



Catarina Isabel Santos Florindo

Licenciatura em Química Aplicada

Estudo da biodisponibilidade de Princípios Activos Farmacêuticos por utilização de Líquidos Iónicos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Biotecnologia

Orientador: Professora Doutora Isabel Maria Delgado Jana Marrucho Ferreira, Investigadora Auxiliar, Laboratório de Termodinâmica Molecular, ITQB-UNL

Co-orientador: Doutor João Miguel Mendes de Araújo, Pós-Doc, Laboratório de Termodinâmica Molecular, ITQB-UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Pedro Miguel Ribeiro Viana Baptista
Arguente: Prof. Doutor Alexandre Babo de Almeida Paiva
Vogal: Prof. Doutora Isabel Maria Delgado Jana Marrucho Ferreira



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2012

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Química



**Estudo da biodisponibilidade de Princípios Activos
Farmacêuticos por utilização de Líquidos Iónicos**

Catarina Isabel Santos Florindo

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para
obtenção do grau Mestre em Biotecnologia

Orientadores: Doutora Isabel Maria Delgado Jana Marrucho Ferreira
Doutor João Miguel Mendes de Araújo

Setembro 2012

**Estudo da biodisponibilidade de Princípios Activos Farmacêuticos por
utilização de Líquidos Iónicos**

COPYRIGHT

Catarina Isabel Santos Florindo

**Faculdade de Ciências e Tecnologia
Universidade Nova de Lisboa**

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Apesar de esta dissertação ser um trabalho individual, devido ao seu objectivo académico, existe sempre contributos de natureza diversa que não podem deixar de ser mencionados. Assim é importante salientar que tudo aquilo que decorreu ao longo da realização deste trabalho se deveu em muito à colaboração e à amizade indispensáveis de todos os que, de forma directa ou indirecta me apoiaram durante toda esta etapa.

Penso que nunca será demais destacá-los e agradecer a todos.

Em primeiro lugar e um agradecimento muito especial e sincero à Professora Doutora Isabel Marrucho e ao Doutor João Araújo, orientadores desta tese. Agradeço todo o apoio, todas as críticas e sugestões relevantes feitas durante a orientação, a partilha do conhecimento e as valiosas contribuições para a realização deste trabalho. Acima de tudo, obrigada por me terem acompanhado nesta etapa, pela disponibilidade e por estimularem o meu interesse pelo conhecimento e pela vida académica. Estou grata por terem contribuído assim para o meu desenvolvimento a nível pessoal. Agradeço também ao Doutor Luís Paulo Rebelo pela oportunidade de desenvolver o meu trabalho no Laboratório de Termodinâmica Molecular no ITQB.

A todos os elementos do grupo de Termodinâmica Molecular, quero aqui deixar o meu muito obrigado, pelo facto de me apoiarem e motivarem todos os dias, ao longo destes meses. Quero no entanto, destacar algumas pessoas: Susana Martinho, Ana B. Pereira, Andreia Raimundo e Marta Figueiredo. Obrigado por acreditarem sempre em mim, mesmo quando todos duvidavam! Obrigado pelos bons momentos que partilhámos, pelas excelentes sugestões, pela boa disposição, companheirismo, disponibilidade e apoio, e pela amizade que criámos, que espero que não se perca.

Quero agradecer à minha família, nomeadamente aos meus pais, pelos princípios incutidos e pela ajuda. Por serem quem são, pela referência que são para mim e dos quais me orgulho de ser filha.

Por fim, mas não menos importantes, agradeço a todos os meus amigos que me foram perguntando pelo trabalho e que me foram estimulando pela confiança que foram depositando em mim em todos os momentos mais difíceis, fazendo-me sempre acreditar que era possível chegar ao fim com sucesso, em especial agradeço ao João Santos pelo apoio incansável, pelo incentivo, pela compreensão e principalmente por me ter feito acreditar que eu era capaz de chegar ao fim!

A todos, os meus sinceros agradecimentos!

“The important thing is not to stop questioning. Curiosity has its own reason for existing. One cannot help but be in awe when he contemplates the mysteries of eternity, of life, of the marvelous structure of reality. It is enough if one tries merely to comprehend a little of this mystery every day. Never lose a holy curiosity.”

Albert Einstein

Resumo

A indústria farmacêutica baseia-se sobretudo na formulação de princípios activos farmacêuticos (PAFs) na forma de sólidos, os quais podem apresentar efeitos nefastos devido a conversões polimórficas, que influenciam a solubilidade, a biodisponibilidade, a eficácia, entre outras. Praticamente, metade das substâncias activas conhecidas apresentam-se insolúveis ou com reduzidas solubilidades em água, e que acabam por ser reprovadas nos ensaios clínicos pelas entidades reguladoras (p.e. FDA).

O objectivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento de líquidos iónicos (LIs) formulados com base em PAFs, de forma a contornar os problemas relacionados com as reduzidas solubilidades em água dos PAFs de partida, potenciando a partilha com membranas biológicas, o aumento da solubilidade e consequentemente da biodisponibilidade. De forma a atingir-se este objectivo estudaram-se alguns PAFs sintetizados na plataforma de LIs, utilizando-se uma variedade de PAFs (ampicilina; ibuprofeno; naproxeno; ácido nalidíxico; ácido niflúmico; ácido pirazinóico; ácido 4-aminosalicílico; ácido picolínico) combinados com catiões de reduzida toxicidade e biocompatíveis.

Foram estudadas as solubilidades destes LI-PAFs em água e em fluidos biológicos simulados apropriados para testes de dissolução (solução aquosa de força iónica isotónica, fluido gástrico simulado e fluido intestinal simulado) à temperatura de 25 °C e 37 °C (temperatura corporal). Adicionalmente foram determinados os coeficientes de partição octanol – água (K_{ow} 's), de modo a verificar-se o potencial de permeação membranar, e foram efectuados ensaios para determinação de concentrações micelares críticas (CMC's) dos líquidos iónicos farmacêuticos que apresentam na sua constituição catiões com propriedades tensioactivas.

Os estudos efectuados apresentaram resultados promissores, pois foi possível verificar o aumento das solubilidades em água e em fluidos biológicos, e ainda do potencial de permeação em membranas dos PAFs de partida quando transformados em LIs. Foram também desenvolvidos LI-PAFs com propriedades surfactantes, com potenciais aplicações para veiculação de fármacos. Os resultados obtidos oferecem novas e interessantes avenidas de investigação para ambas as comunidades, farmacêutica e dos líquidos iónicos.

Palavras-Chave:

- Líquidos iónicos ◦ Princípios activos farmacêuticos ◦ Solubilidade ◦ Biodisponibilidade ◦
- Concentração micelar crítica ◦ Coeficientes de partição octanol – água ◦

***Esta dissertação não foi escrita de acordo com o novo acordo ortográfico.**

Abstract

The pharmaceutical industry relies mainly on the formulation of active pharmaceutical ingredients (APIs) as solids, which may have adverse effects due to polymorphic conversions that influence the solubility, bioavailability, efficacy, among others. Almost half of the active substances known have reduced solubility or are insoluble in water, and eventually are reworked in clinical trials by regulatory entities (e.g. FDA).

In order to overcome the problems associated with the low water solubilities of available APIs, the aim of this study was the development of ionic liquids (ILs) formulated on the basis of APIs with the intent of enhancing their solubility and hence their bioavailability. In order to achieve this objective, several APIs were synthesized using the ionic liquid's synthetic platform, combining a wide variety of APIs (ampicillin, ibuprofen, naproxen, nalidixic acid, niflumic acid; pyrazinoic acid, 4-aminosalicylic acid, picolinic acid) with reduced toxicity and biocompatible cations.

The solubility of the synthesized API-ILs in water and simulated biological fluids suitable for dissolution tests (aqueous ionic strength isotonic simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid) were measured at 25 °C and 37 °C (body temperature). Additionally, octanol-water partition coefficients (K_{ow} 's) were determined, in order to investigate the membrane permeation potential of these compounds, and assays were performed to determine critical micellar concentrations (CMC's) of the synthesized pharmaceutical ionic liquids bearing cations with surfactant properties.

The present studies clearly confirmed the great potential of the methodology followed in this work, since new pharmaceutical forms with enhanced properties regarding solubility in water and biological fluids, as well as more adequate properties regarding membrane affinity and permeation. Also, new pharmaceutical ionic liquids with surfactant properties were developed and characterized for potential applications in drug delivery. The results here obtained offer new and interesting avenues of research for both communities, pharmaceutical and ionic liquids.

Keywords:

- Ionic Liquids ◦ Active pharmaceutical ingredients ◦ Solubility ◦ Bioavailability ◦
- Critical micellar concentrations ◦ Octanol – Water partition coefficients ◦

Conteúdo

<i>Capítulo 1</i>	1
1. Introdução Geral	3
1.1. Enquadramento temático	3
1.2. Objectivos e Fases do Trabalho	4
1.2.1. Objectivo Geral	4
1.2.2. Objectivos Específicos	4
1.2.3. Fases do Trabalho	5
1.3. Conteúdo da Dissertação	6
<i>Capítulo 2</i>	9
2. Fundamentos	11
2.1. Princípios activos farmacêuticos – PAFs	11
2.2. Solubilidade de PAFs	12
2.2.1. Emulsões	14
2.2.2. Co-Solventes	14
2.2.3. Partículas de tamanho reduzido	15
2.3. Balanço Lipofílico-Hidrofílico	15
2.4. Princípios activos farmacêuticos no estado sólido	17
2.4.1. Desvantagens dos PAFs no estado sólido	18
2.5. Líquidos iónicos	19
2.6. Líquidos iónicos como princípios activos farmacêuticos	25
<i>Capítulo 3</i>	31
3. Secção Experimental	33
3.1. Materiais – Reagentes e equipamento	33
3.2. Procedimento experimental	38
3.2.1. Síntese de LIs baseados em PAFs	38
3.2.2. Análises Térmicas	38
3.2.2.1. Análise Termogravimétrica (TGA)	38
3.2.2.2. Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)	39
3.2.3. Determinação de Solubilidades	39
3.2.3.1. Rectas de calibração	40
3.2.4. Determinação de concentrações micelares críticas (CMC's)	47
3.2.5. Determinação de coeficientes de partição octanol – água (Kow's)	49

<i>Capítulo 4</i>	51
4. Análise dos Resultados	53
4.1. Síntese de LIs baseados em PAFs	53
4.2. Líquidos iônicos baseados no PAF Ampicilina	55
4.2.1. Caracterização.....	55
4.2.1.1. Análise térmica.....	55
4.2.2. Solubilidade em água	57
4.2.3. Coeficientes de Partição octanol – água (Kow's)	60
4.3. Líquidos iônicos baseados nos PAFs ibuprofeno e naproxeno	63
4.3.1. Caracterização.....	63
4.3.2. Velocidade de dissolução.....	63
4.3.3. Solubilidade em água	64
4.4. Líquidos iônicos baseados no catião colina ([N_{11120H}]⁺) e conjugados com diferentes PAFs	68
4.4.1. Síntese e Caracterização	68
4.4.1.1. Análise térmica.....	68
4.4.2. Solubilidades dos LIs baseados no catião [N _{11120H}] ⁺ e conjugados com diferentes PAFs.....	70
4.4.2.1. Velocidade de dissolução.....	70
4.4.2.2. Solubilidades em água	76
4.4.2.3. Solubilidades em Fluidos Biológicos	78
4.5. Concentrações micelares críticas (CMC's)	83
<i>Capítulo 5</i>	87
5.1. Síntese do Trabalho e Conclusões	89
5.2. Desenvolvimentos Futuros	90
<i>Bibliografia</i>	93
6. Referências Bibliográficas	95
<i>Anexos</i>	105
Anexo A	107
A.1. Caracterização dos LIs baseados no PAF Ampicilina	107
Anexo B	120
B.1. Espectros UV-vis obtidos para cada PAF estudado, tanto na forma ácida como na forma de LI	120

Anexo C	144
C.1. Rectas de calibração traçadas para cada PAF estudado na forma ácida e na forma de LI	144
Anexo D	165
D.1. Velocidades de dissolução para os diferentes PAFs	165
Anexo E	172
E.1. Gráficos obtidos na determinação de Concentrações micelares críticas e respectivos valores de condutividades para cada LI surfactante	172

Índice de Figuras

Figura 2.1 – Classificação dos fármacos pelo BCS em quatro categorias de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade (15).	13
Figura 2.2 – Esquema descritivo das barreiras que os fármacos necessitam de atravessar até atingirem o local de ação terapêutica (28).	16
Figura 2.3 – Diferentes formas sólidas apresentadas por princípios activos farmacêuticos (36).	18
Figura 2.4 – Estruturas químicas dos catiões utilizados em LIs, adaptado de (52).	20
Figura 2.5 – Representação da estrutura química dos aniões utilizados nos LIs: a) haletos (Cl ⁻ , F ⁻ , Br ⁻ , I ⁻); b) nitrato; c) clorato; d) alcanoato; e) dicianamida; f) hidróxido; g) trifluorometanosulfonato; h) [bis(trifluorometil)sulfonil]imida; i) hexafluorofosfato; j) tetrafluoroborato; k) sulfato de alquil; l) haleto de metal; m) aniões cloroaluminatos.	21
Figura 2.6 – Número de artigos publicados por ano sobre LIs (valores retirados do <i>Isi Web of Knowledge</i> no dia 24 Julho de 2012 consultado em http://apps.webofknowledge.com).	22
Figura 2.7 – Resumo de todas as possíveis aplicações dos LIs.	23
Figura 2.8 – Esquema ilustrativo da presença de monómeros em solução antes da CMC e a formação de micelas após a CMC.	25
Figura 2.9 – Estrutura química e anacrónico dos LIs utilizados neste trabalho, baseados nos PAFs de Ampicilina, Ibuprofeno e Naproxeno: (i) [TEA][Amp]; (ii) [N _{1112OH}][Amp]; (iii) [C ₂ MIM][Amp]; (iv) [OHC ₂ MIM][Amp]; (v) [C ₁₆ Pir][Amp]; (vi) [N _{1112OH}][Ibu]; (vii) [OHC ₂ MIM][Ibu]; (viii) [C ₁₆ Pir][Ibu]; (ix) [Aliquat][Ibu]; (x) [P _{6,6,6,14}][Ibu]; (xi) [N _{1112OH}][Nap]; (xii) [OHC ₂ MIM][Nap].	27
Figura 2.10 – Estrutura química e anacrónico dos LIs utilizados neste trabalho, baseados em diferentes PAFs baseados sempre no mesmo catião, a colina: (i) [N _{1112OH}][Nif]; (ii) [N _{1112OH}][Nal]; (iii) [N _{1112OH}][Pic]; (iv) [N _{1112OH}][Pir]; (v) [N _{1112OH}][4-aminosal].	28
Figura 3.1 – Estrutura química, abreviatura e designação IUPAC dos PAFs estudados na forma de ácidos.	34
Figura 3.2 – Estrutura química, abreviatura e designação IUPAC dos catiões utilizados na síntese de líquidos iónicos.	35
Figura 3.3 – Karl-Fischer utilizado (<i>Metrohm 831 Karl Fischer coulometer</i>).	36
Figura 3.4 – a) TGA (<i>TA Instruments modelo TGA Q50</i>) e b) DSC (<i>TA Instruments modelo DSC Q200</i>) utilizados.	36
Figura 3.5 – a) Termomixer (<i>Thermomixer Comfort, eppendorf 1,5 mL</i>) e b) espectrofotómetro UV-VIS (modelo <i>SHIMADZU UV-1800, Pharma-Spec spectrophotometer</i>), utilizados nos ensaios de solubilidade.	37
Figura 3.6 – Condutivímetro (<i>Radiometer Copenhagen CDM210 Conductivity Meter, Meterlab</i>) utilizado na determinação das concentrações micelares críticas.	37
Figura 3.7 – Recta de calibração em água para o PAF ampicilina ácida.	42

Figura 3.8 – Recta de calibração em água para o líquido iónico [TEA][Amp].....	42
Figura 3.9 – Determinação da concentração micelar crítica do Cloreto de Cetilpiridínio ($[C_{16}Pir][Cl]$) a 25°C em água.....	48
Figura 4.1 – Metodologia de síntese aplicada aos LI-PAFs baseados no princípio activo farmacêutico de ampicilina (51).....	54
Figura 4.2 – Velocidade de dissolução da ampicilina ácida em água a uma temperatura de 25 °C e uma agitação constante de 1400 rpm.	56
Figura 4.3 – Comparação da solubilidade dos LIs baseados no PAF ampicilina à temperatura de 25 °C e 37 °C.	58
Figura 4.4 – Coeficientes de partição octanol – água (Kow's) a 25 °C para os LIs baseados no PAF ampicilina.	61
Figura 4.5 – Comparação dos valores de solubilidades em água e Kow's obtidos para os LIs baseados no PAF de ampicilina.	62
Figura 4.6 – Velocidade de dissolução do ibuprofeno (■) e naproxeno (●) em água a uma temperatura de 25 °C e a uma agitação constante de 1400 rpm.	64
Figura 4.7 – Solubilidade em água do PAF ibuprofeno conjugado com os catiões colina ($[N_{1112OH}]^+$) e 1-hidroxietyl-3-metilimidazólio ($[OHC_2MIM]^+$) às temperaturas de 25 °C e 37 °C.	66
Figura 4.8 – Solubilidade em água do PAF naproxeno conjugado com os catiões colina ($[N_{1112OH}]^+$) e 1-hidroxietyl-3-metilimidazólio ($[OHC_2MIM]^+$) às temperaturas de 25 °C e 37 °C.	67
Figura 4.9 – Velocidade de dissolução do ácido nalidíxico em água a uma temperatura de 25 °C (■) e numa solução fisiológica de NaCl 0,15 M (força iónica isotónica) a uma temperatura de 37 °C (●)...	71
Figura 4.10 – Espectro característico UV-vis do ácido 4-aminosalicílico numa solução fisiológica 0,15M de NaCl a 37 °C e a diferentes tempos de dissolução.	72
Figura 4.11 – Espectro característico UV-vis do ácido 4-aminosalicílico numa solução tampão fosfato pH=6,8 a 37 °C e a diferentes tempos de dissolução.....	72
Figura 4.12 – Espectro característico UV-vis do ácido 4-aminosalicílico numa solução 0,1 M HCl (pH=1,0) a 37 °C e a diferentes tempos de dissolução.	73
Figura 4.13 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico em água a uma temperatura de 25 °C.....	73
Figura 4.14 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico a 37 °C, numa solução fisiológica de 0,15 M de NaCl.	74
Figura 4.15 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico a 37 °C, numa solução tampão fosfato de pH=6,8.....	75
Figura 4.16 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico a 37 °C, numa solução tampão 0,1 N HCL a pH=1,0.	75
Figura 4.17 – Solubilidades relativas aos LI-PAFs, tanto na forma ácida como na forma de líquido iónico, em água e a 25 °C.	77

Figura 4.19 – Solubilidades do PAF ácido nalidíxico e respectivo líquido iónico, $[N_{1112OH}][Nalidíxato]$, em água a 25°C e em fluidos biológicos simulados a 37°C.	79
Figura 4.20 – Solubilidades do PAF ácido niflúmico e respectivo líquido iónico, $[N_{1112OH}][Niflúmato]$, em água a 25°C e em fluidos biológicos simulados a 37°C.	80
Figura 4.21 – Solubilidades do PAF ácido 4-aminosalicílico e respectivo líquido iónico, $[N_{1112OH}][4-aminosalicílato]$, em água a 25°C e em fluidos biológicos simulados a 37°C.	80
Figura 4.22 – Solubilidades do PAF ácido pirazinóico e respectivo líquido iónico, $[N_{1112OH}][pirazinoato]$, em água a 25°C e em fluidos biológicos simulados a 37°C.	81
Figura 4.23 – Solubilidades do PAF ácido picolínico e respectivo líquido iónico, $[N_{1,1,1,2OH}][picolínato]$, em água a 25°C e em fluidos biológicos simulados a 37°C.	81
Figura 4.24 – Determinação da CMC do LI Cloreto de cetilpiridínio ($[C_{16}Pir][Cl]$), em água a 25°C através da medição da condutividade em função da concentração do tensoactivo.	84

