1.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

CAPÍTULO 2. Revisão da literatura sobre a molécula de Ibuprofeno

2.1. INTRODUÇÃO	65
2.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	70
2.2.1. Materiais	70
2.2.2. Procedimentos experimentais de síntese das amostras	70
2.2.3. Técnicas de caracterização usada	74
2.2.4. Teste in vivo	75
2.2.4.2. Contorção induzida por ácido acético em camundongos	76
2.2.5. Análise de Hemólisis	76
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
2.3.1. Análises de difratometria de raios X	79
2.3.2. Análises na região do infravermelho	83
2.3.3. Análises por espectroscopia Raman	86
2.3.4. Análises termogravimétricas	90
2.3.5. Análises no ultravioleta-visível	96
2.3.6. Processo de Intercalação	101
2.3.7. Análises de microscopia eletrônica de varredura	104
2.3.8. Ensaio in vivo	106
2.3.7. Teste de ensaio de hemólise	109
2.4. CONCLUSÕES	111
2.5. APÊNDICES	112
2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129

CAPÍTULO 1. Revisão da literatura sobre hidróxidos duplos lamelares

1.1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de materiais híbridos é um campo de pesquisa que vem crescendo nos últimos anos, pois combina o conhecimento tradicional com novas abordagens e modernas tecnologias, com objetivo de atender à crescente demanda por novos materiais multifuncionais que possam ter aplicações em diversas áreas do conhecimento, tais como na agricultura, meio ambiente, física, química, biologia, bioquímica, medicina entre outras (Cunha et al., 2010; Mingos, 2006). Vários trabalhos tratam da utilização de nanopartículas como cápsulas de armazenamento ou carregadores de espécies de interesse biológico e terapêutico (Ambroggi et al., 2001; Barahuie et al., 2014; Gunawan; Xu, 2008; Román et al., 2012; Xu et al., 2006), usando diversos sistemas para liberação controlada de fármaco (Cunha et al., 2010).

Entre os exemplos recentes estão a sílica mesoporosa (Slowing et al., 2009) zeólitas (Khodaverdi et al., 2014) e os hidróxidos duplos lamelares (HDL) também conhecidos como compostos do tipo hidrotalcita (Cunha et al., 2010). Os HDL apresentam boa biodisponibilidade, baixa toxicidade, alta biocompatibilidade, alta capacidade de inserção de espécies iônicas, possibilidade de funcionalização da superfície, aumento da estabilidade das espécies inseridas (Faraji; Wipf, 2009), promovendo a liberação sustentada e possibilidade de controle do alvo celular através da morfologia e tamanho das partículas inorgânicas (Barahuie et al., 2014; Cunha et al., 2010). Além disso, os HDL apresentam propriedades alcalina e lenta degradação em meio ácido (Cunha et al., 2010).

Vários compostos com atividade farmacêutica e que apresentam carga negativa na sua estrutura têm sido intercalado dentro das lamelas dos HDL (Barahuie et al., 2014; Costantino et al., 2009), com objetivo de prolongar a sua ação. Dentre essas substâncias, destacam-se os fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), os quais são compostos orgânicos aromáticos com grupos carboxílico facilmente ionizável e que possibilita a sua intercalação na forma aniônica dentro das lamelas dos HDL (Huang; Zhang; Pan., 2011). Nesta tese é discutido a intercalação de três moléculas ácidas, o ibuprofeno, ácido ferúlico e o

ácido kójico em HDL, porém antes será apresentado uma revisão da literatura sobre os HDL, as principais propriedades para obtenção desse tipo de material e também sobre essas substâncias usadas na intercalação.

1.2. BREVE HISTÓRICO SOBRE OS HDL

Os HDL são uma família de materiais em camadas, que existem naturalmente como minerais e também podem ser sintetizados em laboratório (Mingos, 2006; Reichle; Kang; Everhardt, 1986). A história dos HDL remonta a meados do século XIX quando a hidrotalcita foi descoberta na Suécia. Sua fórmula, $Mg_6Al_2(CO_3)(OH)_{16}\cdot 4H_2O$, foi apresentado pela primeira vez por Manasse, em 1951 (Apud, Wang, 2012) e, após a Segunda Guerra Mundial, um número considerável de pesquisadores estudaram aspectos estruturais e de síntese desses compostos.

A estrutura dos HDL pode ser considerada como a da brucita carregada positivamente de mistura de hidróxidos de metal com ânions balanceados por cargas e moléculas de água no espaço interlamelar (Pesic et al., 1992). O método descrito por Feitknecht para síntese de HDL foi adaptado por Reichle e colaboradores para estudar a decomposição térmica dos HDL (Reichle; Kang; Everhardt, 1986). Posteriormente, outros métodos de preparação foram descobertos e, os HDL passaram a ser preparados com uma ampla variedade de composição, possibilitando extensas aplicações (Barahuie et al., 2014; Mingos, 2006). A primeira patente em HDL foi publicada em 1970 pelo pesquisador Miyata, Apud Cunha et al. (2010). Desde então, outras patentes têm sido depositada sobre a síntese e caracterização dos HDL (Bolognese et al., 2007; O'hare; Ashley, 2002, 2004; Park et al., 2006). Patentes relatando o uso dos HDL para liberação sustentada, por exemplo, do bisfosfonatos para o tratamento de osteoporose (Stockel, 2006), dos HDL contendo íons $Fe^{(III)}$ nas lamelas para tratamento de deficiência de ferro no organismo (Slaghek et al., 2007) e recentemente HDL para aplicação em cosmético (Takehiko, 2012).

De acordo com Wang, a determinação da estrutura dos HDL envolve três aspectos importantes: o arranjo dos cátions dentro das lamelas como a da brucita, a distribuição dos ânions nas galerias interlamelar e a sequência de empilhamento das lamelas (Wang, 2012).

1.2.1. Arranjo dos cátions dentro das lamelas

A estrutura da brucita se baseia em lamelas individuais de Mg^{2+} , octaédrica centrado com os grupos hidroxilas (OH^-) localizados nos vértices (Figura 1). Geralmente é aceito que a disposição interlamelar nos HDL depende fortemente da área disponível para cada ânion, desde que a distância entre os íons metálicos adjacentes nas lamelas seja igual ao parâmetro da célula unitária, a . A distância entre os cátions metálicos, $d(M-M)$, pode ser considerado igual à distância entre os sítios de oxigênio que se encontram no mesmo plano basal, $d(O-O)$, isto é, que forma a parte superior ou inferior da camada octaédrica e também é igual ao parâmetro da célula unitária (Richardson, 2013). A área ocupada por uma unidade $M(OH)_2$ (mostrado pelo losango em destaque na Figura 1b) é $a_0^2 \text{sen}60^\circ$ (Costantino et al., 1999). Para um HDL com lamelas do tipo $[M^{II}_{1-x}M^{III}_x(OH)_2]^{x+}$, a área por unidade de carga é portanto, $(1/x) a_0^2 \text{sen}60^\circ$.

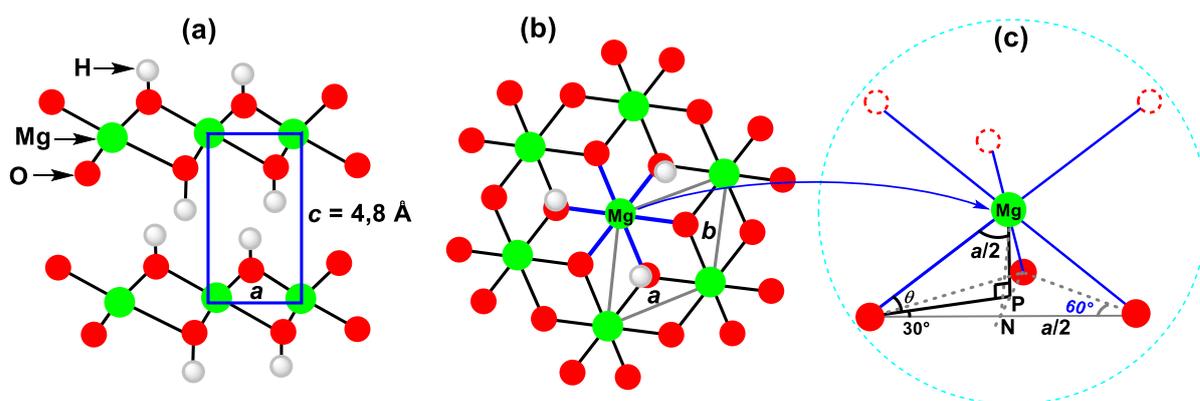


Figura 1. Representação esquemática da estrutura da brucita. (a) visão lateral da lamela. (b) visão de cima da lamela. (c) borda octaédrica com cátion de metal bivalente (Mg) no centro (esfera verde) e átomos de oxigênio (O) dos íons hidroxilas nos vértices da lamela octaédrica na parte superior (esferas tracejadas) e na parte inferior (esferas vermelha). Adaptado de Arizaga et al., 2007; Richardson (2013).

Com objetivo de facilitar a compreensão dos textos que vão ser apresentados daqui em diante, algumas terminologias tipicamente empregadas no estudo de HDL e que serão bastante utilizadas nesta tese são definidas nas Figuras 2 e 3.

A estrutura da brucita pode sofrer alterações de composição com ligeiras modificações parciais isomórficas dos cátions bivalentes M^{2+} (Figura 1) por cátions

trivalente (M^{3+}) (Lima et al., 2013), resultando em um excesso de carga nas lamelas que devem ser neutralizadas por ânions interlamelares. O resultado é uma série de compostos chamados hidróxidos duplo lamelares (HDL), ilustrado na Figura 2 e representado pela fórmula geral como a da Equação 1 (Desigaux et al., 2006; Gursky et al., 2006). Para que o sistema adquira a eletroneutralidade é necessário a presença de ânions entre as lamelas que, juntamente com as moléculas de água promover o empilhamento das camadas do hidróxido duplo com um domínio interlamelar pouco ordenado. Nesse caso, as lamelas são mantidas juntas por ligações de hidrogênio e por atração eletrostática entre as lamelas positivamente carregadas e os ânions interlamelares (Cunha et al., 2010).

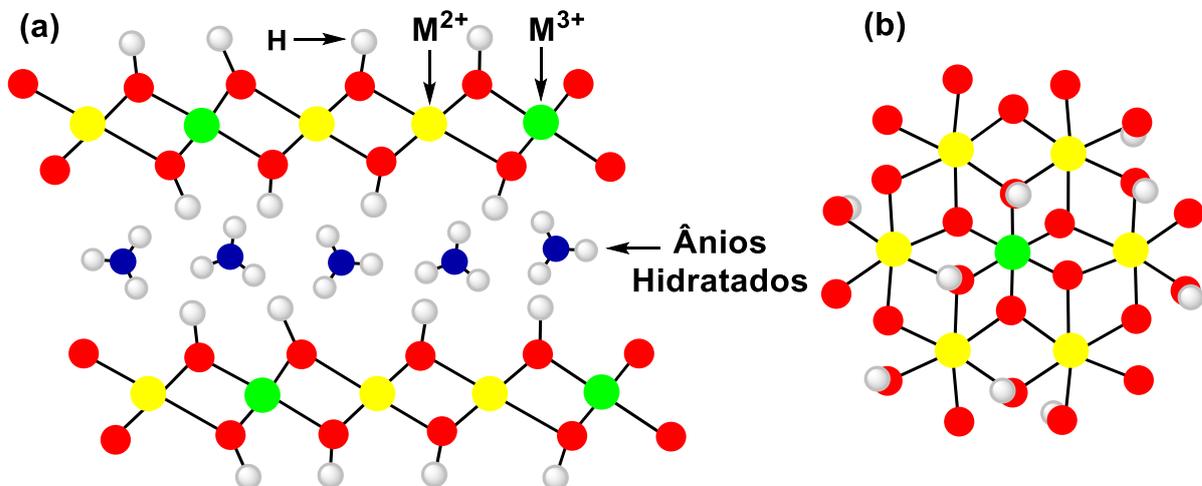
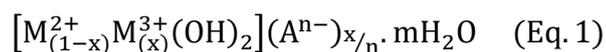


Figura 2. Representação esquemática da estrutura de um HDL genérico. (a) visão lateral e (b) lamela vista de cima. Adaptado de Arizaga et al. (2007).



Na equação 1, M^{2+} e M^{3+} representam respectivamente os cátions bivalente e trivalente, A^{n-} representa a compensação dos ânions interlamelares para as cargas positivas das lamelas dos hidróxidos, x refere-se a fração molar dos metais $M^{3+}/(M^{3+} + M^{2+})$ normalmente em um intervalo entre 2 e 4 (Gu et al., 2014), e $m = 1 - 3x/2$ representa a quantidade de moléculas de água de hidratação (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991; Evans; Duan, 2006).

A Figura 3 ilustra uma representação esquemática para uma estrutura de HDL de Mg/Al, se A^{m-} for o íon carbonato CO_3^{2-} e M^{2+}/M^{3+} for os cátions metálicos Mg e Al na razão molar (Mg/Al = 3:1), o HDL será a hidrotalcita (Cunha et al., 2010). Alguns cátions envolvidos nas estruturas de HDL reportados e suas diferenças de raios iônicos são listados na Tabela 1 e os ânions A^{m-} são listados na Tabela 2.

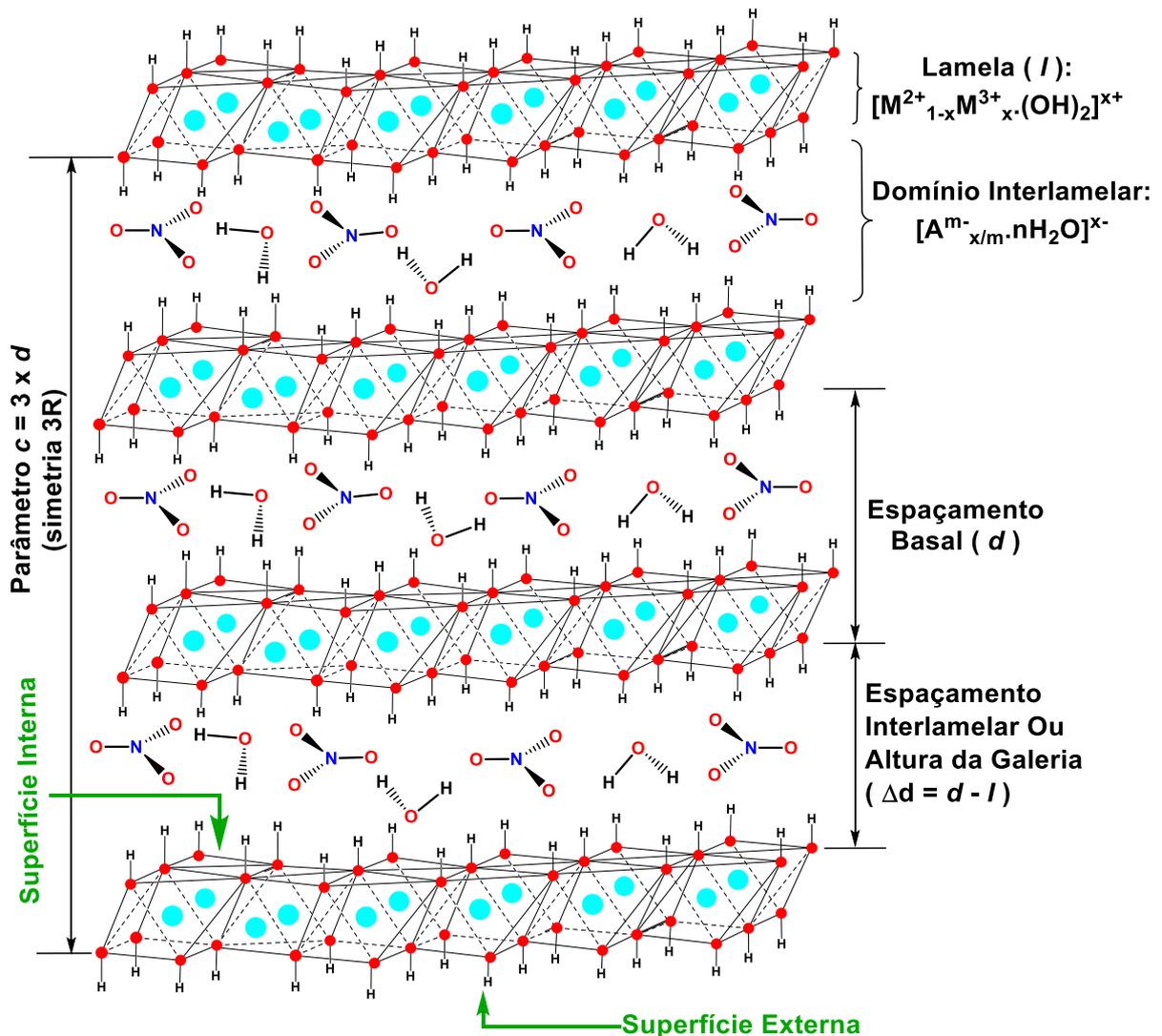


Figura 3. Representação esquemática da estrutura dos HDL, onde neste modelo são representados os ânions nitrato (NO_3^-) e moléculas de água (H_2O) (escolha do autor), porém existem HDL com outros ânions. Adaptado de Cunha et al. (2010).

Tabela 1. Raios iônicos de alguns cátions metálicos.

Raios de M^+/M^{2+} (Å)				Raios de M^{3+} (Å)			
Mg ²⁺	0,860	Mn ²⁺	0,970	Al ³⁺	0,675	Cr ³⁺	0,755
Fe ²⁺	0,920	Pb ²⁺	1,000	Co ³⁺	0,750	V ³⁺	0,780
Co ²⁺	0,885	Ti ²⁺	1,000	Fe ³⁺	0,785	In ³⁺	0,940
Ni ²⁺	0,830	Cd ²⁺	1,140	Mn ³⁺	0,785	Y ³⁺	1,040
Cu ²⁺	0,870	Ca ²⁺	1,090	Ga ³⁺	0,760	La ³⁺	1,170
Zn ²⁺	0,880	Li ⁺	0,900	Rh ³⁺	0,805	Cr ³⁺	0,755

Fonte: Adaptado de Wang (2012).

1.2.2. Distribuição dos ânions nas galerias interlamelares

As galerias interlamelares dos HDL podem conter ambas as moléculas de água e ânions (inorgânicos e orgânicos) (Wang, 2012) de tamanhos diferentes capazes de preencher a região interlamelar dos HDL. Alguns exemplos são ilustrados na Tabela 2 (Sipiczki; 2013; Vieira, 2009).

Tabela 2. Possíveis ânions de intercalação na estrutura lamelar dos HDL e seus respectivos exemplos.

Espécies	Exemplos
Ânions orgânicos	CH ₃ COO ⁻ , C ₆ H ₅ COO ⁻ , C ₁₂ H ₂₅ COO ⁻ , C ₂ O ₄ ²⁻ , C ₆ H ₅ SO ₃ ⁻ etc.
Haleto	F ⁻ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻
Biomoléculas	Peptídeos, ATP, DNA
Complexos aniônicos de metal de transição	Fe(CN) ₆ ²⁻ etc.
Polímeros aniônico	PSS, PVS, poli(acrilato), poli(acrilonitrila), etc.
Oxiânions	CO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , CrO ₄ ²⁻ , CrO ₇ ²⁻ , NO ₃ ⁻
Oxiânions não metálicos	BO ₃ ³⁻ , CO ₃ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , Si ₂ O ₅ ²⁻ , HPO ₄ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , ClO ₄ ⁻ , AsO ₄ ³⁻ , SeO ₄ ²⁻ , BrO ₄ ⁻ etc
Iso e heteropolioxo-metalatos	[Fe(CN) ₆] ⁴⁻ , [Ni(Cl ₄) ₆] ²⁻ , [IrCl ₆] ²⁻
Complexos lamelares	Mg ₂ Al(OH) ₆ + [Mg ₃ (OH) ₂ /Si ₃ AlO ₁₀]
Fosfonatos	Benzeno-difosfonato, fenil-fosfonato
Carboxilatos	Tereftalato; benzoate; ânions de ácidos graxos

Fonte: Adaptado de Sipiczki (2013); Vieira (2009).

Na Tabela 2 nota-se que há uma grande variedade de ânions que podem ser intercalados a fim de compensar a carga positiva da camada lamelar (Crepaldi; Valim, 1998). Porém, a viabilidade da intercalação desses ânions nos espaçamentos interlamelares está diretamente relacionada com a densidade de carga (d_c) (Equação 2) das lamelas dos hidróxidos, a qual é controlada pela razão dos cátions M^{2+}/M^{3+} (Figura 4), enquanto a sua disposição depende do empacotamento interlamelar relacionada à densidade de carga (d_c) da camada, bem como o tamanho do ânion e a presença das moléculas de água. Parâmetros adicionais tais como a rota e temperatura de síntese também podem influenciar na disposição interlamelar, especialmente no caso de molécula orgânica intercalada (Feng, 2006).

Na equação 2, d_c é a densidade de carga, e é a carga de um elétron, x é a fração molar dos cátions trivalentes $M^{3+}/(M^{2+} + M^{3+})$ na lamela como a da brucita, e a é o parâmetro de célula unitária hexagonal (veja na Figura 1).

$$d_c = \frac{xe}{a^2 \sin 60^\circ} \quad (\text{Eq. 2})$$

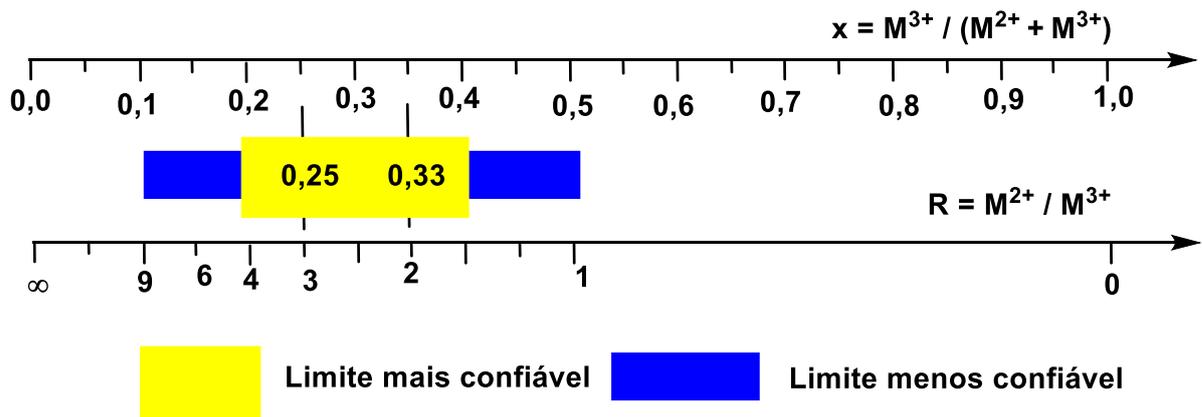


Figura 4. Comparação da relação entre metal trivalente (M^{3+}) versus razão de metais bivalente (M^{2+}) e os limites para as composições dos HDL correspondentes. Adaptado de Roy, 1998, apud Feng (2006).

A partir da Figura 4 observa-se que a razão de carga dos cátions nas lamelas dos HDL com a razão molar dos cátions, $x = M^{3+}/(M^{2+} + M^{3+})$ da fórmula $[M_{(1-x)}^{2+}M_{(x)}^{3+}(\text{OH})_2](\text{A}^{n-})_{x/n} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (Equação 1), não deve exceder o intervalo entre 2

e 4 para permitir o isolamento de HDL de fases puras (Wang, 2012), pois os produtos serão formados mais facilmente quanto maior for a capacidade de estabilização do ânion (Crepaldi; Valim, 2002). Os diferentes ânions inorgânicos que podem ser intercalados nas lamelas dos HDL influenciam diretamente nos valores a partir do primeiro espaçamento basal (d_{003}) (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991), tais como os exemplos apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores do primeiro espaçamento basal para os HDL contendo diferentes ânions interlamelares.

Ânions Interlamelares	Espaçamentos Basais (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
SO_4^{2-}	8,58
ClO_4^-	9,20

Fonte: Adaptado de Vieira (2009).

Os íons carbonato (CO_3^{2-}) e nitrato (NO_3^-) estão entre os mais encontrados nos HDL naturais (Wang, 2012) ou sintéticos. As posições e orientações dos íons entre as camadas devem ser ordenados (Drits et al., 1987), porém, podem ser influenciados pela distribuição de cátions e arranjo de empilhamento das camadas dos hidróxidos (Xu; Zeng, 2001a), devido aos efeitos desses parâmetros sobre os efeitos eletrostáticos e de ligação de hidrogênio (Wang, 2012). A compensação de carga para os ânions no espaço interlamelar é alcançado através dos efeitos de ressonância, onde cada ânion tem que satisfazer o excesso de carga positiva nas faces das camadas octaédrica que preenche-o. Ânions de planos triangulares como

CO_3^{2-} e NO_3^- (Xu; Zeng, 2001a) intercalados em HDL podem adotar uma posição em que os átomos de carbono ou nitrogênio estão nos eixos triplos de uma pequena célula $R\bar{3}m$ e seus planos são paralelos ao plano do cristal (Wang, 2012). Porém, dependendo da razão molar dos cátions (veja a Figura 4), os ânions podem se rearranjar de formas diferentes nas lamelas dos HDL, como ilustrado na Figura 5, onde o HDL de Mg e Al com razão molar igual a 3 apresenta disposição espacial dos ânions nitratos diferente em relação ao HDL de Mg/Al = 2, observado nos planos basais (003) e (006), em relação a intensidade e alargamento dos picos.

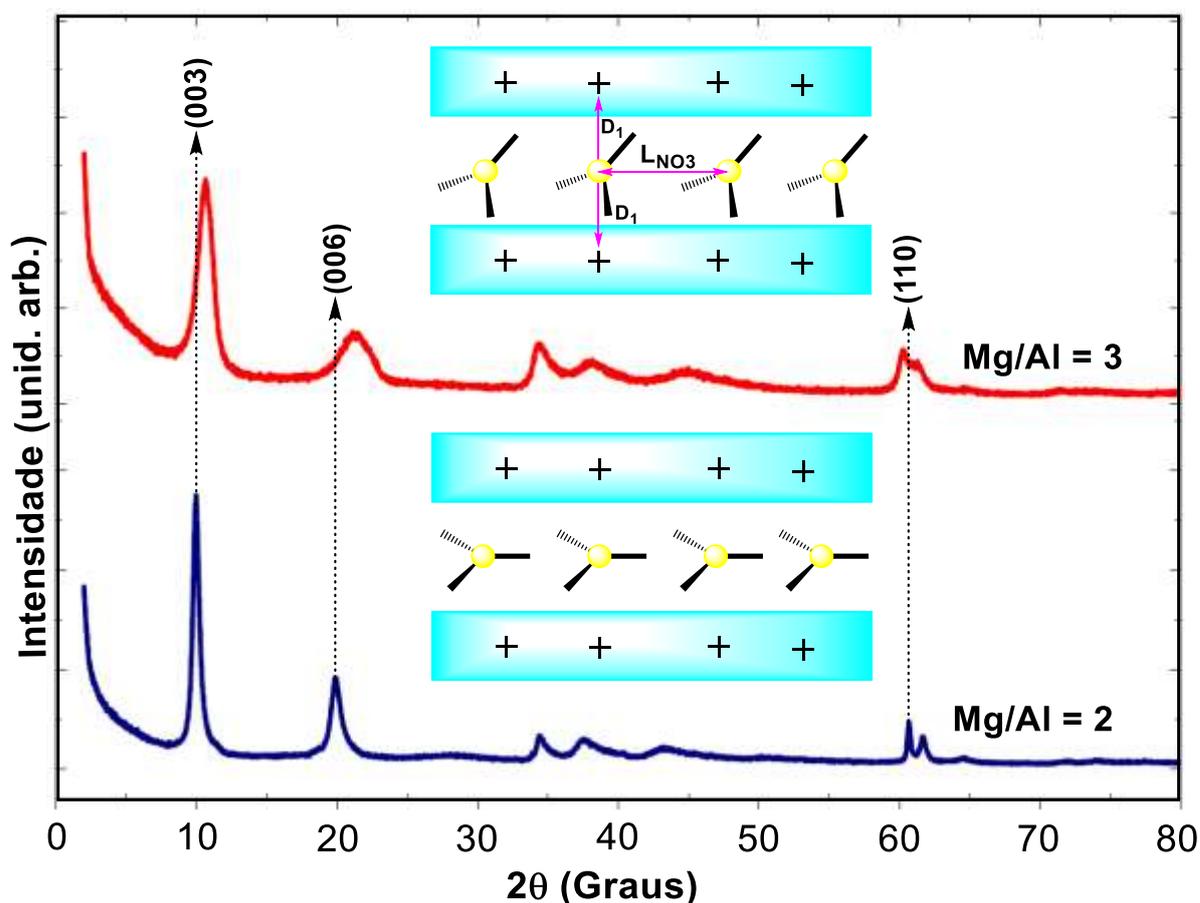


Figura 5. Modelos para o rearranjo dos íons nitrato em HDL-NO₃ nas razões de cátions metálicos Mg/Al = 2 e Mg/Al = 3. Adaptado de Xu et al. (2001a).

1.2.3. Sequência do empilhamento das lamelas

Dependendo da ordenação do empilhamento da célula unitária, as camadas como da brucita em HDL podem adotar três tipos básicos de organização, as quais podem ser: um sistema romboédrico, com o parâmetro c da célula sendo igual a três vezes o espaçamento basal d , pertencendo ao grupo 3R, um sistema hexagonal com c igual a duas vezes o espaçamento basal d , pertencendo ao grupo espacial 2H e o grupo espacial 1H pertencendo ao sistema hexagonal tendo distância interlamelar igual a c (Crepaldi; Valim, 1998; Vieira, 2009). O polítipo 3R é o mais encontrado nos HDL naturais e sintéticos, o polítipo 2H está associado a formação em condições de elevadas temperatura e pressão e o polítipo 1H é raro e está associado a HDL muito hidratado. O esquema apresentado na Figura 6 ilustra bem a diferença entre os três polítipos descritos (Crepaldi; Valim, 1998).

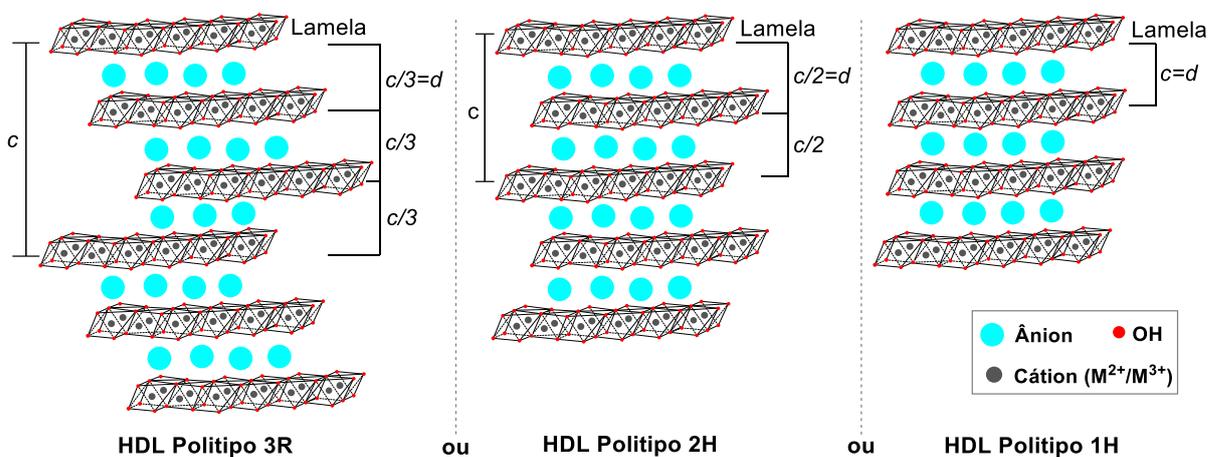


Figura 6. Esquema representando os possíveis polítipos dos HDL. Adaptado de Crepaldi e Valim (1998).

A diferença essencial entre a sequência romboédrica 3R e a sequência hexagonal 2H é que a ordem do empilhamento resulta em orientações diferentes das camadas de hidróxido e, por conseguinte, diferentes topologias (Wang, 2012). Por exemplo, se os símbolos maiúsculos A, B e C representam as posições de íons hidroxil, e os símbolos m e a representam uma das posições para os íons metálicos e cátions interlamelares, a sequência de empilhamento romboédrica pode ser expresso como AmB a BmC a CmA a AmB ..., enquanto que a sequência de

empilhamento hexagonal é AmB a BmA a AmB ..., como ilustrado na Figura 7 (Wang, 2012).

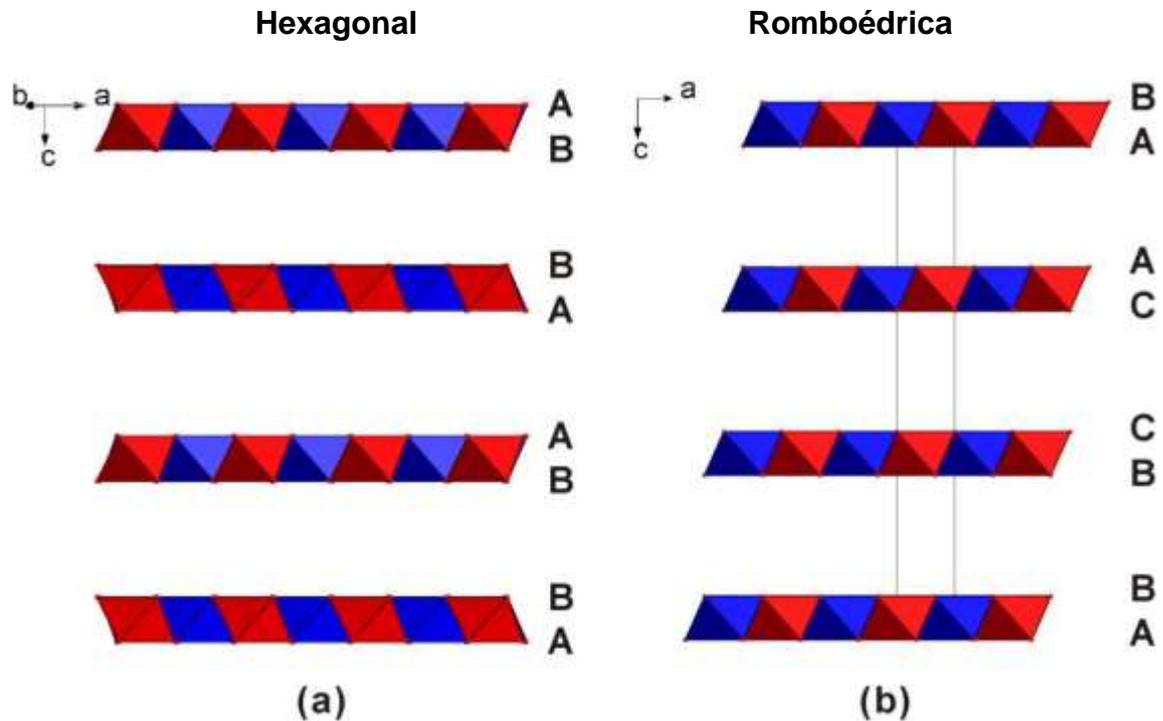


Figure 7. Estrutura esquemática dos HDL de Mg/Al. (a) uma sequência hexagonal. (b) uma sequência romboédrica, exemplo de hidrotalcita, onde em vermelho são Al^{3+} octaédrico centrado, azul são Mg^{2+} centrado. Adaptado de Wang (2012).

1.3. SÍNTESES DE NANOPARTÍCULAS – UMA VISÃO GERAL

Nas últimas duas décadas os estudos e desenvolvimento de nanomateriais têm apresentado um progresso impressionante, especialmente na obtenção de materiais como nanofibras, as nanopartículas encontradas em filtro solar a medicamentos para tratamento do câncer. Existe ainda um interesse crescente na síntese de diferentes nanomateriais, com desenho e controle das suas características. Em geral, os meios para a síntese de nanopartículas são tão numerosos quanto diferentes. Isso inclui técnicas do estado sólido, sínteses de fase em solução, incluindo coprecipitação, sonoquímica, pirólise, síntese solvotérmico entre outras (Tyrsted, 2013). Contudo, os vários processos que têm sido propostos

para obtenção de nanomateriais segue duas abordagens principais, a de cima para baixo e a de baixo para cima (Reverchon; Adami, 2006), como ilustrado na Figura 8.

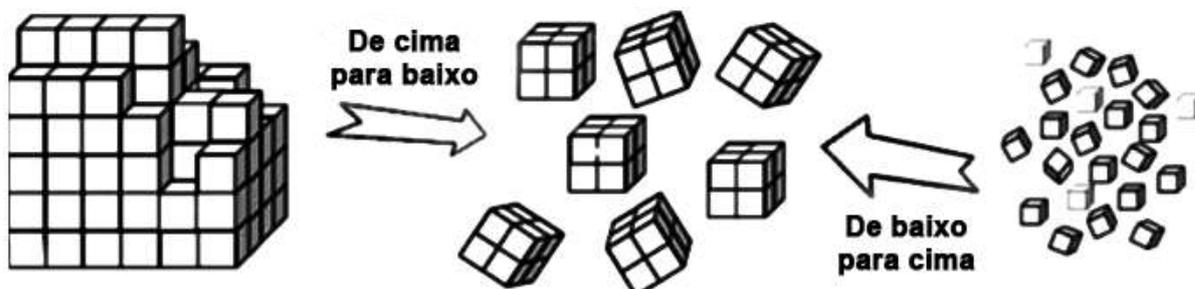


Figura 8. Abordagem de cima para baixo e de baixo para cima para a preparação de nanomateriais inorgânicos. Adaptado de Reverchon e Adami (2006).

A abordagem de cima para baixo é caracterizada pela produção de nanoprodutos que partem de materiais de tamanho normal, onde faz-se a redução desse material de partida em dimensões reduzidas, por exemplo, através da rota do estado sólido via moagem do material, porém essa técnica apresenta algumas desvantagens, como pouco controle sobre as propriedades do material final, tais como tamanho e distribuição (Reverchon; Adami, 2006; Tyrsted, 2013). Já a abordagem de baixo para cima, está relacionada com a síntese de materiais nanométricos, a partir de escala molecular, como a formação de partículas através de precipitação a partir de uma fase líquida (Reverchon; Adami, 2006). Essa rota têm apresentado bons resultados, como maior rendimento e controle sobre as características do material, tais como tamanho e estrutura do produto final. Neste contexto, são consideradas duas propriedades importantes, a teoria da nucleação e o mecanismo de crescimento (Leite; Ribeiro, 2012), que de forma didática pode ser dividido em cinco passos ilustrado na Figura 9.

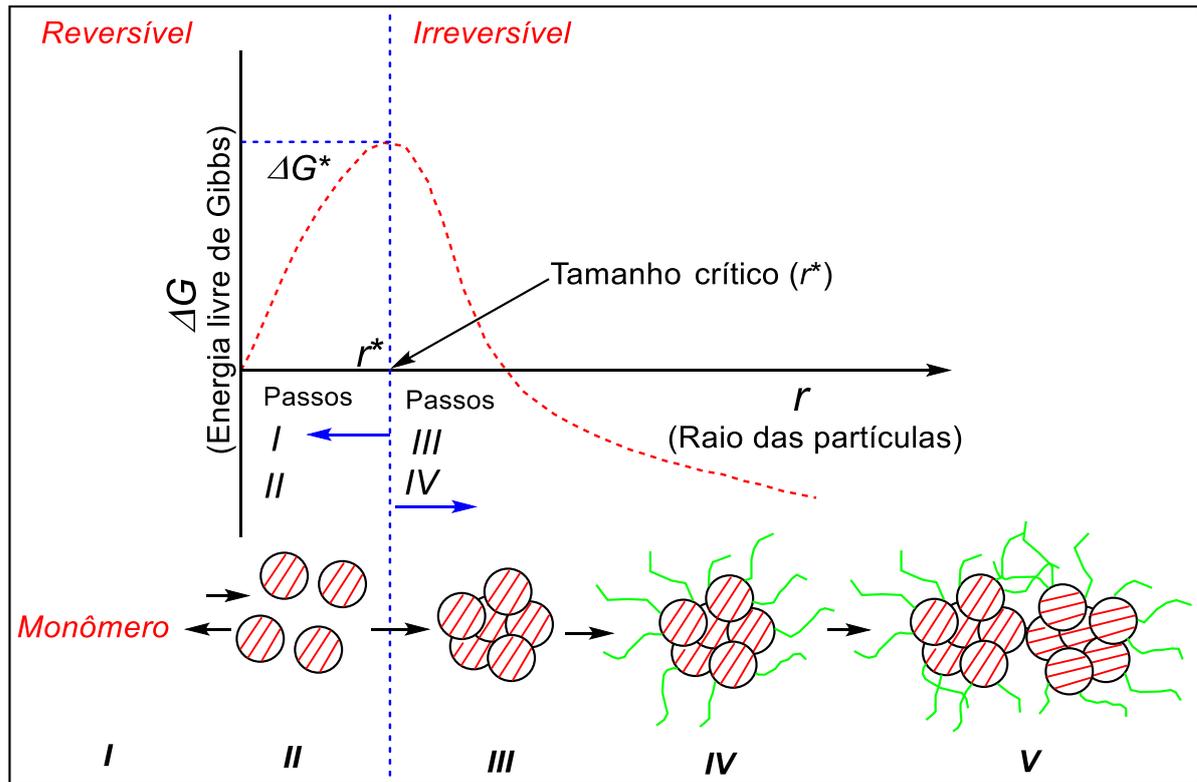


Figura 9. Diagrama esquemático do processo de nucleação e crescimento mostrando os cinco passos e a dependência da energia livre de Gibbs (G) com o tamanho do cristal. Adaptado de Leite e Ribeiro (2012).

O primeiro passo consiste da reação adequada dos percusores (monômeros) o qual resulta em um composto desejado, por exemplos, um semiconductor ou um composto óxido. Este composto pode interagir resultando em um processo de crescimento em um grupo ou monômero (passo II). Se o mecanismo que promove o crescimento não é estabelecido, os passos I e II tornam-se reversíveis. Quando o crescimento do grupo torna-se um ponto crítico (passo III), o processo torna-se irreversível e o tamanho do cristal pode ser controlado com ajuda do equilíbrio (passo IV). Na primeira aproximação, a formação do cristal é controlada pela discussão energética, uma condição termodinâmica, por exemplo, uma solução iônica de espécies metálicas dissolvidas, onde o volume de uma maior densidade de espécies podem crescer em tamanho ou re-dispersar dependendo desta estar ou não associada com a redução da energia livre dada na Equação 3.

$$\Delta G_r = -V_s \Delta G_v + A_{sL} \gamma_{SL} \quad (\text{Eq. 3})$$

Na equação 3, V_s é o volume de nucleação do sólido e A_{sL} é a área da superfície sólido-líquido, que está associada com a diferença da energia livre de Gibbs, $\Delta G_V = G_V^L - G_V^S$. Se a energia livre de Gibbs dos núcleos dos sólidos (G_V^S) for inferior à do líquido G_V^L , um aumento no volume pode ser favorecido. Porém, se (G_V^S) for superior à do líquido G_V^L , o aumento no volume não será favorecido. Isto ocorre pelo aumento na área da interface associada com a energia de interface, γ_{SL} (Tyrsted, 2013). De fato, o grupo pode crescer em uma disposição geométrica para minimizar a superfície energética (Leite; Ribeiro, 2012). O último passo (passo V) consiste da interação dos nanocristais formado no passo IV em ordem para produzir estruturas grandes. Esses nanocristais são baseados no processo de autounião governado pela interação partícula-partícula e partícula-solvente (Leite; Ribeiro, 2012).

