UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

DENISE EULÁLIO

**Hidróxidos Duplos Lamelares: Estudos da Intercalação e
Liberação de N-acetil-L-cisteína**

Versão corrigida da Dissertação conforme Resolução CoPGr 5890
O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
11/02/2019

DENISE EULÁLIO

**Hidróxidos Duplos Lamelares: Estudos da Intercalação e
Liberação de N-acetil-L-cisteína**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Química*

Orientadora: Profa. Dra. Vera Regina Leopoldo Constantino

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Eh	Eulálio, Denise Hidróxidos Duplos Lamelares: Estudos da Intercalação e Liberação de N-acetil-L-cisteína / Denise Eulálio. - São Paulo, 2019. 145 p. Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental. Orientador: Constantino, Vera Regina Leopoldo 1. hidróxido duplo lamelar. 2. compostos de intercalação. 3. materiais lamelares . 4. N-acetil-L-cisteína . 5. antioxidante. I. T. II. Constantino, Vera Regina Leopoldo , orientador.
----	--

Dedico esta dissertação à minha mãe por todo apoio, dedicação e
presença em todos os momentos da minha vida.
Ao meu esposo pelo carinho, companheirismo e incentivo.
Aos meus velhos amigos da UFV-CRP, aos meus amigos da USP,
em especial ao grupo LaSol.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha querida orientadora, Profa. Dra. Vera R. L. Constantino, por ter me recebido de braços abertos no seu grupo de pesquisa, por muitas vezes me ouvir, pela excelente orientação, por todo apoio me concedido desde o início deste Mestrado, por toda sua paciência e compreensão, pelas várias vezes que com a pergunta certa me motivava. À sua família, Fernando e Joaquim, pelo apoio e pelos momentos de alegria compartilhados.

Ao Prof. Dr. Jairo Tronto, pela orientação durante a graduação e por seu apoio e incentivo, para que eu continuasse na área acadêmica, pelas colaborações em trabalhos e por toda sua paciência.

À Profa. Dra. Dalva L. A. de Faria, pela co-orientação, por sua paciência, pelo seu apoio, pelas conversas que me deixavam mais motivadas, por sua amizade, pelo seu carinho, por sua atenção, por estar sempre disposta a me receber para discutir resultados desta Dissertação, por sua imensurável ajuda no desenvolvimento das análises espectroscópicas. A Profa. foi para mim amiga, co-orientadora e psicóloga; serei eternamente grata por toda sua ajuda de todas as formas.

Aos Professores da banca de qualificação: Prof. Dr. Lucas V. Carvalho, Prof. Dr. Rômulo A. Ando e Prof. Dr. Vitor M. Zamarion, pelas sugestões que se tornaram inspiradoras e, em especial, ao Prof. Lucas por sua amizade e apoio.

Aos funcionários Ricardo, Cida, Michele, Armando, Lucia, Alceu e Marcelo, pelo apoio, amizade e por serem sempre prestativos e dispostos a ajudar.

Aos funcionários Milton e Vanderlei, por toda ajuda e por serem sempre prestativos.

À Profa. Dra. Christine Taviot-Gueho e Dr. Fabrice Leroux do Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF) da Université Clermont Auvergne (UCA), França, pela análise de difratometria de raios X e pelos espectros de RMN de carbono-13 e alumínio-27.

À Profa. Dra. Cristina H. R. Serra e seus alunos Ruberlan e Edilson da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelo apoio, ensinamentos e por serem sempre prestativos.

À Central Analítica do Instituto de Química da USP pelos resultados de análise química.

Ao Prof. Marcos Augusto Bizeto do Núcleo de Instrumentação para Pesquisa e Ensino da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Campus Diadema pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura.

Ao Laboratório de Cristalografia do Departamento de Física Aplicada do Instituto de Física da USP coordenado pela Profa. Dra. Márcia C. A. Fantini, pelas análises de difratometria de raios X e, em especial, ao Técnico Tarsis M. Germano por todo apoio, excelente atendimento, sempre disposto em ajudar a encontrar a melhor condição para análise, pelas conversas e cafés.

Aos alunos do Laboratório de Espectroscopia Molecular (LEM) do IQ-USP: Laura, Isabela F. S. Santos, Jayr, Rodrigo V. Moreira, Giordano, Evandro P. da Silva pela amizade, apoio, e por sempre estarem dispostos a ajudar. Em especial agradeço ao Otávio M. Gil por toda sua ajuda nesta reta final, pela ajuda com as análises espectroscópicas das amostras apresentadas nesta Dissertação, pela amizade e apoio; ao Evandro por todas as vezes que estava disposto a discutir os resultados desta Dissertação.

Aos alunos do Laboratório Química Supramolecular e Nanotecnologia do IQ-USP: Ana Paula, Júlio, Helton Pereira, Daniel, Josué, por toda ajuda, amizade e apoio.

Aos alunos do laboratório de Bioinorgânica Catálise e Farmacologia coordenado pela Profa. Ana Maria C. Ferreira do IQ-USP: Adriana, Camila, Rodrigo, Cleia, Maurício, Marcelo por toda ajuda, amizade e apoio.

Aos alunos do laboratório nanoLab GrAND coordenado pelo Prof. Pedro H. C. Camargo: Eduardo Barbosa, Eduardo Carmine, Paulo de Oliveira, Jhon e Vitor Ribeiro, pela amizade, apoio e risadas.

Aos alunos do Prof. Dr. Vitor Zamarion: Vanessa e Diego pela amizade, apoio e momentos de alegria.

Ao aluno Jefferson do laboratório de Química Inorgânica Sintética e Estrutural pela amizade, apoio e auxílio na utilização do HPLC.

Aos alunos do IQ-USP que participaram de monitorias comigo: Gustavo Cervi, Bassim Mounssef, Marcelo C. Portes, Eduardo Carmine pelo apoio, auxílio e amizade.

Aos supervisores de monitoria realizadas no IQ-USP: Prof. Dr. Breno P. Espósito, Prof. Dra. Denise O. Silva, Prof. Dr. Lucas V. Carvalho, Prof. Dr. Flávio M. Vichi e Prof. Dr. Pedro H. C. Camargo pelos ensinamentos e apoio.

Aos meus amigos da UFV-CRP: Barbara Caetano, Barbara Helena, Aline Silva, Alyne Souza, Amanda K. Martins, Amanda Oliveira, Brenda, Karine, Samarina, pela amizade e apoio.

Aos alunos e Professores do grupo de Compostos Lamelares coordenado pelo Prof. Dr. Jairo Tonto da UFV-CRP: Victor, Ana Rita, Valber, Jader, Vander, Gustavo, Luiz, Rodrigo, Rosembergue, Silas, Roberta, Prof. Dr. Frederico G. Pinto, Prof. Dr. Geraldo, pela amizade, apoio e incentivo.

Ao grupo de pesquisa Lasol: Mariana, Carol, Vagner, Victor, Rafael, Vanessa Roberta, Vanessa Sakai, Thiago, Lister, Fernando, Paulo, pela amizade, pela ajuda, pelas conversas,

pelas risadas, pelos momentos de alegria compartilhados, por todas as vezes que discutimos resultados na sala de estudos, em especial agradeço ao Rafael, pois sempre levantava questões pertinentes que colaboravam bastantes para o andamento do projeto. Ao Victor por todas as vezes que me ajudou com as análises espectroscópicas. Agradeço eternamente a todos por me receberem de braços abertos no grupo, pois mesmo que em muitas vezes a saudade de Minas e da UFV-CRP era grande este grupo fez com que eu me sentisse em casa.

Aos meus amigos do Crusp: Nathalia, Lady Vanessa, Tatiane, Luisiane, Karine, Karla, Isadora, Débora, Hugo, pela amizade, momentos de alegria e por todo apoio.

Aos funcionários dos Restaurante Universitário da USP, aos funcionários da limpeza, ao serviço de zeladoria, por serem sempre prestativos e, em especial, a minha assistente social Natália F. Crispim por toda ajuda e apoio.

Às meninas do apartamento do Crusp: Noemi pela amizade, apoio e momentos alegres; Poliana (Pollysinha) pela amizade, por ser meu despertador e me ajudar acordar cedo, pelo apoio, pelos conselhos, pelas conversas, pelas risadas, pelos momentos de comprar juntas, sou eternamente grata por você ser a irmã mais nova que não tive.

Aos meus amigos Peruanos: Miguel, Mariela, Diana, Nury, Evelyn, Joseph, Hans, Mirla, pela amizade, pelos momentos alegres, por sempre me convidarem para as confraternizações e por todo apoio incondicional.

Ao CNPq pela bolsa de Desenvolvimento Tecnológico Industrial Nível C (DTI-C), concedida de abril a novembro de 2017.

À FAPESP pelo auxílio através do projeto temático e ao CNPq pelo auxílio em congressos e pela bolsa concedida de 08/2018 a 02/2019.

A toda minha família, em especial aos meus irmãos Aline, Denilson e Winderson, e aos meus primos Fernanda, Francine, Felipe, Luana, Robson, Rafael e Rodrigo pela amizade serei eternamente grata.

À minha mãezinha por todo apoio, carinho, amor, paciência, incentivo, por sempre estar disposta a me ajudar desde criança.

Ao meu querido esposo pelo companheirismo, paciência, apoio, incentivo, carinho e amor durante esses 10 anos de convivência.

Enfim serei eternamente grata a todas as pessoas que Deus de alguma forma colocou na minha jornada, até mesmo as pessoas que de alguma forma me fizeram algum mal, por terem passado pela minha vida, pois sempre é possível aprender mesmo nos piores momentos da vida. Peço desculpas se esqueci de alguém, sem mais delongas muito (muito elevado a 10000) obrigada, sem todas essas pessoas não seria possível a realização desta Dissertação.

*“Às vezes somos guiados pelo que dizemos de nós mesmos e
com muita frequência pelo que outras pessoas dizem de nós,
sem que paremos para refletir e julgar”*

Jane Austen
(Orgulho e Preconceito)

RESUMO

(Eulálio, D.) **Hidróxidos Duplos Lamelares: Estudos da Intercalação e Liberação de N-acetil-L-cisteína**. 2019. 142 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Os hidróxidos duplos lamelares (HDLs) compreendem uma extensa classe de materiais naturais e sintéticos, cujas estruturas e propriedades são frequentemente comparadas com as do mineral hidrotalcita. O estudo da intercalação de espécies de interesse farmacológico em HDLs tem ganhado a atenção da comunidade científica. O objetivo desta Dissertação foi o estudo da intercalação e liberação da espécie antioxidante N-acetil-L-cisteína (NAC) em HDLs de zinco-alumínio ($\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$) e magnésio-alumínio ($\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$). Espécies antioxidantes de modo geral apresentam características como baixa estabilidade química frente à luz e ao calor, sensibilidade ao valor do pH do meio e, algumas, baixa solubilidade. HDLs podem ser utilizados como carregadores de espécies antioxidantes para contornar as características indesejadas supracitadas.

Os HDLs foram sintetizados através do método de coprecipitação, utilizando diferentes condições experimentais. Os materiais obtidos foram caracterizados por técnicas estruturais, espectroscópicas, térmicas, texturais e de análise química elementar. A liberação foi estudada através de experimentos *in vitro* de NAC intercalada ou imobilizada em HDL, empregando meio biológico simulado, nos métodos dinâmico e estático.

Os difratogramas de raios X das amostras de HDL de zinco mostram que a síntese realizada a 55°C conduz à formação de material de alta cristalinidade e reflexão (003) igual a 16,3 Å. O material possui partículas planas e com baixo grau de agregação. Os resultados de espectroscopia vibracional e ^{13}C -RMN confirmam a manutenção da integridade estrutural da NAC após intercalação e, ainda, sugerem que ocorreu a desprotonação dos grupos carboxílico e tiol. As lamelas possuem sítios distintos de alumínio hexacordenado, segundo o espectro de ^{27}Al -RMN. O conjunto de técnicas de caracterização indicam a substituição de parte dos íons hidroxila das lamelas pelo oxigênio do grupo carboxilato da NAC. Os ensaios de liberação *in vitro* sugerem um processo modificado (prolongado) da NAC, visto que no método dinâmico foi liberado 35% dessa espécie em 96 horas, enquanto no método estático ocorreu a liberação de 20%. As análises estratigráficas após o ensaio comprovam que ocorreu a liberação apenas das regiões mais externas do comprimido.

Os resultados das sínteses do HDL de magnésio não indicam a intercalação da NAC para essa matriz, mesmo empregando diferentes parâmetros experimentais. A espectroscopia Raman sugere que ocorreu a oxidação parcial dos ânions de NAC devido ao aparecimento da banda de estiramento $\nu\text{S-S}$ (508 cm^{-1}). O espectro de ^{13}C -RMN concorda com o resultado da espectroscopia Raman. Os dados de liberação *in vitro* corroboram a proposta de que a NAC está apenas imobilizada na superfície do HDL, visto que no método estático levou-se 12 horas para liberar 90% da NAC, sugerindo uma liberação rápida. As análises estratigráficas dos materiais após os testes de liberação dos dois métodos comprovam liberação total da NAC.

Palavras-chave: hidróxido duplo lamelar, compostos de intercalação, materiais lamelares, N-acetil-L-cisteína, antioxidante.

ABSTRACT

(Eulálio, D.) **Layered Double Hydroxides: Studies about Intercalation and release of N-acetyl-L-cysteine**. 2019. 142 p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Layered double hydroxides (LDHs) comprise an extensive class of natural and synthetic materials, which structures and properties are often compared to those of hydrotalcite mineral. The study about intercalation of species of pharmacological interest into LDHs has gained the attention of the scientific community. The aim of this Dissertation was to investigate the intercalation and release of the antioxidant N-acetyl-L-cysteine (NAC) into LDHs of zinc-aluminum ($\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$) and magnesium-aluminum ($\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$) composition. Antioxidant species generally exhibit characteristics such as low chemical stability towards light and heat, sensitivity to the pH value of the medium and, some of them, low solubility. LDHs can be used as carriers of antioxidant species to circumvent the undesirable properties.

LDHs were synthesized using the coprecipitation method and exploiting different experimental conditions. The obtained materials were characterized by structural, spectroscopic, thermal, textural and elemental chemical analysis techniques. The release of intercalated or immobilized NAC was studied by *in vitro* experiments in simulated biological medium, using the dynamic and static methods.

The X-ray diffractograms of LDH samples of zinc show that the synthesis performed at 55°C leads to a high crystalline material and the (003) reflection equal to $16.3 \text{ \AA}$. The material has flat particles and a low degree of aggregation. The results of vibrational spectroscopy and $^{13}\text{C-NMR}$ confirm the structural integrity of NAC after intercalation, and also suggest that the deprotonation of the carboxylic and thiol groups occurred. The LDH layer has distinct sites of hexacoordinate aluminum, according to the $^{27}\text{Al-NMR}$ spectroscopy. The set of characterization techniques indicates the partial substitution of hydroxide ions in the layers by the oxygen of NAC carboxylate group. The *in vitro* assays of NAC release suggest a modified (prolonged) process, since 35% of this species was released in 96 h in the dynamic method while occurred 20% of release in the static method. Stratigraphic analyzes of the LDH-NAC tablet after the release test demonstrate that only the species of the outermost regions of the tablet were delivered.

The results of magnesium-LDH syntheses do not indicate the intercalation of NAC into the matrix, even using different experimental parameters. Raman spectroscopy suggests that partial oxidation of NAC anions occurred due to the appearance of the band assigned to $\nu\text{S-S}$ (508 cm^{-1}). The $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ agrees with the result of Raman spectroscopy. *In vitro* release data corroborate the proposition that NAC is only immobilized on the LDH surface, since it took 12 h to release 90% of NAC in the static method, suggesting a rapid process. The stratigraphic analyzes of the material after the release tests by the two methods confirm the total release of NAC.

Keywords: layered double hydroxides, intercalation compounds, layered materials, N-acetyl-L-cysteine and antioxidant.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

XRD	X-ray Diffraction (Difratometria de raios X)
FTIR/ATR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy /Attenuated Total Reflection (Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier com acessório de Reflexão Total Atenuada)
FT-Raman	Fourier Transform Raman Spectroscopy (Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier)
TG	Thermogravimetry (Termogravimetria)
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Calorimetria Exploratória Diferencial)
DTG	Derivative Thermogravimetry (Primeira Derivada da curva TG)
MS	Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas)
SEM	Scanning Electron Microscopy (Microscopia Eletrônica de Varredura)
CHN	Análise Elementar de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)
HDLs	Hidróxidos Duplos Lamelares
NAC	N-Acetil-L-cisteína
T.a	Temperatura ambiente
Δm	Variação de massa
SBF	Simulated body fluid (Fluido corporal simulado)
HDLs M₂Al-Cl	Hidróxido Duplo Lamelar de magnésio/alumínio ou zinco/alumínio com razão molar M ²⁺ /Al ³⁺ igual a 2, onde M= Mg ou Zn
Zn₂Al-Cl ou Mg₂Al-Cl	HDL-Zn ₂ Al ou Mg ₂ Al intercalados com íons cloreto
Zn₂Al-NAC ou Mg₂Al-NAC	HDL-Zn ₂ Al ou Mg ₂ Al intercalados com íons derivado da N-Acetil-L-cisteína
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária

GLOSSÁRIO

Liberação imediata	tipo de liberação de formas farmacêuticas que não são modificadas intencionalmente por um desenho de formulação especial e/ou método de fabricação. ¹
Liberação modificada	modelo de liberação de um fármaco a partir da forma farmacêutica que foi deliberada modificada, descreve formas farmacêuticas que apresentam características de liberação do fármaco <i>versus</i> tempo e/ou condições no local de dissolução são selecionados, para alcançar os objetivos terapêuticos e/ou de conveniências não oferecidas pelas formas de liberação imediata ou convencional. ² O “Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos”, da ANVISA diferencia as formas de liberação modificada em liberação prolongada e liberação retardada. ¹
Liberação prolongada	tipo de liberação modificada de formas farmacêuticas que permite pelo menos uma redução na frequência de dose quando comparada com o medicamento apresentado na forma de liberação imediata. É obtida por meio de um desenho de formulação especial e/ou método de fabricação. ¹
Liberação retardada	tipo de liberação modificada de formas farmacêuticas que apresenta uma liberação retardada do princípio ativo. A liberação retardada é obtida por meio de um desenho de formulação especial e/ou método de fabricação. As preparações gastrorresistentes são consideradas formas de liberação retardada, pois são destinadas a resistir ao fluido gástrico e liberar o princípio ativo no fluido intestinal. ¹

¹ Brasil. Vocabulário controlado de formas farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos, 1º Edição/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasileira: Anvisa, 2011.

² Allen JR LV, Popovich NG, Ansel HC. Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. Tradução Lemos- Senna E. et al. 8a ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2007. 776 p.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Representação esquemática da estrutura de um HDL.....	27
Figura 2:	Representação esquemática dos polítipos 3R, 2H e 1H. Adaptado de Crepaldi e Valim (1998) (4).....	28
Figura 3:	Número de artigos publicados desde de 1990 até 2018. Fonte: base de dados Web of Science (26/10/2018), utilizando as palavras-chave: layered double hydroxides and hydrotalcite or layered double hydroxides and antioxidant or layered double hydroxides and anti-inflammatory or layered double hydroxides and drug delivery or layered double hydroxides and in vitro or layered double hydroxides and in vivo or anionic clays or layered double hydroxides.....	31
Figura 4:	Representação estrutural dos enantiômeros (a) N-acetil-D-cisteína e (b) N-acetil-L-cisteína, obtida através do software ChemDraw Ultra 12.0 (Cambridge).	38
Figura 5:	Representação esquemática para curva de liberação para as Formas farmacêuticas convencional e modificada. Adaptada de Das e Pal (2015) (77).....	39
Figura 6:	Representação esquemática do aparato utilizado na síntese dos HDLs... ..	48
Figura 7:	Esquema ilustrativo do arranjo experimental empregando o aparato 1 utilizado no ensaio no modo dinâmico, conforme ilustrado por Rocha (2015) (9).	55
Figura 8:	Esquema ilustrativo do arranjo experimental utilizado no ensaio no modo estático.	56
Figura 9:	Difratogramas de raios X (A): (a) N-acetil-L-cisteína adquirida da Sigma-Aldrich e dos polimorfos (b) Polimorfo I e (c) Polimorfo II reportado por Kumar e Nangia (97); (B): Ampliação dos difratogramas mostrados em (A).....	59
Figura 10:	Estruturas conformacionais da NAC nos polimorfos I e II, obtidas no programa de estrutura cristalina Discovery Studio 4.0, a partir dos dados cristalográficos depositados no CCDC por Kumar e Nangia (97).....	61

Figura 11:	Empacotamento cristalino dos polimorfos I e II, obtidas no programa Vesta versão 3, a partir dos dados cristalográficos depositados no CCDC por Kumar e Nagia (97).	61
Figura 12:	Distribuição de espécies da NAC, sendo α a fração de espécies, obtida através do programa CurTiPOt, desenvolvido pelo Prof. Dr. Ivano G. R. Gutz, do Instituto de Química da USP.	62
Figura 13:	Espectros FTIR das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC-solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC-solução pH 8,5 liofilizada, (e) NAC-solução pH 9,5 liofilizada e (f) NAC-solução pH 11,0 liofilizada.....	63
Figura 14:	Espectros FT-Raman das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC-solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC-solução pH 8,5 liofilizada, (e) NAC-solução pH 9,5 liofilizada e (f) NAC-solução pH 11,0 liofilizada.....	64
Figura 15:	Curva DSC obtida para a amostra NAC Sigma-Aldrich (taxa de aquecimento 5°C/min).	66
Figura 16:	Curvas TG-DSC e DTG-MS obtidas para as amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH= 7,5 liofilizada e (c) NAC- solução pH= 11,0 liofilizada.....	69
Figura 17:	Difratogramas de raios X dos HDLs, sintetizados em diferentes condições experimentais: (a) Zn ₂ Al-NAC (condição 1) e (b) Zn ₂ Al-NAC.55°C (condição 3).	71
Figura 18:	Difratogramas de raios X das amostras (a) N-acetil-L-cisteína Sigma-Aldrich, (b) Zn ₂ Al-Cl.55°C e (c) Zn ₂ Al-NAC.55°C.....	72
Figura 19:	Representação do plano [110] de um HDL utilizando modelos de esferas para indicar as distâncias interplanares d(hk0).	74
Figura 20:	Dimensões da NAC obtidas utilizando do software ChemDraw Ultra 12.0 (Cambridge).	74
Figura 21:	Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos HDLs Zn ₂ Al-Cl.55°C e Zn ₂ Al-NAC.55°C, em duas ampliações: x20.000 (esquerda) e x35.000 (direita).	75

Figura 22:	Espectros FTIR das amostras: (a) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, (b) NAC-solução pH=7,5 liofilizada e (c) NAC-solução pH=11,0 liofilizada.....	76
Figura 23:	Espectros FTIR das amostras: (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl. 55}^\circ\text{C}$ e (d) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$	76
Figura 24:	Espectros FT-Raman das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) $\text{Zn}_2\text{AlCl.55}^\circ\text{C}$ e (d) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$	78
Figura 25:	Curvas TG-DSC e DTG-MS obtidas para (a) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e (b) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$	80
Figura 26:	Difratogramas de raios X dos resíduos de análise térmica das amostras $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ (traço preto) e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (traço vermelho), obtidos a 1000°C (@artefato do difratômetro da Rigaku).	84
Figura 27:	Espectros FTIR dos resíduos de análises térmicas das amostras (traço preto) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e (traço vermelho) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ obtidos a 1000°C	84
Figura 28:	Representação esquemática dos tipos de interação que o grupo CO_2^- da NAC poderia estabelecer com a matriz de HDL. Adaptada de Zelenák et al. (2006) (119).....	86
Figura 29:	Espectro de ^{13}C -RMN no estado sólido da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$...	88
Figura 30:	(A) Ambiente ao redor do átomo de oxigênio do ânion hidroxila e (B) Ambiente ao redor do cátion metálico.	90
Figura 31:	Espectro de ^{27}Al -RMN no estado sólido da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC-55}^\circ\text{C}$. Diff é a diferença entre o espectro experimental e o simulado.	91
Figura 32:	Espectros FTIR da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) antes de aquecimento e (b) após aquecimento até 250°C	92
Figura 33:	Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ em meio SBF (37°C) e método dinâmico.	94
Figura 34:	Difratogramas de raios X do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C). (Registrados no difratômetro da Rigaku)	95
Figura 35:	Espectros FTIR do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C).	96

Figura 36:	(A) Espectros Raman (laser 785 nm) ao longo da secção meridional dos comprimidos de (a) e (b) regiões R1 e R5 do comprimido de Zn ₂ Al-NAC.55°C após 96 h de ensaio de liberação; (c), (d) e (e) Zn ₂ Al-NAC.55°C regiões R2, R3 e R4 do comprimido após o ensaio de liberação e (f) Zn ₂ Al-NAC.55°C antes do ensaio de liberação no modo dinâmico. (B) Pontos onde foram coletados os espectros no comprimido ao longo da secção meridional: R1 e R5 correspondem às regiões mais externas do comprimido, sendo R2, R3 e R4 as regiões mais internas....	97
Figura 37:	Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido Zn ₂ Al-NAC.55°C em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) empregando método estático.....	100
Figura 38:	Difratogramas de raios X do comprimido Zn ₂ Al-NAC.55°C (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C). (Registrados no difratômetro da Rigaku).....	101
Figura 39:	Espectro FTIR do comprimido Zn ₂ Al-NAC.55°C (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C)....	102
Figura 40:	(A) Espectros Raman (laser 785 nm) ao longo da secção meridional dos comprimidos de (a) e (b) R1 e R5 de Zn ₂ Al-NAC.55°C após 96 h de ensaio de liberação; (c), (d) e (e) Zn ₂ Al-NAC.55°C regiões R2, R3 e R4, respectivamente e (f) Zn ₂ Al-NAC.55°C antes do ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C). (B) Pontos onde foram coletados os espectros no comprimido ao longo da secção meridional: R1 e R5 correspondem às regiões mais externas do comprimido, sendo R2, R3 e R4 as regiões mais internas.....	103
Figura 41:	Difratogramas de raios X das amostras (a) N-acetil-L-cisteína, (b) Mg ₂ Al-Cl e (c) Mg ₂ Al-NAC (* artefato do equipamento).	105
Figura 42:	Difratogramas de raios X das amostras (a) Mg ₂ Al-NAC, (b) Mg ₂ Al-0,5NAC, (c) Mg ₂ Al-2NAC (d) Mg ₂ Al-NAC.24h. Refl.90°C e (e) Mg ₂ Al-NAC.55°C (*artefato do equipamento).....	106
Figura 43:	Imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras Mg ₂ Al-Cl e Mg ₂ Al-NAC, em duas magnificações x20.000 (esquerda) e x35.000 (direita).....	107
Figura 44:	Espectros FTIR das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH=9,5 liofilizada, (c) Mg ₂ Al-Cl e (d) Mg ₂ Al-NAC.....	108

Figura 45:	Espectros FT-Raman das amostras (a) NAC, (b) NAC-solução pH=9,5 liofilizada, (c) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (d) Mg ₂ Al-Cl e (e) Mg ₂ Al-NAC.	109
Figura 46:	Curvas TG-DSC e DTG-MS obtidas para (a) Mg ₂ Al-Cl e (b) Mg ₂ Al-NAC.	111
Figura 47:	Difratogramas de raios X dos resíduos de análise térmica para (a) Mg ₂ Al-Cl e (b) Mg ₂ Al-NAC, obtidas a 1000°C. (Registrados no difratômetro da Rigaku).....	115
Figura 48:	Espectros FTIR dos resíduos de análise térmica das (a) Mg ₂ Al-Cl, (b) Mg ₂ Al-Cl (15 meses após análise térmica) e (c) Mg ₂ Al-NAC, obtidas a 1000°C.	115
Figura 49:	Espectro de ¹³ C-RMN no estado sólido da amostra Mg ₂ Al-NAC.	117
Figura 50:	Espectro de ²⁷ Al-RMN no estado sólido da amostra Mg ₂ Al-NAC. Diff é a diferença entre o espectro experimental e o simulado.	118
Figura 51:	Difratogramas de raios X do comprimido Mg ₂ Al-NAC (a) após o ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação. (Registrados no difratômetro da Rigaku)..	120
Figura 52:	Espectro FTIR do comprimido Mg ₂ Al-NAC (a) após o ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação.	121
Figura 53:	Espectros Raman (laser 785nm) dos comprimidos (a) Mg ₂ Al-NAC após 96 h de ensaio de liberação no modo dinâmico em meio aquoso (pH=7,4) e (b) Mg ₂ Al-NAC antes do ensaio de liberação.....	122
Figura 54:	Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido Mg ₂ Al-NAC em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e método estático.....	124
Figura 55:	Difratogramas de raios X do comprimido Mg ₂ Al-NAC (a) após o ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação. (Registrados no difratômetro da Rigaku).....	125
Figura 56:	Espectros FTIR do comprimido Mg ₂ Al-NAC (a) após o ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação.	126