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Classificação dos PAFs em termos de solubilidade (15).....	12
Tabela 3.1 – Comprimentos de onda correspondentes ao máximo de absorção de radiação de cada um dos ácidos, os quais foram seleccionados para estudos posteriores.	40
Tabela 3.2 – Comprimentos de onda correspondentes aos máximos de absorção de radiação dos LIs utilizados neste estudo, os quais foram seleccionados para estudos posteriores.....	41
Tabela 3.3 – Parâmetros das rectas de calibração obtidas para cada um dos PAFs estudados na forma ácida.	43
Tabela 3.4 – Parâmetros das rectas de calibração obtidas para cada um dos PAFs estudados na forma de LI.	44
Tabela 3.5 – Valores de solubilidade dos PAFs da literatura e determinados neste trabalho.....	47
Tabela 4.1 – Propriedades térmicas dos LIs baseados no PAF ampicilina.	55
Tabela 4.2 – Resumo das solubilidades em água determinadas para o PAF ampicilina.	58
Tabela 4.3 – Valores de Kow's determinados para o PAF ampicilina ácida e respectivos líquidos iónicos, a 25 °C.....	60
Tabela 4.4 – Valores de solubilidade obtidos para os PAFs ibuprofeno e naproxeno, na forma ácida e na forma de líquido iónico, às duas temperaturas estudadas (25 °C e 37 °C).....	65
Tabela 4.5 – Propriedade térmica, ponto de fusão, tabelada de cada um dos PAFs de partida.....	69
Tabela 4.6 – Propriedades térmicas dos LI-PAFs baseados no catião colina e conjugados com distintos PAFs.	69
Tabela 4.7 – Soluções utilizadas de forma a simular fluidos biológicos.....	70
Tabela 4.8 – Solubilidade dos LI-PAFs baseados no catião $[N_{1112OH}]^+$ e dos PAFs de partida, em água a 25 °C.	76
Tabela 4.9 – Valores de pKa's a 25 °C para os PAFs de partida estudados.	78
Tabela 4.10 – Solubilidade (mg/mL) dos LI-PAFs baseados no catião $[N_{1112OH}]^+$ e dos respectivos PAFs de origem nos diferentes fluidos biológicos a 37 °C.	79
Tabela 4.11 – CMC de Líquidos iónicos tensoactivos formulados apartir de princípios activos farmacêuticos a 25 °C e em água.....	85

Lista de Abreviaturas

[Aliquat][Ibu]	Ibuprofenato de aliquat
[C₁₆Pir]⁺	Cetilpiridínio
[C₁₆Pir][Amp]	Ampicilinato de cetilpiridínio
[C₁₆Pir][Cl]	Cloreto de cetilpiridínio
[C₁₆Pir][Ibu]	Ibuprofenato de cetilpiridínio
[C₂MIM]	1-etil-3-metilimidazólio
[C₂MIM][Amp]	Ampicilinato de 1-etil-3-metilimidazólio
[C₂MIM][Cl]	Cloreto de 1-butil-3- metilimidazólio
[Ibu]⁻	Ibuprofenato
[N_{1112OH}]⁺	colina
[N_{1112OH}][4-aminosal]	4-aminosalicilato de colina
[N_{1112OH}][Amp]	Ampicilinato de colina
[N_{1112OH}][Cl]	Cloreto de colina
[N_{1112OH}][Ibu]	Ibuprofenato de colina
[N_{1112OH}][Nal]	Nalidixato de colina
[N_{1112OH}][Nap]	Naproxenato de colina
[N_{1112OH}][Nif]	Niflumato de colina
[N_{1112OH}][OH]	Hidróxido de colina
[N_{1112OH}][Pic]	Picolinato de colina
[N_{1112OH}][Pir]	Pirazinoato de colina
[NTf₂]⁻	Bis(trifluorometilsulfonil)imida
[OHC₂MIM]⁺	1-hidroxi-etil-3-metilimidazólio
[OHC₂MIM][Amp]	Ampicilinato de 1-hidroxi-etil-3-metilimidazólio
[OHC₂MIM][Docusato]	Docusato de 1-hidroxi-etil-3-metilimidazólio
[OHC₂MIM][Ibu]	Ibuprofenato de 1-hidroxi-etil-3-metilimidazólio

[OHC₂MIM][Nap]	Naproxenato de 1-hidroxi-etil-3-metilimidazólio
[P_{6,6,6,14}]⁺	Trihexiltetradecilfosfónio
[P_{6,6,6,14}][Ibu]	Ibuprofenato de trihexiltetradecilfosfónio
[TEA]⁺	Tetraetilamónio
[TEA][Amp]	Ampicilinato de tetraetilamónio
¹³C-RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono
¹H-RMN	Ressonância magnética nuclear de protão
Abs	Absorvância
ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
AINES	Anti-inflamatórios não esteróides
API	<i>Active pharmaceutical ingredient</i>
BCS	<i>Biopharmaceutics Classification System</i>
CMC	Concentração micelar crítica
COX	Cicloxigenases
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i>
ESI	Espectroscopia de massa por ionização de electrospray
Espectroscopia UV-vis	Espectroscopia de Ultravioleta -Visível
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
GC	Gerador de coluna
I & D	Investigação e desenvolvimento
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LI	Líquido Iónico
LI-PAFs	Líquidos iónicos baseados em princípios activos farmacêuticos
LIs	Líquidos Iónicos
nm	Nanómetros

OCDE	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i>
PAFs	Princípios activos farmacêuticos
pH	Potencial de hidrogénio iónico
pKa	Constante de acidez
Ppm	Partes por milhão
RP-HPLC	Cromatografia líquida de fase reversa de alta eficiência
Rpm	Rotações por minuto
RP-TLC	Cromatografia líquida de fase reversa de camada fina
RTIL	<i>Room Temperature Ionic Liquid</i>
SEDDS	<i>Self-Emulsifying Drug Delivery Systems</i>
T_{dec}	Temperatura de decomposição
T_{fusão}	Temperatura de fusão
TGA	Análise termogravimétrica
TGI	Tracto gastrointestinal
T_{vítrea}	Temperatura de transição vítrea
UV	Ultravioleta
VOS's	Solventes orgânicos voláteis

Lista de Simbologia

λ	Comprimento de onda (nm)
σ	Desvio padrão (adimensional)
A	Absorvância (adimensional)
K_{ow}	Coefficiente de partição octanol – água (adimensional)
R²	Coefficiente de correlação (adimensional)
[soluto]_o	Concentração de soluto na fase rica em octanol (mol/L)

[soluto]_w	Concentração de soluto na fase rica em água (mol/L)
log P	Coefficiente de partição
ε	Absortividade molar da substância (M ⁻¹ cm ⁻¹)
b	Percurso óptico (cm)
[C]	Concentração do composto (M)
S	Solubilidade (mg/mL)
K	Condutividade específica (μS/cm)

Capítulo 1

1. Introdução Geral

1.1. Enquadramento temático

Os líquidos iónicos (LIs) são sais orgânicos com um ponto de fusão, por definição, inferior a 100 °C (alguns são líquidos à temperatura ambiente), ao contrário dos sais inorgânicos que apresentam elevados pontos de fusão. A diferente organização estrutural que os LIs podem apresentar, através da combinação de diversos catiões orgânicos e aniões de natureza orgânica ou inorgânica, confere-lhes propriedades particulares que potenciam diversas aplicações, nomeadamente nas áreas da biotecnologia, da indústria química e da indústria farmacêutica (1).

Esta nova classe de sais orgânicos possui diversas propriedades de interesse, como é o caso da sua reduzida pressão de vapor, baixa inflamabilidade, elevada estabilidade térmica e química, densidade e viscosidade variáveis dependentes da selecção do catião e anião, tal como a sua solubilidade em água e em solventes orgânicos comuns (2). A exaustiva investigação de novos e diferentes líquidos iónicos ocasionou um desenvolvimento rápido desta área nas últimas décadas, sendo possível já classificar três gerações distintas de LIs. A primeira geração de LIs inclui compostos focados nas suas propriedades físicas únicas e reajustáveis, tais como a densidade, viscosidade, condutividade, solubilidade, e estabilidade térmica e química. A segunda geração de LIs direccionou-se para a possibilidade de conjugar algumas dessas propriedades físicas com algumas propriedades químicas, que podem ter aplicações específicas como lubrificantes, materiais energéticos e solventes verdes. Por último, a terceira geração de LIs envolve a utilização de princípios activos farmacêuticos, cuja utilização visa a produção de LIs com actividade biológica (3).

Apesar destes compostos serem conhecidos há mais de um século, só recentemente têm vindo a ser alvo de intensa investigação no desenvolvimento de novos princípios activos farmacêuticos (PAFs), devido aos problemas recorrentes que estes apresentam relacionados com a sua reduzida solubilidade e biodisponibilidade (4). Actualmente, a indústria farmacêutica baseia-se em PAFs na forma sólida, que podem ser obtidos através de um controlo do tamanho do cristal e de uma solubilidade controlada do produto. No entanto, as formas sólidas de PAFs, que podem ser compostos neutros ou sais, apresentam frequentemente problemas relacionados com a formação de polimorfos e com a baixa solubilidade, o que influencia de forma directa a biodisponibilidade (5). Estes são factores essenciais para a efectividade de um determinado fármaco (6). Esta problemática vem colocar um desafio maior à indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que praticamente metade das substâncias activas identificadas são insolúveis ou apresentam reduzidas solubilidades em água.

A terceira geração de LIs, líquidos iónicos biologicamente activos, tem como foco particular a tentativa de superar os obstáculos de formulação de PAFs no estado sólido. Este trabalho visa oferecer uma alternativa a estes problemas recorrentes, através da utilização de LIs conjugados com catiões e

aniões adequados, de forma a ser possível ultrapassar as questões relacionadas com a solubilidade, e também proporcionar novos desenvolvimentos futuros nesta área, como a introdução de novos tratamentos médicos ou de novas opções de entrega de fármacos.

1.2. Objectivos e Fases do Trabalho

1.2.1. Objectivo Geral

Pretende-se nesta dissertação estudar, e conseqüentemente avaliar, a metodologia aplicada para a síntese de novos princípios activos farmacêuticos com base na definição de líquido iónico. O verdadeiro poder desta plataforma sintética reside no balanço delicado entre a funcionalidade química e a forma como esta afecta as propriedades relevantes dos PAFs, como por exemplo, solubilidade em água e em fluidos biológicos, propriedades termofísicas e partições em água - solventes orgânicos, neste caso o octanol. Desta forma, serão estudados líquidos iónicos baseados em PAFs (LI-PAFs), sintetizados utilizando princípios activos como a ampicilina, o ibuprofeno, o naproxeno, o ácido nalidíxico, o ácido niflúmico, o ácido pirazinóico, o ácido picolínico e o ácido 4-aminosalicílico, combinados com catiões biocompatíveis e não tóxicos.

Na perspectiva do presente trabalho, as propriedades mais importantes dos PAFs são a temperatura de fusão, temperatura de decomposição, a solubilidade em água e fluidos biológicos, propriedades termofísicas como a viscosidade e a difusão, e finalmente a partição em sistemas com compostos orgânicos ou micelas. O objectivo geral desta dissertação consiste em avaliar os efeitos nas propriedades dos PAFs quando estes são modificados e transformados em líquidos iónicos, nomeadamente e com mais ênfase avaliar o aumento da solubilidade em água e em fluidos biológicos, estudar os coeficientes de partição octanol – água, e as vantagens de existirem PAFs formulados como LIs com propriedades tensioactivas e respectiva determinação da concentração micelar crítica (CMC).

1.2.2. Objectivos Específicos

Compreender:

- A evolução dos LIs e a classificação destes em três gerações, das quais faz parte a geração dos LIs baseados em princípios activos farmacêuticos, líquidos iónicos biologicamente activos;

- A estrutura química dos LIs baseados em PAFs e a sua relação com as propriedades termodinâmicas, como por exemplo, a solubilidade em água/fluidos biológicos;
- A nova formulação de PAFs na forma de líquido iónico e comparar com o PAF tradicional relativamente às propriedades termofísicas, solubilidade em água, solubilidade em fluidos biológicos e biodisponibilidade;
- O efeito da temperatura, solventes, pH da solução, e das diferentes polaridades do soluto/solvente sobre a solubilidade dos PAFs de partida e comparação com a solubilidade dos LI-PAFs;
- A importância da determinação dos coeficientes de partição octanol – água nestes sistemas, e comparação entre a nova formulação de PAFs na forma de LI e os PAFs de partida;
- A importância da existência de LIs baseados em PAFs constituídos por catiões ou aniões que apresentem propriedades tensioactivas, e a sua aplicação em fármacos e entrega de fármacos.

1.2.3. Fases do Trabalho

Numa primeira fase do trabalho procedeu-se a uma análise dos dados presentes na bibliografia, nomeadamente dos valores de solubilidade de PAFs comerciais em água a 25 °C, uma vez que o objectivo do trabalho inclui a comparação das propriedades dos PAFs tradicionais e dos PAFs formulados como LIs.

Implementou-se um método de síntese de permuta aniónica para a preparação de LIs biologicamente activos, composto por dois passos de reacção. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de protão ^1H e de carbono ^{13}C , a fim de se verificar as purezas destes e confirmar as estruturas. O teor de água foi quantificado por titulação de *Karl Fisher*. Posteriormente, foram realizados estudos de caracterização térmica, através das técnicas de DSC e TGA, uma vez que a temperatura de fusão, de transição vítrea e de decomposição são propriedades importantes neste estudo.

Seguidamente, e após implementação de um método de determinação de solubilidades através de quantificação por espectroscopia UV-vis, procedeu-se à determinação das solubilidades dos PAFs

em água a 25 °C e a 37 °C (temperatura corporal). Adicionalmente, foram realizados ensaios em fluidos biológicos em condições fisiológicas, através da utilização de uma solução isotónica tamponada, de uma solução de fluido intestinal simulado e de fluido gástrico simulado, uma vez que são estes os principais locais onde estes princípios activos actuam.

Numa terceira fase, foram realizados ensaios para a determinação de concentrações micelares críticas (CMC's) dos líquidos iónicos farmacêuticos que contêm na sua constituição aniões ou catiões com propriedades tensioactivas, nomeadamente o cetilpiridínio, alquat, fosfónio e docusato. Foram ainda realizados ensaios de determinação dos coeficientes de partição em octanol – água (Kow's), de forma a poder-se estabelecer uma comparação entre os Kow's e os valores de solubilidade obtidos e inferir sobre a capacidade destes compostos atravessarem as membranas biológicas.

Por último, procedeu-se a uma análise de todos os valores adquiridos, comparando os valores de solubilidades obtidos para os PAFs na forma ácida e na forma de LIs, concluindo sobre a influência das estruturas químicas dos catiões utilizados. Analisaram-se ainda os resultados obtidos para os valores de CMC's e dos Kow's, e foi efectuada uma breve conclusão acerca do efeito e da importância da formulação de PAFs na forma de líquidos iónicos.

1.3. Conteúdo da Dissertação

Tendo em vista a concretização dos objectivos propostos, esta dissertação encontra-se dividida em 5 capítulos.

Capítulo 1 – Introdução Geral é apresentado um enquadramento temático desta dissertação, começando por ser fazer uma breve introdução aos problemas recorrentes que os PAFs apresentam e a forma como a utilização de líquidos iónicos pode minimizar estes problemas, dando encadeamento ao título desta dissertação. Em seguida descrevem-se os objectivos e fases do trabalho, e ainda numa terceira parte é indicada a forma como esta dissertação se encontra organizada e dividida por capítulos.

Capítulo 2 – Fundamentos são apresentados os principais conceitos teóricos necessários ao desenvolvimento deste trabalho. Inicia-se o capítulo com a definição de algumas propriedades dos princípios activos farmacêuticos, de seguida é introduzido o problema da formulação de PAFs na indústria farmacêutica, seguida de uma descrição das técnicas vulgarmente utilizadas para aumentar a solubilidade de fármacos, através da modificação das suas características físico-químicas. Posteriormente, são indicados os problemas recorrentes da formulação de PAFs no estado sólido e as suas implicações na indústria farmacêutica. Por fim e para encerrar o capítulo, são inseridos neste contexto e como alternativa aos PAFs no estado sólido, a utilização de LIs baseados em princípios activos farmacêuticos, onde são descritas as vantagens promissoras que esta família de compostos apresenta nesta área.

Capítulo 3 – Secção Experimental é realizada uma descrição dos materiais utilizados, nomeadamente reagentes e equipamentos e ainda, é efectuada uma descrição detalhada dos métodos/procedimentos utilizados ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Capítulo 4 – Análise dos Resultados são apresentados todos os resultados obtidos através das diferentes metodologias em que foi baseado este trabalho, sendo discutidos os mesmos.

Capítulo 5 – Conclusões é realizada uma pequena síntese de todos os conceitos abordados ao longo do trabalho, são retidas as conclusões mais relevantes do trabalho desenvolvido e ainda debatidos os possíveis desenvolvimentos futuros.

Capítulo 2

2. Fundamentos

2.1. Princípios activos farmacêuticos – PAFs

De acordo com a farmacopeia europeia, princípio activo farmacêutico (PAF) designa uma substância química conhecida, com estrutura química definida, que apresenta propriedades e acções farmacológicas. Assim, PAF é uma substância química que interage com uma parte do organismo com fim terapêutico, de forma a alterar um processo bioquímico ou fisiológico já existente (7).

A legislação portuguesa define medicamento ou fármaco como uma substância ou um conjunto de substâncias que apresentam propriedades terapêuticas e profiláticas de doenças ou de sintomas em seres humanos, ou que possam vir a ser administrados a fim de estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma acção farmacológica, imunológica ou metabólica, de forma a corrigir ou modificar funções fisiológicas (8). Os medicamentos podem apresentar-se em diversas formas farmacêuticas, como por exemplo comprimidos, cápsulas, soluções, géis, pomadas, cremes, supositórios, entre outros.

Na última década, o mercado mundial farmacêutico tem vindo a expandir-se a uma taxa média anual de 9,1 %, com cerca de 706,596 milhões de euros em vendas no ano de 2011. No entanto, é previsível que os custos e o tempo associados à investigação e desenvolvimento (I&D) de novos fármacos venham a aumentar no futuro. Actualmente, a I&D apresenta custos máximos de cerca de 1,15 biliões de euros por um único fármaco, enquanto que o número de novos fármacos aprovados pelas autoridades reguladoras (p.e. a *Food and Drug Administration* – FDA) tem vindo a diminuir (9). Os factores que contribuem para o alto custo e baixa produção dos PAFs são (9) a diminuição do número de potenciais fármacos, os crescentes custos de I&D devido a exames clínicos mais complexos, o desenvolvimento de novas tecnologias e ainda a redução da vida comercial de fármacos patenteados, devido a ensaios clínicos complexos e morosos (9).

Para efectuar o desenvolvimento de novos fármacos eficientes é necessário possuir uma compreensão profunda acerca das suas características, nomeadamente o seu comportamento de dissolução no organismo, as transformações físicas que podem sofrer quando administrados nos diferentes tecidos biológicos e as quantidades mínimas necessárias a serem administradas para se atingir o resultado desejado (10). A reduzida solubilidade em sistemas aquosos e biodisponibilidade são problemas recorrentes no desenvolvimento de novos princípios activos farmacêuticos (11).

Biodisponibilidade de um PAF é definida como a fracção de uma dose administrada de princípio activo farmacêutico que é absorvida, atinge a circulação sistémica e se torna disponível no local de acção. Uma porção do fármaco acaba por ser eliminada devido aos processos de ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) no organismo (12). A biodisponibilidade de um fármaco é uma propriedade complexa que depende de vários factores, sendo os principais a sua solubilidade em meios aquosos e a capacidade para atravessar as membranas lipofílicas (13). Esta

problemática coloca um desafio maior à indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que cerca de 40 % das substâncias activas identificadas são insolúveis ou apresentam reduzida solubilidade em água (14), necessitando de modificações físico-químicas ou da aplicação de tecnologias de formulação para superar a baixa solubilidade (9; 11).

2.2. Solubilidade de PAFs

A biodisponibilidade de um fármaco encontra-se intimamente ligada à sua solubilidade em água, uma vez que uma solubilidade reduzida implica uma biodisponibilidade reduzida. Assim, na primeira fase de desenvolvimento de PAFs, a determinação da solubilidade do composto sintetizado é de extrema importância. Os princípios activos farmacêuticos podem ser classificados em termos da sua solubilidade em água como descrito na Figura 2.1.