1.3.1. Síntese de HDL

Os HDL foram inicialmente descobertos como minerais existentes naturalmente, porém existem várias técnicas de síntese capaz de produzir HDL em laboratório a baixo custo (Mingos, 2006). O método mais utilizado é o de coprecipitação, porém vários aperfeiçoamentos deste método já foram realizados com objetivos de obter melhores resultados. Além disso, métodos como síntese de sal-óxido e sal-hidróxido, método de sol-gel, troca-iônica entre outros já foram descritos (Mingos, 2006; Wang, 2012). Recentemente o controle do tamanho e morfologia dos HDL tem sido estudada, pois sugere-se que essas propriedades são interessantes em aplicações específicas. Aqui, será descrito a síntese por coprecipitação, troca iônica, reconstrução e esfoliação, porém para maiores detalhes sobre os demais métodos, recomenda-se as referências citadas no texto.

1.3.2. Método de coprecipitação

A coprecipitação é o método mais utilizado para preparar os materiais de HDL (Mingos, 2006). De modo geral, envolve a mistura de uma solução básica e uma

solução de sais de metal misto, iniciando o processo de nucleação, seguida pelo processo de crescimento dos cristais (Crepaldi, Valim, 1998; Wang, 2012). Para garantir que dois ou mais cátions precipitem simultaneamente, é necessário que esta seja conduzida sob condições de supersaturação. Isto pode ser conseguido mantendo um valor de pH superior ou igual àquela em que as formas dos hidróxido são mais solúveis (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991). Um diagrama do balanço de massa dos cátions para síntese de HDL via coprecipitação foi proposto por Ruby e colaboradores (Ruby et al., 2006) e é ilustrado na Figure 10.

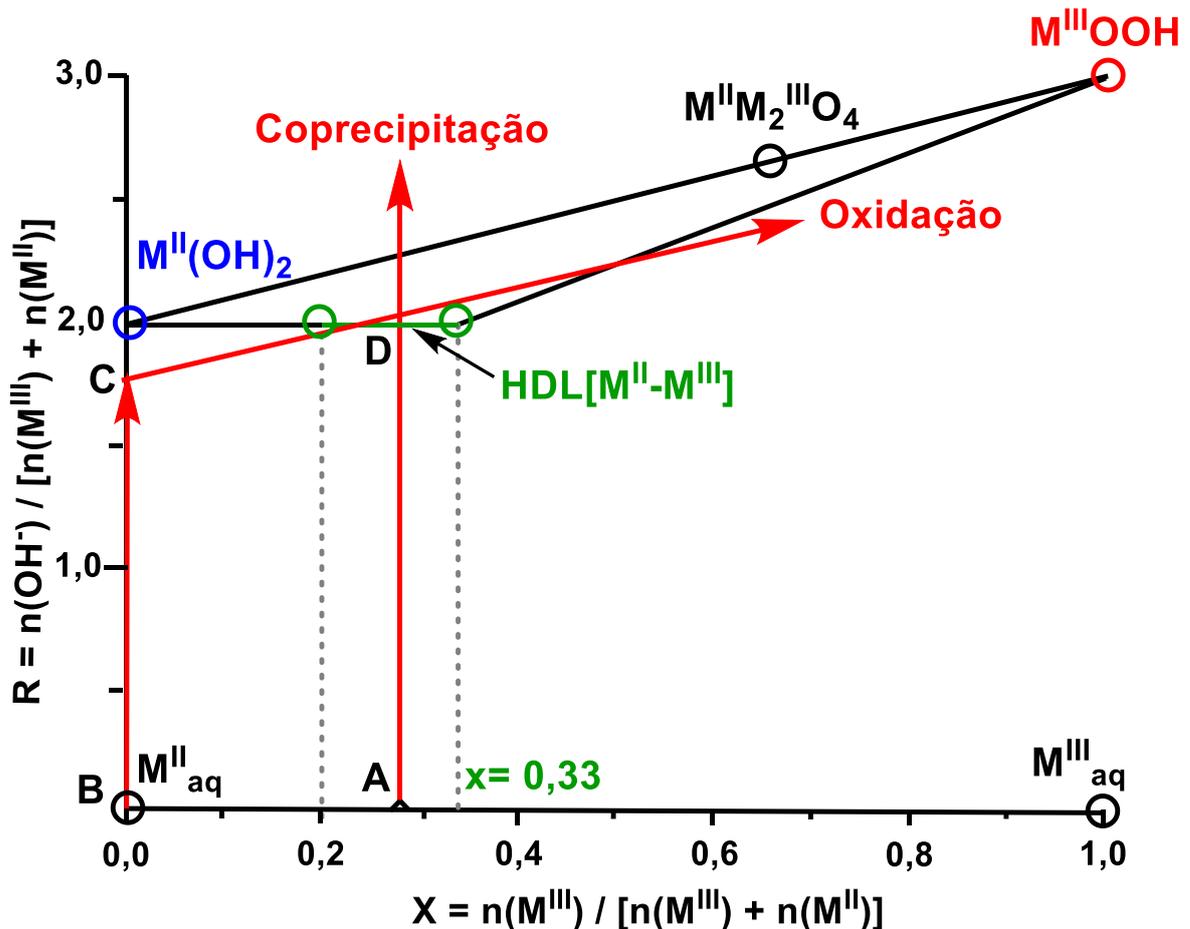


Figura 10. Diagrama do balanço de massa $\text{M}^{\text{II}}\text{M}^{\text{III}}$ mostrando a coprecipitação e rota de síntese de oxidação. Adaptado de Ruby et al. (2006).

Um procedimento usando tratamento hidrotérmal após a coprecipitação é frequentemente necessário para aumentar o rendimento ou o ordenamento cristalino dos materiais amorfos ou mal cristalizado (Sipiczki, 2013). O procedimento de

envelhecimento convencional é realizado pelo aquecimento da suspensão do HDL em temperaturas variando de 0-100 °C durante várias horas ou até mesmos dias (Sipiczki, 2013). Dois principais métodos de coprecipitação têm sido comumente empregado, a coprecipitação em alta supersaturação (pH variável) e a coprecipitação em baixa supersaturação (pH constante) (Reichle; Kang; Everhardt, 1986).

1.3.2.1. Coprecipitação em alta supersaturação

A mistura em alta supersaturação envolve a adição da solução dos sais de metais diretamente na solução de base a uma taxa constante e lenta, em que a variação do pH ao longo do processo é referido como o método de pH variável. Neste método, os cátions metálicos são liberados sob alta supersaturação e formam núcleos facilmente, o que resulta em produtos menos cristalinos. Devido à constante mudança de pH e concentração de íons, a razão M^{2+}/M^{3+} e os cátions interlamelares pode muitas vezes ser incontrolável. Um efeito secundário adicional é a formação de impurezas tais como $M(OH)_2$ ou $M(OH)_3$, como ilustra a Figura 10. Um tratamento térmico secundário é geralmente realizado para melhorar o ordenamento cristalino do produto (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991).

1.3.2.2. Coprecipitação em baixa supersaturação

Mistura a baixa supersaturação ou método de coprecipitação a pH constante envolve a adição do sal de metal e solução básica separadamente, mas simultaneamente a uma terceira solução contendo uma alta concentração do ânion interlamelar pretendido em pH constante. Este método oferece um meio reacional relativamente estável, de modo que a relação M^{2+}/M^{3+} pode ser controlado com mais precisão (Radha et al., 2003). Assim, possibilita obter produtos mais cristalinos com taxa de crescimento do cristal mais elevada do que a taxa de nucleação, além de uma maior versatilidade quanto ao controle das condições de síntese. Porém, exige um aparato experimental mais oneroso (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991). Uma representação esquemática para a síntese por coprecipitação é ilustrado nas

Figuras 11 e 25 para a intercalação do ibuprofeno em HDL de Mg/Al (Barkhordari; Yadollahi; Namazi, 2014).

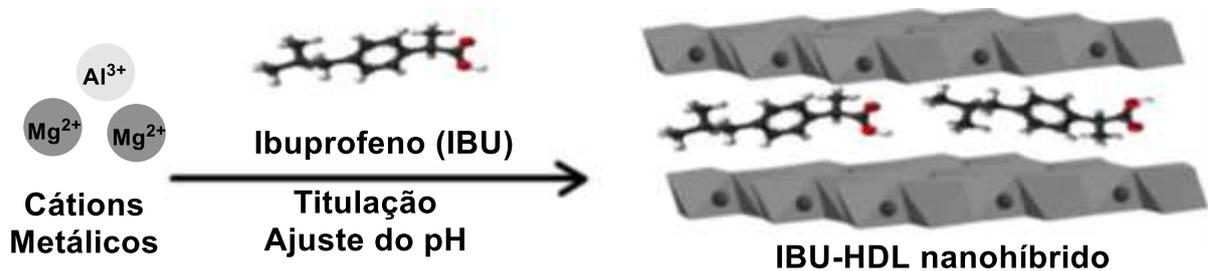
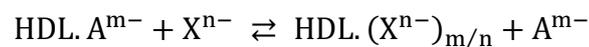


Figura 11. Representação esquemática da formação de Fármaco-HDL nanohíbrido via método de coprecipitação. Adaptado de Barkhordari et al. (2014).

1.3.3. Método de troca iônica

Este método baseia-se nas propriedades de troca aniônica de HDL. O processo geral para esse método pode ser representado de acordo com a seguinte reação:



Baseando-se na lei de ação de massas e trabalhando com excesso de ânions de entrada, X^{n-} , favorecerá a reação de troca iônica, resultando na formação do complexo $\text{HDL} \cdot (\text{X}^{n-})_{m/n}$ e gerando o ânion (A^{m-}) como produto da troca (Feng, 2006).

Uma ordem de seletividade iônica a partir de cálculos das constantes de equilíbrio de várias reações de troca iônica entre os ânions monovalente e divalente foi elaborada por Miyata (1983): $\text{OH}^- > \text{F}^- > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{NO}_3^- > \text{I}^-$ e $\text{CO}_3^{2-} > \text{C}_{10}\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_8\text{S}^{2-}$ (Amarelo naftol S) $> \text{SO}_4^{2-}$. Assim, HDL contendo cloreto (Cl^-) e nitrato (NO_3^-) são muitas vezes utilizados como precursores para as reações de troca aniônica, devido à facilidade não só da preparação destes materiais como da substituição dos ânions cloreto (Cl^-) e nitrato (NO_3^-) por ânions pretendidos, como ilustrado na Figura 12.

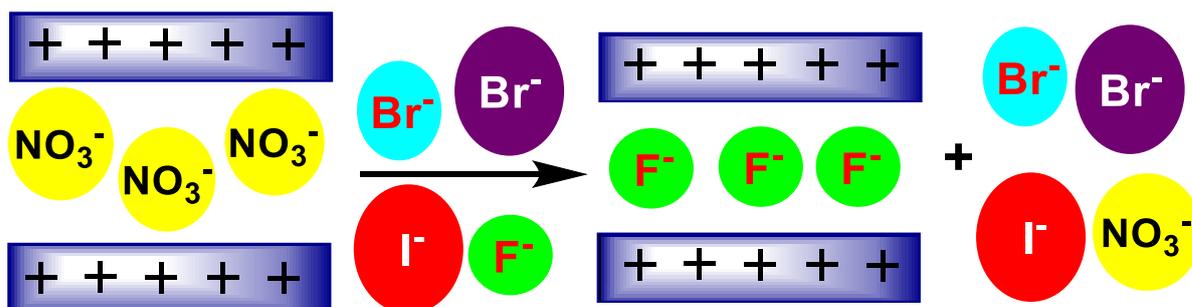


Figura 12. Reações de intercalação competitividade de argilas aniônicas.

Em geral, o método de troca aniônica é uma forma simples de preparar HDL contendo uma variedade de ânions orgânicos ou inorgânicos. Contudo, ele é submetido à influência de alguns fatores tais como o valor do pH, do solvente, temperatura e carbonato (CO_3^{2-}) que dificulta a substituição pelo ânion desejado. Por exemplo, o valor do pH desempenha um papel importante, uma vez que determina a estabilidade da camada dos hidróxidos e as propriedades dos ânions recebidos. Em geral, as reações de troca iônica são efetuadas simplesmente por dispersão do HDL precursor numa solução contendo excesso do ânion a ser intercalado. Este ânion tem de ser estável ao pH a que se processa a troca, assim como as lamelas do HDL, especialmente se for pretendido manter a razão $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ do precursor no material final (Monteiro, 2009).

1.3.4. Método de reconstrução

A síntese por reconstrução, também chamado de efeito memória, é uma outra propriedade interessante dos hidróxidos duplo lamelares (HDL). Após uma calcinação relativamente leve, a estrutura em camadas colapsa gerando os óxidos de metal (às vezes referenciados como óxido duplo lamelar – ODL), porém as estruturas dos HDL podem ser regeneradas após a exposição a soluções aquosas ou a solução dos ânions orgânicos (Meyer et al., 2010). Veja a ilustração apresentada na Figura 13.



Figura 13. Representação esquemática simplificada do processo de reconstrução de um HDL (Vieira, 2009).

1.3.5. Método por esfoliação

Um processo muito importante que vem sendo usado na área da nanotecnologia, por exemplo, na intercalação de biomoléculas, produção de catalisadores específicos, sensores, eletrodos, entre outros (Castro, 2009) é o método por esfoliação de compostos lamelares. Neste método, os HDL são primeiro delaminados em algumas nanofolhas por tratamento em um solvente apropriado (Ma et al., 2006). Assim, as nanofolhas obtidas são misturadas com ânions orgânicos para reempilhar as estruturas dos HDL. Um exemplo apresentado na literatura é a intercalação do ibuprofeno por esfoliação em HDL de Mg/Al (Lu et al., 2013), tal como ilustrado na Figura 14.

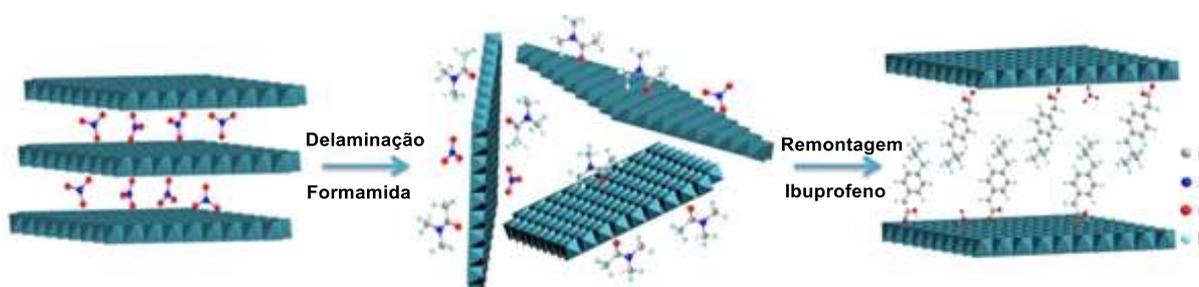


Figura 14. Representação esquemática de intercalação por esfoliação do ibuprofeno em HDL, complexo Ibuprofeno-HDL. Adaptado de Lu et al. (2013).

Em geral, os dois métodos, reconstrução e “esfoliação-remontagem” são relativamente menos utilizados convencionalmente, porém apresentam algumas vantagens, por exemplo, a reação de hibridação ocorre rapidamente e a intercalação

de moléculas de tamanho grandes é possível (Kim et al., 2013). As reações de troca iônica é regulada pela seletividade do hospedeiro por vários contraíons, a concentração e temperatura (Miyata, 1983). Já a síntese por coprecipitação é uma das mais descrita e utilizada na literatura (Mingos, 2006).

1.4. PROPRIEDADES IMPORTANTES PARA SÍNTESE DE HDL

Dependendo das condições de síntese, existe a possibilidade de obtenção de HDL com fase bem cristalizada ou materiais amorfos. Para isto, algumas influências nos parâmetros experimentais são importantes, as quais serão descritas de forma resumida a seguir.

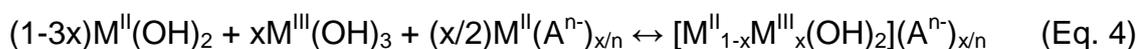
1.4.1. Faixa do pH

Os hidróxidos de metais precipitam a pH diferente, o pH da solução de base é escolhido de acordo com a combinação do metal. Bravo-Suárez et al. (2004) utilizaram cálculos termodinâmicos para relatar a faixa de pH (Tabela 4) durante a qual alguns HDL podem ser estáveis em uma síntese (Bravo-suárez; Páez-Mozo; Oyama, 2004a).

Tabela 4. Faixa de pH sobre o qual os HDL selecionados são estáveis com suspensão em água. Adaptado de Bravo-suárez et al. (2004a).

HDL	Faixa de pH	
	Limite Mínimo	Limite Máximo
$[\text{Zn}_{1-x}\text{Cr}_x(\text{OH})_2](\text{Cl}^-)_{x/n}$	4,5	10,0
$[\text{Ni}_{1-x}\text{Al}_x(\text{OH})_2](\text{CO}_3^{2-})_{x/n}$	5,0	10,0
$[\text{Ni}_{1-x}\text{Cr}_x(\text{OH})_2](\text{Cl}^-)_{x/n}$	5,5	11,5
$[\text{Zn}_{1-x}\text{Al}_x(\text{OH})_2](\text{Cl}^-)_{x/n}$	6,0	10,0
$[\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_x(\text{OH})_2](\text{Cl}^-)_{x/n}$	7,5	10,5
$[\text{Mg}_{1-x}\text{Al}_x(\text{OH})_2](\text{Cl}^-)_{x/n}$	8,0	10,5

Bravo-Suárez et al. (2004) descreveram a reação química que ocorre na síntese de HDL pelo método de coprecipitação, quando se utiliza metais bivalentes e trivalente com mesmo ânion monovalente, Equação 4 (Bravo-suárez; Páez-Mozo; Oyama, 2004b).



A partir da Equação 4, esses autores classificaram cinco contribuições diferentes para a energia livre de Gibbs na síntese de HDL por coprecipitação (Bravo-suárez; Páez-Mozo; Oyama, 2004b): Contribuição devido à diferença dos ânions do metal bivalente a partir do hidróxido de metal bivalente (M^{2+}); contribuição devido à diferença dos ânions do metal trivalente a partir do hidróxido de metal trivalente (M^{3+}); contribuição devido aos ânions do ($M^{2+} + M^{3+}$) no HDL final; contribuição devido aos ânions livres remanescentes na solução de metal bivalente (M^{2+}) e contribuição devido aos ânions livres remanescentes na solução de metal trivalente (M^{3+}).

1.4.2. Velocidade de adição dos reagentes

A velocidade de adição é um fator que deve ser controlado. Normalmente a adição é feita lentamente, acompanhada de forte agitação e em temperatura ambiente (inferior a 35 °C) para prevenir a formação de impurezas como $M(OH)_2$ ou $M(OH)_3$ (Wang, 2012) (ver Figura 10).

1.4.3. Fatores relacionados com os cátions

Diferença entre os raios iônicos dos cátions (veja os exemplos na Tabela 1), energia de retículo, número de coordenação e tamanho da esfera de coordenação são aspectos importantes para prever se um dado par de cátions pode formar um HDL. Para formar o hidróxido duplo, o número de coordenação dos cátions em seus hidróxidos deve ser o mesmo, assim como os tamanhos dos cátions mais as hidroxilas. Este tamanho é influenciado pelo raio iônico, carga e orbitais disponíveis

dos cátions. Além disso, as energias reticulares para os hidróxidos dos dois cátions devem ser próximas (Crepaldi, Valim, 1998).

1.4.4. Estabilização da estrutura lamelar pelo ânion intersticial

Uma ampla variedade de ânions pode ser utilizada, por exemplo, cloreto, nitrato ou ânions orgânicos, porém deve-se evitar usar sulfato e fosfato devido à formação imediata de sais insolúveis (Wang, 2012).

Em 1983 Miyata classificou alguns ânions em ordem de capacidade de estabilização da estrutura lamelar na seguinte ordem: CO_3^{2-} > OH^- > F^- > Cl^- > SO_4^{2-} > Br^- > NO_3^- > I^- (Miyata, 1983). Esta série é efetiva para o tratamento termodinâmico da substituição, porém para a cinética de substituição, ou uma série de instabilidade dos ânions, faz-se necessário uma análise individual para cada caso. Em termos de cinética, a substituição depende do tamanho, da carga e da geometria, tanto do ânion a ser substituído como daquele a ser intercalado (Crepaldi, Valim, 1998).

1.4.5. Ordenamento cristalino

Além da otimização do valor de pH e da velocidade de adição, também um tratamento hidrotérmico, após a adição, muitas vezes acompanhado de um aumento na pressão, pode produzir materiais mais cristalinos (Crepaldi, Valim, 1998). Por exemplo, Reichle mostrou que houve um aumento na cristalinidade do sistema Mg-Al- CO_3 (HDL) conforme o aumento da temperatura no tratamento hidrotérmico (Reichle; Kang; Everhardt, 1986).

1.4.6. Controle do tamanho da partícula

Junto com as crescentes aplicações de material HDL nas áreas de farmácia, medicina e biologia, atendendo a demanda para as nanopartículas de HDL com tamanho controlado esta se tornou um novo desafio para os cientistas (Wang, 2012). Por exemplo, sínteses de HDL intercalados com ibuprofeno demonstraram que o

tratamento hidrotermal influencia diretamente no tamanho das partículas e consequentemente no tempo de liberação do fármaco (Gu et al., 2014; Gunawan; Xu, 2008; Huang; Zhang; Pan, 2011; Zhang et al., 2014).

1.4.7. Controle da morfologia

Partículas de HDL normalmente mostram um crescimento perpendicular preferencial em direção ao eixo (c) e uma morfologia de plaquetas hexagonais. No entanto, muitos esforços têm sido feitos para sintetizar HDL com nanoestruturas incomuns, tais como flores, varetas e esferas (Wang, 2012). Existem dois esquemas principais para síntese de HDL nanovaretas ou nanofios, pelo ajuste da temperatura e pelo tempo de envelhecimento. Exemplos de HDL nanovaretas já são apresentados, como HDL de Zn-Al (Sun et al., 2009) e HDL de Cu-Co (Liu et al., 2010). Outros controles de sínteses têm sido explorados, tais como um método de secagem por pulverização para obter HDL de microesferas (Wang et al., 2008), delaminação para obter HDL nanocompósitos (Qiu; Qu, 2006), e um método de micro-ondas para sintetizar HDL em formato de nanocones (Liu et al., 2010).

1.5. MECANISMO DE INTERCALAÇÃO

Neste contexto, Beneš e colaboradores classificaram alguns possíveis mecanismos de intercalação (Beneš; Melanova; Zima, 1998), tais como ilustrado na Figura 15. A situação 1 (S1) mostra um processo de intercalação não verdadeira, ou seja, um processo de dispersão/floculação típico para processos químicos de colóides. Já as estruturas S2, S3 e S3/2, de acordo com Lurf (2014), são diferentes conformações devido as diferentes interações hospedeiros-hóspedes, as quais tendem a um ordenamento cristalino, porém dependendo das condições de reação, como temperatura e pressão, podem alterar essas estruturas. Neste contexto, com objetivo de complementar os esboços propostos por Beneš et al. (1998), Lurf (2014) sugere alguns modelos de intercalação, como os ilustrados na Figura 16, onde há possíveis variações nos diferentes processos de intercalação.

Portanto, deve-se mencionar que, para uma interpretação mais conclusiva dos diferentes processos de intercalação não pode ser obtida utilizando apenas um método de investigação, por exemplo, análise por difração de raios X, mas sim, deve-se buscar complementar com outras análises, como a simulação matemática.

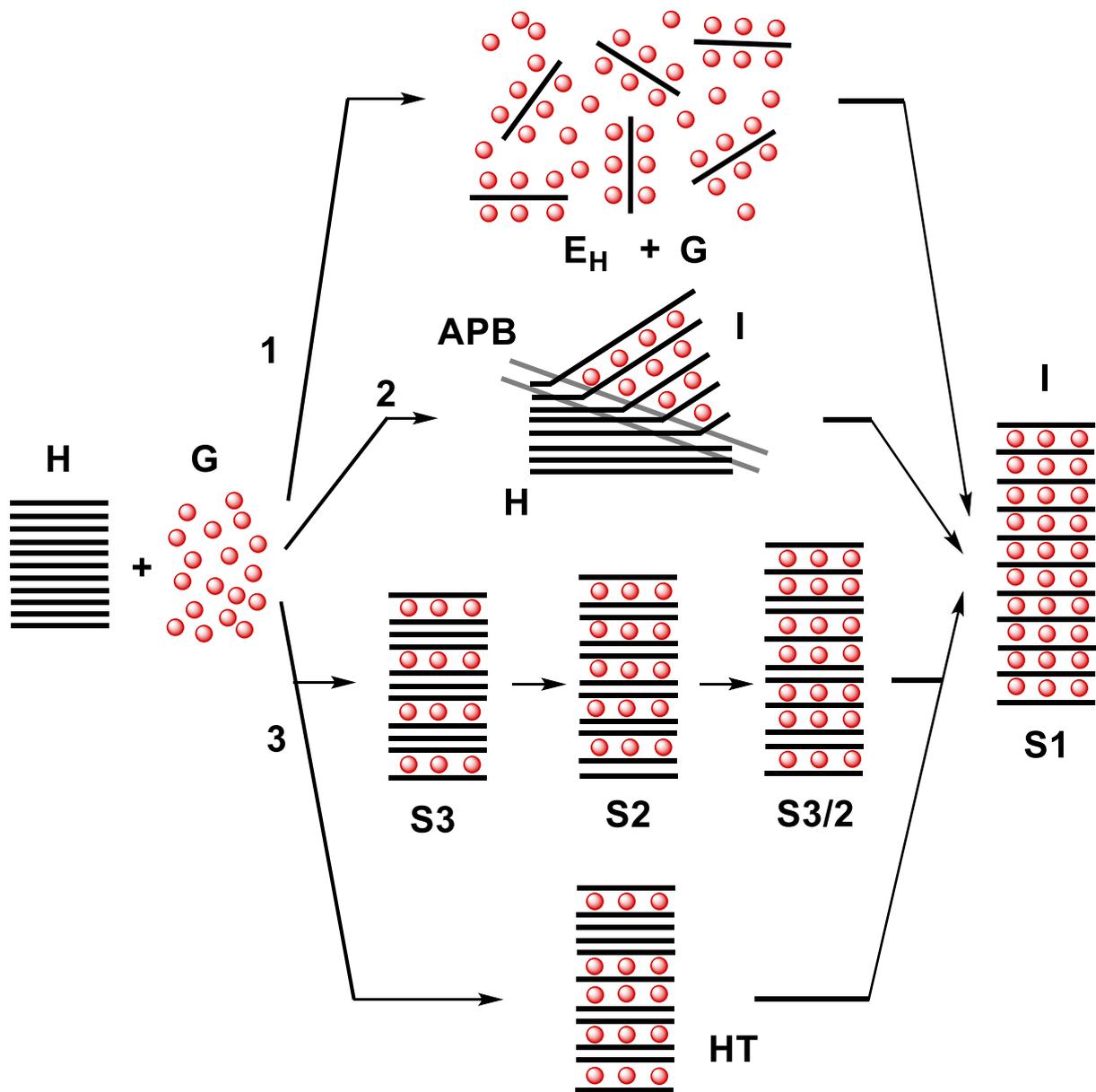


Figura 15. Representações esquemática do mecanismo de intercalação. H = hospedeiro, G = hóspede, I = fase de interação, E_H = lamelas esfoliada do hospedeiro, APB = fronteira de fase avançada, S_n = fases de teste/preparação e HT = Hendricks-Teller é a intercalação de composto desordenado. Adaptado de Beneš et al. (1998).

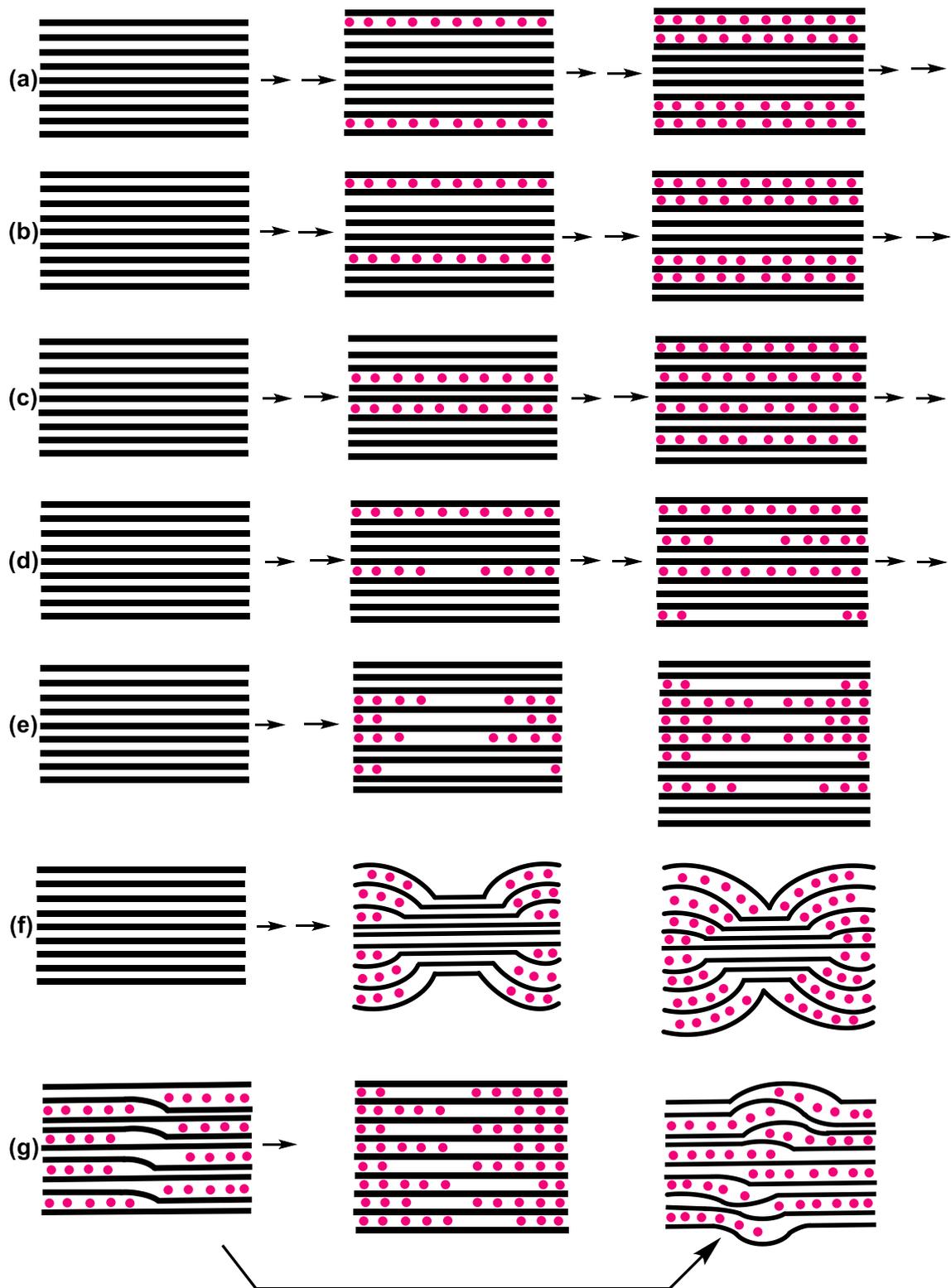


Figura 16. Visão esquemáticas dos diferentes tipos de intercalação: (a) movimento rápido dos intercalados nas galerias interlamelares abertas; (b) intercalação lamela por lamela; (c) interestratificação aleatória, (d) fases; (e) abrandamento do movimento do intercalado e abertura simultânea das galerias interlamelares; (f) movimento muito lento do intercalado, com clara formação de um limite de fase um "perfil cinzeiro - ashtray profile"; (g) superação de defeitos tipo Daumas-Hérol. Adaptado de Lerf (2014).

1.6. CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS HDL

Uma ampla variedade de técnicas analíticas tem sido utilizada para caracterizar os HDL (Abdolmohammad-Zadeh, 2013), entre essas estão a difração de raios X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho (IR), Raman e ultravioleta e visível (UV-Vis), termogravimetria (TG), calorimetria de varredura diferencial (CVD), análise térmica diferencial (ATD), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN H^1) (Sideris et al., 2008), absorção extendida de raios X de estrutura fina (extended X-ray absorption fine structure (EXAFS), absorção de raios X perto da borda da estrutura (X-ray absorption near edge structure (XANES), espectrometria de massa acoplada ao plasma indutivo (ICP-MS, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) e espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, ICP Optical Emission Spectrometry) para quantificar metais presente nas amostras, CHN (análise química dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio), espalhamento de nêutrons, e recentemente análise da Função de Distribuição do Par (Pair Distribution Function, PDF) (Aimoz et al., 2012; Neilson et al., 2010). Essas técnicas podem apresentar informações de diferentes regiões da estrutura dos HDL, como representado na Figura 17.

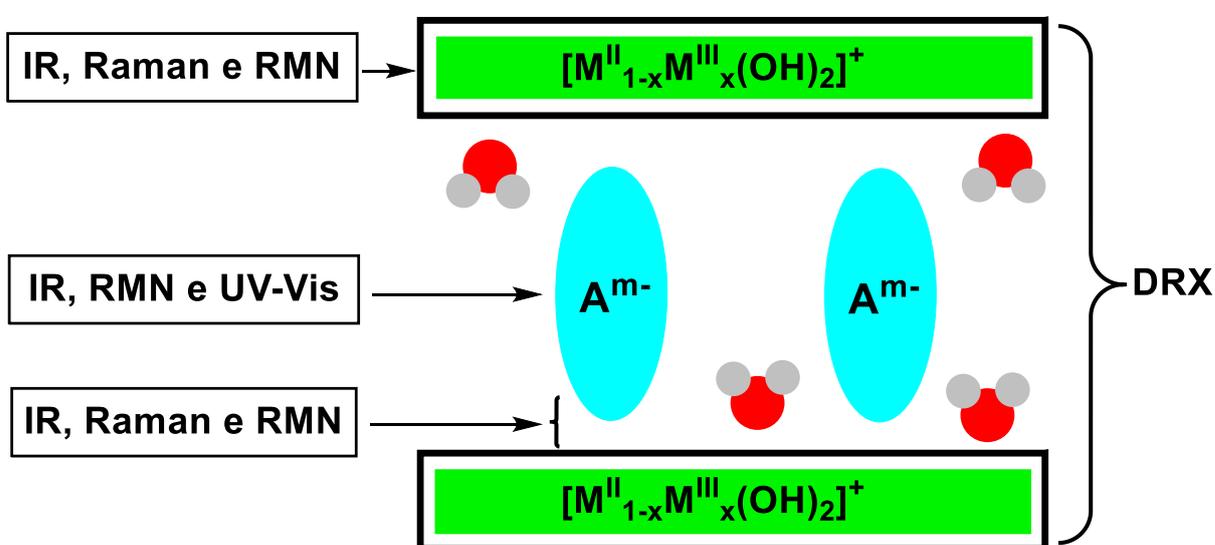


Figure 17. Possíveis informações estruturais obtidos por diferentes técnicas de caracterização. Adaptado de Prevot 1999, Apud Feng (2006).

A difração de raios X pelo método do pó é o método mais rápido para a identificação de estruturas de um HDL (Wang, 2012). Os dados gerados por essa técnica são normalmente obtidos utilizando amostras em pó orientado aleatoriamente (Abdolmohammad-Zadeh, 2013). A Figura 18a ilustra um difratograma de DRX característico de HDL, obtidos a partir de informações geradas pela lei de Bragg (Equação 5). As reflexões intensas do espaçamento basal (003) a ângulos 2θ baixo correspondente às sucessivas ordens do espaçamento basal (d), relativamente dependente da sequência de empilhamento da camada lamelar (Abdolmohammad-Zadeh, 2013). Os materiais de HDL adotam principalmente um sistema cristalino romboédrico ou hexagonal (Figura 18b), onde os polítipos romboédricos podem ser considerados com base numa célula unitária hexagonal (Wang, 2012).

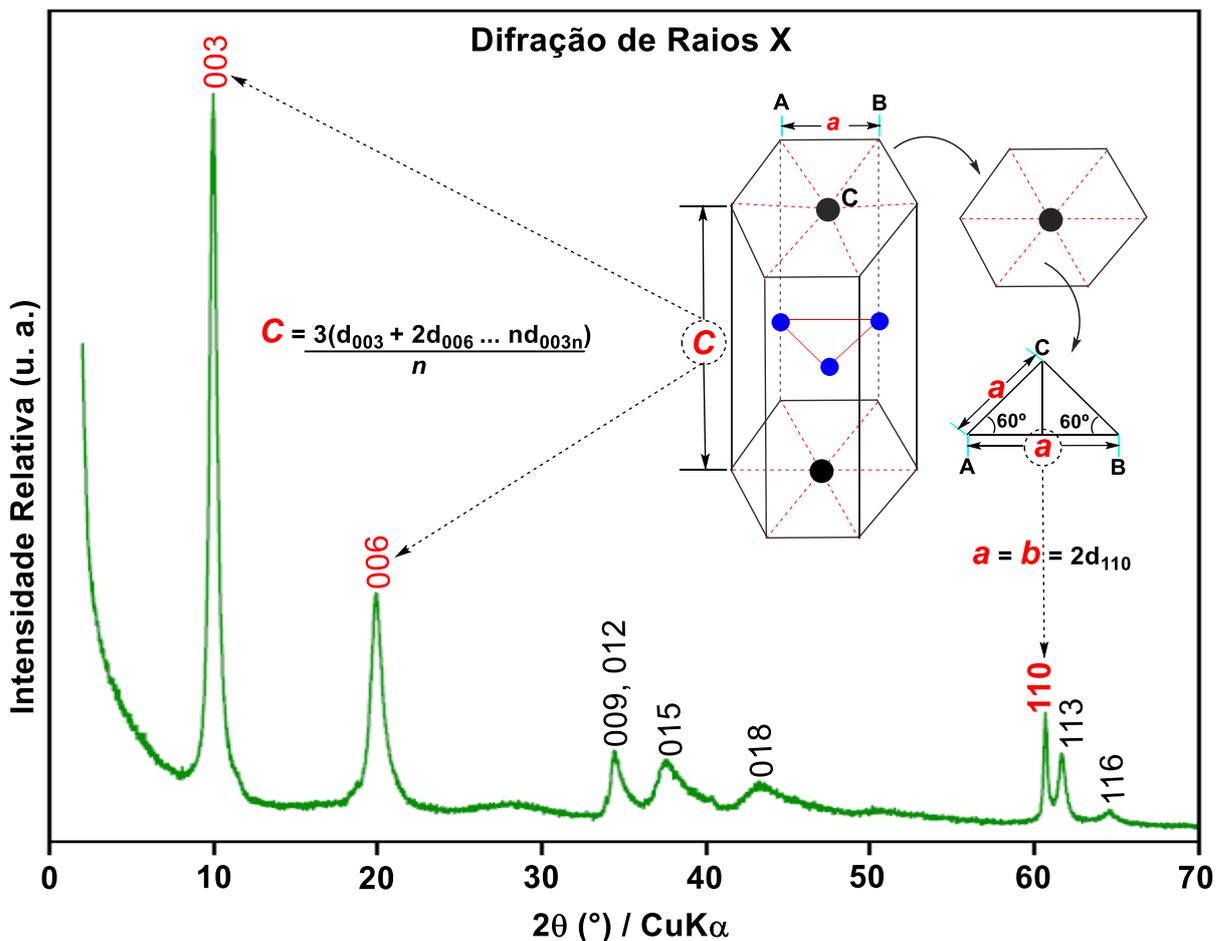


Figura 18. (a) Difratograma de DRX típico de HDL e as relações entre a célula primitiva romboédrica, a célula hexagonal e as respectivas equações para os cálculos dos parâmetros de rede (a, b, c). Fonte: elaborado pelo autor.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (\text{Eq. 5})$$

Na equação 5, λ representa o comprimento de onda da radiação incidente, n é um número inteiro (ordem de difração), d é a distância interplanar para o conjunto de planos (hkl), também conhecidos como índice de Miller da estrutura cristalina e (θ) é o ângulo de incidência dos raios X, medido entre o feixe incidente e os planos cristalinos (Waseda; Matsubara; Shinoda, 2011). De modo geral, os compostos sintéticos possuem simetria romboédrica pertencendo ao grupo espacial 3R. Considerando o empilhamento 3R das camadas com reflexões 003, 006 e 110, é possível calcular o espaçamento interlamelar usando a Equação 6 (Tronto et al., 2013; Waseda; Matsubara; Shinoda, 2011), assim como os parâmetros de rede a e c da célula unitária (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991; Wang, 2012), usando as Equações 7 e 8:

$$\frac{1}{(d_{hkl})^2} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad (\text{Eq. 6})$$

Rearranjando para os cálculos das propriedades de rede, a , b e c , temos:

$$a = b = 2d_{(110)} \quad (\text{Eq. 7})$$

$$c = \frac{3(d_{003} + 2d_{006} + 3d_{009} + \dots nd_{003n})}{n} \quad (\text{Eq. 8})$$

O parâmetro da célula unitária a corresponde à distância média entre dois íons metálicos situados nas camadas (veja a Figura 1C), sendo função do raio dos cátions metálicos utilizados (exemplos na Tabela 1). Já o parâmetro c é igual a três vezes o espaçamento basal d para diferentes ânions inorgânicos (veja a Figura 2B) e é diretamente influenciado pela carga dos cátions, a natureza do ânion interlamelar e a quantidade de água presente na estrutura (Vieira, 2009; Zhao et al., 2002). Para um valor médio do espaçamento basal 003 das três reflexões de raios X 003, 006 e 009 usa-se a equação 9 (Gerds et al., 2012; Gu et al., 2014; Tronto et al., 2013):

$$d_{(003)} = \frac{(d_{(003)} + d_{(006)} + d_{(009)})}{3} \quad (\text{Eq. 9})$$

Para obtenção do tamanho da partícula normalmente usa-se a equação de Scherrer (Equação 10) (Waseda; Matsubara; Shinoda, 2011) e também, usando a equação 11 é possível saber o número de camada.

$$t = \frac{\lambda}{B_{1/2} \cdot \cos\theta_B} (\text{Å}) \quad (\text{Eq. 10})$$

$$NC = \frac{t (\text{Å})}{d_{(003)} \text{ do (HDL) (Å)}} \quad (\text{Eq. 11})$$

Onde, (t) é o tamanho da partícula, $B_{1/2}$ é a largura à meia-altura (°, FWHM, Full-width at half maximum), θ_B é o valor radiano da posição de picos (00l) e (NC) é o número de camada (lamelas) no HDL.