Figura 57:	Espectros Raman (laser 785 nm) dos comprimidos de (a) Mg_2Al -NAC após 96 h de ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) Mg_2Al -NAC antes do ensaio de liberação.	127
-------------------	--	-----

Apêndice A

Figura A 1:	Curva analítica da NAC até 50 mg L ⁻¹	146
Figura A 2:	Espectros eletrônicos de absorção no UV-Vis das concentrações de NAC no intervalo de concentração de 0 a 50 ppm.....	147

Apêndice B

Figura B 1:	Espectros FTIR das amostras (a) NAC, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC-solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC- solução pH 8,5 liofilizada, (d) NAC- solução pH 9,5 liofilizada e (e) NAC- solução pH 11,0 liofilizada.....	148
Figura B 2:	Espectros Raman das amostras (a) NAC, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC- solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC- solução pH 8,5 liofilizada, (d) NAC- solução pH 9,5 liofilizada e (e) NAC- solução pH 11,0 liofilizada.....	149

Apêndice C

Figura C 1:	Espectros FTIR das amostras (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) Zn_2AlCl . 55°C e (d) Zn_2Al -NAC.55°C.	150
Figura C 2:	Espectros FTIR das amostras (a) Zn_2Al -NAC e (b) Zn_2Al -NAC.55°C...	150
Figura C 3:	Espectros Raman (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) Zn_2AlCl . 55°C e (d) Zn_2Al -NAC.55°C.....	151
Figura C 4:	Curva TG-DTG das amostras Zn_2Al -NAC (traço vermelho) e Zn_2Al -NAC.55°C (traço preto).	151

Apêndice D

Figura D 1:	Espectros FTIR das amostras (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC-solução pH=9,5 liofilizada, (c) Mg_2Al-Cl e (d) $Mg_2Al-NAC$	152
Figura D 2:	Espectros FTIR das amostras (a) $Mg_2Al-NAC$, (b) $Mg_2Al-0,5NAC$, (c) $Mg_2Al-2NAC$, (d) $Mg_2Al-NAC.24h.$ Refl.90°C e (e) $Mg_2Al-NAC.55°C$	152
Figura D 3:	Espectros Raman das amostras (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC-solução pH=9,5 liofilizada, (c) Mg_2Al-Cl e (d) $Mg_2Al-NAC$	153
Figura D 4:	Curvas TG-DTG das amostras $Mg_2Al-NAC$ (traço preto), $Mg_2Al-0,5NAC$ (traço rosa), $Mg_2Al-2NAC$ (traço verde), $Mg_2Al-NAC.24h.$ Refl.90°C (traço vermelho) e $Mg_2Al-NAC.55°C$ (traço azul).....	153
Figura D 5:	Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido $Mg_2Al-NAC$ em meio SBF (pH 7,4 e 37°C) e método dinâmico.	155

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Exemplos de alguns HDLs naturais, suas fórmula e politipismo (4,11)..	29
Tabela 2:	Trabalhos publicados sobre HDLs intercalados com espécies antioxidantes no período de 2005-2018.	33
Tabela 3:	Reagentes utilizados neste trabalho.	46
Tabela 4:	Condições de síntese dos HDLs e identificação dos materiais sintetizados.	49
Tabela 5:	Equipamentos utilizados nos procedimentos experimentais de síntese, tratamento pós síntese, preparo dos sais e preparo de amostra para análise química dos HDLs.	50
Tabela 6:	Quantidade de reagentes para o preparo do meio de dissolução SBF para 1 L de água deionizada.	54
Tabela 7:	Valores de ângulo de reflexão 2θ (graus) e distâncias interplanares (d) obtidos a partir dos difratogramas de raios X dos polimorfos reportados por Kumar e Nangia e da NAC obtida da Sigma-Aldrich.	60
Tabela 8:	Dados de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman das amostras NAC-solução liofilizada e a NAC isolada por liofilização a partir de soluções em diferentes valores de pH (97–103). .	65
Tabela 9:	Dados experimentais de análise térmica acoplado ao massas da amostra NAC (Sigma-Aldrich) e dos sólidos liofilizados de soluções de NAC obtidos em diferentes valores de pH.	68
Tabela 10:	Valores de ângulo de reflexão 2θ (graus) e distâncias interplanares $d(hkl)$ dos materiais $Zn_2Al-Cl.55^\circ C$ e $Zn_2Al-NAC.55^\circ C$	73
Tabela 11:	Dados experimentais de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman dos HDLs $Zn_2Al-Cl.55^\circ C$ e $Zn_2Al-NAC-.55^\circ C$ (97–103,110).	77
Tabela 12:	Fórmula proposta para os HDLs $Zn_2Al-Cl.55^\circ C$ e $Zn_2Al-NAC.55^\circ C$	82
Tabela 13:	Dados de análise térmica acoplado ao massas para os HDLs $Zn_2Al-Cl.55^\circ C$ e $Zn_2Al-NAC.55^\circ C$	83

Tabela 14:	Valores de variação entre os números de onda do estiramento antissimétrico e simétrico do grupo carboxilato para a NAC isolada de soluções de diferentes valores de pH e o HDL Zn ₂ Al-NAC.55°C.	85
Tabela 15:	Deslocamentos químicos dos picos dos espectros ¹³ C-RMN da amostra Zn ₂ Al-NAC.55°C e da NAC (estado sólido) reportada pela literatura, valores em ppm (97).....	89
Tabela 16:	Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Zn ₂ Al-NAC.55°C em meio SBF (37°C) utilizando a método dinâmico.....	93
Tabela 17:	Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Zn ₂ Al-NAC.55°C em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) empregando o método estático.....	99
Tabela 18:	Valores de ângulo de reflexão 2θ (graus) e distâncias interplanares d(hkl) dos materiais Mg ₂ Al-Cl e Mg ₂ Al-NAC.	107
Tabela 19:	Dados de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman dos HDLs Mg ₂ Al-Cl e Mg ₂ Al-NAC (97–103,110).....	110
Tabela 20:	Fórmulas propostas para os HDLs Mg ₂ Al-Cl e Mg ₂ Al-NAC.....	113
Tabela 21:	Dados de análise térmica acoplado ao massas para os HDLs de composição Mg/Al.	113
Tabela 22:	Deslocamentos químicos de ¹³ C-RMN da amostra Mg ₂ Al-NAC e da NAC reportada pela literatura, valores em ppm (97).....	117
Tabela 23:	Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Mg ₂ Al-NAC em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e método estático.....	123

Apêndice D

Tabela D 1:	Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Mg ₂ Al-NAC.....	154
--------------------	---	-----

Sumário

Capítulo 1	25
1 – Introdução	26
Capítulo 2	43
2 – Objetivos.....	44
Capítulo 3	45
3 – Procedimentos experimentais	46
3.1 – Reagentes	46
3.2 – Métodos de síntese.....	46
3.2.1 – Síntese dos materiais HDL-Cl	47
3.2.2 – Síntese dos materiais HDL-NAC	49
3.4 – Métodos de Caracterização	50
3.5 – Ensaio de liberação <i>in vitro</i> de NAC intercalada em HDL.....	53
3.5.1 – Ensaio no modo dinâmico.....	54
3.5.2 – Ensaio no modo estático.....	55
Capítulo 4	57
4 – Resultados e discussão.....	58
4.1 – Caracterização da NAC.....	58
4.2 – Caracterização das amostras de HDLs Zn ₂ Al-NAC.....	70
4.2.1 – Ensaio de liberação no modo dinâmico da NAC intercalada no HDL Zn ₂ Al-NAC.55°C.....	92
4.2.2 – Ensaio de liberação no modo estático da NAC intercalada no HDL Zn ₂ Al-NAC.55°C.....	98
4.3 – Caracterização do HDL Mg ₂ Al-NAC.....	104
4.3.1 – Ensaio de liberação no modo dinâmico da NAC imobilizada no HDL Mg ₂ Al-NAC	119
4.3.2 – Ensaio de liberação no modo estático da NAC imobilizada no HDL Mg ₂ Al-NAC	122
Capítulo 5	128
5 – Conclusões	129

Capítulo 6	131
6 – Perspectivas.....	132
Capítulo 7	134
7 – Referências bibliográficas.....	135
Apêndice A	146
Apêndice B.....	148
Apêndice C	150
Apêndice D	152
Súmula Curricular	156

Capítulo 1

Introdução

1 – Introdução

Os hidróxidos duplos lamelares (HDLs) compreendem uma extensa classe de materiais naturais e sintéticos, cujas estruturas e propriedades são frequentemente comparadas com as do mineral hidrotalcita. Por isso, o termo “compostos do tipo hidrotalcita” é comumente utilizado para classificar materiais que se assemelham a esse mineral. A hidrotalcita foi descoberta no século XIX na Suécia (1842) (1), porém sua fórmula química $[\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ foi determinada em 1915 por Manasse, professor de mineralogia da Universidade de Florença, na Itália.

Feitknecht, em 1942, foi o pioneiro na preparação de HDLs, realizando diversas sínteses de compostos do tipo hidrotalcita. Segundo Feitknecht³ *apud* Cavani (1), os compostos sintetizados seriam organizados da seguinte maneira: uma lamela com cátions de um tipo de elemento químico intercalada com uma outra lamela com cátions de outro elemento. Anos depois, Allmann (1968) (2) e Taylor (1969) (3), por meio do estudo dos dados de difratometria de raios X do mineral piroaurita, comprovaram que essa hipótese não era plausível: na realidade os dois tipos de cátions fazem parte de uma mesma lamela e apenas íons carbonato e moléculas de água estão presente na região entre as lamelas. Até os dias de hoje, a difratometria de raios X é uma técnica essencial para a caracterização de HDLs.

A estrutura dos HDLs pode ser melhor entendida considerando-se a brucita, o mineral de composição $\text{Mg}(\text{OH})_2$ no qual ânions hidroxila estão coordenados a cátions magnésio, em uma geometria octaédrica (isto é, apresentam estrutura de empacotamento denso de íons hidroxila com íons Mg^{2+} ocupando os sítios octaédricos). Os octaedros compartilham suas arestas formando lamelas planas e neutras, que são mantidas unidas por ligações de hidrogênio.

³ Feitknecht W. Über die Löslichkeitsprodukte der Oxyde und des Hydroxyds von Kupfer und über die Löslichkeit von Kupferhydroxyd in Natronlauge. *Helv Chim Acta*. 1944; 27:771–775.

O átomo de oxigênio do íon hidroxila está coordenado a três íons metálicos. Quando, nesse tipo de estrutura, os cátions bivalentes são isomorficamente substituídos por cátions trivalentes, a lamela passa a apresentar uma carga residual positiva. A eletroneutralidade do sistema é mantida pela presença de ânions entre as lamelas que, juntamente com moléculas de água, promovem o empilhamento das camadas do hidróxido duplo com um domínio interlamelar pouco ordenado (4–9). Uma representação esquemática da estrutura de um HDL é mostrada na

Figura 1.

Figura 1: Representação esquemática da estrutura de um HDL.

A fórmula geral $[M_{1-x}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2]A^{m-}_{x/m} \cdot nH_2O$ é a que melhor representa os HDLs, sendo que M^{2+} representa um cátion bivalente, M^{3+} representa um cátion trivalente, e A^{m-} representa um ânion intercalado com carga negativa m . Através da variação dos cátions M^{2+} e M^{3+} , da proporção entre eles e da substituição do ânion interlamelar, uma grande variedade de HDLs pode ser sintetizada (4). Na literatura, encontram-se diversos trabalhos que reportam HDLs naturais e sintéticos contendo diferentes cátions metálicos. O valor de x , que representa a razão molar entre os cátions (M^{2+}/M^{3+}), pode geralmente variar de 0,14 a 0,50; assim sendo a

razão molar dos cátions dos HDLs pode apresentar valores de 1 a 6 (7,10). A **Tabela 1** apresenta exemplos de HDLs naturais.

São conhecidos 40 minerais com estrutura de HDL e que apresentam *politipismo*, ou seja, uma forma especial de polimorfismo na qual ocorre uma modificação no empilhamento de lamelas idênticas (11). Os compostos do tipo hidrotalcita apresentam três possíveis politipos: simetria romboédrica (3R) com grupo espacial $R\bar{3}m$, simetria hexagonal (2H) com grupo espacial $P6_3mmc$, ou simetria hexagonal (1H) com grupo espacial $P\bar{3}m1$. Na simetria romboédrica (3R), mais comum entre os HDLs sintéticos ou de ocorrência natural, os íons da primeira lamela não coincidem exatamente com os íons da segunda lamela, mas sim com os íons da quarta lamela na sequência, com parâmetro de célula unitária c com valor igual a três vezes o espaçamento basal, como mostra a **Figura 1**. Na simetria (2H), de modo análogo, os íons da primeira lamela vão coincidir com os íons da terceira lamela; o parâmetro de célula unitária c é igual a duas vezes o espaçamento basal. Já na simetria hexagonal (1H) os íons da primeira lamela coincidem com os íons da lamela adjacente (1,2,4). A **Figura 2** apresenta uma representação esquemática dos possíveis politipos dos HDLs.

Figura 2: Representação esquemática dos politipos 3R, 2H e 1H. Adaptado de Crepaldi e Valim (1998) (4).

A **Tabela 1** apresenta alguns exemplos de minerais da classe dos HDLs, suas fórmulas químicas e a classificação do politipismo observado. A hidrotalcita, por exemplo, é um politipo (3R) enquanto a manasseita é do tipo (2H). O mineral quintinita de origem brasileira, também listado na **Tabela 1**, foi descoberto na mina de Jacupiranga no estado de São Paulo, em 1984, por Menezes e Martins. Os autores descreveram o mineral como manasseita, porém, em 1997, Chao e Gault reexaminaram o cristal e descobriram que tratava-se de um novo mineral (12).

Tabela 1: Exemplos de alguns HDLs naturais, suas fórmula e politipismo (4,11).

Mineral	Fórmula	Polítipo
hidrotalcita	$[\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3R
estictita	$[\text{Mg}_6\text{Cr}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3R
pirourarita	$[\text{Mg}_6\text{Fe}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4,5\text{H}_2\text{O}$	3R
honessita	$[\text{Ni}_6\text{Fe}_2(\text{OH})_{16}](\text{SO}_4) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3R
iowaíta	$[\text{Mg}_6\text{Fe}_2(\text{OH})_{16}]\text{Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3R
desautelsita	$[\text{Mg}_6\text{Mn}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3R
manasseita	$[\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2H
quintinita	$[\text{Mg}_4\text{Al}_2(\text{OH})_{12}]\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	2H
esjogrenita	$[\text{Mg}_6\text{Fe}_2(\text{OH})_{16}]\text{CO}_3 \cdot 4,5\text{H}_2\text{O}$	2H
hidrocalumita	$[\text{Ca}_4\text{Al}_2(\text{OH})_{12}](\text{Cl}, \text{CO}_3, \text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2H

Para formar uma estrutura do tipo hidrotalcita existem condições que são consideradas ideais, como: os cátions metálicos que fazem parte da lamela devem apresentar coordenação octaédrica e raio iônico na faixa entre 0,50 - 0,74 Å (7,10). Os cátions bivalentes podem ser Zn, Mg, Ni, Cu, Co, Mn e Fe enquanto os cátions trivalentes, Al, Fe, Cr, Co, Mn, Ga e Ni. Pode ser utilizado cátion monovalente como o Li (13). Combinações com mais de um cátion bivalente e/ou trivalente, também são possíveis.

O domínio interlamelar dos HDLs é constituído de moléculas de água e ânions. Diferentes ânions podem compensar a carga residual positiva das lamelas do material como, por exemplo: haletos (F^- , Cl^- , Br^- , I^-) (1,10); oxo-ânions (CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , CrO_4^{2-}) (4,10),

(HPO_4^{2-}) (14) e ($\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4^{2-}$) (15); ânions complexos como $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (16), $[\text{NiCl}_4]^{2-}$ (17) e $[\text{CuNAPABA}]$ (NAPABA é um ligante derivado do 2-hidroxi-1-naftaldeído e ácido 4-aminobenzóico) (18); ânions orgânicos como carboxilatos, porfirinas (19,20) e $[(\text{carboximetil})\text{calix}[4]\text{areno}]$ (21); ânions de interesse farmacológico como biomoléculas (peptídeos, DNA e ATP) (22,23), ibuprofeno (24), sulindaco (25), mefenamato (26) e pravastatina (27).

Um fator de grande importância na preparação de HDLs é a capacidade de estabilização dos ânions na estrutura lamelar: quanto maior essa capacidade, maior será a probabilidade de formação do HDL. Portanto, deve-se levar em consideração a natureza (tamanho, carga, geometria) e orientação dos ânions. Por exemplo, ânions grandes (volumosos) e de carga pequena não conseguem contrabalancear homogeneamente a carga residual positiva das lamelas (4,6,20).

Diversos fatores devem ser considerados antes de sintetizar um HDL, como por exemplo: natureza dos cátions, natureza dos ânions (domínio interlamelar), controle de atmosfera (quando for o caso), valor do pH de síntese, concentração das soluções, velocidade de agitação, velocidade de adição de uma solução sobre a outra, dentre outros fatores, resultando assim em diferentes modos de síntese. Dois métodos de síntese são comumente utilizados na preparação de HDLs, sendo eles o *método de síntese direta* (por exemplo: coprecipitação em valor de pH constante ou variável) e *método de síntese indireta* (por exemplo: troca aniônica simples e troca aniônica por regeneração de material calcinado) (7–9,28,29).

A composição química dos HDLs e o método de síntese empregado conduzem à obtenção de materiais com propriedades características que definirão a sua aplicação. Os HDLs apresentam diversas possibilidades de aplicação, devido suas propriedades como porosidade,

área superficial, troca iônica e estabilidade térmica. Os HDLs são empregados ou possuem potencial para uso como catalisadores, adsorventes e como carregadores no campo medicinal e agrônomo. A **Figura 3** mostra o número de publicações, agrupadas por ano, encontradas ao se utilizar as seguintes palavras-chave no levantamento bibliográfico: layered double hydroxides and hydrotalcite or layered double hydroxides and antioxidant or layered double hydroxides and anti-inflammatory or layered double hydroxides and drug delivery or layered double hydroxides and in vitro or layered double hydroxides and in vivo or anionic clays or layered double hydroxides.

Figura 3: Número de artigos publicados desde de 1990 até 2018. Fonte: base de dados *Web of Science* (26/10/2018), utilizando as palavras-chave: layered double hydroxides and hydrotalcite or layered double hydroxides and antioxidant or layered double hydroxides and anti-inflammatory or layered double hydroxides and drug delivery or layered double hydroxides and in vitro or layered double hydroxides and in vivo or anionic clays or layered double hydroxides.

O resultado desse levantamento de dados mostra que a cada década o número de artigos publicados é maior que o dobro de publicações da década anterior, sugerindo que os avanços nas pesquisas relacionadas com HDLs têm ganhado seu espaço na área acadêmica nos últimos

28 anos. Como o banco de dados pode não estar completo, a pesquisa pode apresentar erros, mas pode-se notar que o interesse nos HDLs ainda é bem pronunciado.

A partir do levantamento de dados, verificou-se que poucos trabalhos avançam nos estudos pré-clínicos, realizando ensaios *in vivo*, para verificar a biocompatibilidade e toxicidade desses materiais híbridos. Na literatura, diversos HDLs intercalados com diferentes princípios ativos de interesse farmacológico são apontados como materiais de grande potencial para uso terapêutico (8,30). Algumas das espécies estudadas que apresentam ação farmacológica são anti-inflamatórios não-esteroidais, antibióticos, antitumorais, anticoagulantes, antimicrobianos e antioxidantes.

Dentre as espécies bioativas, esta Dissertação de Mestrado deu atenção a uma molécula com propriedade antioxidante. Espécies antioxidantes de um modo geral apresentam características como baixa estabilidade química frente à luz, ao calor, sensibilidade ao valor do pH do meio e, algumas, baixa solubilidade (31). Assim sendo, os HDLs podem ser utilizados como carregadores de espécies antioxidantes para contornar as características indesejadas supracitadas. A **Tabela 2** mostra algumas espécies antioxidantes de interesse farmacológico intercaladas em HDLs e alguns dos tópicos estudados pelos autores.

Tabela 2: Trabalhos publicados sobre HDLs intercalados com espécies antioxidantes no período de 2005-2018.

Espécie antioxidante	Matriz	Tópicos	Ano	Ref.
Ácido ferúlico	Mg/Al	Liberação e avaliação da absorção UV	2005	(32)
L-cisteína	Mg/Al	Oxidação interlamelar	2006	(33)
Gliclazida	Zn/AlCr	Teste de solubilidade; Liberação	2009	(34)
Carnosina	Mg/Al	Liberação e teste de atividade antioxidante	2010	(35)
Ácido gálico	Mg/Al Zn/Al	Liberação e teste de atividade antioxidante	2010	(35)
Ácido cafêico	Mg/Al	-	2010	(36)
Glicil-L-tirosina	Mg/Al	Liberação	2010	(37)
Ácido clorogênico	Mg/Al	-	2011	(38)
Ácido gálico	Zn/Al	Liberação	2012	(39)
Ácido vanílico	Zn/Al	Liberação	2012	(39)
Ácido lipóico	Mg/Al Zn/Al	Teste com células A-375	2012	(8)
Ácido coumárico	Mg/Al Zn/Al	-	2012	(39)
Ácido ferúlico	Mg/Al	Teste com células HeLa	2013	(40)
3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil) - propiônico	Mg/Al MgZn/Al	Atividade antioxidante com DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil)	2013	(41)
3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil) - propiônico	Mg/Al	Atividade antioxidante com DPPH	2014	(42)
Ácido fólico	Mg/Al	Atividade antioxidante (radical hidroxil, DPPH e cobre) e teste <i>in vivo</i>	2014	(43)
Ácido ferúlico	Mg/Al	Liberação	2015	(44)
Ácido gálico	Zn/Al	Teste com células A-549	2016	(45)
Ácido clorogênico	Mg/Al	Liberação e teste com células (MCF-7, HeLa, HepG2, A-549 e 3T3)	2016	(46)
Cloridrato de raloxifeno	Mg/Al	Liberação, teste com células HeLa e teste <i>in vivo</i>	2016	(47)
3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil) - propiônico	MgZn/Al	Atividade antioxidante com DPPH	2017	(48)
L-cisteína	Mg/Al Mg/Fe	Avaliar o comportamento frente a condições prebióticas simuladas	2017	(49)
3-(4-hidroxifenil) propiônico	Zn/Al Mg/Al	-	2017	(50)
Ácido gálico	Zn/Al	Liberação e teste de atividade antioxidante com DPPH	2018	(51)
L-tirosina, L-tripofano Ácido L-ascórbico e 3-(4-hidroxifenil) propiônico	Mg/Al	Atividade antibacteriana	2018	(52)

Em geral, os HDLs reportados na **Tabela 2** são sintetizados pelo método de coprecipitação em valor de pH constante, porém há materiais sintetizados pelos métodos de troca iônica, reconstituição ou esfoliação. Algumas das técnicas utilizadas para caracterização são XRD, FTIR, TG, ICP, SEM, análise química elementar, ^{13}C RMN e medidas de Potencial Zeta. As espécies antioxidantes que têm sido mais estudadas são: o ácido gálico (35,39,45,51), o ácido ferúlico (32,40,44), o 3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil)propionico (41,42,48) e o 3-(4-hidroxifenil)propionico (50,52).

Os testes *in vitro* de cinética de liberação das espécies antioxidantes utilizam, como meio simulado, solução de HCl (suco gástrico simulado) (pH=1,2) (34), solução de HCl (pH=2,0) (39), tampões fosfato de pH=6,8 (34), pH=7,4 (35,37,39,45–47,51) e pH=7,5 (34). De um modo geral, a liberação visa simular condições como pH e presença de alguns dos íons que fazem parte da composição do local onde a espécie antioxidante intercalada irá interagir (como o suco gástrico do estômago ou o fluido intestinal). Alguns testes são mais específicos como o do HDL intercalado com ácido ferúlico que tinha como objetivo a aplicação como protetor solar. Nesse estudo, os autores realizaram testes de liberação com água filtrada, água do mar artificial e tampão fosfato (pH=5,5) (32).

A citotoxicidade de HDLs com antioxidantes, também considerada como um teste *in vitro*, tem sido avaliada em testes com cultura de células como HeLa (célula epitelial de câncer de colo de útero) (40,46,47), A-549 (célula epitelial de câncer de pulmão) (45,46), A-375 (célula epitelial do melanoma) (8), MCF-7 (célula epitelial de câncer) (46) HepG2 (célula epitelial de câncer) (46) e 3T3 (célula fibroblasto) (46). A atividade antioxidante vem sendo avaliada pelo método do sequestro do radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) (35,41–43,48,52), radical hidroxil (43) ou íons cobre (43); os testes têm como objetivo verificar o potencial do antioxidante de reduzir o radical livre.

A realização de testes *in vivo* parece não ser uma tarefa fácil, uma vez que apenas dois artigos de HDL intercalado com espécies antioxidantes foram publicados desde de 2005, segundo pesquisa realizada na base de dados do *Web of Science* (**Tabela 2**). Qin *et al.* (43) avaliaram a atividade antifadiga do HDL intercalado com íon folato em camundongos machos Kunming. O teste foi realizado da seguinte forma: após 30 minutos da administração *via* oral do HDL, os camundongos foram sujeitos a natação forçada; depois foi coletado o sangue dos animais e avaliado os níveis de ácido láctico e nitrogênio ureico. Os resultados apontaram que, com a utilização do HDL, o tempo de nado forçado foi prolongado, isto é, o tempo foi 32% maior quando comparado ao ácido fólico na sua forma livre.

Senapati *et al.* (47) avaliaram a atividade antitumoral do HDL intercalado com ânion derivado do cloridrato de raloxifeno em camundongos fêmeas Balb/c. Os HDLs foram sintetizados pelo método de troca aniônica com HDLs precursores de nitrato, fosfato e carbonato. O teste foi realizado da seguinte maneira: células 4T1 (célula epitelial de câncer de mama) foram injetadas pela *via* subcutânea na gordura mamária dos animais e, após o tumor atingir tamanho 50 mm³, o HDL foi administrado *via* intraperitoneal; após 21 dias os camundongos foram sacrificados e o rim, fígado e baço foram retirados para avaliação histológica. Os resultados apontaram que a redução do tamanho do tumor foi maior com a administração do cloridrato de raloxifeno puro ou intercalado no HDL que foi utilizado o precursor HDL-PO₄, porém em ambos os casos foram observados efeitos colaterais indesejados no fígado e rim. Portanto os autores concluíram que a utilização do cloridrato de raloxifeno intercalado no precursor HDL-NO₃ foi melhor para o tratamento, pois não teve efeito colateral para esse material.

Nosso grupo de pesquisa, coordenado pela profa. Vera R. L. Constantino, tem trabalhando no desenvolvimento de matrizes hospedeiras, como os HDLs, para uso como carregadores de espécies aniônicas derivadas do sulindaco (25), ácido mefenâmico (26), ácido

lipóico (8), ácido coumárico (8), pravastatina (8,27) e naproxeno (53). O grupo publicou artigos com testes *in vivo* de HDLs intercalados com íons cloreto ($\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-Cl}$) (54), sulindaco ($\text{Mg}_2\text{Al-Sul}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-Sul}$) (9,25), mefenamato (MgAl-Mef) (26) e HDLs ternários com íons ferro(III) e íons cloreto ($\text{Mg}_4\text{FeAl-Cl}$ e $\text{Zn}_4\text{FeAl-Cl}$) (53). O grupo tem avaliado em seus trabalhos a biocompatibilidade destes materiais *via* implantes intramusculares de comprimidos na parede abdominal do rato (“cobaia”), após 28 dias do implante. Os estudos de HDLs intercalados com espécies de interesse farmacológico e os intercalados com cloreto (controle) têm mostrado resultados promissores (25,53,54).

As espécies antioxidantes são interessantes porque atuam como anti-inflamatório e anticâncer (55–58). Durante o processo inflamatório, para se proteger contra infecção, o organismo libera espécies reativas de oxigênio (EROs), que são produzidas em maior quantidade que aquela necessária para a proteção antioxidante (processo conhecido como *estresse oxidativo*), transformando uma resposta que era protetora e fisiológica em algo prejudicial ao organismo. Por exemplo, o estresse oxidativo pode causar uma degradação oxidativa de componentes essenciais para a célula (ácido desoxirribonucleico (DNA), proteínas, lipídios e carboidratos) (55,56). Os mediadores inflamatórios de origem celular mais importantes do sistema imune são: a histamina, a bradicinina, os leucotrienos, eicosanoides e citocinas (9). Os mecanismos de ação das EROs, além de promoverem a citotoxicidade, podem também aumentar a inflamação, por meio da regulação de alguns genes envolvidos na resposta inflamatória como, por exemplo, os que codificam as citocinas pró-inflamatórias (55).