Tabela 2.1 – Classificação dos PAFs em termos de solubilidade (15).

Solubilidade (mg/mL)	Classificação
< 20	Baixa – Problemas de solubilidade
20 - 65	Moderada
> 65	Elevada – Sem problemas de solubilidade

Normalmente, apenas PAFs com solubilidade superior a 65 mg/mL são aprovados para passar para a fase seguinte de avaliação das outras propriedades necessárias para a sua aprovação e disponibilidade no mercado. Os PAFs que apresentam uma solubilidade inferior a 20 mg/mL são geralmente reprovados nos ensaios clínicos. Os casos intermédios são normalmente reavaliados do ponto de vista de síntese química.

Além da classificação apresentada na Tabela 2.1, os fármacos podem ser classificados em quatro categorias, de acordo com o *Biopharmaceutics Classification System* (BCS), dependendo da sua solubilidade e da permeabilidade, como indicado na Figura 2.1. A permeabilidade é definida como o grau de absorção intestinal (fracção de dose absorvida) de uma substância activa de um fármaco, em seres humanos ou em ensaios da taxa de transferência de massa através da mucosa intestinal. Segundo o BCS, este classifica um fármaco como altamente permeável quando a fracção de dose absorvida é igual ou superior a 90 % (16).

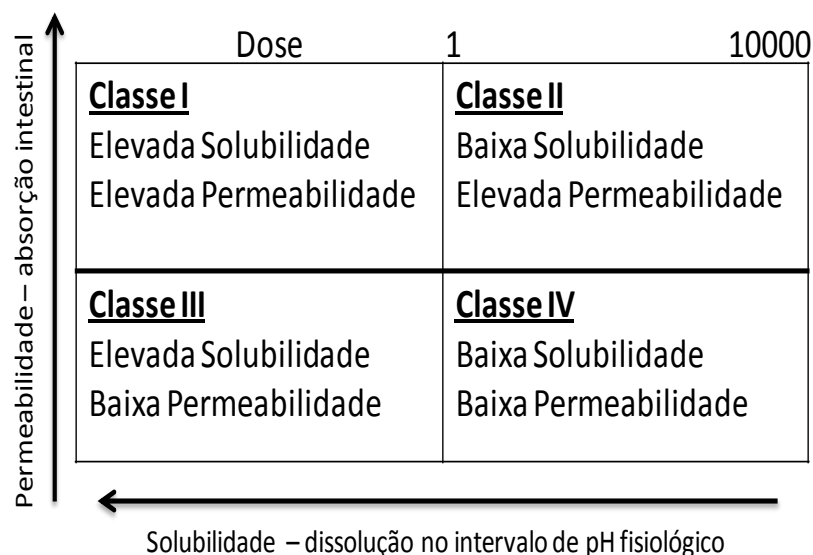


Figura 2.1 – Classificação dos fármacos pelo BCS em quatro categorias de acordo com a sua solubilidade e permeabilidade (15).

Neste sistema, a solubilidade é normalmente avaliada recorrendo à definição de número de dose (Dose), estabelecido como a razão entre a maior dosagem de fármaco administrado num determinado volume (normalmente considerando 250 mL, que corresponde a um copo de água) e a solubilidade de saturação que o fármaco apresenta em água, ambos medidos em mg/mL. Quando Dose apresenta um valor menor que 1 significa que o fármaco é altamente solúvel, enquanto que Dose superior a 1 indica que o composto tem baixa solubilidade. De uma forma mais simples, Dose indica o número de copos de água que seriam necessários para dissolver o PAF na sua dosagem mais elevada. Por outro lado, a permeabilidade é avaliada através da partição do princípio activo na sua forma neutra entre octanol e água. Existe uma referência padrão utilizada para definir o limite entre uma permeabilidade reduzida ou elevada sendo o coeficiente de partição octanol – água ($\log P$) do metoprolol, que apresenta um valor de $\log P$ de 1,72. Os compostos que apresentem um valor superior ao de referência ($\log P > 1,72$) são classificados como altamente permeáveis, devido ao metoprolol ser 95 % absorvido no tracto gastrointestinal (15).

As técnicas desenvolvidas para o aumento da solubilidade de princípios activos farmacêuticos baseiam-se em alterações das suas propriedades físico-químicas e encontram-se normalmente divididas em duas classes, modificações químicas e modificações físicas, dentre as quais fazem parte a modificação de formas cristalinas, a dispersão de fármacos em transportadores (misturas eutécticas, dispersões sólidas, soluções sólidas), a formação de complexos através da utilização de agentes quelantes, a solubilização através de surfactantes (microemulsões) e a redução do tamanho das partículas (17). De entre estas técnicas destacam-se utilização de microemulsões, co-solventes, partículas de tamanho reduzido, que se encontram detalhadas seguidamente.

2.2.1. Microemulsões

As microemulsões são misturas contendo duas fases líquidas imiscíveis (uma hidrofílica e outra hidrofóbica) e um agente tensioactivo. Em contraste com as emulsões, que são cineticamente estáveis mas termodinamicamente instáveis, as microemulsões são termodinamicamente estáveis, não necessitando de utilização de quantidade grande de energia ou de outras condições para a sua formação. Apesar de serem designadas por microemulsões, as gotas da fase dispersa em microemulsões apresentam dimensões na ordem de ~ 10 nm (18; 19).

As microemulsões são utilizadas para solubilização e transporte de fármacos praticamente insolúveis em água, ou seja, com solubilidade inferior a 0,1 mg/mL (20). Este método de solubilização é moderadamente ajustável, pois pode ser utilizada uma grande variedade de agentes tensioactivos para se obter o nível desejado de solubilidade. Um inconveniente das microemulsões é a elevada concentração de tensioactivo, não permitindo sua administração intravenosa (12; 21).

Um outro tipo de emulsão utilizada para aumentar a solubilidade de um fármaco em água é o sistema auto-emulsionante de entrega de fármacos ou SEDDS (*Self-Emulsifying Drug Delivery Systems*) (22). Neste método, para além de duas fases líquidas imiscíveis e um tensioactivo, adiciona-se ainda um co-tensioactivo e um co-solvente, dando origem a uma solução transparente isotrópica na ausência de água, o que permite a formação de uma emulsão *in situ* no tracto gastrointestinal. Este método é muito utilizado para aumentar a dissolução de um fármaco lipofílico e a absorção no tracto gastrointestinal (23). Da mesma forma que as microemulsões, a elevada percentagem de surfactante usada nesta metodologia (30 - 60 %) pode originar uma instabilidade química e irritar o tracto gastrointestinal, se for utilizado a longo prazo.

2.2.2. Co-Solventes

Outra forma de aumentar a solubilidade em água de um fármaco pouco solúvel é a adição de um solvente miscível com a água (co-solvente) e no qual o fármaco tenha uma boa solubilidade (24). Historicamente, esta é uma das técnicas mais utilizadas porque é simples de produzir e avaliar, e ainda pode ser utilizada em formulações de sólidos e líquidos. Exemplos de co-solventes são o propilenoglicol (propano-1,2-diol) e o etanol (12; 20).

A escolha do co-solvente pode influenciar a estabilidade química e a constante de dissociação do fármaco, bem como a viscosidade e tensão superficial da solução. A alteração destas propriedades pode ter um efeito notório sobre a biodisponibilidade do fármaco em questão (12; 24; 25).

2.2.3. Partículas de tamanho reduzido

O tamanho da partícula do fármaco está directamente relacionado com a velocidade de dissolução deste, uma vez que quanto menor for a partícula, maior será a área de superfície, e uma maior área de superfície permite uma maior interacção com o solvente, resultando numa maior dissolução do fármaco (20; 26). No desenvolvimento de fármacos é usual estudar-se a solubilidade de um fármaco a um tempo definido, mimetizando o tempo disponível para absorção no organismo. Desta forma, pode-se afirmar que a solubilidade de um fármaco a um determinado intervalo de tempo está relacionada com o tamanho da partícula apresentada.

Os métodos convencionais utilizados para reduzir o tamanho das partículas dos fármacos são geralmente a moagem ou trituração e a secagem por atomização (12). Um dos inconvenientes da utilização destes métodos é a geração de grandes quantidades de calor, aumentando a temperatura, o que pode ocasionar a decomposição de fármacos termosensíveis ou instáveis. Adicionalmente, verificou-se que estes métodos eram incapazes de reduzir o tamanho das partículas de muitos dos fármacos insolúveis (20; 26).

Para além dos métodos convencionais, novos métodos alternativos têm sido desenvolvidos para os PAFs muito insolúveis, nomeadamente as nano-suspensões e a microionização. As nano-suspensões consistem na combinação do fármaco insolúvel com um determinado agente tensoactivo, que origina uma dispersão coloidal à escala nano. A microionização é realizada por utilização de moinhos de jacto para aumentar a área superficial. A técnica de microionização não é adequada para fármacos que apresentem uma Dose elevada pois não existe modificação química do fármaco, não alterando a sua solubilidade de saturação. No entanto, esta técnica melhora a absorção digestiva e, consequentemente, a sua biodisponibilidade e eficácia clínica (9; 20; 27).

2.3. Balanço Lipofílico-Hidrofílico

O carácter lipofílico dos fármacos encontra-se directamente relacionado com as suas taxas de absorção e distribuição no organismo, sendo por isso um factor de extrema importância do desenho de novos PAFs. Os fármacos quando são veiculados no organismo, antes de exercerem qualquer efeito terapêutico necessitam primeiro de passar as várias barreiras celulares que existem no organismo, quer por difusão passiva, quer mediada por transportadores. As barreiras que os fármacos têm de ultrapassar até conseguirem atingir o local de acção podem ser físicas (como as membranas), físico-químicas (como a solubilidade e o pH do meio) ou bioquímicas (metabolismo), como esquematizado na Figura 2.2. Cada barreira atenua a quantidade de fármaco que chegará ao local de acção (28).

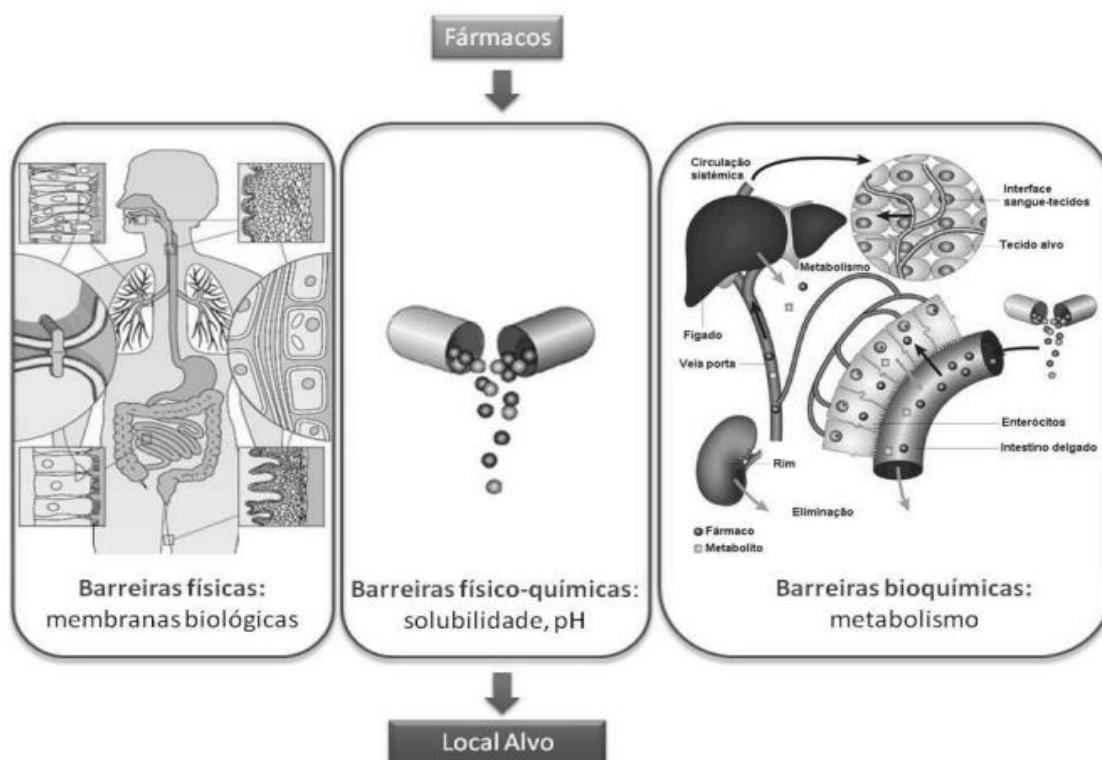


Figura 2.2 - Esquema descritivo das barreiras que os fármacos necessitam de atravessar até atingirem o local de acção terapêutica (28).

Deste modo, é necessário o estudo da afinidade das moléculas que constituem o fármaco para o ambiente lipofílico com que se irá deparar e a presença de diferentes pHs dos locais de absorção, de forma a este apresentar uma capacidade de interagir com o alvo biológico (29). Vários modelos têm sido utilizados para descrever a lipofilicidade de PAFs, ou melhor, o balanço entre o hidrofiliicidade de fármaco, essencial para a sua solubilização, e a lipofilicidade, promovendo a absorção através da membrana celular. O mais simples e também o mais utilizado destes modelos é a partição em n-octanol – água (Kow's) (30), onde o octanol mimetiza de forma simplista as membranas fosfolipídicas. Este parâmetro é definido como a razão entre as concentrações de um PAF, numa mistura de bifásica de octanol e água, em equilíbrio (31) e é descrita pela equação (2.1),

$$K_{o/w} = \frac{[soluto]_o}{[soluto]_w} \quad (2.1)$$

onde $[soluto]_o$ e $[soluto]_w$ são a concentração de soluto na fase rica em octanol e na fase rica em água, respectivamente (32). Os Kow's podem ser correlacionados com as características farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos PAFs. Compostos que possuam um elevado coeficiente de partição octanol – água são preferencialmente distribuídos em compartimentos hidrofóbicos, como as bicamadas lipídicas da células, enquanto que compostos que apresentam baixos coeficientes de partição octanol –

água encontram-se preferencialmente distribuídos em compartimentos hidrofílicos, como o soro do sangue (33).

A determinação experimental dos Kow's é bastante complexa devido à formação de emulsões, por solubilização de pequenas quantidades de octanol na fase aquosa. Os métodos experimentais mais utilizados na determinação de Kow's dividem-se em métodos directos, como o método de “*shake flask*” e da agitação lenta, ou indirectos, como o método de gerador de coluna (GC), o método de cromatografia líquida de fase reversa de alta eficiência (RP-HPLC) e de camada fina (RP-TLC) (34). O método recomendado pelas normas OCDE na determinação de Kow's é o da agitação lenta para evitar a formação de emulsões e permitir a medição rigorosa do Kow. No entanto, em muitos casos, a utilização cuidada do método de “*shake flask*” conduz a resultados semelhantes, sendo mais expedito. Ambos estes métodos podem ser utilizado para determinar Kow's numa vasta gama de valores e são aplicáveis à maioria dos compostos (35).

2.4. Princípios activos farmacêuticos no estado sólido

Mais de 50 % dos fármacos que se encontram no mercado são vendidos na forma de sais orgânicos (36; 37). A salificação (isto é, a formação de um sal) de um princípio activo farmacêutico é um passo crucial no desenvolvimento de novos fármacos, pois esta técnica tem normalmente um grande impacto sobre as propriedades do PAF, incluindo solubilidade, taxa de dissolução, higroscopicidade e estabilidade. Os iões mais frequentemente utilizados em sais farmacêuticos aprovados pelas autoridades reguladoras são o catião sódio e o anião cloreto (38).

A indústria farmacêutica desenvolve sobretudo PAFs em formas sólidas, principalmente por razões de pureza, estabilidade térmica, fabrico, e também facilidade de manuseamento (39). No entanto, os problemas associados com a forma farmacêutica no estado sólido de muitos fármacos continuam a existir, nomeadamente problemas relacionados com a formação de polimorfismos, baixa solubilidade, baixa biodisponibilidade e cristalização espontânea de formas amorfas (38; 40; 41).

Os princípios activos farmacêuticos podem existir em diferentes formas sólidas, tais como polimorfos, solvatos/hidratos, sais, co-cristais e sólidos amorfos, como apresentado na Figura 2.13. Geralmente, cada forma farmacêutica apresenta características específicas, nomeadamente propriedades químicas, físicas, mecânicas e térmicas, que influenciam a solubilidade, taxa de dissolução, biodisponibilidade, higroscopicidade, ponto de fusão, estabilidade, entre outras propriedades do fármaco (36).

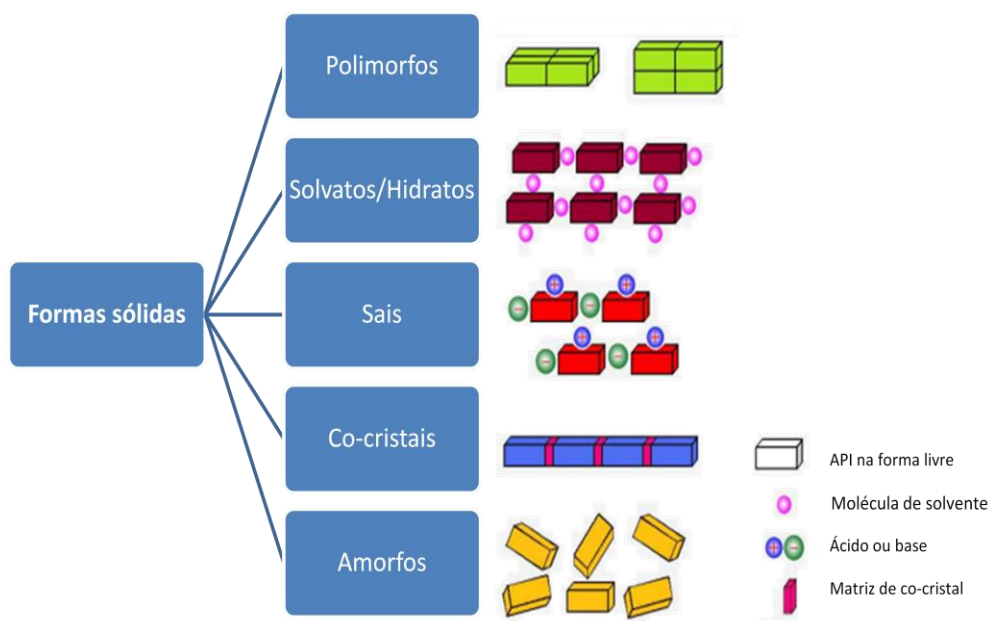


Figura 2.3 – Diferentes formas sólidas apresentadas por princípios activos farmacêuticos (36).

As moléculas que constituem os fármacos são geralmente compostas por múltiplos grupos funcionais com estruturas químicas complexas, que podem existir em várias conformações (39). O empacotamento molecular ocasiona a formação de vários conformémeros, como polimorfos, co-cristais ou solvatos. Cada composto novo, criado a partir das diferentes conformações apresentarão propriedades físicas, químicas, mecânicas e biofarmacêuticas únicas (39; 42).

2.4.1. Desvantagens de PAFs no estado sólido

Como discutido anteriormente, uma pequena diferença na estrutura dos PAFs pode alterar as suas propriedades, tais como o ponto de fusão, a solubilidade, a densidade, a sua forma, a velocidade de dissolução, entre outras, o que provoca uma alteração nas propriedades biológicas dos compostos activos farmacêuticos (39). Os sólidos orgânicos moleculares são classificados em amorfos e cristalinos, onde estes últimos se subdividem em polimorfos, solvatos e hidratos (43). Aproximadamente 50 % dos princípios activos farmacêuticos conhecidos são polimorfos, 27 % hidratos e 13 % solvatos (39; 44).