1.6.1. Estudos de modelagem molecular

Técnica de simulação atomística tal como simulação computacional (Thyveetil et al., 2007) ao estudo de argilas catiônicas e aniônicas tornou-se um aliado importante para as técnicas instrumentais comumente usadas na caracterização dos HDL. A quantidade de informação que pode ser obtida por simulação continua crescendo e os estudos de mecânica quântica prometem revelar novos e importantes fenômenos (Cunha et al., 2010). Neste contexto, foi reportado o uso de simulações de dinâmica molecular (SDM) para analisar o arranjo, orientação e geometria da estrutura interlamelar de três AINEs, o ibuprofeno, diclofenaco e a indometacina intercalados no HDL-NO₃ (Mohanambe; Vasudevan, 2005). Os resultados teóricos indicaram que apenas a estrutura do ibuprofeno intercalado se manteve a mesma da molécula livre, mas a imobilização do diclofenaco e da indometacina sofrem modificações em suas estruturas quando na região interlamelar. Gu et al. (2014) mostraram por meio de cálculos de DFT (Teoria do Funcional de Densidade, Density Functional Theory) baseado em simulação

computacional que os ânions ibuprofeno intercalam no HDL em uma forma vertical em camada como a da brucita com os seus ângulos diedral igual a $41^\circ \theta$.

Também Kumar e colaboradores usaram (SDM) para descrever a estabilidade interlamelar de ácidos monocarboxilados em HDL de Mg-Al (Kumar et al., 2007). Já Tran et al. mostrou através de (SDM) mudanças nos parâmetros de célula a e b para o complexo HDL-DNA (Tran et al., 2008). Foi comprovado por (SDM) que o espaçamento basal e a disposição dos ânions benzocarbazole intercalado na matriz de HDL é influenciado pela densidade de carga lamelar (Yan et al., 2010a). Da mesma forma foi demonstrado as propriedades energética dos cátions desordenado em HDL (MgAl-Cl), incluindo composição, ordem e tendência do empilhamento na lamela (Yan et al., 2010b). Estes mesmos autores demonstraram a influência dos orbitais HOMO e LUMO a partir dos orbitais 3s do Magnésio (M) e 3p do Alumínio (Al). Também orbitais dos átomos de Oxigênio (O) e Cloro (Cl) na interação hóspede-hospedeiro (Yan et al., 2010b). De acordo com Tronto et al. (2013) programa computacional como o “VASP” (Vienna Ab-initio Simulation Package) pode ser usado para determinar o tamanho do ânion e comparar com os valores do espaçamento interlamelar ou basal obtidos a partir dos dados de DRX (Tronto et al., 2013).

1.6.2. Aplicações das argilas aniônicas

Os HDL são de grande interesse para a ciência de nanomaterial e tecnologia devido a sua estrutura particular e ampla aplicação, tais como em catálise (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991; Lei et al., 2011), farmacêutica (Li et al., 2004; Perioli et al., 2011), eletrodos modificados (Ai et al., 2008; Yin et al., 2010), na fotoquímica (Musumeci et al., 2010), como adsorventes (Pavan; Gomes; Valim, 1998), trocadores iônicos (Lv et al. 2006), pigmentos (Laguna et al., 2007) e aplicação no tratamento bucal (Perioli et al., 2013). Para o uso no meio ambiente, estudos apresentam os HDL intercalados com: regulador de crescimento vegetal (Hussein et al., 2002), com herbicidas (Cardoso et al., 2006) e no tratamento de água (Elkhatabi et al., 2013; Zhang et al., 2012). Além disso, têm-se aplicações como agente anticorrosivo (Yang et al., 2013), retardadores de chama (Wang et al., 2010), como sensores e eletrodos (Lu; Zhao, 2010; Zhang et al., 2014). Portanto, os HDL têm

apresentado uma ampla e diversificada aplicação, abrangendo diversas áreas do conhecimento, como ilustra a Figura 19, (Abdolmohammad-Zadeh, 2013; Barahuie et al., 2014; Mingos, 2006).

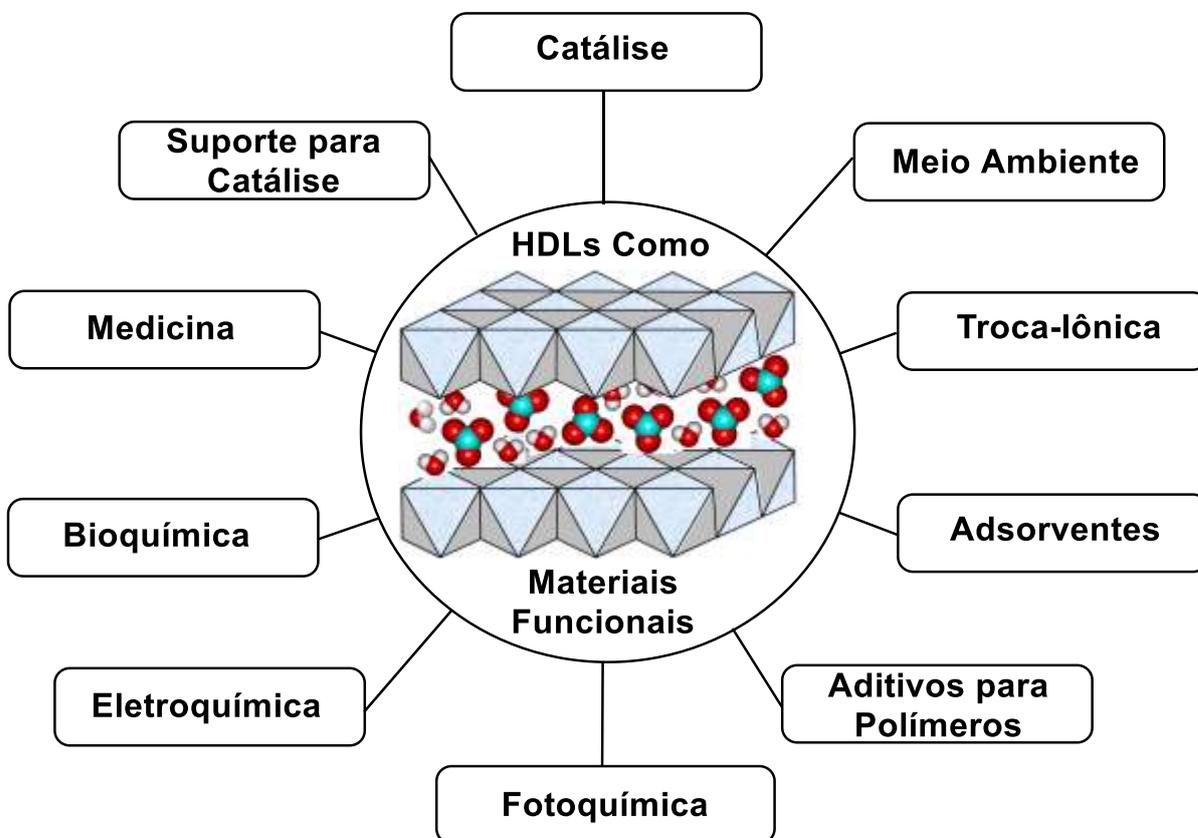


Figura 19. Possíveis aplicações dos HDL. Adaptado de Mingos (2006).

Em 2001, foi publicado um artigo com o ibuprofeno, um fármaco de interesse farmacológico intercalado em HDL (Ambroggi et al., 2001). Desde então, observa-se um aumento no número de trabalhos publicados em área de medicina, especialmente em formulações farmacêuticas, concentrando-se na intercalação e liberação controlada de compostos farmacologicamente ativos, mediado por alterações no pH (Ambroggi et al., 2001) e aumento da solubilidade de substâncias pouco solúveis em água (Ambroggi et al., 2003). Esses objetivos são possíveis devido às regiões interlamelar dos HDL serem consideradas como um “microvaso ou uma capa” protetora (Cunha et al., 2010) capaz de aumentar a estabilidade química das substâncias frente à luz, calor, umidade e oxigênio molecular (Wei et al., 2004). A

liberação sustentada pode manter a concentração plasmática do fármaco em níveis desejados por um período maior de tempo (Li et al., 2004). A superfície do HDL pode ser modificada para atingir células ou tecidos específicos e assim diminuir riscos de toxicidade (Li et al., 2004). A passagem através da membrana celular via fagocitose, atingindo alvos específicos (Choy et al., 2004b) diminuição de efeitos colaterais de anti-inflamatórios, com lesões gastrointestinais (Del Arco et al., 2004). Além disso, os HDL não apresentam toxicidade quando ingeridos oralmente ou quando administrados na forma parenteral (Park et al., 2006). Com base nessas características é que os HDL têm sido usados na intercalação de diversas substâncias as quais apresentam diferentes aplicações, tais como os anticâncer (Choy et al., 2004a; Liu et al., 2014; Yin et al., 2009), anti-tumor (Su et al., 2011), anti-hipertensivo (Ali et al., 2012; Xia et al., 2008), anti-inflamatório (Ambrogi et al., 2001; Del Arco et al., 2004; Ramli; Hussein; Yusoff, 2013) os bloqueadores solar (Biswick; Park; Choy, 2012), vitaminas (Qin et al., 2008), antibiótico (Frunza et al., 2008; Román et al., 2012), aminoácidos (Nakayama; Wada; Tshako, 2004), molécula de DNA em trabalho de terapia genética (Choy et al., 2004b; Kwak et al., 2002) e também na terapia fotodinâmica com o uso da porfirina (Kantonis; Trikeriotis; Ghanotakis, 2007). A aplicação do HDL como, por exemplo, excipiente no tratamento de úlcera e em terapia de desordens digestivas já é descrita há mais tempo (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991). Em 2007 foi relatado a intercalação em HDL de uma espécie orgânica neutra, um antibiótico (Kantonis; Trikeriotis; Ghanotakis, 2007).

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. Objetivo geral

✓ Estudar o processo de intercalação do ibuprofeno nos hidróxidos duplos lamelares e seu efeito em testes *in vivo* para atividade analgésica.

1.7.2. Objetivos específicos

✓ Intercalar o ibuprofeno nos HDL-Mg/Al-NO₃ através do método da coprecipitação, variando as condições experimentais, tais como: a razão molar dos cátions Mg²⁺/Al³⁺ = 2,0, 2,5 e 3,0, a massa dos sais de nitrato e a razão de massa do ibuprofeno para obtenção dos complexos híbrido IBU-HDL;

✓ Caracterizar os materiais híbridos por diferentes técnicas instrumentais, tais como: difratometria de raios X (DRX), espectroscopia vibracional no infravermelho (IR), no Raman e no ultravioleta visível (UV-vis). Análise termogravimétrica e por calorimetria exploratória diferencial (TG/DSC). Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e microscopia eletrônica de varredura (MEV);

✓ Realizar simulações matemática dos difratogramas de DRX dos materiais híbridos IBU-HDL e comparar com os perfis experimental;

✓ Avaliar os materiais contendo os ânions do ibuprofeno através de teste biológicos *in vivo* em camundongos.

CAPÍTULO 2. Revisão da literatura sobre a molécula de Ibuprofeno

2.1. INTRODUÇÃO

O ibuprofeno ((*RS*)-2-(4-(2-metilpropil) fenil) ácido propanóico), nomeado neste trabalho como IBU, é uma fármaco quiral (Figura 20) derivado do ácido propiônico e pertence ao grupo dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (Shankland et al., 1997). Foi sintetizado pela primeira vez em 1961, no Reino Unido, pela equipa liderada por Stewart Adams da Companhia Boots, e começou a ser comercializado nesse país em 1969, para o tratamento da artrite reumatóide e em 1974, nos EUA (Hao; Wang; Sun, 2005). Porém, a utilização deste fármaco foi impulsionada a partir de 1983, quando começou a ser vendido sem receita nas farmácias no Reino Unido (Almeida, 2009).

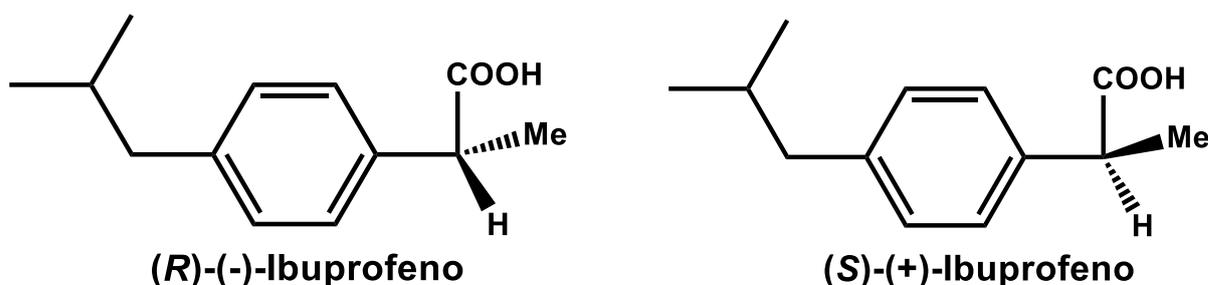


Figura 20. Estruturas químicas dos enantiômeros R e S do ibuprofeno, (*RS*)-2-(4-(2-metilpropil) fenil) ácido propanóico.

O enantiômero (*S*)-(+) é o que apresenta maior afinidade pelas proteínas plasmáticas e, como consequência, melhor ação farmacológica (Romero et al., 2012). O IBU é comercializado como mistura racémica há aproximadamente 30 anos, devido ao alto custo que envolve a síntese de um enantiômero puro. Além disso, no organismo humano existe a presença de uma enzima do tipo isomerase (2- arilpropionil-CoA epimerase) que, de acordo com testes biológicos realizados in vivo mostram que essa enzima é capaz de converter uma fração substancial de *R*-(-)-ibuprofeno (50% a 60%) (Evans, 2001) no seu enantiômero mais ativo (*S*)-(+) (Reichel et al., 1997), Figura 21.

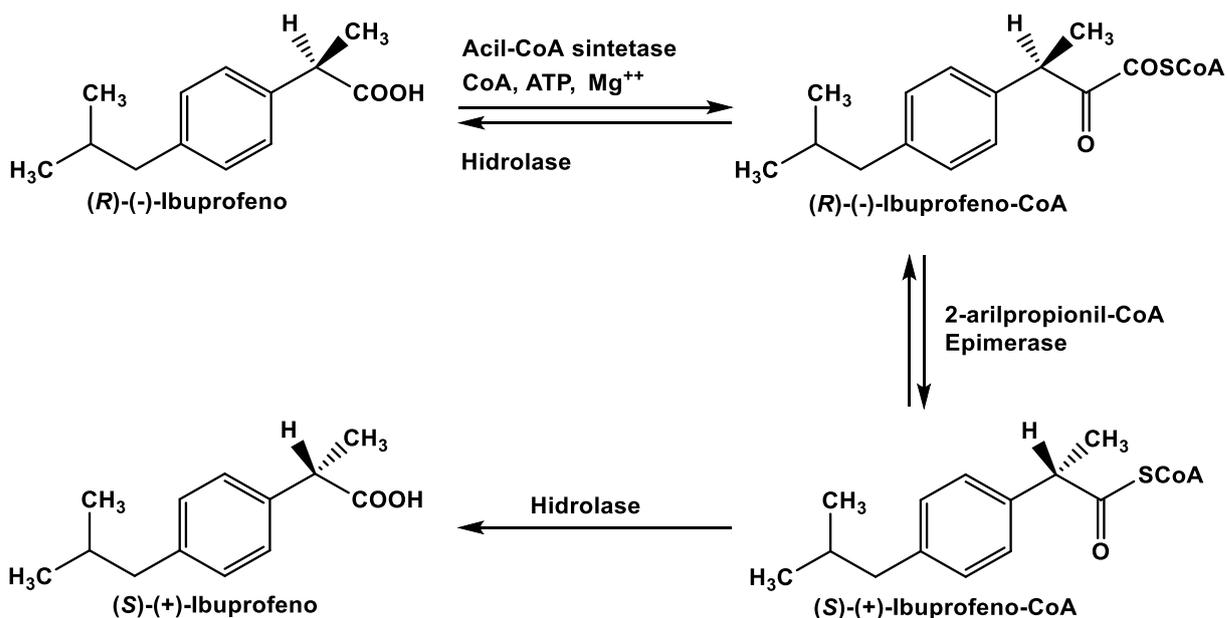


Figura 21. Mecanismo proposto da inversão quiral do ibuprofeno. Adaptado de Reichel et al. (1997).

Nos últimos 20 anos houve um grande avanço no estudo terapêutico dos anti-inflamatórios devido à contribuição da descoberta de duas isoformas da enzima cicloxigenase (COX), a COX-1 e a COX-2, Figura 22, que apesar da semelhança estrutural entre elas apresentam funções distintas (Antman; Mets; Loscalzo, 2005). A COX-1 está presente em quase todos os tecidos, e está associada à produção de prostaglandinas e conseqüentemente a diversos efeitos fisiológicos, como proteção gástrica, agregação plaquetária, hemóstase vascular e manutenção do fluxo sanguíneo renal, sendo denominada de enzima constitutiva (Hilário; Terreri; Len, 2006). A COX-2 está presente nos locais de inflamação sendo expressa principalmente por células envolvidas no processo inflamatório, como macrófagos, monócitos e sinoviócitos, por isso é denominada de enzima induzida. A sua expressão no sistema nervoso central permite, por exemplo, a mediação da dor (Chandrasekharan et al., 2002).

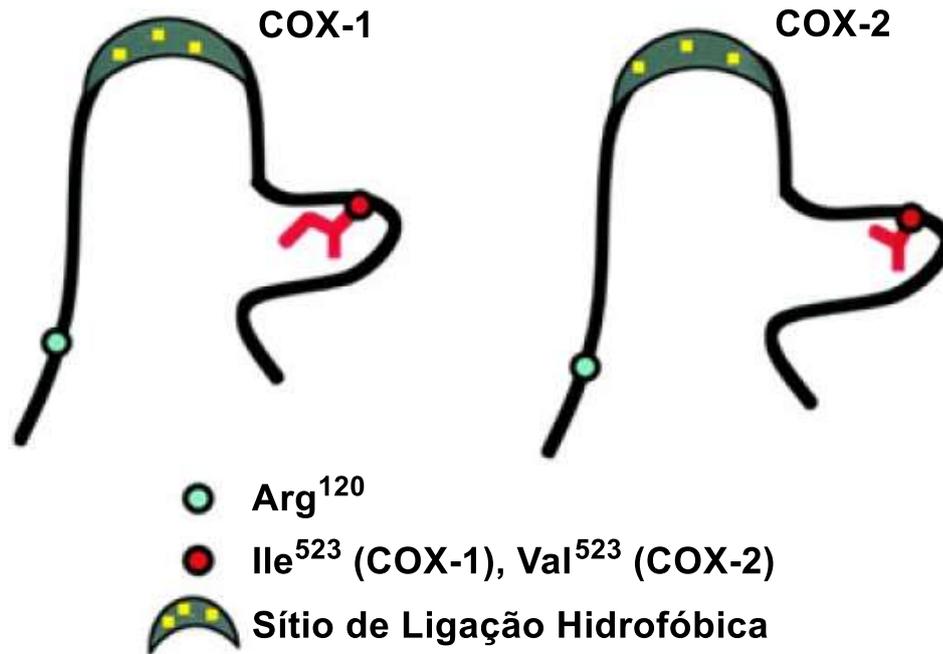


Figura 22. Locais determinantes das isoformas da COX. Adaptado de Antman (2005).

O uso dos AINEs resulta na inibição competitiva com o ácido araquidônico pelo centro ativo das enzimas COX e consequentemente na diminuição da produção de prostaglandinas, combatendo, por exemplo, a inflamação, a dor e a febre (Seabra, 2015), uma vez que a diminuição destas diminui a sensibilização dos impulsos nervosos da dor quando da ação de mediadores inflamatórios. Neste contexto, o IBU, um AINEs, é um inibidor não seletivo da COX-2, ou seja, inibe simultaneamente a COX-1 e a COX-2 (Grosser; Fries; FitzGerald, 2006), Figura 23, evitando assim a formação de mediadores pró-inflamatórios.

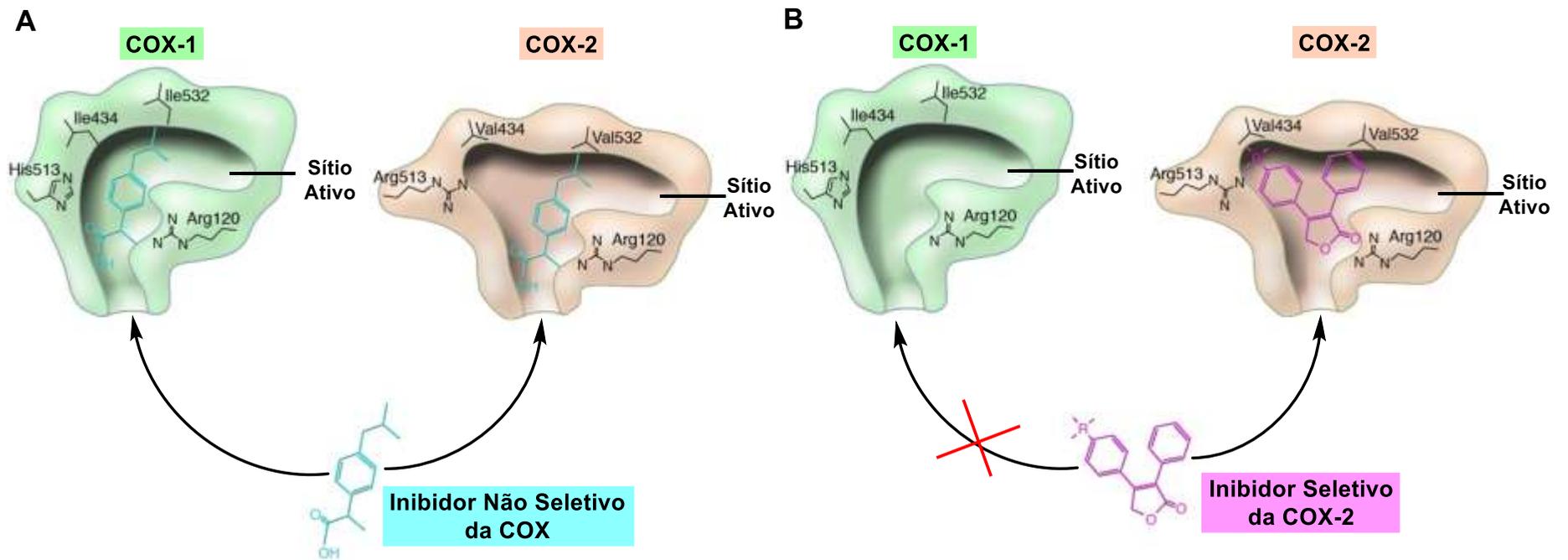


Figura 23. Representação esquemática das diferenças estruturais entre os sítios de ligação do substrato à COX-1 e COX-2, que permitiram o desenvolvimento de inibidores seletivos. Adaptado de Grosser et al. (2006).

O IBU apresenta também uma ação anticoagulante (Ay et al., 2009), uma vez que diminui a formação de coágulos sanguíneos como consequência da diminuição dos tromboxanos quando da inibição da COX-1.

Pesquisas mostram que pessoas que consomem regularmente ibuprofeno, o risco de desenvolver Doença de Parkinson é inferior a 38% comparado à pessoas que não tomam o fármaco (Chen et al., 2007), e baixo risco para alguns tipos de câncer (Sivak-Sears et al., 2004). Outro estudo mostra que o uso prolongado do IBU diminui a probabilidade de desenvolver a doença de Alzheimer (Ossvald, 2006). Entretanto, o uso deste fármaco deve ser dado de forma cuidadosa devido aos seus efeitos colaterais, tais como irritabilidade gástrica e também por afetar o sistema nervoso central. Porém, a intercalação do ibuprofeno em sistema carregador, como os hidróxidos duplos lamelares (HDL) pode ter uma ação diminuindo esses efeitos colaterais, prolongando o tempo de ação do fármaco e consequentemente seu efeito analgésico (Ambrogi et al., 2001).

Neste contexto, encontra-se na literatura vários trabalhos com diferentes substâncias intercaladas em HDL, alguns relatando teste in vivo com esse tipo material (Del Arco et al., 2004; Choi et al., 2008; Cunha et al., 2016; Qin et al., 2010, 2014; Sillion et al., 2010), porém não há relatos na literatura sobre testes in vivo com o ibuprofeno intercalado em HDL. Além disso, a formulação de liberação controlada para o ibuprofeno precisa ser melhor estudada, especialmente em relação os efeitos colaterais e ao tempo de meia vida curto (Qiu et al., 2001), por exemplo, 3,7 h para o S-ibuprofeno (Johnson et al., 2007). Assim, extensos esforços têm sido despendido para a intercalação desse fármaco em HDL, com vários métodos descritos na literatura (Alcântara et al., 2010; Ay et al., 2009; Gordijo et al., 2005; Huang et al., 2011; Lu et al., 2013; Wang et al., 2010). Porém, não há estudos sobre a correlação entre a melhor razão molar dos cátions metálico Mg^{2+}/Al^{3+} e a quantidade de IBU a ser intercalado, assim como suas influências nas propriedades físicas e químicas e avaliação analgésica. Neste contexto, o presente trabalho, propôs realizar as sínteses de HDL em diferentes razões molares dos cátions metálico ($Mg^{2+}/Al^{3+} = 2,0, 2,5$ e $3,0$) e também a intercalação da molécula do IBU nesse material inorgânico via método da coprecipitação, com objetivo de analisar qual o processo de intercalação do ibuprofeno nos HDL, além dos seus efeitos como atividade analgésica em teste in vivo. Todos os materiais obtidos foram caracterizados por diferentes técnicas, os quais serão apresentados em tópicos a seguir.

2.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

2.2.1. Materiais

Todos os reagentes utilizados nos experimentos do presente trabalho apresentavam grau de pureza analítica e foram usados sem purificação prévia. O ibuprofeno (98% de pureza) foi comprado da Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Os reagentes usados, $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (Sigma-Aldrich, 98%), $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ (Sigma-Aldrich, 98%), NaOH (Sigma-Aldrich, 98%), CH_3CH_2OH (Alfa Aesar, 94-96%) e tampão fosfato pH = $7,00 \pm 0,002$ (Sigma-Aldrich, 98%), foram de grau analítico. Para a realização das sínteses, foi usado água destilada ou purificada.

2.2.2. Procedimentos experimentais de síntese das amostras

Para a síntese por coprecipitação, foi adaptado do trabalho de Gordijo et al. (2005), porém fazendo alguns ajustes para a obtenção dos HDL puros e também para a intercalação do ibuprofeno nos HDL, complexo IBU-HDL. Para cada síntese, a razão molar dos cátions $[Al^{3+}]/([Al^{3+}] + [Mg^{2+}])$ foi variada. Uma quantidade variada de ibuprofeno foi adicionado para obter treze (13) diferentes materiais, com diferentes razões de massa de ibuprofeno nas amostras de IBU-HDL, como representado na Tabela 5. Uma mistura de solução aquosa contendo X mL dos sais de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ e $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ foi levemente gotejado a um frasco de três bocas contendo X mL de uma solução de etanol e água 50% (v/v) contendo o ibuprofeno dissolvido com o pH previamente ajustado a 10 com solução de NaOH 2 mol L^{-1} . A adição foi realizada sob vigorosa agitação e fluxo de gás nitrogênio (N_2) para diminuir a contaminação por CO_2 . Durante o processo de adição dos sais sobre a solução contendo o fármaco, o pH foi mantido aproximadamente constante pela adição continua de solução de NaOH 2 mol L^{-1} . O “gel” formado permaneceu sob forte agitação e fluxo de N_2 a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h. O produto (sólido branco) formado foi isolado por centrifugação, seguido por filtração e lavado cuidadosamente com porções de solução hidroalcoólica (razão do volume 1:1) a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ e posteriormente transferida para uma estufa para secar a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 h, veja o esquema da síntese

na Figura 24. O mesmo procedimento foi adotado para sintetizar os HDL puros sem a presença do ibuprofeno (Tabela 5). A rota de síntese foi otimizada pela variação da razão de massa do ibuprofeno e dos sais de nitrato ($M^{2+} = \text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $M^{3+} = \text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) com objetivo de verificar a quantidade de fármaco intercalado e qual a sua influência nas características física e química do produto formado. Para isto a massa total dos reagentes (ibuprofeno ou massa dos sais de nitrato de magnésio e alumínio) foram fixadas em aproximadamente quatro gramas e meio (4,5 g) para cada amostra, as quais foram nomeadas de acordo com a Tabela 5. As amostras marcadas com um asterístico (*) apresentados na Tabela 5 foram sintetizadas no laboratório LPDF em Belém do Pará no Brasil, as demais amostras foram sintetizadas no laboratório SPCTS em Limoges na França pelo autor da tese.

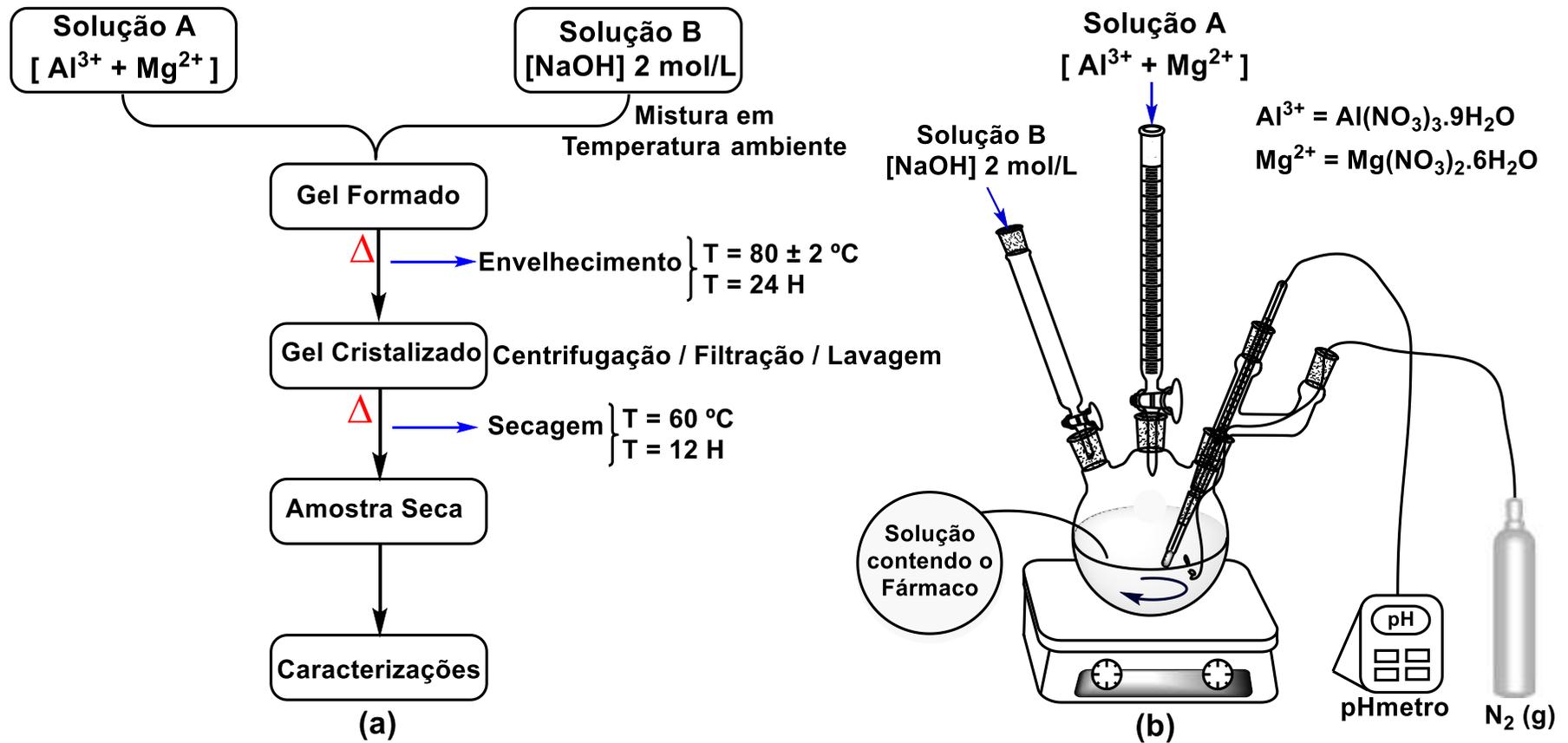


Figura 24. Esquema experimental para obtenção dos materiais de HDL pelo método de coprecipitação. (a) obtenção de HDL, (b) intercalação de fármaco nos HDL de Mg/Al. Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 5. Condições de síntese para os HDL puros e para os complexos de IBU-HDL preparados pelo método de coprecipitação a pH ~ 10.

Amostras	m (Mg ²⁺) (g)	m (Al ³⁺) (g)	V (Mg+Al) mL	m (IBU) (g)	V (IBU) mL	#m _{total}	T (°C)	t (h)
IBU-HDL2 2:1*	1,455	1,057	25,00	5,00	100,00	7,520	65,00	24,00
IBU-HDL2 1:1*	2,905	2,102	25,00	5,00	100,00	10,00	65,00	24,00
IBU-HDL2 1:2*	5,870	4,200	25,00	5,00	100,00	15,07	65,00	24,00
HDL2 (Mg ₂ Al-NO ₃ ⁻)	2,615	1,891	10,00	0,00	30,00	4,506	80,00	24,00
IBU-HDL2 1:2 (A)	1,749	1,262	10,00	1,505	30,00	4,516	80,00	24,00
IBU-HDL2 1:2 (B)	1,746	1,276	10,00	1,514	30,00	4,536	80,00	24,00
IBU-HDL2 1:4	2,090	1,518	10,00	0,901	30,00	4,509	80,00	24,00
IBU-HDL2 1:6	2,255	1,624	10,00	0,644	30,00	4,523	80,00	24,00
IBU-HDL2 1:8	2,327	1,684	10,00	0,501	30,00	4,512	80,00	24,00
IBU-HDL2 1:10	2,386	1,732	10,00	0,418	30,00	4,536	80,00	24,00
HDL2,5 (Mg _{2,5} Al-NO ₃ ⁻)	2,852	1,658	10,00	0,00	30,00	4,510	80,00	24,00
IBU-HDL2,5 1:2	1,905	1,107	10,00	1,503	30,00	4,515	80,00	24,00
HDL3 (Mg ₃ Al-NO ₃ ⁻)	3,063	1,465	10,00	0,00	30,00	4,528	80,00	24,00
IBU-HDL3 1:2	2,047	0,975	10,00	1,500	30,00	4,522	80,00	24,00
IBU-HDL3 1:4	2,453	1,172	10,00	0,901	30,00	4,526	80,00	24,00
IBU-HDL3 1:6	2,622	1,256	10,00	0,658	30,00	4,536	80,00	24,00

#Massa total em gramas (g). *Amostras sintetizadas no laboratório LDPF em Belém do Pará, Brasil. As demais amostras foram sintetizadas no laboratório SPCTS em Limoges na França pelo autor da Tese. T = temperatura (°C), t = tempo em horas. Os números (1:X, x = 1, 2, 4, 6, 8 e 10) são as razões de massa em grama dos sais de nitrato de Mg/Al em relação a massa do ibuprofeno (IBU) usado. HDL em razão dos cátions metálicos de Mg/Al = 2 HDL2, Mg/Al = 2,5 HDL2,5 e Mg/Al = 3 HDL3, veja os cálculos no Apêndice II.

2.2.3. Técnicas de caracterização usada

Todas as amostras preparadas neste trabalho (Tabela 5) foram granuladas a pós finos e usados para caracterização físico e química no laboratório SPCTS-França. As técnicas utilizadas foram: DRX, Infravermelho, Raman, UV-vis, TG/DSC, ICP-OES e MEV.

Os padrões de drx dos pós foram registados com radiação $\text{CuK}\alpha_1$ 2θ em uma faixa de 2° a 80° ($\lambda = 1,5418\text{\AA}$) em ângulo $\theta/2\theta$ com difratômetro avançado D8 (Bruker, Alemanha), com um passo de $0,04^\circ$ e tempo de exposição de 2,8 s por passo. Além disso, as amostras foram analisadas com o uso do programa Peakoc (Masson, 2012) usando a função de divisão pseudo-Voigt (Thompson; Cox; Hastings, 1987) para ajustar os perfis experimentais. As caracterizações estruturais dos materiais híbridos IBU-HDL foram realizadas através da análise da forma e perfil das posições das reflexões basais usando o programa PyLDHLineProfile (Masson, 2014), um programa escrito em linguagem Python (ver seção 2.3.6.).

Os espectros infravermelhos foram coletados em um espectrofotômetro Nicolet 6700. Pastilhas de KBr foram preparadas após a mistura da amostra com KBr seco e prensadas a uma pressão de 8 t por cerca de 30 s. As análises foram realizadas no modo de absorbância na faixa de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, onde todas as medições foram feitas em temperatura ambiente.

Os espectros Raman foi registrada em um espectrômetro Raman T64000 no comprimento de onda de 514,532 nm. Na configuração de retro espalhamento, usando objetiva 50x, longa distância de trabalho, com um tempo de aquisição de 5s.

As análises térmicas (TG/DSC) foram realizadas em um aparelho Netzsch (modelo STA 449F3), utilizando cadinhos de platina, sob fluxo de gás argônio (20 mL min^{-1}), em intervalo de aquecimento de $25\text{ }^\circ\text{C}$ a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ na taxa de $10\text{ }^\circ\text{C}$ por minuto. Para a quantificação dos metais por ICP-OES, as medidas foram realizadas utilizando o equipamento Perkin Elmer Optima 8300 para determinar a quantidade relativa de $[\text{Al}^{3+}]/[\text{Mg}^{2+}]$ na amostra de pó calcinado a $1000\text{ }^\circ\text{C}$ por 30 minutos.

Para as análises morfológica por MEV foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (FE-SEM) modelo JEOL-JEM-6700 em 5.0 kV. As amostras foram preparadas depositando pó em uma fita de carbono dupla face aderida ao porta amostra de alumínio.

A quantificação das moléculas de IBU intercaladas no HDL foi feita por UV-vis. Para isso, foi obtido uma curva analítica do IBU puro de uma solução tampão (pH 7,00), preparada a partir de uma solução estoque (concentração = 1,0 g L⁻¹). Diluições seriadas a partir desta foram realizadas para obter soluções de concentrações variadas (Tabela 8). Após esse passo, foram adicionados 3 mL de cada solução em uma cubeta de quartzo e a leitura das amostras foi realizada por um espectrofotômetro UV-vis (modelo Shimadzu UV2600, no laboratório LPDF no Brasil) em um comprimento de onda $\lambda_{\text{max}} = 264$ nm. De posse dos dados coletados nas análises, foi plotado um gráfico relacionando às concentrações com os valores das absorbâncias do IBU, onde, por regressão linear, foi obtido a equação da reta, a qual foi usada para quantificar o fármaco intercalado no HDL. Para isto, foi pesado 5 mg de cada amostra (HDL ou IBU-HDL) e diluídas a 10 mL, sendo 2 mL de EtOH puro e 1 mL de HCl 0,1 M, e aferido em um balão volumétrico de 10 mL com solução tampão fosfato (pH 7,00 ± 0,02). Os espectros de absorção dessas amostras foram medidos em $\lambda_{\text{max}} = 264$ nm entre 200-400 nm.

2.2.4. Teste *in vivo*

Foram usados camundongos do sexo masculino, albino pesando entre 20-25 g. Esses animais foram obtidos a partir de colônias mantidas no IEC (Instituto Evandro Chagas, Belém-Pará-Brasil). Os animais foram alojado em grupo de cinco (5) sob condições ambiental controlada com livre acesso a água e alimento padrão. O alimento foi retido durante a noite antes das experiências enquanto que a água ainda foi fornecida. A manipulação e uso dos animais foi em conformidade com a diretriz institucional, e os protocolos experimentais aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da UFPA (Universidade Federal do Pará, CEPAE-UFPA:124-13).

Os testes *in vivo* foram realizados no LNMC do ICB-UFPA (Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular, do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA-Belém-PA-Brasil), pelo grupo da Prof^a. Dr^a. Gilmara de Nazareth Tavares Bastos.