Neste contexto, objetivando em melhorar a resposta do organismo frente ao processo inflamatório, esta Dissertação de Mestrado explora a síntese e caracterização de HDLs intercalados com um poderoso antioxidante, a N-acetil-L-cisteína (NAC), com a perspectiva

futura de avaliar esse material híbrido em terapias que envolvam a minimização de processos inflamatórios.

A N-acetil-L-cisteína (NAC), um derivado do aminoácido L-cisteína, tem sido utilizada em práticas terapêuticas há várias décadas. Primeiramente foi utilizada como agente mucolítico em estudo desenvolvido por Hurst *et al.* (59) em pacientes com fibrose cística. Anos depois, a N-acetil-L-cisteína mostrou potencial para aplicações terapêuticas no tratamento de intoxicação por paracetamol (60). Além disso, essa substância possui potencial terapêutico para o tratamento de outras doenças como Alzheimer (61), diabetes do tipo 2 (62) e doenças relacionadas a distúrbios psiquiátricos (63). Como é considerada fonte de grupos sulfídricos, a NAC é uma excelente precursora para síntese do tripeptídeo γ -glutamilcisteinilglicina (GSH), ou seja, possibilita o aumento dos níveis desse peptídeo para atuar na eliminação de radicais livres (62,64–67).

A NAC apresenta isomeria óptica, que se distinguem por D ou L- aminoácido. As letras D e L são referentes às palavras *dextrogiro* (molécula que desvia a luz polarizada para direita) e *levogiro* (molécula que desvia a luz polarizada para esquerda), respectivamente. O enantiômero N-acetil-D-cisteína (D-NAC) não pode ser utilizado na síntese da GSH, pois a D-NAC não pode ser desacetilada. Assim sendo, a D-NAC participa apenas da eliminação de EROs. Por outro lado, a N-acetil-L-cisteína (L-NAC) pode participar da síntese da GSH ou também atuar na eliminação de EROs (68–71). A **Figura 4** mostra a estrutura dos enantiômeros da NAC; nesta dissertação será utilizado o enantiômero L-aminoácido. A isomeria apresenta grande importância na área da farmacologia e com o conhecimento da isomeria é possível hoje desenvolver fármacos potencialmente eficazes e seguros, pois os isômeros apresentam diferentes propriedades (72).

Figura 4: Representação estrutural dos enantiômeros (a) N-acetil-D-cisteína e (b) N-acetil-L-cisteína, obtida através do software ChemDraw Ultra 12.0 (Cambridge).

Segundo a literatura, a NAC apresenta baixíssima biodisponibilidade, sendo de 4 a 10%, possivelmente devido ao plasma ser um meio pró-oxidante, favorecendo assim a oxidação da NAC em dissulfetos simétricos (NAC-NAC) e assimétricos (Cys-NAC) (65,73,74). A NAC pode ser administrada *via* oral, intravenosa ou por inalação, e seu tempo de vida médio é de aproximadamente 6 horas (75). O estudo das taxas de liberação *in vitro* são importantes pois ajudam a prever as taxas de absorção *in vivo*, pois a taxa de adsorção é controlada pela taxa de liberação do fármaco. O grande desafio é a forma farmacêutica apresentar uma boa correlação *in vivo* e *in vitro* (76).

A taxa de liberação dos fármacos depende de suas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas. O estudo da cinética de liberação é de grande importância, pois para atingir e manter as concentrações plasmáticas terapêuticas é necessário controlar a dosagem, para evitar flutuação indesejáveis nos níveis plasmáticos. Tais flutuações da concentração de fármaco liberado no organismo podem atingir níveis menores que a concentração mínima efetiva (CME), ou exceder a concentração mínima tóxica (CMT), resultando em efeitos colaterais indesejáveis e prejudiciais ao organismo, ou falta de eficácia no tratamento indicado ao paciente (77).

A **Figura 5** mostra um esquema do perfil de liberação para uma forma farmacêutica convencional quando administrada em dose única, uma forma farmacêutica convencional quando é necessária a administração de várias doses, e uma forma farmacêutica de liberação modificada, principal foco desta Dissertação.

Figura 5: Representação esquemática para curva de liberação para as Formas farmacêuticas convencional e modificada. Adaptada de Das e Pal (2015) (77).

A utilização de sistemas de liberação modificada⁴ tem avançado nos últimos anos, pois tais sistemas podem proporcionar a redução dos níveis indesejáveis do fármaco no organismo e evitar os efeitos colaterais. Um comprimido é composto pelo fármaco (princípio ativo) e por

⁴ A ANVISA recomenda a classificação da forma farmacêutica como comprimido de liberação modificada quando as classificações “liberação retardada” e “liberação prolongada” não forem adequadas. (Ver as definições no Glossário)

adjuvantes farmacêuticos (excipientes). As argilas por exemplo são usadas pela indústria farmacêutica como excipientes ou como substâncias ativas (76).

Na literatura foram encontrados trabalhos sobre o encapsulamento da NAC em outros sistemas de carregadores. Alguns trabalhos reportam a utilização de carregadores para NAC como, por exemplo, as lipossomas. As lipossomas são vesículas esféricas, compostas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas; são análogas às vesículas naturais, apresentam biocompatibilidade e baixa toxicidade (78). O encapsulamento da N-acetil-L-cisteína em lipossomas para o tratamento de doença pulmonares tem sido muito investigado (79–84).

Ourique *et al.* (79) estudaram a estabilidade da N-acetil-L-cisteína encapsulada em lipossomos em forma de pó seco. A ação antioxidante foi avaliada por teste *in vitro*, empregando o teste que determina espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizado para determinar peroxidação lipídica. Para isso, o estresse oxidativo foi induzido utilizando ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA)/FeSO₄ em tecidos de pulmão de ratos Wistar saudáveis. A NAC encapsulada apresentou maior atividade antioxidante.

Estudos sobre a intercalação da N-acetil-L-cisteína em HDLs, foco desta Dissertação, não foram encontrados na literatura, mas há alguns trabalhos com intercalação de um aminoácido análogo, a L-cisteína. Wei *et al.* (33) estudaram a intercalação de L-cisteína em matrizes de composição Mg/Al pelo método de coprecipitação. Os materiais foram submetidos a reações de oxidação promovidas pelos oxidantes H₂O₂ ou por Br₂, e os produtos de oxidação foram caracterizados. Os autores verificaram que a L-cisteína era oxidada dentro do ambiente da matriz do HDL. O trabalho teve como foco verificar a possibilidade do HDL ser utilizado como reator para transformação de substâncias químicas.

Stimpfling *et al.* (85) prepararam HDLs de composição Li/Al, Mg/Al e Mg/Zn/Al intercalados com L-cisteína. As matrizes Mg/Al e Mg/Zn/Al foram sintetizadas pelo método de

coprecipitação e o material composto pela matriz Li/Al foi preparado pelo método de troca aniônica. Os pesquisadores avaliaram a capacidade dos materiais sintetizados de evitar a corrosão da liga de alumínio AA2024. Os resultados evidenciaram que esses HDLs com cisteína são promissores para retardar o processo de corrosão da liga AA2024.

Silva (49) estudou a intercalação de L-cisteína em matrizes de HDL de composição Mg/Al e Mg/Fe, sintetizadas pelos métodos de coprecipitação e reconstrução. Os compostos foram submetidos às condições ambientais que o planeta apresentava no passado, para compreender como os HDLs presentes na Terra no início dos tempos poderiam ter interagido com espécies de interesse biológico.

A NAC tem mostrado resultados promissores não apenas em aplicações farmacológicas, mas também na agricultura para controle da formação de biofilmes bacterianos causado pela bactéria *Xylella fastidiosa*, causadora da clorose variegada dos citros (CVC). Os biofilmes são formados pela multiplicação e crescimento das bactérias de forma agregada, o que impediria a passagem de água e nutrientes pelos vasos do xilema da raiz até as folhas. A praga é conhecida como amarelinho, pois deixa as folhas e os frutos com manchas amarelas. Além de frutas cítricas, a bactéria *Xylella fastidiosa* causa doenças graves em outras culturas: videiras, cafeicultura, cultura de ameixeira e cultura de pessegueiro (86).

Muranaka *et al.* (86) estudaram a aplicação de NAC em laranjeira doce (*Citrus sinensis*). Os experimentos foram conduzidos em sistema hidropônico e toda semana era trocada a solução nutritiva. Já para o experimento de fertirrigação e injeção no tronco, a aplicação de solução de NAC nas plantas era realizada duas vezes ao dia. Os autores observaram que três meses após interromper o tratamento nos sistemas hidropônico e fertirrigação, a doença reapareceu. Assim sendo, a NAC reduziu os sintomas. Na busca por alternativas de melhorar a eficácia do uso da NAC, em parceria com a empresa Agrolatino, a NAC foi adsorvida em um fertilizante sólido

orgânico de liberação lenta, o Super Adubo 10[®]. A aplicação do fertilizante com NAC foi realizada em plantas com três anos de idade com os sintomas da doença. Antes do tratamento as plantas foram podadas e em seguida foi aplicado os tratamentos com NAC adsorvido no fertilizante. O reaparecimento dos sintomas ocorreu somente após oito meses de interrupção do tratamento, mostrando a eficácia da imobilização da NAC no fertilizante sólido (86).

O mesmo grupo, coordenado pela Profa. Dra. Alessandra Alves de Souza, em estudo *in vitro*, analisou o efeito sinérgico da combinação da NAC com íons cobre em experimentos *in vitro*, nos quais a bactéria foi tratada com NAC e íons cobre (87). Os resultados foram melhores quando a NAC e o cobre foram aplicados em intervalos separados, sendo melhor a condição com adição de cobre após 48 horas da aplicação de NAC. Os autores avaliaram também a pulverização de folhas destacadas da laranjeira (*Citrus sinensis*) inoculadas em suspensões bacterianas por 24 horas. A NAC e o íon cobre foram aplicados posteriormente. Os resultados reportados sugerem que o uso de NAC seguido do tratamento com cobre pode ser uma alternativa sustentável, diminuindo a quantidade utilizada de cobre para o controle do fitopatógeno.

Observa-se, portanto, que a intercalação do antioxidante NAC em HDL pode gerar um material com interesse que abrange desde o armazenamento e liberação de espécie ativa em organismos vivos (animais ou plantas) até a estabilização de materiais como polímeros orgânicos (contra processos de decomposição que envolvem a formação de radicais livres) ou a proteção de metais contra processos corrosivos.

Capítulo 2

Objetivos

2 – Objetivos

O objetivo geral desta Dissertação de Mestrado foi a obtenção de HDLs de Zn/Al e Mg/Al intercalados com NAC na sua forma iônica, bem como a realização de estudos de liberação da NAC em meio biológico simulado.

Os objetivos específicos são os seguintes:

- (i) Avaliação dos parâmetros de síntese para obtenção de HDLs de composição zinco/alumínio e magnésio/alumínio com razão molar M^{2+}/M^{3+} igual a 2, intercalados com N-acetil-L-cisteinato de alta cristalinidade e pureza de fase (abreviados como M_2Al -NAC, sendo $M^{2+} = Zn$ ou Mg);
- (ii) Caracterização dos HDLs sintetizados por meio de diferentes técnicas físico-químicas: difratometria de raios X (XRD), espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR) e Raman (FT-Raman), RMN de ^{13}C e ^{27}Al , análise térmica acoplada à espectrometria de massas (TG-DSC-MS), microscopia eletrônica de varredura (SEM) e análise química elementar;
- (iii) Estudo do processo de liberação *in vitro* da NAC intercalada nos HDLs, através de testes de liberação em meio biológico simulado (pH 7,4 e 37°C); caracterização estrutural e espectroscópicas dos comprimidos após contato com a solução do meio biológico simulado.

Capítulo 3

Procedimentos Experimentais

3 – Procedimentos experimentais

3.1 – Reagentes

Os reagentes que foram utilizados nesta Dissertação são apresentados na **Tabela 3**, assim como suas fórmulas, procedências e graus de pureza.

Tabela 3: Reagentes utilizados neste trabalho.

Reagentes	Fórmula	Procedência	Pureza (%)
Cloreto de Magnésio Hexahidratado	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich	>99
Cloreto de Zinco	ZnCl_2	Sigma-Aldrich	>99
Cloreto de Alumínio Hexahidratado	$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich	>99
Hidróxido de Sódio	NaOH	Sigma-Aldrich	>99
N-Acetil- L-Cisteína	$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$	Sigma-Aldrich	>99
Álcool Etílico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Sigma-Aldrich	99,5
Dihidrogenofosfato de Potássio	KH_2PO_4	Sigma-Aldrich	>99
Cloreto de Sódio	NaCl	Sigma-Aldrich	>99
Cloreto de Potássio	KCl	Sigma-Aldrich	>99
Hidrogenocarbonato de Sódio	NaHCO_3	Sigma-Aldrich	>99
Ácido Clorídrico 36,5 – 38% (m/m)	HCl	Synth	
Cloreto de Cálcio	CaCl_2	Sigma-Aldrich	≥ 97
Sulfato de Sódio	Na_2SO_4	Sigma-Aldrich	≥ 99
Tris(hidroximetil) aminometano	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,8$

3.2 – Métodos de síntese

Foram sintetizados HDLs contendo os íons metálicos Mg/Al e Zn/Al na razão molar $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ igual a 2 e intercalados com íons cloreto e com N-acetil-L-cisteína na sua forma aniônica, pelo método de coprecipitação em valores de pH constante (10,25,26,88–90).

Os HDLs foram preparados em três condições diferentes de síntese, como segue:

1° condição: Os materiais foram preparados à temperatura ambiente e, após a síntese, foram mantidos em suspensão sob agitação e em atmosfera de N₂ por 1 hora, também à temperatura ambiente;

2° condição: Semelhante à condição 1, mas após a síntese, o material foi submetido a tratamento térmico em um sistema de refluxo à temperatura de 90°C por 24 h;

3° condição: Semelhante à condição 1, mas a síntese foi feita à temperatura de 55°C e, após o término da adição dos cátions, a suspensão foi mantida por agitação a 55°C por 1 h.

Os materiais sintetizados foram identificados conforme a abreviação: M₂Al-**x(ânion).y.z**, na qual M é Mg ou Zn; **x** é a razão molar entre ânion/ Al³⁺ no processo de síntese; **ânion** é a espécie de interesse (Cl⁻ ou NAC); **y** é o tempo do tratamento pós-síntese; **z** é a temperatura de síntese em °C.

3.2.1 – Síntese dos materiais HDL-Cl

Os HDLs M₂Al-Cl (M= Mg ou Zn) foram sintetizados pelo método de coprecipitação em valores de pH constante. Para as matrizes de Zn₂Al, o valor de pH foi 7,5, e para as matrizes de Mg₂Al, foi 9,5. Em um balão de três bocas, adicionou-se 50 mL de água deionizada e ajustou-se o valor do pH com uma solução de NaOH 0,2 mol·L⁻¹. Uma solução de concentração de aproximadamente 0,1 mol·L⁻¹ contendo os metais que farão parte da estrutura lamelar com razão molar M²⁺/M³⁺ igual a 2 (7,0 mmol de MgCl₂·6H₂O (ou ZnCl₂) e 3,5 mmol de AlCl₃·6H₂O em 105 mL de H₂O deionizada) foi adicionada gota a gota, sob vigorosa agitação e à temperatura ambiente, sobre H₂O deionizada (25,91). Para manter o valor de pH constante, foi utilizado um titulador potenciométrico automático. A **Figura 6** mostra um esquema representativo dos aparatos usados no processo de síntese. A síntese foi realizada sob atmosfera

de N_2 , para eliminar a interferência de CO_2 atmosférico; a velocidade de adição das soluções foi de 1 gota a cada 3 segundos. Para o tratamento pós-síntese, o sólido foi mantido sob agitação mecânica à temperatura ambiente (T.a.) por 1 hora e, em seguida, lavado por 5 ciclos de centrifugação com água deionizada e 1 ciclo com etanol. Após isso, o material sintetizado foi seco à pressão reduzida na presença de sílica gel.

Figura 6: Representação esquemática do aparato utilizado na síntese dos HDLs.

3.2.2 – Síntese dos materiais HDL-NAC

Para a síntese de M_2Al -NAC ($M^{2+} = Mg$ ou Zn), foi utilizado o mesmo procedimento de síntese descrito para o HDL-Cl (item 3.2.1), porém a solução de cátions foi adicionada sob 35 mL de uma solução de ânions NAC $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Foram sintetizados outros materiais, variando-se as condições de síntese e de tratamento térmico pós-síntese.

As condições de síntese para a obtenção dos HDLs intercalados com íons Cl^- e NAC descritos nos itens 3.2.1 e 3.2.2 são apresentados na **Tabela 4**.

Tabela 4: Condições de síntese dos HDLs e identificação dos materiais sintetizados.

Material	Condição de síntese	Condições de síntese		
		Razão molar ânion/ Al^{3+} na síntese	Valor de pH de síntese	Tratamento pós síntese
Mg_2Al -Cl	1	-	9,50	1 hora de agitação, T.a ^{a)}
Mg_2Al -NAC	1	1	9,50	1 hora de agitação, T.a ^{a)}
Mg_2Al -0,5NAC	1	0,5	9,50	1 hora de agitação, T.a ^{a)}
Mg_2Al -2NAC	1	2	9,50	1 hora de agitação, T.a ^{a)}
Mg_2Al -NAC.24h. Refl ^{b)} .90°C	2	1	9,50	24 h a 90°C
Mg_2Al -NAC.55°C	3	1	9,50	1 hora de agitação, 55°C
Zn_2Al -Cl	1	-	7,50	1 hora de agitação, T.a ^{a)}
Zn_2Al -Cl.55°C	3	-	7,50	1 hora de agitação, 55°C
Zn_2Al -NAC	1	1	7,50	1 hora de agitação, T.a ^{a)}
Zn_2Al -NAC.55°C	3	1	7,50	1 hora de agitação, 55°C

^{a)}T.a (Temperatura ambiente); ^{b)}Refl (Refluxo)

3.3 – Preparação dos sais de NAC na forma sódica

Para preparar os sais de NAC em diferentes valores de pH, por meio de reação ácido-base, uma solução $0,2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de NaOH foi adicionada gota a gota sobre uma solução $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de NAC, sob agitação em atmosfera de N_2 e à temperatura ambiente. Os valores de pH

escolhidos foram no intervalo de 7,5-11,0. Assim foram produzidos sais nos valores de pH de síntese dos HDLs, de modo a produzir sais de NAC com o grupo carboxilato desprotonado e/ou com os grupos carboxilato e tiol desprotonados, visto que o valor de $pK_{a1}(\text{COOH})$ é igual a 3,24 e o $pK_{a2}(\text{SH})$ é igual a 9,52 (92). Após atingir o valor de pH desejado, esperou-se o valor estabilizar e, em seguida, as soluções em diferentes valores de pH foram congeladas e secas por liofilização. O valor de pH inicial das soluções de NAC, antes de começar a adicionar solução de NaOH, estava com valor igual a 2,18. O sistema utilizado para o preparo dos sais foi o mesmo que está representado na **Figura 6**.

3.4 – Métodos de Caracterização

Para realização desta Dissertação foram utilizados alguns equipamentos comuns, que são apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5: Equipamentos utilizados nos procedimentos experimentais de síntese, tratamento pós síntese, preparo dos sais e preparo de amostra para análise química dos HDLs.

Equipamento	Marca	Modelo
Balança semi-analítica	Marte	AL500
Balança analítica	Shimadzu	AUY220
Banho ultrassom	Limp-Sonic Ciencor	-
Sistema de Ultrapurificação de água	Merck-Millipore	Milli-Q Direct-Q 8 UV
Titulador automático	Quimis	Q799-D2
Agitador magnético com aquecimento	Fisaton	752A
Estufa	Nova Ética	-
Agitador magnético com aquecimento	Redleys tech	Carousel tech
Centrífuga	Hermle	Z36HK
Liofilizador	Thermo Savant	Modulyo D
Dissolutor	Pharma Test	PTWS 820D
Prensa Hidráulica	Caver	4350L

Os difratogramas de raios X dos materiais sintetizados foram registrados primeiramente em difratômetro Rigaku, modelo MiniFlex, pelo método do pó compactado, com raios X provenientes de ânodo de Cu, com comprimento de onda 1,5418 Å. Os valores

de 2θ foram variados de $1,5$ a 70° , com velocidade de $0,02^\circ$ por segundo. Porém, todos difratogramas de raios X apresentados nesta Dissertação foram registrados no Departamento de Física Aplicada do Instituto de Física da USP, em um difratômetro Bruker D8 Discover, utilizando fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ ($1,5418 \text{ \AA}$), 40 kV de tensão, 30 mA de corrente e detector Lynxeye (192 segmentos). Os valores de 2θ foram coletados em uma faixa de 2 a 70° com passo $0,02^\circ$ e tempo de aquisição de $0,5$ segundo por passo, exceto quando informado na legenda da figura do difratograma.

As análises espectroscópicas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Molecular (LEM) do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Os espectros vibracionais na região do infravermelho (FTIR), no intervalo de $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$ com resolução de 4 cm^{-1} , foram registrados diretamente das amostras sólidas em um equipamento FTIR Bruker, modelo Alpha, com acessório de reflexão total atenuada (ATR) Platinum de uma única reflexão e cristal de diamante.

Os espectros Raman foram registrados no equipamento Bruker FT-Raman (laser de 1064 nm) com detector de Germânio, no intervalo de $100\text{--}3500 \text{ cm}^{-1}$, empregando potência de 140 mW na amostra, 1024 aquisições e resolução de 4 cm^{-1} .

As análises estratigráficas dos comprimidos após os ensaios de liberação foram registradas no microscópio Renishaw in Via Reflex, equipado com câmera CCD (Renishaw, 600×400 pixels) refrigerado termoeletricamente e acoplado a um microscópio Leica modelo DM2500M; a linha laser em 785 nm (laser de diodo, Renishaw) foi focalizada na amostra por uma objetiva Leica x50 (abertura numérica de $0,75$).

Os espectros eletrônicos UV-vis das soluções e alíquotas dos ensaios de liberação de NAC foram registrados no espectrofotômetro Shimadzu UV-1650PC.

As curvas TG, DSC e MS foram registradas no equipamento TG-DSC Netzsch modelo STA 409 PC Luxx acoplado ao espectrômetro de massas QMS 403 Aelos, empregando cadinho

de alumina, fluxo de ar sintético de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 10 °C/min. Foi utilizado aproximadamente 10 mg dos HDLs sintetizados.

A curva DSC para a amostra de NAC (Sigma Aldrich) foi feita pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, no equipamento DSC Q10 V9.9 Build 303, empregando cadinho de alumina, fluxo de nitrogênio de 50 mL/min e taxa de aquecimento de 5°C/min, no intervalo de temperatura de 30-119°C, utilizando aproximadamente 2-3 mg de amostra.

As análises quantitativas dos elementos alumínio, zinco, magnésio e enxofre foram feitas por espectrometria de emissão óptica ICP - OES (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado) pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Para tanto, as amostras foram dissolvidas em solução de ácido nítrico 10 % (v/v).

As análises dos elementos carbono, nitrogênio e hidrogênio (CHN) foram realizadas em equipamento Perkin Elmer modelo 2400, na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (SEM) foram obtidas no Núcleo de Instrumentação para Pesquisa e Ensino da Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, em um microscópio eletrônico Jeol-JSM 6610LV, voltagem de 7 kV em modo de elétrons secundários (SE). Para obtenção dessas imagens, a amostra na forma de pó foi borrifada diretamente sobre a fita condutora e recoberta com ouro, empregando um *sputter* Denton Vacuum, modelo DESK V.

Os espectros de ressonância magnética nuclear no estado sólido de carbono-13 (^{13}C -RMN) e alumínio-27 (^{27}Al -RMN) das amostras de HDL foram registrados no *Laboratoire des Matériaux Inorganiques* pelo Dr. Fabrice Leroux em um espectrômetro Bruker Avance 300 MHz. As amostras foram confinadas em rotor de zircônia de 4 mm de diâmetro e os espectros

registrados no modo de Rotação no Ângulo Mágico (Magic Angle Spinning, MAS) a 10 kHz. Os espectros de ^{27}Al -RMN foram registrados operando a 72,3 MHz, $\pi/6$ pulsos e tempo de reciclagem de 10 s. A calibração foi realizada com solução aquosa de AlCl_3 1 mol·L $^{-1}$ (0,0 ppm). Os espectros de ^{27}Al -RMN foram deconvoluídos utilizando uma função do tipo Voigtiana, com combinações Gaussianas (70%) e Lorentzianas (30%). Os espectros ^{13}C -RMN foram registrados operando a 75,47 MHz, com ^1H Polarização Cruzada (Proton enhanced Cross-Polarization, CP), tempo de contato de 1 ms e tempo de reciclagem de 5 s. A calibração foi baseada na carbonila do padrão glicina (176,03 ppm vs TMS) e foram necessárias 2.000 a 10.000 acumulações.

3.5 – Ensaio de liberação *in vitro* de NAC intercalada em HDL

Para os testes de liberação *in vitro* de NAC, os materiais sintetizados foram compactados em forma de comprimidos prensados, utilizando uma prensa hidráulica, aplicando-se 0,25 toneladas durante 2 minutos. Foram realizados dois modos de ensaio de liberação: dinâmico e estático.

A concentração de ânions liberados em cada intervalo de tempo foi determinada por espectrofotometria no UV-Vis em comprimento de onda de máxima absorção do ânion intercalado ($\lambda_{\text{máx}}=208$ nm), a partir da curva de analítica desenvolvida no intervalo de concentração selecionado (0-50 mg L $^{-1}$) (**Figura A 1 do Apêndice A**). Os espectros de absorção dos pontos utilizados na curva de calibração encontram-se na **Figura A 2 do Apêndice A**.

Foram utilizados três comprimidos com 5 milímetros (mm) de diâmetro e 1 mm de espessura, contendo 40 mg de amostra $\text{M}_2\text{Al-NAC}$ (M=Zn ou Mg). O meio de dissolução utilizado foi o fluido corporal simulado (SBF, *simulated body fluid*) preparado como descrito na literatura (93). As quantidades dos reagentes são apresentadas na **Tabela 6**.

Tabela 6: Quantidade de reagentes para o preparo do meio de dissolução SBF para 1 L de água deionizada.

Reagente	Massa molar (g/mol)	Nº mols (mmol)	Quantidade
NaCl	58,44	137,5	8,035 g
NaHCO ₃	84,01	4,225	0,355 g
KCl	74,55	3,018	0,225 g
K ₂ HPO ₄	174,18	1,010	0,176g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	203,3	1,597	0,311 g
Solução 1,0 mol/L HCl	36,46	39	39 mL
CaCl ₂	110,98	2,631	0,292 g
Na ₂ SO ₄	142,04	0,5068	0,072 g
Tris(hidroximetil)aminometano	121,14	50,50	6,118 g

3.5.1 – Ensaio no modo dinâmico

O ensaio foi conduzido em um Dissolutor, com o aparato 1, utilizando a cesta 02 (40 mesh), empregando cuba com capacidade de 250 mL, como recomendado pela farmacopeia norte-americana (*United States Pharmacopeia- USP*) no capítulo <711> (94). A **Figura 7** mostra um esquema representativo dos aparatos usados no processo de liberação. O ensaio de liberação foi realizado sob agitação a 50 rpm, temperatura de 37 °C, em triplicata e utilizando o meio fluido corporal simulado (SBF) para simular as condições do meio extracelular (93). Foram coletadas alíquotas de 3 mL nos seguintes intervalos de tempo: de 15 em 15 min por 3 horas; 30 em 30 min por 3 h, 1 em 1 h por 9 h e, por fim, 12 em 12 h por 84 h de ensaio. O volume retirado em cada ensaio foi repostado com o meio utilizado (SBF). O volume de solução SBF empregado no ensaio foi de 50 mL.

Figura 7: Esquema ilustrativo do arranjo experimental empregando o aparato 1 utilizado no ensaio no modo dinâmico, conforme ilustrado por Rocha (2015) (9).

3.5.2 – Ensaio no modo estático

O ensaio de liberação da NAC no modo estático foi realizado em microtubos do tipo eppendorf de 2 mL, à temperatura de 37 °C e em triplicata. A **Figura 8** mostra um esquema representativo do aparato utilizado no processo de liberação. O volume do meio de dissolução (SBF) foi calculado pela equação $v_s = S_a/10$, onde v_s é o volume do meio de dissolução (mL) e S_a é a área superficial aparente do comprimido em mm² (95,96). O volume calculado e empregado de solução SBF empregado no ensaio foi de 2 mL.