Infelizmente, a detecção de uma nova estrutura cristalina de um determinado fármaco nem sempre acontece antes da sua aprovação em todos os ensaios clínicos pelas autoridades reguladoras. Um exemplo desta problemática é o princípio activo farmacêutico ritonavir (comercializado sob o nome de Norvir™) (45). Este fármaco foi desenvolvido pela *Abbott Laboratories* e foi comercializado em 1996, sob duas formas farmacêuticas, uma líquida e uma sólida. Ao longo dos ensaios clínicos, apenas um tipo de ritonavir cristalino foi identificado. No entanto, após 240 lotes de sucesso de

ritonavir, verificou-se que este PAF podia converter-se em outra forma polimórfica durante o processo de fabrico. Esta nova forma polimórfica detectada demonstrou ser menos solúvel e, portanto apresentar uma biodisponibilidade muito menor em relação ao ritonavir inicial. Perante estes desenvolvimentos a *Abbott Laboratories* decidiu terminar com o fabrico do fármaco Norvir™ e recolheu todos os produtos existentes no mercado (45; 46).

Existe uma série de factores que podem influenciar a alteração da estrutura de cristalização de um fármaco, como a temperatura, o solvente, a agitação, o pH da solução, as impurezas, a concentração de saturação, entre outros (47). A variação da temperatura altera as interacções intermoleculares, a solubilidade e a frequência de colisão entre as moléculas do fármaco, sendo este último um dos factores predominantes na nucleação, crescimento e transformação de polimorfos (48). Os vários problemas associados à formulação de PAFs no estado sólido dificultam o isolamento, o fabrico e a acção terapêutica destes compostos. Deste modo, torna-se necessária a implementação de novas estratégias. Desenvolvimentos recentes indicam que PAFs conhecidos podem ser convertidos em sais líquidos à temperatura ambiente. Estes novos compostos evitam naturalmente os problemas associados ao estado sólido (38) e possuem ainda propriedades únicas, como por exemplo, solubilidades e taxas de dissolução melhoradas, que têm um impacto directo sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica do fármaco. A produção de um sal líquido à temperatura ambiente, ou com um ponto de fusão baixo quando comparado com fármacos convencionais, está relacionada com a escolha criteriosa do contra-íão (49; 50). Estes sais líquidos representam uma nova estratégia de veiculação de PAFs, pois visam simultaneamente solucionar as questões relacionadas com o estado sólido e desenhar um vasto conjunto de novas propriedades.

2.5. Líquidos iónicos

Os líquidos iónicos (LIs) são convencionalmente definidos como sais orgânicos com um ponto de fusão inferior a 100 °C (3; 51). Estes compostos são constituídos por um catião orgânico e um anião orgânico ou inorgânico. Os líquidos iónicos mais utilizados são baseados num número restrito de famílias de catiões, como imidazólio, piridínio, pirrolidínio e amónio, que se encontram ilustrados na Figura 2.4, e que são conjugados com uma enorme variedade de famílias de aniões, desde o bis(trifluorometilsulfonil)imida ([NTf₂]⁻) ao cloreto, passando por famílias de bases conjugadas de ácidos orgânicos, descritas posteriormente.

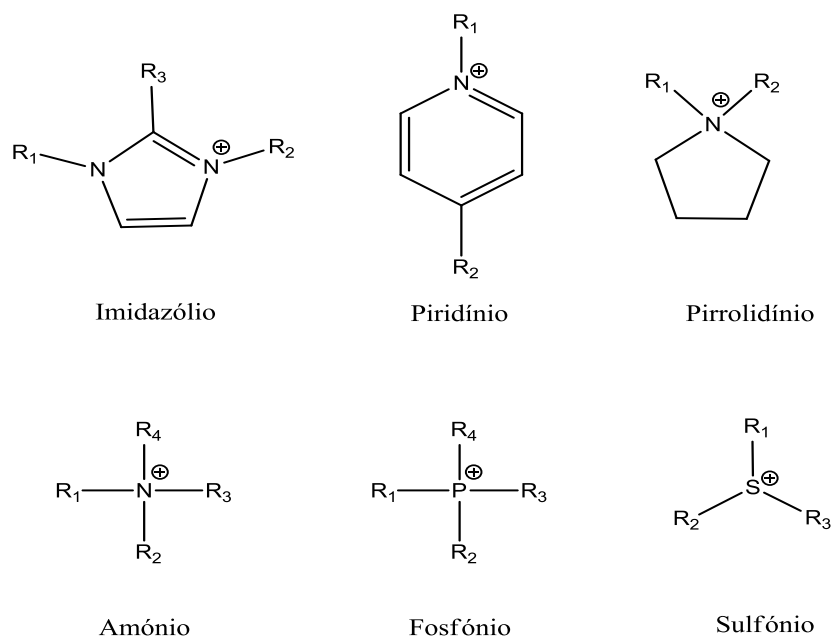


Figura 2.4 – Estruturas químicas dos catiões utilizados em LIs, adaptado de (52).

A diminuição do ponto de fusão em relação aos sais convencionais é devido à assimetria entre o catião e o anião e também de outros factores, como a distribuição de carga nos iões, a capacidade de formar ligações de hidrogénio, a simetria dos iões e também pelas interações de *Van der Waals* (53).

Cada catião pode apresentar-se de várias formas, desde mono a tetra substituído, o que significa que a estrutura e o peso molecular dos catiões é fortemente variável.

Em relação aos aniões que são geralmente utilizados para formar LIs, podem ser associados em quatro grupos distintos. O primeiro grupo diz respeito aos LIs de 1^a geração, cuja acidez pode ser variada de acordo com os sistemas utilizados e das quantidades relativas de cada componente, constituídos por AlCl₃ e sais orgânicos, como o 1-butil-3-metilimidazólio ou [C₄MIM][Cl]. Este grupo representa os líquidos iónicos ácidos de Lewis. Quando existe um excesso de sais orgânicos, são designados por LIs bases de Lewis e quando existe quantidades equimolares de sais orgânicos e de AlCl₃, estes são associados a líquidos iónicos neutros de Lewis. Este grupo de LIs apresenta a característica de serem extremamente higroscópicos, e por isso a sua manipulação só é possível sob atmosfera seca (54; 55).

O segundo grupo baseia-se em sistemas constituídos por aniões como o [PF₆]⁻, [BF₄]⁻, e [SbF₆]⁻. Este grupo apresenta a desvantagem de reagirem de forma exotérmica com ácidos fortes de Lewis, tais como AlCl₃ e água. O terceiro grupo pertence aos LIs formados por aniões como [CF₃CO₃]⁻, [(CF₃SO₂)₂N]⁻ ≈ [NTf₂]⁻, entre outros da mesma família de compostos. Este grupo é caracterizado por apresentar reacções muito estáveis, baixos pontos de fusão, baixas viscosidades e elevadas condutividades (54).

Por fim, o quarto grupo de compostos baseia-se em aniões como alquilsulfatos e alquilsulfonatos. Estes compostos não contêm na sua constituição átomos de flúor, por isso os respectivos líquidos iónicos podem ser facilmente preparados através de reacções com bases orgânicas de alquilsulfatos e alquilsulfonatos (55). Os aniões mais usuais na constituição de LIs encontram-se esquematizados na Figura 2.5.

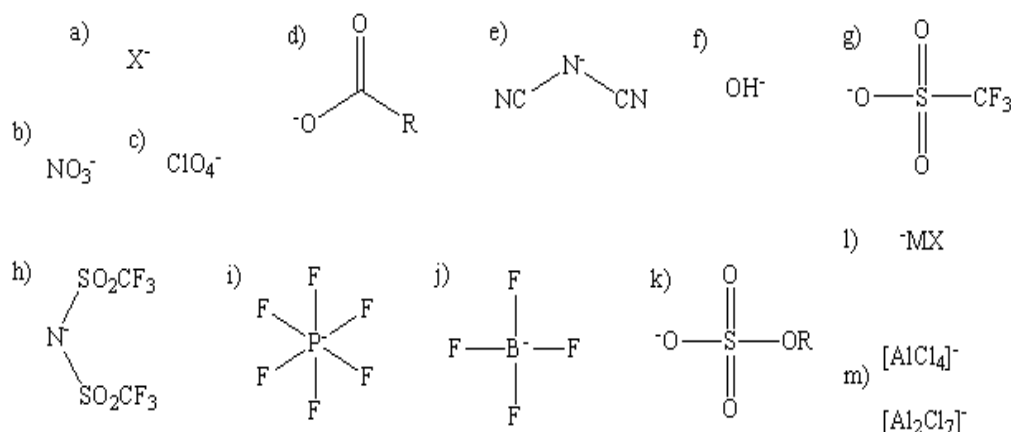


Figura 2.5 - Representação da estrutura química dos aniões utilizados nos LIs: a) haletos (Cl^- , F^- , Br^- , I^-); b) nitrato; c) clorato; d) alcanato; e) dicianamida; f) hidróxido; g) trifluorometanosulfonato; h) [bis(trifluorometil)sulfonil]imida; i) hexafluorofosfato; j) tetrafluoroborato; k) sulfato de alquil; l) haletos de metal; m) aniões cloroaluminatos.

Através das diferentes combinações de catiões e aniões, estes compostos podem apresentar inúmeras e diferentes organizações estruturais, que lhes conferem propriedades físico-químicas particulares (56; 57), como é o caso da sua reduzida pressão de vapor, baixa inflamabilidade, elevada estabilidade térmica e química, densidade e viscosidade variáveis dependentes da selecção do catião e anião, tal como uma larga gama de solubilidades em água e em solventes orgânicos comuns. Ainda a destacar o baixo ponto de fusão, sendo esta a propriedade física que os distingue dos outros sais (58).

Outra propriedade única nos líquidos iónicos é a presença de estrutura, à escala nano, no estado líquido (59). Estas propriedades advêm do facto de os líquidos iónicos apresentarem uma grande diversidade de interacções intermoleculares e coulômbicas devido à presença de iões, pontes de hidrogénio e ligações dipolo-dipolo devido à introdução de grupos funcionais polares e ligações de van der Waals devido à presença de cadeias alquílicas apolares. Quando estes tipos de interacções existem numa extensão suficientemente grande para formar um domínio, ocorre a nanosegregação (60). Esta propriedade é extremamente importante na aplicação dos líquidos iónicos como solventes, pois permite-lhes acomodar solutos com distintas propriedades, o que não acontece com solventes orgânicos.

A investigação na área científica dos líquidos iónicos tem verificado um grande crescimento nos últimos anos, como se pode verificar na Figura 2.6. Embora exista já um conjunto considerável de

líquidos iónicos razoavelmente caracterizados, o conhecimento e compreensão das propriedades químicas, físicas e biológicas dos LIs é ainda bastante limitado quando comparado com a informação existente em relação aos solventes orgânicos convencionais (61).

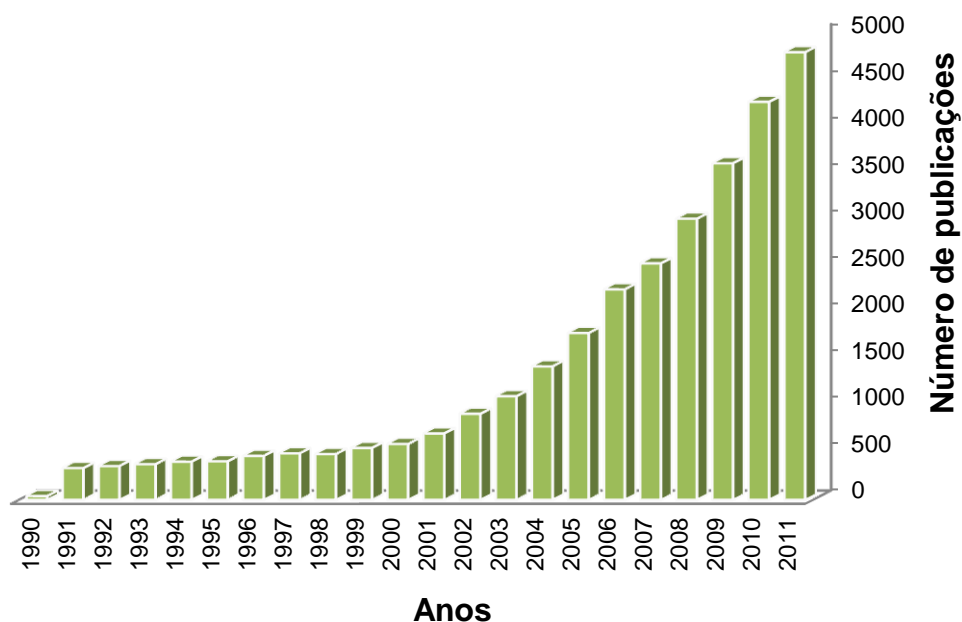


Figura 2.6 - Número de artigos publicados por ano sobre LIs (valores retirados do *Isi Web of Knowledge* no dia 24 Julho de 2012 consultado em <http://apps.webofknowledge.com>).

No entanto, devido ao elevado número de combinações de catiões e de aniões disponíveis para sintetizar líquidos iónicos (cerca de 10^6), ainda existem inúmeros componentes desta família disponíveis para estudar.

Os primeiros LIs desenvolvidos foram estudados na área da Electroquímica. Deste modo têm sido cada vez mais investigadas as aplicações dos líquidos iónicos como electrólitos para pilhas de combustível e baterias, pelo facto de possuírem uma elevada condutividade e também uma volatilidade praticamente desprezável. Estas propriedades são também utilizadas para a preparação de células fotovoltaicas e no fabrico de lubrificantes (62; 63).

Podemos ainda acrescentar que os LIs têm também a capacidade de serem utilizados em diversos processos químicos, tais como em síntese orgânica, em catálise, em extrações de metais pesados da água, na área de tratamentos de efluentes e noutras aplicações mais recentes em áreas da Química-Física, da Química Analítica e também da Biotecnologia, de forma a reduzir a quantidade de solventes orgânicos voláteis (VOS's) utilizados na indústria (61;64 – 66).

Os LIs apresentam ainda propriedades interessantes para a sua utilização biológica, como em processos de biomassa, entrega de fármacos, em produtos de higiene e cuidados pessoais, entre outros. A utilização de LIs no contexto da química verde tem ocasionado um número crescente de utilizações devido não só à sua reduzida pressão de vapor, mas também devido à possibilidade de reciclar estes

compostos em processos químicos tornando-os ambientalmente mais limpos e eficientes (67). Na Figura 2.7 encontra-se de forma resumida e agrupada, as aplicações dos LIs pelas diversas áreas (68).

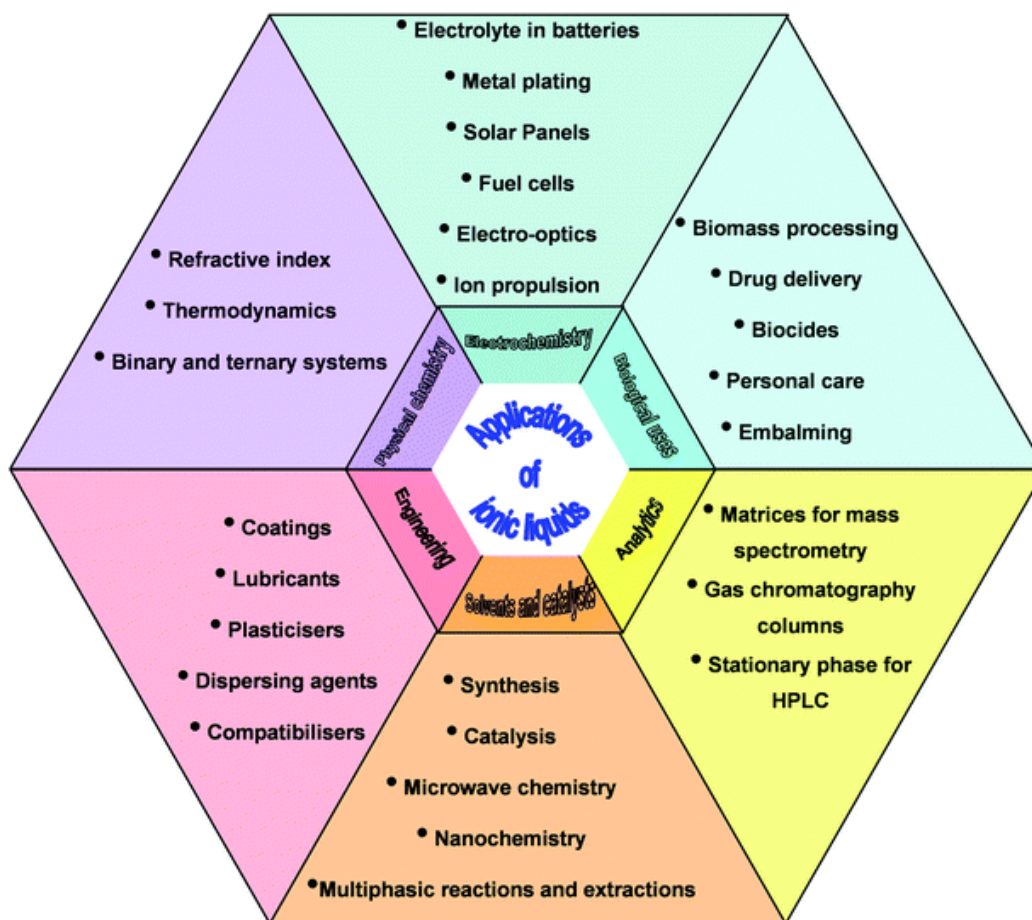


Figura 2.7- Resumo de todas as possíveis aplicações dos LIs (69).

A investigação na área dos LIs tem vindo a evoluir exponencialmente ao longo dos últimos anos, com o intuito da descoberta de propriedades ou aplicações promissoras, o que originou o desenvolvimento progressivo de três gerações de LIs (3). A primeira geração diz respeito à síntese de LIs com propriedades físicas únicas e reajustáveis, como é o caso da viscosidade, pontos de fusão, densidade, estabilidade térmica, entre outras. A segunda geração corresponde aos LIs baseados em propriedades químicas únicas que são combináveis com as propriedades físicas dos LIs de primeira geração para produção de novos materiais e processos mais sustentáveis. Por último e mais recentemente, uma terceira geração de compostos foi sintetizada, que têm como alvo potenciar as propriedades biológicas interessantes que os LIs podem exibir e que podem ser finamente manipuladas em conjunto com as propriedades químicas e físicas (3).

No contexto da 3ª geração de LIs, existem algumas propriedades que merecem especial relevo como por exemplo, a elevada estabilidade térmica dos LIs, normalmente com temperaturas de

decomposição superiores a 300 °C, o que é importante do ponto de vista da síntese química de um fármaco. Outras propriedades que são importantes nestes LIs são a densidade e a viscosidade, uma vez que influenciam a escolha de solventes para a síntese e purificação, assim como a sua solubilidade em água de uma forma geral e em fluídos biológicos de forma particular e ainda em solventes orgânicos ou lipossomas.

Normalmente, os LIs são mais densos do que a água, com valores de densidade compreendidos entre uma larga desde 1 a 1,6 g/cm³, embora existam algumas exceções em que os LIs apresentam densidades inferiores a 1 g/cm³, como é o caso de LIs baseados em catiões da família dos fosfónios (53; 55). Em relação à viscosidade, os LIs apresentam normalmente valores superiores (1 a 3 vezes) aos solventes orgânicos convencionais. Este facto pode constituir uma desvantagem em relação à utilização de LIs, uma vez que afecta processos onde o passo limitante seja a transferência de massa (53; 58), como por exemplo a solubilidade em água. No entanto, a elevada higroscopia dos LIs, mesmo dos mais hidrofóbicos, faz com que exista pequenas quantidades de água nestes, diminuindo de forma drástica a sua viscosidade e facilitando a sua aplicação.

Um dos parâmetros primordiais para aplicação da 3ª geração de líquidos iónicos é a sua solubilidade em água e meios aquosos. Normalmente os LIs são conhecidos pelas suas excelentes propriedades para uma vasta gama de substâncias orgânicas, inorgânicas, componentes organometálicos, biomoléculas e iões metálicos (55). Estas propriedades estão relacionadas com as características dos catiões e aniões que constituem o líquido iónico (69), e portanto de um variado número de forças intermoleculares, como iónicas, dipolo-dipolo, hidrogénio, forças de *van der Waals*, e interações π - π (61), como já foi atrás mencionado. Por outro lado, a solubilidade dos LIs em água e em sistemas aquosos é a propriedade mais interessante do ponto de vista da aplicação de LIs biológicos. A afinidade de um LI pela água pode variar largamente, desde compostos completamente solúveis em água até compostos completamente insolúveis em água. A solubilidade em água tem sido uma das propriedades intensamente estudada pela comunidade científica dos líquidos iónicos e pode-se neste momento afirmar que a solubilidade em água depende especificamente da natureza do anião, do tamanho da cadeia carbonada do catião e da temperatura (70).