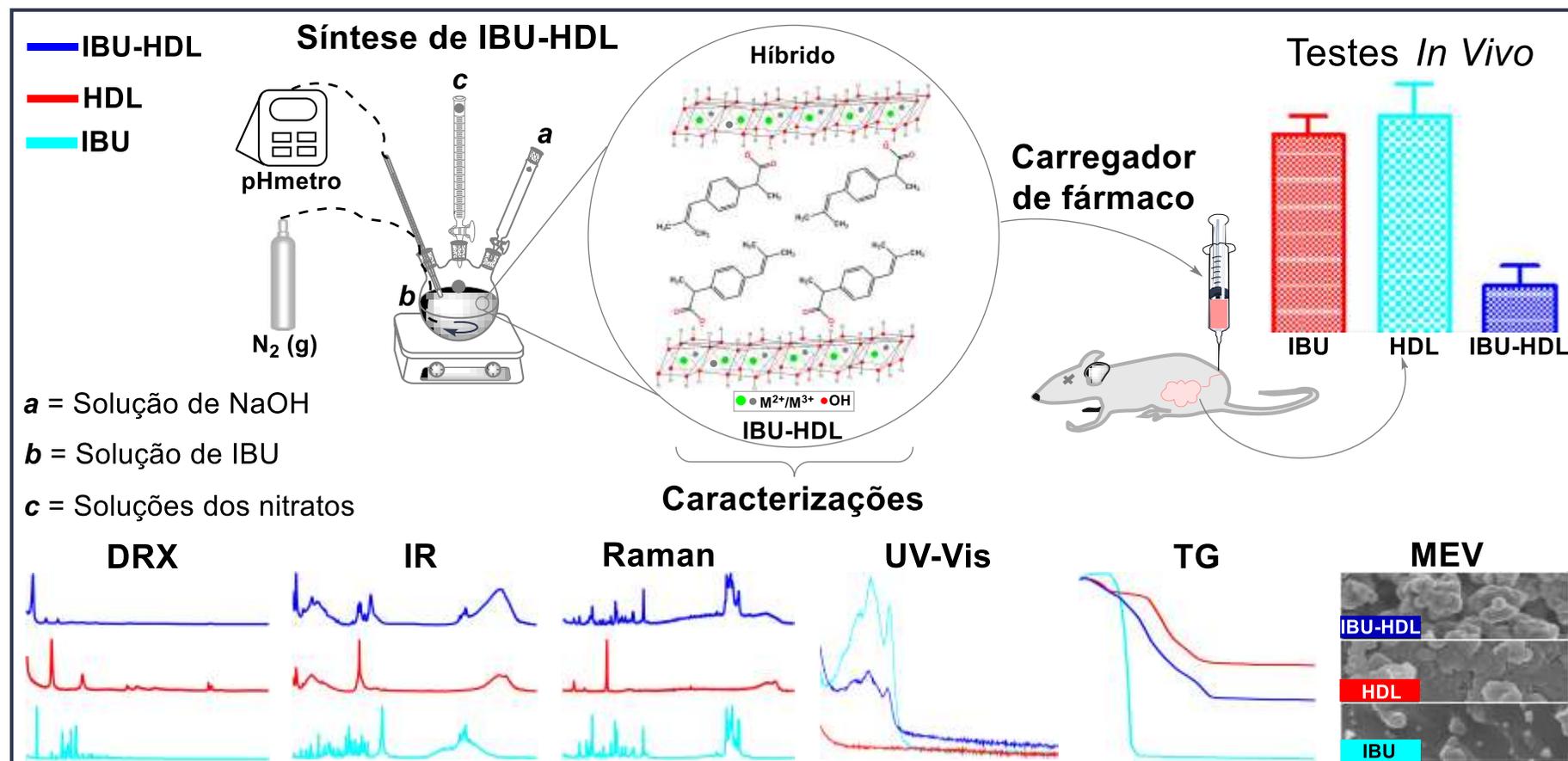
2.2.4.2. Contorção induzida por ácido acético em camundongos

Para avaliar os possíveis efeitos periféricos das amostras IBU-HDL, os testes de contorção por ácido acético foram realizados em camundongos, usando a metodologia descrita na literatura (Koster; Anderso; Beer, 1959; Lima et al., 2009), onde grupos de 5 camundongos foram mantidos em jejum durante a noite antes do início da experiência, porém com livre acesso a água. 200 mg/kg das amostras de IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10 (g/g), IBU puro (200 mg kg⁻¹) ou amostras de volumes equivalentes de veículo (0,9% de solução salina) foram injetados via peritoneal em camundongos 24 horas antes da injeção de ácido acético (0,6%). O IBU é um medicamento bem conhecido como analgésico periférico e foi utilizado como controle positivo. Além disso, após a injeção do ácido acético, os camundongos foram colocados numa caixa de observação e o número de contorções foi contado durante 30 minutos. Os resultados foram expressos como média ± S.E.M, e as avaliações estatística foi feita utilizando o método ANOVA seguido Student-Newman-Keuls (Abdi; Williams, 2010), onde os valores foram considerados significativamente diferentes para $p < 0,05$.

2.2.5. Análise de hemólises

As análise hemolíticas dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:10, 1:6 e 1:4 foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por (Dobrovolskaia et al., 2008), para a qual 2% de células vermelhas do sangue (RBC, glóbulos vermelhos) foram tratadas com suspensão das soluções das amostras, com concentração de 250 µg mL⁻¹, o qual foi incubado durante 2 horas a 37 °C com suave agitação. A suspensão RBCs incubados com soro fisiológico usando o mesmo procedimento, considerado como controle para posterior comparação. Os controles foram preparados da mesma maneira que as amostras de eritrócitos, com exceção da adição de Triton-X (controle positivo) e DMSO (controle negativo). Duas horas depois, as amostras foram visualizadas com auxílio de um microscópio de luz com uma ampliação de 100x. Em seguida, a suspensão de glóbulos vermelhos (RBCs) foram centrifugadas com 1000 rpm durante 10 minutos, onde os sobrenadantes foram testados pela absorbância a 540 nm da hemoglobina liberada.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO



As amostras foram sintetizadas pelo método da coprecipitação em diferentes condições (veja a Tabela 5), por exemplo, variando as massas dos reagentes e também as razões dos cátions metálicos $Mg^{2+}/Al^{3+} = 2,0, 2,5$ e $3,0$, representadas respectivamente como HDL2, HDL2,5 e HDL3. Para facilitar a leitura e compreensão dos resultados apresentados neste trabalho, é resumido na Figura 25 as principais etapas e amostras sintetizadas.

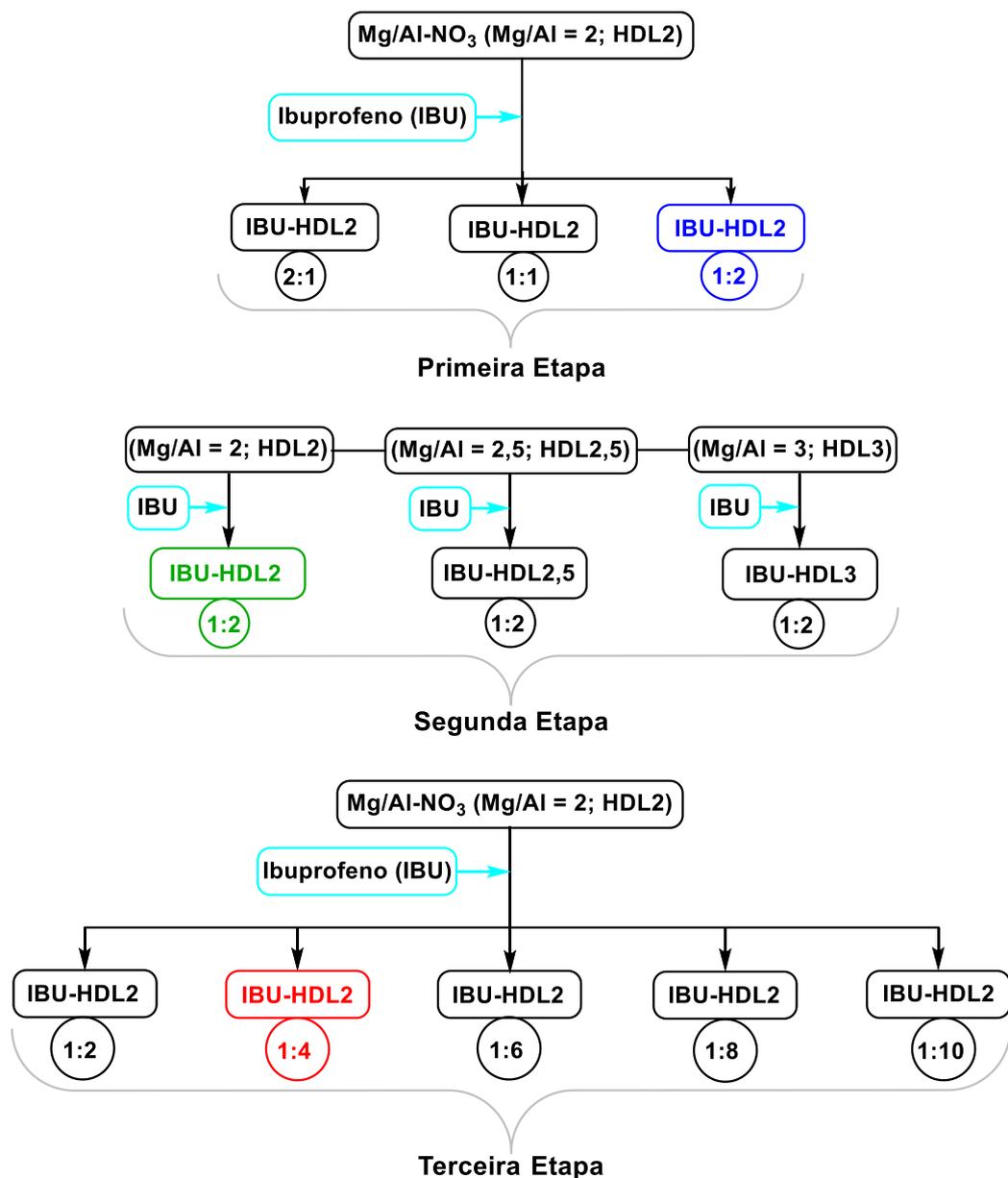


Figura 25. Amostras sintetizadas por coprecipitação usando ibuprofeno (IBU) e HDL nas razões molares de $Mg/Al = 2,0, 2,5$ e $3,0$. As proporções entre IBU-HDL foram 1:X, com X variando de 1 a 10 e massa total igual a 4,5 gramas.

A primeira etapa foi realizar a intercalação do ibuprofeno (IBU) no HDL de razão molar dos cátions metálicos $Mg^{2+}/Al^{3+} = 2,0$, mas variando a proporção de massa do fármaco (IBU) em relação à massa dos sais dos metais (Mg^{2+}/Al^{3+})- NO_3 , ou seja, usando o dobro de massa de fármaco 2:1 (massa/massa, em gramas) ou/e o dobro de massa dos sais dos metais 1:2 (g/g). Isto foi realizado para verificar se haveria diferença na quantidade de substância orgânica (IBU) intercalada. Os resultados obtidos mostraram não haver grande diferença na quantidade de fármaco intercalado. Neste caso, usando duas vezes menos massa de fármaco em relação à massa dos sais dos metais, amostras IBU-HDL2 1:2, obtêm-se amostras parecidas quando se usa o dobro de massa de fármaco em relação a massa dos sais, amostras IBU-HDL2 na razão 2:1 (g/g). Assim, por questões econômicas optou-se por fazer as sínteses usando a menor quantidade de massa de fármaco, ou seja, nas proporções IBU-HDL2 1:2.

A segunda etapa foi intercalar o fármaco nas proporções observadas na primeira etapa, fixando a massa total em aproximadamente quatro gramas e meio (4,5 g) para todas as amostras (ver Tabela 5), porém variando as razões molares dos metais, os quais foram $Mg^{2+}/Al^{3+} = 2,0, 2,5$ e $3,0$, representados respectivamente como HDL2, HDL2,5 e HDL3. Isto foi feito, pois, apesar de haver vários trabalhos na literatura sobre a intercalação do IBU em HDL por diferentes métodos e usando essa faixa de razão dos metais, não há relatos sobre quais as principais consequências. Assim, os resultados obtidos mostram que, usando as mesmas condições de síntese, o rendimento de intercalação é melhor quando se usa a razão IBU-HDL2, pois a quantidade de fármaco intercalado foi 16,1% maior, ou seja, 46,5% para amostras IBU-HDL2 1:2 comparado a 30,4% para amostras IBU-HDL3 1:2.

A terceira etapa foi usar a mesma razão dos cátions metálicos ($Mg/Al = 2$), mas variando a proporção de massa do ibuprofeno em relação a massa dos sais de nitrato dos metais (Mg^{2+}/Al^{3+})- NO_3 , amostras representadas como IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10, porém manteve-se fixo a massa total entre IBU-HDL2 em quatro gramas e meio (4,5 g), veja a Tabela 5. Este procedimento foi realizado com objetivo de estudar quais as influências da quantidade de fármaco intercalado no HDL (material híbrido IBU-HDL), qual o processo de intercalação do IBU e suas influências nos teste *in vivo*. Assim, esses pontos serão abordados a seguir.

2.3.1. Análises de difratometria de raios X

A Figura 26 confirma a formação de compostos em HDL de estrutura como a da hidrotalcita, onde dois picos intensos e simétricos são observados em ângulos 2θ baixo, em uma faixa de 9° a 22° correspondendo ao espaçamento basal $d_{(003)}$ e $d_{(006)}$, os quais são característicos para os HDL de nitrato ($Mg-Al-NO_3$) (Wang; Wang, 2007; Xu; Zeng., 2001a, 2001b). Além disso, picos largos e assimétricos são observados em 2θ em uma faixa de 30° a 80° 2θ . Os picos entre 60° a 61° 2θ correspondem ao plano cristalino $d_{(110)}$. Os picos grau 2θ de maior intensidade correspondente ao plano 003 representa o valor de d referente à soma da espessura da lamela e altura da região interlamelar, o qual é dependente do grau de hidratação do material (Rodrigues, 2007) e dos ânions interlamelares (Vieira, 2009).

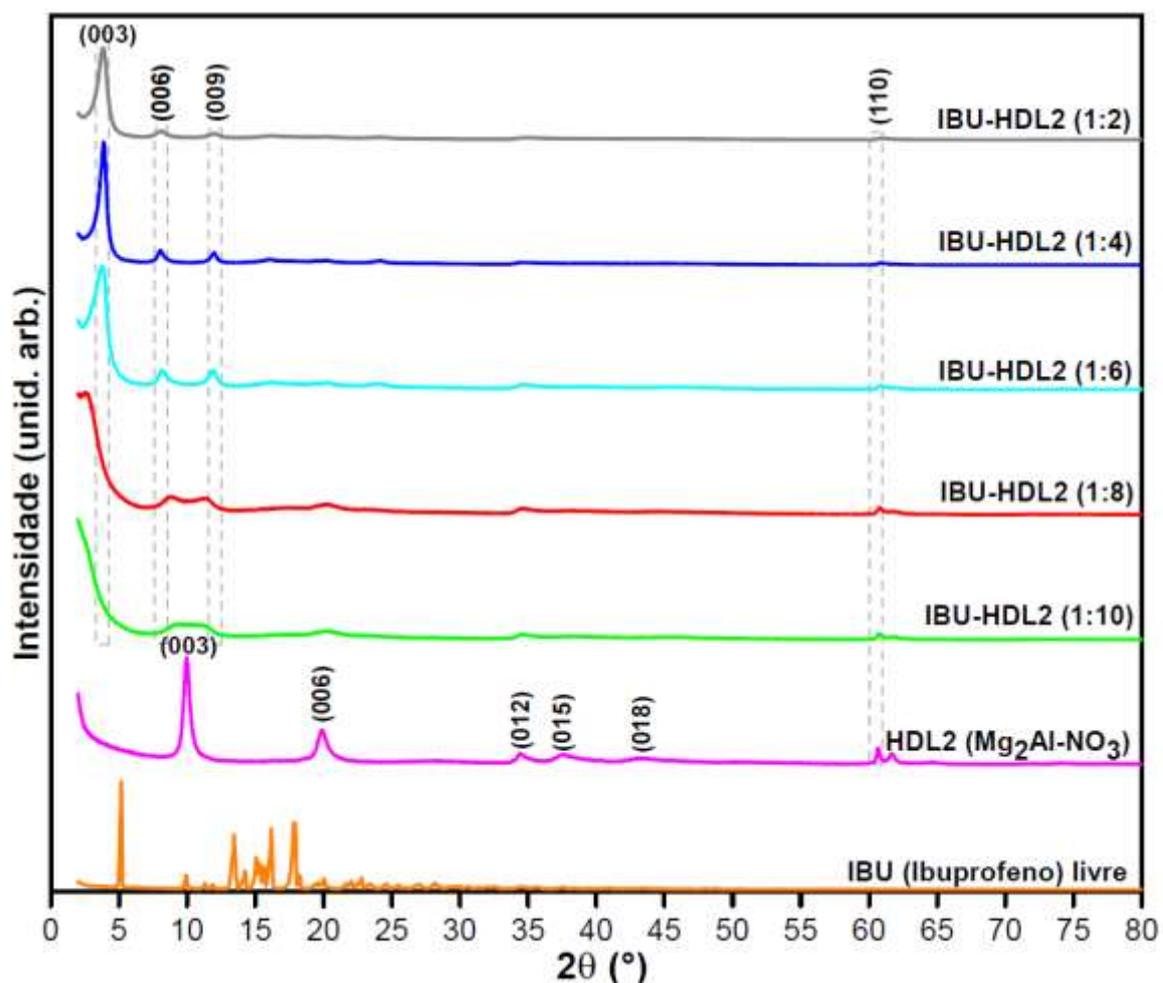


Figura 26. Difrátogramas de raios X do IBU (Ibuprofeno) livre, HDL2 (Mg_2Al-NO_3) puro e dos híbridos IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10.

Os padrões de DRX do pó para as amostras híbridas IBU-HDL2 também são ilustrados na Figura 26, onde o ibuprofeno (IBU) puro foi intercalado em diferentes razões de massa entre o fármaco e o HDL2, gerando várias amostras híbridas de IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10 (g/g), confirmado por uma série de difrações basais a ângulo 2θ baixo, por exemplo, $d_{(003)}$, $d_{(006)}$ e $d_{(009)}$, os quais são característicos da intercalação do IBU em HDL (Ambrogi et al., 2001; Ay et al., 2009; Gu et al., 2014; Gunawan, Xu, 2008; Huang; Zhang; Pan, 2011; Parello; Rojas; Giacomelli, 2010).

Os planos das difrações (003), (006) e (009) indicam que o material sintetizado apresenta simetria romboédrica, pois o valor obtido para o parâmetro c é três vezes o espaçamento basal ($3 \times 8,89 \text{ \AA} = 26,67\text{\AA}$). Também, através da intensidade e largura dos picos é possível observar que as amostras 1:2, 1:4 e 1:6 apresentam bom ordenamento cristalino quanto ao empilhamento das lamelas. Em geral, para essas três amostras não houve uma variação significativa nos parâmetros da célula unitária a e c , porém mudanças significativas ocorre no parâmetro c para as amostras 1:8 e 1:10, observado pelo aumenta na razão de massa total entre o fármaco e o HDL representados na Tabela 6.

Tabela 6. Informações cristalográficas extraídas a partir do drx das amostras. * d e * t são valores médios.

Amostras	* $d_{(003)}$ (Å)	* t (Å)	c (Å)	a (Å)	d_c (e/nm ²)
HDL2 (MgAl-NO ₃)	8,89	137,29	26,67	3,048	4,102
IBU-HDL2 1:10	27,06	68,65	81,19	3,048	4,102
IBU-HDL2 1:8	25,19	48,38	75,58	3,046	4,107
IBU-HDL2 1:6	22,25	103,96	66,75	3,044	4,112
IBU-HDL2 1:4	22,23	159,24	66,71	3,042	4,117
IBU-HDL2 1:2	22,25	98,47	66,75	3,038	4,128

Fatores que podem causar diminuição nos parâmetros da célula unitária são as interações eletrostáticas entre os cátions, os quais possuem densidades eletrônicas diferentes e interagem com os íons hidroxílicos dentro de uma mesma região lamelar octaédrica (Han et al., 1998).

Os parâmetros de rede a e c foram obtidos usando as equações 7 e 8 (Cavani; Trifirò; Vacarri, 1991; Wang, 2012), para o espaçamento basal médio (d_{003}) foi usado a equação 9 (Gerds et al., 2012; Gu et al. 2014; Tronto et al., 2013), e o tamanho e número de camada foram obtidos usando as equações 10 e 11 (Waseda; Matsubara; Shinoda, 2011). Os resultados desses cálculos estão representados na Tabela 6 (ver Tabela All2 no apêndice), onde é observado que as amostras 1:2, 1:4 e 1:6 apresentam valores médios de $d_{(003)}$ entre 22,23 Å a 22,25 Å. Para as amostras 1:8 e 1:10 os valores foram 25,19 Å e 27,06 Å, respectivamente. Os valores do espaçamento basal médio $d_{(003)}$ das amostras 1:2, 1:4 e 1:6 estão dentro de uma faixa de valores apresentados na literatura para complexo de IBU-HDL (Alcântara et al., 2010; Ambroggi et al., 2001; Ay et al., 2009; Gunawan; Xu, 2008; Huang; Zhang; Pan, 2011; Lu et al., 2013; Parello; Rojas; Giacomelli, 2010; Rojas et al., 2012).

Para Conterosito e colaboradores a intercalação do IBU é mais complicada, uma vez que prossegue em duas etapas (Conterosito et al., 2013). Para material de fase única, considerado produto formado, seria estável e apresentaria baixo valor de espaçamento basal, tais como 2,22 nm das amostras 1:2, 1:4 e 1:6, os quais estão em concordância com 2,17 nm reportado na literatura (Ambroggi et al., 2001; Conterosito et al., 2013). Já materiais com fase intermediária apresenta elevado valor de espaçamento basal e picos com ângulos baixos, exemplo da amostra 1:10, com $d_{(003)}$ médio de 2,70 nm e ângulo baixo, $2,360^\circ$ (ver Tabela All2 no apêndice). Essas características também foram observadas por Williams e O'Hare (2006) para a intercalação do ibuprofeno em Ni/Al-LDH-Cl. HDL com fase intermediária consiste de várias situações, como diferente grau de intercalação (Conterosito et al., 2013; Williams; O'Hare, 2006), deformação das lamelas (Li et al., 2008) e inclinação das moléculas orgânicas (Mohanambe; Vasudevan, 2005; Rojas et al., 2012), indicando que estas estruturas são metaestáveis (Williams; O'Hare, 2006) e defeituosas, e podem provocar a destruição final dos cristalitos observado no final da reação,

confirmado com aumento no espaçamento basal e, conseqüentemente baixa cristalinidade (Conterosito et al., 2013).

Outra possível explicação também sugerida (Conterosito et al., 2013) é devido à hidrofobicidade do IBU, o qual apresenta baixa solubilidade em água ($< 1 \text{ mg mL}^{-1}$), com possibilidade de formação de IBU dímeros que não são ânions e não podem ligar-se nas lamelas, provocando assim uma maior desestabilização e perda de cristalinidade por desfolhiação das lamelas inorgânicas, indicado pela redução das intensidades e alargamento dos picos (Conterosito et al., 2013).

Usando o método de troca iônica, Alcântara e colaboradores demonstraram que até três dias há intercalação do IBU no HDL de Mg e Al com fase intermediária, porém a completa intercalação é alcançada após sete dias de reação, confirmada pelo baixo valor do espaçamento basal, 2,25 nm (Alcântara et al., 2010). Já Iyi e colaboradores apresentaram a intercalação de derivados do azobenzeno em HDL de Mg e Al nas razões 2 e 3 (AzAA/LDH2 e AzAA/LDH3), e também mostraram que esses HDL com elevados valores do espaçamento basal, por exemplo, 3,3 nm como produto intermediário (Iyi; Kurashima; Fujita, 2002). Portanto, os resultados deste trabalho estão corroborando aos dados apresentados na literatura, porém para uma conclusão mais plausível sobre que tipo de produto de intercalação foi obtido nas sínteses será discutido na seção 2.3.6.

A altura média das galerias para as amostras IBU-HDL2 1:2, 1:4 e 1:6 foi 17,4 Å, foi obtido subtraindo o valor do espaçamento basal médio $d_{(003)} = \sim 22,2 \text{ Å}$ menos o valor do empilhamento da lamela octaédrica que é 4,8 Å (Arizaga; Satyanarayana; Wypych, 2007; Newman; Jones, 1998). Considerando que as interações hospedeiro-hóspede são maximizadas na região interlamelar, é provável que os ânions IBU⁻ intercalem com grupos hidrofóbicos próximos uns dos outros e os grupos carboxilato ligados nas galerias adjacentes do HDL em um modo em bicamada, tal como proposto na literatura (Alcântara et al., 2010; Ay et al., 2009; Gu et al., 2014; Khan et al., 2009; Lu et al., 2013) e ilustrado na Figura 41. Além disso, foi usado a equação 2 para calcular a densidade de carga lamelar (d_c) dos metais (M^{2+}/M^{3+}). Os dados obtidos mostram que a (d_c) aumenta suavemente de 4,102 e/nm² para 4,128 e/nm² a partir da amostra IBU-HDL2 1:10 para amostra 1:2 (Tabela 6). Isso pode ser um indicativo da influência do maior número de moléculas de IBU presente no domínio interlamelar do HDL. Conseqüentemente, os valores obtidos para o parâmetro de

rede (a) foi inversamente proporcional à densidade de carga (d_c) (Tabela 6), ou seja, maior valor de (d_c) menor valor de (a), como esperando a partir da equação 2.

2.3.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A presença do ânion nitrato (NO_3^-) foi confirmada pelo espectro no infravermelho do HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3^-$) puro (Figura 27), onde um pico intenso a 1.385 cm^{-1} é atribuído ao modo vibracional ν_3 do nitrato com simetria D_{3h} (Xu; Zeng, 2001a, 2001b). Xu e Zeng demonstraram que esses dois modos de vibrações para o ânion nitrato não são influenciados pela sua quantidade nas camadas dos HDL (Xu; Zeng, 2001b). Já o estiramento vibracional da hidroxila $\nu(\text{O} - \text{H})$ foi observado em 3554 cm^{-1} . De acordo com o modelo bastão deitado proposto por (Xu; Zeng, 2001a, 2001b) (ver Figura 5 do HDL de $\text{Mg}/\text{Al} = 2$), os grupos de hidroxilas ligados aos ânions NO_3^- irão apresentar baixo número de onda, por exemplo, em 3.452 cm^{-1} devido à redução na densidade de elétrons na ligação ($\text{O} - \text{H}$) (Labajos; Rives; Ulibarri, 1992) enquanto que às hidroxilas não ligadas apresentam valores elevados, por exemplo, em 3.554 cm^{-1} o que também pode ser atribuído às moléculas de água fisicamente adsorvidas (Xu; Zeng, 2001a, 2001b). Já os grupos ($\text{O} - \text{H}$) muda para 678 cm^{-1} com um ponto de transição em 625 cm^{-1} (Xu; Zeng, 2001b). O pico em 1.614 cm^{-1} é atribuído às moléculas de água (do modo δ_{HOH}) entre as lamelas dos HDL, o que corroboram com os dados da literatura (Labajos; Rives; Ulibarri, 1992; Rey; Fornes; Rojo, 1992; Xu et al. 2001b). Além disso, foram observados vibrações de rede para as ligações metal-oxigênio em 447 cm^{-1} e 678 cm^{-1} , as quais são características de HDL (Kannan et al., 1995; Labajos; Rives; Ulibarri, 1992).

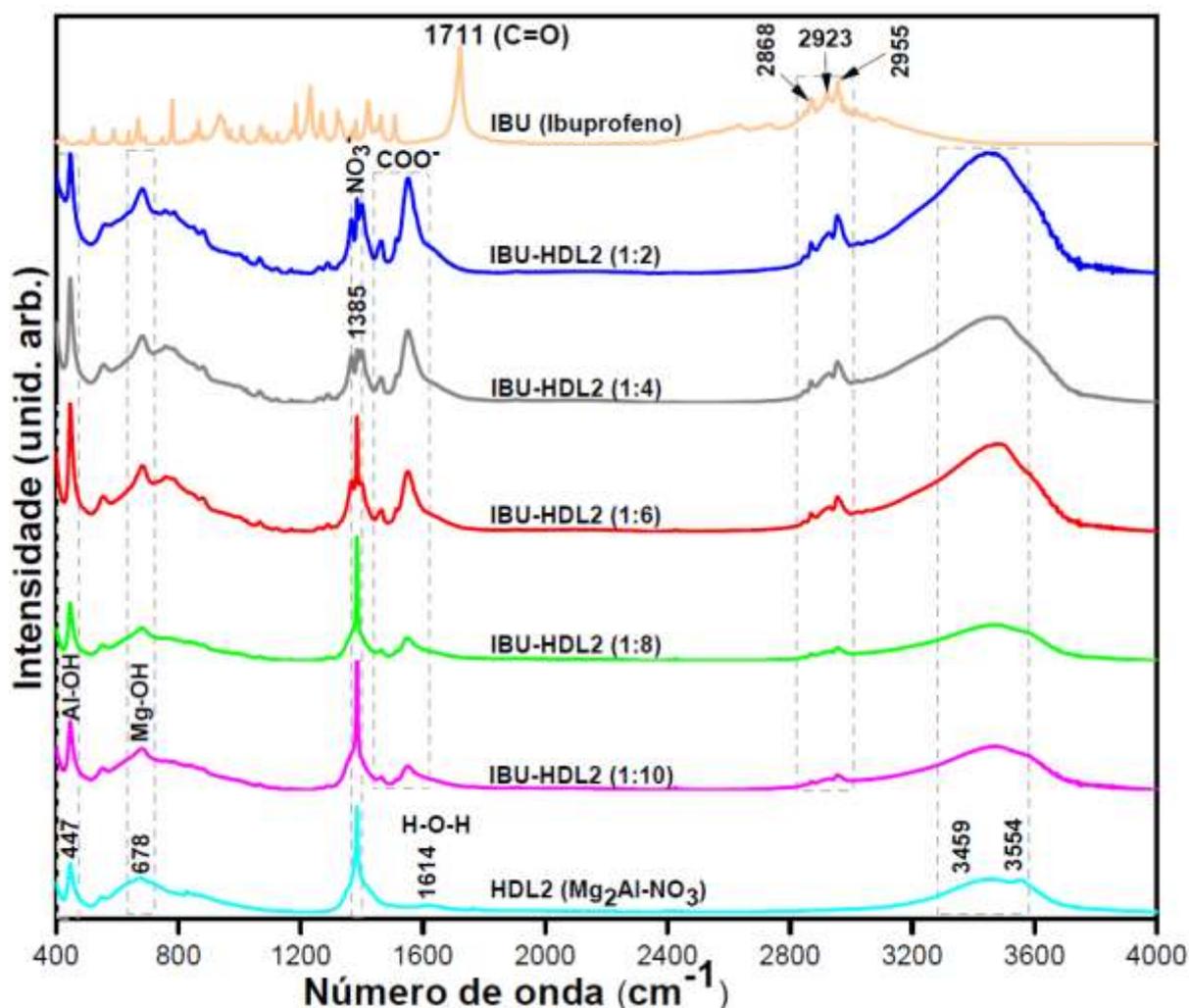


Figura 27. Espectros vibracionais na região do infravermelho para o IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 ($\text{Mg}/\text{Al}-\text{NO}_3^-$) puro e amostras híbridas IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10.

Também na Figura 27 é possível observar que o espectro na região do infravermelho mostra uma banda acentuada em 1711 cm^{-1} atribuído ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{O})$ do IBU livre. Essa vibração muda após a intercalação do IBU nas lamelas do HDL para um modo assimétrico $\delta_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$ entre 1.550 cm^{-1} e 1.554 cm^{-1} e um modo simétrico $\delta_{\text{s}}(\text{C}=\text{O})$ em 1.400 cm^{-1} . Esses modos vibracionais de frequência mais baixo em comparação à banda correspondente do IBU livre (em 1.711 cm^{-1}) é devido às fortes interações eletrostáticas entre os grupos COO^- do fármaco e as lamelas do HDL (Gu et al., 2014; Lu et al., 2013), confirmando que a espécie intercalada nas lamelas do HDL é o ibuprofeno na sua forma aniônica (IBU^-), que está de acordo com a literatura (Conterosito et al., 2013; Gordijo et al., 2005). Além

disso, fracas bandas em 1.514 cm^{-1} e 1465 cm^{-1} podem ser atribuídas às vibrações do anel aromático da molécula orgânica (Andrade et al., 2000; Etcheverry et al., 2002), assim como os modos de vibrações assimétricas $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ e simétrica $\nu_s(\text{CH}_3)$ observados entre $2.868\text{-}2.870$, $2.923\text{-}2.929$ e 2.955 cm^{-1} respectivamente. Na Tabela 7 são resumidos todos os valores dos modos vibracionais obtidos pela análise no infravermelho das amostras.

A partir das informações obtidas da análise no infravermelho, foi usada a Equação 12 para calcular a substituição dos ânions nitrato (NO_3^-) pelos ânions IBU⁻.

$$\text{IF} = \frac{\text{N}}{(\text{N} + \text{COO} + \text{CH})} \quad (\text{Eq. 12})$$

Na equação 12 o IF é a razão de intensidade do fármaco (IBU), N representa a área de vibração do nitrato (NO_3^-) em 1.385 cm^{-1} e a área em torno de $1.550(4)\text{ cm}^{-1}$ e 1.400 cm^{-1} , os quais correspondem às vibrações assimétricas do grupo carboxilato $-\text{CO}_2^-$ e a área em torno de 1.514 cm^{-1} e 1.465 cm^{-1} atribuídas às vibrações do anel aromático, todos pertencendo ao ibuprofeno. A partir dos dados da equação 12, foi plotado um gráfico (Figura 28) que correlaciona a substituição dos ânions nitrato pelos ânions IBU⁻. A partir desses dados podemos observar claramente que a substituição aniônica segue uma evolução a partir da amostra IBU-HDL2 1:10 para a amostra IBU-HDL2 1:4, a qual é equivalente a amostra IBU-HDL2 1:2. Isto indica uma saturação das moléculas de IBU dentro das galerias interlamelares do HDL. Neste caso, a presença do fármaco (IBU) na solução “mãe” durante o processo de envelhecimento, neste caso, 24 horas, é importante para assegurar um grau máximo da sua intercalação em competição com os ânions inorgânicos (Gunawan; Xu, 2008), neste caso os ânions nitrato (NO_3^-).

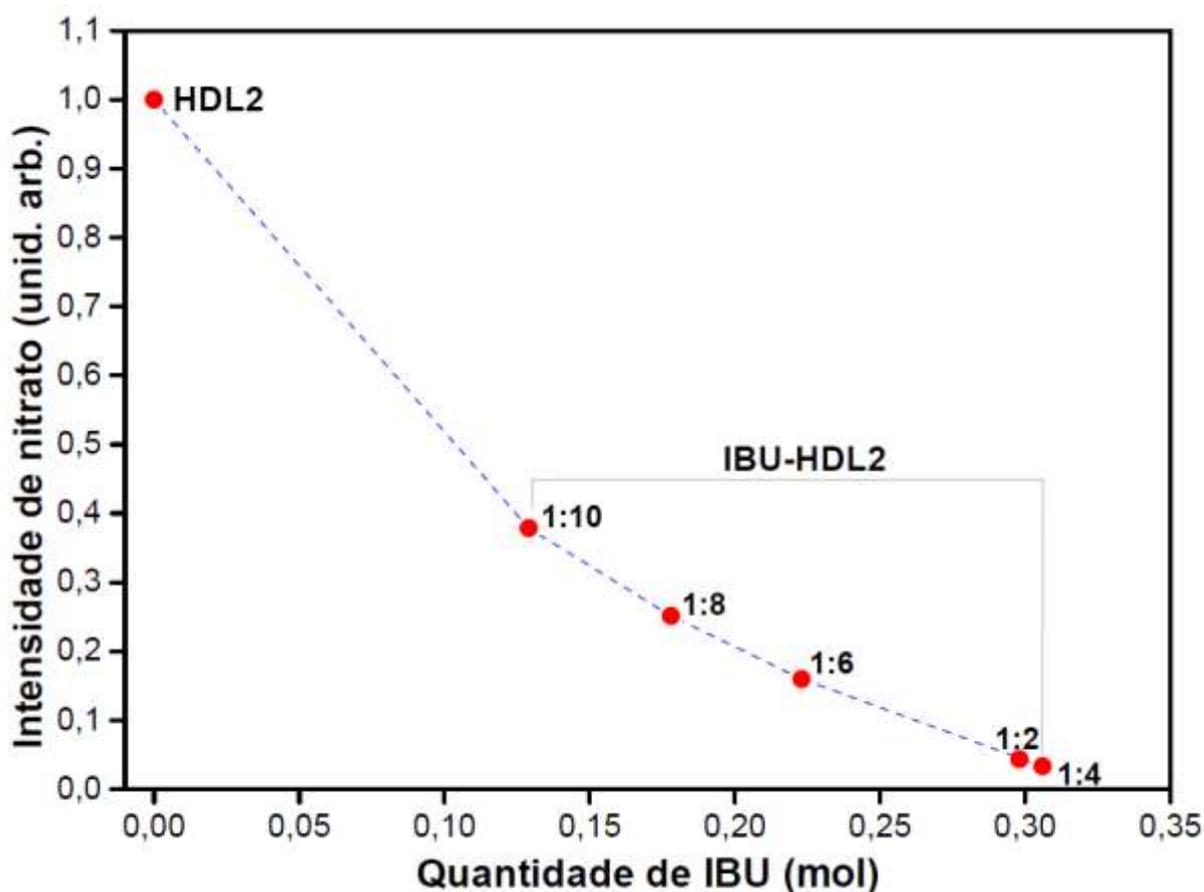


Figura 28. Evolução da intensidade dos ânions nitrato (em u. a.) versus quantidade de IBU (em mol).

2.3.3. Espectroscopia vibracional Raman

A espectroscopia Raman é uma importante técnica no estudo de materiais híbridos, fármaco-HDL (Aisawa et al., 2006; Wu et al., 2014; Zhang; Pan; Duan, 2009), onde informações entre hospedeiro-hóspede pode ser obtido (Zhang et al., 2006). Assim, usamos essa técnica para descrever as características químicas dos HDL sintetizados pelo método de coprecipitação e sustentar os dados obtidos pela análise no infravermelho.

As análises revelaram simetrias D_{3h} do nitrato observado nos espectros de Raman (Figura 29) em 1.060 cm^{-1} (Frost; Weier; Kloprogge, 2003; Kloprogge; Hickey; Frost, 2004). Modos vibracionais para ligação metal-oxigênio $\delta(M-O)$ é observado, por exemplo, em 720 cm^{-1} atribuído ao Al-OH e em 560 cm^{-1} ao Mg-OH (Kloprogge; Hickey; Frost, 2004). Já as bandas entre $3.470\text{--}3.670\text{ cm}^{-1}$ são

atribuídas ao estiramento O-H. Estudo mais preciso sobre os modos de vibrações para moléculas de água em HDL recomenda-se análise por espectroscopia no infravermelho (Frost; Weier; Kloprogge, 2003; Kloprogge; Hickey; Frost, 2004).

Também na Figura 29 é ilustrado espectroscopia Raman dos materiais híbridos, onde modos vibracionais entre 2.800-3.100 cm^{-1} são atribuídos aos grupos metilas (CH_3) do IBU. Vibrações simétricas em 2.867 cm^{-1} e assimétricas em 2.912 cm^{-1} e 2.955 cm^{-1} confirmam a presença do IBU nas lamelas do HDL.

Além disso, a região entre 1.300 e 1.700 cm^{-1} mostra a presença do fármaco sem interferência de banda relacionado ao ânion nitrato (Gordijo et al., 2005). Uma banda acentuada em 1.608 cm^{-1} é atribuída ao estiramento de vibração do anel benzênico do IBU livre. Estiramento assimétrico do grupo COOH a 1.655 cm^{-1} muda para 1.462 cm^{-1} , correspondendo ao C=O do estiramento assimétrico do COO^- . Isto significa que o IBU está intercalado na forma básica (IBU^- , $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_2^-$) no HDL (Mohanambe; Vasudevan, 2005). Outras bandas relacionadas à intercalação do IBU são 1450 cm^{-1} e 1344 cm^{-1} que corresponde às vibrações de alongamento dos grupos CH_2 e C-H, respectivamente (Mohanambe; Vasudevan, 2005).

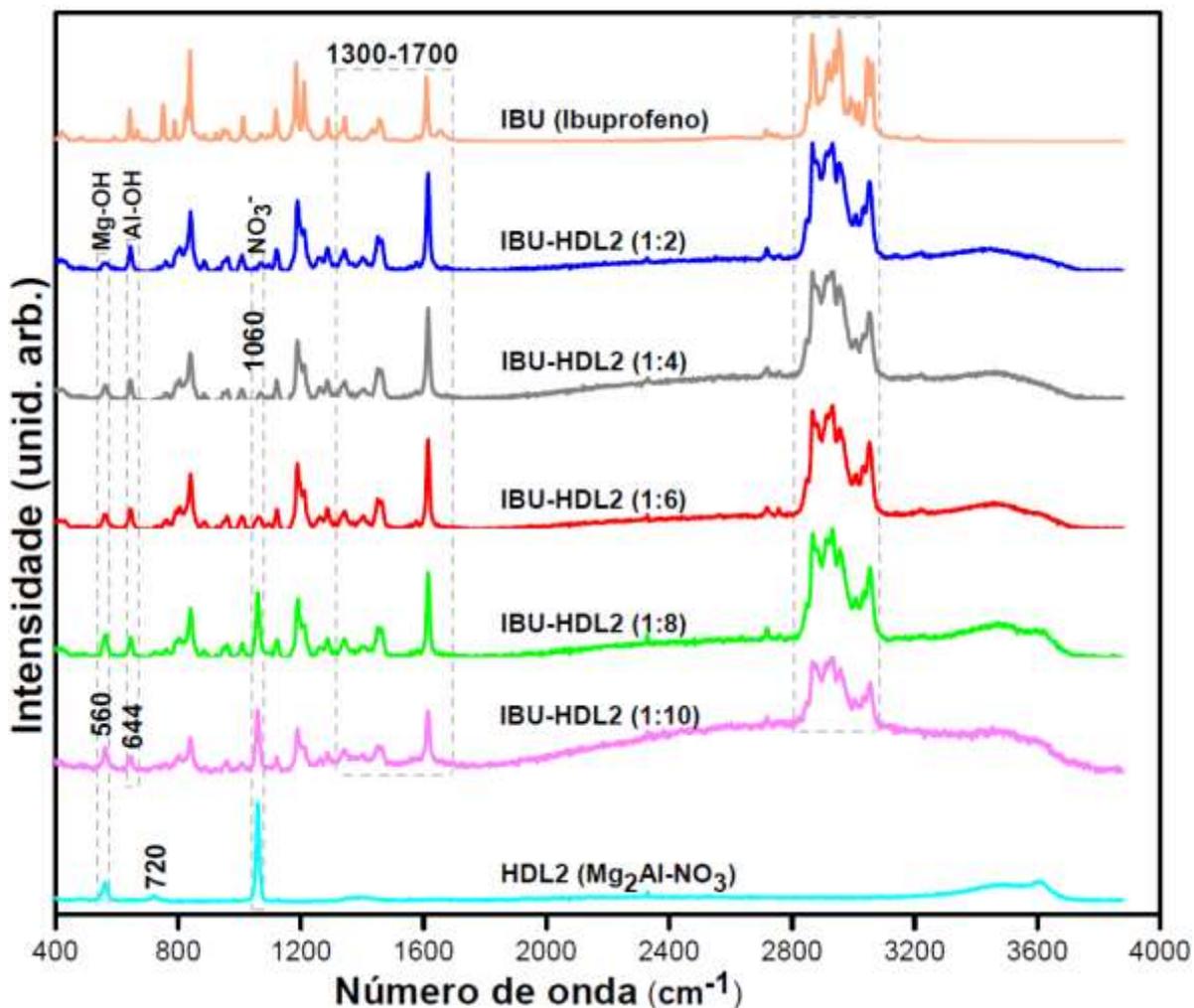


Figura 29. Espectros vibracionais Raman para o IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$) puro e dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10.