Assim como no método dinâmico, foram utilizados comprimidos com 5 milímetros (mm) de diâmetro e 1 mm de espessura, contendo 40 mg de $M_2Al-NAC$ ($M= Zn$ ou Mg). Foi coletado todo o volume de solução contida no microtubo em intervalos de tempo iguais aos utilizados no ensaio no modo dinâmico. Após cada coleta, foi reposto o volume do meio de dissolução (SBF) retirado.

Figura 8: Esquema ilustrativo do arranjo experimental utilizado no ensaio no modo estático.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

4 – Resultados e discussão

4.1 – Caracterização da NAC

Na literatura foi reportada a existência de polimorfismo da NAC (97). Assim sendo, os dados de caracterização da NAC utilizada neste trabalho foram comparados com os dados reportados por Kumar e Nangia, a fim de determinar qual polimorfo de NAC é comercializado pela Sigma-Aldrich. A forma II do polimorfo da NAC apresenta estrutura ortorrômbica, enquanto a forma I apresenta estrutura triclinica (97). O polimorfo I é o mais estável termodinamicamente à temperatura ambiente; o polimorfo II, após três meses, converte-se para a forma I, segundo a literatura (97).

O polimorfo II foi obtido pelos autores por cristalização da NAC em metanol e recristalização em mistura de metanol com etanol. O polimorfo I pode ser obtido por meio da cristalização da NAC utilizando os solventes acetona, dioxano, nitrometano e tetrahydrofurano (THF) e as seguintes técnicas de cristalização: evaporação rápida do solvente em rotoevaporador, moagem em moinho de bolas, pulverização em almofariz e resfriamento rápido (97).

A **Figura 9** (A) apresenta os difratogramas de raios X dos polimorfos I e II (obtidos a partir do arquivo de dados cristalográficos depositados no Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) (97) e o difratograma da NAC adquirida da Sigma-Aldrich. A **Figura 9** (B) apresenta uma ampliação dos difratogramas. A **Tabela 7** apresenta os valores de ângulos de reflexão 2θ (graus) e os valores de distância interplanares (d).

Figura 9: Difratoogramas de raios X (A): (a) N-acetil-L-cisteína adquirida da Sigma-Aldrich e dos polimorfos (b) Polimorfo I e (c) Polimorfo II reportado por Kumar e Nangia (97); (B): Ampliação dos difratogramas mostrados em (A).

Tabela 7: Valores de ângulo de reflexão 2θ (graus) e distâncias interplanares (d) obtidos a partir dos difratogramas de raios X dos polimorfos reportados por Kumar e Nangia e da NAC obtida da Sigma-Aldrich.

NAC Sigma-Aldrich		Polimorfo I		Polimorfo II	
2θ (graus)	d (Å)	2θ (graus)	d (Å)	2θ (graus)	d (Å)
14,34	6,18	14,16	6,25	11,05	8,01
15,64	5,67	15,54	5,70	12,84	6,89
15,83	5,60			15,60	5,68
18,71	4,74	18,43	4,81	16,03	5,53
19,49	4,55	19,20	4,62	18,33	4,84
20,27	4,38	20,04	4,43	19,48	4,56
21,21	4,19	21,07	4,22	21,74	4,09
23,09	3,85	22,93	3,88	22,19	4,01
24,36	3,65	24,14	3,69	23,94	3,72
26,53	3,36	26,22	3,40	25,08	3,55
26,90	3,31	26,72	3,34	26,66	3,34
28,78	3,10	28,55	3,13	27,59	3,23
29,72	3,01	29,60	3,02	28,15	3,17
30,42	2,94	30,17	2,96	28,73	3,11
31,73	2,82	31,38	2,85	29,16	3,06
32,50	2,75	32,71	2,74	29,79	3,00
				31,58	2,83
				32,21	2,78

Observou-se diferenças nos padrões de difração da NAC quando comparado aos difratogramas dos polimorfos mas, apesar das diferenças de intensidade de algumas das reflexões quando comparando com os polimorfos reportados pela literatura, como as reflexões em 2θ iguais a 14,34; 23,09; 26,90 e 32,50° (**Tabela 7**) que são as mais intensas, os difratogramas indicam que a NAC adquirida da Sigma-Aldrich trata-se majoritariamente do polimorfo I.

A **Figura 10 (A)** apresenta as conformações da NAC nos polimorfos I e II; nota-se que a diferença entre as duas conformações, como reportado por Kumar e Nangia, é a torção de 180° do grupo carboxílico (97).

Figura 10: Estruturas conformacionais da NAC nos polimorfos I e II, obtidas no programa de estrutura cristalina Discovery Studio 4.0, a partir dos dados cristalográficos depositados no CCDC por Kumar e Nangia (97).

A torção do grupo carboxílico na estrutura da NAC tem como efeito diferentes interações intermoleculares e intramoleculares, proporcionando então diferentes empacotamentos cristalinos. A **Figura 11** apresenta os empacotamentos cristalinos para os polimorfos I e II; pode-se observar interações intermoleculares $\text{NH}\cdots\text{S}$ e $\text{OCOH}\cdots\text{O}=\text{C}$ para o polimorfo I e interações intermoleculares $\text{SH}\cdots\text{S}$ e $\text{CH}\cdots\text{OC}$ para o polimorfo II.

Figura 11: Empacotamento cristalino dos polimorfos I e II, obtidas no programa Vesta versão 3, a partir dos dados cristalográficos depositados no CCDC por Kumar e Nangia (97).

A **Figura 12** mostra a distribuição de espécies químicas da N-acetil-L-cisteína na faixa de valores de pH 0 - 14 e os valores de pKa. Em valores de pH abaixo do pKa₁ (3,24), tem-se preferencialmente, em solução, espécies de NAC na sua forma neutra, C₅H₉NO₃S. No caso de valores de pH entre os valores do pKa₁ e pKa₂, tem-se preferencialmente espécies com o grupo carboxilato desprotonado, C₅H₈NO₃S⁻. No caso de valores de pH superiores ao pKa₂, predominam em solução espécies de NAC com os grupos carboxílico e tiol desprotonados, C₅H₇NO₃S²⁻.

Figura 12: Distribuição de espécies da NAC, sendo α_i a fração de espécies, obtida através do programa CurTiPot, desenvolvido pelo Prof. Dr. Ivano G. R. Gutz, do Instituto de Química da USP.

A seguir serão apresentados os resultados de caracterização dos sais de NAC obtidos como descrito no item 3.3. As amostras sólidas de NAC isoladas por liofilização de soluções com valores de pH 7,5; 8,5 e 9,5 são translúcidas e deliquescentes; porém, a amostra de NAC isolada em pH 11,0 é branca e deliquescente. A **Figura 13** mostra os espectros vibracionais na região do infravermelho da NAC na forma neutra e na forma de sal após a secagem por liofilização das soluções preparadas em diferentes valores de pH. O espectro registrado no

intervalo $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ se encontra na **Figura B 1** do **Apêndice B**. A atribuição de bandas, mostrada na **Tabela 8**, foi realizada com base nos dados encontrados na literatura (97–103). Para a NAC na sua forma neutra foram encontrados artigos com estudo de simulação por Teoria do Funcional de Densidade (Density Functional Theory - DFT) (101,102).

Figura 13: Espectros FTIR das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC-solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC-solução pH 8,5 liofilizada, (e) NAC-solução pH 9,5 liofilizada e (f) NAC-solução pH 11,0 liofilizada.

A **Figura 14** mostra os espectros FT-Raman da NAC na sua forma neutra e isolada por liofilização em diferentes valores de pH. O espectro registrado no intervalo de 4000-400 cm^{-1} se encontra na **Figura B 2** do **Apêndice B**.

Figura 14: Espectros FT-Raman das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC-solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC-solução pH 8,5 liofilizada, (e) NAC-solução pH 9,5 liofilizada e (f) NAC-solução pH 11,0 liofilizada.

Os espectros FTIR e FT-Raman da NAC na sua forma neutra são semelhantes tanto no estado sólido quanto isolado a partir de solução liofilizada, o que indica que o procedimento de liofilização não alterou a constante de força das ligações. A partir dos espectros FTIR foi possível identificar bandas relativas aos estiramentos antissimétrico e simétrico do grupo carboxilato, o que significa que ocorreu a desprotonação do grupo carboxílico no intervalo de pH 7,5-11,0, confirmado pelo desaparecimento da banda de estiramento C=O da carboxila em 1713 cm^{-1} no espectro FTIR (**Figura 13**). A segunda desprotonação do NAC, relacionada ao

grupo -SH, começa a ser observada em pH superior a 9,5, evidenciado pela diminuição na intensidade da banda de estiramento S-H (2551 cm^{-1}). Porém em pH 9,5 ainda é observada essa banda devido à coexistência das espécies $(\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_3\text{S})^-$ e $(\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3\text{S})^{2-}$ em solução. Os modos ν e δ C-S são observados na região entre $800\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ (104,105).

Tabela 8: Dados de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman das amostras NAC-solução liofilizada e a NAC isolada por liofilização a partir de soluções em diferentes valores de pH (97–103).

NAC Solução liofilizada (cm^{-1})		NAC pH=7,5 (cm^{-1})		NAC pH=8,5 (cm^{-1})		NAC pH=9,5 (cm^{-1})		NAC pH=11,0 (cm^{-1})		Atribuição para os principais grupos envolvidos na vibração ^a
FTIR	Raman	FTIR	Raman	FTIR	Raman	FTIR	Raman	FTIR	Raman	
3370	3374									ν N-H
	3013									ν_{as} C-H (CH_3)
	2965									ν_{as} C-H (CH_2)
	2932	2935	2932	2932	2932	2932	2932	2932	2932	ν_{s} C-H (CH_3)
	2901									ν_{s} C-H (CH_2)
2545	2547	2546 ^(l)b)	2569	2549 ^(l)	2569	2551 ^(l)	2569			ν S-H
1713	1716									ν C=O (COOH)
1573	1585 ^(l)	1651	1651	1651	1651	1645	1647	1644	1647	ν C=O (CONH)
		1588		1587		1584		1580		ν_{as} CO_2^-
1529		1525		1525		1527		1525		δ N-H
		1390	1410	1390	1410	1391	1410	1398	1410	ν_{s} CO_2^-
1274	1278	1292	1295	1292	1295	1291	1295	1286	1291	ν C-N
649	695	676	683	677	683	677	683	680	685	ν C-S

a) ν_{s} = estiramento simétrico, ν_{as} = estiramento antissimétrico, δ = deformação angular:

b) (l) = banda larga.

A seguir são apresentados os resultados de análise térmica da NAC na sua forma neutra (estado sólido) e a NAC na forma de sais nos valores de pH 7,5 (desprotonação do grupo carboxílico) e 11,0 (desprotonação dos grupos carboxílico e tiol). O resultado de DSC para amostra NAC da Sigma-Aldrich é apresentado na **Figura 15** e mostra um pico endotérmico de

fusão em 111,30°C. A velocidade de aquecimento (5°C/min) é a mesma utilizada no trabalho de Kumar e Nangia (97), que reportaram que a fusão da forma I do polimorfo de NAC ocorre em 111,56°C e a do polimorfo II ocorre em 105,67°C. Assim sendo, o resultado de análise térmica corrobora os resultados de XRD, ou seja, a NAC da Sigma-Aldrich corresponde ao polimorfo I.

Figura 15: Curva DSC obtida para a amostra NAC Sigma-Aldrich (taxa de aquecimento 5°C/min).

Os resultados de análise térmica para as amostras de NAC e seus sais produzidos das soluções liofilizadas estão resumidos na **Tabela 9**. O processo de decomposição da NAC apresenta dois eventos, como demonstrado pelas curvas TG e DTG (**Figura 16 (a)**), com perda de fragmentos com razão massa/carga (m/z) iguais a 18, 44, 46 e 64, que podem ser atribuídos às espécies H_2O , CO_2 , NO e SO_2 , respectivamente. No primeiro evento de decomposição da NAC neutra ($T_{onset} = 175\text{ }^{\circ}C$) ocorre perda de moléculas de H_2O (pico DTG em $198^{\circ}C$), seguida pela perda de moléculas de CO_2 , NO_2 e SO_2 (pico DTG em $216^{\circ}C$). No segundo evento ($T_{onset} = 495^{\circ}C$), observa-se a perda de moléculas de H_2O , CO_2 , NO_2 e SO_2 (pico DTG em $559^{\circ}C$). No processo de decomposição térmica da NAC, com aquecimento até $1000^{\circ}C$, como esperado não foi observado nenhum resíduo.

A análise térmica do sólido obtido por liofilização da solução de NAC em pH 7,5 apresenta quatro eventos, como mostrado nas curvas TG e DTG, (**Figura 16 (b)**), com perda de fragmentos de m/z iguais a 18, 44, 46 e 64. No primeiro evento da decomposição da NAC isolada da solução pH=7,5 ($T_{onset} = 151^{\circ}C$) ocorre a perda de moléculas de H_2O (pico DTG em $160^{\circ}C$); no segundo evento ($T_{onset} = 235^{\circ}C$), observa-se a perda de moléculas de H_2O , CO_2 , NO_2 e SO_2 (pico DTG em $241^{\circ}C$), ou seja, a NAC se decompõe. No terceiro evento ($T_{onset} = 404^{\circ}C$), ocorrem as perdas de moléculas de H_2O , CO_2 , NO_2 e SO_2 (pico DTG em $417^{\circ}C$) e, no quarto evento ($T_{onset} = 698^{\circ}C$), observa-se a liberação de CO_2 e NO_2 (pico DTG em $736^{\circ}C$). A curva TG apresenta um resíduo de aproximadamente 19,7%. Segundo a equação da reação de decomposição (1) proposta neste trabalho, o resíduo seria formado por Na_2O (massa calculada no resíduo = 14,4%) e Na_2SO_4 (massa calculada no resíduo = 5,3%):

A curva TG do sólido obtido por liofilização da solução de NAC em pH 11 apresenta quatro eventos, como mostrado na **Figura 16 (c)**. No primeiro evento ($T_{onset} = 84^{\circ}C$), ocorre a

perda de moléculas de H₂O (pico DTG em 104°C); no segundo evento (T_{onset}= 234°C), observa-se a liberação de moléculas de H₂O, CO₂, NO₂ e SO₂ (pico DTG em 252°C); no terceiro evento (T_{onset}= 385°C), observa-se a formação de moléculas de CO₂ (pico DTG em 427°C); no quarto e último evento (T_{onset}= 731°C), verifica-se a liberação de moléculas de CO₂ e NO₂ (pico DTG em 760°C). O resíduo de aproximadamente 53,1% é, possivelmente, devido à formação de Na₂O (massa calculada no resíduo = 12,0%) e Na₂SO₄ (massa calculada no resíduo = 41,1%), proposto segundo a seguinte equação da reação química de decomposição (2):

Tabela 9: Dados experimentais de análise térmica acoplado ao massas da amostra NAC (Sigma-Aldrich) e dos sólidos liofilizados de soluções de NAC obtidos em diferentes valores de pH.

	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Resíduo %
NAC	150-437°C	437-1000 °C	-	-	0,0
	Δm= 72,0%	Δm= 28,0%	-	-	
	m/z= 18, 44, 46 e 64	m/z= 18, 44, 46 e 64	-	-	
NAC pH=7,5	32-200°C	200-377°C	377-573°C	573-1000°C	19,7
	Δm= 4,5%	Δm= 48,0%	Δm= 5,4%	Δm= 22,4%	
	m/z= 18	m/z= 18,44 e 64	m/z=18,44 e 64	m/z= 44	
NAC pH=11,0	32-209°C	209-350°C	350-500°C	500-1000°C	53,1
	Δm=3,8%	Δm=25,3%	Δm=5,0%	Δm=12,7%	
	m/z= 18	m/z= 18, 44 e 64	m/z= 44	m/z= 44

Figura 16: Curvas TG-DSC e DTG-MS obtidas para as amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH= 7,5 liofilizada e (c) NAC- solução pH= 11,0 liofilizada.

Analisando os valores de temperatura inicial extrapolada (T_{onset}) referente ao evento que ocorre a liberação de moléculas de CO_2 , pode-se inferir que os sais de NAC em valores de pH iguais a 7,5 ($T_{\text{onset}}=234^\circ\text{C}$) e 11 ($T_{\text{onset}}=235^\circ\text{C}$) apresentaram maior estabilidade térmica que a NAC na sua forma neutra ($T_{\text{onset}}=175^\circ\text{C}$).

Os difratogramas de raios X dos sais de NAC não puderam ser registradas porque as amostras são deliquescentes.

4.2 – Caracterização das amostras de HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$

Os difratogramas de raios X dos HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ são apresentados na **Figura 17**. Realizar a síntese do HDL de acordo com a condição 3 (descrita no item 3.2) proporcionou um aumento na cristalinidade da matriz inorgânica e a presença de mais dois picos basais harmônicos (as reflexões (0012) e (0015)) quando comparado ao difratograma da amostra obtida com a condição 1. A maior cristalinidade é proposta considerando-se a maior intensidade e a diminuição da largura na meia altura dos picos basais no XRD da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ quando comparada à amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$. O aumento da cristalinidade é devido ao envelhecimento de Ostwald, processo no qual as primeiras partículas formadas foram dissolvidas e incorporadas às estruturas cristalinas, sendo esse processo de recristalização repetido continuamente até o fim do procedimento de síntese por coprecipitação (106,107). Assim sendo, o HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ foi selecionado para dar continuidade ao estudo dos materiais de NAC intercalado em matriz de composição Zn/Al .

Figura 17: Difratomogramas de raios X dos HDLs, sintetizados em diferentes condições experimentais: (a) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ (condição 1) e (b) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (condição 3).

Os difratogramas de raios X dos HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ são apresentados na **Figura 18** para comparação. Os planos cristalográficos (00 ℓ) apresentados na região abaixo de 30° (2θ) são referentes ao plano de empilhamento das lamelas dos HDLs ao longo do eixo cristalográfico c . Os planos devidos às reflexões não basais observados na região acima de 30° (2θ), estão relacionados ao politipo Hexagonal ou Romboédrico da estrutura (0 $h\ell$) e à estrutura interna das lamelas ($kh0$) (108).

Figura 18: Difratogramas de raios X das amostras (a) N-acetil-L-cisteína Sigma-Aldrich, (b) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e (c) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

Os valores calculados de espaçamento basal das matrizes utilizando a equação de Bragg ($n\lambda = 2d_{hkl} \cdot \sin\theta$) são apresentados na **Tabela 10**. O difratograma do HDL $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ apresentou o perfil esperado: o espaçamento basal $d_{(003)}$ igual a 7,52 é concordante com a intercalação de íons cloreto, conforme já reportado na literatura (25,26). O difratograma do HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ apresentou um deslocamento dos picos abaixo de 30° (2θ) (espaçamento basal $d_{(003)}$ igual a 16,27), comparado aos da matriz $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$, o que sugere que ocorreu a intercalação de íons N-acetil-L-cisteinato entre as lamelas do HDL.

Tabela 10: Valores de ângulo de reflexão 2θ (graus) e distâncias interplanares $d_{(hkl)}$ dos materiais $Zn_2Al-Cl.55^\circ C$ e $Zn_2Al-NAC.55^\circ C$.

hkl	$Zn_2Al-Cl.55^\circ C$		$Zn_2Al-NAC.55^\circ C$	
	2θ	d (Å)	2θ	d (Å)
(003)	11,58	7,52	5,43	16,3
(006)	23,10	3,85	10,83	8,16
(009)	-	-	16,28	5,44
(0012)	-	-	21,76	4,08
(0015)	-	-	27,30	3,26
(101)	34,00	2,63	-	-
(012)	34,74	2,58	34,02	2,63
(104)	37,32	2,40	-	-
(015)	39,10	2,30	-	-
(107)	43,60	2,07	-	-
(018)	46,28	1,98	-	-
(1010)	52,34	1,74	-	-
(0111)	55,56	1,65	-	-
(110)	60,32	1,53	60,64	1,52
(113)	61,54	1,50	-	-
(116)	65,32	1,42	-	-
c (Å)	22,8		48,9	
a (Å)	3,06		3,04	

A partir dos difratogramas de raios X foi possível calcular os parâmetros cristalográficos $\underline{c}$ e $\underline{a}$ dos HDLs (**Tabela 10**). O parâmetro cristalográfico $\underline{c}$ é o triplo do espaçamento basal para compostos lamelares do tipo hidrotalcita que pertencem ao grupo espacial R-3m. O parâmetro cristalográfico $\underline{a}$, que corresponde à distância entre dois centros metálicos, é calculado a partir da reflexão (110): $\underline{a}$ é igual a $2 \times d_{(110)}$, como mostrado na **Figura 19**, na qual as esferas cinzas representam os metais divalentes, a esfera amarela representa o cátion trivalente e, as esferas pretas, os átomos de oxigênio.

Figura 19: Representação do plano [110] de um HDL utilizando modelos de esferas para indicar as distâncias interplanares $d_{(hk0)}$.

Os espaçamentos interlamelares dos HDLs (**Figura 1**) foram calculados subtraindo-se 4,80 (espessura da lamela do HDL) dos valores de espaçamento basal apresentados na **Tabela 10**. Os materiais $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ apresentaram espaçamento interlamelar iguais a 2,72 e 11,47 Å, respectivamente. O valor de espaçamento basal para a amostra $\text{Zn}_2\text{Al-Cl}$ foi condizente com a literatura (8,9) para a intercalação de ânions cloreto (raio iônico 1,81 (109)).

Considerando-se as dimensões aproximadas da NAC e os dados de XRD, sugeriu-se um arranjo da NAC no espaço interlamelar. As dimensões estimadas da NAC na sua forma neutra são 6,25 x 5,53 x 4,59 Å (**Figura 20**). O espaço interlamelar da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$

apresentou valor igual a 11,47 Å, portanto é possível propor um arranjo de bicamada da NAC, com os grupos carboxilato próximos às lamelas positivamente carregadas.

Figura 20: Dimensões da NAC obtidas utilizando do software ChemDraw Ultra 12.0 (Cambridge).

A **Figura 21** apresenta as imagens de microscopia eletrônica de varredura dos HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ em duas ampliações. A morfologia das partículas é placas (25). Nota-se que o material HDL-Cl apresenta maior grau de agregação de partículas que o material HDL-NAC.

Figura 21: Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, em duas magnificações: x20.000 (esquerda) e x35.000 (direita).

A **Figura 22** mostra os espectros vibracionais das amostras $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, NAC-pH=7,5 e NAC-pH=11,0 para comparação. Nota-se que o espectro da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ apresentou perfil espectroscópico mais próximo do perfil da NAC isolada em valor de pH igual a 11,0. A principal semelhança está na ausência da banda em 2545 cm^{-1} ($\delta\text{ S-H}$) no espectro das duas amostras. Assim sendo, para melhor comparação e análise, a **Figura 23** mostra duas regiões dos espectros vibracionais da NAC, NAC-pH=11,0, $\text{Zn}_2\text{Al-Cl. 55}^\circ\text{C}$ e

$\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. Os espectros registrados no intervalo 4000-400 cm^{-1} encontram-se na **Figura C 1 do Apêndice C**.

Figura 22: Espectros FTIR das amostras: (a) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, (b) NAC-solução pH=7,5 liofilizada e (c) NAC-solução pH=11,0 liofilizada.

Figura 23: Espectros FTIR das amostras: (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl. 55}^\circ\text{C}$ e (d) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

A **Tabela 11** apresenta as atribuições das principais bandas considerando-se os estudos reportados pela literatura (97–103,110).

Tabela 11: Dados experimentais de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman dos HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl} \cdot 55^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC} \cdot 55^\circ\text{C}$ (97–103,110).

$\text{Zn}_2\text{Al-Cl} \cdot 55^\circ\text{C} (\text{cm}^{-1})$		$\text{Zn}_2\text{Al-NAC} \cdot 55^\circ\text{C} (\text{cm}^{-1})$		Atribuição para os principais grupos envolvidos na vibração ^{a)}
FTIR	Raman	FTIR	Raman	
3380		3322		ν OH e/ou ν NH
-	-	-	2932	ν_s CH (CH_2)
-	-	-	1642	ν C=O (CONH)
1622	-	1624	-	δ H_2O
-	-	1566	-	ν_{as} CO_2^-
-	-	1533	-	δ NH
-	-	-	1429	δ CH_2
-	-	1392	1399	ν_s CO_2^-
1356	-	-	-	ν_{as} CO_3^{2-}
-	-	1282	1287	ν CN
-	1055	-	-	ν_s CO_3^{2-}
-	-	-	683	δ CS
681	-	-	-	δ_{as} CO_3^{2-}
549	548	540	-	ν Al-OH
-	488	-	-	ν O-Zn-O
422	-	-	-	$\delta_{\text{Transl.}}$ O-Zn-O
-	139	-	124	δ O-Zn-O

a) ν_s = estiramento simétrico, ν_{as} = estiramento antissimétrico, $\delta_{\text{Transl.}}$ = deformação de translação, δ = deformação angular e δ_{as} = deformação angular antissimétrica.

O espectro FTIR da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC} \cdot 55^\circ\text{C}$ apresentou as bandas referentes ao grupo carboxilato em 1566 e 1392 cm^{-1} , sendo que a banda de vibração antissimétrica foi deslocada para um número de onda menor (1566 cm^{-1}), comparando com a posição da mesma banda no sal NAC-pH=11 (1580 cm^{-1}). Uma proposta para esse deslocamento será apresentada ao final da exposição de todos os dados de caracterização. Os espectros vibracionais no infravermelho

das amostras $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ (sintetizada segundo a condição 1) e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (sintetizada segundo a condição 3) apresentaram o mesmo perfil (**Figura C 2 do Apêndice C**).

A **Figura 24** mostra os espectros FT-Raman em duas regiões das amostras NAC, NAC-solução pH=11,0, $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. Os espectros registrados no intervalo $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ encontram-se na **Figura C 3 do Apêndice C**.

Figura 24: Espectros FT-Raman das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) $\text{Zn}_2\text{AlCl.55}^\circ\text{C}$ e (d) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

No espectro Raman da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$, notam-se as bandas atribuídas aos modos de vibração $\nu\text{Al-OH}$ (548 cm^{-1}) e $\nu\text{O-Zn-O}$ (488 cm^{-1}) (110) e uma banda de baixa intensidade em 1055 cm^{-1} atribuída ao modo de estiramento simétrico do íon carbonato (111) (provavelmente pela adsorção de CO_2 atmosférico nos sítios básicos dos HDLs).

Os resultados apresentados de espectroscopia vibracional (tanto no infravermelho quanto Raman) sugerem que os grupos -COOH e -SH estão desprotonados na amostra Zn₂Al-NAC.55°C. Porém, como a amostra foi sintetizada no valor de pH igual a 7,5, esperava-se que o grupo SH estivesse protonado e a NAC apresentasse apenas carga elétrica (-1). No estudo da formação de complexos de NAC com metais divalentes (Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Mn²⁺) (112), foi observado que a desprotonação do grupo tiol ocorre em valores diferentes de pH dependendo do metal que estiver em solução. O estudo foi realizado em condições biológicas simuladas (solução de NaCl e temperatura de 37°C) e mostrou que a presença de íon metálico afeta o grau de ionização da NAC. Na preparação do HDL-NAC na presença de íons Zn²⁺, essa espécie metálica pode ter contribuído para a ionização do grupo tiol em pH 7,5.

A **Figura 25** apresenta os resultados de análise térmica das amostras Zn₂Al-Cl.55°C e Zn₂Al-NAC.55°C. A amostra Zn₂Al-Cl.55°C apresenta quatro eventos térmicos (**Figura 25** (a)). No primeiro evento ($T_{\text{onset}}=101^{\circ}\text{C}$) ocorre a desidratação, com perda de moléculas de H₂O (pico DTG em 138°C) adsorvidas e na região interlamelar, evidenciado pelo pico endotérmico da curva DSC; no segundo e terceiro eventos ($T_{\text{onset}}= 173$ e 246°C , respectivamente) ocorre o processo de desidroxilação das lamelas (pico, DTG em 180 e 265°C , respectivamente, **Figura 25** (a)); no quarto evento ($T_{\text{onset}}=484^{\circ}\text{C}$), observou-se liberação de calor e perda de 15,0 % de massa. Esperava-se a liberação de moléculas de HCl (pico DTG em 505°C), contudo, devido à limitação do equipamento para pequenas quantidades de massa, esse fragmento não foi observado. A quantidade de massa da amostra Zn₂Al-Cl.55°C utilizada foi de aproximadamente 11,8 mg. Nosso grupo conseguiu observar esse fragmento empregando uma massa de aproximadamente 1 grama e macro cadinho (capacidade de 3 mL) (25).