Outro aspecto a considerar, é o facto de muitos LIs serem substâncias anfifílicas, constituídas por uma parte apolar ou hidrofóbica, que consiste geralmente numa cadeia longa de hidrocarboneto, e por uma parte polar ou hidrofílica. Este carácter duplo do anfifílico confere-lhes uma actividade superficial e uma capacidade de se auto-organizarem espontaneamente ou formarem agregados em solução aquosa, que são designados por micelas (71). Quando presente em baixas concentrações, o composto encontra-se na forma de monómero e favorece a disposição sobre a superfície, mas à medida que a concentração de surfactante aumenta, a superfície acaba por ficar saturada, e as moléculas começam a reorganizar-se na forma de micelas, como ilustrado na Figura 2.8. Esta concentração é designada por concentração micelar crítica (CMC) (72; 73).

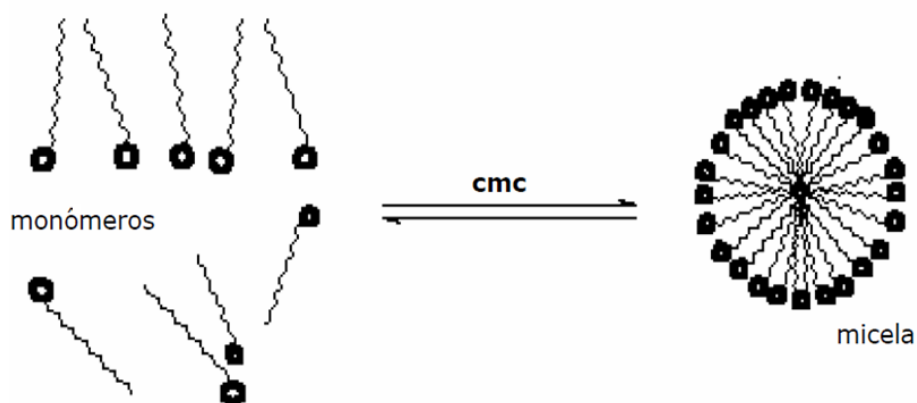


Figura 2.8 – Esquema ilustrativo da presença de monómeros em solução antes da CMC e a formação de micelas após a CMC.

O estudo de agentes tensoactivos e do seu papel na área farmacêutica é de extrema importância, especialmente no que diz respeito à sua capacidade de solubilizar fármacos hidrofóbicos, aumentando a sua biodisponibilidade. No entanto, no caso de líquidos iónicos pertencentes à terceira geração os próprios PAFs podem ter carácter anfifílico não necessitando de um agente emulsionante externo.

2.6. Líquidos iónicos como princípios activos farmacêuticos

O potencial da aplicação de LIs na formulação/processamento de PAFs é proeminente, desde a síntese de LIs biologicamente activos até à utilização de LIs como meio de concentração de PAFs, explorando também as excelentes propriedades de solvatação dos LIs.

A formulação de líquidos iónicos baseados em princípios activos farmacêuticos oferece um conjunto de novos compostos com propriedades, tais como estabilidade, solubilidade, permeabilidade e biodisponibilidade, melhoradas quando comparados com os PAFs de partida. A utilização de um PAF na forma líquida à temperatura ambiente conduz à eliminação de polimorfos associados à existência de várias formas cristalinas (3; 38; 74).

Do ponto de vista farmacêutico, a formulação de PAFs na forma de líquido iónico é bastante atractiva, pois o contra-íon pode ser seleccionado de modo a minimizar/eliminar os efeitos secundários indesejáveis, ou permitir novas terapias, como por exemplo pela aplicação de princípios activos em ambos os iões (74; 75).

A formulação de LIs como princípios activos farmacêuticos tem sido uma área pouco investigada e descrita na literatura. De acordo com o trabalho desenvolvido por *Kumar et al* (37), os LIs baseados em PAFs foram agrupados de acordo com a sua actividade biológica. Este agrupamento divide-se em duas classes, onde a actividade biológica pode resultar apenas do catião ou da

combinação de um anião activo e um catião activo. Exemplos destes compostos associados à sua acção biológica, são o caso da Piridostigmina onde apenas o catião tem propriedade farmacológica e o exemplo do Ascorbato de nicotinamida, onde tanto o catião como o anião apresentam acção terapêutica (37). Recentemente, os estudos têm-se focado essencialmente no desenvolvimento de líquidos iónicos farmacêuticos, onde tanto o anião como o catião são biologicamente activos, e são seleccionados de acordo com as propriedades físicas, químicas e biológicas desejadas (50).

Outras das abordagens que se tem verificado nesta área, assim como no trabalho desenvolvido por *Ferraz et al* (3; 51), é o desenvolvimento de métodos eficientes de síntese de líquidos iónicos baseados em princípios activos farmacêuticos, neste caso utilizou-se como PAF um fármaco da família dos antibióticos β -lactâmicos, como a ampicilina, com propriedades terapêuticas relevantes. Foi publicado também recentemente pelo autor *Stoimenovski et al*, o desenvolvimento de PAFs que foram combinados com contra iões capazes de diminuir o ponto de fusão para temperaturas inferiores à temperatura ambiente. Esta abordagem consiste no emparelhamento do ião biologicamente activo com um contra-ião que corresponde ao excipiente (38).

Neste trabalho foram estudadas propriedades de líquidos iónicos formulados com base em duas grandes famílias de princípios activos farmacêuticos: os antibióticos (β -lactamas, como a ampicilina; quinolonas, como o ácido nalidíxico; antituberculosos, como o ácido 4-aminosalicílico e o ácido pirazinóico; antibacterianos, como o ácido picolínico) e anti-inflamatórios não esteróides (ibuprofeno, naproxeno e ácido niflúmico). De acordo com a Tabela 2.1 na secção 2.2. do capítulo 2, a ampicilina apresenta um valor de solubilidade em água de 20,26 mg/mL, sendo considerada como um PAF que apresenta uma solubilidade reduzida a moderada. O ibuprofeno e o naproxeno apresentam valores de solubilidade em água e a 25 °C, de 0,020 – 0,080 mg/mL (76) e 0,042 mg/mL (77) respectivamente, podendo ser considerados como praticamente insolúveis em água, uma vez que a sua solubilidade é 250 a 1000 vezes inferior ao valor atribuído para um composto insolúvel (20 mg/mL).

Os restantes ácidos orgânicos com propriedades biológicas utilizados neste trabalho também apresentam solubilidades bastante baixas em água, como se pode verificar por consulta da Tabela 3.5 do capítulo 3. Estes princípios activos farmacêuticos foram combinados com vários catiões normalmente de baixa toxicidade, biocompatíveis e com potencial aplicação na indústria farmacêutica. As estruturas químicas dos LIs utilizados neste trabalho encontram-se ilustradas nas Figuras 2.9 e 2.10.

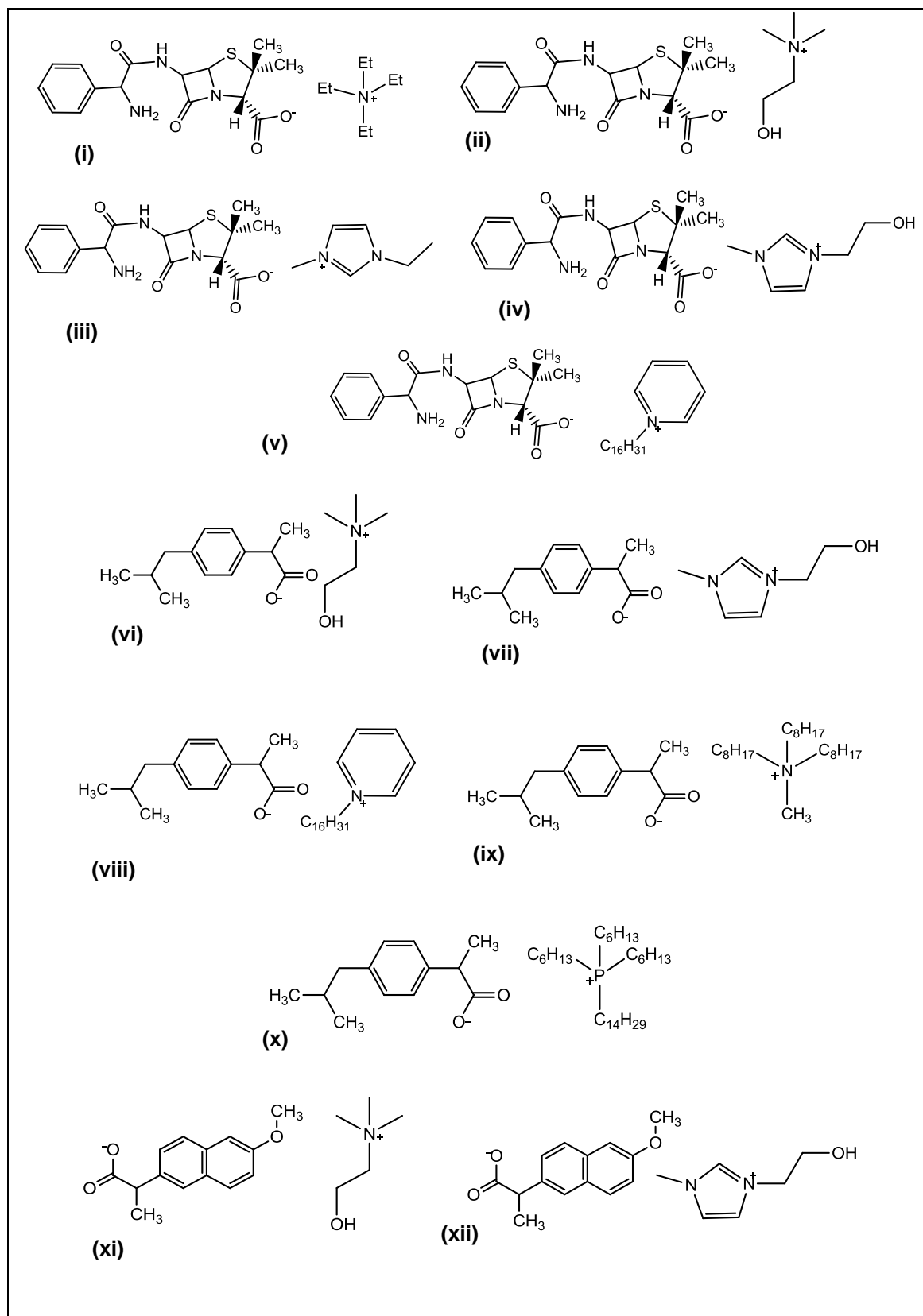


Figura 2.9 – Estrutura química e anacrônico dos LIs utilizados neste trabalho, baseados nos PAFs de Ampicilina, Ibuprofeno e Naproxeno: **(i)** [TEA][Amp]; **(ii)** [N_{1120H}][Amp]; **(iii)** [C₂MIM][Amp]; **(iv)** [OHC₂MIM][Amp]; **(v)** [C₁₆Pir][Amp]; **(vi)** [N_{1120H}][Ibu]; **(vii)** [OHC₂MIM][Ibu]; **(viii)** [C₁₆Pir][Ibu]; **(ix)** [Aliquat][Ibu]; **(x)** [P_{6,6,6,14}][Ibu]; **(xi)** [N_{1120H}][Nap]; **(xii)** [OHC₂MIM][Nap].

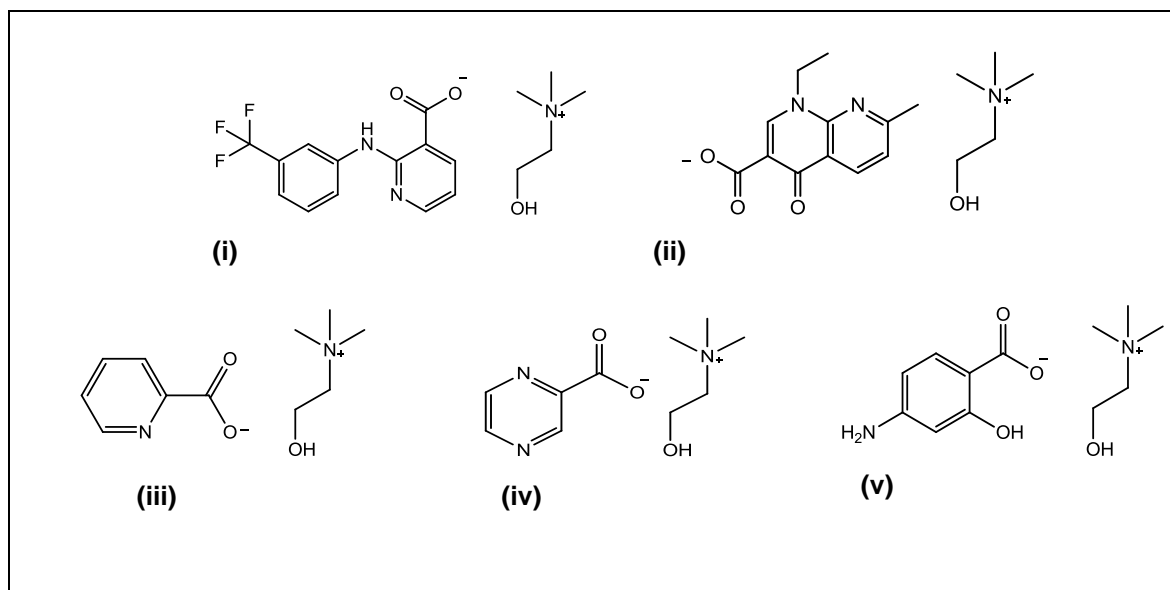


Figura 2.10 – Estrutura química e anacrônico dos LIs utilizados neste trabalho, baseados em diferentes PAFs baseados sempre no mesmo catião, a colina: **(i)** $[N_{1112OH}][Nif]$; **(ii)** $[N_{1112OH}][Nal]$; **(iii)** $[N_{1112OH}][Pic]$; **(iv)** $[N_{1112OH}][Pir]$; **(v)** $[N_{1112OH}][4\text{-aminosal}]$.

As infecções são muito usuais e são responsáveis por um grande número de doenças que afectam negativamente a saúde humana. A maioria das doenças infecciosas é causada por bactérias e podem ser prevenidas, controladas e tratadas através de antibióticos. Um antibiótico é uma substância que é capaz de controlar o crescimento ou mesmo levar à morte de outro microrganismo, como bactérias, vírus, fungos ou protozoários (78; 79). Uma das classes de antibióticos mais utilizada são os β -lactâmicos, que inclui a penicilina e os seus derivados, como a penicilina V, a penicilina G, a amoxicilina e a ampicilina. A ampicilina é um antibiótico semi-sintético e é classificado como bactericida que apresenta um largo espectro de acção (80; 81). Este tipo de antibióticos apresentam acção terapêutica sobre vários tipos de infecções como meningites, febre paratífóide, faringite bacteriana, gonorreia, pneumonias, produzidas essencialmente por bactérias gram-positivas e gram-negativas como enterococcus, E. coli e Salmonellas. A ampicilina é absorvida por via oral e parenteral, e distribui-se pelos tecidos, sendo encontrados níveis elevados no pulmão, fígado, rins e pele (82). A ampicilina é comercializada sob o nome de Ambezetal, Ampicil, Ampicilina, Amplitor, Binotal, Cilinon, Cilipen, Duampin, entre outros (83).

As quinolonas correspondem a outra classe de antibióticos, que pertencem a um vasto grupo de agentes antimicrobianos sintéticos e que podem ser facilmente manipulados, do qual faz parte o ácido nalidíxico, que foi a primeira quinolona a ser sintetizada (84). O ácido nalidíxico foi muito utilizado no tratamento de infecções do tracto urinário, provocado por bactérias gram-negativas. No entanto, veio a verificar-se uma utilização clínica muito limitada devido à alta incidência de efeitos secundários, elevada resistência bacteriana e características farmacocinéticas (85). O ácido nalidíxico é comercializado sob o nome de Nevigramon, Neggram, Wintomyon, entre outros (86).

A pirazinamida é um dos antibióticos mais utilizados e disponíveis no mercado com acção terapêutica para a tuberculose. Este tipo de doença persistente, infecciosa e letal é causada pelo vírus *Mycobacterium Tuberculosis* (87). A pirazinamida é um bioprecursor do ácido pirazinóico, que é portanto um dos seus metabolitos activos e que apresenta uma melhor penetração na parede celular das micobactérias e assim torna-se mais eficiente (88). Outro antibiótico utilizado para o tratamento da tuberculose é o ácido 4-aminosalicílico, possuindo ainda outras acções terapêuticas (89). O ácido pirazinóico é comercializado sob o nome de Pirazinamida, enquanto que o ácido 4-aminosalicílico é comercializado sob o nome de Paramino-Corazida (90).

Por fim, outro dos compostos estudados ao longo do trabalho é o ácido picolínico, que é um derivado do piridínio com a presença de um grupo ácido carboxílico na posição 2. Este é considerado um isómero do ácido nicotínico e é um catabólito do aminoácido triptofano. Este ácido actua principalmente como um agente quelante de elementos, essencial no transporte de metais como o crómio, o manganês, o zinco, o ferro, o cobre e o molibdénio (91).

Outra das famílias de compostos mais utilizados e estudados neste trabalho são os anti-inflamatórios não esteróides (AINE's). Estes compostos representam uma classe muito eficaz de fármacos, embora com efeitos secundários como complicações a nível gastrointestinal. Os anti-inflamatórios não esteróides apresentam acção terapêutica no tratamento de dor, febre e inflamação. (92). Os anti-inflamatórios não esteróides são ácidos fracos, com valores de pKa entre 3 e 5, que apresentam um elevado grau de ligação a proteínas no plasma (normalmente > 95 %) e pequenos volumes de distribuição. A maioria dos AINE's são absorvidos no estômago e na mucosa intestinal e posteriormente, metabolizados pelo fígado através de várias vias possíveis, geralmente por oxidação ou através da conjugação de metabolitos inactivos e são por fim excretados na urina (93). Os membros mais proeminentes deste grupo de fármacos são a aspirina, o ibuprofeno, o naproxeno e o ácido niflúmico, que se encontram todos disponíveis no mercado, na maioria dos países.

O ibuprofeno é um derivado do ácido propiónico, amplamente utilizado como analgésico e antipirético, apresentando também acção terapêutica no alívio sintomático da dor de cabeça, dores dentárias, dores musculares, febre, dor pós-cirúrgica e em inflamações, como as artrites. O seu nome provém das iniciais do ácido iso-butil-propinóico-fenólico (94). Este fármaco apresenta uma elevada permeabilidade através do estômago, mas devido à sua solubilidade reduzida não consegue entrar na circulação sistémica. Tal como outros AINE's, o seu mecanismo de acção relaciona-se com a inibição da síntese de prostaglandinas 1,2. Embora o ibuprofeno seja amplamente utilizado, as informações acerca das suas propriedades físico-químicas, tais como solubilidade não são abundantes (95; 96). O ibuprofeno é comercializado sob o nome de Alivium, Advil, Motrin, Buscofem entre outras (97).

O naproxeno é derivado do ácido propiónico e actua como inibidor das ciclooxigenases (COX) 1 e 2, tendo uma afinidade superior para a COX 2. Este fármaco apresenta acção analgésica, antipirética e anti-inflamatória, sendo utilizado para a redução da dor, febre, inflamação, pedras nos rins, tendinites, enxaquecas, entre outros sintomas (98; 99). Este composto é comercializado sob

vários nomes comerciais, como Anaprox, Nalgesin, Naposin, Naprelan, Naprogesic, Synflez, entre outros (100).

Por fim, o ácido niflúmico também se enquadra nos anti-inflamatórios não esteróides e é utilizado com fins terapêuticos para a dor articular e muscular. É classificado como um inibidor de COX 2 e foi também classificado como inibidor dos canais de cloro e pode ainda actuar sobre os canais de GABA-A (101). Este composto é comercializado sob o nome de Nifluril (102).