A partir da Figura 29 observa-se claramente que a intensidade dos ânions nitrato (NO_3^- , vibração em 1062 cm^{-1}) diminui com o aumento da razão de massa do fármaco intercalado, mostrando a substituição dos ânions nitrato pelos ânions IBU nas lamelas do HDL. Essas observações corroboram com os dados de DRX (Figura 26) e infravermelho (Figuras 28 e 29). Portanto, a análise por espectroscopia Raman foi uma importante ferramenta que corroborou nas interpretações dos dados e confirmou a intercalação bem sucedida do fármaco nas lamelas do HDL2. Todos os valores das vibrações encontrados nas amostras estão resumidos na Tabela 7.

Tabela 7. Espectros vibracionais de Raman e Infravermelho atribuído ao Ibuprofeno (IBU) livre, dos HDL puros e aos híbridos IBU-HDL.

Raman (cm ⁻¹)			Infravermelho (cm ⁻¹)			Estiramentos
IBU livre	HDL	IBU-HDL	IBU livre	HDL	IBU-HDL	
2.953		2.955	2.955		2.955	Estiramento assimétrico CH ₃
2.912		2.912	2.923		2.929	Estiramento assimétrico CH ₂
2.865		2.867	2.868		2.868	Estiramento simétrico CH ₃
1.608; 1.575		1.575; 1.615	1.462; 1.508		1.464; 1.514	Estiramento do anel benzênico C=C
1.655			1.711			Estiramento assimétrico C=O do COOH
		1.462			1.550(4)	Estiramento assimétrico C=O do COO ⁻
1.452		1.450				Estiramento CH ₂
1.340		1.344				Estiramento C-H
	562; 722	564; 644		447; 678	447; 678	Estiramento Metal-OH da lamela do HDL
	1.060	1.060		1.385	1.385	Estiramento NO ₃ ⁻
	3.464; 3.608	3.445		3.455; 3.554	3.454	Estiramento O-H
				1.614		Estiramento H-O-H

2.3.4. Análises termogravimétricas

Vários trabalhos na literatura têm usado a análise termogravimétrica (TG) como técnica para analisar o comportamento térmico das substâncias antes e após a intercalação nos HDL, uma vez que esses materiais inorgânicos proporcionam maior estabilidade térmica às moléculas orgânicas após a intercalação. Assim, usamos a análise termogravimétrica para o ibuprofeno (IBU) livre, onde o perfil de TG/DSC obtido exibiu um pico endotérmico em 74,5 °C na curva de DSC, a qual aparece a partir do processo de fusão da molécula de IBU e a completa decomposição térmica, ou seja, cem por cento (100%) da perda de massa foi alcançado em 258,4 °C, com um pico exotérmico em 170,8 °C ilustrado na Figura 30. Nestas análises, os perfis e valores obtidos para o IBU livre corroboram com os dados apresentados na literatura para essa molécula (Ay et al., 2009; Wang et al., 2010).

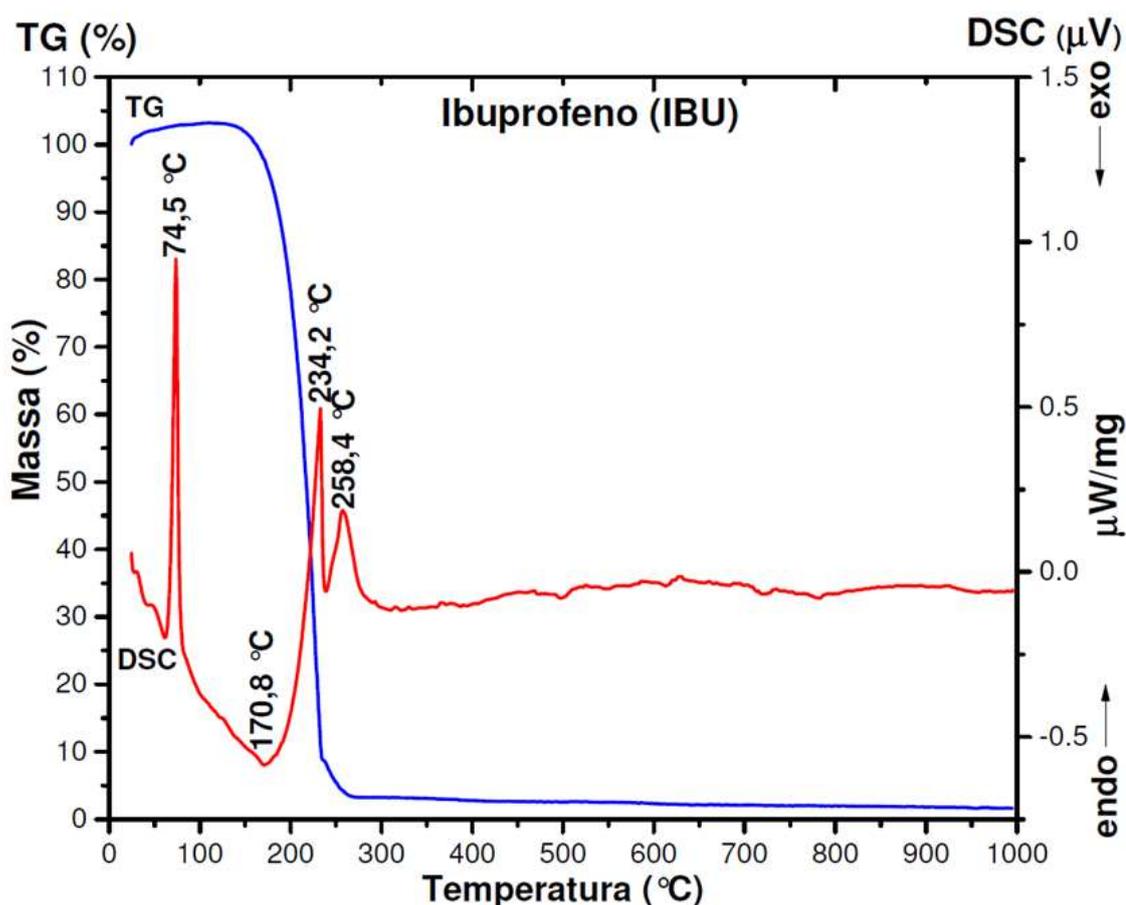


Figura 30. Curvas TG/DSC do Ibuprofeno (IBU) livre.

A decomposição térmica para o HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3^-$) puro geralmente procede através de três passos típicos (Xu; Zeng, 2001b): (i) dessorção das moléculas de água fisicamente adsorvidas e água parcial intercalada em temperatura entre 50 °C e 150 °C, (ii) desidroxilação das lamelas entre 300 °C e 380 °C e (iii) remoção dos íons nitratos interlamelares entre 360 °C e 540 °C, como ilustrado na Figura 31.

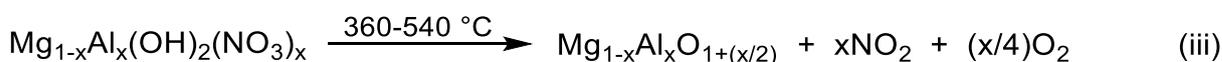
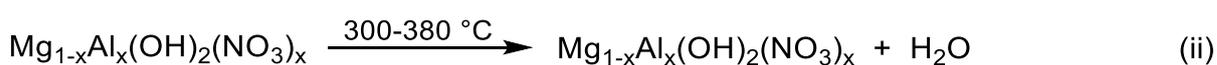


Figura 31. Esquema da via de decomposição térmica do HDL de nitrato, HDL-NO_3^- . Adaptado de Xu (2001b).

Esses eventos são observados, por exemplo, para a decomposição térmica do HDL2 (MgAl-NO_3), no qual a degradação ocorre em várias etapas, tais como as descritas na Figura 31, onde a destruição lamelar do HDL é alcançada em aproximadamente 483,7 °C, com 48,81% de perda de massa e formação dos óxidos dos metais Mg e Al, onde o intervalo de temperatura para estas etapas inicia-se a partir da temperatura ambiente até aproximadamente 600 °C, como ilustrado na Figura 32 nas curvas de análises térmicas TG/DSC desse HDL.

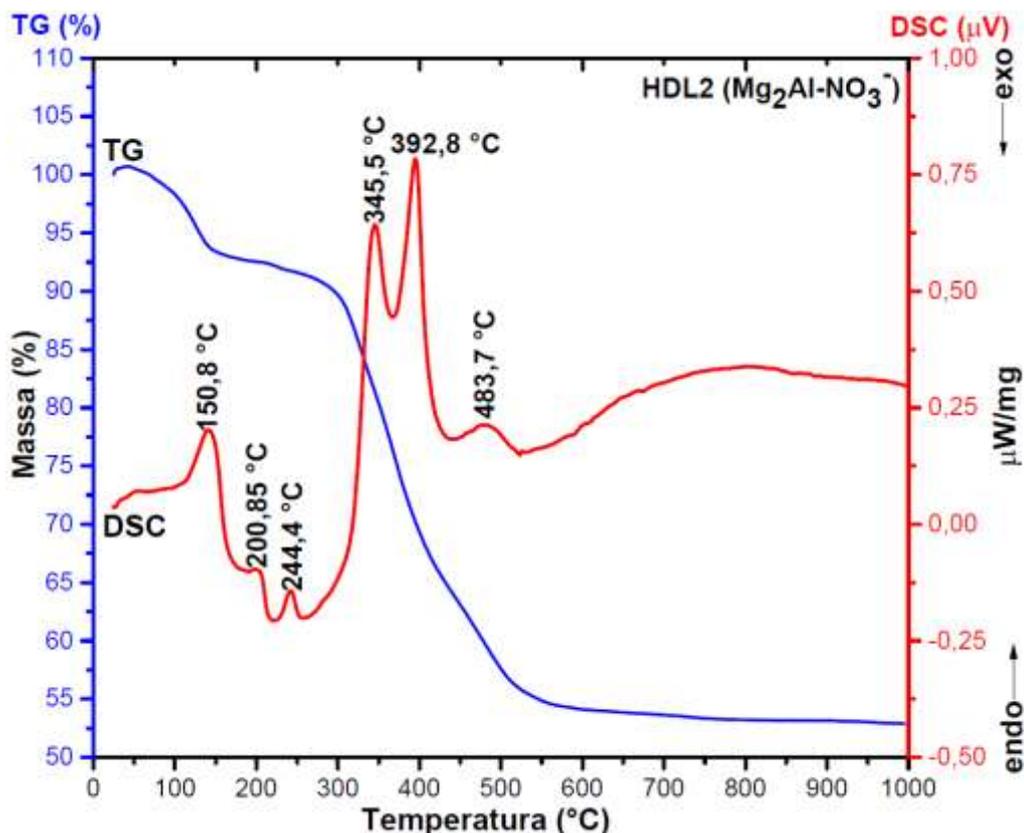


Figura 32. Curvas TG/DSC do HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3$) puro.

Para os materiais híbridos (IBU-HDL) ilustrados na Figura 33a-f, o valor médio da perda de massa foi 7,5% em temperatura entre 20 °C e 150 °C, com largos picos endotérmicos que foram relacionados à perda de água (H_2O). A perda de peso com valores entre 33,5% e 39% na temperatura entre 150 °C e 300 °C, com picos exotérmicos entre 248 °C e 253 °C foi induzida principalmente pela decomposição do anel aromático da molécula orgânica (ibuprofeno), como descrito na literatura (Ay et al., 2009). Dois intensos picos exotérmicos entre 330 °C e 540 °C são correspondentes à decomposição das espécies derivadas do IBU (Gordijo et al., 2005). Comparando com a temperatura de decomposição de 195 °C do IBU livre (Figura 30), podemos concluir que a estabilidade térmica da molécula de IBU intercalada é significativamente aumentada, o que corrobora com dados da literatura (Ay et al., 2009). Além disso, os intensos picos exotérmicos exibidos em um intervalo de temperatura de 500,0 °C a 540,0 °C confirma a completa decomposição térmica. Esses resultados mostram que o HDL promove um aumento na estabilidade térmica para as moléculas orgânicas, como ilustrado na Figura 34.

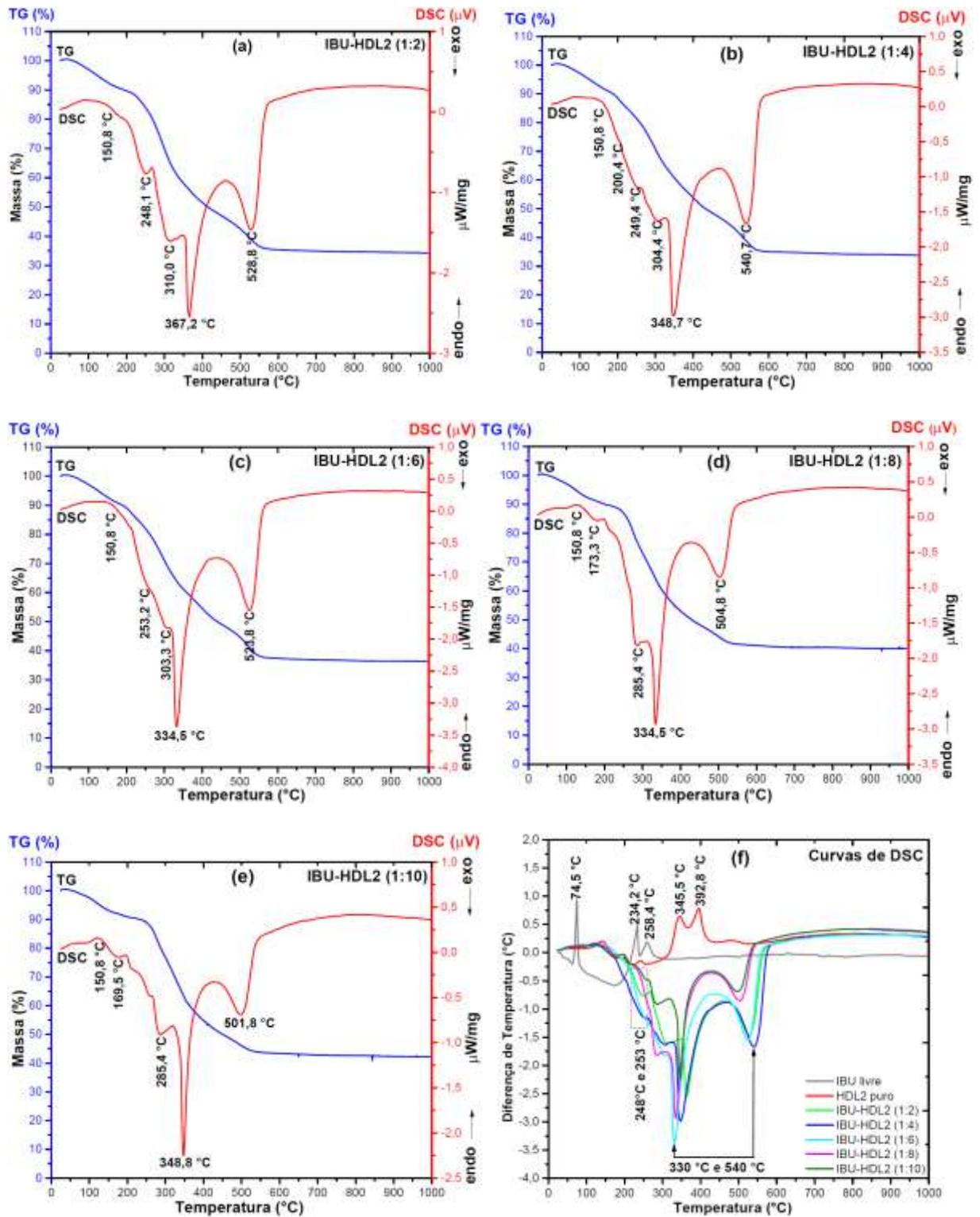


Figura 33. Curvas TG/DSC dos materiais híbridos. IBU-HDL2 1:2 (a), 1:4 (b), 1:6 (c), 1:8 (d), 1:10 (e) e (f) curvas DSC para todas as amostras.

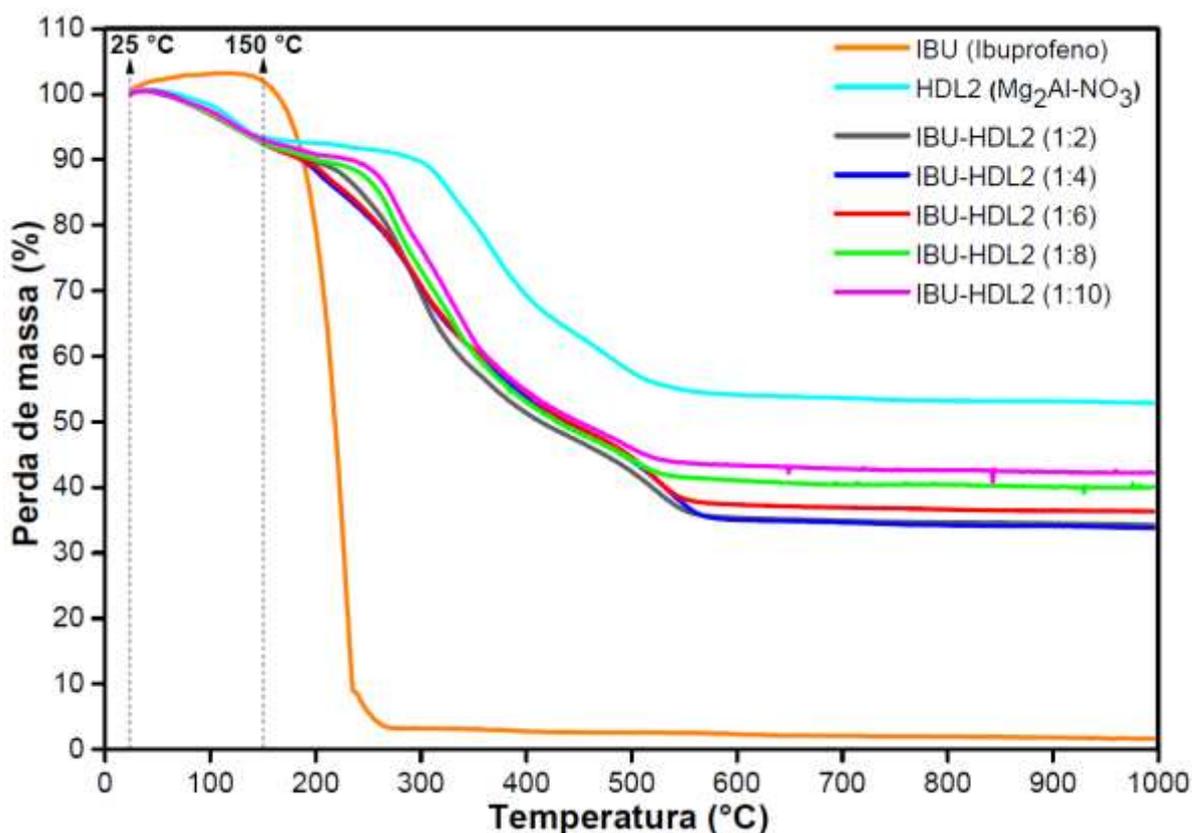


Figura 34. Curvas TG/DSC das amostras. IBU (ibuprofeno) livre, HDL2 (MgAl-NO₃) puro, dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10.

As perdas de massa das amostras IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10 foram obtidas, considerando as medidas de temperatura de 25 °C a 900 °C e os valores são dados na Tabela 9. É possível observar que o aumento em perda de massa é proporcional à quantidade de massa do IBU intercalado no HDL, onde os valores máximo obtidos foram 66,96% e 67,34% para as amostras IBU-HDL2 1:2 e 1:4, respectivamente. Isso indica um provável limite de substituição dos ânions nitrato pelos ânions IBU nas galerias do HDL. Além disso, a maior estabilidade térmica observado para o material híbrido foi na amostra IBU-HDL2 1:10 (ver Figura 34), talvez seja devido às efetivas ligações de hidrogênio dos ânions NO₃⁻ que podem interagir com as lamelas do HDL (Ay et al., 2009).

A partir dos dados da análise termogravimétrica, foi usado a equação 13 para obter uma aproximação semi-quantitativa da quantidade do IBU presente nas lamelas dos HDL e, junto com os dados da quantificação dos metais (Mg e Al)

obtidos via análises de ICP, foi possível propor a composição química das amostras IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10.

Nossa hipótese parte da seguinte ideia, se a substituição dos íons NO_3^- pelos íons IBU^- fosse completa, teríamos como produto da reação, um complexo híbrido $[\text{Mg}_{1-x}\text{Al}_x(\text{OH})_x](\text{IBU}^-)_x$, tal como representado pela equação reação a seguir.

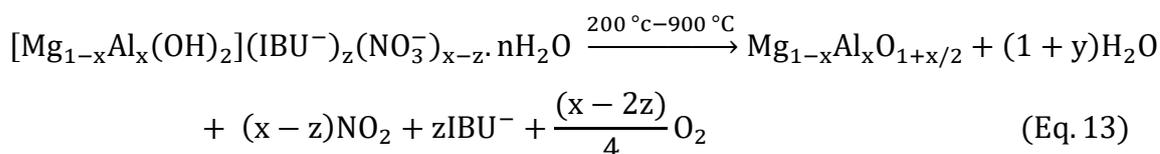


Entretanto, baseando-se nos resultados da difração de raios X (DRX), espectros vibracionais no infravermelho (IR) e Raman, à substituição dos íons nitrato (NO_3^-) pelos íons ibuprofeno (IBU^-) não ocorre via completa substituição, ou seja, cem por cento (100%) da troca aniônica. Neste caso, o produto formado seria um complexo com fórmula química, tal como representado a seguir, o qual está em plena concordância com dados da literatura (Lu et al., 2013).



Onde o z representa a quantidade de íons IBU^- , x a fração molar dos cátions ($\text{Al}^{3+}/\text{Mg}^{2+}$) e n a quantidade de água presente no produto formado. O valor de n para as amostras foram considerados aproximados, pois de 25 °C até 150 °C foi considerado que houve apenas a remoção de moléculas de água (veja o detalhe na Figura 34).

A quantidade de ibuprofeno (z) foi obtido usando a Equação 14, baseando-se nos produtos, $(x - z)\text{NO}_2 + z\text{IBU}^- + \frac{(x-2z)}{4}\text{O}_2$, da decomposição do complexo IBU-HDL representado na Equação 13, considerando o intervalo de temperatura entre 200 °C a 900 °C.



$$z = \frac{\delta \cdot \left((1 - x)M_{\text{Mg}} + xM_{\text{Al}} + 2M_{\text{OH}} \right) - (1 + (1 - \delta)_y)M_{\text{H}_2\text{O}} - (1 - \delta)_x M_{\text{NO}_2} - xM_{\text{O}}(\delta - 0,5)}{(1 - \delta) \cdot (M_{\text{IBU}} - M_{\text{NO}_3})} \quad (\text{Eq. 14})$$

Na Equação 14, δ representa a fração em perda de massa para cada amostra, M a massa atômica (em unidade de massa atômica, u.a.) para: Mg = 24,305, Al = 26,981539, N = 14,0067, O = 15,9994, H = 1,00794 e massa molecular (em g mol^{-1}) do ibuprofeno (IBU) = 206,28. A equação 14 foi obtida após alguns rearranjos matemáticos e os valores dos ânions nitrato (NO_3^-) e ibuprofeno (IBU^-) obtidos, são apresentados na Tabela 8.

Com base nas análises termogravimétricas (TG/DSC) e espectroscopia de massa atômica (ICP), assumindo que os íons ibuprofeno (IBU^-) substituem os íons nitrato (NO_3^-) nos compostos intercalados e considerando a composição catiônica obtido por ICP, a hidratação e os rendimentos dos compostos intercalados puderam ser calculados. Como pode ser observado na Tabela 8, o rendimento de hidratação é aproximadamente 0,5 moléculas de água por unidade de fórmula, com ligeiras variações de uma amostra para outra. A quantidade de moléculas de IBU intercalado no HDL para os híbridos IBU-HDL 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10, foram 0,31, 0,32, 0,24, 0,17, 0,13, respectivamente, destacando os valores obtidos para as amostras 1:2 e 1:4 as quais são equivalentes ao resultado apresentado por Lu e colaboradores para o complexo IBU-HDL-Mg/Al (Lu et al., 2013). Esses autores usaram outro método de síntese, porém uma razão de massa entre fármaco-HDL foi 1:1 (g/g), e aqui foram usadas as razões fármaco-HDL 1:2 e 1:4 (g/g), ou seja, menor, porém os resultados obtidos foram melhores, considerando às proporções de massa usada.

Tabela 8. Propriedades e composição química das amostras sintetizadas pelo método de coprecipitação.

Amostras	Razão Nominal de IBU	Razão dos Cátions [Al³⁺]/[Mg²⁺][#]	Perda de Massa Total[‡] (%)	Média de IBU %[*]	Composição Química média
HDL2 (Mg/Al-NO ₃)	0	0,48	48,81	0,0	[Mg _{0,68} Al _{0,32} (OH) ₂] ^{0,32+} [(NO ₃) _{0,32} ,0,36H ₂ O] ^{0,32-}
IBU-HDL2 (1:10)	0,15	0,47	59,11	23,8	[Mg _{0,68} Al _{0,32} (OH) ₂] ^{0,32+} [(NO ₃) _{0,19} IBU _{0,13} ,0,48H ₂ O] ^{0,32-}
IBU-HDL2 (1:8)	0,18	0,47	61,34	27,7	[Mg _{0,68} Al _{0,32} (OH) ₂] ^{0,32+} [(NO ₃) _{0,15} IBU _{0,17} ,0,54H ₂ O] ^{0,32-}
IBU-HDL2 (1:6)	0,24	0,48	64,87	35,0	[Mg _{0,68} Al _{0,32} (OH) ₂] ^{0,32+} [(NO ₃) _{0,08} IBU _{0,24} ,0,62H ₂ O] ^{0,32-}
IBU-HDL2 (1:4)	0,36	0,49	67,34	47,2	[Mg _{0,67} Al _{0,33} (OH) ₂] ^{0,33+} [(NO ₃) _{0,01} IBU _{0,32} ,0,52H ₂ O] ^{0,33-}
IBU-HDL2 (1:2)	0,72	0,47	66,96	46,5	[Mg _{0,68} Al _{0,32} (OH) ₂] ^{0,32+} [(NO ₃) _{0,01} IBU _{0,31} ,0,49H ₂ O] ^{0,32-}

[#] Razão dos cátions obtido por ICP. [‡]Perda de massa baseado nas análises de TG. ^{*} porcentagem de IBU obtido através das análises de UV-Vis.

2.3.5. Análises no ultravioleta-visível

Os valores de absorvância e os desvios padrões correspondentes a cada concentração da curva analítica de calibração do IBU livre são apresentados na Tabela 9, os quais foram obtidos por um espectrofotômetro na região do UV-visível em um comprimento de onda fixo em 264 nm.

Tabela 9. Valores das absorvâncias do IBU obtidos por espectrofotometria. **Valor médio e *Desvio padrão obtidos em triplicata.

Concentração (g L ⁻¹)**	Absorvância (a. u.)*
0,1003 ± 0,0005	0,1915 ± 0,015
0,2010 ± 0,0010	0,3740 ± 0,018
0,3013 ± 0,0015	0,5541 ± 0,022
0,4020 ± 0,0020	0,7400 ± 0,049
0,5023 ± 0,0025	0,9271 ± 0,014
0,6026 ± 0,0031	1,0878 ± 0,045
0,7033 ± 0,0035	1,2631 ± 0,059
0,8036 ± 0,0040	1,4355 ± 0,063
0,9043 ± 0,0045	1,6015 ± 0,057
1,0046 ± 0,0050	1,8823 ± 0,115

A partir dos espectros obtidos para cada amostra do IBU em diferentes concentrações, é observado que o método foi específico, demonstrando não haver interferência dos solventes, como ilustrado na Figura 35. Além disso, a curva analítica média foi calculada por regressão linear, baseando-se na equação da reta, $y = a + bx$, onde o coeficiente de correlação de Pearson, $r^2 = 0,9981$, mostrou boa linearidade (Figura 35). A partir da curva analítica obtida, podemos inferir que o resultado foi diretamente proporcional à concentração do analito, assim, pode ser utilizado na quantificação do fármaco presente nas lamelas dos HDL.

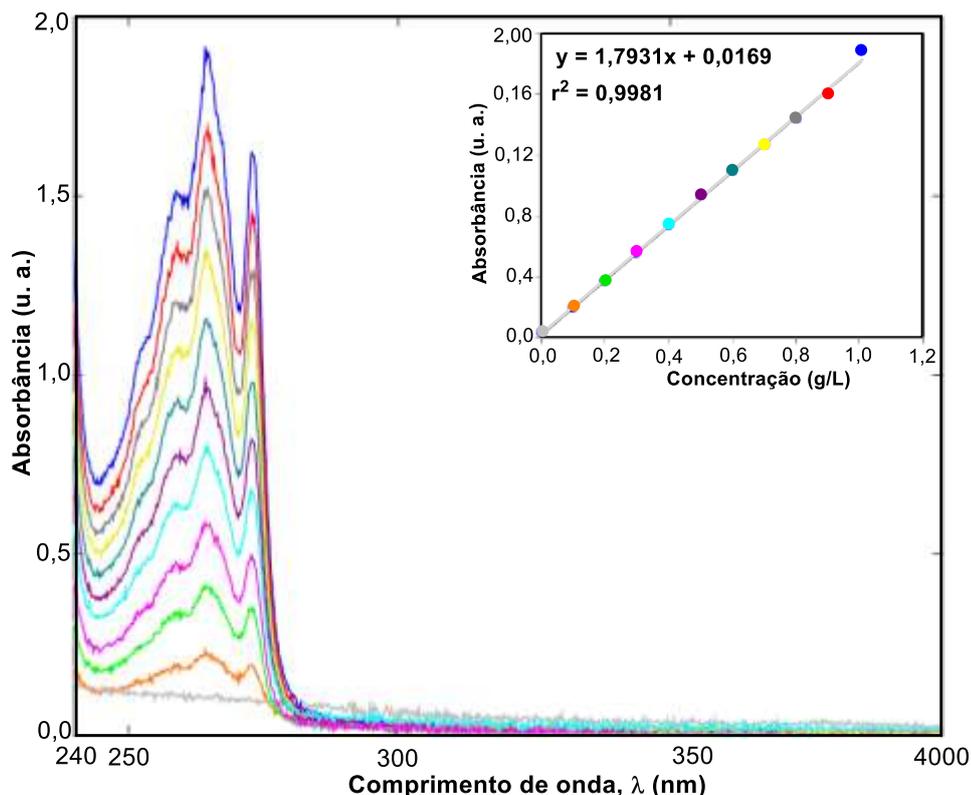


Figure 35. Espectros de absorção e representação gráfica do IBU livre.

Na Figura 36 são ilustrados os espectros de absorção obtidos pelo método espectrofotométrico por UV-vis do ibuprofeno (IBU) livre e HDL2 ($Mg_2Al-NO_3^-$) puro. Após a acidificação das amostras IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10, como descrito seção 2.2.3, foi possível representar graficamente as absorções das moléculas de IBU presente nessas amostras (Figura 36). Nessa figura é possível observar, por exemplo, que na ausência do fármaco, a estrutura do HDL2 não apresenta nenhum processo de absorção, porém mudanças ocorrem na faixa de comprimento de onda entre 245 a 280 nm devido à presença do fármaco (IBU) desintercalado das lamelas inorgânica dos HDL. Tanto na análise qualitativa (espectro) quanto na análise quantitativa (absorção), observa-se que a quantidade de fármaco intercalado aumenta proporcionalmente com o aumento na razão fármaco-HDL. Neste caso, 23,8% de moléculas de IBU intercalado na amostra IBU-HDL2 1:10 e 46,5% e 47,2% para as amostra IBU-HDL2 1:2 e 1:4, respectivamente, mostrando que tais valores são equivalentes. Esses resultados corroboram com os dados apresentados por Ambroggi e colaboradores, onde 50% (g/g) de IBU foi intercalado no HDL de Mg e Al, $Mg_2Al-IBU$ (Ambroggi et al., 2001), aos 31% (g/g) na matriz $(Mg_2Al_{0.95}Eu_{0.05})_{Fe}-(IBU)$

mostrado no trabalho de Wang et al. (2010) e também está na faixa, por exemplo, de 41,9% a 46,5% do IBU intercalado no Mg_2Al -LDH-IBU descrito por Huang et al. (2010). Neste contexto, os dados das amostras IBU-HDL2 1:2 e 1:4 apresentam as condições ideais de razão de massa entre o fármaco e os sais de nitrato de Mg/Al, assim como a razão dos cátions ($Mg^{2+}/Al^{3+}-NO_3^- = 2$) obtidos pelo método simples de coprecipitação, confirmado por diferentes técnicas de caracterização, tais como padrões de drx, análise térmica por termogravimetria, espectroscopia vibracional no infravermelho e Raman e ultravioleta visível, Figura 36 e Tabela 9.

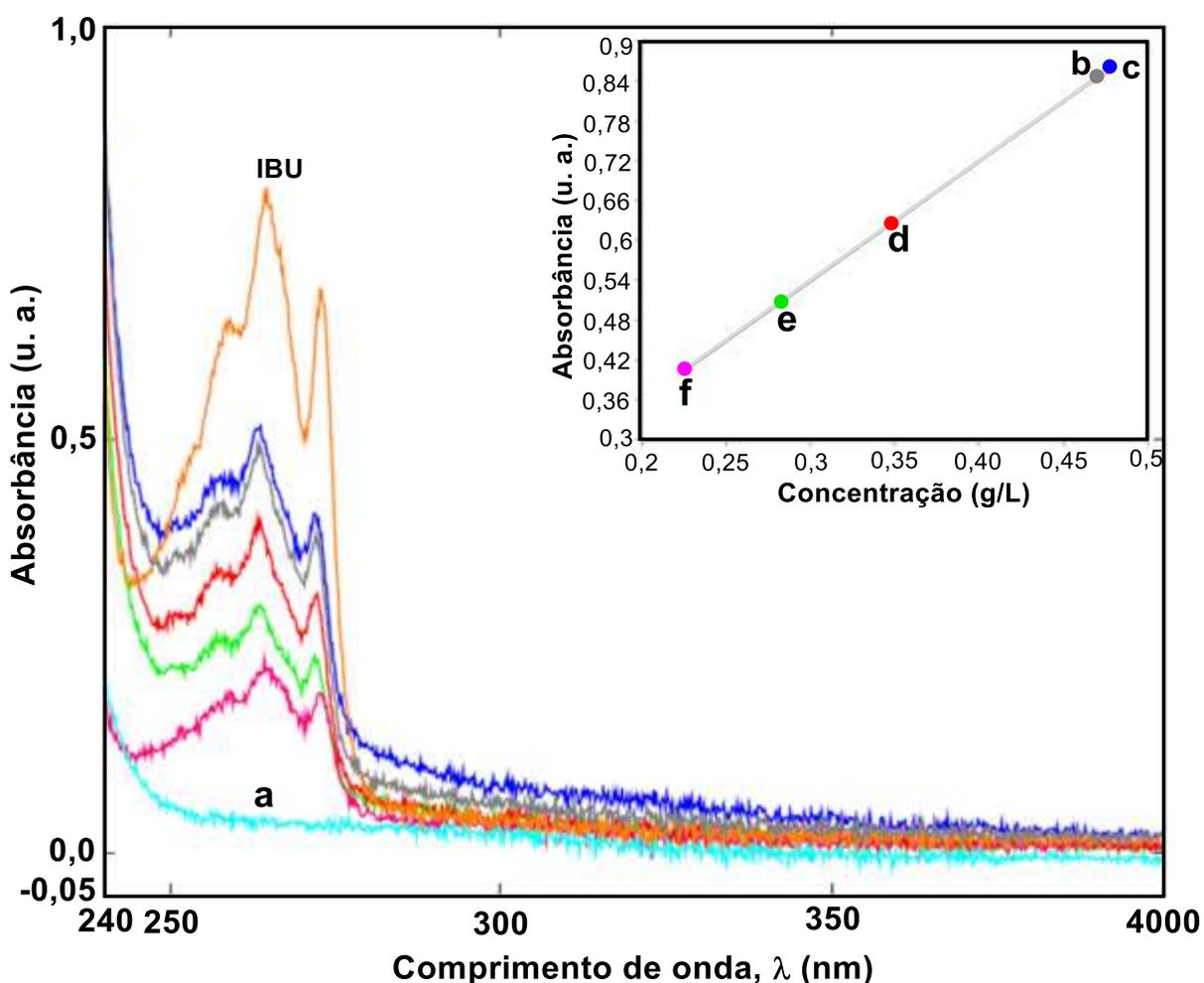


Figura 36. Espectros de absorção e representação gráfica das amostras. Ibuprofeno (IBU) livre, (a) HDL2 (Mg_2Al-NO_3) e dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2 (b), 1:4 (c), 1:6 (d), 1:8 (e) e 1:10 (f).

Utilizando os dados obtidos por ICP, TG e UV-vis, assumindo que os íons ibuprofeno IBU^- substituem os íons nitrato NO_3^- , foi possível relacionar a evolução do rendimento de IBU intercalado em função da razão nominal determinado por essas técnicas. Os dados obtidos exibem uma variação de rendimento de intercalação (em %) como uma função da razão nominal (em mol) do IBU. Estes resultados são representados na Figura 37.

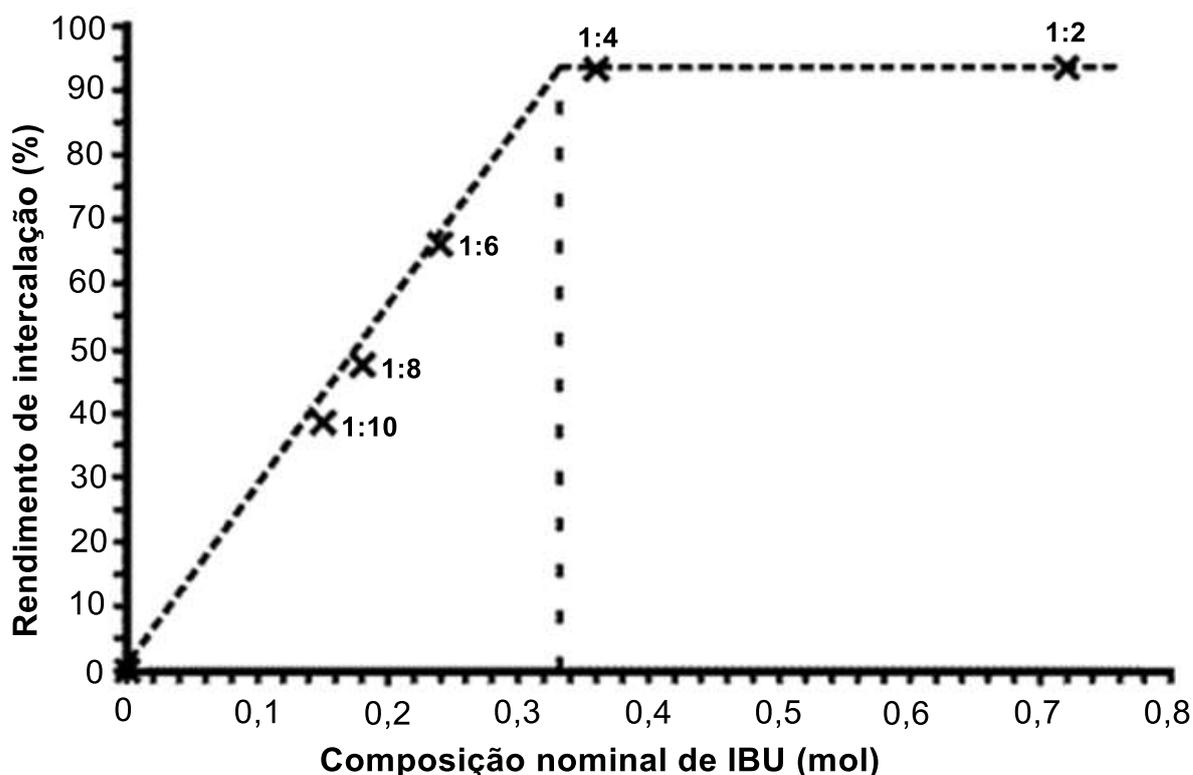


Figura 37. Evolução do rendimento de IBU intercalado em função da razão nominal determinado por ICP, TG e UV-vis.

Podemos observar claramente dois domínios de evolução. De 0,00 até cerca de 0,33, a quantidade de IBU intercalado aumenta linearmente, enquanto que acima de 0,33, é constante e igual a um valor máximo de aproximadamente 94%, indicando a saturação das moléculas de IBU nas galerias interlamelar do HDL foi atingido. Assim, estes resultados demonstram que a via de síntese utilizado neste trabalho permite adaptar a quantidade de IBU intercalado dentro de uma composição de estrutura de HDL quase constante.