Figura 25: Curvas TG-DSC e DTG-MS obtidas para (a) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e (b) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

O resultado de análise térmica da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, mostrado na **Figura 25** (b), apresenta também quatro eventos térmicos. Após o primeiro evento ($T_{\text{onset}} = 67^\circ\text{C}$) de desidratação (pico DTG em 85°C), observou-se o evento ($T_{\text{onset}} = 204^\circ\text{C}$) de desidroxilação

(pico DTG em 223°C), sugerindo que a matriz intercalada com NAC tem maior estabilização térmica que o HDL intercalado com íons cloreto. No terceiro evento ($T_{\text{onset}} = 328^{\circ}\text{C}$), ocorre a liberação de moléculas de CO_2 (pico DTG em 371°C), evidenciado pelo pico exotérmico da curva DSC (**Figura 25** (b)). No quarto evento ($T_{\text{onset}} = 657^{\circ}\text{C}$), observa-se a liberação de moléculas de CO_2 , NO_2 e SO_2 (picos DTG em 658 e 674°C). O resíduo formado deve ser composto pelas fases ZnO e espinélio (ZnAl_2O_4) (113). A literatura reporta a formação das fases ZnO e ZnAl_2O_4 após tratamento térmico de 450°C para HDL $\text{Zn}_2\text{Al-Cl}$ (113). A **Figura C 4** do **Apêndice C** apresenta as curvas TG e DTG das amostras $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^{\circ}\text{C}$. Pode-se notar que quase não há diferença nas curvas, apenas que os eventos na região de 650-700°C, para a síntese realizada na condição 3 ($\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^{\circ}\text{C}$), apresentam-se separados, o que pode estar associado à organização estrutural das amostras.

Comparando as curvas de TG-DSC e DTG-MS das amostras NAC, NAC-solução pH = 7,5 e NAC-solução pH = 11,0 (apresentadas no item 4.1), pode-se sugerir que ocorreu uma estabilização térmica da NAC na matriz de composição Zn/Al, considerando a temperatura que iniciou a liberação de moléculas de CO_2 , que foi aproximadamente 260 ($\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$), 164 (NAC), 227 (NAC-pH = 7,5), e 244 °C (NAC-pH = 11,0). A temperatura de início da decomposição da espécie orgânica NAC intercalada ocorre em valor superior ($T_{\text{onset}} = 328^{\circ}\text{C}$) ao da forma de sal sódico ($T_{\text{onset}} = 234\text{-}235^{\circ}\text{C}$).

Na **Tabela 12** são apresentadas as fórmulas propostas para os HDLs intercalados com íons Cl^- e o HDL intercalado com NAC, com base nos dados obtidos de análise elementar (CHN) e de metais, e da porcentagem de moléculas de H_2O obtida pela curva TG. Calculou-se também a quantidade experimental de ânion orgânico em 100 g de HDL.

Tabela 12: Fórmula proposta para os HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

Amostra	Fórmula proposta	Zn/Al ^{a)}	%C	%S	%N	% H ₂ O	g NAC/ 100 g de HDL
Zn ₂ Al- Cl.55°C	[Zn _{2,0} Al(OH) _{6,0}](Cl) _{0,9} (CO ₃ ²⁻) _{0,05} · 1,42H ₂ O	2,00 (2,0) ^{b)}				8,0	
						(8,0)	
1° Proposta							
Zn ₂ Al- NAC.55°C	[Zn _{2,04} Al(OH) _{6,08}](C ₅ H ₇ NO ₃ S) _{0,50} · 1,51H ₂ O	2,04 (2,04)	8,1	4,3	1,9	7,3	21,7
			(10,2)	(4,2)	(2,3)	(7,3)	(27,4)
2° Proposta							
Zn ₂ Al- NAC.55°C	[Zn _{2,04} Al(OH) _{6,08}](C ₅ H ₇ NO ₃ S) _{0,70} · 1,65H ₂ O	2,04 (2,04)	10,3	5,5	2,4	7,3	27,8
			(10,2)	(4,2)	(2,3)	(7,3)	(27,4)
3° Proposta							
Zn ₂ Al- NAC.55°C	[Zn _{2,04} Al(OH) _{5,72} (C ₅ H ₇ NO ₃ S) _{0,18}] (C ₅ H ₇ NO ₃ S) _{0,50} · 1,61H ₂ O	2,04 (2,04)	10,3	5,5	2,4	7,3	27,6
			(10,2)	(4,2)	(2,3)	(7,3)	(27,4)

a) Razão molar; b) (Valor Experimental)

Para o HDL intercalado com NAC foram consideradas 3 propostas. Na 1ª proposta foi considerada a NAC com duas cargas negativas (grupos carboxilato e tiol desprotonados, conforme resultados de espectroscopia vibracional) e 100% de intercalação. Na 2ª proposta foi considerado a NAC com duas cargas negativas, mas ao tentar ajustar aos valores de porcentagem de carbono, verificou-se que seria preciso mais que 100% de NAC intercalado, ou seja, a fórmula apresenta excesso de carga negativa.

Considerando a impossibilidade de propor uma fórmula ajustada conforme a 2ª proposta, a 3ª alternativa considera que 26% do NAC intercalado está substituindo parte dos íons hidroxila coordenados aos centros metálicos, de modo a alcançar a compensação de cargas elétricas no material. Essa última proposta será avaliada a seguir por técnicas espectroscópicas. Antes, vale fazer um comentário sobre a quantificação de enxofre nas amostras. A análise de enxofre foi realizada pela técnica de ICP-OES e o valor da porcentagem proposta pela fórmula

(5,6 % de S) apresentou uma diferença de 1,4 % em relação ao valor experimental (4,2 % de S), pois no procedimento de abertura da amostra com ácido nítrico concentrado pode ter ocorrido a formação de compostos voláteis de enxofre (SO_x).

A **Tabela 13** apresenta um resumo dos dados de análise térmica das amostras $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

Tabela 13: Dados de análise térmica acoplado ao massas para os HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Resíduo %
$\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$	32-159°C	159-209°C	209-309°C	309-1000°C	62,0%
	$\Delta m = 8,0\%$	$\Delta m = 5,0\%$	$\Delta m = 10,0\%$	$\Delta m = 15,0\%$	
	$m/z = 18$	$m/z = 18$	$m/z = 18$	-	
$\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$	32-160°C	160-260°C	260-630°C	630-1000°C	52,2%
	$\Delta m = 7,3\%$	$\Delta m = 11,0\%$	$\Delta m = 19,0\%$	$\Delta m = 10,5\%$	
	$m/z = 18$	$m/z = 18$	$m/z = 44$	$m/z = 44, 46$ e 64	

A **Figura 26** apresenta os difratogramas dos resíduos da análise térmica para os HDLs $\text{Zn}_2\text{Al-Cl.55}^\circ\text{C}$ e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. Esses difratogramas evidenciam a presença das fases ZnO e ZnAl_2O_4 (114,115). Nos espectros vibracionais no infravermelho apresentados na **Figura 27**, foi possível atribuir as bandas em 656 ($\nu\text{Zn-O-Al}$), 551 ($\nu\text{Al-O}$) e 460 cm^{-1} ($\nu\text{Zn-O}$) (116,117). Ao contrário dos sais sódicos de NAC, os materiais HDL-NAC não formam sal de sulfato ao se decomporem.

Figura 26: Difrátogramas de raios X dos resíduos de análise térmica das amostras Zn₂Al-Cl.55°C (traço preto) e Zn₂Al-NAC.55°C (traço vermelho), obtidos a 1000°C (@artefato do difratômetro da Rigaku).

Figura 27: Espectros FTIR dos resíduos de análises térmicas das amostras (traço preto) Zn₂Al-Cl.55°C e (traço vermelho) Zn₂Al-NAC.55°C obtidos a 1000°C.

Para verificar a proposta de coordenação de parte do NAC aos sítios metálicos da lamela, ou seja, substituição de parte dos íons hidroxila, primeiramente reanalisou-se os espectros vibracionais, lembrando que a coordenação do grupo carboxilato provoca deslocamentos nas bandas de estiramento -COO^- (118). Assim sendo, calculou-se a diferença (Δ) entre os valores da posição da banda de estiramento antissimétrico e simétrico [$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-) - \nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$] das amostras sintetizadas. O HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ apresentou valor de Δ igual a 174 cm^{-1} , ou seja, menor que Δ dos valores encontrados para sais iônicos de NAC (aproximadamente $198\text{-}182\text{ cm}^{-1}$), como mostra a **Tabela 14**. Cabe ressaltar que o valor da diferença (Δ) entre os valores das bandas de estiramento antissimétrico e simétrico da $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ é um valor aproximado, uma vez que a banda na região de 1550 cm^{-1} é larga (há contribuição de outras bandas) e, segundo a proposta deste trabalho, possui contribuição de NAC coordenada e não coordenada. A **Figura 28** apresenta alguns dos tipos de coordenação para ânions carboxilato em complexos (119), a fim de avaliar a interação da NAC com os metais da estrutura lamelar.

Tabela 14: Valores de variação entre os números de onda do estiramento antissimétrico e simétrico do grupo carboxilato para a NAC isolada de soluções de diferentes valores de pH e o HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

Amostra	FTIR		$\Delta (\nu_{\text{as}} - \nu_{\text{s}})$
	$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$	$\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$	
NAC-pH=7,5	1588	1390	198
NAC-pH=8,5	1587	1390	197
NAC-pH=9,5	1584	1391	193
NAC-pH=11,0	1580	1398	182
$\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$	1566	1392	174

Figura 28: Representação esquemática dos tipos de interação que o grupo CO_2^- da NAC poderia estabelecer com a matriz de HDL. Adaptada de Zelenák et al. (2006) (119).

A proposta de coordenação no modo *ponte+monodentada* é a que mais se aproxima do esperado, considerando-se que o átomo de oxigênio do grupo carboxilato estaria ligado a três metais em uma estrutura do tipo HDL. Para esse tipo de coordenação, observa-se que o valor $\Delta(\text{CO}_2^-)$ do complexo apresenta valores maiores que o $\Delta(\text{CO}_2^-)$ do sal da respectiva espécie química (118,119). Outra possibilidade seria a coordenação pelo modo *bidentado*, no qual o íon carboxilato, ao atuar como ligante *quelato* para um metal da lamela, atuaria como ponte *syn-syn* para os íons dos octaedros vizinhos. O esperado para coordenação *bidentada*, quelante ou ponte, seria um valor menor de $\Delta(\text{CO}_2^-)$ que o $\Delta(\text{CO}_2^-)$ do sal, sendo a coordenação ponte maior que a *quelato* (118,119). Os valores de $\Delta(\text{CO}_2^-)$ nem sempre concordam com os dados de difratometria de raios X de monocristal de complexos metálicos. Assim, embora a análise de espectroscopia FTIR aponte para uma coordenação *bidentada* da NAC nas lamelas do HDL, outros fatores podem estar influenciando, como mencionado acima (bandas largas e possibilidade de haver íons NAC coordenados e não coordenados). Como já reportado na literatura (120), um valor $\Delta(\text{CO}_2^-)$ menor de que o $\Delta(\text{CO}_2^-)$ do sal, nem sempre confirmam uma coordenação *bidentada*, como observado para o hidroxosal lamelar de composição $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{CH}_3\text{COO}$ é estrutura análoga aos minerais botallackita $[\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}]$ e gehardtita

[Cu₂(OH)₃NO₃], no qual ocorre coordenação *monodentada* (atestado por difratometria de raios X) mas que apresenta $\Delta(\text{CO}_2^-)$ menor que 200 cm⁻¹. Esse comportamento tem sido explicado devido a ligação de hidrogênio que ocorre entre a hidroxila vizinha e o oxigênio livre do carboxilato coordenado (120,121). Sendo assim, a banda referente ao $\nu_{\text{as}} \text{CO}_2^-$ deslocaria para valores de frequência mais baixo gerando um valor de $\Delta(\text{CO}_2^-)$ menor que o $\Delta(\text{CO}_2^-)$ do sal.

Este estudo não irá considerar a possibilidade de coordenação da NAC aos metais pelo átomo de enxofre. O íon Al³⁺ é um ácido duro na classificação de Pearson enquanto o Zn²⁺ possui caráter duro-mole intermediário (122). Portanto, provavelmente a coordenação ocorreria pelo átomo de oxigênio (base dura), em detrimento ao enxofre (base mole). Essa discussão será retomada adiante.

A **Figura 29** apresenta o espectro ¹³C-RMN de estado sólido da amostra de Zn₂Al-NAC.55°C. A **Tabela 15** apresenta os valores dos deslocamentos químicos dos sinais da amostra de Zn₂Al-NAC.55°C e os valores dos deslocamentos reportados na literatura para a NAC no estado sólido (97). São esperados e observados cinco picos para o NAC no Zn₂Al-NAC.55°C, o que indica que não ocorreu hidrólise ou oxidação da NAC após intercalação, ou seja, o ânion orgânico preservou a sua estrutura. Observou-se deslocamento dos picos dos átomos C1, C2, C4 e C5 em relação aos valores do NAC (**Tabela 15**), o que é esperado considerando-se que o NAC está desprotonado e em um meio confinado. Observou-se deslocamentos mais significativos dos picos C1 (de 175,0 para 177,8 ppm) e C4 (de 171,6 para 173,5 ppm) comparado com a forma protonada da NAC. O pico C1 se desloca para frequência maior, o que é esperado na desprotonação do grupo carboxílico (25,27). O deslocamento do pico C4 sugere que o grupo amida da NAC está envolvido em ligações de hidrogênio mais fortes quando intercalado em comparação com o NAC não intercalado. Segundo a proposta com base na análise elementar e espectroscopia vibracional, parte do NAC²⁻ estaria coordenado

aos cátions da lamela. Se isso ocorre, não provoca deslocamento significativo no sinal de C1 de modo a poder distinguir entre ânion NAC coordenado e NAC não coordenado às lamelas. Não foi observado pico em aproximadamente 170 ppm, atribuído a íon carbonato intercalado em HDL (123–125), o que indica que a amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ não está contaminada com carbonato.

Figura 29: Espectro de ^{13}C -RMN no estado sólido da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$.

Na literatura foram encontrados alguns trabalhos de complexos com metais que possuem caráter mole, formando então o complexo pela ligação com o átomo de enxofre (126–128). Corbi *et al.* (128) sintetizaram o complexo de platina (Pt^{2+}) com NAC e os resultados de ^{13}C -RMN (estado sólido) mostraram uma variação de deslocamento químico ($\Delta\delta$) de 6 ppm no pico do C3. Corbi *et al.* (127) também sintetizaram o complexo de ouro (Au^+) com NAC e observaram $\Delta\delta$ com valor igual a 8,5 ppm para C3 no espectro de ^{13}C -RMN (estado sólido). Abbehausen *et al.* (126) prepararam o complexo de prata (Ag^+) e observaram deslocamento igual a 3,5 ppm no pico referente ao carbono C3. Portanto, o pico do átomo de C ligado ao enxofre da NAC coordenada se desloca para valores de maiores frequências. Como não foi

observado um deslocamento do C3 no espectro da amostra de HDL ^{13}C -RMN (estado sólido) (**Figura 29**), pôde-se confirmar que não ocorre a coordenação da NAC pelo átomo de enxofre aos metais das lamelas.

Tabela 15: Deslocamentos químicos dos picos dos espectros ^{13}C -RMN da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ e da NAC (estado sólido) reportada pela literatura, valores em ppm (97).

Atribuição	NAC (dados da literatura)	$\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$
C1	175,0	177,8
C2	56,2	57,1
C3	28,3	28,6
C4	171,6	173,5
C5	23,3	22,7

O espectro de ^{27}Al -RMN da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ foi registrado a fim de investigar a proposta de coordenação do grupo carboxilato na estrutura lamelar, pois a partir dos espectros de ^{27}Al -RMN é possível analisar a esfera de coordenação do Al. Os íons hidroxila podem apresentar três ambientes distintos nas lamelas de HDLs de composição $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ igual a 2 (129): $\text{M}^{\text{II}}_n\text{Al}_{3-n}\text{OH}$ ($n = 1, 2$ ou 3), sendo a distribuição M_2AlOH esperada para um arranjo ordenado de cátions na lamela (**Figura 30 (A)**) ou a distribuição dominante em uma amostra real.

Uma amostra real, por exemplo, de $\text{Mg}_2\text{Al-nitrato}$ pode conter aproximadamente 10% de sítios MAl_2OH e 6% de M_3OH , segundo dados de ^1H -RMN (130). Se o íon hidroxila é substituído por outro ligante, como íons carboxilato, a esfera de coordenação dos cátions metálicos deve ser modificada (alteração na simetria local).

Figura 30: (A) Ambiente ao redor do átomo de oxigênio do ânion hidroxila e (B) Ambiente ao redor do cátion metálico.

Considerando o íon Al, HDLs perfeitamente ordenados apresentam seis íons Zn^{2+} (ou outro íon M^{2+}) rodeando um íon Al^{3+} , $[\text{Al}(\text{OZn})_6]$. Se ocorrer desordem na distribuição de cátions na estrutura lamelar, devem aparecer sítios locais como, por exemplo, $\text{Al}(\text{OZn})_5(\text{OAl})$ ou $\text{Al}(\text{OZn})_4(\text{OAl})_2$ (**Figura 30** (B)). A faixa de valores de deslocamento químico para alumínio octaédrico ($\text{Al}^{(\text{VI})}$) vai de -10 a 15 ppm (131). O valor de deslocamento químico de 9,5 ppm apresentado pela amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (**Figura 31**) indica presença de $\text{Al}^{(\text{VI})}$. O valor da largura do pico na meia altura é 15,9 ppm. Porém, o pico não é simétrico, mas mostra um ombro para região de menor frequência, indicando a presença de mais de um sítio de número de coordenação seis para o alumínio. A deconvolução do pico de ^{27}Al -RMN foi realizada utilizando o programa *Fityk* versão 0.9.8 (**Figura 31**). Observa-se a possibilidade de coexistirem três sítios de Al, identificados como Al-1, Al-2 e Al-3 na **Figura 31** (125,129). Os picos em menor frequência (Al-2 e Al-3) representariam íons $\text{Al}^{(\text{VI})}$ em sítios mais distorcidos (provavelmente $\text{Al}(\text{OM})_5(\text{OAl})$, ou $\text{Al}(\text{OM})_4(\text{OAl})_2$) (130).

HDLs de composição Zn/Al igual a 2 e intercalados com íon cloreto, tereftalato e p-aminosalicilato apresentaram, respectivamente, pico em 16,3 ppm (129), dois picos largos em 11-14 ppm (123) e em 15,5 ppm (132). Esses picos também apresentaram assimetria, ou seja, um ombro na região de menor frequência, como o mostrado na **Figura 31**.

Figura 31: Espectro de ^{27}Al -RMN no estado sólido da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC-55}^\circ\text{C}$. Diff é a diferença entre o espectro experimental e o simulado.

Os dados de espectroscopia de ^{27}Al -RMN da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC-55}^\circ\text{C}$ não permitiu confirmar a proposta de coordenação do grupo carboxilato na estrutura lamelar, uma vez que a assimetria do pico é observada mesmo para HDLs de zinco com íons inorgânicos simples intercalados. Essa discussão será retomada ao apresentar os dados de ^{27}Al -RMN da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$.

Para verificar a proposta de que parte dos ânions NAC estão coordenados às lamelas, foi realizado o aquecimento da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC-55}^\circ\text{C}$ em forno até 250°C , com o intuito de verificar se ocorre alterações nas posições das bandas dos grupos carboxilato. Esse experimento foi realizado lembrando que ânions de carboxilato intercalados em matriz de

composição Zn/Al podem se coordenar às lamelas após o processo de desidroxilação do HDL (133), que para a $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ ocorre abaixo de 250°C (**Figura 25 (b)**). De acordo com os espectros vibracionais no infravermelho do resíduo após aquecimento até 250°C , a posição das bandas atribuídas ao estiramento antissimétrico desloca de 1566 para 1577 cm^{-1} enquanto os simétricos deslocam de 1392 para 1411 cm^{-1} , como apresentado na **Figura 32**. O valor da diferença [$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-) - \nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$] diminuiu de 174 cm^{-1} para 166 cm^{-1} após o tratamento térmico, o que pode indicar um aumento da quantidade de grupos carboxilato coordenados na estrutura lamelar, substituindo parte das hidroxilas da estrutura (9).

Figura 32: Espectros FTIR da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) antes de aquecimento e (b) após aquecimento até 250°C .

4.2.1 – Ensaio de liberação no modo dinâmico da NAC intercalada no HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$

A partir das quantidades dissolvidas em cada intervalo de tempo, conforme valores mostrados na **Tabela 16**, foi possível construir a **Figura 33** que mostra o perfil de liberação *in vitro* da NAC intercalada na matriz $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. A liberação de NAC foi de $35,6 \pm 0,7\%$

após 96 horas, no experimento de liberação em modo dinâmico, o que sugere um perfil de liberação modificada, pois a NAC na sua forma neutra é solúvel prontamente em água (solubilidade 100 mg/mL).

Tabela 16: Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Zn₂Al-NAC.55°C em meio SBF (37°C) utilizando a método dinâmico.

Zn₂Al-NAC.55°C			
t (h)	NAC* liberado (mg L⁻¹)	NAC liberado (%)	Desvio padrão
0,25	24,2	11,2	0,6
0,50	24,4	12,0	0,6
0,75	25,1	12,4	0,2
1,00	21,8	10,8	0,4
1,25	19,7	9,8	0,4
1,50	23,5	11,5	0,4
1,75	23,8	11,7	0,3
2,00	23,9	11,8	0,5
2,25	23,6	11,6	0,5
2,50	23,4	11,5	0,4
2,75	21,6	10,7	0,5
3,00	22,7	11,1	0,5
3,50	22,3	11,0	0,4
4,00	30,5	16,6	1,0
4,50	20,3	10,3	0,2
5,00	21,2	10,4	0,3
5,50	22,2	10,9	0,8
6,00	23,8	11,7	0,1
7,00	26,4	12,9	0,4
8,00	27,7	13,6	1,0
9,00	26,8	13,2	1,4
10,00	30,2	14,8	0,9
11,00	29,8	14,2	0,9
12,00	31,0	15,1	0,6
24,00	39,8	19,3	0,7
36,00	46,8	22,8	0,6
48,00	51,9	25,4	0,6
60,00	54,4	26,7	1,1
72,00	60,2	29,5	0,8
96,00	73,1	35,6	0,7

* Média de experimento em triplicata.

Figura 33: Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido Zn₂Al-NAC.55°C em meio SBF (37°C) e método dinâmico.

Após 96 horas de ensaio de liberação, os comprimidos foram analisados por difratometria de raios X, FTIR e Microscopia Raman (laser 785 nm). A **Figura 34** apresenta os XRDs das amostras Zn₂Al-NAC.55°C antes do teste e após 96 h de ensaio de liberação. Pode-se observar a presença das reflexões (003), (006), (009), (012) e (110) após o ensaio de liberação. O XRD do HDL após o experimento apresentou cristalinidade muito menor, mas a estrutura lamelar permaneceu com o mesmo espaçamento basal ($d_{(003)} = 16,3 \text{ \AA}$) que antes do experimento de liberação. Ressalta-se que o difratograma de raios X após o ensaio poderia não ser exatamente igual ao apresentado, pois não foi possível realizar o registro do difratograma separando a região externas e internas do comprimido.

Figura 34: Difratomogramas de raios X do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF ($\text{pH}=7,4$ e 37°C). (Registrados no difratômetro da Rigaku)

A **Figura 35** apresenta os espectros FTIR do HDL-NAC antes e após o experimento de liberação. Não foram observadas grandes modificações no espectro após o experimento, apenas a presença de banda em 1006 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}} \text{P-O}$) (14,134–138). Lembrando que a quantidade de HPO_4^{2-} era o dobro da quantidade de SO_4^{2-} no meio simulado, sugere-se a adsorção preponderante de hidrogenofosfato na superfície do HDL após o ensaio de liberação.

Figura 35: Espectros FTIR do comprimido Zn₂Al-NAC.55°C (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C).

Para verificar as alterações nas regiões internas do comprimido após o experimento de liberação, foram obtidos espectros em regiões da seção meridional do comprimido. Observa-se que, na região externa do comprimido, a banda em 973 cm⁻¹ que já estava presente no espectro da amostra antes do ensaio de liberação, apresentou maior intensidade que as demais bandas do espectro Raman. Pode-se sugerir que essa banda tem contribuição do modo ν_s do ânion HPO_4^{2-} (14,135–138). As regiões internas aparentam estar intactas, o que sugere que não ocorreu troca aniônica na parte interna ao comprimido, mas apenas as regiões mais externas sofreram alterações.

Figura 36: (A) Espectros Raman (laser 785 nm) ao longo da secção meridional dos comprimidos de (a) e (b) regiões R1 e R5 do comprimido de Zn₂Al-NAC.55°C após 96 h de ensaio de liberação; (c), (d) e (e) Zn₂Al-NAC.55°C regiões R2, R3 e R4 do comprimido após o ensaio de liberação e (f) Zn₂Al-NAC.55°C antes do ensaio de liberação no modo dinâmico. (B) Pontos onde foram coletados os espectros no comprimido ao longo da secção meridional: R1 e R5 correspondem às regiões mais externas do comprimido, sendo R2, R3 e R4 as regiões mais internas.

As quantidades dos cátions foram quantificadas nas soluções após o fim do experimento, afim de verificar se ocorreu lixiviação dos cátions que compõem as lamelas. A concentração de metais após 96 h de ensaio foi de 0,45 mg/L para Zn, o que corresponde a 0,17% da quantidade desse metal no comprimido, e abaixo do limite de detecção (LD < 0,01mg/L) para Al. Assim

sendo, não ocorreu lixiviação dos metais da estrutura lamelar para a solução do meio de liberação. O processo de liberação pode ser classificado como apenas de troca iônica.

Analisando os resultados apresentados, pode-se sugerir que o HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ apresentou um perfil de liberação modificada (prolongada), visto que após 96 horas de experimento a taxa de liberação não atingiu 40 % e o comprimido apresenta estar intacto na sua região interior. Ensaio de liberação de fármacos a partir de HDLs na forma de comprimido, conduzido em Dissolutor utilizando o aparato 1, já foi realizado pelo grupo. Rocha *et al.* (25) estudaram a liberação de sulindaco a partir das matrizes Zn_2Al e Mg_2Al em meio de solução tampão fosfato (pH 7,2 a 37°C); após 84 horas foi liberado aproximadamente 92 % de sulindaco presente na matriz de Mg_2Al e 97 % de sulindaco da matriz de Zn_2Al . Observa-se que a liberação de NAC da matriz de Zn_2Al apresentado nesta Dissertação foi bem lenta, provavelmente devido o NAC apresentar duas cargas elétricas e por parte da NAC estar coordenada na estrutura do carregador.

4.2.2 – Ensaio de liberação no modo estático da NAC intercalada no HDL $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$

A partir das quantidades dissolvidas em cada intervalo de tempo, e que são mostradas na **Tabela 17** foi possível construir a **Figura 37** que mostra o perfil de liberação *in vitro* da NAC intercalada na matriz $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. A liberação de NAC foi de $20,3 \pm 0,1$ % após 96 horas, no experimento de liberação em modo estático, o que sugere um perfil de liberação modificada.

Tabela 17: Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Zn₂Al-NAC.55°C em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) empregando o método estático.

Zn₂Al-NAC.55°C			
t (h)	NAC* liberado (mg L⁻¹)	NAC liberado (%)	Desvio padrão
0,25	16,7	0,312	0,08
0,50	62,1	1,16	0,36
0,75	82,2	1,54	0,03
1,00	99,7	1,86	0,03
1,25	116,6	2,18	0,05
1,50	136,6	2,55	0,04
1,75	153,2	2,86	0,01
2,00	173,2	3,24	0,02
2,25	189,0	3,53	0,00
2,50	205,2	3,84	0,03
2,75	222,9	4,17	0,02
3,00	236,1	4,41	0,04
3,50	256,5	4,80	0,04
4,00	278,7	5,21	0,11
4,50	296,3	5,54	0,05
5,00	314,7	5,88	0,06
5,50	333,7	6,24	0,06
6,00	351,6	6,57	0,07
7,00	378,6	7,08	0,06
8,00	400,6	7,49	0,01
9,00	425,0	7,94	0,04
10,00	448,6	8,38	0,02
11,00	473,5	8,85	0,05
12,00	500,1	9,35	0,03
24,00	594,7	11,1	0,07
36,00	691,5	12,9	0,1
48,00	774,0	14,5	0,1
60,00	861,2	16,1	0,2
72,00	955,8	17,9	0,1
96,00	1085,0	20,3	0,1

* Média de experimento em triplicata.