Capítulo 3

3. Secção Experimental

Neste capítulo será feita uma breve descrição dos reagentes e materiais utilizados neste trabalho, assim como, dos procedimentos experimentais utilizados na síntese de líquidos iónicos biologicamente activos, i.e. baseados em princípios activos farmacêuticos, determinação da sua solubilidade em água e soluções tampão apropriadas, tais como fluido gástrico simulado, fluido intestinal simulado e solução aquosa com força iónica isotónica, concentrações micelares críticas e dos coeficientes de partição octanol – água dos mesmos.

3.1. Materiais – Reagentes e equipamento

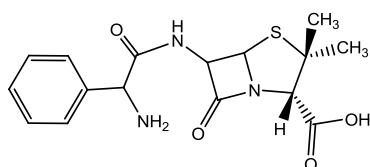
Para a realização deste trabalho foram utilizados vários PAFs na forma de ácidos, como material de partida, que posteriormente foram transformados em líquidos iónicos. No caso dos PAFs ampicilina, ibuprofeno e naproxeno, utilizaram-se diversos catiões, enquanto que no caso dos ácidos niflúmico, nalidíxico, picolínico, pirazinóico e 4-aminosalicílico utilizou-se apenas o catião colina. Em todos os casos, o PAF é introduzido como anião do líquido iónico. Este trabalho insere-se no projecto *PTDC/EQU-EPR/104554/2008* sob o tema *Líquidos iónicos como princípios activos farmacêuticos* que é uma colaboração entre a Faculdade de Ciências e Tecnologia e o Instituto de Tecnologia Química e Biológica, ambos pertencentes à Universidade Nova de Lisboa. Os líquidos iónicos baseados na ampicilina, ibuprofeno e naproxeno foram sintetizados na Faculdade de Ciências e Tecnologia, de acordo com os procedimentos estabelecidos na bibliografia (51) e fornecidos ao Instituto de Tecnologia Química e Biológica que os caracterizou e efectuou os estudos de solubilidade, partição e efeito surfactante descritos neste trabalho. Os líquidos iónicos baseados nos restantes ácidos foram inteiramente sintetizados no Instituto de Tecnologia Química e Biológica no âmbito dos trabalhos conducentes à presente dissertação.

Os ácidos utilizados foram a ampicilina (pureza 100 %), ibuprofeno (pureza 100 %), naproxeno (pureza 99,9 %), ácido nalidíxico (pureza 99,4 %), ácido niflúmico (pureza 99,0 %), ácido 4-aminosalicílico (pureza 99,7 %), ácido picolínico (pureza 98,8 %) e ácido pirazinóico (pureza 99,6 %) que foram adquiridos da Sigma Aldrich.

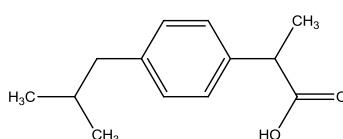
Os líquidos iónicos utilizados com base nos PAFs ampicilina, ibuprofeno e naproxeno foram obtidos através de um processo de síntese optimizado que permitiu obter os seguintes compostos com rendimentos elevados (75 % - 95 %), sendo eles $[N_{1112OH}][Amp]$; $[TEA][Amp]$; $[C_2MIM][Amp]$; $[OHC_2MIM][Amp]$; $[N_{1112OH}][Ibu]$; $[OHC_2MIM][Ibu]$; $[N_{1112OH}][Nap]$ e $[OHC_2MIM][Nap]$. Os restantes LIs formulados, que foram baseados sempre no mesmo catião e com diferentes PAF, foram sintetizados em laboratório através de um método de síntese também optimizado, composto por dois passos de reacção de resina de troca iónica, das quais se obteve os seguintes compostos com rendimentos superiores a 75 % : $[N_{1112OH}][Nal]$; $[N_{1112OH}][Nif]$; $[N_{1112OH}][4\text{-aminosal}]$; $[N_{1112OH}][Pic]$ e $[N_{1112OH}][Pir]$.

As designações e as estruturas químicas dos LIs, nomeadamente dos PAFs em estudo e dos catiões utilizados na preparação dos líquidos iónicos baseados em princípios activos farmacêuticos (LI-PAFs) encontram-se especificados na Figura 3.1 e Figura 3.2, respectivamente.

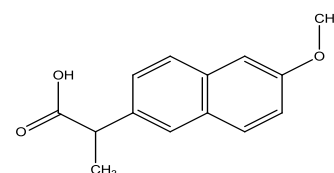
PAFs estudados



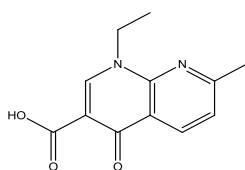
Ampicilina
(ácido (2S,5R,6R)-7-(2-amino-2-fenilacetil)amino-3,3-dimetil-6-oxo-2-tia-5-azabicyclo [3.2.0]heptano-4-carboxílico)



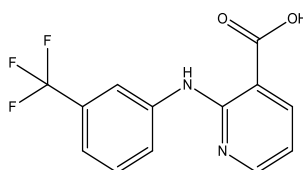
Ibuprofeno
(ácido (RS)-2-(4-(2-metilpropil)fenil)propanóico)



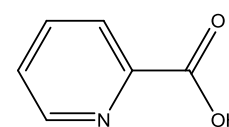
Naproxeno
(ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil)propanóico)



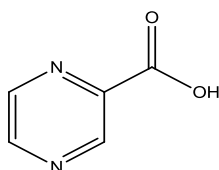
Ácido Nalidíxico
(ácido 1-etil-7-metil-4-oxo-[1,8]naftiridine-3-carboxílico)



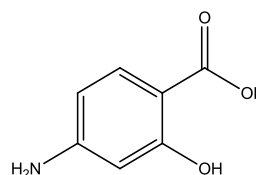
Ácido Niflúmico
(ácido 2-[3-(trifluorometil)fenil]-amino-3-piridinocarboxílico)



Ácido Picolínico
(ácido 2-piridinocarboxílico)



Ácido Pirazinóico
(ácido 2-pirazinocarboxílico)



Ácido 4-aminosalicílico
(ácido 4-amino-2-hidroxibenzóico)

Figura 3.1 – Estrutura química, abreviatura e designação IUPAC dos PAFs estudados, na forma de ácidos.

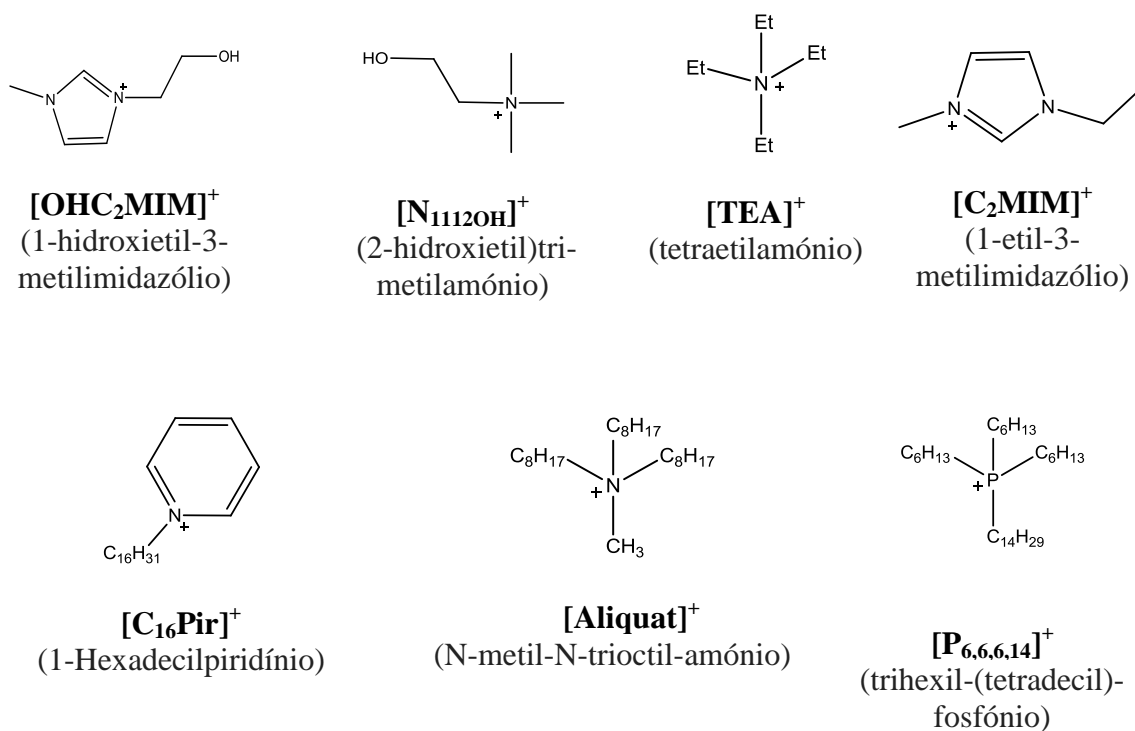


Figura 3.2 - Estrutura química, abreviatura e designação IUPAC dos catiões utilizados na síntese de líquidos iónicos.

As purezas destes líquidos iónicos sintetizados foram confirmadas por análise de RMN de protão ¹H, e de carbono ¹³C, como apresentado no anexo A, e também por análise de FTIR e de massa (ESI). Como os LIs são extremamente higroscópicos, de modo a reduzir-se o teor em água e a presença de compostos voláteis, que podem ser considerados como impurezas e afectar as propriedades dos respectivos LIs, estes foram secos em condições de vácuo constante e a uma temperatura de aproximadamente 45 °C.

Após o procedimento de secagem, o teor em água dos LIs foi determinado por Karl-Fischer (*Metrohm 831 Karl Fischer coulometer*, Figura 3.3) que foi inferior a 500 ppm, e foram ainda quantificadas as impurezas de halogenetos através de um eléctrodo de cloretos, que foi inferior a 5 ppm para todas as colinas.

Efectuou-se uma caracterização térmica dos líquidos iónicos farmacêuticos recorrendo-se às técnicas de DSC e TGA, utilizando-se para tal um aparelho *TA Instruments modelo DSC Q200 e TA Instruments modelo TGA Q50* (Figura 3.4), respectivamente.



Figura 3.3 - Karl-Fischer utilizado (*Metrohm 831 Karl Fischer coulometer*).



a)



b)

Figura 3.4 – a) TGA (*TA Instruments modelo TGA Q50*) e b) DSC (*TA Instruments modelo DSC Q200*) utilizados.

Nos ensaios de determinação das solubilidades destes LI-PAFs recorreu-se à utilização de um *Thermomixer Comfort, eppendorf* 1,5 mL (Figura 3.5) para agitação constante das amostras a temperatura constante e de uma centrífuga *Heraeus Biofuge 28RS* para obtenção de uma separação de fases eficaz. A quantificação do sobrenadante foi realizada por espectroscopia UV-vis usando um *SHIMADZU UV-1800, Pharma-Spec spectrophotometer* (Figura 3.5). Na preparação de soluções para a construção de rectas de calibração e também para os respectivos ensaios, utilizou-se água ultra pura a 25 °C, de um sistema *Millipore modelo Milli-Q elemento*. Foram também utilizadas soluções de modo a simular condições fisiológicas do corpo humano a 37 °C, nomeadamente uma solução de tampão fosfato pH=6,8, uma solução de ácido clorídrico 0.1 M (CAS: 7647-01-0) e tabletes de cloreto de sódio para a preparação de uma solução fisiológica de cloreto de sódio, que foram adquiridos da Sigma Aldrich.



Figura 3.5 – a) Termomixer (*Thermomixer Comfort, eppendorf 1,5 mL*) e b) espectrofótopmetro UV-vis (modelo *SHIMADZU UV-1800, Pharma-Spec spectrophotometer*), utilizados nos ensaios de solubilidade.



Figura 3.6 - Condutivímetro (*Radiometer Copenhagen CDM210 Conductivity Meter, Meterlab*) utilizado na determinação das concentrações micelares críticas.

O condutivímetro utilizado foi o *Radiometer Copenhagen CDM210 Conductivity Meter, Meterlab* (Figura 3.6). Este equipamento foi previamente calibrado com uma solução padrão de KCl de concentração de 0,01 D (demal) fornecida pela *Radiometer Analytical*, para várias temperaturas obtendo-se uma condutância específica de $1408,9 \pm 3,2 \mu\text{S}/\text{cm}$ para a temperatura de 25 °C, sendo esta a temperatura de estudo de todos os líquidos iónicos biologicamente activos com carácter surfactante.

3.2. Procedimento experimental

3.2.1. Síntese de LIs baseados em PAFs

Os líquidos iónicos baseados no catião colina e combinados com as bases conjugadas dos ácidos nalidíxico, niflúmico, picolínico, pirazinóico e 4-aminosalicílico, foram preparados através de dois passos de uma reacção de permuta iónica. Utiliza-se uma resina de troca aniónica (na forma OH) para estabelecer a troca do LI na forma de haleto (cloro ou brometo) para hidróxido, e posteriormente a solução básica é neutralizada pela adição de soluções do PAF na forma ácida, em proporções adequadas.

Numa primeira fase foi preparada uma solução aquosa de hidróxido de colina ($[N_{1112OH}][OH]$) através da passagem de uma solução aquosa de cloreto de colina ($[N_{1112OH}][Cl]$), de concentração 1M, por uma coluna preenchida com resina de permuta aniónica (Supelco ® AMBERLITE IRN78 da Sigma Aldrich). O produto final obteve-se através de uma reacção de titulação ácido-base, proveniente da adição gota-a-gota de uma solução equimolar de cada um dos ácidos à solução básica de hidróxido de colina. A mistura foi mantida sob agitação e arrefecimento de um banho de gelo durante 12 horas, e em seguida, a água foi evaporada sob pressão reduzida. O produto resultante foi seco sob vácuo durante um intervalo de tempo e temperatura apropriados.

3.2.2. Análises Térmicas

3.2.2.1. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para determinar a gama de temperaturas de decomposição térmica de cada LI estudado, foi realizada uma análise termogravimétrica (TGA) através da utilização de um equipamento *TA Instruments* TGA – Q50.

Nas medições de TGA foi utilizado azoto com um caudal de 60 mL/min e foram colocadas cerca de 10 mg de LI numa *pan* de alumínio com tampa e posteriormente analisada. As amostras foram aquecidas a 600 °C, a uma velocidade de 1 °C/min até ser atingida a degradação da amostra. De forma a garantir que toda a água ou solvente residual é removido do composto, o ciclo permaneceu a uma temperatura constante de 100 °C durante 30 minutos.

A temperatura de decomposição (T_{dec}) corresponde à temperatura à qual a amostra perde 50 % da sua massa, e o *software* utilizado para esta determinação foi *Universal Analysis*, versão 4.4A. A incerteza associada à temperatura foi de $\pm 0,50$ %.

3.2.2.2. Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Para determinar os pontos de fusão, as temperaturas de transição vítrea e as temperaturas de cristalização dos LIs utilizou-se um calorímetro diferencial de varrimento *TA Instruments modelo DSC Q200* com um sistema de refrigeração.

A amostra foi continuamente purgada com azoto 50 mL/min. Cerca de 5 mg de líquido iónico foi colocado numa *pan* de alumínio com tampa e posteriormente analisada. O aparelho foi calibrado com uma amostra padrão de Índio. Para cada experiência foi utilizada como referência uma *pan* sem amostra, e foram efectuadas rampas de aquecimento/arrefecimento entre 1 °C/min – 10 °C/min. Cada ciclo de arrefecimento e aquecimento foi repetido cerca de 5 vezes por processo.

3.2.3. Determinação de Solubilidades

Tal como foi descrito no capítulo 2, referente aos Fundamentos, a preparação de PAFs utilizando a plataforma sintética dos LIs tem como finalidade aumentar a sua solubilidade, e consequentemente a sua biodisponibilidade, principalmente daqueles que apresentam uma solubilidade em água muito reduzida.

As soluções dos PAFs na forma ácida foram preparadas em vials de 1,5 mL, com uma quantidade de composto inicialmente superior ao valor tabelado da sua solubilidade, de modo a saturar a solução, e seguidamente foi adicionada água *Milli-Q* ou o respectivo solvente aos vials, de modo a perfazer uma quantidade de aproximadamente 0,5 mL. Depois de preparados os vials utilizou-se um *Vortex Labnet VX-200*, de modo a homogeneizar ao máximo a solução e por fim foram colocados num termomixer a uma velocidade de 1400 rpm e a uma temperatura constante de 25 °C ou 37 °C ($\pm 0,1$ °C). As amostras foram retiradas e analisadas de forma sucessiva em intervalos de tempo crescentes pré-definidos até que os valores de solubilidade não variassem significativamente.

Antes da amostragem, cada solução foi colocada numa centrífuga *Biofuge 28 RS, Heraeus Sepatech*, durante um tempo curto (~ 5 min) para promover uma eficiente separação física das duas fases, líquida e sólida. Além disso, o sobrenadante foi filtrado, para assegurar que não existiam partículas em suspensão, antes da amostragem.

A quantificação do LI presente no sobrenadante foi efectuada através de espectroscopia de absorção na zona do UV-vis, a diferentes comprimentos de onda, de acordo com a Tabela 3.1 e 3.2, usando a recta de calibração previamente estabelecida, e listada na Tabela 3.3 e 3.4. Três amostras de cada sobrenadante foram diluídas por um factor apropriado, dependendo da solubilidade do LI-PAFs em estudo, e posteriormente quantificadas e os desvios padrão determinados.

3.2.3.1. Rectas de calibração

O método da espectroscopia de absorção UV-vis baseia-se na propriedade que muitos compostos apresentam de absorver radiação na faixa de comprimento de onda correspondente à zona ultravioleta (UV) e visível (vis). A análise das solubilidades destes solutos exige que se faça previamente uma recta de calibração do soluto correspondente.

Para as rectas de calibração prepararam-se rigorosamente em balões aferidos, soluções-mãe dos diferentes compostos em água *Milli-Q* com concentrações apropriadas e traçaram-se os espectros de absorvância no espectrofotómetro de UV-vis. Repetiu-se o mesmo procedimento para todos os compostos, nomeadamente os princípios activos na forma de ácido e os respectivos LIs, utilizando-se fluidos simulados como solventes.

Em seguida foram preparados padrões em balões aferidos ao traço por tomada de alíquotas da solução mãe dos diferentes compostos e diluídos em água *Milli-Q* ou no solvente correspondente. Registaram-se os espectros de cada um dos compostos utilizados (apresentados no anexo B) e seleccionou-se o comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção de radiação de cada composto, em cada um dos solventes, como se apresenta nas Tabelas 3.1 e 3.2.

Tabela 3.1 – Comprimentos de onda correspondentes ao máximo de absorção de radiação de cada um dos ácidos, os quais foram seleccionados para estudos posteriores.

Princípios activos farmacêuticos	Comprimento de onda máximo λ (nm)			
	H ₂ O	Solução isotónica (NaCl)	Fluido intestinal simulado (pH=6,8)	Fluido gástrico simulado (pH=1,0)
Ampicilina	257	—	—	—
Ibuprofeno	264	—	—	—
Naproxeno	330	—	—	—
Ácido nalidíxico	258	258	258	258
Ácido niflúmico	285	285	285	255
Ácido 4-aminosalicílico	266	266	266	300
Ácido pirazinóico	268	268	268	268
Ácido picolínico	264	264	264	264

Tabela 3.2 – Comprimentos de onda correspondentes aos máximos de absorção de radiação dos LIs utilizados neste estudo, os quais foram seleccionados para estudos posteriores.