2.3.6. Processo de intercalação

Como discutido na seção anterior, as mudanças nos padrões experimentais observado nas amostras com aumento da quantidade de IBU intercalado não corresponde a um aumento contínuo do espaçamento basal. Eles, em vez de disso, existem apenas um número limitado de espaçamentos interlamelar definido, correspondendo à galeria preenchida tanto pelos ânions intercalantes NO_3^- ou IBU^- ou por ambos (a galeria sendo parcialmente ou totalmente preenchido), os quais são misturados e distribuídos com alguns graus de aleatoriedade. Este fenômeno é conhecido como interstratificação (interlayering) e pode prosseguir através de vários esquemas (Lerf, 2014), incluindo: interstratificação aleatória (random interstratification) (esquema Hendricks-Telle), ordenação parcial (partial ordering), fases (staging), isto é, alternância regular das interlamelas e separação (segregation), ver os exemplos na Figura 16. Por exemplo, os ânions intercalantes estão agrupados em domínios completamente discretos. Isto já tem sido observado há bastante tempo em materiais cerâmicos (Brindley; Brown, 1980; Lerf, 2014), incluindo HDL (Pisson et al., 2003), mas a sua caracterização no presente caso dos compostos de IBU-HDL tem recebido atenção limitada, com apenas uma referência nos últimos anos (Conterosito et al., 2013). A fim de esclarecer este ponto e acessar as proporções das lamelas preenchidas por íons IBU^- ou NO_3^- e sua sequência de ordenação, analisamos as reflexões basais dos padrões de DRX em termos de posições, larguras e formas dos perfies. Diferentes métodos para solucionar este problema podem ser encontrado na literatura (Brindley; Brown, 1980; Brigatti; Mottana, 2011). Aqui, consideramos o seguinte modelo simplificado. Os cristalitos do IBU-HDL foram modelados como um empilhamento de lamelas idênticas, isto é, com fator de estrutura idêntica, separadas por apenas dois possíveis espaçamentos interlamelar. Foi assumido que os ânions IBU^- não provocam distorções significativas das lamelas da brucita que é relativamente rígida. Como cada lamela da brucita consiste de duas matrizes hexagonal adjacente de empacotamento fechado de íons hidróxidos com cátions $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ preenchendo todos os espaços octaédricos entre eles, onde foram modelados por 3 camadas lamelas, tal com ilustrado na Figura 3, equidistantes de densidade eletrônica idêntica. Além disso, a estrutura das camadas interlamelares não sendo bem conhecido e a densidade eletrônica sendo baixo, seus fatores estruturais foram simplesmente negligenciado. Esta simplificação afeta

apenas as intensidades relativas dos picos, mas não as posições e formas dos picos. Finalmente, flutuações estatísticas do espaçamento interlamelares e os números de lamelas por cristalitos foram considerados. Para este último, a distribuição de Poisson bem adequada foi usada. De acordo com esse modelo simplificado, a intensidade dispersa correspondente às reflexões basais pode ser escrito como exclusiva da polarização de Lorentz e outros efeitos geométricos ou instrumentais (Warren, 1990) de acordo com a Equação 15:

$$I(s) = F^2 \times \left\{ \bar{N} + 2 \times \sum_{n=1}^{N_{\max}-1} \left(\sum_{N=n+1}^{N_{\max}} p(n)(N-n) \right) \times e^{-2\pi^2 n \delta s^2} \times \langle \cos[2\pi d(n)s] \rangle \right\} \quad (\text{Eq. 15})$$

Na equação 15, $s = 2 \sin(\theta) / \lambda$ é o vetor comprimento de espalhamento com comprimento de onda λ e ângulo de espalhamento 2θ , F é o fator estrutura lamelar, \bar{N} e N_{\max} são respectivamente os números médio e máximo de lamelas por cristalitos, $p(n)$ a função massa de probabilidade de Poisson, δ é a variância das flutuações estatísticas do espaçamento interlamelar, $d(n)$ a distância entre duas enésimo lamelas vizinhas mais próximas. Os termos de fase média entre parênteses foi avaliada utilizando o algoritmo recursivo para fatores de frequência de cálculo proposto por Bethke e Reynolds (1986) para dois tipos de interlamelas e correlações de vizinhos mais próximos, isto é, parâmetros de Reichweite igual a 1.

Os cálculos foram realizados utilizando um programa escrito em linguagem *Python* (Masson, 2014). Os parâmetros de entrada foram \bar{N} , δ , os dois espaçamentos interlamelares, d_A e d_B , para o preenchimento interlamelar com os respectivos íons NO_3^- e IBU^- , a percentagem, P_B , de completo preenchimento com íons IBU^- , e a probabilidade de junção, P_{BB} , de completo preenchimento com íons IBU^- , assim como o seguinte preenchimento intrelamelar com íons IBU^- .

Foram testados vários modelos para simular os possíveis modos de intercalação do IBU nas lamelas do HDL, por exemplo, processo de intercalação por interestratificação, de forma aleatória e também a forma ordenada. Entretanto, as melhores concordâncias entre os dados calculados e o experimental foram sistematicamente obtidos para o modelo de intercalação por interestratificação aleatória, onde os mesmos são plotados nas Figuras 38a-d para as amostras IBU-HDL2 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10, respectivamente.

Todos os cálculos foram realizados utilizando os seguintes parâmetros: $\bar{N} = 8$, $\delta = 0,3 \text{ \AA}^2$, $d_A = 8,5 \text{ \AA}$, $d_B = 22,0 \text{ \AA}$, o qual corresponde as partículas de IBU-HDL que apresentam valores médios de empilhamento entre 10-15 nm. Estes valores usados nos cálculos matemáticos (simulação) foram extraídos a partir dos dados experimentais das análises de difrações de raios X das amostras, onde apenas as proporções das lamelas preenchidas com IBU⁻ foram avaliadas, assim como as adequadamente probabilidades de junção.

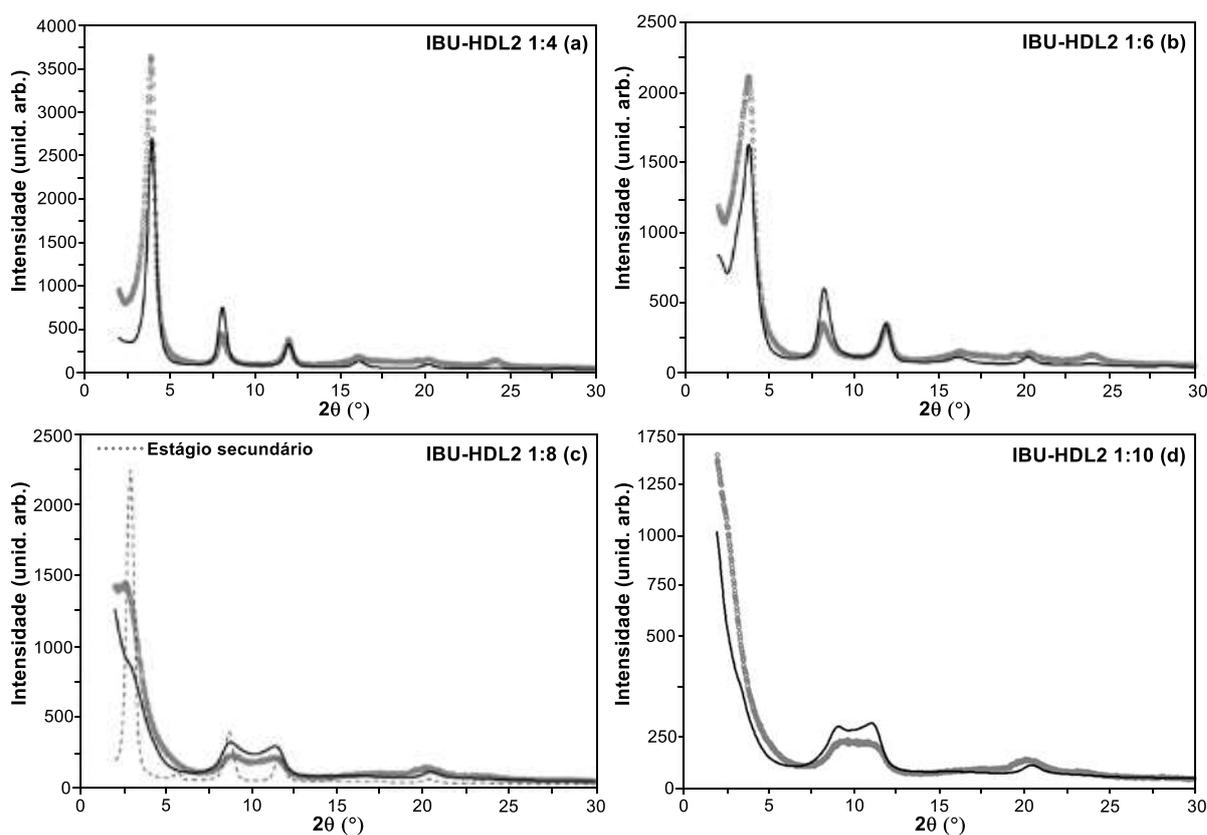


Figura 38. Comparação entre os padrões experimentais das amostras IBU-HDL2 1:4 (a), 1:6 (b), 1:8 (c) e 1:10 (d) e os padrões calculados com o modelo de interestratificação aleatória. Para a amostra IBU-HDL2 1:8 (c), os cálculos obtidos com modelo de estágio secundário é também plotado para comparação, onde as linhas pontilhadas representa o estágio secundário e a linha sólida em negro a interestratificação aleatória.

Os resultados apresentados na Figura 38a-d exibem os perfis dos dados experimental (linhas de cor cinza) e os dados calculados (linhas sólida de cor preto), onde existe concordância entre as posições dos perfis das difrações de raios X das

amostras experimental e calculadas, assim como os perfis das reflexões basais das quatro amostras, as quais são razoavelmente boas. Além disso, as proporções obtidas das lamelas preenchidas pelos ânions IBU⁻ no HDL2 foram 90%, 70%, 40% e 25% para as amostras IBU-HDL2 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10, respectivamente. Comparados com os rendimentos de intercalação experimental de 94%, 66%, 48% e 37% para essas mesmas amostras determinados na seção 2.3.5, são, no geral, consistentes, embora observado algumas discordância com os valores mais baixos, por exemplo, para a amostras IBU-HDL2 1:8 (Figura 38c), onde é comparado os resultados dos cálculos, os quais foram considerados dois processo de intercalação na simulação, um como estágio secundário - intercalação perfeitamente ordenado, e a intercalação por interestratificação aleatória. As simulações mostraram que a intercalação como estágio secundário apresenta um rendimento de intercalação de aproximadamente 50%, porém o perfil de drx simulado não descreve o experimental. Para a interestratificação aleatória, intercalação aleatória, o resultado foi de aproximadamente 40%, apresentando um perfil do espectro de drx bem mais ajustado ao valor experimental, ou seja, uma melhor concordância.

A Tabela 10 resume os valores dos rendimentos de intercalação do ibuprofeno no HDL2, onde esses resultados sugerem que o método de síntese utilizado neste trabalho descreve um enchimento aleatório desse fármaco nas galerias do HDL estudado.

Tabela 10. Quantidade de ibuprofeno intercalado no HDL de Mg/Al = 2, IBU-HDL2. Valores experimental e teórico.

Amostras	Quantidade de IBU Intercalado (%)	
	Experimental	Teórico
IBU-HDL2 (1:4)	94	90
IBU-HDL2 (1:6)	66	70
IBU-HDL2 (1:8)	48	40
IBU-HDL2 (1:10)	37	25

2.3.7. Análises do IBU-HDL por microscopia eletrônica de varredura

Além das técnicas já apresentadas nas seções anteriores, também foi usado análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), com objetivo de avaliar as características morfológicas das amostras sintetizadas. Neste caso, o HDL2 puro e as amostras híbrida IBU-HDL2 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10, onde os resultados desta análise são ilustradas na Figura 39, mostrando que as amostras são muito semelhantes, independentemente da quantidade nominal de IBU na mistura reacional inicial. A imagem sugere um agregado morfológico como “folha”, o qual é esperado para compostos do tipo hidrotalcita (Ambrogi et al., 2001). Esse aspecto de agregado é induzido pela introdução do IBU nas galerias do HDL (Ay et al., 2009; Lu et al., 2013). Além disso, esses materiais híbridos são caracterizados por um tamanho de partícula de aproximadamente 100 nm e uma espessura de alguns nanômetros.

Uma maneira de obter HDL com plaquetas uniformes e menos aglomeradas é usar etilenoglicol como solvente (Gunawan; Xu, 2008; Jiang et al., 2004) ou fazer um tratamento hidrotermal no processo de envelhecimento da amostra (Gu et al. 2014; Gunawan; Xu, 2008; Huang; Zhang; Pan, 2011; Zhang et al., 2014), porém não foi a estratégia deste trabalho.

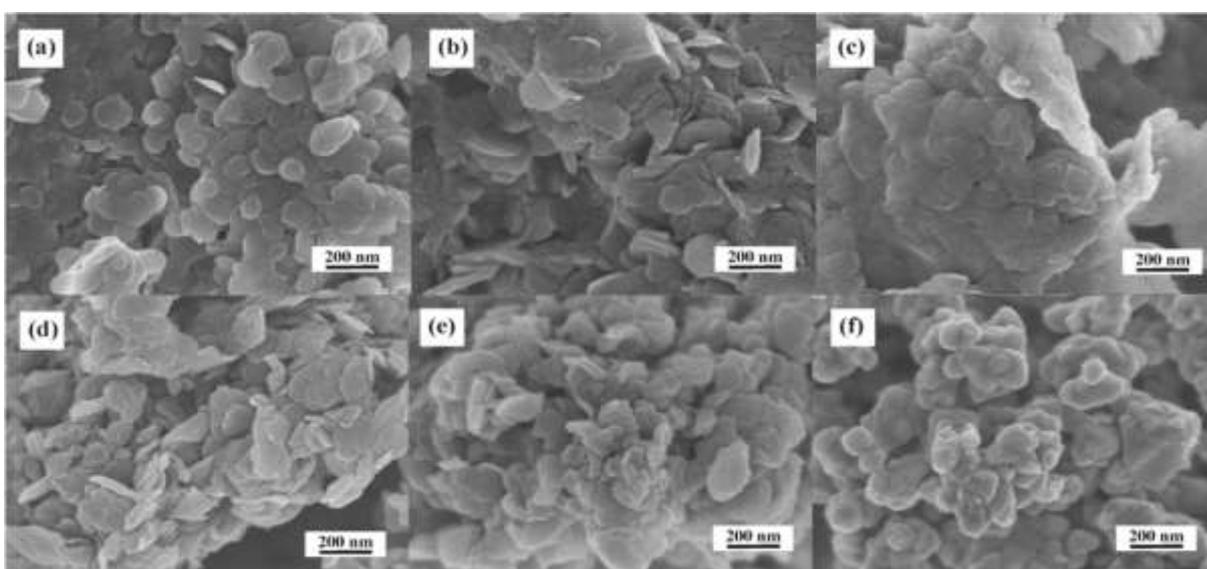


Figura 39. Imagem da microscopia eletrônica de varredura para (a) HDL2 puro e dos materiais híbridos IBU-HDL2 1:2 (b), 1:4 (c), 1:6 (d), 1:8 (e) e 1:10 (f).

Com base nas informações obtidas da literatura (Gu et al. 2014; Lu et al., 2013; Mohanambe; Vasudevan, 2005) e nas diferentes técnicas de caracterização (DRX, Infravermelho, Raman, UV-vis, TG, ICP e MEV) utilizada no presente trabalho, é ilustrado na Figura 40 um esquema de como seria o produto da síntese via coprecipitação do ibuprofeno intercalado no HDL nas amostras deste trabalho.

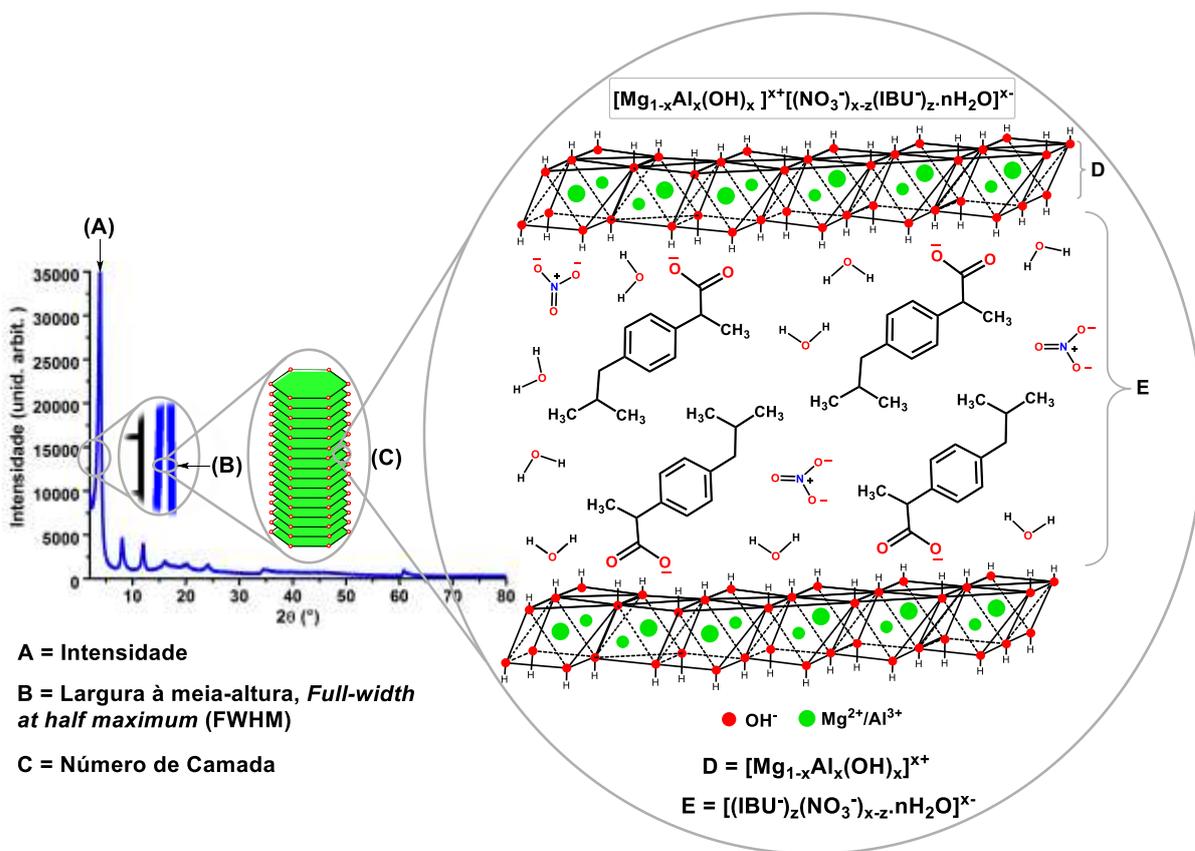


Figura 40. Esquema construído a partir de informações da literatura e dos dados de DRX, IR, Raman, TG, ICP e UV-vis para o complexo IBU-HDL deste trabalho.

2.3.8. Ensaios *in vivo*

Os ensaios *in vivo* foram conduzidos usando as amostras híbridas IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10, contendo, respectivamente, 90%, 70% e 40% de fármaco intercalado. Veja a diferença nos difratogramas dessas amostras na Figura 41.

Como critério de comparação, o estudo também foi realizado com as amostras de IBU (ibuprofeno) e HDL2 ($Mg/Al-NO_3$), ambas puras, com objetivo de checar se os efeitos farmacológicos é uma resposta do fármaco dentro ou fora do

espaço interlamelar dos HDL, tal como sugerido na literatura (Del Arco et al., 2004) Os ensaios foram conduzidos usando modelo de atividade antinoceptivo *in vivo* descrito na literatura (Koster; Anderson; Beer, 1959; Lima et al., 2009).

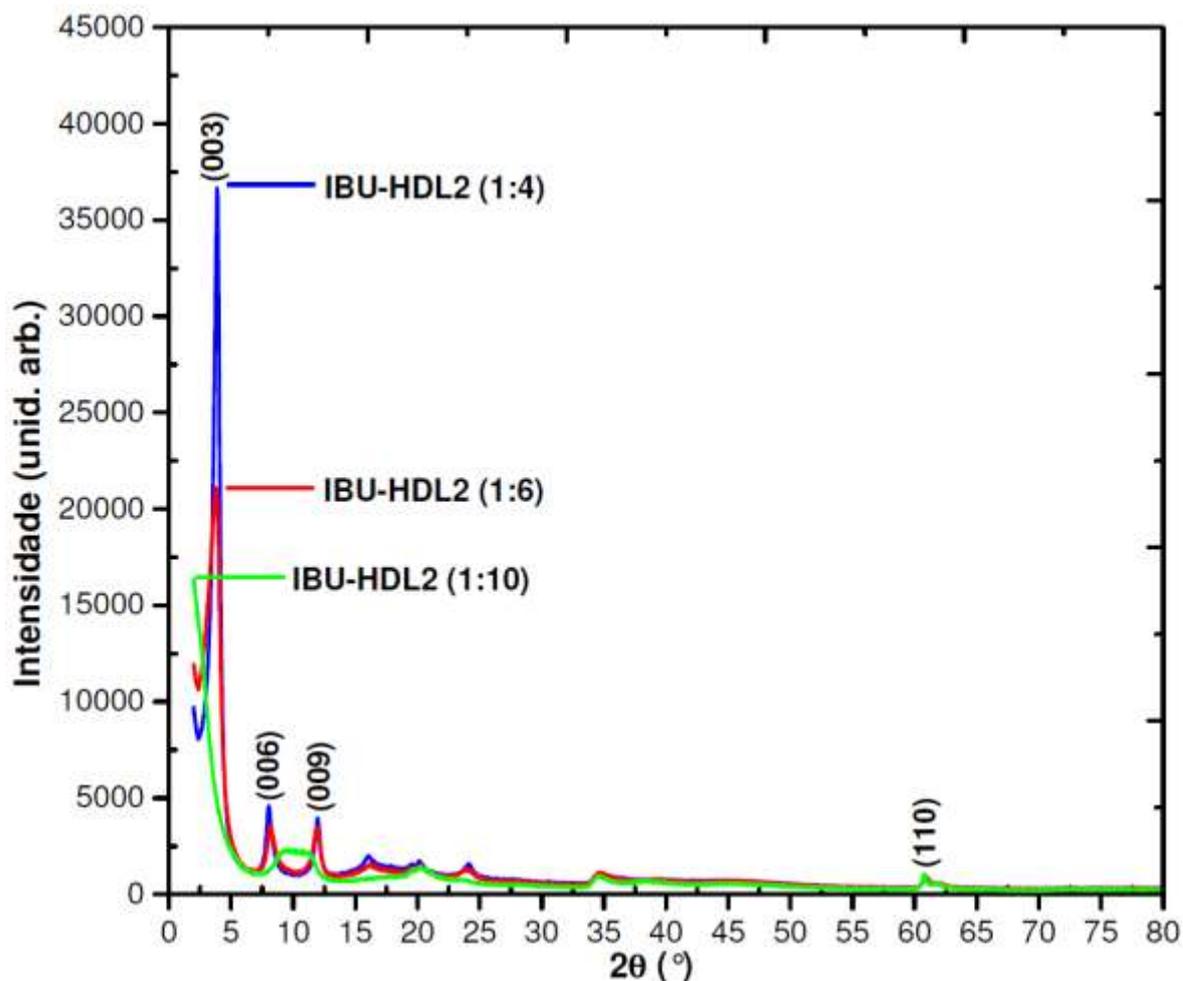


Figura 41. Difratogramas das amostras IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10 usadas nos teste *in vivo* sobre atividade antinoceptiva.

Os resultados dos testes *in vivo* da atividade analgésica são apresentados na Figura 42. A partir dessa figura podemos ver claramente que apenas a amostras do híbrido IBU-HDL presente atividade antinociceptiva após 24 horas. Porém, o número de contorções medido para os camundongos tratados com IBU livre é estatisticamente igual ao medido com veículo ou apenas com o HDL, indicando que IBU livre, sem intercalação não tem efeito depois de 24 horas.

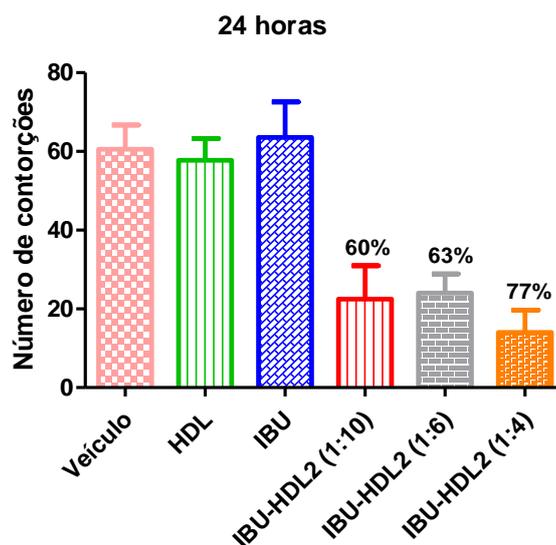


Figura 42. Efeito de contorções induzida em camundongos após 24 horas para o ibuprofeno (IBU) livre, HDL2 (Mg_2Al-NO_3) puro, amostras híbridas IBU-HDL2 1:10, 1:6 e 1:4 e o veículo puro (salina 0,9%). O gráfico de barras representa o número de contorções, expressos como média \pm S.E.M. Os números acima das barras correspondem à percentagem de diminuição do número de contorções em relação ao obtido com o veículo sozinho.

A diminuição das contorções observadas para os camundongos tratados com as amostras de IBU-HDL é significativa, sendo maior do que 60%, mesmo para a amostra com menor rendimento de intercalação. Isto mostra claramente que a intercalação do IBU dentro do HDL tem um grande efeito “retardador” na sua liberação dentro do corpo dos camundongos e que o IBU ainda está eficientemente presente nos camundongos após 24 horas.

Mais surpreendentemente não há diferença estatística significativa entre os efeitos analgésicos das três amostras de IBU-HDL (Figura 42) apesar de seus rendimentos de intercalação muito diferente (ver Tabela 9). Em particular, os 40% intercalados na amostra IBU-HDL 1:10 é quase tão eficaz quanto os 90% para a amostra IBU-HDL2 1:4 “totalmente” intercalado após 24 horas. Este fato é particularmente interessante, uma vez que sugere que a obtenção de uma atividade antinociceptiva de longa duração não necessariamente exigem uma grande quantidade de fármaco intercalado e que a baixa quantidade de IBU intercalado no HDL também pode proporcionar uma atividade biológica eficiente, a qual certamente está relacionada com a diferença da cinética de liberação do IBU entre as amostras

totalmente e não totalmente intercaladas, em particular no curto período de tempo após a administração do híbrido IBU-HDL2. Seu entendimento preciso exige, portanto, uma investigação mais aprofundada sobre o comportamento cinético das amostras. Este, por sua vez, está provavelmente relacionada com a estrutura dos compostos intercalados, em particular a sua interestratificação aleatória, tal como este último pode afetar a estabilidade, por exemplo, com relação à desfoliação dos cristalitos do material IBU-HDL dentro do corpo do animal.

Em geral, ainda que esses resultados sejam preliminares, necessitando, por exemplo, de um estudo mais detalhado sobre a cinética de liberação do fármaco no sangue do animal, esses resultados são muito importante, pois possibilita estudos futuros mais detalhado da ação do fármaco no corpo do animal.

2.3.7. Teste hemolítico

A hemólise é a destruição de células vermelhas do sangue *in vivo* e pode levar a anemia, por exemplo, a pigmentação amarelada da pele, e outras condições patológicas, por conseguinte, o potencial hemolítico de todos os fármacos administrados por via intravenosa deve ser avaliado. Dispositivos derivados da nanotecnologia e carregadores de fármacos estão surgindo como alternativas às drogas de pequenas moléculas convencionais e avaliação *in vitro* de sua biocompatibilidade com componentes do sangue. Assim, a análise hemolítica torna-se uma etapa importante para no desenvolvimento pré-clínico (Dobrovolskaia et al., 2009). Devido a maioria destes nanomateriais entrarem na circulação sanguínea, em certa quantidade, junto com o fármaco administrado, eles não devem ser hemolítico (Zhou et al., 2015).

Neste contexto, as avaliações hemolíticas para as amostras IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10, mostraram que o aprisionamento dos ânions IBU em nanopartículas de HDL diminuí o efeito hemolítico, como observado com a densidade óptica do controle positivo Triton X-100 (Figura 43). Estes resultados são muito importantes, pois até o presente momento, não há relatos na literatura sobre a atividade hemolítica para o complexo IBU-HDL *in vivo*. Esses dados foram obtidos usando solução salina fisiológica, ou 10% de Triton X-100 sob microscopia de luz. Os

glóbulos vermelhos (RBCs) tratados com soro fisiológico foram normal e em forma de disco. Já o tratamento de RBC com 10% de Triton X-100 provocou hemólise completa.

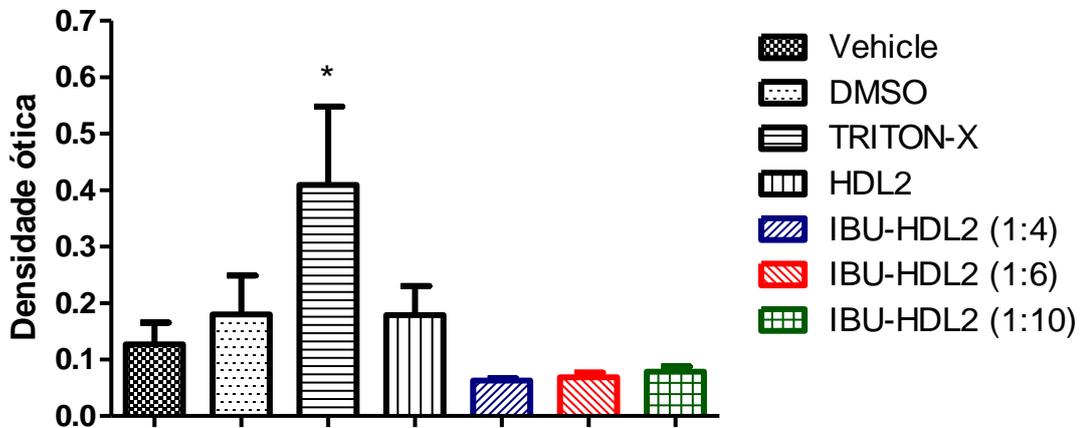


Figura 43. Gráfico da hemólise RBCs após o tratamento de várias concentrações das amostras híbridas IBU-HDL2 1:4, 1:6 e 1:10 por 2 horas. A hemoglobina no sobrenadante vermelho indica o dano do RBCs. Triton-X foi utilizado como controle positivo. O HDL2 e DMSO foram usados como controles negativos. As misturas foram centrifugadas para detectar a presença de hemoglobina (vermelho) por absorção a 540 nm.

2.4. CONCLUSÕES

O método da co-precipitação apresentado neste estudo permite a obtenção de compostos puros de ibuprofeno (IBU) intercalado em hidróxidos duplos lamelares, híbrido IBU-HDL, com composição estrutural do HDL quase constante, e a quantidade de IBU intercalado precisamente controlável.

O rendimento máximo de intercalação foi aproximadamente 94% para material híbrido IBU-HDL na razão de $Mg/Al = 2$ e proporção de massa/massa do IBU-HDL 1:4.

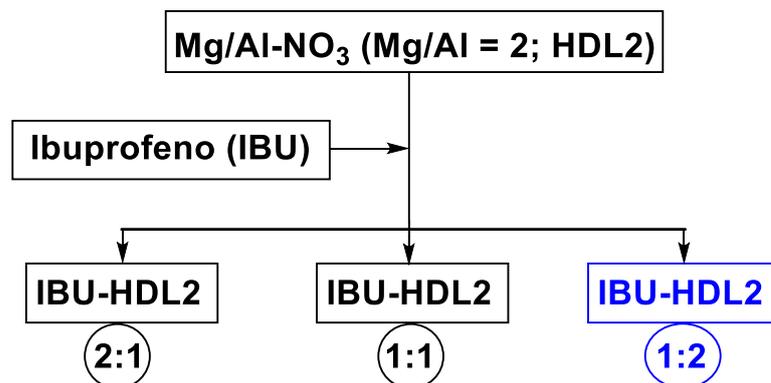
A intercalação do ibuprofeno nos HDL de Mg/Al procede via interestratificação aleatória, ou seja, sem os fenômenos de fases.

Os ensaios *in vivo* realizados em camundongos albinos machos utilizando o método de contorção induzida por ácido acético mostram claramente um aumento significativo do efeito antinociceptivo das amostras IBU-HDL após 24 horas em relação ao ibuprofeno bruto. Mais importante ainda, os testes também revelaram que os compostos intercalados com IBU em menor quantidade são quase tão eficazes quanto às amostras totalmente intercaladas.

Além disso, as avaliações hemolíticas mostraram que os materiais híbridos, IBU-HDL, não apresentaram danos as células vermelhas do sangue, glóbulos vermelhos, o que pode contribuir em futuros estudos sobre a cinética de liberação do fármaco no sangue dos camundongos.

Portanto, estes resultados podem ter impacto não negligenciável sobre a melhor maneira de usar o HDL como um carregador de fármaco, possibilitando, por exemplo, um estudo de possível aplicação deste composto como um biomaterial.

2.5. APÊNDICES



2.5.1. Apêndice I. Análises do IBU intercalado no HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3^-$) com razões de massa total 2:1, 1:1 e 1:2 (g/g) entre o fármaco e o HDL2, IBU-HDL2.

A intercalação do IBU no HDL de Mg/Al de razão molar = 2 foi realizado para verificar se haveria grandes diferenças entre IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2 (g/g). Os resultados de DRX, IR, e teste in vivo mostram que não houve grandes diferenças. Assim, foi selecionado a amostra IBU-HDL2 1:2 por ser usado menor quantidade de fármaco e obter amostra similar a IBU-HDL2 2:1 (vejas as informações cristalográficas na Tabela AII2).

2.5.2. Apêndice I. Análises de difrações dos raios x

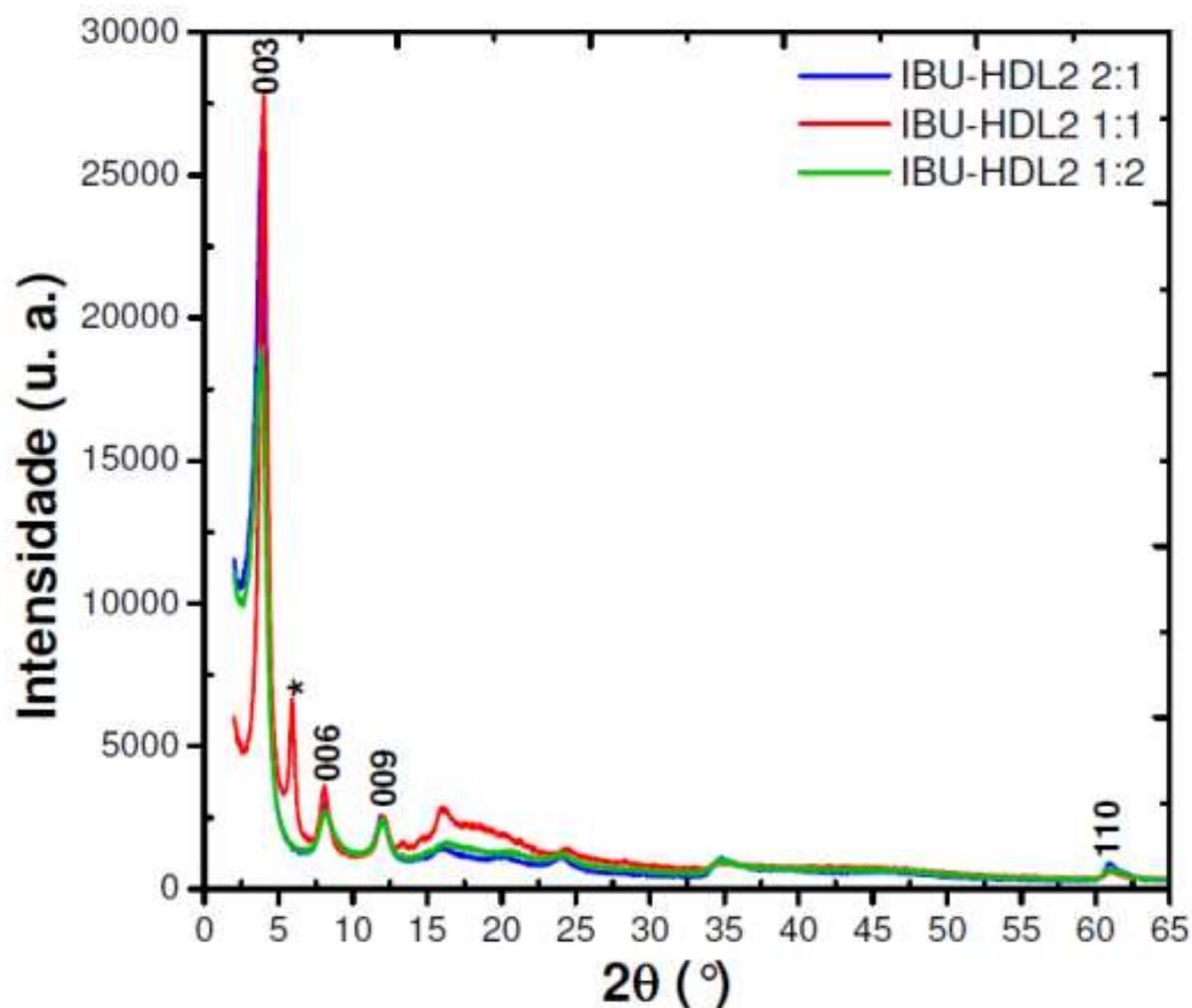


Figura A11. Difratogramas de raios X das amostras híbridas IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2 sintetizadas por coprecipitação. O símbolo (*) é devido à presença de IBU livre. Esse resultado mostra que não é necessário usar um excesso de fármaco para se obter materiais parecido em relação a intensidade e posição do espaçamento basal (d_{001}).

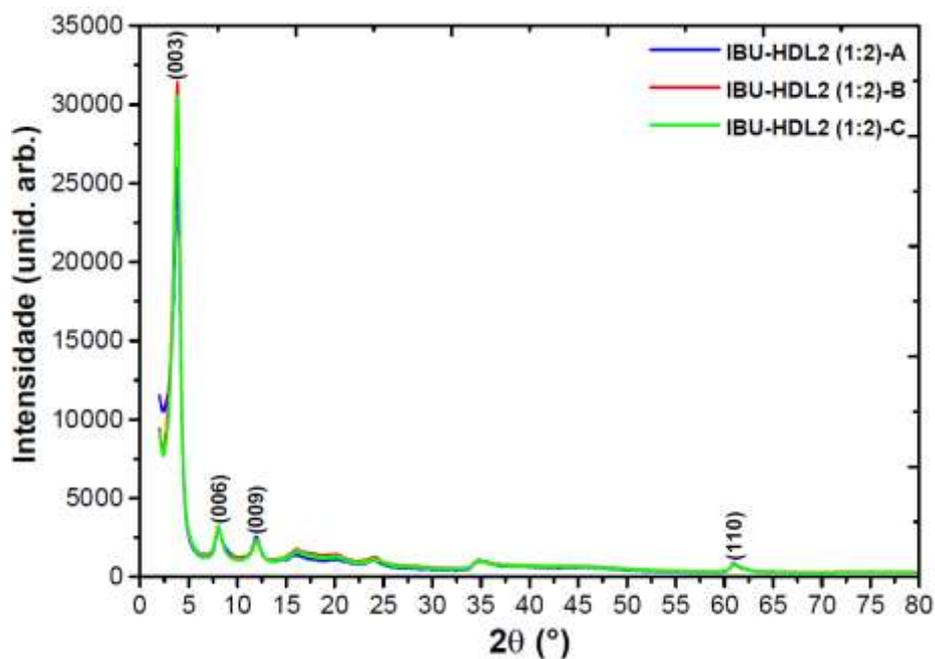


Figura AI2. Difratomogramas de raios X da triplicata de IBU-HDL2 1:2. Amostra A sintetizada no laboratório LPDF em Belém-Brasil e as amostras B e C sintetizadas no laboratório SPCTS na Limoges-França (ver Tabela 5), mostrando que houve reprodutibilidade do material sintetizado interlaboratorial pela mesma pessoa.

2.5.3. Apêndice I. Análises na região do infravermelho

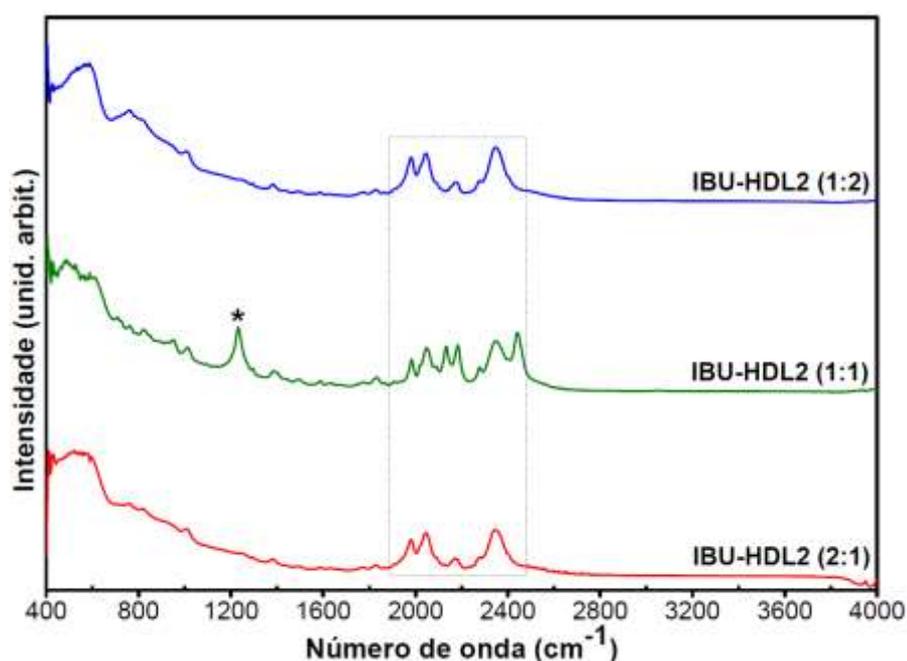


Figura AI3. Espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras híbridas IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2. O símbolo (*) é devido à presença de IBU livre na amostra IBU-HDL2 1:1 em vermelho (veja o drx na Figura AI1).

2.5.4. Apêndice I. Contorções induzidas com ácido acético em camundongos

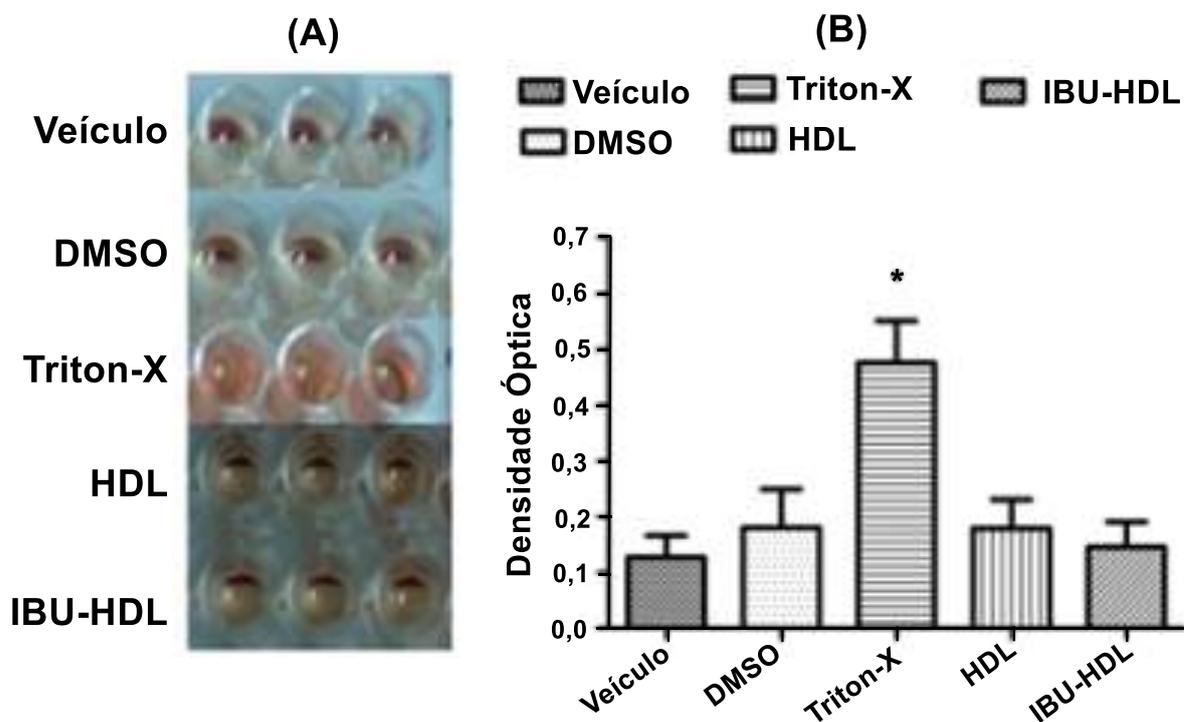


Figura A14. (A) Fotografias da hemólise RBC após o tratamento com as amostras HDL e IBU-HDL em 1 h. A hemoglobina no sobrenadante vermelho indicou o dano de RBCs. Triton-x e DMSO são usadas como controles positivos e negativos, respectivamente. (B) As misturas foram centrifugadas para detectar a presença de hemoglobina (vermelho) por absorção a 541 nm. Média \pm SEM *, significativamente diferente do veículo ($p < 0,05$, teste t de ANOVA, Student-Newman-Keuls).