Figura 37: Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) empregando método estático.

A **Figura 38** apresenta os XRDs do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, antes e após o experimento de liberação realizado no modo estático. Observa-se a presença das reflexões (003), (006), (009), (012) e (110). A estrutura lamelar permanece com o mesmo espaçamento basal ($d_{(003)} = 16,3 \text{ \AA}$) após o ensaio de liberação. O HDL para este caso, quando comparado ao experimento em modo dinâmico, apresenta melhor cristalinidade, lembrando que os difratogramas após os ensaios de liberação poderiam ser diferentes se fosse registrado separadamente a região externa e interna dos comprimidos. O ensaio de liberação empregando o método estático foi 15 % menor que a liberação de NAC em método dinâmico, sendo assim condizente que o XRD do comprimido após o experimento no modo estático esteja com o perfil mais próximo ao do HDL antes do experimento. A difusão dos íons presente no meio de solução

pode ocorrer mais rapidamente no modo dinâmico que no modo estático, devido à agitação do meio.

Figura 38: Difratrogramas de raios X do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo estático em meio SBF ($\text{pH}=7,4$ e 37°C). (Registrados no difratômetro da Rigaku)

A **Figura 39** apresenta os espectros FTIR antes e após o experimento de liberação. Assim como no experimento no modo dinâmico, o espectro no modo estático apresenta apenas a presença da banda em 1006 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}} \text{P-O}$) (14,134–138) comparando com o espectro da amostra antes do experimento. Como já discutido nos resultados de liberação no modo dinâmico, sugere-se que a adsorção de íons HPO_4^{2-} na superfície do HDL, visto que a quantidade desses íons em solução foi maior que SO_4^{2-} .

Figura 39: Espectro FTIR do comprimido $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (a) após e (b) antes do ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C).

A **Figura 40** apresenta os espectros Raman (laser 785nm), ao longo da seção meridional do comprimido de $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ após o experimento. Observa-se que as regiões externas são diferentes. A região externa da **Figura 40** (b) apresenta o mesmo perfil que as regiões internas do comprimido. Provavelmente essa região seria a que se manteve com menor contato ao meio de dissolução, ou seja, a região do comprimido que está virada para o fundo do micro tubo do tipo eppendorf. O espectro Raman apresenta a banda em 973 cm^{-1} com maior intensidade que as demais bandas, possivelmente devido a contribuição do HPO_4^{2-} (14,135–138).

Figura 40: (A) Espectros Raman (laser 785 nm) ao longo da secção meridional dos comprimidos de (a) e (b) R1 e R5 de Zn₂Al-NAC.55°C após 96 h de ensaio de liberação; (c), (d) e (e) Zn₂Al-NAC.55°C regiões R2, R3 e R4, respectivamente e (f) Zn₂Al-NAC.55°C antes do ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C). (B) Pontos onde foram coletados os espectros no comprimido ao longo da secção meridional: R1 e R5 correspondem às regiões mais externas do comprimido, sendo R2, R3 e R4 as regiões mais internas.

A concentração de metais após 96 h de ensaio foi de 1,57 mg/L de Zn, ou seja, 0,025% da quantidade desse metal no comprimido foi lixiviada, e abaixo do limite de detecção (LD < 0,01mg/L) para Al. Praticamente não ocorreu lixiviação dos metais que compõem a estrutura lamelar para o meio de dissolução.

Os ensaios de liberação *in vitro* apresentados nesta Dissertação foram realizados através de dois métodos: o método dinâmico e estático. Comparando os métodos nota-se que a liberação

de NAC no método dinâmico (30 %) foi mais “rápida” que o método estático (20 %). Sugere-se que esta diferença é devido ao fato da agitação do método dinâmico proporcionar uma maior difusão dos ânions presentes no meio de dissolução que o método estático. Considerando que futuramente serão realizados testes *in vivo* com a amostra de $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$.55°C, em colaboração com o Prof. Dr. Ivan Koh (UNIFESP-SP), e que nesses testes a via de administração será subcutânea através de implantes intramusculares, o método estático está mais próximo das condições do meio biológico (liberação em ambiente com fluxo muito lento de fluido corporal). Notou-se assim a importância da realização do ensaio de liberação nos dois métodos.

4.3 – Caracterização do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$

Os difratogramas de raios X dos HDLs $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ são apresentados na **Figura 41**. O difratograma do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ apresentou o perfil esperado, como reportado na literatura (25,26). O seu espaçamento basal $d_{(003)}$ igual a 7,62 (Tabela 18) é observado na intercalação de íons cloreto (25,26). O difratograma do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ não apresentou deslocamento de picos em 2θ abaixo de 30° e o seu valor de espaçamento basal $d_{(003)}$ é igual ao do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$, assim como as reflexões (006), (012) e (110). Portanto não é possível sugerir que ocorreu a intercalação em posição perpendicular às lamelas do ânion N-acetil-L-cisteínato. Pode-se sugerir que talvez a intercalação ocorreu em posição paralela às lamelas da matriz Mg/Al.

Figura 41: Difratomogramas de raios X das amostras (a) N-acetil-L-cisteína, (b) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e (c) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ (* artefato do equipamento).

Os difratogramas de raios X dos HDLs $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-0,5NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-2NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.24h}$, $\text{Refl.90}^\circ\text{C}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ são apresentados na **Figura 42**. Analisando os perfis dos padrões de difração, observou-se que o tratamento térmico aumenta a cristalinidade dos HDLs, porém os materiais apresentam um perfil mais semelhante ao do HDL intercalado com íons cloreto. Além das diferentes cristalinidades apresentadas, houve mudança no pico referente ao plano (hk0) em valores de 2θ acima de 60° .

Figura 42: Difratoigramas de raios X das amostras (a) Mg₂Al-NAC, (b) Mg₂Al-0,5NAC, (c) Mg₂Al-2NAC (d) Mg₂Al-NAC.24h. Refl.90°C e (e) Mg₂Al-NAC.55°C (*artefato do equipamento).

A **Figura 43** apresenta as imagens de microscopia eletrônica de varredura para as matrizes Mg₂Al-Cl e Mg₂Al-NAC, em duas ampliações. A matriz Mg₂Al-Cl apresenta morfologia típica desse material sintetizado na condição 1. Nota-se a presença de muitos agregados com tamanhos não uniformes. A morfologia da matriz Mg₂Al-NAC mostrou-se diferente da morfologia apresentada pelo HDL Zn₂Al-NAC.55°C (**Figura 21**). A superfície da matriz Mg/Al intercalada com NAC apresenta uma grande quantidade de partículas agregadas na superfície, característica para HDLs sintetizados sem tratamento pós-síntese (7).

Figura 43: Imagens de microscopia eletrônica de varredura das amostras Mg_2Al-Cl e $Mg_2Al-NAC$, em duas magnificações $\times 20.000$ (esquerda) e $\times 35.000$ (direita).

Tabela 18: Valores de ângulo de reflexão 2θ (graus) e distâncias interplanares $d_{(hkl)}$ dos materiais Mg_2Al-Cl e $Mg_2Al-NAC$.

hkl	Mg_2Al-Cl		$Mg_2Al-NAC$	
	2θ	d (Å)	2θ	d (Å)
(003)	11,60	7,62	11,60	7,62
(006)	23,23	3,82	23,23	3,82
(012)	35,00	2,56	35,00	2,56
(015)	39,40	2,28	39,40	2,28
(018)	46,60	1,95	46,60	1,95
(110)	61,29	1,51	61,29	1,51
(113)	62,42	1,48	-	-
c (Å)	22,9		22,9	
a (Å)	3,02		3,02	

A **Figura 44** mostra os espectros vibracionais no infravermelho da NAC, NAC-solução pH=9,5 liofilizada, Mg_2Al-Cl e $Mg_2Al-NAC$. O espectro registrado no intervalo de 4000-400

cm^{-1} encontra-se na **Figura D 1** do **Apêndice D**. A comparação do espectro do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ foi realizada com o do sal NAC-solução $\text{pH}=9,5$, ou seja, mesmo valor de pH em que foi realizada a síntese.

Figura 44: Espectros FTIR das amostras (a) NAC Sigma-Aldrich, (b) NAC-solução $\text{pH}=9,5$ liofilizada, (c) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e (d) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$.

A **Figura D 2** do **Apêndice D** apresenta os espectros vibracionais das amostras $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-0,5NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-2NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.24h. Refl.90}^\circ\text{C}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. Não foram observadas mudanças espectrais significativas como, por exemplo, as posições das bandas nos espectros vibracionais.

A **Figura 45** mostra os espectros FT-Raman das amostras NAC (Sigma-Aldrich), NAC-solução $\text{pH}=9,5$ liofilizada, $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$. O espectro registrado no intervalo de $4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$ encontra-se na **Figura D 3** do **Apêndice D**.

Figura 45: Espectros FT-Raman das amostras (a) NAC, (b) NAC-solução pH=9,5 liofilizada, (c) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (d) Mg₂Al-Cl e (e) Mg₂Al-NAC.

A **Tabela 19** apresenta as atribuições das principais bandas em comparação com os dados reportados na literatura (97–103,110). O espectro FTIR do Mg₂Al-NAC mostrou as bandas referentes ao grupo carboxilato, sendo que a banda do modo de vibração antissimétrica foi deslocada para um número de onda menor (1574 cm⁻¹), comparando com a posição da mesma banda no sal NAC-solução pH=9,5 liofilizada (1584 cm⁻¹). No espectro Raman do HDL Mg₂Al-NAC, foi identificada a banda de estiramento νS-S (508 cm⁻¹) (33), sugerindo que ocorreu oxidação da NAC durante o procedimento de síntese. A oxidação do grupo tiol de composto orgânico (mercaptosuccinato) durante a síntese de HDLs foi reportada na literatura (124,139).

A presença da banda relativa ao estiramento νSH (2573 cm⁻¹) de baixa intensidade pode sugerir que a NAC está na sua forma oxidada e reduzida no HDL, provavelmente devido ao

fato do HDL ter sido sintetizado com valor de pH igual ao valor de pH de equilíbrio químico das duas espécies de NAC (NAC^- e NAC^{2-}). As bandas de estiramento e deformação Al-OH (556 cm^{-1}) e O-Mg-O (141 cm^{-1}) são identificadas pelas duas técnicas espectroscópicas (9). A banda atribuída ao νNH (3370 cm^{-1}) foi sobreposta pela banda larga de νOH .

Tabela 19: Dados de espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman dos HDLs $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ (97–103,110).

$\text{Mg}_2\text{Al-Cl (cm}^{-1}\text{)}$		$\text{Mg}_2\text{Al-NAC (cm}^{-1}\text{)}$		Atribuição para os principais grupos envolvidos na vibração ^{a)}
FTIR	Raman	FTIR	Raman	
3378	3300	3378	-	$\nu\text{ O-H}$
-	-	-	2932	$\nu_s\text{ C-H (CH}_2\text{)}$
-	-	-	2573	$\nu\text{ SH}$
-	-	-	1644	$\nu\text{ C=O (CONH)}$
1622	-	1624	-	$\delta\text{ H}_2\text{O}$
-	-	1574	-	$\nu_{as}\text{ CO}_2^-$
-	-	1370	1377	$\nu_s\text{ CO}_2^-$
1356	-	-	-	$\nu_{as}\text{ CO}_3^{2-}$
-	-	-	1291	$\nu\text{ C-N}$
-	1061	-	1061	$\nu_s\text{ CO}_3^{2-}$
-	-	-	683	$\delta\text{ C-S}$
721	-	-	-	$\delta_{as}\text{ CO}_3^{2-}$
	556		556	$\nu\text{ Al-OH}$
	475		-	$\nu\text{ O-Mg-O}$
443	-	442	-	$\delta_{\text{Transl.}}\text{ O-Mg-O}$
-	153	-	141	$\delta\text{ O-Mg-O}$

a) ν_s = estiramento simétrico, ν_{as} = estiramento antissimétrico, $\delta_{\text{Transl.}}$ = deformação de translação, δ = deformação angular e δ_{as} = deformação angular antissimétrica

A **Figura 46** apresenta os resultados de análise térmica das amostras $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$.

Figura 46: Curvas TG-DSC e DTG-MS obtidas para (a) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e (b) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$.

O resultado de análise térmica da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ apresenta dois eventos térmicos, como mostrado na **Figura 46** (a). No primeiro evento ($T_{\text{onset}} = 87^{\circ}\text{C}$) ocorre a desidratação, com

perda de moléculas de H_2O (pico DTG em 128°C), evidenciado pelo pico endotérmico da curva DSC. No segundo evento ($T_{\text{onset}} = 382^\circ\text{C}$) ocorre a desidroxilação, a liberação de moléculas de CO_2 (pico DTG em 397°C) e a liberação de moléculas de HCl . Comparando a etapa de desidroxilação do HDL $\text{Zn}_2\text{Al-Cl}$ (55°C (item 4.2) com o HDL $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ (pico DTG em 180 e 397°C , respectivamente), observou-se que a estabilidade térmica da matriz de Zn/Al é menor que a de Mg/Al , como já reportado pelo nosso grupo (9).

O resultado de análise térmica da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ apresenta quatro eventos térmicos, como mostrado na **Figura 46** (b). No primeiro evento ocorre a desidratação (pico DTG em 98°C) enquanto no segundo evento ocorre a desidroxilação e liberação de moléculas de CO_2 (pico DTG em 242°C). No terceiro evento, observa-se liberação de moléculas de H_2O e CO_2 (pico DTG em 391°) e, no quarto evento, a liberação de moléculas de NO_2 e SO_2 (pico DTG em 973°C).

A **Figura D 4** do **Apêndice D** apresenta uma comparação entre as análises térmicas das amostras das sínteses $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-0,5NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-2NAC}$, $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.24h}$, $\text{Refl.90}^\circ\text{C}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. Não se observou mudanças significativas de estabilidade térmica ou do perfil da curva TG das amostras.

Comparando os resultados de análise térmica do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ com o HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$, notou-se que a espécie orgânica proporcionou menor estabilização da matriz de Mg/Al . Os eventos associados aos picos DTG em 397 e 242°C correspondem ao processo de desidroxilação do $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$, e desidroxilação e decomposição do NAC no $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ (**Figura 46(a)**), respectivamente.

Na **Tabela 20** são apresentados os dados obtidos de análise elementar (CHN), de metais (ICP), porcentagem de H_2O (obtida pela curva TG) e fórmula proposta para a amostra $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$. A proposição de uma fórmula para a amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ não é adequada porque o ânion

orgânico não está intercalado e poderia estar adsorvido nas superfícies externas como uma mistura de NAC e o seu produto de oxidação (provavelmente $C_5H_7NO_3S-SO_3NH_7C_5^{2-}$). Se todo o carbono fosse do ânion orgânico NAC, a amostra teria aproximadamente 20% de NAC.

Tabela 20: Fórmulas propostas para os HDLs Mg_2Al-Cl e $Mg_2Al-NAC$.

Amostra	Fórmula proposta	Mg/Al ^{a)}	%C	%S	%N	%H ₂ O
Mg_2Al-Cl	$[Mg_{1,8}Al(OH)_{5,6}(Cl)_{0,95}(CO_3^{2-})_{0,025} \cdot 1,83H_2O]$	1,80				14,1
		(1,80) ^{b)}				(13,9)
$Mg_2Al-NAC$	$[Mg_{2,04}Al(OH)_{6,08}]A^nH_2O$	2,04 (2,04)	(7,4)	(3,0)	(1,6)	(9,8)

a) Razão molar; b) (Valor Experimental)

A **Tabela 21** apresenta um resumo dos dados de análise térmica das amostras Mg_2Al-Cl e $Mg_2Al-NAC$.

Tabela 21: Dados de análise térmica acoplado ao massas para os HDLs de composição Mg/Al.

	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Resíduo %
Mg_2Al-Cl	32-238°C	238-1000°C	-	-	56,7%
	$\Delta m=13,9\%$	$\Delta m=29,4\%$	-	-	
	$m/z=18$	$m/z=18$ e 44	-	-	
$Mg_2Al-NAC$	32-188°C	188-293°C	293-595°C	595-1000°C	47,0%
	$\Delta m=9,8\%$	$\Delta m=9,9\%$	$\Delta m=25,3\%$	$\Delta m=8,0\%$	
	$m/z=18$	$m/z=18$ e 44	$m/z=18$ e 44	$m/z=46$ e 64	

A **Figura 47** apresenta os difratogramas dos resíduos da análise térmica para os HDLs Mg_2Al-Cl e $Mg_2Al-NAC$. Esses difratogramas evidenciam a presença das fases MgO e $MgAl_2O_4$, segundo a comparação com dados da literatura (5,140). Para o resíduo do Mg_2Al-Cl foram indexadas as reflexões (003) e (006) em 2θ com valores iguais a $11,22^\circ$ e $22,58^\circ$, respectivamente. Após a calcinação de HDLs de Mg_2Al-Cl até $1000^\circ C$, geralmente não se

observam picos basais no XRD. É importante lembrar que o difratograma da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ foi registrado 12 meses após a análise térmica. O difratograma da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ foi registrado 3 meses após a análise térmica.

Na literatura (141) o método de reconstrução para síntese de HDLs é utilizado devido ao fato desses materiais apresentarem efeito memória; após a calcinação, a regeneração do HDL ocorre por reidratação, e observa-se a presença dos picos basais novamente. Parker *et al.* (142) reportaram a reidratação da hidrotalcita calcinada a 400°C exposta ao ar. Kowalik *et al.* (143) estudaram a regeneração de CuZnAl-HDL calcinado a 200, 400 e 600°C ; o HDL calcinado a 600°C apresenta um processo de reidratação muito lento (após 83 min). Rocha *et al.* (144) estudaram a reidratação do HDL $[\text{Mg}_{0,64}\text{Al}_{0,36}(\text{OH})_2](\text{CO}_3)_{0,18} \cdot 0,78\text{H}_2\text{O}$ calcinado a 1000°C ; a amostra foi armazenada em dessecador na presença de solução saturada de cloreto de amônio por 24, 72 e 96 h. Os autores observaram a reconstrução do HDL e a presença de fases MgO e MgAl_2O_4 . Sendo assim, pode-se sugerir que começou a iniciar a regeneração devido à umidade do ar, ao longo do tempo após a calcinação até 1000°C .

A **Figura 48** apresenta os espectros vibracionais dos resíduos da análise térmica para os HDLs $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$. O espectro vibracional do HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ apresenta bandas em 1638 ($\delta\text{H}_2\text{O}$), 1408 ($\nu_{\text{as}}\text{CO}_3^{2-}$), 670 ($\delta_{\text{as}}\text{CO}_3^{2-}$) e 1098 ($\nu_{\text{as}}\text{SO}_4^{2-}$) cm^{-1} (145,146), o que evidencia a formação de MgSO_4 no resíduo da análise térmica do HDL. É importante lembrar que o espectro FTIR do resíduo da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ foi registrado no mesmo mês em que foi realizado a análise térmica. Por isso foi registrado novamente o espectro FTIR do resíduo da amostra após 15 meses da análise térmica, sendo uma diferença de três meses do registro do difratograma do resíduo, portanto pode-se verificar presença de carbonato evidenciado pela banda em 1363 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CO}_3^{2-}$). O espectro FTIR da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ foi registrado 3 meses após a análise térmica.

Figura 47: Difratomogramas de raios X dos resíduos de análise térmica para (a) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e (b) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$, obtidas a 1000°C . (Registrados no difratômetro da Rigaku)

Figura 48: Espectros FTIR dos resíduos de análise térmica das (a) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$, (b) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ (15 meses após análise térmica) e (c) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$, obtidas a 1000°C .

A **Figura 49** apresenta o espectro de ^{13}C -RMN de estado sólido da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$. A **Tabela 22** mostra os valores dos deslocamentos químicos dos sinais da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ e os valores dos deslocamentos da NAC reportados na literatura (97). São esperados cinco picos para a NAC, o que indica que ocorreu transformação da NAC após intercalação, ou seja, o ânion orgânico não preservou a sua estrutura. Os dados de RMN corroboram com o resultado de espectroscopia Raman, ou seja, ocorreu modificação estrutural da NAC. O pico em 170,7 ppm ($\text{C}^\#$) é atribuído ao íon carbonato intercalado em HDL (123–125), devido a contaminação por CO_2 atmosférico. A partir do espectro ^{13}C -RMN, identificou-se duas espécies de NAC (forma oxidada e forma reduzida). Não foi encontrado o espectro RMN da espécie oxidada de NAC; assim sendo foi feita uma análise com base nos deslocamentos químico da L-cisteína e cistina (espécie oxidada da L-cisteína), reportada por Nakayama *et al.* (124). A oxidação da L-cisteína promove o deslocamento dos picos dos carbonos C_β (C ligado ao grupo S) e C do carboxilato para maiores valores. Sugere-se neste trabalho que os deslocamentos dos carbonos para a espécie NAC oxidada foram C1^* deslocado de 175,0 para 179,4 ppm, C3^* de 28,3 para 36,9 ppm, C5^* de 23,3 para 19,9 ppm. Para a espécie reduzida, sugere-se os deslocamentos C1 deslocado de 175,0 para 177,2 ppm, e C5 de 23,3 para 23,0.

Figura 49: Espectro de ^{13}C -RMN no estado sólido da amostra Mg₂Al-NAC.

Tabela 22: Deslocamentos químicos de ^{13}C -RMN da amostra Mg₂Al-NAC e da NAC reportada pela literatura, valores em ppm (97).

Atribuição	NAC (dados da literatura)	Mg ₂ Al-NAC
C1*	-	179,4
C1	175,0	177,2
C2	56,2	53,9
C3*		36,9
C3	28,3	34,3
C4	171,6	172,08
C5	23,3	23,0
C5*		19,9

A **Figura 50** apresenta o espectro ^{27}Al -RMN da amostra Mg₂Al-NAC; o valor do deslocamento químico apresentado (8,2 ppm) sugere coordenação octaédrica para o alumínio (131). O valor da largura do pico na meia altura é 7,8 ppm, próximo ao valor reportado para HDL de composição Mg₂Al-CO₃ (6,8 ppm) (125). O valor da largura do pico na meia altura do Mg₂Al-NAC é aproximadamente metade do valor observado para Zn₂Al-NAC 55°C, o que

pode sugerir que há maior número de sítios de $\text{Al}^{(\text{VI})}$ distintos (que pode ser devido à coordenação da NAC, além da hidroxila). A deconvolução do espectro ^{27}Al -RMN foi realizada utilizando o programa *Fityk* versão 0.9.8. Analisando o espectro, observa-se a existência de três sítios de Al, semelhante ao que foi discutido para o espectro da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$. O HDL perfeitamente ordenado apresentaria o íon Al rodeado por seis íons Mg, $[\text{Al}(\text{OMg})_6]$ mas, como reportado na literatura (125,129), a estrutura pode apresentar desordem na distribuição dos cátions, isto é, apresentar os sítios $\text{Al}(\text{OMg})_5(\text{OAl})$ e $\text{Al}(\text{OMg})_4(\text{OAl})_2$.

Figura 50: Espectro de ^{27}Al -RMN no estado sólido da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$. Diff é a diferença entre o espectro experimental e o simulado.

HDLs de composição Mg/Al igual a 2 e intercalados com íon carbonato, nitrato, oxalato ou tereftalato apresentaram, respectivamente, pico fino em 9,1 ppm (144), em 10 ppm (130), em 9,3 ppm (123) e em 9,7 ppm (123). Esses picos também apresentaram assimetria, ou seja, um ombro na região de menor frequência, como o mostrado na **Figura 50**.

4.3.1 – Ensaio de liberação no modo dinâmico da NAC imobilizada no HDL Mg₂Al-NAC

Os resultados do ensaio de liberação no modo dinâmico são apresentados no **Apêndice D**. Os valores médios de NAC liberada para o meio de dissolução aquoso SBF (pH = 7,4 e 37°C) são apresentados na **Tabela D 1** do **Apêndice D**. A **Figura D 5** do **Apêndice D** apresenta o perfil de liberação da NAC contida no comprimido Mg₂Al-NAC. O perfil de liberação mostra que os valores iniciais ultrapassam 100 %. Isso é devido ao meio conter partículas suspensas. É importante lembrar que as alíquotas retiradas não foram filtradas e que o comprimido de Mg₂Al-NAC foi descompactado nos primeiros 15 min de ensaio.

O fato da concentração de NAC ir diminuindo ao longo do tempo pode ser devido às partículas sólidas com NAC adsorvido que foram retiradas nas alíquotas ao longo do experimento; como essa massa seria desconhecida não foi possível considerá-la ao cálculo. Assim sendo, os resultados de liberação no modo dinâmico não são confiáveis. Como ocorre essa descompactação, sugere-se que futuramente a liberação seja investigada no aparato IV utilizando a célula para formulações em pó.

O comprimido Mg₂Al-NAC após o experimento de liberação no modo dinâmico foi analisado pelas técnicas de difratometria de raios X, FTIR, espectroscopia Raman (laser 785 nm) e ICP-OES. A **Figura 51** apresenta o XRD do comprimido antes e após experimento de liberação. Não foi observado modificação no perfil de difratometria.

Figura 51: Difrátogramas de raios X do comprimido $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ (a) após o ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação. (Registrados no difratômetro da Rigaku)

A **Figura 52** apresenta os espectros FTIR da $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ antes e após o experimento de liberação no modo dinâmico. Nota-se a presença da banda em 1028 cm^{-1} no HDL após o experimento de liberação e, ainda, a ausência da banda em 1574 cm^{-1} , visto que praticamente toda NAC foi liberada para o meio de dissolução. A banda em 1028 cm^{-1} refere-se ao HPO_4^{2-} (14,134–138). Como discutido no ensaio de liberação da amostra $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ a 55°C o íon HPO_4^{2-} está em maior quantidade no meio de solução que o íons SO_4^{2-} .

Figura 52: Espectro FTIR do comprimido Mg₂Al-NAC (a) após o ensaio de liberação no modo dinâmico em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação.

A **Figura 53** apresenta os espectros Raman (laser 785 nm) antes e após o experimento de liberação do fármaco. Observa-se que o perfil é totalmente diferente e que, realmente, não há NAC após o experimento de liberação, o que corrobora com os dados do espectro FTIR. Observa-se que a banda em 506 cm⁻¹, atribuída à ponte dissulfeto (NAC oxidada), desapareceu. Nota-se a banda em 1060 cm⁻¹ atribuída ao modo ν_s CO₃²⁻ e a banda em 977 cm⁻¹ relacionada com o ânion HPO₄²⁻ (136) adsorvido na superfície do HDL, visto que o perfil do difratograma de raios X da amostra após o ensaio de liberação não é de fosfato intercalado.

Figura 53: Espectros Raman (laser 785nm) dos comprimidos (a) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ após 96 h de ensaio de liberação no modo dinâmico em meio aquoso ($\text{pH}=7,4$) e (b) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ antes do ensaio de liberação.

A concentração de magnésio após 96 h de ensaio foi de 57,82 mg/L; subtraindo-se a concentração de 36,45 mg/L de magnésio presente no meio de dissolução, a concentração de Mg^{2+} lixiviado do HDL em relação a quantidade desse metal no comprimido foi de 21,37 mg/L; ou seja, 15,69% do íon presente no comprimido foi lixiviado. A concentração de alumínio da solução estava abaixo do limite de detecção ($\text{LD} < 0,01\text{mg/L}$). A lixiviação significativa do Mg^{2+} comparado ao Al^{3+} está relacionado com a maior solubilidade do $\text{Mg}(\text{OH})_2$ em relação ao $\text{Al}(\text{OH})_3$ (25,53).

4.3.2 – Ensaio de liberação no modo estático da NAC imobilizada no HDL $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$

A partir das quantidades dissolvidas em cada intervalo de tempo, e que são mostradas na Tabela 23 foi possível construir a Figura 54 que apresenta o perfil de liberação do NAC no comprimido $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ do experimento de liberação realizado em modo estático no meio de dissolução SBF ($\text{pH}= 7,4$ e 37°C). Nesse experimento o comprimido sofreu descompactação após 15 min em contato com o meio de dissolução, mas o mesmo permaneceu depositado no

microtubo do tipo eppendorf. Após 12 horas de experimento, aproximadamente 90 % de NAC foi liberado para a solução e após 96 h, a NAC foi totalmente liberada (o intervalo de 12 até 96 horas apresenta uma liberação lenta). Nas primeiras 12 horas, a velocidade de liberação é mais rápida, possivelmente devido ao fato da NAC estar apenas adsorvida na superfície do HDL.

Tabela 23: Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Mg₂Al-NAC em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e método estático.