Líquidos iónicos baseados em PAFs	Comprimento de onda máximo λ (nm)			
	H ₂ O	Solução isotónica (NaCl)	Fluido intestinal simulado (pH=6,8)	Fluido gástrico simulado (pH=1,0)
[N _{1112OH}][Amp]	257	—	—	—
[C ₂ MIM][Amp]	257	—	—	—
[OHC ₂ MIM][Amp]	257	—	—	—
[TEA][Amp]	257	—	—	—
[N _{1112OH}][Ibu]	264	—	—	—
[OHC ₂ MIM][Ibu]	264	—	—	—
[N _{1112OH}][Nap]	330	—	—	—
[OHC ₂ MIM][Nap]	330	—	—	—
[N _{1112OH}][Nal]	258	258	258	258
[N _{1112OH}][Nif]	285	285	285	255
[N _{1112OH}][Pir]	268	268	268	268
[N _{1112OH}][Pic]	264	264	264	264
[N _{1112OH}][4-aminosal]	266	266	266	300

Depois de seleccionado o comprimento de onda para cada composto, mediu-se a absorvância de todos os padrões ao comprimento de onda correspondente e representou-se absorvância versus concentração do composto, segundo a lei de *Lambert-Beer*, descrita pela equação (3.1),

$$A = \epsilon \cdot b \cdot [C] \quad (3.1)$$

onde A representa a absorvância, ϵ representa a absorvidade molar da substância, b indica o percurso óptico (1 cm), e [C] é a concentração do composto. Nas Figuras 3.7 e 3.8, apresenta-se um exemplo das rectas de calibração determinadas para o PAF de ampicilina na forma ácida e num dos LIs baseado neste PAF, respectivamente. Os parâmetros obtidos de cada recta de calibração para cada composto utilizado encontram-se indicados na Tabela 3.3.

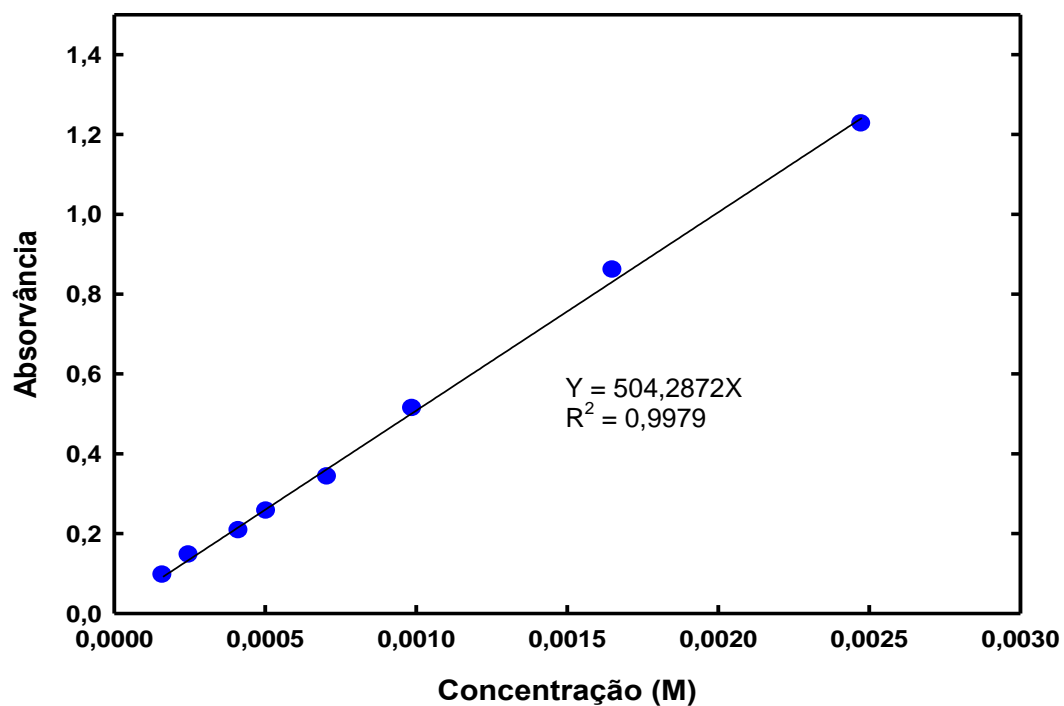


Figura 3.7 – Recta de calibração em água para o PAF ampicilina ácida.

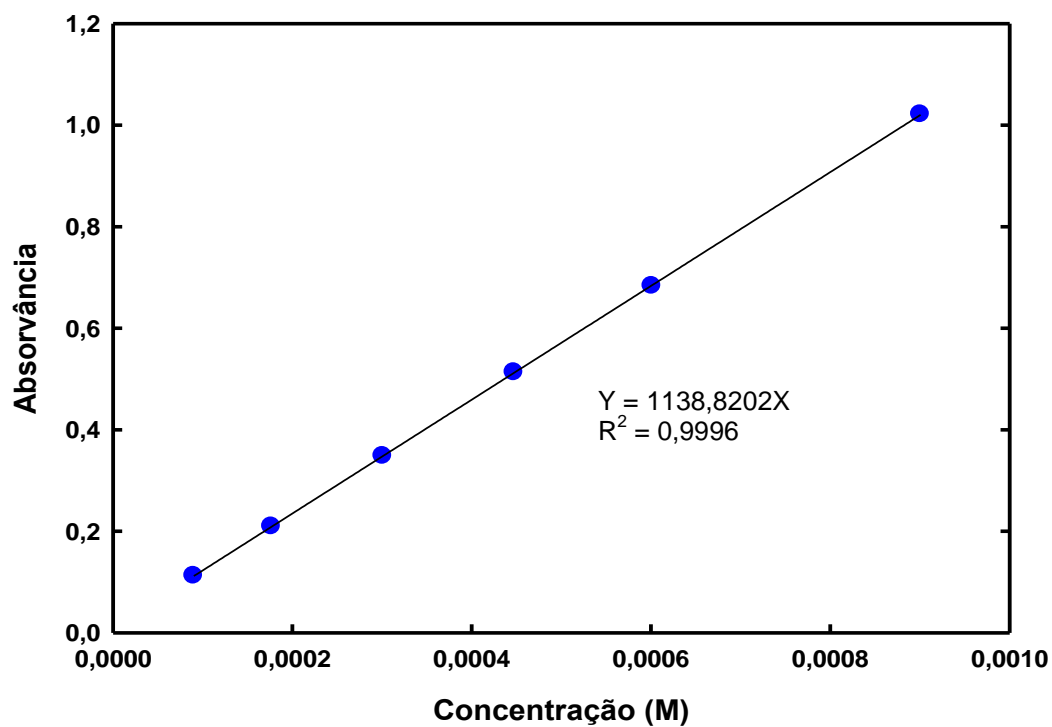


Figura 3.8 – Recta de calibração em água para o líquido iónico [TEA][Amp].

Tabela 3.3 - Parâmetros das rectas de calibração obtidas para cada um dos PAFs estudados na forma ácida.

Princípios activos farmacêuticos	Comprimento de onda máximo λ (nm)	Rectas de calibração	Coefficiente de correlação (R^2)
Ampicilina	257 (H₂O)	A = 504,2872[C]	0,9979
Ibuprofeno	264 (H₂O)	A = 344,9940[C]	0,9997
Naproxeno	330 (H₂O)	A = 1309,6360[C]	0,9994
Ácido nalidíxico	258 (H₂O)	A = 24652,0473[C]	1,0000
Ácido niflúmico	285 (H₂O)	A = 20278,5520[C]	0,9928
	285 (NaCl)	A = 8574,0983[C]	0,9966
	285 (pH=6,8)	A = 30307,0556[C]	0,9998
	255 (pH=1,0)	A = 8234,7201[C]	0,9952
Ácido pirazinóico	268 (H₂O)	A = 7561,3900[C]	0,9999
	268 (NaCl)	A = 7682,9989[C]	0,9999
	268 (pH=6,8)	A = 7499,4310[C]	0,9999
	268 (pH=1,0)	A = 8288,4322[C]	1,0000
Ácido picolínico	264 (H₂O)	A = 7010,8432[C]	0,9991
	264 (NaCl)	A = 6521,1090[C]	0,9985

	264 (pH=6,8)	A = 4177,3061[C]	0,9999
	264 (pH=1,0)	A = 7820,9934[C]	1,0000
Ácido 4-aminosalicílico	266 (H₂O)	A = 7656,5157[C]	0,9994
	266 (NaCl)	A = 7047,1633[C]	0,9996
	264 (pH=6,8)	A = 8580,5935[C]	0,9999
	300 (pH=1,0)	A = 3243,5000[C]	0,9999

Tabela 3.4 - Parâmetros das rectas de calibração obtidas para cada um dos PAFs estudados na forma de LI.

Líquidos iónicos baseados em PAF	Comprimento de onda máximo λ (nm)	Recta de calibração	Coefficiente de correlação (R^2)
[N_{1112OH}][Amp]	257 (H₂O)	A = 693,3264[C]	0,9966
[C₂MIM][Amp]	257 (H₂O)	A = 700,6498[C]	0,9988
[OHC₂MIM][Amp]	257 (H₂O)	A = 908,2485[C]	0,9997
[TEA][Amp]	257 (H₂O)	A = 1138,8202[C]	0,9996
[N_{1112OH}][Ibu]	264 (H₂O)	A = 470,5333[C]	0,9982
[OHC₂MIM][Ibu]	264 (H₂O)	A = 502,4442[C]	0,9997
[N_{1112OH}][Nap]	330 (H₂O)	A = 1680,3284[C]	0,9988
[OHC₂MIM][Nap]	330 (H₂O)	A = 1764,4634[C]	0,9980

[N_{11120H}][Nal]	258 (H₂O)	A = 22675,5636[C]	0,9998
	258 (NaCl)	A = 29972,9993[C]	0,9998
	258 (pH=6,8)	A = 28640,9053[C]	1,0000
	258 (pH=1,0)	A = 31648,8267[C]	0,9987
[N_{11120H}][Nif]	285 (H₂O)	A = 20154,3731[C]	0,9993
	285 (NaCl)	A = 17596,4395[C]	0,9987
	285 (pH=6,8)	A = 20885,7233[C]	0,9991
	255 (pH=1,0)	A = 13355,8027[C]	0,9999
[N_{11120H}][Pir]	268 (H₂O)	A = 7888,5099[C]	0,9999
	268 (NaCl)	A = 8005,1885[C]	0,9997
	268 (pH=6,8)	A = 7031,4197[C]	0,9998
	268 (pH=1,0)	A = 8459,7779[C]	0,9999
[N_{11120H}][Pic]	264 (H₂O)	A = 4719,6177[C]	0,9989
	264 (NaCl)	A = 4797,4237[C]	0,9992
	264 (pH=6,8)	A = 4187,8714[C]	1,0000
	264 (pH=1,0)	A = 7817,4042[C]	0,9995

[N_{1112OH}][4-aminosal]	264 (H₂O)	A = 11795,0320[C]	0,9992
	264 (NaCl)	A = 11844,6386[C]	0,9998
	264 (pH=6,8)	A = 11572,9499[C]	1,0000
	300 (pH=1,0)	A = 4471,4573[C]	1,0000

Validação da metodologia

De forma a determinar a solubilidade dos PAFs e dos LIs baseados em PAFs listados na Figura 2.9 e 2.10, da secção 2.6 do capítulo 2, implementou-se, como anteriormente descrito, um método baseado na quantificação por espectroscopia UV-vis, o qual foi previamente validado pela determinação da solubilidade em água a 25 °C de alguns dos PAF de partida, por comparação com os valores da bibliografia.

Determinou-se a solubilidade da ampicilina, ibuprofeno e naproxeno na forma ácida e ainda para o ácido nalidíxico, ácido niflúmico, ácido picolínico, ácido pirazinóico e o ácido 4-aminosalicílico, a 25 °C por utilização das rectas de calibração obtidas e compararam-se os resultados obtidos com os valores encontrados na literatura, que demonstraram ser concordantes. Os valores da literatura e também os determinados experimentalmente encontram-se listados na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Valores de solubilidade dos PAFs da literatura e determinados neste trabalho.

Solubilidades (S) em H₂O a 25 °C (mg/mL)

PAFs de referência	Valores tabelados	Valores medidos neste trabalho (S ± σ)
Ampicilina	13,00 (H ₂ O) ⁽¹⁰³⁾	20,26 ± 1,78
Ibuprofeno	0,020 – 0,080 (H ₂ O) ⁽⁷⁶⁾	0,026 ± 0,001
Naproxeno	0,042 (H ₂ O) ⁽⁷⁷⁾	0,054 ± 0,005
Ácido nalidíxico	0,031 (H ₂ O) ⁽¹⁰⁴⁾	0,028 ± 0,001
Ácido niflúmico	0,019 (H ₂ O) ⁽¹⁰⁵⁾	0,021 ± 0,001
Ácido picolínico	887,0 (tampão fosfato – 20°C) ⁽¹⁰⁶⁾	466,7 ± 32,6
Ácido pirazinóico	8,30 (etanol) ⁽¹⁰⁷⁾	6,76 ± 0,06
Ácido 4-aminosalicílico	2,0 (H ₂ O – 20°C) ⁽¹⁰⁸⁾	4,554 ± 0,221

3.2.4. Determinação de concentrações micelares críticas (CMC's)

Uma vez que os LIs são compostos iónicos é possível a utilização do método de condutividades eléctricas para a medição das CMC's. A resistência eléctrica de uma solução de electrólitos é fundamentalmente determinada pelo movimento das espécies iónicas presentes em solução. A transição de moléculas anfifílicas para micelas envolve uma mudança dramática no tamanho das espécies carregadas móveis, e que se manifesta na resistência do electrólito. Este fenómeno pode ser controlado por meio de medições de condutividade, em que a condutância é definida como o inverso da resistência. A condutividade de uma solução é directamente proporcional à concentração dos seus iões. As propriedades físico-químicas dos agentes tensioactivos variam significativamente acima e abaixo do seu valor de CMC. Abaixo do valor de CMC, os surfactantes iónicos apresentam um comportamento semelhante a um electrólito forte, ou seja, encontram-se na forma dissociada.

A determinação das CMC's efectuou-se através do método de medida de condutividades iónicas numa célula termostaticada por utilização de um banho de água termostático, com temperatura controlada a ± 0,01 °C. A temperatura da solução na célula foi medida por meio de uma sonda de

resistência PT100 de platina, que se encontrava ligada a um sistema 199 *Keithly DMM / scanner*. A sonda foi calibrada por utilização de termómetros de mercúrio de elevada precisão (0,01 °C) existentes no laboratório.

O eléctrodo de condutividade foi mergulhado num volume conhecido de água ultra pura termostatzada a 25 °C, e foi-se adicionando gota-a-gota a solução de LI anfifílico de concentração conhecida, agitando, com auxílio de um agitador magnético, após cada adição de forma a obter uma solução homogénea. O cálculo da concentração final obtida, após cada adição de solução, foi corrigido considerando o volume total no copo e a cada adição faz-se a leitura e o registo dos valores de condutividade específica em $\mu\text{S}/\text{cm}$.

A condutividade (K) aumenta linearmente com a adição de agente tensoactivo à solução, até uma determinada concentração onde se verifica uma alteração no declive da recta, ou seja, alteração da forma como a condutividade é efectuada, isto, a formação de micelas. A determinação deste ponto, que corresponde à CMC, é efectuada através da intersecção das duas rectas correspondentes aos dois regimes. Na Figura 3.9 é apresentado um exemplo da determinação da CMC do Cloreto de Cetilpiridínio ($[\text{C}_{16}\text{Pir}][\text{Cl}]$), pelo método de condutividades iónicas.

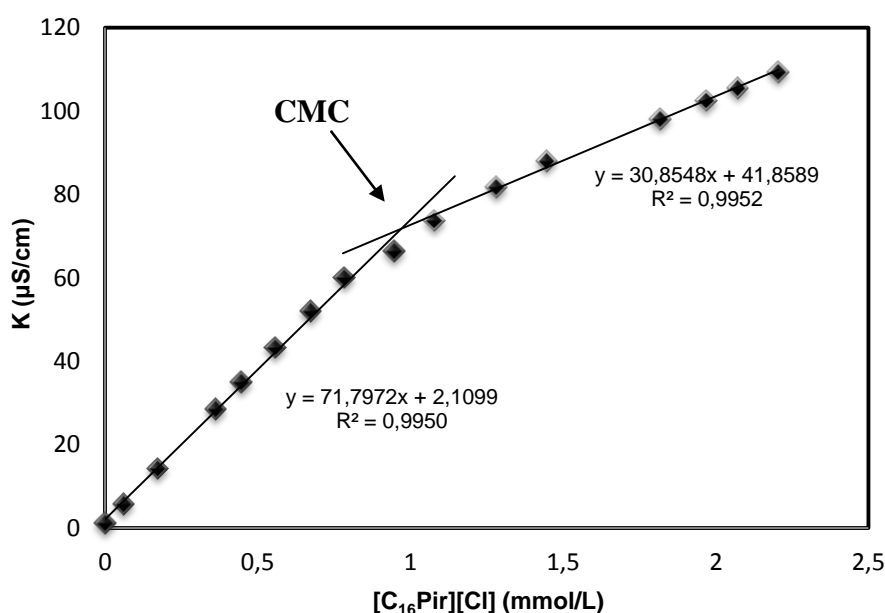


Figura 3.9 – Determinação da concentração micelar crítica do Cloreto de Cetilpiridínio ($[\text{C}_{16}\text{Pir}][\text{Cl}]$) a 25 °C em água.

De modo a validar o método, determinou-se a CMC de um surfactante conhecido como Cloreto de Cetilpiridínio, $[\text{C}_{16}\text{Pir}][\text{Cl}]$. O valor de CMC determinado foi de 0,330 g/L, concordante com o valor da bibliografia 0,339 g/L, determinado também pelo método de condutividades iónicas (109).

3.2.5. Determinação de coeficientes de partição octanol – água (Kow's)

A avaliação da distribuição de um PAF em fases aquosas e fases orgânicas constitui um parâmetro de elevada importância em ciências farmacêuticas, pois indica a capacidade que os PAFs apresentam de se distribuírem entre um solvente orgânico e a água e assim de se movimentarem através de compartimentos biológicos, nomeadamente atravessar as membranas. Através da determinação dos coeficientes de partição octanol – água podemos inferir acerca da lipofilicidade/hidrofiliicidade dos PAFs e da sua absorção no organismo.

Os coeficientes de partição octanol – água (Kow's) dos PAFs estudados e respectivos líquidos iónicos foram obtidos através da técnica experimental “*shake flask*”. O procedimento efectuado foi estabelecido de acordo com a *guideline* OECD, que foi aprovada em 27 de Julho de 1995 (110). Inicialmente a água e o octanol foram saturados mutuamente. Retiraram-se 4 mL de uma solução do PAF em estudo dissolvido em água saturada com octanol, que foram adicionados a um frasco contendo um agitador magnético e onde foi adicionada seguidamente o mesmo volume de octanol saturado com água. Este frasco foi então agitado vigorosamente durante aproximadamente 1 hora e a uma temperatura constante de 25 °C, até ser atingido o equilíbrio. A recolha de cada uma das fases foi realizada através da utilização cuidadosa de seringas. A seringa utilizada para recolher a fase rica em água foi previamente cheia com ar, o qual foi expelido lentamente ao passar pela fase de octanol. Seguidamente centrifugaram-se as amostras durante 1 hora a 3750 rpm e a 25 °C.

A quantificação do soluto foi efectuada na fase rica em água, através da leitura das absorvâncias. A quantificação na fase rica em octanol foi obtida por diferença entre a concentração inicial e a concentração obtida na fase aquosa.

De forma a testar o efeito da concentração nos Kow's, a concentração inicial de todos os solutos na fase rica em água variou de 0,6 mmol/L a 1,3 mmol/L. De forma a verificar-se a precisão experimental, três amostras de cada fase foram quantificadas e os desvios padrão determinados.

Capítulo 4

4. Análise dos Resultados

A análise dos resultados obtidos neste trabalho irá ser efectuada por divisão dos líquidos iónicos estudados em três grandes grupos: os baseados no PAF Ampicilina, os baseados nos PAFs Ibuprofeno e Naproxeno e os baseados no catião colina. No final serão ainda apresentadas e discutidas a CMC's obtidas para os LI-PAFs anfifílicos.

Uma vez que a metodologia utilizada para a síntese de todos estes líquidos iónicos foi a mesma, iniciamos este capítulo com a sua descrição, frisando que para o caso dos PAFs baseados em colinas e ácidos orgânicos com propriedades farmacológicas os compostos foram sintetizados no âmbito do presente trabalho.

4.1. Síntese de LIs baseados em PAFs

Recentemente, princípios activos farmacêuticos têm sido formulados utilizando a plataforma dos líquidos iónicos, de forma a possuírem um vasto conjunto de propriedades novas e melhoradas, tais como a permeabilidade, solubilidade, entrega de fármacos, entre outras. Um dos objectivos deste trabalho consistiu na utilização da metodologia dos LIs para aumentar a biodisponibilidade de PAFs com reduzida solubilidade.