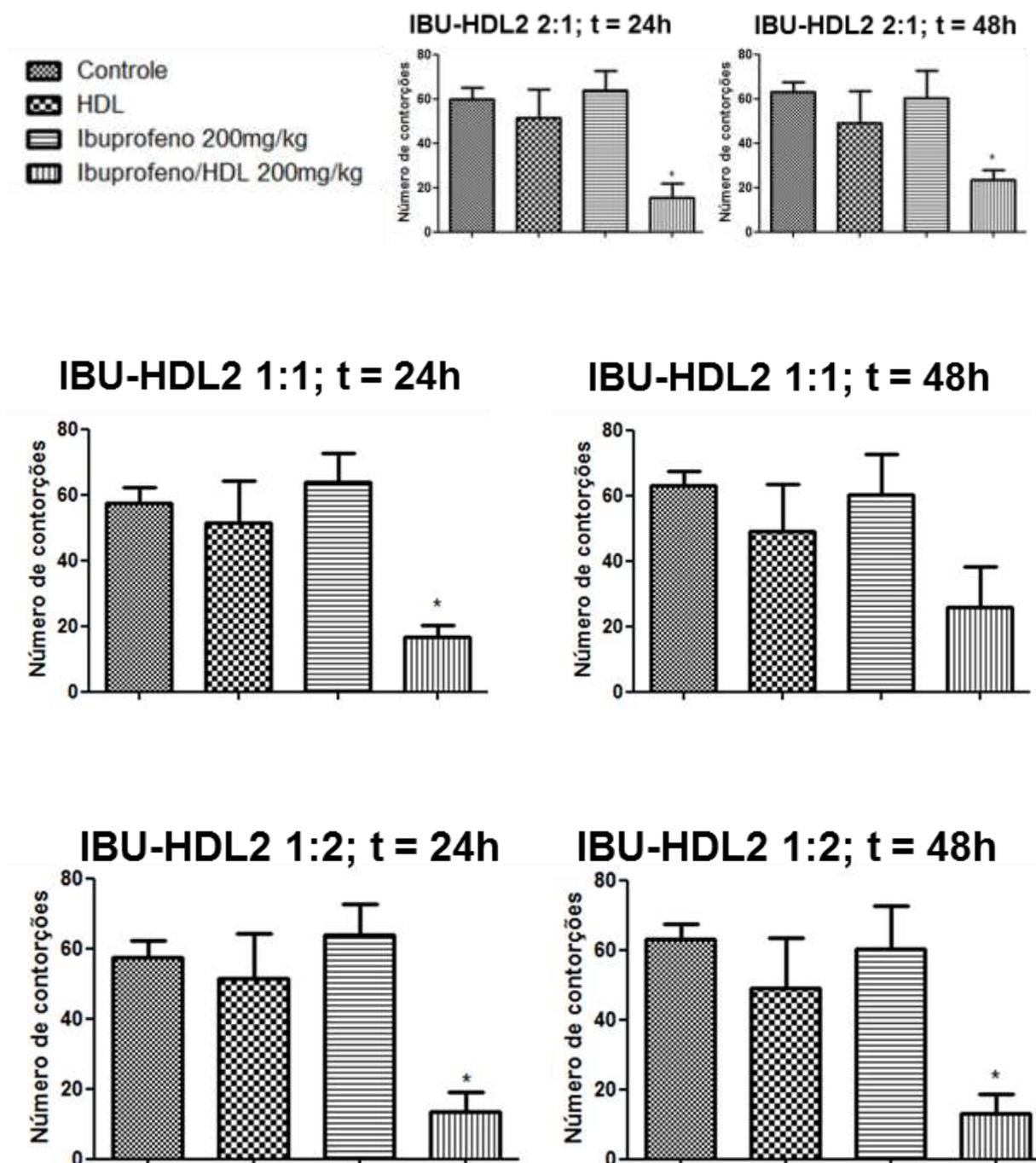
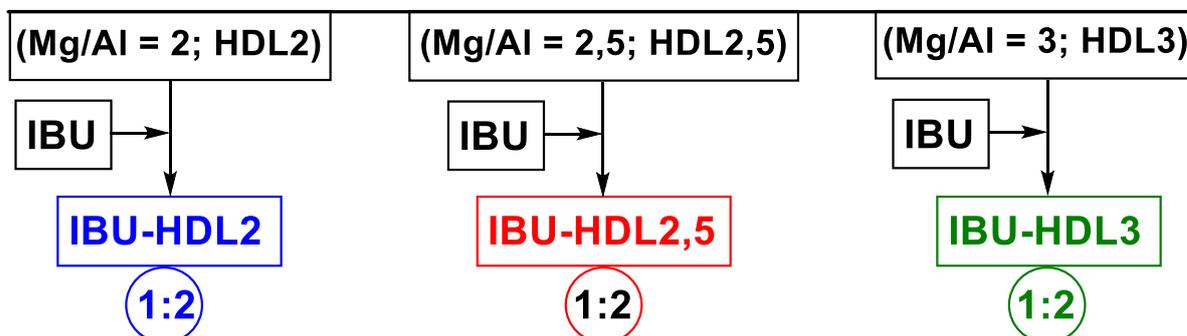


Figura A15. Efeito das contorções induzida em camundongos em até 48 horas para o ibuprofeno (IBU) livre, HDL2 puro e dos materiais híbridos IBU-HDL2 2:1, 1:1 e 1:2. Ordenada, o número de contorções. Média \pm SEM *, significativamente diferente do veículo ($p < 0,05$, ANOVA, Student-Newman-Keuls, t-teste).

2.5.5. Apêndice II. Análises do IBU intercalado em diferentes HDL ($Mg_xAl-NO_3^-$, $x = 2; 2,5$ e 3) e mesma razão de massa total entre o fármaco e o HDL, IBU-HDL 1:2 (g/g).



Este procedimento foi adotado, pois na literatura não há uma clareza de qual razão de metais seria a melhor para intercalar o IBU no HDL de Mg/Al. Então, usando as mesmas condições de síntese (ver Tabela 5) mostrou-se que os metais na razão 2 intercala maior quantidade de fármaco, confirmada por diferentes técnicas de caracterização, tais como DRX, IR, Raman, TG/DSC e UV-vis, como ilustrado na Tabela AII1.

2.5.5. Apêndice II. Análises de difrações dos raios x

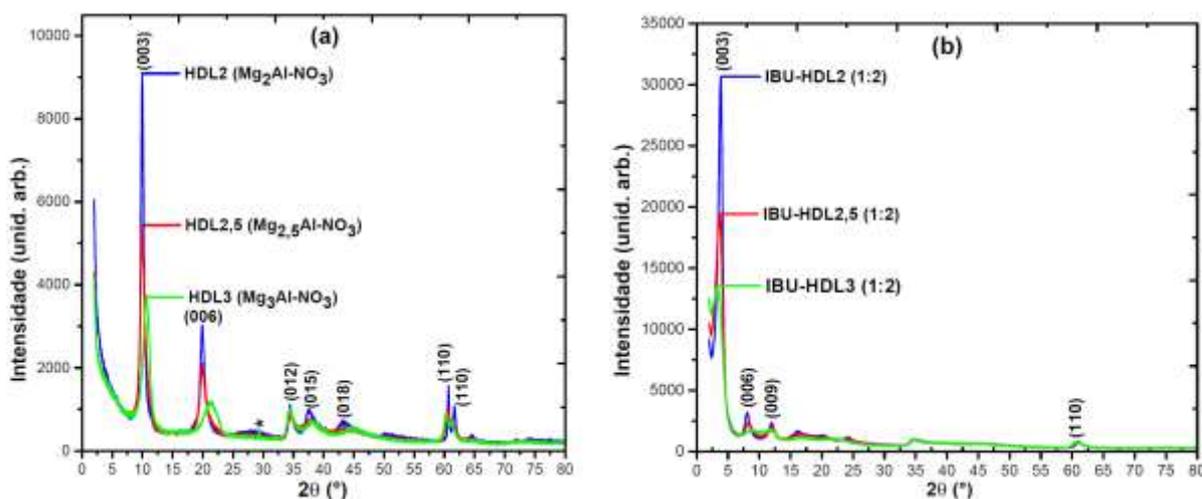


Figura AII6. Difratogramas de raios X para. (a) HDL puro nas razões de Mg/Al = 2, 2,5 e 3. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2. O asterístico (*) na amostra HDL3 indica a presença do sal nitrato de sódio ($NaNO_3$) que não foi removido na lavagem do material.

Um dos fatores que pode influenciar na quantidade de fármaco a ser intercalado nas galerias do HDL é a densidade de carga, como demonstrado neste trabalho. Observe a Figura AII7 e as Tabelas 5 e AII1.

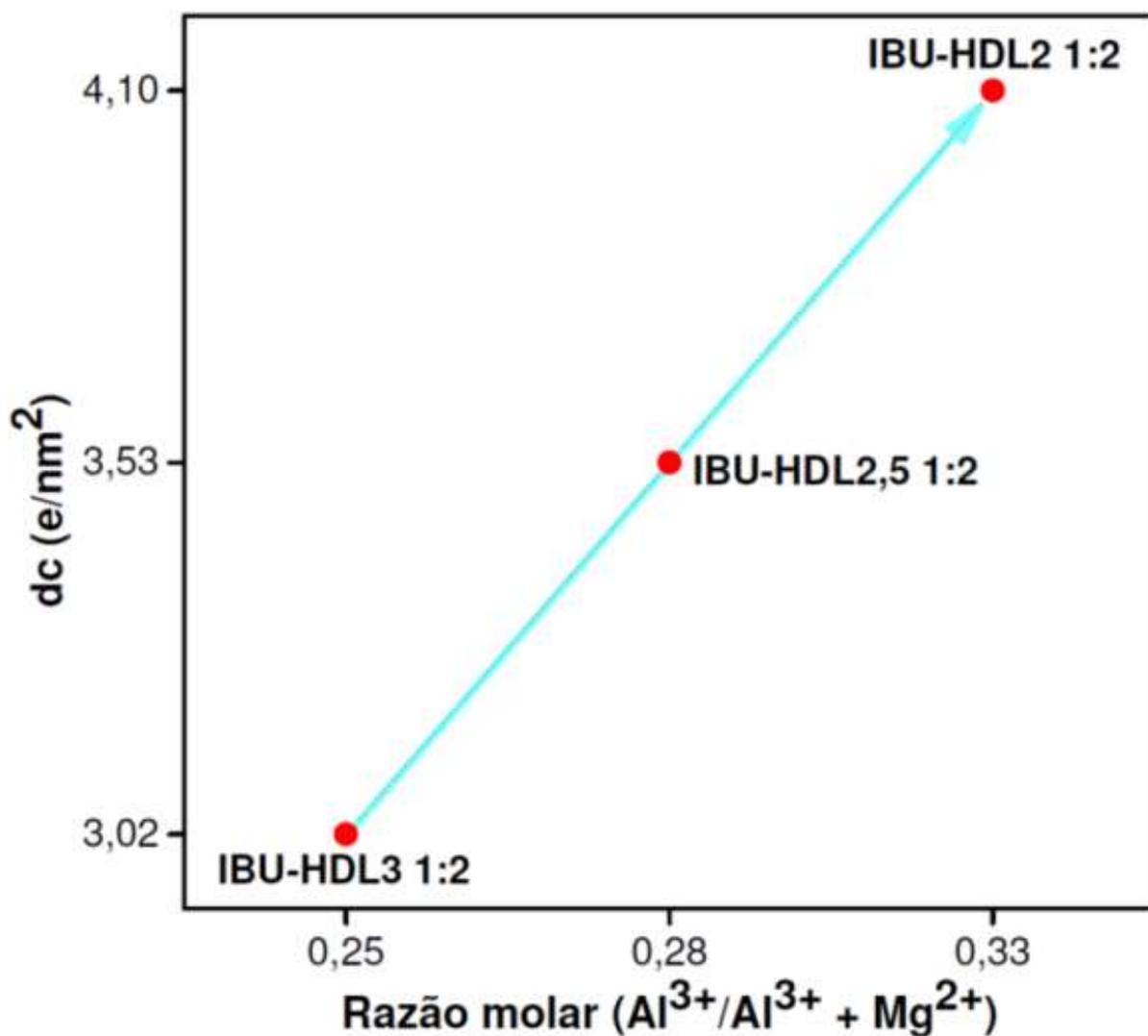


Figura AII7. Razão molar dos cátions versus densidade de carga (d_c) das amostras IBU-HDL2 1:2, IBU-HDL2,5 1:2 e IBU-HDL3 1:2.

2.5.5. Apêndice II. Análises vibracional na região do infravermelho

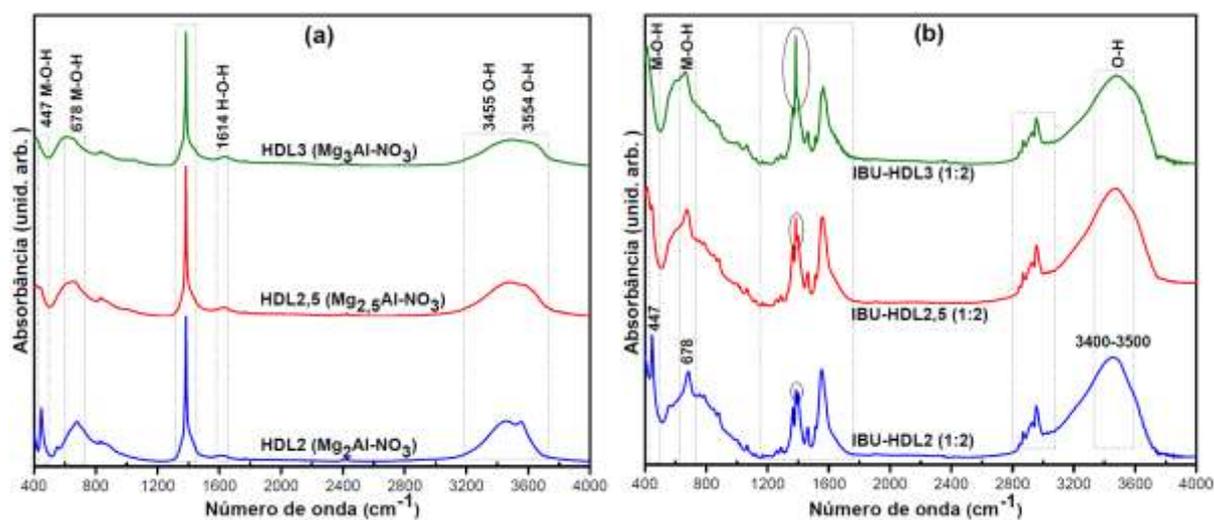


Figura AII8. Espectros vibracionais na região do infravermelho para. (a) HDL puro nas razões de $Mg/Al = 2, 2,5$ e 3. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2.

2.5.5. Apêndice II. Análises por espectroscopia Raman

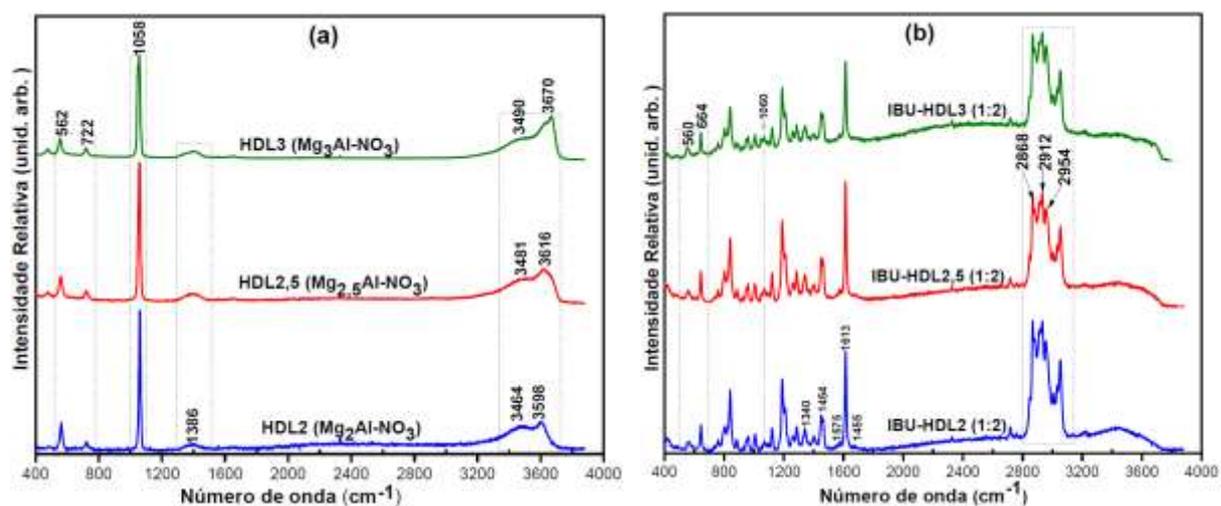


Figura AII9. Espectros vibracionais Raman para. (a) HDL puros nas razões de $Mg/Al = 2, 2,5$ e 3. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2.

2.5.5. Apêndice II. Análises termogravimétricas

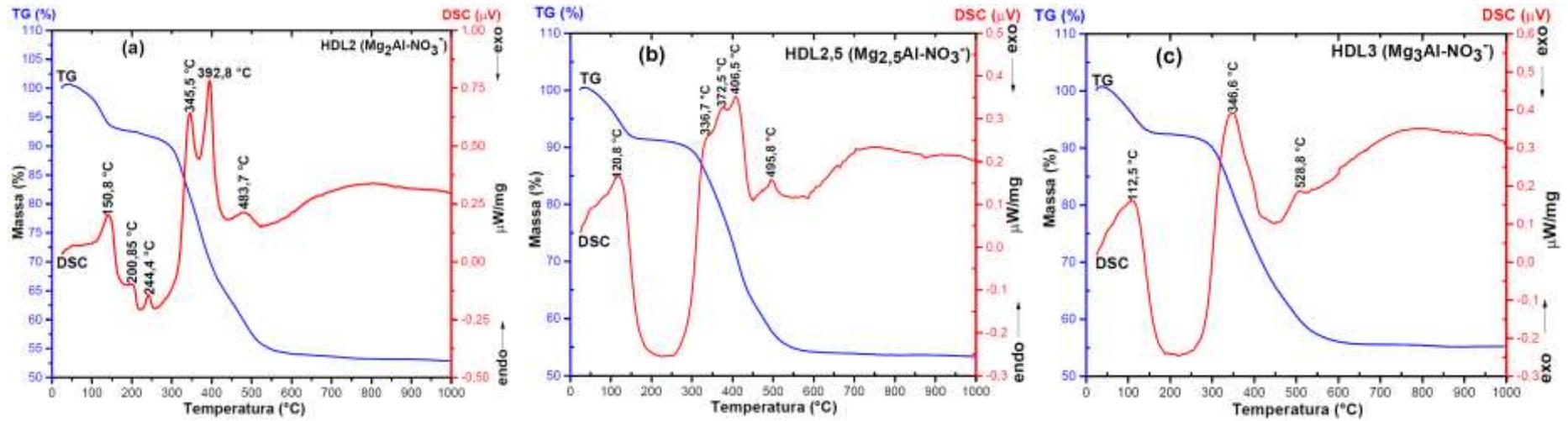


Figura AII10. Curvas TG/DSC das amostras. (a) HDL2 ($\text{Mg}_2\text{Al-NO}_3^-$). (b) HDL2,5 ($\text{Mg}_{2,5}\text{Al-NO}_3^-$). (c) HDL3 ($\text{Mg}_3\text{Al-NO}_3^-$).

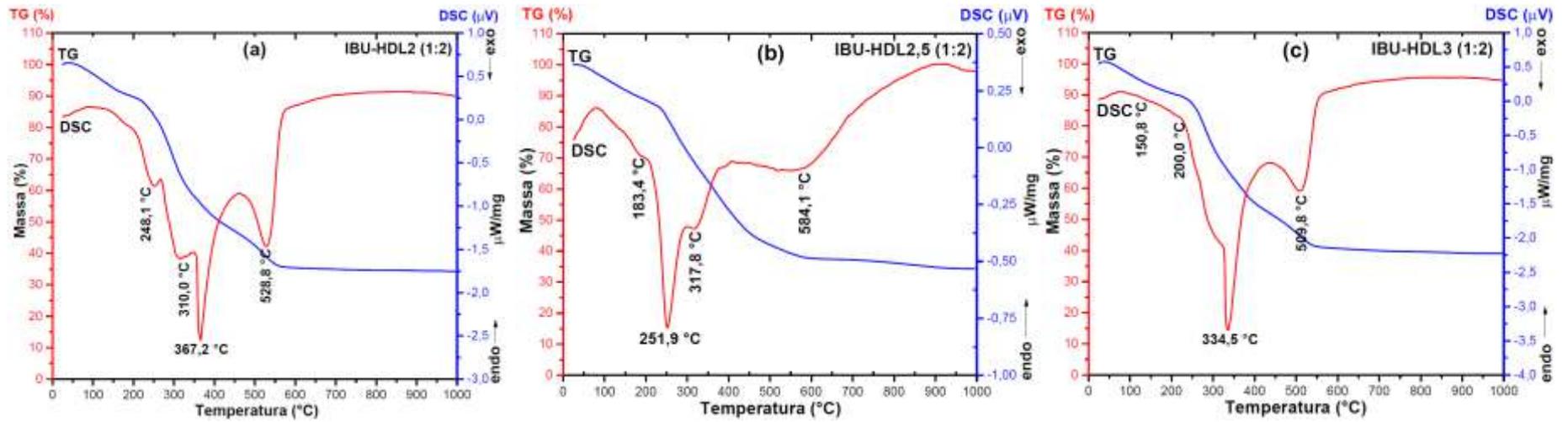


Figura AII11. Curvas TG/DSC das amostras híbridas. (a) IBU-HDL2 1:2. (b) IBU-HDL2,5 1:2. (c) IBU-HDL3 1:2.

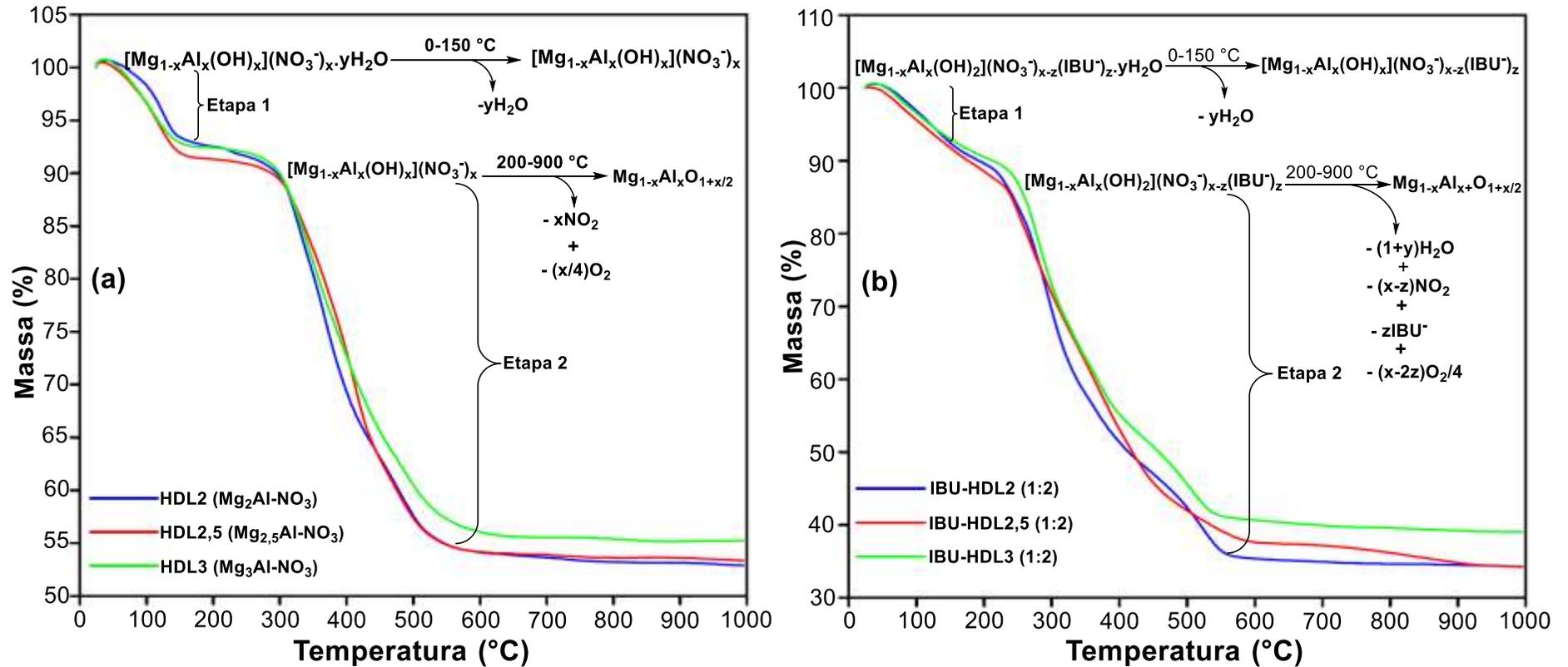


Figura A12. Curvas TG/DSC. (a) HDL puros. (b) amostras híbridas IBU-HDL 1:2 e os produtos das reações da degradação térmica.

2.5.5. Apêndice II. Espectroscopia no ultravioleta-visível

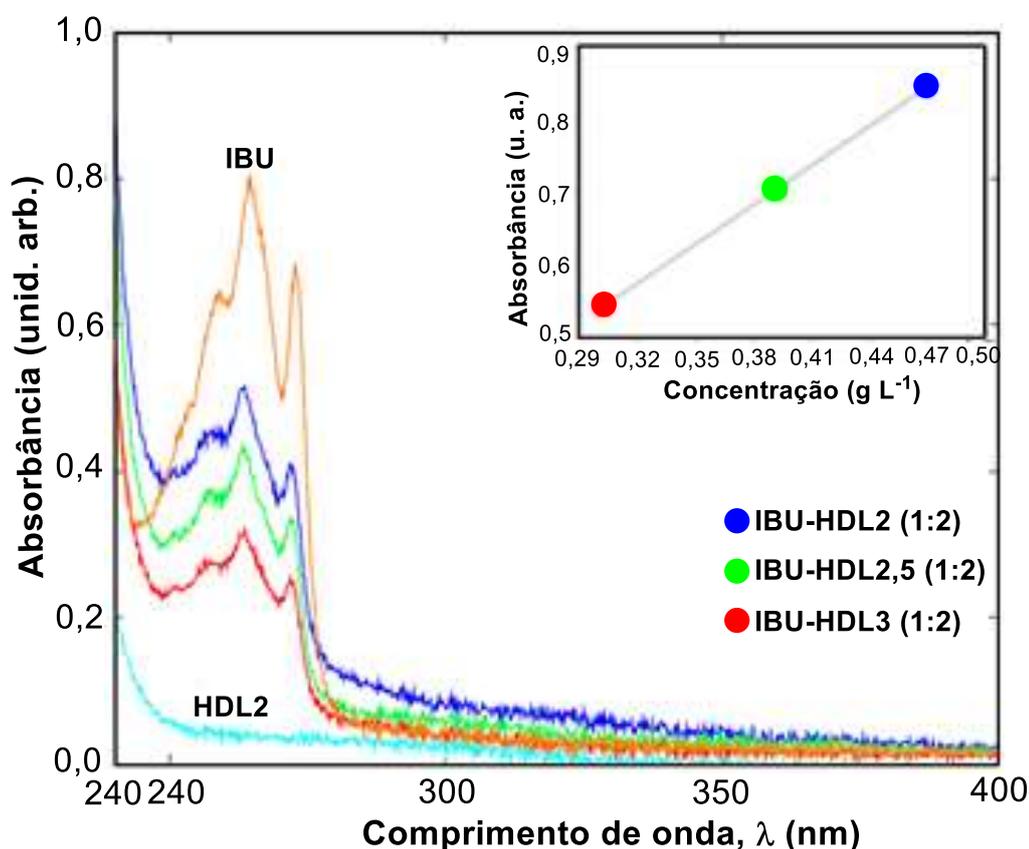


Figura AII13. Espectros de absorção e representação gráfica para as amostras híbridas, IBU-HL2 (1:2), IBU-HL2,5 (1:2), IBU-HL3 (1:2), e IBU (Ibuprofeno) livre.

Tabela AII1. Propriedades e composição química das amostras sintetizadas pelo método de coprecipitação.

Amostras	PM (%) [‡]	IBU (%) [*]	Composição Química
HDL2	48,81	0,0	$[\text{Mg}_{0,68}\text{Al}_{0,32}(\text{OH})_2]^{0,32+}[(\text{NO}_3^-)_{0,32}\cdot 0,35\text{H}_2\text{O}]^{0,32-}$
IBU-HDL2 (1:2)	66,96	46,5	$[\text{Mg}_{0,68}\text{Al}_{0,32}(\text{OH})_2]^{0,32+}[(\text{NO}_3^-)_{0,01}(\text{IBU}^-)_{0,31}\cdot 0,49\text{H}_2\text{O}]^{0,32-}$
HDL2,5	46,86	-	$[\text{Mg}_{0,72}\text{Al}_{0,28}(\text{OH})_2]^{0,28+}[(\text{NO}_3^-)_{0,28}\cdot 0,4\text{H}_2\text{O}]^{0,28-}$
IBU-HDL2,5 (1:2)	65,61	39,1	$[\text{Mg}_{0,72}\text{Al}_{0,28}(\text{OH})_2]^{0,28+}[(\text{NO}_3^-)_{0,04}(\text{IBU}^-)_{0,24}\cdot 0,4\text{H}_2\text{O}]^{0,28-}$
HDL3	45,63	-	$[\text{Mg}_{0,76}\text{Al}_{0,24}(\text{OH})_2]^{0,24+}[(\text{NO}_3^-)_{0,24}\cdot 0,4\text{H}_2\text{O}]^{0,24-}$
IBU-HDL3 (1:2)	61,41	30,4	$[\text{Mg}_{0,76}\text{Al}_{0,24}(\text{OH})_2]^{0,24+}[(\text{NO}_3^-)_{0,02}\cdot (\text{IBU}^-)_{0,22}\cdot 0,4\text{H}_2\text{O}]^{0,24-}$

[‡]Perda de massa baseado nas análises de TG. ^{*}Porcentagem de IBU obtido por UV-Vis.

2.5.5. Apêndice II. Equações usadas para obter as características físicas a partir das informações cristalográficas de drx das amostras, HDL e IBU-HDL.

$$d_c = \frac{xe}{a^2 \sin 60^\circ} \quad (\text{Equação 2})$$

$$a = b = 2d_{(110)} \quad (\text{Equação 7})$$

$$c = \frac{3(d_{003} + 2d_{006} + 3d_{009} + \dots nd_{003n})}{n} \quad (\text{Equação 8})$$

$$t = \frac{\lambda}{B_{1/2} \cdot \cos \theta_B} (\text{\AA}) \quad (\text{Equação 10})$$

$$NC = \frac{t (\text{\AA})}{d_{(003)} \text{ do (HDL) } (\text{\AA})} \quad (\text{Equação 11})$$

2.5.5. Apêndice II. Cálculos experimentais para a relação dos cátions metálicos.

2.5.5.1. Cálculo para a razão dos cátions Mg^{2+}/Al^{3+} no HDL2 ($Mg_2Al-NO_3^-$)

$$m (Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O) = 2,6147 \text{ g}$$

$$n (Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O) = \frac{2,6147 \text{ g}}{256,41 \text{ g/mol}} = 0,0101946 \text{ mol}$$

$$m (Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O) = 1,8913 \text{ g}$$

$$n (Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O) = \frac{1,8913 \text{ g}}{375,13 \text{ g/mol}} = 0,00504171887 \text{ mol}$$

$$X \left(\frac{Mg^{2+}}{Mg^{2+} + Al^{3+}} \right) = \frac{0,0101946 \text{ mol}}{(0,0101946 + 0,00504171887) \text{ mol}} = 0,6690886$$

$$X \left(\frac{Al^{3+}}{Al^{3+} + Mg^{2+}} \right) = \frac{0,00504171887 \text{ mol}}{(0,00504171887 + 0,0101946) \text{ mol}} = 0,3309013$$

$$X \left(\frac{Mg^{2+}}{Al^{3+}} \right) = \frac{0,6690886}{0,3309013} = 2,02$$

Ou de forma simplificada:

$$\chi \left(\frac{\frac{\text{Massa de } (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) \text{ pesada}}{\text{Massa molar de } (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})}}{\frac{\text{Massa de } (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) \text{ pesada}}{\text{Massa molar de } (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})}} \right) = \left(\frac{\frac{2,6147 \text{ g}}{256,41 \text{ g/mol}}}{\frac{1,8913 \text{ g}}{375,13 \text{ g/mol}}} \right) = 2,02$$

2.5.5.2. Cálculo para a razão dos cátions $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ no HDL2,5 ($\text{Mg}_{2,5}\text{Al}-\text{NO}_3^-$)

$$m (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) = 2,8516 \text{ g}$$

$$n (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) = \frac{2,8516 \text{ g}}{256,41 \text{ g/mol}} = 0,01112125 \text{ mol}$$

$$m (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) = 1,6585 \text{ g}$$

$$n (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) = \frac{1,6585 \text{ g}}{375,13 \text{ g/mol}} = 0,004421134 \text{ mol}$$

$$\chi \left(\frac{\text{Mg}^{2+}}{\text{Mg}^{2+} + \text{Al}^{3+}} \right) = \frac{0,01112125 \text{ mol}}{0,01112125 + 0,004421134 \text{ mol}} = 0,7155433812$$

$$\chi \left(\frac{\text{Al}^{3+}}{\text{Al}^{3+} + \text{Mg}^{2+}} \right) = \frac{0,004421134 \text{ mol}}{0,004421134 + 0,01112125 \text{ mol}} = 0,2844566191$$

$$\chi \left(\frac{\text{Mg}^{2+}}{\text{Al}^{3+}} \right) = \frac{0,7155433812}{0,2844566191} = 2,51$$

Ou de forma simplificada:

$$\chi \left(\frac{\frac{\text{Massa de } (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) \text{ pesada}}{\text{Massa molar de } (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})}}{\frac{\text{Massa de } (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) \text{ pesada}}{\text{Massa molar de } (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})}} \right) = \left(\frac{\frac{2,8516 \text{ g}}{256,41 \text{ g/mol}}}{\frac{1,6585 \text{ g}}{375,13 \text{ g/mol}}} \right) = 2,51$$

2.5.5.3. Cálculo para a razão dos cátions $\text{Mg}^{2+}/\text{Al}^{3+}$ no HDL3 ($\text{Mg}_3\text{Al}-\text{NO}_3^-$)

$$m (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) = 3,0631 \text{ g}$$

$$n (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) = \frac{3,0631 \text{ g}}{256,41 \text{ g/mol}} = 0,01194610195 \text{ mol}$$

$$m (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) = 1,4655 \text{ g}$$

$$n(\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) = \frac{1,4655 \text{ g}}{375,13 \text{ g/mol}} = 0,00390664569 \text{ mol}$$

$$\chi \left(\frac{\text{Mg}^{2+}}{\text{Mg}^{2+} + \text{Al}^{3+}} \right) = \frac{0,01194610195 \text{ mol}}{(0,01194610195 + 0,00390664569 \text{ mol})} = 0,7535666511$$

$$\chi \left(\frac{\text{Al}^{3+}}{\text{Al}^{3+} + \text{Mg}^{2+}} \right) = \frac{0,00390664569 \text{ mol}}{(0,00390664569 + 0,01194610195) \text{ mol}} = 0,2464333492$$

$$\chi \left(\frac{\text{Mg}^{2+}}{\text{Al}^{3+}} \right) = \frac{0,7535666511}{0,2464333492} = 3,05$$

Ou de forma simplificada:

$$\chi \left(\frac{\frac{\text{Massa de } (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) \text{ pesada}}{\text{Massa molar de } (\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})}}{\frac{\text{Massa de } (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}) \text{ pesada}}{\text{Massa molar de } (\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})}} \right) = \left(\frac{\frac{3,0631 \text{ g}}{256,41 \text{ g/mol}}}{\frac{1,4655 \text{ g}}{375,13 \text{ g/mol}}} \right) = 3,05$$

2.5.5.4. Exemplo 1. Cálculos dos parâmetros a , d_c , c , t e NL usando as equações 2, 7, 8, 10 e 11 para a amostra IBU-HDL2 (1:2). Dados: $\chi(\text{Al}^{3+}/\text{Al}^{3+} + \text{Mg}^{2+}) = 0,33$, $d_{(003)} = 22,834 \text{ \AA}$, $d_{(110)} = 1,519 \text{ \AA}$, $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$, $\text{HDL2} = 8,89 \text{ \AA}$, $B_{1/2} = \text{FWHM} = 0,826^\circ$, $2\theta = 60,935^\circ$, $\theta_B = 3,860^\circ$.

$$a = b = 2d_{(110)} \text{ (Eq. 7)}, a = b = 2(1,519 \text{ \AA}) = 3,038 \text{ \AA} = 0,3038 \text{ nm},$$

$$d_c = \frac{\chi e}{a^2 \sin 60^\circ} \text{ (Eq. 2)}, d_c = \frac{0,33e}{(0,3038 \text{ nm})^2 \sin(60,935^\circ)} = 4,0906 \text{ e/nm}^2$$

$$c = 3(d_{003}) \text{ (Eq. 8)}, c = 3(22,834 \text{ \AA}) = 68,502 \text{ \AA}$$

$$t = \frac{\lambda}{B_{1/2} \cdot \cos \theta_B} \text{ (\AA)} \text{ (Eq. 10)}, t = \frac{\lambda = 1,5406 \text{ \AA}}{\text{FWHM} = 0,826 \times \left(\frac{\pi}{180}\right) \times \cos\left(\frac{3,860}{2}\right)} = 106,9249 \text{ \AA}$$

$$\text{NC} = \frac{t \text{ (\AA)}}{d_{(003)} \text{ do (HDL (\AA))}} \text{ (Eq. 11)}, \text{NC} = \frac{t \text{ (\AA)} = 106,9249 \text{ \AA}}{d_{(003)} \text{ do (HDL (\AA))} = 8,89 \text{ \AA}} = 12,0275$$

Essas equações e formas de cálculos foram usadas para todas as amostras e os valores obtidos são apresentados na Tabela AII2.

Tabela AII2. Informações cristalográficas das amostras.

Amostras		Parâmetros de Célula							
IBU-HDL2 (2:1)[‡]	IM	2 θ (°)	d (Å)	FWHM (°)	t (Å)	NL	c (Å)	a (Å)	d_c (e/nm²)
	(003)	3,852	22,922	1,358	65,036	7,315	68,766		
	(006)	8,119	10,881	1,572	65,163	7,329	65,286		
	(009)	12,013	7,361	1,155	76,846	8,644	66,252		
	(110)	60,953	1,518	1,159	88,369	9,940		3,037	4,005
	\bar{X}		22,255		73,853	8,307	66,768		
IBU-HDL2 (1:1)[‡]	(003)	4,002	22,061	0,915	96,528	10,858	66,183		
	(006)	8,081	10,932	0,702	126,053	14,179	65,592		
	(009)	12,082	7,319	0,799	111,092	12,496	65,871		
	(110)	61,041	1,5168	1,027	99,773	11,223		3,034	4,1016
	\bar{X}		21,961		108,362	12,189	65,882		
	IBU-HDL2 (1:2)[‡]	(003)	3,861	22,867	0,833	106,013	11,926	68,601	-
(006)		8,058	10,963	0,991	89,292	10,044	65,778	-	-
(009)		11,949	7,401	0,953	93,129	10,475	66,609		
(110)		61,011	1,5175	0,974	105,158	10,495		3,034	4,09
\bar{X}			22,332		98,398	10,735	66,996		

HDL2 (Mg₂Al-NO₃⁻)	IM	2 θ (°)	d (Å)	FWHM (°)	t (Å)	NL	c (Å)	a (Å)	d_c (e/nm²)
	(003)	9,959	8,895	0,536	165,306	18,630	26,685		
	(006)	19,892	4,459	0,820	109,288	12,316	26,754		
	(110)	60,678	1,524	0,267	393,057	44,298		3,048	4,1016
	\bar{X}		8,895		137,297	15,473	26,686		
IBU-HDL2 (1:2)									
	(003)	3,860	22,834	0,826	106,873	12,048	68,502		
	(006)	8,090	10,907	0,884	101,102	12,317	65,442		
	(009)	12,004	7,366	1,015	87,444	9,852	66,294		
	(110)	60,935	1,519	1,115	91,848	10,349		3,038	4,1286
	\bar{X}		22,248		98,473	11,4056	66,746		
IBU-HDL2 (1:4)									
	(003)	3,909	22,580	0,618	142,914	16,106	67,74		
	(006)	8,037	10,991	0,548	161,473	18,198	65,946		
	(009)	11,979	7,381	0,512	173,348	19,612	66,429		
	(110)	60,831	1,521	0,720	142,161	16,021		3,042	4,1178
	\bar{X}		22,235		159,245	17,972	66,705		
IBU-HDL2 (1:6)									
	(003)	3,864	22,847	1,192	74,094	8,350	68,541		
	(006)	8,159	10,827	0,781	113,308	12,769	64,962		
	(009)	11,920	7,418	0,713	124,473	14,028	66,762		

(110)	60,794	1,522	0,746	137,181	15,460		3,044	4,1124
\bar{X}		22,251		103,958	11,725	66,755		
IBU-HDL2 (1:8)								
(003)	2,742	32,194	1,748	50,512	5,692	96,582		
(006)	8,728	10,122	1,868	47,391	5,341	60,732		
(009)	11,460	7,714	1,878	47,238	5,323	69,426		
(110)	60,782	1,523	0,411	248,980	28,060		3,046	4,1269
\bar{X}		25,193		48,380	5,452	75,580		
IBU-HDL2 (1:10)								
(003)	2,305	38,290	1,268	69,627	7,847	114,870		
(006)	9,896	8,930	1,336	66,317	7,474	53,580		
(009)	10,587	8,349	1,268	69,911	7,879	75,141		
(110)	60,714	1,524	0,706	144,894	16,329		3,048	4,1016
\bar{X}		27,065		68,618	7,733	81,197		
HDL2,5 (Mg_{2,5}Al-NO₃)								
(003)	9,935	8,896	0,935	94,752	10,651	26,687		
(006)	19,892	4,459	1,159	77,302	8,689	26,758		
(009)	60,601	1,526	0,797	128,164	14,407		3,053	3,5297
\bar{X}		8,905		86,027	9,670	26,723		
IBU-HDL2,5 (1:2)								

(003)	3,753	23,522	1,307	67,572	7,595	70,566		
(006)	8,311	10,629	1,421	62,281	7,001	63,777		
(009)	12,134	7,288	1,523	58,284	6,551	65,590		
(110)	60,672	1,525	1,514	67,551	7,593		3,050	3,5371
\bar{X}		22,215		62,712	7,049	66,642		
HDL3 (Mg₃Al-NO₃)								
(003)	10,669	8,285	1,263	70,360	8,492	24,855		
(006)	21,116	4,203	2,518	35,680	4,306	25,218		
(110)	60,289	1,533	0,811	125,918	15,198		3,066	3,0217
\bar{X}		8,345		53,020	6,399	25,037		
IBU-HDL3 (1:2)								
(003)	3,547	24,887	1,526	57,871	6,985	74,661		
(110)	60,834	1,521	1,094	93,563	11,293		3,042	3,0696
IBU-HDL3 (1:2)								
(003)	3,547	24,887	1,526	57,871	6,985	74,661		
(110)	60,834	1,521	1,094	93,563	11,293		3,042	3,0696
IBU-HDL3 (1:4)								
(003)	2,742	32,184	1,524	57,936	6,992	96,552		
(110)	60,306	1,5335	0,844	120,951	14,598	-	3.067	3,01979
IBU-HDL3 (1:6)								

(003)	2,734	32,282	0,75	117,726	14,2095			
(110)	60,301	1,5336	0,652	156,565	18,672	98,84	3,067	3,01939

A legenda das siglas é: IM é o Índice de Miller, 2θ ($^{\circ}$) é a posição angular na coordenada x no difratograma, d é o espaçamento basal (\AA), FWHM é a largura à meia-altura ($^{\circ}$) do inglês Full-width at half maximum, t é o tamanho da partícula (\AA), NL é o número de lamelas e X representa o valor médio, a e c são os parâmetros de célula (\AA), e dc é densidade de carga lamelar (e/nm^2), veja equações 2, 7, 8, 9, 10 e 11 dada acima. †Informações na Tabela 5.