Mg ₂ Al-NAC			
t (h)	NAC* liberado (mg L ⁻¹)	NAC liberado (%)	Desvio padrão
0,25	247,01	5,68	1,05
0,50	932,15	21,43	0,43
0,75	1323,32	30,42	1,21
1,00	1576,91	36,25	0,30
1,25	1723,60	39,62	0,32
1,50	1897,39	43,62	0,39
1,75	2060,35	47,36	0,43
2,00	2232,74	51,33	0,53
2,25	2373,86	54,57	0,45
2,50	2518,90	57,91	1,26
2,75	2617,07	60,16	1,10
3,00	2738,32	62,95	0,34
3,50	2862,52	65,81	0,09
4,00	2941,27	67,62	0,28
4,50	3092,64	71,10	2,22
5,00	3210,60	73,81	0,50
5,50	3358,83	77,21	1,48
6,00	3453,15	79,38	0,48
7,00	3536,28	81,29	0,21
8,00	3627,31	83,39	0,19
9,00	3713,84	85,38	0,15
10,00	3780,20	86,90	0,06
11,00	3856,16	88,65	0,16
12,00	3910,29	89,89	0,31
24,00	4041,67	92,91	0,15
36,00	4147,14	95,34	1,40
48,00	4236,52	97,39	0,22
60,00	4309,07	99,06	0,22
72,00	4360,87	100,25	0,39
96,00	4417,72	101,56	0,31

* Média de experimento em triplicata

Figura 54: Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido Mg_2Al -NAC em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e método estático.

A Figura 55 apresenta o perfil de difratometria de raios X do comprimido Mg_2Al -NAC antes e após o experimento de liberação no modo estático. Pode-se notar que os perfis são semelhantes e o difratograma de HDL não apresenta deslocamento de picos após o ensaio de liberação.

Figura 55: Difrátogramas de raios X do comprimido $Mg_2Al-NAC$ (a) após o ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação. (Registrados no difratômetro da Rigaku)

A Figura 56 apresenta os espectros FTIR dos comprimidos antes e após o ensaio de liberação. Nota-se na Figura 56 (b) a ausência da banda em 1574 cm^{-1} , e a presença das bandas em 1040 cm^{-1} referente ao ânion monohidrogenofosfato (14,134–138), como já discutido nos resultados de ensaio de liberação para a amostra $Zn_2Al-NAC.55^\circ C$, como a banda é larga foi observado uma variação no número de onda da mesma banda nos resultados apresentados, sendo 1028 cm^{-1} ($Mg_2Al-NAC$ modo dinâmico) e 1006 cm^{-1} ($Zn_2Al-NAC.55^\circ C$ nos ensaios dinâmico e estático).

Figura 56: Espectros FTIR do comprimido Mg₂Al-NAC (a) após o ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) antes do ensaio de liberação.

A Figura 57 apresenta os espectros Raman (laser 785 nm) antes e após o ensaio de liberação do fármaco. Observa-se a presença da banda em 1060 cm⁻¹ do ânion carbonato (ν_s CO₃²⁻) e a banda em 978 cm⁻¹ referente ao ânion HPO₄²⁻ no espectro do comprimido após o ensaio de liberação (Figura 57 (b)) (136). Observa-se que a banda atribuída à ligação S-S da NAC oxidada não está mais presente no espectro Raman do comprimento após o teste de liberação do fármaco.

Figura 57: Espectros Raman (laser 785 nm) dos comprimidos de (a) Mg₂Al-NAC após 96 h de ensaio de liberação no modo estático em meio SBF (pH=7,4 e 37°C) e (b) Mg₂Al-NAC antes do ensaio de liberação.

A concentração de magnésio após 96 h de ensaio foi de 72,97 mg/L. Subtraindo-se, desse valor, a concentração de 36,45 mg/L de magnésio presente no meio de dissolução, a concentração de Mg²⁺ lixiviado do HDL em relação a quantidade desse metal no comprimido foi de 36,45 mg/L (1,07% do cátion presente no comprimido). A concentração de alumínio na solução estava abaixo do limite de detecção (LD < 0,01mg/L).

Capítulo 5

Conclusões

5 – Conclusões

Os HDLs constituídos dos cátions Zn/Al foram sintetizados pelo método de coprecipitação com e sem tratamento térmico a 55°C. Os resultados de XRD sugerem que o Zn₂Al-NAC.55°C apresentou melhor organização estrutural que o material análogo sintetizado à temperatura ambiente. Os resultados de espectroscopia FTIR, Raman e ¹³C-RMN confirmam a integridade da NAC intercalada, sendo que a espectroscopia vibracional mostrou ainda que a NAC possui duas cargas negativas quando confinada no HDL. A partir dos resultados de análise térmica e análise química elementar foi possível propor a fórmula [Zn_{2,04}Al(OH)_{5,72}(C₅H₇NO₃S)_{0,18}](C₅H₇NO₃S)_{0,50}·1,61H₂O para a amostra Zn₂Al-NAC.55°C. O espectro de ²⁷Al-RMN mostra picos referentes a sítios distintos de alumínio com número de coordenação 6. Os resultados apresentados nesta Dissertação sugerem que parte dos íons hidroxila coordenados aos metais da lamela foram substituídos pelo grupo carboxilato da NAC.

Os ensaios de liberação sugerem que o HDL possui perfil de liberação modificada (prolongada), visto que após 96 h foi liberado 35% de NAC no ensaio no modo dinâmico realizado a 37°C em meio SBF. Já no ensaio no modo estático, ocorreu a liberação de 20% de NAC. Os espectros Raman da amostra de Zn₂Al-NAC.55°C após o ensaio de liberação (dinâmico e estático), confirmam que ainda há NAC no interior do comprimido, sendo que apenas a área mais externa do comprimido apresentou modificações no espectro.

A intercalação de NAC não foi observada para o material HDL Mg₂Al-NAC, nas diferentes condições exploradas: síntese em temperatura ambiente ou a 55°C, com e sem tratamento térmico de 55°C, com razão molar NAC/Al³⁺ de 1, 0,5 e 2. Nenhuma das condições de síntese utilizada promoveu a intercalação de NAC na matriz lamelar. Assim sendo, sugere-se que a NAC está adsorvida na superfície do material ou ocorreu a formação de uma fase amorfa de sal de NAC. A espectroscopia Raman mostra que ocorreu a oxidação parcial dos

ânions de NAC, identificada pelo aparecimento da banda de estiramento ν_{S-S} (508 cm^{-1}). O espectro de ^{13}C -RMN concorda com o resultado da espectroscopia Raman.

Os ensaios *in vitro* da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ mostraram um perfil de liberação de NAC rápido; foi observada a ocorrência da descompactação do comprimido em 15 minutos de ensaio nos dois modos realizados. Os resultados do ensaio de liberação do modo dinâmico não são confiáveis, pois nas alíquotas retiradas durante o ensaio partículas de HDL foram também removidas. O ensaio de liberação no modo estático sugere uma liberação rápida dos ânions de NAC para o meio simulado, pois com 12 horas de ensaio foi observado 90% de liberação. Os espectros Raman das amostras de $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ após o ensaio de liberação (dinâmico e estático) confirmam que não há presença de NAC.

Assim sendo, o HDL de $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$.55°C apresentou potencial para aplicação no campo medicinal e agrônômico, visto que ocorreu a intercalação da NAC na matriz e apresentou perfil de liberação modificado (prolongado). Porém o HDL de $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ não seria promissor para a aplicação, pois não foi observada a intercalação de NAC na matriz empregando as condições exploradas nesta Dissertação. Quase toda a quantidade de NAC imobilizada no $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ estaria disponível prontamente, como ocorre para a NAC na sua forma pura, cuja alta solubilidade (100 mg/mL) favorece rápida disponibilidade.

Os comportamentos distintos da NAC em HDLs de zinco e magnésio parecem estar relacionados com a natureza do cátion divalente. O zinco possui efeito coordenante maior que o magnésio, e geralmente forma HDLs com maior cristalinidade, o que pode ter estabilizado, em particular, a NAC frente à reação de oxidação observada para o sistema com magnésio. O fato de parte da NAC sofrer oxidação pode ter prejudicado o processo de intercalação, uma vez que forma um produto mais volumoso.

Capítulo 6

Perspectivas

6 – Perspectivas

O presente projeto de Mestrado estudou a intercalação de N-acetil-L-cisteína em matrizes inorgânicas de composição Zn/Al e Mg/Al. A partir dos resultados obtidos pretende-se explorar futuramente mais detalhadamente a estrutura desses materiais por simulação do XRD do $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$, cuja cristalinidade é alta o suficiente para aplicação de programas computacionais que permitem, por exemplo, obter o mapa de distribuição de densidade eletrônica unidimensional (1D) ao longo do eixo de empilhamento das lamelas. Pretende-se, também, registrar os espectros de ^{27}Al -RMN das matrizes de zinco e magnésio intercalados com íons cloreto para comparação com as fases com NAC. A simulação dos espectros vibracionais e de ^{13}C -RMN da NAC neutra, suas formas ionizadas e a forma oxidada poderá auxiliar na atribuição dos espectros reportados nesta Dissertação.

Os resultados de liberação apresentados neste trabalho de Mestrado mostraram que mesmo após 96 h de ensaio não ocorreu a liberação de 100% dos ânions intercalados no material de $\text{Zn}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$; assim sendo, pretende-se avaliar o perfil de liberação no aparato IV. O aparato IV (*flow-cell*) é composto por células de fluxo. Nesse sistema o meio de dissolução é bombeado e passa no interior das células com velocidade constante. O teste de dissolução no *flow-cell* pode ser operado com o sistema aberto, no qual o meio de dissolução é renovado continuamente, ou sistema fechado, no qual o meio de dissolução irá recircular através das células. O estudo já se encontra em andamento em colaboração com a Profa. Cristina Helena dos Reis Serra, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

A realização de ensaios *in vivo* será futuramente realizada em colaboração com Prof. Ivan Hong Jun Koh, da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (EPM-UNIFESP), no laboratório de Pesquisa Experimental. O ensaio visa a avaliação da

biocompatibilidade do HDL intercalada com o antioxidante NAC em terapias que envolvam a minimização de processos inflamatórios locais.

Outra frente de estudo com o sistema $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ 55°C envolve a aplicação desse material em culturas de tomate suscetíveis a uma doença específica. Testes preliminares somente com a NAC mostraram que essa espécie ataca o patógeno que causa a murcha bacteriana. Esse trabalho está sendo realizado em colaboração com os Profs. Eduardo S. G. Mizubuti, da Universidade Federal de Viçosa, e Jairo Tronto, da Universidade Federal de Viçosa, campus Rio Paranaíba.

Capítulo 7

Referências Bibliográficas

7 – Referências bibliográficas

1. Cavani F, Trifirò F, Vaccari A. Hydrotalcite-type anionic clays: preparation, properties and applications. *Catal Today*. 1991;11:173–301.
2. Allmann R. The crystal structure of pyroaurite. *Acta Crystallogr Sect B Struct Crystallogr Cryst Chem*. 1968;24(7):972–7.
3. Taylor HFW. Segregation and Cation-Ordering in Sjögrenite and Pyroaurite. *Mineral Mag*. 1969;37(287):338–42.
4. Crepaldi EL, Valim JB. Hidróxidos duplos lamelares: Síntese, estrutura, propriedades e aplicações. *Quim Nova*. 1998;21(3):300–11.
5. Constantino VRL, Pinnavaia TJ. Basic Properties of $Mg^{2+}_{1-x}Al^{3+}_x$ Layered Double Hydroxides Intercalated by Carbonate, Hydroxide, Chloride, and Sulfate Anions. *Inorg Chem*. 1995;34(4):883–92.
6. Benício LPF, Silva RA, Lopes JA, Eulálio D, Santos RMM, Aquino LA, et al. Layered Double Hydroxides: Nanomaterials for Applications in Agriculture. *Rev Bras Cienc do Solo*. 2015;39(1):1–13.
7. Tronto J. Síntese, caracterização e estudo das propriedades de hidróxidos duplos lamelares intercalados com polímeros condutores. Tese de Doutorado, Departamento de Química, Faculdade de Filosofia Ciência e Letras de Ribeirão Preto/USP, Ribeirão Preto, São Paulo; 2006.
8. Cunha VRR. Materiais híbridos orgânico-inorgânico: espécies de interesse farmacológico imobilizadas em hidróxidos duplos lamelares. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2012.
9. Rocha MA. Materiais híbridos nanoestruturados à base de hidróxidos duplos lamelares e o fármaco sulindaco. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2015.
10. Roy A de, Forano C, El Malki K, Besse JP. Anionic clays: Trends in pillaring chemistry. In: *Expanded Clays and Other Microporous Solids*. New York; 1992. p. 108–69.
11. Mills SJ, Christy AG, Génin JMR, Kameda T, Colombo F. Nomenclature of the hydrotalcite supergroup: natural layered double hydroxides. *Mineral Mag*. 2012;76(05):1289–336.
12. Chao G.Y. GRA. Quintinite-2H, quintinite-3T, charmarite-2H, charmarite-3T and caresite-3T, a new group of carbonate minerals related to the hydrotalcite-manasseite group. *Can Mineral*. 1997;35:1541–9.
13. Meyn M, Beneke K, Lagaly G. Anion-exchange reactions of layered double hydroxides. *Inorg Chem*. 1990;29(26):5201–7.
14. Benício LPF, Eulálio D, Moura L De, Pinto FG, Costa LM, Tronto J. Layered Double Hydroxides as Hosting Matrices for Storage and Slow Release of Phosphate Analyzed by Stirred-Flow Method 2 . *Materials and Methods*. 2018;21(3):1–13.

15. Castro GF, Ferreira JA, Eulálio D, Souza SJ, Novais SV, Novais RF, et al. Layered double hydroxides: matrices for storage and source of boron for plant growth. *Clay Miner.* 2018;53(01):79–89.
16. Béres A, Pálinkó I, Fudala Á, Kiricsi I, Kiyozumi Y, Mizukami F, et al. Behaviour of Hydrotalcite and Its $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ Pillared Derivative on Heat Treatment. *J Therm Anal Calorim.* 1999;56(1):311–6.
17. Okada, K; Matsuhita, F; Hayashi S. A square planar $[\text{NiCl}_4]^{2-}$ ion in the layered double hydroxide $\text{Al}_2\text{Li}(\text{OH})_6[\text{NiCl}_4]_{1/2}$. *Clay Miner.* 1997;32:299–305.
18. Kirar JS, Khare S. Cu(II) Schiff base complex intercalated into layered double hydroxide for selective oxidation of ethylbenzene under solvent-free conditions. *RSC Adv.* 2018;8(34):18814–27.
19. Morpurgo S, Jacono ML, Porta P. Copper-zinc-cobalt-aluminium-chromium hydroxycarbonates and mixed oxides. *J Solid State Chem.* 1996;122(2):324–32.
20. Tronto J, Cardoso LP, Valim JB, Marchetti JM, Bentley MVB. Studies of the intercalation and “in vitro” liberation of amino acids in magnesium aluminium layered double, hydroxides. *Mol Cryst Liq Cryst.* 2003;390(June 2016):79–89.
21. Liu XL. Synthesis of carboxymethyl calix[4]arene intercalated layered double hydroxides. *Asian J Chem.* 2013;25(8):4449–52.
22. Choy JH, Kwak SY, Jeong YJ, Park JS. Inorganic Layered Double Hydroxides as Nonviral Vectors. *Angew Chemie.* 2000;39(22):4041–5.
23. Choy JH, Kwak SY, Park JS, Jeong YJ. Cellular uptake behavior of $[[\gamma]\text{-}^{32}\text{P}]$ labeled ATP-LDH nanohybrids. *J Mater Chem.* 2001;11(6):1671–4.
24. Ambrogi V, Fardella G, Grandolini G, Perioli L. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents - I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen. *Int J Pharm.* 2001;220(1–2):23–32.
25. Rocha MA, Petersen PAD, Teixeira-Neto E, Petrilli HMHM, Leroux F, Taviot-Gueho C, et al. Layered double hydroxide and sulindac coiled and scrolled nanoassemblies for storage and drug release. *RSC Adv.* 2016;6(20):16419–36.
26. Cunha VRR, Guilherme VA, de Paula E, de Araujo DR, Silva RO, Medeiros JVR, et al. Delivery system for mefenamic acid based on the nanocarrier layered double hydroxide: Physicochemical characterization and evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive potential. *Mater Sci Eng C.* 2016;58:629–38.
27. Cunha VRR, Petersen PAD, Gonçalves MB, Petrilli HM, Taviot-Gueho C, Leroux F, et al. Structural, Spectroscopic (NMR, IR, and Raman), and DFT Investigation of the Self-Assembled Nanostructure of Pravastatin-LDH (Layered Double Hydroxides) Systems. *Chem Mater.* 2012;24(8):1415–25.
28. Crepaldi EL. Estudo das propriedades de hidróxidos duplos lamelares contendo crômio(III): intercalação, decomposição térmica e atividade catalítica. Tese de Doutorado, Departamento de Química, Faculdade de Filosofia Ciência e Letras de Ribeirão Preto/ USP, Ribeirão Preto, São Paulo; 2000.

29. Macedo RDS. Materiais à Base de Hidróxidos Duplos Lamelares de Cobalto e Alumínio: Intercalação, Reatividade e Formação de Compósitos por Pirólise. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2017.
30. Saha S, Ray S, Acharya R, Chatterjee TK, Chakraborty J. Magnesium, zinc and calcium aluminium layered double hydroxide-drug nanohybrids: A comprehensive study. *Appl Clay Sci.* 2017;135:493–509.
31. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015;97:55–74.
32. Rossi C, Schoubben A, Ricci M, Perioli L, Ambroggi V, Latterini L, et al. Intercalation of the radical scavenger ferulic acid in hydrotalcite-like anionic clays. *Int J Pharm.* 2005;295(1–2):47–55.
33. Wei M, Shi Z, Evans DG, Duan X. Study on the intercalation and interlayer oxidation transformation of l-cysteine in a confined region of layered double hydroxides. *J Mater Chem.* 2006;16(21):2102.
34. Ambroggi V, Perioli L, Ciarnelli V, Nocchetti M, Rossi C. Effect of gliclazide immobilization into layered double hydroxide on drug release. *Eur J Pharm Biopharm.* 2009;73(2):285–91.
35. Kong X, Jin L, Wei M, Duan X. Antioxidant drugs intercalated into layered double hydroxide: Structure and in vitro release. *Appl Clay Sci.* 2010;49(3):324–9.
36. Wei Y, Gao Y, Zhang K, Ito Y. Isolation of caffeic acid from eupatorium adenophorum spreng by high-speed countercurrent chromatography and synthesis of caffeic acid-intercalated layered double hydroxide. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2010;33(6):837–45.
37. Kong X, Shi S, Han J, Zhu F, Wei M, Duan X. Preparation of Glycy-l-Tyrosine intercalated layered double hydroxide film and its in vitro release behavior. *Chem Eng J.* 2010;157(2–3):598–604.
38. Wei Y, Gao Y, Xie Q, Zhang G, Fu W. Isolation of chlorogenic acid from *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze by CCC and synthesis of chlorogenic acid-intercalated layered double hydroxide. *Chromatographia.* 2011;73(SUPPL. 1):97–102.
39. Sillion M, Hritcu D, Lisa G, Popa MI. New hybrid materials based on layered double hydroxides and antioxidant compounds. Preparation, characterization and release kinetic studies. *J Porous Mater.* 2012;19(3):267–76.
40. Kim HJ, Ryu K, Kang JH, Choi AJ, Kim T Il, Oh JM. Anticancer activity of ferulic acid-inorganic nanohybrids synthesized via two different hybridization routes, reconstruction and exfoliation-reassembly. *Sci World J.* 2013;2013:1–9.
41. Lonkar SP, Kutlu B, Leuteritz A, Heinrich G. Nanohybrids of phenolic antioxidant intercalated into MgAl-layered double hydroxide clay. *Appl Clay Sci.* 2013;71:8–14.
42. Feng Y, Jiang Y, Huang Q, Chen S, Zhang F, Tang P, et al. High antioxidative performance of layered double hydroxides/polypropylene composite with intercalation of low-molecular-weight phenolic antioxidant. *Ind Eng Chem Res.* 2014;53(6):2287–92.

43. Qin L, Wang W, You S, Dong J, Zhou Y, Wang J. In vitro antioxidant activity and in vivo antifatigue effect of layered double hydroxide nanoparticles as delivery vehicles for folic acid. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:5701–5710.
44. Kang H, Kim HJ, Yang JH, Kim TH, Choi G, Paek SM, et al. Intracrystalline structure and release pattern of ferulic acid intercalated into layered double hydroxide through various synthesis routes. *Appl Clay Sci*. 2015;112–113:32–9.
45. Arratia-Quijada J, Rivas-Fuentes S, Parra Saavedra KJ, Macías Lamas AM, Carbajal Arizaga GG. Layered double hydroxide as a vehicle to increase toxicity of gallate ions against adenocarcinoma cells. *Molecules*. 2016;21(7):1–8.
46. Barahuie F, Hussein MZ, Arulselvan P, Fakurazi S, Zainal Z. Controlled in vitro release of the anticancer drug chlorogenic acid using magnesium/aluminium-layered double hydroxide as a nanomatrix. *Sci Adv Mater*. 2016;8(3):501–513.
47. Senapati S, Thakur R, Verma SP, Duggal S, Mishra DP, Das P, et al. Layered double hydroxides as effective carrier for anticancer drugs and tailoring of release rate through interlayer anions. *J Control Release*. 2016;224(3):186–98.
48. Zhang Q, Jiao Q, Leroux F, Tang P, Li D, Feng Y. Antioxidant intercalated Zn-containing layered double hydroxides: preparation, performance and migration properties. *New J Chem*. 2017;41(6):2364–71.
49. Silva EP. Estudo espectroscópico da intercalação de aminoácidos em hidróxidos duplos lamelares : perspectivas astrobiológicas Estudo espectroscópico da intercalação de aminoácidos em hidróxidos duplos lamelares : perspectivas astrobiológicas. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2017.
50. Totaro G, Sisti L, Celli A, Askanian H, Hennous M, Verney V, et al. Chain extender effect of 3-(4-hydroxyphenyl)propionic acid/layered double hydroxide in PBS bionanocomposites. *Eur Polym J*. 2017;94(June):20–32.
51. Ansy KM, Lee JH, Piao H, Choi G, Choy JH. Stabilization of antioxidant gallate in layered double hydroxide by exfoliation and reassembling reaction. *Solid State Sci*. 2018;80:65–71.
52. Totaro G, Sisti L, Celli A, Aloisio I, Di Gioia D, Marek AA, et al. Dual chain extension effect and antibacterial properties of biomolecules interleaved within LDH dispersed into PBS by: In situ polymerization. *Dalt Trans*. 2018;47(9):3155–65.
53. Figueiredo MP, Cunha VRR, Leroux F, Taviot-gueho C, Nakamae MN, Kang YR, et al. Iron-Based Layered Double Hydroxide Implants: Potential Drug Delivery Carriers with Tissue Biointegration Promotion and Blood Microcirculation Preservation. *ACS Omega*. 2018;3:18263–74.
54. Cunha VRR, de Souza RB, da Fonseca Martins AMCRP, Koh IHJ, Constantino VRL. Accessing the biocompatibility of layered double hydroxide by intramuscular implantation: histological and microcirculation evaluation. *Sci Rep*. 2016;6(April):30547.
55. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals and antioxidants. *Nutrition*. 1996;12(4):274–7.

56. Santangelo F. Intracellular thiol concentration modulating inflammatory response: influence on the regulation of cell functions through cysteine prodrug approach. *Curr Med Chem*. 2003;10(23):2599–610.
57. Suzuki K. Anti-oxidants for therapeutic use : Why are only a few drugs in clinical use ? *Adv Drug Deliv Rev*. 2009;61(4):287–9.
58. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent : the reasons why. *Free Radic Res*. 2018;52(7):751–62.
59. Hurst GA, Shaw PB, LeMaistre CA. Laboratory and Clinical Evaluation of the Mucolytic Properties of Acetylcysteine 1, 2. *Am Rev Respir Dis*. 1967;96(5):962–70.
60. Prescott LF, Ballantyne A, Proudfoot AT, Park J, Adriaenssens P. Treatment of paracetamol (acetaminophen) poisoning with N-acetylcysteine. *Lancet*. 1977;310(8035):432–4.
61. Moreira PI, Harris PLR, Zhu X, Santos MS, Oliveira CR, Smith M a, et al. Lipoic Acid and N-acetyl Cysteine Decrease Mitochondrial-Related Oxidative Stress in Alzheimer Disease Patient Fibroblasts. *J Alzheimer's Dis*. 2007;12(2):195–206.
62. Lasram MM, Dhouib IB, Annabi A, El Fazaa S, Gharbi N. A review on the possible molecular mechanism of action of N-acetylcysteine against insulin resistance and type-2 diabetes development. *Clin Biochem*. 2015;48(16–17):1200–8.
63. Dean O, Giorlando F, Berk M. N-acetylcysteine in psychiatry: Current therapeutic evidence and potential mechanisms of action. *J Psychiatry Neurosci*. 2011;36(2):78–86.
64. Sadowska AM, Manuel-y-Keenoy B, De Backer WA. Antioxidant and anti-inflammatory efficacy of NAC in the treatment of COPD: Discordant in vitro and in vivo dose-effects: A review. *Pulm Pharmacol Ther*. 2007;20(1):9–22.
65. Samuni Y, Goldstein S, Dean OM, Berk M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj*. 2013;1830(8):4117–29.
66. Rushworth GF, Megson IL. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits. *Pharmacol Ther*. 2014;141(2):150–9.
67. Elbini Dhouib I, Jallouli M, Annabi A, Gharbi N, Elfazaa S, Lasram MM. A minireview on N-acetylcysteine: An old drug with new approaches. *Life Sci*. 2016;151:359–63.
68. Neal R, Matthews RH, Lutz P, Ercal N. Antioxidant role of N-acetyl cysteine isomers following high dose irradiation. *Free Radic Biol Med*. 2003;34(6):689–95.
69. Särnstrand B, Tunek A, Sjödin K, Hallberg A. Effects of N-acetylcysteine stereoisomers on oxygen-induced lung injury in rats. *Chem Biol Interact*. 1995;94(2):157–64.
70. Wong BK, Chan HC, Corcoran GB. Selective effects of N-acetylcysteine stereoisomers on hepatic glutathione and plasma sulfate in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1986;86(3):421–9.
71. Wong BK, Galinsky RE, Corcoran GB. Dissociation of increased sulfation from sulfate

- replenishment and hepatoprotection in acetaminophen poisoned mice by N acetylcysteine stereoisomers. *J Pharm Sci.* 1986;75(9):878–80.
72. Chhabra N, Aseri M, Padmanabhan D. A review of drug isomerism and its significance. *Int J Appl Basic Med Res.* 2013;3(1):16.
 73. Whillier S, Raftos JE, Chapman B, Kuchel PW. Role of N -acetylcysteine and cystine in glutathione synthesis in human erythrocytes. *Redox Rep.* 2009;14(3):115–24.
 74. Giustarini D, Milzani A, Dalle-Donne I, Tsikas D, Rossi R. N-Acetylcysteine ethyl ester (NACET): A novel lipophilic cell-permeable cysteine derivative with an unusual pharmacokinetic feature and remarkable antioxidant potential. *Biochem Pharmacol.* 2012;84(11):1522–33.
 75. Holdiness MR. Clinical Pharmacokinetics of N-Acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet.* 1991;20(2):123–34.
 76. Rodrigues LA de S, Figueiras A, Veiga F, de Freitas RM, Nunes LCC, da Silva Filho EC, et al. The systems containing clays and clay minerals from modified drug release: A review. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2013;103:642–51.
 77. Das D, Pal S. Modified biopolymer-dextrin based crosslinked hydrogels: application in controlled drug delivery. *RSC Adv.* 2015;5(32):25014–50.
 78. Gupta P, Thompson BL, Wahlang B, Jordan CT, Zach Hilt J, Hennig B, et al. The environmental pollutant, polychlorinated biphenyls, and cardiovascular disease: a potential target for antioxidant nanotherapeutics. *Drug Deliv Transl Res.* 2017;740–59.
 79. Ourique AF, Chaves PDS, Souto GD, Pohlmann AR, Guterres SS, Beck RCR. Redispersible liposomal-N-acetylcysteine powder for pulmonary administration: Development, in vitro characterization and antioxidant activity. *Eur J Pharm Sci.* 2014;65:174–82.
 80. Mitsopoulos P, Omri A, Alipour M, Vermeulen N, Smith MG, Suntres ZE. Effectiveness of liposomal-N-acetylcysteine against LPS-induced lung injuries in rodents. *Int J Pharm.* 2008;363(1–2):106–11.
 81. Alipour M, Omri A, Smith MG, Suntres ZE. Prophylactic effect of liposomal N-acetylcysteine against LPS-induced liver injuries. *J Endotoxin Res.* 2007;13(5):297–304.
 82. Alipour M, Buonocore C, Omri A, Szabo M, Pucaj K, Suntres ZE. Therapeutic effect of liposomal-N-acetylcysteine against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *J Drug Target.* 2013;21(5):466–73.
 83. Mukhopadhyay S, Mukherjee S, Stone WL, Smith M, Das SK. Role of MAPK/AP-1 signaling pathway in the protection of CEES-induced lung injury by antioxidant liposome. *Toxicology.* 2009;261(3):143–51.
 84. Fan J, Shek PN, Suntres ZE, Li YH, Oreopoulos GD, Rotstein OD. Liposomal antioxidants provide prolonged protection against acute respiratory distress syndrome. *Surgery.* 2000;128(2):332–8.
 85. Stimpfling T, Vialat P, Hintze-Bruening H, Keil P, Shkirskiy V, Volovitch P, et al. Amino Acid Interleaved Layered Double Hydroxides as Promising Hybrid Materials for

- AA2024 Corrosion Inhibition. *Eur J Inorg Chem.* 2016;2016(13–14):2006–16.
86. Muranaka LS, Giorgiano TE, Takita MA, Forim MR, Silva LFC, Coletta-Filho HD, et al. N-Acetylcysteine in Agriculture, a Novel Use for an Old Molecule: Focus on Controlling the Plant-Pathogen *Xylella fastidiosa*. *PLoS One.* 2013;8(8):1–14.
 87. Picchi SC, Takita MA, Coletta-Filho HD, Machado MA, de Souza AA. N-acetylcysteine interferes with the biofilm formation, motility and epiphytic behaviour of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Plant Pathol.* 2016;65(4):561–9.
 88. Crepaldi EL, Pavan PC, Valim JB. Comparative study of the coprecipitation methods for the preparation of Layered Double Hydroxides. *J Braz Chem Soc.* 2000;11(1):64–70.
 89. Leroux F, Taviot-Guého C. Fine tuning between organic and inorganic host structure: new trends in layered double hydroxide hybrid assemblies. *J Mater Chem.* 2005;15(35–36):3628.
 90. Forano C, Hibino T, Leroux F, Taviot-Guého C. Chapter 13.1 Layered Double Hydroxides. In: Occelli M.L. RHE, editor. *Handbook of Clay Science*. Boston, MA: Springer, Boston, MA; 2006. p. 1021–1095.
 91. Vaccari A. Preparation and catalytic properties of cationic and anionic clays. *Catal Today.* 1998;41(1–3):53–71.
 92. Shen B, Bazin C, English AM. Rapid high-yield N-acylation of aminothiols: N-acetylglutathione and N-acetylhomocysteine and their thiol pKa values. *J Pept Sci.* 2013;19(5):263–7.
 93. Marques MRC, Loebenberg R, Almukainzi M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. *Dissolution Technol.* 2011;18(3):15–28.
 94. United States Pharmacopeial Convention. <711>DISSOLUTION. In: Rockville : United States Pharmacopeial Convention, editor. *The United States pharmacopeia 37th revision : the national formulary 32nd ed.* 2013.
 95. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials.* 2006;27(15):2907–15.
 96. Sene S, Bégu S, Gervais C, Renaudin G, Mesbah A, Smith ME, et al. Intercalation of benzoxaborolate anions in layered double hydroxides: Toward hybrid formulations for benzoxaborole drugs. *Chem Mater.* 2015;27(4):1242–54.
 97. Kumar SS, Nangia A. A new conformational polymorph of N-acetyl-L-cysteine. The role of S–H...O and C–H...O interactions. *CrystEngComm.* 2013;15(33):6498.
 98. Lin-Vien D, Colthup NB, Fateley WG, Grasselli JG. *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*. Elsevier. 1991. 503 p.
 99. Picquart M, Abedinzadeh Z, Grajcar L, Baron MH. Spectroscopic study of N-acetylcysteine and N-acetylcystine/hydrogen peroxide complexation. *Chem Phys.* 1998;228(1–3):279–91.
 100. Bieri M, Bürgi T. Adsorption Kinetics, Orientation, and Self-Assembling of N -Acetyl-L-cysteine on Gold: A Combined ATR-IR, PM-IRRAS, and QCM Study. *J Phys Chem*

- B. 2005;109(47):22476–85.
101. Bieri M, Bürgi T. Enantiodiscrimination between an N -Acetyl- L -cysteine SAM and Proline: An In Situ Spectroscopic and Computational Study. *ChemPhysChem*. 2006;7(2):514–23.
 102. Boeckx B, Ramaekers R, Maes G. A theoretical and matrix-isolation FT-IR investigation of the conformational landscape of N-acetylcysteine. *J Mol Spectrosc*. 2010;261(2):73–81.
 103. Minkov VS, Boldyreva E V. Weak Hydrogen Bonds Formed by Thiol Groups in N -Acetyl- L -Cysteine and Their Response to the Crystal Structure Distortion on Increasing Pressure. *J Phys Chem B*. 2013;117(46):14247–60.
 104. Lazreg A, Taleb-Mokhtari IN, Yousfi N, Sekkal-Rahal M. Density Functional Theory Investigations on Vibrational Spectra, Molecular Structure, and Properties of the L-Serine, L-Cysteine, and L-Aspartic Acid Molecules. *J Chinese Chem Soc*. 2017;64(5):503–21.
 105. Tenório T, Tenório A. An integrated experimental and theoretical investigation of the vibrational modes and molecular structure of a chelate, tetraaqua cysteine aluminum(III). *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2015;138:424–33.
 106. Zhao Y, Li F, Zhang R, Evans DG, Duan X. Preparation of layered double-hydroxide nanomaterials with a uniform crystallite size using a new method involving separate nucleation and aging steps. *Chem Mater*. 2002;14(10):4286–91.
 107. Zhao D, Fang Y, Wang H, He Z. Synthesis and characterization of high-quality water-soluble CdTe: Zn²⁺ quantum dots capped by N-acetyl-L-cysteine via hydrothermal method. *J Mater Chem*. 2011;21(35):13365–70.
 108. Jayanthi K, Nagendran S, Kamath PV. Layered Double Hydroxides: Proposal of a One-Layer Cation-Ordered Structure Model of Monoclinic Symmetry. *Inorg Chem*. 2015;54(17):8388–95.
 109. Atkins PW, Overton TL, Rourke JP, Weller MT, Armstrong FA. Shriver and Atkins' inorganic chemistry. Fifth Edit. Oxford University Press; 2010. 824 p.
 110. Klopogge JT, Hickey L, Frost RL. FT-Raman and FT-IR spectroscopic study of synthetic Mg/Zn/Al-hydrotalcites. *J Raman Spectrosc*. 2004;35:967–74.
 111. Gil OM, Rocha MA, Constantino VRL, Koh IHJ, Faria DLA De. Vibrational Spectroscopy Modified drug release system based on Sulindac and layered double hydroxide : An in vivo Raman investigation. *Vib Spectrosc*. 2016;87:60–6.
 112. Santoso SP, Chandra IK, Soetaredjo FE, Angkawijaya AE. Equilibrium Studies of Complexes between N - Acetylcysteine and Divalent Metal Ions in Aqueous Solutions. *J Chem Eng Data*. 2014;59:1661–6.
 113. Carvalho HWP, Pulcinelli SH, Santilli C V., Leroux F, Meneau F, Briois V. XAS/WAXS Time-Resolved Phase Speciation of Chlorine LDH Thermal Transformation: Emerging Roles of Isovalent Metal Substitution. *Chem Mater*. 2013;25(14):2855–67.
 114. Zhao X, Zhang F, Xu S, Evans DG, Duan X. From Layered Double Hydroxides to ZnO-

- based Mixed Metal Oxides by Thermal Decomposition: Transformation Mechanism and UV-Blocking Properties of the Product. *Chem Mater.* 2010;22(13):3933–42.
115. Baez GM, Scelza OA, Rubén de Miguel S, Bocanegra SA. Innovative Coating Method of MgAl_2O_4 or ZnAl_2O_4 on $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ Spheric Nuclei. *Mater Res.* 2015;18(2):404–410.
 116. Davar F, Salavati-Niasari M. Synthesis and characterization of spinel-type zinc aluminate nanoparticles by a modified sol-gel method using new precursor. *J Alloys Compd.* 2011;509(5):2487–2492.
 117. Dhak D, Pramanik P. Particle size comparison of soft-chemically prepared transition metal (Co, Ni, Cu, Zn) aluminate pinels. *J Am Ceram Soc.* 2006;89(3):1014–1021.
 118. Nakamoto K. Applications in Coordination Chemistry. In: *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry.* Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2009. p. 1–273.
 119. Zelenák V, Vargová Z, Györyová K. Correlation of infrared spectra of zinc(II) carboxylates with their structures. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc.* 2007;66(2):262–272.
 120. Pereira DC, Faria DLA, Constantino VRL. CuII hydroxy salts: Characterization of layered compounds by vibrational spectroscopy. *J Braz Chem Soc.* 2006;17(8):1651–1657.
 121. Masciocchi N, Corradi E, Sironi A, Moretti G, Minelli G, Porta P. Preparation, Characterization, and ab initio X-Ray Powder Diffraction Study of $\text{Cu}_2(\text{OH})_3(\text{CH}_3\text{COO}) \cdot \text{H}_2\text{O}$. *J Solid State Chem.* 1997;262(131):252–262.
 122. Pearson RG. Hard and Soft Acids and Bases, HSAB, Part I Fundamental principles. *J Chem Educ.* 1968;45(9):581–587.
 123. Benito P, Labajos FM, Mafra L, Rocha J, Rives V. Carboxylate-intercalated layered double hydroxides aged under microwave – hydrothermal treatment. *J Solid State Chem.* 2009;182:18–26.
 124. Nakayama H, Hiram S, Tsuchiko M. Selective adsorption of mercury ion by mercaptocarboxylic acid intercalated Mg-Al layered double hydroxide. *J Colloid Interface Sci.* 2007;315(1):177–183.
 125. Olszówka JE, Karcz R, Bielańska E, Kryściak-Czerwenka J, Napruszewska BD, Sulikowski B, et al. New insight into the preferred valency of interlayer anions in hydrotalcite-like compounds: The effect of Mg/Al ratio. *Appl Clay Sci.* 2018;155:84–94.
 126. Abbehausen C, Heinrich TA, Abrão EP, Costa-Neto CM, Lustri WR, Formiga ALB, et al. Chemical, spectroscopic characterization, DFT studies and initial pharmacological assays of a silver(I) complex with N-acetyl-L-cysteine. *Polyhedron.* 2011;30(4):579–583.
 127. Corbi PP, Quintão FA, Ferraresi DKD, Lustri WR, Amaral AC, Massabni AC. Chemical, spectroscopic characterization, and in vitro antibacterial studies of a new gold(I) complex with N-acetyl-L-cysteine. *J Coord Chem.* 2010;63(8):1390–1397.

128. Corbi PP, Cagnin F, Massabni AC. Synthesis and characterization of a platinum (II) complex with N-acetyl-L-cysteine. *J Coord Chem*. 2009;62(17):2764–2771.
129. Pushparaj SSC, Forano C, Prevot V, Lipton AS, Rees GJ, Hanna J V., et al. How the Method of Synthesis Governs the Local and Global Structure of Zinc Aluminum Layered Double Hydroxides. *J Phys Chem C*. 2015;119:27695–27707.
130. Cadars S, Corine G, Yates JR, Tichit D, Massiot D, Gerhardt IC, et al. Identification and Quantification of Defects in the Cation Ordering in Mg/Al Layered Double Hydroxides. *Chem Mater*. 2011;23:2821–2831.
131. MacKenzie KJD, Smith ME. Multinuclear Solid-State Nuclear Magnetic Resonance of Inorganic Materials, Pergamon Materials Series Vol. 6. Elsevier, editor. Vol. 6, Multinuclear Solid State NMR of Inorganic Materials. 2002. 748 p.
132. Daugaard N, Bjerring M, Gro U. A solid state NMR study of layered double hydroxides intercalated with para-amino salicylate , a tuberculosis drug. *Solid State Nucl Magn Reson*. 2016;78:9–15.
133. Prévot V, Forano C, Besse JP. Hybrid derivatives of layered double hydroxides. *Appl Clay Sci*. 2001;18(1–2):3–15.
134. Halajnia A, Oustan S, Najafi N, Khataee AR, Lakzian A. Adsorption-desorption characteristics of nitrate, phosphate and sulfate on Mg-Al layered double hydroxide. *Appl Clay Sci*. 2013;80–81:305–312.
135. Wang M, Qian R, Bao M, Gu C, Zhu P. Raman , FT-IR and XRD study of bovine bone mineral and carbonated apatites with different carbonate levels. *Mater Lett*. 2018;210:203–206.
136. Frost RL, Musumeci AW, Klopogge JT, Adebajo MO, Martens WN. Raman spectroscopy of hydrotalcites with phosphate in the interlayer: implications for the removal of phosphate from water. *J Raman Spectrosc*. 2006;37(January):733–741.
137. Frost RL, López A, Xi Y, Scholz R. Vibrational spectroscopic characterization of the phosphate mineral althausite $\text{Mg}_2(\text{PO}_4)(\text{OH}, \text{F}, \text{O})$ – Implications for the molecular structure. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc*. 2014;120:252–256.
138. He H, Kang H, Ma S, Bai Y, Yang X. High adsorption selectivity of ZnAl layered double hydroxides and the calcined materials toward phosphate. *J Colloid Interface Sci*. 2010;343(1):225–231.
139. Nakayama H, Hiram S, Tsuchioka M. Intercalation of mercaptocarboxylic acid into layered double hydroxide accompanied with oxidation of mercapto group. *Chem Lett*. 2004;33(6):712–713.
140. Rahmani Vahid B, Haghighi M. Urea-nitrate combustion synthesis of $\text{MgO/MgAl}_2\text{O}_4$ nanocatalyst used in biodiesel production from sunflower oil: Influence of fuel ratio on catalytic properties and performance. *Energy Convers Manag*. 2016;126:362–372.
141. Mishra G, Dash B, Pandey S. Layered double hydroxides : A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. *Appl Clay Sci*. 2018;153:172–186.
142. Parker LM, Milestone NB, Newman RH. The Use of Hydrotalcite Anion Absorbent. *Ind*

- Eng Chem Res. 1995;34:1196–1202.
143. Kowalik P, Konkol M, Kondracka M, Próchniak W, Bicki R, Wiercioch P. Memory effect of the CuZnAl-LDH derived catalyst precursor — In situ XRD studies. *Appl Catal A Gen.* 2013;464–465:339–347.
 144. Rocha J, Rives V, Ulibarri MA. Reconstruction of layered double hydroxides from calcined precursors: a powder XRD and ^{27}Al MAS NMR study. *J Mater Chem.* 1999;3:2499–2503.
 145. Klopogge JT, Wharton D, Hickey L, Frost RL. Infrared and Raman study of interlayer anions CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} and ClO_4^- in Mg/Al-hydrotalcite. *Am Mineral.* 2002;87(5–6):623–629.
 146. Tan DT, Cai C, Zhang YH, Wang N, Pang SF, Zhang YH. Crystallization kinetics from mixture Na_2SO_4 /glycerol droplets of Na_2SO_4 by FTIR-ATR. *Chem Phys.* 2016;475:131–135.

Apêndice A

Curva de calibração NAC

Figura A 1: Curva analítica da NAC até 50 mg L^{-1} .

Figura A 2: Espectros eletrônicos de absorção no UV-Vis das concentrações de NAC no intervalo de concentração de 0 a 50 ppm.

Apêndice B

Figura B 1: Espectros FTIR das amostras (a) NAC, (b) NAC-solução liofilizada, (c) NAC-solução pH 7,5 liofilizada, (d) NAC-solução pH 8,5 liofilizada, (e) NAC-solução pH 9,5 liofilizada e (f) NAC-solução pH 11,0 liofilizada.

Apêndice C

Figura C 1: Espectros FTIR das amostras (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl}$. 55°C e (d) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$.55°C.

Figura C 2: Espectros FTIR das amostras (a) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ e (b) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$.55°C.

Figura C 3: Espectros Raman (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC-solução pH=11,0 liofilizada, (c) $\text{Zn}_2\text{Al-Cl}$. 55°C e (d) $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$.55°C.

Figura C 4: Curva TG-DTG das amostras $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$ (traço vermelho) e $\text{Zn}_2\text{Al-NAC}$.55°C (traço preto).

Apêndice D

Figura D 1: Espectros FTIR das amostras (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC- solução pH=9,5 liofilizada, (c) Mg_2Al-Cl e (d) $Mg_2Al-NAC$.

Figura D 2: Espectros FTIR das amostras (a) $Mg_2Al-NAC$, (b) $Mg_2Al-0,5NAC$, (c) $Mg_2Al-2NAC$, (d) $Mg_2Al-NAC.24h. Refl.90^{\circ}C$ e (e) $Mg_2Al-NAC.55^{\circ}C$.

Figura D 3: Espectros Raman das amostras (a) NAC-solução liofilizada, (b) NAC- solução pH=9,5 liofilizada, (c) $\text{Mg}_2\text{Al-Cl}$ e (d) $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$.

Figura D 4: Curvas TG-DTG das amostras $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ (traço preto), $\text{Mg}_2\text{Al-0,5NAC}$ (traço rosa), $\text{Mg}_2\text{Al-2NAC}$ (traço verde), $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.24h. Refl.90}^\circ\text{C}$ (traço vermelho) e $\text{Mg}_2\text{Al-NAC.55}^\circ\text{C}$ (traço azul).

Resultados da liberação da amostra $\text{Mg}_2\text{Al-NAC}$ no modo dinâmico.

Tabela D 1: Valores médios de quantidade de NAC dissolvido a partir do comprimido Mg₂Al-NAC.

Mg₂Al-NAC			
t (h)	NAC* liberado (mg L⁻¹)	NAC liberado (%)	Desvio padrão
0,25	177,95	108,10	10,44
0,50	191,92	110,84	7,10
0,75	163,30	94,40	8,24
1,00	157,41	90,82	3,86
1,25	148,15	85,30	3,85
1,50	177,27	101,89	18,19
1,75	158,08	91,30	5,97
2,00	138,38	79,35	34,68
2,25	195,46	112,91	8,15
2,50	231,92	134,69	40,42
2,75	220,00	128,04	41,76
3,00	209,39	122,02	41,26
3,50	206,16	120,08	39,71
4,00	185,35	108,15	40,74
4,50	101,97	59,08	8,61
5,00	90,51	52,17	0,98
5,50	85,52	49,40	3,32
6,00	82,49	47,67	4,05
7,00	81,25	46,93	3,57
8,00	75,99	43,88	3,83
9,00	74,38	42,96	2,78
10,00	72,09	41,61	2,07
11,00	68,01	38,15	2,45
12,00	69,50	40,78	3,37
24,00	67,12	38,75	2,27
36,00	68,21	39,38	2,31
48,00	70,51	40,67	1,71
60,00	67,96	39,20	1,65
72,00	67,17	38,77	2,01
96,00	73,51	42,40	1,43

* Média de experimento em triplicata.

Figura D 5: Perfil de liberação de NAC a partir do comprimido Mg_2Al -NAC em meio SBF (pH 7,4 e 37°C) e método dinâmico.

Súmula Curricular**Dados pessoais****Denise Eulálio**

Nascida em 22/03/1990 em Ibiá, MG.

E-mail: deniseeulalio.de@gmail.com

Formação acadêmica

Colégio Êxito, Araxá, MG (2009) Técnico em Química Industrial

Universidade Federal de Viçosa-Campus Rio Paranaíba- UFV-CRP, Rio Paranaíba, MG (2016)

Bacharelado em Química

Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, SP (agosto de 2016 até o presente) Mestrado em Química

Ocupação

- 01) Bolsista de mestrado CNPq na execução do Projeto de pesquisa “Hidróxidos duplos lamelares como carregadores de espécies antioxidantes de uso terapêutico” no período de 08/2018 até o presente. Orientadora: Profa. Dra. Vera Regina Leopoldo Constantino.
- 02) Bolsista do Programa especial de Nanociência e Nanotecnologia na modalidade DTI-C (Desenvolvimento Tecnológico Industrial Nível C), no projeto “Desenvolvimento de projetos cooperativos em nanotecnologia com participação do NAP-NN da Universidade de São Paulo no sistema SisNANO” do CNPq, no período de 04/2017 a 11/2017. Orientador: Prof. Dr. Koiti Araki.
- 03) Bolsista de Iniciação Científica do Programa Institucional de Bolsa/Pesquisa PIBIC/CNPq/UFV, na execução do projeto de pesquisa “Síntese, caracterização e

utilização agronômica de hidróxidos duplos lamelares intercalados com borato”, no período de 08/2015 a 07/2016. Orientador: Prof. Dr. Roberto Ferreira Novais.

- 04) Bolsista de Iniciação Científica do Programa Institucional de Bolsa/Pesquisa PIBIC/CNPq/UFV, na execução do projeto de pesquisa “Síntese e caracterização de hidróxidos duplos lamelares de magnésio e ferro intercalados com íons fosfato”, no período de 08/2014 a 07/2015. Orientador: Prof. Dr. Jairo Tronto.
- 05) Estágio no Campus Rio Paranaíba- Química de Materiais, na execução do projeto de pesquisa “Síntese e caracterização de hidróxidos duplos lamelares de magnésio e alumínio intercalados com ânions nitrato e fosfato”, no período de 11/12/2012 a 11/12/2013. Supervisor: Prof. Dr. Jairo Tronto.
- 06) Estágio na empresa SAA-Serviço Autônomo de Água e Esgoto no período de 12/08/2010 a 08/10/2010 em Ibiá-Mg. Supervisor: Sebastião Carvalho Filho.

Publicações

Artigos Publicados

- 01) G.F. Castro, J.A. Ferreira, D. Eulálio, A. R. F. Moraes, V. R. L. Constantino, F. G. Pinto, R. F. Novais, J. Tronto. Organic-Inorganic and hybrid materials: layered double hydroxides and cellulose acetate films as phosphate recovery. *Journal of Agricultural Science and Technology B* 8, v. 8, p. 360-374, 2018.
- 02) G.F. Castro, J. A. Ferreira, D. Eulálio, S. J. Souza, S. V. Novais, R. F. Novais, F. G. Pinto, J. Tronto. Layered double hydroxides: matrices for storage and source of boron for plant growth. *Clay Minerals*, v. 53, p. 1-27, 2018.
- 03) L.P.F. Benício, D. Eulálio, L.G. Moura, F.G. Pinto, L.M. Costa, J. Tronto. Layered double hydroxides as hosting matrices for storage and slow release of phosphate analyzed by stirred-flow method. *Materials Research*, v.21, p. 1-13, 2018.

- 04) L.P.F. Benício, R.A. Silva, J.A. Lopes, D. Eulálio, R.M.M. Santos, L. A. Aquino, L. Vergütz, R. F. Novais, L. M. Costa, F. G. Pinto, J. Tronto. Layered double hydroxides: nanomaterials for applications in agriculture. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* (Impresso), v. 39, p. 1-13, 2015.

Resumos em Congressos

- 01) “Hidróxido Duplo Lamelar como carregador de espécie antioxidante: Síntese e Caracterização” Autores: Eulálio, D.; Faria, D.L.; Constantino, V.R.L. Apresentado na 4ª Reunião sobre Argilas Aplicadas na UFPI, no período de 19 a 20 de Abril de 2018 em Teresina, PI. (Painel).
- 02) “Layered Double Hydroxides as nanocarriers for antioxidant species: synthesis, characterization and in vivo tests” Autores: Eulálio, D.; Cunha, V.R.R.; Nakamae, M.N.; Kang, Y.R.; Souza, R.B.; Martins, A.M.C.R.P.F.; Jun Koh, I.H.; Constantino, V.R.L. Apresentado na 46th World Chemistry Congress, 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química and IUPAC 49th General Assembly, no período de 7 a 14 Julho de 2017 em São Paulo, SP. (Painel)
- 03) “Hidróxidos Duplos Lamelares como matrizes para liberação modificada de íons lipoato.” Autores: Eulálio, D.; Cunha, V.R.R.; Constantino, V.R.L. Apresentado na 3ª Reunião sobre Argilas Aplicadas, no período de 7 a 8 de Julho de 2017 em São Paulo, SP. (Painel)
- 04) “Synthesis and Characterization of Layered Double Hydroxides Host Matrices Containing Antioxidant Species.” Autores: Eulálio, D.; Cunha, V.R.R.; Constantino, V.R.L. Apresentado na 1st São Paulo School on Scattering: Diffraction and Imaging using Light, Neutrons and X-rays, no período de 17 a 21 de Julho de 2017 em São Paulo, SP. (Painel)
- 05) “Layered double hydroxide: matrices for storage and source of boron for plant growing.” Autores: Ferreira, J. A.; Castro, G. F.; Rosa, G. N. G. P.; Eulálio, D.; Souza, S. J.; Novais,

- R. F.; Pinto, F. G.; Tronto, J. Apresentado no XVI International Clay Conference, no período de 17 a 21 de Julho de 2017, Granada, Espanha. (Painel)
- 06) “Filmes híbridos orgânico-inorgânico de acetato de celulose e hidróxidos duplos lamelares como adsorventes de fosfato.” Autores: Castro, G.F.; Eulalio, D.; Moraes, A. R. F.; Tronto, J.; Novais, R. F. Apresentado no IV Simpósio Mineiro de Ciência do Solo, no período de 3 a 6 de Maio de 2017 em Viçosa, MG. (Apresentação oral).
- 07) “Hidróxidos Duplos Lamelares Intercalados com Ânions Borato: Síntese e Caracterização.” Autores: Eulalio, D.; Castro, G. F.; Ferreira, J. A.; Pinto, F. G.; Novais, R. F.; Tronto, J. Apresentado no III Workshop de Fertilizantes, no período de 16 a 18 de Agosto de 2017, Viçosa, MG. (Painel)
- 08) “Hidróxidos duplos lamelares de magnésio e ferro como matrizes para liberação sustentada de fosfato.” Autores: Eulalio, D.; Benicio, L. P. F.; Castro, G. F.; Costa, L. M.; Novais, R. F.; Pinto, F. G.; Tronto, J. Apresentado na 39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, no período de 30 de Maio a 02 de Junho de 2016, Goiânia. (Painel)
- 09) “Utilização de hidróxidos duplos lamelares como adsorventes de fosfato.” Autores: Castro, G. F.; Novais, R. F.; Tronto, J.; Pinto, F. G.; Ferreira, J. A.; Eulalio, D. Apresentado no Simpósio de Integração Acadêmica, no período de 17 a 22 de Outubro de 2016, Viçosa, MG. (Painel).
- 10) “Síntese, caracterização e utilização agronômica de hidróxidos duplos lamelares intercalados com borato.” Autores: Eulalio, D.; Novais, R. F.; Ferreira, J. A.; Castro, G. F.; Pinto, F. G.; Tronto, J. Apresentado no Simpósio de Integração Acadêmica, no período de 18 a 20 de Outubro de 2016, Rio Paranaíba, MG. (Apresentação Oral e Painel)
- 11) “Hidróxidos duplos lamelares de magnésio e ferro como matrizes para liberação sustentada de fosfato.” Autores: Eulalio, D.; Benício, L. P. F.; Castro, G.F.; Costa, L. M.; Novais, R.

F.; Pinto, F. G.; Tronto, J. Apresentado no Simpósio de Integração Acadêmica, no período de 20 a 23 de Outubro de 2015, Rio Paranaíba, MG. (Apresentação Oral e Painel).

- 12) “Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de íons nitrato para as plantas. “ Autores: Silva, R. A.; Lopes, J. A.; Eulalio, D.; Aquino, L. A.; da Costa, L. M.; Pinto, F. G.; Tronto, J. Apresentado na 37a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, no período de 26 a 29 de Maio de 2014, Natal, RN. (Apresentação Oral)
- 13) “Estudo da utilização de extratores para a liberação de íons nitrato e fosfato intercalados em hidróxidos duplos lamelares.” Autores: Silva, R. A.; Tronto, J.; Pinto, F. G.; Lopes, J. A.; Eulalio, D.; Duarte, J. L. P. Apresentado no Simpósio de Integração Acadêmica, no período de 22 a 24 de Outubro de 2013, Rio Paranaíba, MG. (Apresentação Oral e Painel)

Outros:

- 01) Monitora do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE) da Pró-Reitoria de Pós-Graduação da Universidade de São Paulo, nas seguintes disciplinas de graduação: QFL 1231- Química Inorgânica I: Química dos Elementos (1º semestre de 2017) e QFL 1103-2- Química Geral II (2º semestre de 2017), oferecidas para o curso de Química do Instituto de Química - USP.
- 02) Estagiária da disciplina QFL-0140 - Química Inorgânica oferecida para o curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP (2º semestre de 2016).