2.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLMOHAMMAD-ZADEH H. Layered double hydroxides: application to samples preparation methods. **Lambert, Academic Publishing**, 1-83, 2013.

AIMOZ, L.; TAVIOT-GUÉHO, C.; CHURAKOV et al. Anion and cation order in iodide-bearing mgzn-al layered double hydroxides. **J. Phys. Chem. C**, 116, 5460-5475, 2012.

AMBROGI, V.; FERDELLA, G.; GRANDOLINI, G.; PERIOLI, L. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents-i. Intercalation and in vitro release of ibuprofen. **Inter. J. Pharmaceutics**, 220, 23–32, 2001.

AMBROGI, V.; FARDELLA, G.; GRANDOLINI et al. Effect of hydrotalcite-like compounds on the aqueous solubility of some poorly water-soluble drugs. **J. Pharm. Sci.**, 92(7): 1407-1418, 2003.

ARIZAGA, G. G. C.; SATYANARAYANA, K. G.; WYPYCH, F. Layered hydroxide salts: synthesis, properties and potential applications. **Solid State Ionics**, 178, 1143–1162, 2007.

ABDI, H.; WILLIAMS, L. J. Newman-Keuls Test and Tukey Test. **In Neil Salkind (Ed.), Encyclopedia of Research Design. Thousand Oaks, C. A: Sage**, 1-11, 2010.

AISAWA, S.; SASAKI, S.; TAKAHASHI et al. Intercalation of amino acids and oligopeptides into Zn–Al layered double hydroxide by coprecipitation reaction. **J. Physics and Chemistry of Solids**, 67, 920–925, 2006.

ALCÂNTARA, A. C. S.; ARANDA, P.; DARDER et al. Bionanocomposites based on alginate–zein/layered double hydroxide materials as drug delivery systems. **J. Mater. Chem.**, 20, 9495–9504, 2010.

ALMEIDA, H. E. P. P. J. Preparação e caracterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo Ibuprofeno. 2009. 136f. **Dissertação (Farmacêutico)** – Universidade do Porto-Portugal, 2009.

ANDRADE, A.; NAMORA, S. F.; WOISKY et al. Synthesis and characterization of a diruthenium-ibuprofenato complex comparing its anti-inflammatory activity with that of a copper(ii)-ibuprofenato complex. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 81, 23–27, 2000.

ANTMAN, E. M.; METS, D.; LOSCALZO, J. Cyclooxygenase inhibition and cardiovascular risk. **Circulation.**, 112(5): 759-770, 2005.

AY, A. N.; ZÜMREOĞLU-KARAN, B.; TEMEL et al. Bioinorganic magnetic core-shell nanocomposites carrying antiarthritic agents: intercalation of ibuprofen and glucuronic acid into Mg-Al-layered double hydroxides supported on magnesium ferrite. **Inorg. Chem.**, 48, 8871–8877, 2009.

ABATE, M.; GRAVARE, S. K.; SILJEHOLM et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? **Arthritis Res. Ther.**, 11:235, 2009.

BRIGATTI, M. F.; MOTTANA, A. Layered mineral structures and their application in advanced technologies. **Eur Mineral Union Notes Mineral.**, 15:375, 2011.

BETHKE, C. M.; R. C. REYNOLDS, R. C. Recursive method for determining frequency factors in interstratified clay diffraction calculations. **The Clay Minerals Society**, 34(2): 224-226, 1986.

BRINDLEY, G. W.; BROWN, G. Crystal structures of clay minerals and their x-ray identification. **Mineral Soc.**, 5: 249-303, 1980.

BARAHUIE, F.; HUSSEIN, M. Z.; FAKURAZI et al. Development of drug delivery systems based on layered hydroxides for nanomedicine. **Int. J. Mol. Sci.**, 15, 7750-7786, 2014.

BARKHORDARI, S.; YADOLLAHI, M.; NAMAZI, H. pH sensitive nanocomposite hydrogel beads based on carboxymethyl cellulose/layered double hydroxide as drug delivery systems. **Polym. Res.**, 21: 454, 2014.

BENES, L.; MELANOVA, K.; ZIMA, V. Possible mechanisms of intercalation. **J. Inclusion Phenomena and Molecular Cognition in Chemistry**, 31: 275-286, 1998.

BISWICK, T.; PARK, D. H.; CHOY, J. H. Enhancing the UV A1 screening ability of caffeic acid by encapsulation in layered basic zinc hydroxide matrix. **J. Physics and Chemistry of Solids**, 73, 1510–1513, 2012.

BRAVO-SUÁREZ J. J.; PÁEZ-MOZO, E. A.; OYAMA, S. T. Models for the estimation of thermodynamic properties of layered double hydroxides: application to the study of their anion exchange characteristics. **Química Nova**, 27, 4, 574-581, 2004a.

BRAVO-SUÁREZ J. J.; PÁEZ-MOZO, E. A.; OYAMA, S. T. Review of the synthesis of layered double hydroxides: A thermodynamic approach. **Química Nova**, 27, 4, 601-614, 2004b.

CASTRO, K. A. D. F. Imobilização de metaloporfirinas em hidróxidos duplos lamelares esfoliados e funcionalizados. 2009, 109f. **Dissertação** (Químico) – UFPR, 2009.

CAVANI, F.; TRIFIRÒ, F.; VACARRI, A. Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications. **Catal. Today**, 11(2): 173-301, 1991.

CHOY, J. H.; SON, Y. H. Intercalation of Vitamer into LDH and Their Controlled Release Properties. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 25(1): 122-126, 2004a.

CHOY, J. H.; OH, J. M.; PARK et al. Inorganic-biomolecular hybrid nanomaterials as a genetic molecular code system. *Adv Mater.*, 16(14): 1181-1184, 2004b.

COSTANTINO, U.; COLETTI, N.; NOCCHETTI, M. Anion exchange of methyl orange into Zn-Al synthetic hydrotalcite and photophysical characterization of the intercalates obtained. *Langmuir*, 15, 4454-4460, 1999.

COSTANTINO, U.; NOCCHETTI, M.; SISANI et al. Recent progress in the synthesis and application of organically modified hydrotalcites. *Z. Kristallogr*, 224, 273–281, 2009.

CONTEROSITO, E.; BEEK, W. V.; PALIN et al. development of a fast and clean intercalation method for organic molecules into layered double hydroxides. *Cryst. Growth Des.*, 13, 1162-1169, 2013.

CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: Síntese, estrutura, propriedades e aplicações. *Química Nova*, 21(3): 300-311, 1998.

CREPALDI, E. L.; TRONTO, J.; CARDOSO et al. Sorption of terephthalate anions by calcined and uncalcined hydrotalcite-like compounds. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 211, 103-114, 2002.

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. C.; COSNTATINO, V. R. L. Hidróxidos duplos lamelares: síntese, estrutura, propriedades e aplicações. *Química Nova*, vol. 33, nº. 1, 159-171, 2010.

CUNHA, V. R. R.; GUILHERME, V. A.; PAULA et al. Delivery system for mefenamic acid based on the nanocarrier layered double hydroxide: Physicochemical characterization and evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive potential. *Materials Science and Engineering C*, 58, 629–638, 2016.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(21): 13926-13931, 2002.

CHEN, H.; ZHANG, S. M.; HERNÁN et al. Nonsteroidal Anti-Inflammatory drugs and the risk of parkinson disease. *Neuroepidemiology*, 60(28): 193-196, 2007.

CHOI, S. J.; OH, J. M.; CHOY, J. H. Safety aspect of inorganic layered nanoparticles: size-dependency in vitro and in vivo. *J. Nanosci. Nanotechnol*, 8(10): 5297-5301, 2008.

DEL ARCO, M.; CEBADERA, E.; GUTIÉRREZ et al. Mg,Al layered double hydroxides with intercalated indomethacin: synthesis, characterization, and pharmacological study. *J. Pharm. Sci.*, 93(6): 1649-1658, 2004.

DESIGAUX, L.; BELKACEM, M. B.; RICHARD et al. Self-assembly and characterization of layered double hydroxide/DNA hybrids. **Nano letters**, 6(2): 199-204, 2006.

DRITS, V. A.; SOKOLOVA, T. N.; SOKOLOVA et al. New members of the hydrotalcite-manasseite group. **Clays and Clay Minerals**, 35, 6, 401-417, 1987.

DOBROVOLSKAIA, M. A.; CLOGSTON, J. D.; NEUN et al. Method for analysis of nanoparticle heolytic properties in vitro. **Nano Lett.**, 8(8): 2180-2187, 2008.

ELKHATTABI, E. H.; LAKRAIMI, M.; BADREDDINE et al. Removal of remazol blue 19 from wastewater by zinc–aluminium–chloride-layered double hydroxides. **Appl. Water Sci.**, 3:431–438, 2013.

EVANS, A. M. Comparative pharmacology of S(+)-ibuprofen and (RS)-ibuprofen. **Clin. Rheumatol**, 9-14, 2001.

EVANS, D. G.; DUAN, X. Preparation of layered double hydroxides and their applications as additives in polymers, as precursors to magnetic materials and in biology and medicine. **Chem. Commun.**, 485–496, 2006.

ETCHEVERRY, S. B.; BARRIO, D. A.; CORTIZO et al. Three new vanadyl(IV) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs (Ibuprofen, Naproxen and Tolmetin). Bioactivity on osteoblast-like cells in culture. **J. Inorganic Biochemistry**, 88, 94–100, 2002.

FARAJI, A. H.; WIPF, P. Nanoparticles in cellular drug delivery. **Bioorganic Med. Chem.**, 17(8): 2950-2962, 2009.

FENG, Y. Formation and properties of second-stage layered double hydroxide materials. 2006, 149f. **These** (Chimie) – Universite Blaise Pascal, Aubiere, France, 2006.

FRUNZA, M. S.; POPA, M. I.; LISA et al. New hybrid compounds containing intercalated ciprofloxacin into layered double hydroxides: synthesis and characterization. **Revue Roumaine de Chimie**, 53(9), 827–831, 2008.

FROST, R. L.; WEIER, M. L.; KLOPROGGE, J. T. Raman spectroscopy of some natural hydrotalcites with sulphate and carbonate in the interlayer. **J. Raman Spectrosc.**, 34: 760–768, 2003.

GERDS, N.; KATIYAR, V.; KOCH et al. Synthesis and characterization of laurate-intercalated Mg–Al layered double hydroxide prepared by coprecipitation. **Applied Clay Science**, 65–66, 143–151, 2012.

GU, Z.; THOMAS, A. C.; XU et al. In vitro sustained release of Imwh from mgal-layered double hydroxide nanohybrids. **Chem. Mater.**, 20, 3715–3722, 2008.

GU, Z.; WU, A.; LI et al. Influence of hydrothermal treatment on physicochemical properties and drug release of anti-inflammatory drugs of intercalated layered double hydroxide nanoparticles. **Pharmaceutics**, 6(2): 235-248, 2014.

GUNAWAN, P.; XU, R. Direct control of drug release behavior from layered double hydroxides through particle interactions. **J. Pharm. Sci.**, 97(10): 4367-4378, 2008.

GURSKY, J. A.; BLOUGH, S. D.; LUNA et al. Particle-particle interactions between layered double hydroxide nanoparticles. **J. A. M. Chem. Soc.**, 128, 8376-8377, 2006.

GERDS, N.; KATIYAR, V.; KOCH et al. Synthesis and characterization of laurate-intercalated Mg–Al layered double hydroxide prepared by coprecipitation. **Applied Clay Science**, 65–66, 143–151, 2012.

GORDIJO, C. R.; BARBOSA, C. A.S.; FERREIRA et al. Immobilization of ibuprofen and copper-ibuprofen drugs on layered double hydroxides. **J. Pharm. Sci.**, 94(5): 1135-1148, 2005.

GROSSER, T.; FRIES, S.; FITZGERALD, G. A. Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. **J. Clin. Invest.**, 116: 4–15, 2006.

HAN, S.; HOU, W.; ZHANG et al. Structure and the point of zero charge of magnesium aluminium hydroxide. **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, 94(7), 915-918, 1998.

HAO, H.; WANG, G.; SUN, J. Enantioselective pharmacokinetics of ibuprofen and involved mechanisms. **Drug Metabolism Reviews**, 1:215–234, 2005.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Cyclooxygenase 2 inhibitors. **J. Pediatr. Rio J.**, 82(II): 206-212, 2006.

HUANG, W.; ZHANG, H.; PAN, D. Study on the release behavior and mechanism by monitoring the morphology changes of the large-sized drug-ldh nanohybrids. **American Institute of Chemical Engineers**, 57 (7), 1936–1946, 2011.

HUSSEIN, M. Z. B.; ZAINAL, Z.; YAHAYA et al. Controlled release of a plant growth regulator, *a*-naphthaleneacetate from the lamella of Zn–Al-layered double hydroxide nanocomposite. **J. Controlled Release**, 82, 417–427, 2002.

IYI, N.; KURASHIMA, K.; FUJITA, T. Orientation of an organic anion and second-staging structure in layered double-hydroxide intercalates. **Chem. Mater.**, 14, 583-589, 2002.

JIANG, X.; WANG, Y.; HERRICKS et al. Ethylene glycol-mediated synthesis of metal oxide nanowires. **J. Mater. Chem.**, 14, 695-703, 2004.

JOHNSON, C. H.; WILSON, I. D.; HARDING et al. NMR spectroscopic studies on the in vitro acyl glucuronide migration kinetics of ibuprofen ((±)-(R,S)-2-(4-isobutylphenyl) propanoic acid), its metabolites, and analogues. **Anal. Chem.**, 79, 8720-8727, 2007.

KANTONIS, G.; TRIKERIOTIS, M.; GHANOTAKIS, D. F. Biocompatible protoporphyrin IX-containing nanohybrids with potential applications in photodynamic therapy. **J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 185, 62–66, 2007.

KHODAVERDI, E.; HONARMANDI, R.; ALIBOLANDI et al. Evaluation of synthetic zeolites as oral delivery vehicle for anti-inflammatory drugs. **Iran J. Basic Med. Sci.**, 17:337-343, 2014.

KIM, H. J.; RYU, K.; KANG, J. H.; et al. Anticancer activity of ferulic acid-inorganic nanohybrids synthesized via two different hybridization routes, reconstruction and exfoliation-reassembly. **The ScientificWorld J.**, 1-9, 2013.

KUMAR, P. P.; KALINICHEV, A. G.; KIRKPATRICK, R. J. Molecular dynamics simulation of the energetics and structure of layered double hydroxides intercalated with carboxylic acids. **J. Phys. Chem. C**, 111, 13517-13523, 2007.

KWAK, S. Y.; JEONG, Y. J.; PARK et al. Bio-LDH nanohybrid for gene therapy. **Solid State Ionics**, 151, 229–234, 2002.

KANNAN, S.; VELU, S.; RAMKUMAR et al. Synthesis and physicochemical properties of cobalt aluminium hydrotalcites. **J. Mater Sci.**, 30(6): 1462-1468, 1995.

KHAN, A. I.; RAGAVAN, A.; FONG et al. Recent developments in the use of layered double hydroxides as host materials for the storage and triggered release of functional anions. **Ind. Eng. Chem. Res.**, 48, 10196–10205, 2009.

KLOPROGGE, J. T.; HICKEY, L.; FROST, R. L. FT-Raman and FT-IR spectroscopic study of synthetic Mg/Zn/Al-hydrotalcites. **J. Solid State Chemistry**, 177, 4047–4057, 2004.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.**, 18, 412-416, 1959.

LAGUNA, H.; LOERA, S.; IBARRA et al. Azoic dyes hosted on hydrotalcite-like compounds: Non-toxic hybrid pigments. **Microporous and Mesoporous Materials**, 98, 234–241, 2007.

LEI, X.; LU, W.; PENG et al. Activated MgAl-layered double hydroxide as solid base catalysts for the conversion of fatty acid methyl esters to monoethanolamides. **Applied Catalysis A: General**, 399, 87–92, 2011.

LEITE, E. R.; RIBEIRO, C. Crystallization and growth of colloidal nanocrystals. **Springer Briefs Mater.**, 1: 1-93, 2012.

LERF, A. Storylines in intercalation chemistry. **Dalton Trans.**, 43, 10276–10291, 2014.

LI, B.; HE, J.; EVANS et al. Inorganic layered double hydroxides as a drug delivery system: Intercalation and in vitro release of fenbufen. **Applied Clay Science**, 27, 199–207, 2004.

LI, B.; HE, J.; EVANS, D. G. Experimental investigation of sheet flexibility of layered double hydroxides: One-pot morphosynthesis of inorganic intercalates. **Chemical Engineering J.**, 144, 124–137, 2008.

LIMA, E.; FLORES, J.; CRUZ et al. Controlled release of ferulic acid from a hybrid hydrotalcite and its application as an antioxidant for human fibroblasts. **Microporous and Mesoporous Materials**, 181, 1–7, 2013.

LIMA, A. B.; SANTANA, M. B.; CARDOSO et al. Antinociceptive activity of 1-nitro-2-phenylethane, the main component of Aniba canelilla essential oil. **Phytomedicine**, 16(6-7): 555-559, 2009.

LIU, H.; JIAO, Q.; ZHAO et al. Mixed oxides derived from Cu–Co layered double hydroxide nanorods: Preparation, characterization and their catalytic activities. **J. Alloys and Compounds**, 496, 317–323, 2010.

LIU, X.; MA, R.; BANDO et al. Layered cobalt hydroxide nanocones: microwave-assisted synthesis. **Angew. Chem. Int. ed.**, 49, 8253–8256, 2010.

LU, Y.; ZHAO, Y. Synthesis of layered cathode materials $\text{Li}[\text{Co}_x\text{Ni}_y\text{Mn}_{1-x-y}]\text{O}_2$ from layered double hydroxide precursors. **Particuology**, 8, 202–206, 2010.

LU, X.; MENG, L.; LI et al. Facile fabrication of ibuprofen–LDH nanohybrids via a delamination/reassembling process. **Materials Research, Bulletin**, 48, 1512–1517, 2013.

LABAJOS, F. M.; RIVES, V.; ULIBARRI, M. A. Effect of hydrothermal and thermal treatments on the physicochemical properties of Mg–Al hydrotalcite-like materials. **J. Mater. Sci.**, 27(6): 1546-1552, 1992.

MA, R.; LIU, Z.; LI et al. Exfoliating layered double hydroxides in formamide: a method to obtain positively charged nanosheets. **J. Mater. Chem.**, 16, 3809–3813, 2006.

MEYER, O.; ROESSNER, F.; RAKOCZY et al. Impact of organic interlayer anions in hydrotalcite precursor on the catalytic activity of hydrotalcite-derived mixed oxides. **Chem. Cat. Chem.**, 2, 314–321, 2010.

MINGOS, D. M. P. Structure and bonding. **Springer**, 1-242, 2006.

MIYATA, S. Anion-exchange properties of hydrotalcite-like compounds. **Clays Clay Miner.**, 31(4): 305-311, 1983.

MOHANAMBE, L.; VASUDEVAN, S. Anionic clays containing anti-inflammatory drug molecules: comparison of molecular dynamics simulation and measurements. **J. Phys. Chem. B**, 109, 15651-15658, 2005.

MONTEIRO, B. R. B. Argilas aniónicas multifuncionais. 2009, 188f. **Tese** (Químico) – Universidade de Aveiro, Portugal, 2009.

MUSUMECI, A. W.; MORTIMER, G. M.; BUTLER et al. Fluorescent layered double hydroxide nanoparticles for biological studies. **Applied Clay Science**, 48, 271–279, 2010.

MASSON, O. Peakoc profile fitting program, **Version** 1.0, 1-6, 2010. <http://www.esrf.eu/Instrumentation/software/data-analysis>. Acessado em 01/03/2014

MASSON, O. PyLDHLineProfile program., 1: 1-2, 2014.

NEWMAN, S. P.; JONES, W. Synthesis, characterization and applications of layered double hydroxides containing organic guests. **New J. Chem.**, 22(2): 105-115, 1998.

NAKAYAMA, H.; WADA, N.; TSUHAKO, M. Intercalation of amino acids and peptides into Mg–Al layered double hydroxide by reconstruction method. **Inter. J. Pharmaceutics**, 269, 469–478, 2004.

NEILSON, J. R.; KURZMAN, J. A.; SESHADRI et al. Cobalt coordination and clustering in a-co(oh)₂ revealed by synchrotron x-ray total scattering. **Chem. Eur. J.**, 16, 9998–10006, 2010.

O'HARE, D. M.; ASHLEY, A. E. Drug delivery system comprising a drug intercalated between a layered double hidroxide. PCT/GB2001/005484, WO2002047729 A2, 12 dez. 2001, 20 jun. 2002. **Isis Innovation Limited**, 2002.

OSSVALD, W. Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas, Manual de Farmacologia e Farmacoterapia. **Man. Farmacol e Farmacoter** - 6^a ed., 6(9): 1-1024, 2006.

PARELLO, M. L.; ROJAS, R.; GIACOMELLI, C. E. Dissolution kinetics and mechanism of mg-al layered double hydroxides: a simple approach to describe drug release in acid media. **J. Colloid and Interface Science**, 351, 134–139, 2010.

PISSON, J.; TAVIOT-GUÉHO, C.; ISRAËLI et al. Staging of organic and inorganic anions in layered double hydroxides. **J. Phys. Chem. B.**, 107(35): 9243-9248, 2003.

PARK, T.; CHOY, J. H.; OH et al. Injectable drug carrier comprising layered double hydroxide. US 13/541,413, US9017719 B2, 2 jun. 2005, 28 abr. 2015, **Nanohybrid Co., Ltd.**, 2006.

PAVAN, P. C.; GOMES, G. A.; VALIM, J. B. Adsorption of sodium dodecyl sulfate on layered double hydroxides. **Microporous and Mesoporous Materials**, 21, 659-665, 1998.

PERIOLI, L.; POSATI, T.; NOCCHETTI et al. Intercalation and release of anti-inflammatory drug diclofenac into nanosized ZnAl hydrotalcite-like compound. **Applied Clay Science**, 53, 374–378, 2011.

PERIOLI, L.; NOCCHETTI, M.; GIANNELLI et al. Hydrotalcite composites for an effective fluoride buccal administration: a new technological approach. **Inter. J. Pharmaceutics**, 454, 259–268, 2013.

PESIC, L.; SALIPUROVIC, S.; MARKOVIC et al. Thermal Characteristics of a Synthetic Hydrotalcite-like Material. **J. Mater. Chem.**, 2(10), 1069-1073, 1992.

QIU, L.; QU, B. Preparation and characterization of surfactant-free polystyrene/layered double hydroxide exfoliated nanocomposite via soap-free emulsion polymerization. **J. Colloid and Interface Science**, 301, 347–351, 2006.

QIU, X.; LEPORATTI, S.; DONATH, E.; MÖHWALD, H. Studies on the Drug Release Properties of Polysaccharide Multilayers Encapsulated Ibuprofen Microparticles. **Langmuir**, 17, 5375-5380, 2001.

QIN, L.; WANG, S.; ZHANG et al. Two different approaches to synthesizing Mg–Al-layered double hydroxides as folic acid carriers. **J. Physics and Chemistry of Solids**, 69, 2779–2784, 2008.

QIN, L.; XUE, M.; WANG et al. The in vitro and in vivo anti-tumor effect of layered double hydroxides nanoparticles as delivery for podophyllotoxin. **Inter. J. Pharmaceutics**, 388, 223–230, 2010.

QIN, L.; WANG, W.; YOU et al. In vitro antioxidant activity and in vivo antifatigue effect of layered double hydroxide nanoparticles as delivery vehicles for folic acid. **Inter. J. Nanomedicine**, 9 5701–5710, 2014.

RADHA, A.V.; KAMATH, P. V.; SUBBANNA, G. N. Disorder in layered hydroxides: synthesis and DIFFaX simulation studies of Mg(OH)₂. **Materials Research Bulletin**, 38, 731–740, 2003.

RAMLI, M.; HUSSEIN, M. Z.; YUSOFF, K. Preparation and characterization of an anti-inflammatory agent based on a zinc-layered hydroxide-salicylate nanohybrid and its effect on viability of Vero-3 cells. **Inter. J. Nanomedicine**, 8, 297–306, 2013.

REICHLE, W. T.; KANG, S. Y.; EVERHARDT, D. S. The nature of the thermal decomposition of a catalytically active anionic clay mineral. **J. Catal.**, 101(2): 352-359, 1986.

REVERCHON, E.; ADAMI, R. Nanomaterials and supercritical fluids. **J. Supercritical Fluids**, 37, 1–22, 2006.

RICHARDSON, I. G. The importance of proper crystal-chemical and geometrical reasoning demonstrated using layered single and double hydroxides. **Acta Crystallog. B Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater**, 69: 150-162, 2013.

ROMÁN, M. S. S.; HOLGADO, M. J.; SALINAS et al. Characterisation of diclofenac , ketoprofen or chloramphenicol succinate encapsulated in layered double hydroxides with the hydrotalcite-type structure. **Applied Clay Science**, 55, 158–163, 2012.

RUBY, C.; AÏSSA, R.; GÉHIN et al. Green rusts synthesis by coprecipitation of FeII–FeIII ions and mass-balance diagram. **C. R. Geoscience**, 338, 420–432, 2006.

REICHEL, C.; BRUGGER, R.; BANG et al. Molecular Cloning and Expression of a 2-Arylpropionyl- Coenzyme A Epimerase: A Key Enzyme in the Inversion Metabolism of Ibuprofen. **Mol. Pharmacol**, 51: 576-582, 1997.

REY, F.; FORNES, V.; ROJO, J. M. Thermal Decomposition of Hydrotalcites. **J. Chem. Soc. Faraday trans.**, 88(15), 2233-2238, 1992.

RODRIGUES, C. J. Síntese, caracterização e aplicações de argilas aniônicas do tipo hidrotalcita. 2007, 112f. **Dissertação** (Químico) – UFRGS, Porto Alegre, RS, 2007.

ROJAS, R.; PALENA, M. C.; JIMENEZ-KAIRUZ et al. Modeling drug release from a layered double hydroxide–ibuprofen complex. **Applied Clay Science**, 62–63, 15–20, 2012.

ROMERO, A. L.; BAPTISTELLA, L. H. B.; COELHO et al. Resolução do ibuprofeno: um projeto para disciplina de química orgânica experimental. **Química Nova**, 35, 8, 1680-1685, 2012.

SIDERIS, P. J.; NIELSEN, U. G.; GAN et al. Mg/Al ordering in layered double hydroxides revealed by multinuclear NMR spectroscopy. **Science**, 321, 5885, 113-117, 2008.

SIPICZKI M. Functional materials syntheses, characterisation and catalytic applications. 2013. 83f. **PhD Dissertation** (Chemical) – Faculty of Science and Informatics, University of Szeged, Szeged, 2013.

SILION, M.; HRITCU, D.; Jaba et al. In vitro and in vivo behavior of ketoprofen intercalated into layered double hydroxides. **J. Mater. Sci. Mater Med.**, 21: 3009–3018, 2010.

SIVAK-SEARS, N. R.; SCHWARTZBAUM, J.A.; MIIKE et al. Case-control study of use of nonsteroidal antiinflammatory drugs and glioblastoma multiforme. **Am. J. Epidemiol**, 159: 1131–1139, 2004.

SLAGHEK, T. M.; BATENBURG, L. F.; FISCHER et al. Preparation for treatment of mineral deficiency. EP20050077820, **EP1795202 A1**, 7 dez. 2005, 13 jun. 2007.

SLOWING, I. I.; WU, C. W.; VIVERO-ESCOTO et al. Mesoporous silica nanoparticles for reducing hemolytic activity towards mammalian red blood cells. **Small**, 5(1): 57-62, 2009.

STOCKEL, R. Bisphosphonates inorganic carriers. US11/157,003, **US20060013893A1**, 20 jun. 2005, 19 jan. 2006.

Sun, Y.; Zhou, Y.; Wang et al. Structural and morphological transformations of Zn–Al layered double hydroxides through hydrothermal treatment. **Applied Surface Science**, 255, 6372–6377, 2009.

SEABRA, C. I. R. Farmacocinética do Ibuprofeno. 2015. 89f. **Dissertação** (Farmacêutico) - Universidade Fernando Pessoa, Porto-Portugal, 2015.

SHANKLAND, N.; WILSON, C. C.; FLORENCE et al. Refinement of ibuprofen at 100k by single-crystal pulsed neutron diffraction. **Acta Cryst.**, C53, 951-954, 1997.

Thyveetil, M. A.; Coveney, P. V.; Suter et al. Emergence of undulations and determination of materials properties in large-scale molecular dynamics simulation of layered double hydroxides. **Chem. Mater.**, 19, 5510-5523, 2007.

TRAN, P.; SMITH, S.; WONG, Y.; LU, G. Q. Molecular dynamic simulations of interactions between LDH and DNA bio-nanocomplex. **ISBN**, 978-1-4200-8505-1, vol. 3, 2008.

TRIKERIOTIS, M.; GHANOTAKIS, D. F. Intercalation of hydrophilic and hydrophobic antibiotics in layered double hydroxides. **Inter. J. Pharmaceutics**, 332, 176–184, 2007.

TRONTO, J.; BORDONAL, A. C.; NAAL et al. Conducting polymers/layered double hydroxides intercalated nanocomposites. **Mater. Sci. Adv. Top.**, 3-32, 2013.

TYRSTED, C. Formation Studies of Nanocrystalline Materials. 2013, 296f. **PhD Dissertation** (Chemical) – Aarhus University, USA, 2013.

THOMPSON, P.; COX, D. E.; HASTINGS, J. B. Rietveld refinement of debye-scherrer synchrotron x-ray data from Al₂O₃. **J. Appl. Cryst.**, 20, 79-83, 1987.

VIEIRA, A. C. Síntese, Caracterização e Aplicação de Hidróxidos Duplos Lamelares. 2009. 130f. **Dissertação** (Engenheiro Ambiental) – UFOP, 2009.

WANG, S. L.; WANG, P. C. In situ xrd and atr-ftir study on the molecular orientation of interlayer nitrate in mg/al-layered double hydroxides in water. **Colloids Surfaces A Physicochem Eng. Asp.**, 292(2-3): 131-138, 2007.

WANG, Y.; ZHANG, F.; XU et al. Preparation of layered double hydroxide microspheres by spray drying. **Ind. Eng. Chem. Res.**, 47, 5746–5750, 2008.

WANG, D. Y.; LEUTERITZ, A.; WANG et al. Preparation and burning behaviors of flame retarding biodegradable poly (lactic acid) nanocomposite based on zinc aluminum layered double hydroxide. **Polymer Degradation and Stability**, 95, 2474-2480, 2010.

WANG, J.; ZHOU, J.; LI et al. Magnetic, luminescent Eu-doped Mg-Al layered double hydroxide and its intercalation for ibuprofen. **Chem. Eur. J.**, 16, 14404–14411, 2010.

WANG, C. J. Controlled synthesis and properties of layered double hydroxides. 2012. 228f. **Thesis** (Chemistry-Inorganic) – University of Oxford., USA, 2012.

WASEDA, Y; MATSUBARA, E.; SHINODA, K. X-Ray diffraction crystallography. **Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg**, 2011.

WEI, M.; SHI, S.; WANG et al. Studies on the intercalation of naproxen into layered double hydroxide and its thermal decomposition by in situ ft-ir and in situ HT-XRD. **J. Solid State Chemistry**, 177, 2534–2541, 2004.

WARREN. B. E. X-ray diffraction, dover publications. **Inc, New York**, 200, 1990.

WILLIAMS, G. R.; O'HARE, D. Towards understanding, control and application of layered double hydroxide chemistry. **J. Mater. Chem.**, 16, 3065–3074, 2006.

WU, P. X.; LI, W.; ZHU et al. The protective effect of layered double hydroxide against damage to DNA induced by heavy metals. **Applied Clay Science**, 76–83, 2014.

XIA, S. J.; NI, Z. M.; XU et al. Layered double hydroxides as supports for intercalation and sustained release of antihypertensive drugs. **J. Solid State Chemistry**, 181, 2610– 2619, 2008.

XU, Z. P.; ZENG, H. C. Abrupt structural transformation in hydrotalcite-like compounds $Mg_{1-x}Al_x(OH)_2(NO_3)_x \cdot nH_2O$ as a continuous function of nitrate anions. **J. Phys. Chem. B**, 105, 1743-1749, 2001a.

XU, Z. P.; ZENG, H. C. Decomposition pathways of hydrotalcite-like compounds $Mg_{1-x}Al_x(OH)_2(NO_3)_x \cdot nH_2O$ as a continuous function of nitrate anions. **Chem. Mater.**, 13, 4564-4572, 2001b.

XU, Z. P.; ZENG, Q. H.; Lu et al. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. **Chemical Engineering Science**, 61, 1027 – 1040, 2006.

YAN, D.; LU, J.; MA et al. Benzocarbazole anions intercalated layered double hydroxide and its tunable fluorescence. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, 12, 15085–15092, 2010a.

YAN, H.; WEI, M.; MA et al. Plane-wave density functional theory study on the structural and energetic properties of cation-disordered Mg-Al layered double hydroxides. **J. Phys. Chem. A**, 114, 7369–7376, 2010b.

YANG, Z.; FISCHER, H.; CERZO et al. Aminobenzoate modified Mg/Al hydrotalcites as a novel smart additive of reinforced concrete for anticorrosion applications. **Construction and Building Materials**, 47, 1436–1443, 2013.

YIN, M. C.; LIN, C. C.; WU et al. Apoptotic effects of protocatechuic acid in human breast, lung, liver, cervix, and prostate cancer cells: potential mechanisms of action. **J. Agric. Food Chem.**, 57, 6468–6473, 2009.

YIN, H.; CUI, L.; AI et al. Electrochemical determination of bisphenol A at Mg–Al–CO₃ layered double hydroxide modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, 55, 603–610, 2010.

ZHANG, T.; LI, Q.; XIAO et al. Synthesis of li-al layered double hydroxides (ldhs) for efficient fluoride removal. **Ind. Eng. Chem. Res.**, 51, 11490-11498, 2012.

ZHANG, X. Q.; ZENG, M. G.; LI et al. Colloids and Surfaces B?: biointerfaces methotrexate intercalated layered double hydroxides with different particle sizes: Structural study and Controlled release properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 117, 98–106, 2014.

ZHANG, L.; CHEN, Y.; ZHANG et al. Highly selective sensing of hydrogen peroxide based on cobalt-ethylenediaminetetraacetate complex intercalated layered double hydroxide-enhanced luminol chemiluminescence. **Sensors and Actuators B**, 193, 752–758, 2014.

ZHAO, Y.; LI, F.; ZHANG et al. Preparation of Layered Double-Hydroxide Nanomaterials with a Uniform Crystallite Size Using a New Method Involving Separate Nucleation and Aging Steps. **Chem. Mater.**, 14(10): 4286-4291, 2002.

ZHOU, Y.; LI, J.; LU et al. A study on the hemocompatibility of dendronized chitosan derivatives in red blood cells. **Drug Design, Development and Therapy**, 9, 2635–2645, 2015.

ZHANG, H.; PAN, D.; DUAN, X. Synthesis, characterization, and magnetically controlled release behavior of novel core-shell structural magnetic ibuprofen-intercalated ldh nanohybrids. **J. Phys. Chem. C**, 113, 12140–12148, 2009.

Zhang, H.; Zou, K.; Guo et al. Nanostructural drug-inorganic clay composites: Structure, thermal property and in vitro release of captopril-intercalated Mg–Al-layered double hydroxides. **J. Solid State Chemistry**, 179, 1792–1801, 2006.

ANEXO

Súmula Curricular

1. Dados Pessoais

Paulo Robson Monteiro de Sousa

Nascimento: Taquandeuá, Bragança, 12 de dezembro de 1982.

2. Formação acadêmica

2013 – 2016 – Doutorado em Química

Universidade Federal do Pará – PA – Brasil

Período Sanduíche: Laboratório SPCTS (Science des Procédés Céramiques et de Traitements de Surfaces, Université de Limoges) France (Orientador: Prof. Dr. Olivier Masson)

Orientador: Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Cláudio Nahum Alves

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)

2011 – 2012 – Mestrado em Química

Universidade Federal do Pará – PA – Brasil

Orientador: Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Cláudio Nahum Alves

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)

2007 – 2010 – Graduação em Química (Licenciatura)

Universidade Federal do Pará – PA – Brasil

Orientador: Prof. Dr. Jerônimo Lameira Silva

3. Experiência Profissional e Atividades Científicas

- 2015–2016: Professor substituto. Universidade Estadual do Pará – UEPA.
- 2013–2014: Bolsa de doutorado sanduiche – Limoges na França.
- 2013–2017: Bolsa de doutorado – CNPq, programa de pós-graduação em Química da UFPA.

- 2012: Bolsa de mestrado – CNPq, programa de pós-graduação em Química da UFPA.
- 2010: Bolsa de Monitoria – PAPIM vinculado a UFPA.
- 2011: Tutor da Faculdade de Química da UFPA.

4. PRINCIPAIS PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

Para todas vide currículo lattes:

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4279847Z4>

Artigo Completo Aceito Para Publicação em Periódico

ROBSON SOUSA, JENNY, J.; OLIVIER et al. Structure and analgesic properties of layered double hydroxides intercalated with low amounts of Ibuprofen. *Journal of the American Ceramic Society*. **Manuscript ID: JACERS-39355. R1. Aceito em 30/12/2016.**

Artigos Completos Publicados em Periódicos

MORAES, G. L.; GOMES, G. C.; SOUSA et al. Structural and functional features of enzymes of *Mycobacterium tuberculosis* peptidoglycan biosynthesis as targets for drug development. **Tuberculosis (Edinburgh)**, v. 95, p. 95-111, **2015**.

SAMPAIO, L. F. S.; MESQUITA, F. P.; SOUSA et al. NRH: Quinone Reductase activity results in the accumulation of endogenous dopamine in the retina. **Neurotransmitter**, v. 2, p. 501-505, 2015.

SAMPAIO, L. F. S.; MESQUITA, F. P.; SOUSA et al. The melatonin analog 5-MCA-NAT increases endogenous dopamine levels by binding NRH:quinone reductase enzyme in the developing chick retina. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 38, p. 119-126, 2014.

SOUSA, P. R. M.; ALENCAR, N.; NELSON, A. N.; LIMA et al. Protein-Ligand Interaction Study of CpOGA in Complex with GlcNAcstatin. **Chemical Biology & Drug Design** (Print), v. 81, p. 284-290, 2013.

LIMA, A. H. L. E.; SOUSA, P.R. M.; ALENCAR ET AL. Molecular Modeling of *T. rangeli*, *T. brucei gambiense*, and *T. evansi* Sialidases in Complex with the DANA Inhibitor. **Chemical Biology & Drug Design** (Print), v. 80, p. 114-120-120, 2012.

ALENCAR, N.; SOUSA, P. R. M.; ALENCAR et al. Computational Analysis of Human OGA Structure in Complex with PUGNAc and NAG-Thiazoline Derivatives. **Journal of Chemical Information and Modeling** (Online), v. 52, p. 2775-2783, 2012.

Resumos Publicados em Anais de Congressos no Período de Doutorado

SOUSA, P. R. M.; DIAS, A. A.; ALVES et al. Intercalação do ácido ferúlico em hidróxidos duplos lamelares (HDL) de Zn/Al via método de coprecipitação. **39ª SBQ**, Goiânia, 2016.

ARAÚJO, R. N. M.; MIRANDA, C. V. M.; SOUSA et al. Intercalação da fração ácida do óleo de copaíba em hidróxidos duplos lamelares-Mg/Al pelo método de coprecipitação. **39ª SBQ**, Goiânia, 2016.

SOUSA, P. R. M. Study of Ibuprofen Intercalation in Layered Double Hydroxide (LDH). Erlangen, **Alemanha**, 2014.

MONTEIRO, W.; MENEZES, C.; SOUSA et al. Pre-ceramic Materials (Hydrotalcite like) Applied as Carriers of Organic Species Bio-active. Journées Thématiques sur Biomateriaux - Limoges, **França**, 2014.