O desenvolvimento de um método eficiente para a síntese de novos líquidos iónicos contendo a ampicilina na forma aniónica, com diferentes catiões orgânicos, foi recentemente publicado conjuntamente pelo Instituto de Tecnologia Química e Biológica e pela Faculdade de Ciências e Tecnologia (1). Neste trabalho adaptou-se o método proposto por *Ohno et al.* (8), onde se utilizam resinas de troca iónica para síntese sustentável de novos líquidos iónicos. O procedimento de síntese implementado consiste num protocolo de troca aniónica em dois passos: a resina Amberlite (na forma OH) foi utilizada na troca de aniões haletos (cloretos ou brometos) para o ião hidróxido, e posteriormente a solução básica obtida no passo anterior foi neutralizada pela adição de soluções ácidas adequadas. Esta reacção ácido-base produz o sal ou líquido iónico pretendido (111; 112; 113).

Este procedimento foi utilizado como plataforma de síntese dos LIs baseados na ampicilina e encontra-se esquematizado na Figura 4.1 (113). A resina que foi utilizada para a troca iónica de halogenetos (cloretos ou brometos) por hidróxidos, foi a resina Amberlite IRA-400 (na forma OH). No final, a solução básica obtida foi neutralizada pela adição de uma solução de ácido nas devidas proporções, obtendo-se o produto final, o LI baseado no PAF ampicilina (51).

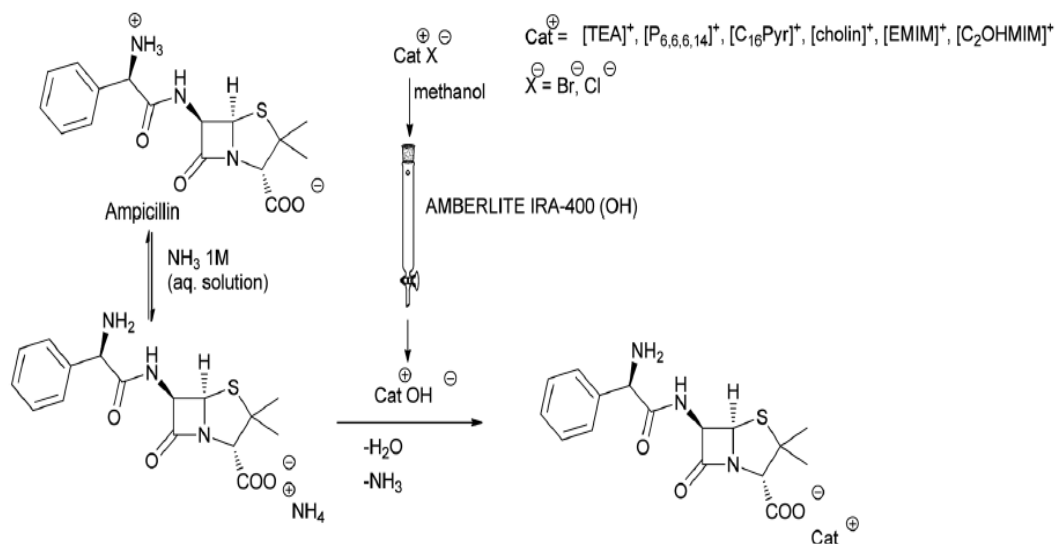


Figura 4.1 - Metodologia de síntese aplicada aos LI-PAFs baseados no princípio activo farmacêutico de ampicilina (51).

A estratégia de síntese dos LI-PAFs usados neste trabalho baseou-se na utilização da ampicilina, do naproxeno e do ibuprofeno sempre como anião, e foram combinados com os seguintes catiões orgânicos: 1-etil-3-metilimidazólio $[\text{C}_2\text{MIM}]^{\oplus}$, 1-hidroxi-etil-3-metilimidazólio $[\text{OHC}_2\text{MIM}]^{\oplus}$, colina $[\text{N}_{1112\text{OH}}]^{\oplus}$, tetraetilamónio $[\text{TEA}]^{\oplus}$, cetilpiridínio $[\text{C}_{16}\text{Pir}]^{\oplus}$ e trihexiltetradecilfosfónio $[\text{P}_{6,6,6,14}]^{\oplus}$. Estes aniões foram escolhidos devido ao facto de apresentarem uma baixa toxicidade, excepto no caso do $[\text{P}_{6,6,6,14}]^{\oplus}$, que foi escolhido para assegurar que se obtinha um composto na forma líquida.

No caso dos líquidos iónicos baseados em ácidos orgânicos com propriedades farmacológicas optou-se por se utilizar apenas um único catião, o catião colina, que já tinha sido também usado para a ampicilina, o ibuprofeno e o naproxeno. A colina é um metabolito natural do organismo pertencente à família da vitamina B, formalmente classificado como Vitamina B4, que surgiu como um catião promissor para os vários processos sintéticos de LIs biologicamente activos de baixa toxicidade, e foi portanto utilizado nos estudos posteriores. A combinação do catião colina com aniões apropriados, derivados de ácidos carboxílicos que ocorrem naturalmente e carboxilatos derivados de princípios activos farmacêuticos, têm vindo a ser desenvolvidos como plataforma para a formulação de LIs “bebíveis” (51; 112).

4.2. Líquidos iônicos baseados no PAF Ampicilina

4.2.1. Caracterização

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de próton ^1H , e de carbono ^{13}C , FTIR e espectro de massa (ESI) a fim de se verificar as estruturas e purezas obtidas. Os estudos de RMN permitem adicionalmente verificar a correlação catião/anião por integração quantitativa dos picos ^1H característicos. A caracterização descrita e obtida para cada um dos LIs sintetizados encontra-se no anexo A.

4.2.1.1. Análise térmica

A Tabela 4.1 resume algumas das propriedades térmicas determinadas para os LIs baseados no PAF ampicilina. Todos estes LIs foram obtidos como sólidos de cor amarelo claro à temperatura ambiente e com temperaturas de fusão ($T_{\text{fusão}}$) entre 58 °C e 86 °C, excepto o caso do $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{Amp}]$ que se obteve um líquido viscoso amarelo e do $[\text{OHC}_2\text{MIM}][\text{Amp}]$ que se obteve um sólido com um ponto de fusão de 117 °C. É importante ainda salientar o sucesso da redução drástica do ponto de fusão inicial da ampicilina ácida ou sódica comercial, que são ambos superiores a 300 °C, dependendo da selecção adequada do catião.

Tabela 4.1 – Propriedades térmicas dos LIs baseados no PAF ampicilina.

LIs	Estado físico à temperatura ambiente	$T_{\text{fusão}}^a$ (°C)	$T_{\text{vítrea}}$ (°C)	T_{dec} (°C)
$[\text{TEA}][\text{Amp}]$	Sólido amarelo claro	79,00	-18,64	214,70
$[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{Amp}]$	Líquido viscoso amarelo	—	—	297,70
$[\text{C}_{16}\text{Pir}][\text{Amp}]$	Sólido amarelo claro	86,00	-19,64	269,40
$[\text{N}_{11120\text{H}}][\text{Amp}]$	Sólido amarelo claro	58,00	-20,12	221,30
$[\text{C}_2\text{MIM}][\text{Amp}]$	Sólido amarelo claro	72,00	-17,86	239,60
$[\text{OHC}_2\text{MIM}][\text{Amp}]$	Sólido amarelo claro	117,00	-20,84	246,40

^a Temperatura de fusão foi determinada através de um aparelho de pontos de fusão modelo *Stuart Scientific*.

Em relação às temperaturas de transição vítrea ($T_{\text{vítrea}}$), estas foram determinadas a uma velocidade de aquecimento/arrefecimento de 1 °C/min para todos os compostos e obtiveram-se valores similares para todos, na gama de temperaturas entre os -17,86 °C e -20,84 °C, excepto para o caso do $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{Amp}]$, que apresentou valores de $T_{\text{fusão}}$ e $T_{\text{vítrea}}$ diferentes de todos os outros LIs, com dois

picos de transição de fase a uma temperatura baixa, que podem ser atribuídos aos processos de cristalização (-80,07 °C) e de fusão (-23,01 °C).

Foram ainda realizados estudos de decomposição (T_{dec}) para todos os LIs sintetizados através da análise de TGA. Como esperado, estes estudos indicaram que a escolha do catião orgânico influencia a estabilidade térmica destes LIs baseados no PAF ampicilina. Deste modo, os LIs [P_{6,6,6,14}][Amp] e [C₁₆Pir][Amp] apresentaram uma maior estabilidade térmica em relação aos restantes LIs compostos por catiões imidazólio e amónio.

4.2.2. Velocidade de dissolução

Nos ensaios de velocidade de dissolução é necessário haver um cuidado especial com alguns factores importantes, como manter uma agitação constante e uma temperatura controlada. As solubilidades foram medidas a diferentes intervalos de tempo com agitação constante de 1400 rpm e temperatura constante de 25 °C, levando à conclusão que os diferentes PAFs apresentam diferentes velocidades de dissolução até atingirem o equilíbrio, ou seja, um patamar máximo de solubilidade. A velocidade de dissolução é um parâmetro importante do ponto de vista das ciências farmacêuticas pois permite a avaliação das propriedades farmacocinéticas das formulações, possibilitando uma extrapolação da quantidade de substância activa que é libertada ao longo de um determinado tempo, conduzindo a uma relação *in vitro/in vivo* do perfil de absorção do fármaco no organismo (114).

Esta experiência foi realizada para a ampicilina na forma ácida e para todos os ácidos estudados que serão referidos nas secções subsequentes. Através da análise da Figura 4.2 podemos verificar que a ampicilina anidra demorou um período de aproximadamente 600 horas até atingir o valor máximo de solubilidade em água, nas condições experimentais acima mencionadas.

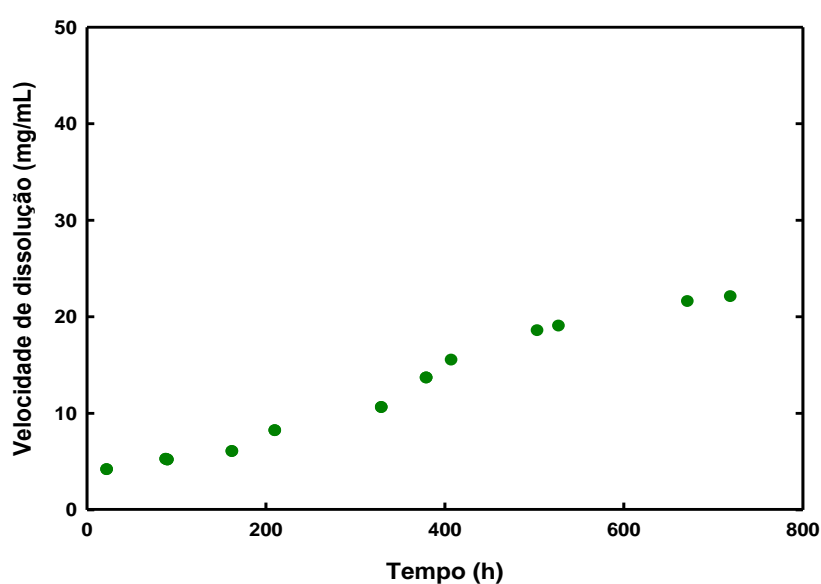


Figura 4.2 - Velocidade de dissolução da ampicilina ácida em água a uma temperatura de 25 °C e uma agitação constante de 1400 rpm.

4.2.3. Solubilidade em água

Neste trabalho, foram estudadas as solubilidades de vários princípios activos farmacêuticos, assim como de vários líquidos iónicos baseados nos mesmos PAFs de forma a poder estabelecer-se comparações e tirar conclusões sobre o efeito da síntese de LI-PAFs. As solubilidades foram inicialmente determinadas para os PAFs de partida na forma ácida em água e a 25 °C, e seguidamente foram determinadas as solubilidades dos PAFs na forma de LI para posterior comparação e discussão acerca do efeito que a formulação de LI apresenta na solubilidade.

O fenómeno de solubilização de um sólido (ou líquido) num líquido é interpretado pela ocorrência de interações soluto-solvente que são mais fortes que as interações soluto-soluto e solvente-solvente, ocasionando a solvatação das moléculas de soluto pelas de solvente, atingindo assim o equilíbrio. Os ensaios de solubilidade consistem na adição de quantidades extras de sólido no solvente, onde existirá a formação do equilíbrio soluto-solvente e haverá a presença do restante PAF no estado sólido. É necessário ter em conta que as propriedades do soluto, neste caso a solubilidade, são susceptíveis de alterações provenientes de factores experimentais, como o controlo rigoroso da temperatura dos ensaios e as impurezas presentes no solvente em estudo.

A solubilidade pode ser afectada por vários factores, uns intrínsecos ao próprio PAF, como a formação de agregados ou polimorfos, como discutido anteriormente, e outros factores extrínsecos ao PAF, como a temperatura, a pressão, o pH e a natureza química do solvente, entre outros. Neste trabalho, os ensaios de solubilidades foram realizados a duas temperaturas distintas. Numa primeira fase, foram realizados ensaios de solubilidade a 25 °C de forma a podermos comparar com valores de solubilidade tabeladas de outros compostos, e posteriormente foram realizados ensaios a 37 °C, uma vez que esta corresponde à temperatura do corpo humano.

A solubilidade em água a 25 °C e a 37 °C para a ampicilina, para o sal comercial, ampicilina sódica, e para os LIs baseados na ampicilina, encontram-se listados na Tabela 4.2 e esquematizados na Figura 4.3. De notar que o PAF baseado em ampicilina com propriedades tensioactivas, ampicilinato de cetilpiridínio, ([C₁₆Pir][Amp]) não foi utilizado neste estudo.

Tabela 4.2 – Resumo das solubilidades em água determinadas para o PAF ampicilina.

PAF ampicilina e respectivos líquidos iônicos	Solubilidade H ₂ O 25 °C (mg/mL) (S ± σ)	Solubilidade H ₂ O 37 °C (mg/mL) (S ± σ)
Ampicilina	20,26 ± 1,78	49,08 ± 0,350
Ampicilina sódica	191,30 ± 15,80	416,10*
[N ₁₁₁₂ OH][Amp]	125,30 ± 7,60	457,90 ± 2,70
[C ₂ MIM][Amp]	62,90 ± 0,020	200,50 ± 1,10
[OHC ₂ MIM][Amp]	177,80*	471,10 ± 1,80
[TEA][Amp]	8,59 ± 0,21	21,83*

*Devido a erros experimentais não foi possível calcular o desvio padrão associado à solubilidade das referidas amostras.

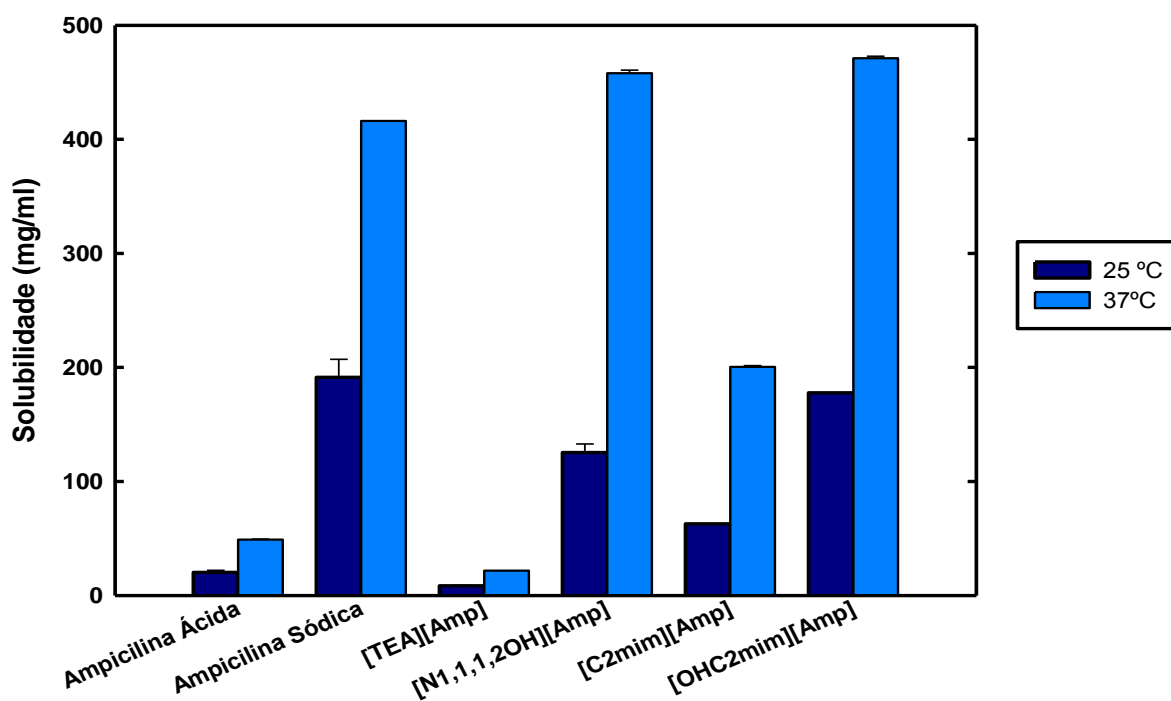


Figura 4.3 – Comparação da solubilidade dos LIs baseados no PAF ampicilina à temperatura de 25 °C e 37 °C.

Como se pode concluir a partir da Figura 4.3 a temperatura apresenta uma grande influência na solubilidade do PAF, quer na forma ácida, de sal ou líquido iónico, verificando-se um enorme aumento nos valores de solubilidades com o aumento da temperatura de 25 °C para 37 °C, à medida que se aumenta a temperatura dos ensaios. De notar também que este aumento de solubilidade com a temperatura não é igual para todos os PAFs. Assim, pode-se concluir que o estudo da solubilidade com a temperatura se reveste da maior importância em ensaios de biodisponibilidade de fármacos.

Quando comparamos o efeito da salificação com o efeito da formulação, por utilização de um líquido iónico, na solubilidade em água, verificamos que não existe grande diferença nos valores desta propriedade para a ampicilina sódica e para alguns dos líquidos iónicos baseados em ampicilina, como é o caso do $[N_{1112OH}][Amp]$ e do $[OHC_2MIM][Amp]$. De facto estes dois LI-PAFs são os que apresentam uma maior solubilidade em água, de todos os LIs baseados em ampicilina que foram sintetizados. Verifica-se ainda um claro aumento de solubilidade destes três PAFs em relação à ampicilina ácida. A ampicilina ácida a 25 °C apresenta um valor de solubilidade de 20,26 mg/mL e quando é determinado o seu valor de solubilidade na forma de sal, na presença do catião sódio, verifica-se um aumento num factor de 10, passando para um valor de 191,3 mg/mL. O mesmo se verifica para a solubilidade a uma temperatura de 37 °C, sendo que a ampicilina na forma de ácido apresenta um valor de 49,08 mg/mL e quando combinado com o catião sódio, aumenta 10 vezes, obtendo-se um valor de 416,1 mg/mL para a sua solubilidade.

De uma forma geral, pode-se afirmar que os LIs formulados com base na ampicilina apresentaram excelentes resultados relativamente ao incremento da solubilidade. Em todos eles se verificou o aumento da solubilidade, excepto no caso do $[TEA][Amp]$ que tanto a 25 °C como a 37 °C, apresentou uma solubilidade inferior à ampicilina ácida, 8,59 mg/mL e 21,83 mg/mL, respectivamente. Os valores determinados para a ampicilina ácida foram 20,26 mg/mL e 49,08 mg/mL, para as temperaturas de 25 °C e 37 °C, respectivamente.

Comparando os LIs baseados no PAF ampicilina, verifica-se um decréscimo na solubilidade em água na seguinte ordem: $[OHC_2MIM][Amp] > [N_{1112OH}][Amp] > [C_2MIM][Amp] > [TEA][Amp]$ para ambas as temperaturas estudadas (25 °C e 37 °C), o que pode ser correlacionado com as diferentes estruturas dos catiões. Os resultados obtidos podem ser discutidos em termos da polaridade dos catiões utilizados para sintetizar os LIs. De acordo com a estrutura química de cada catião, verifica-se que a existência de cadeias alquílicas apolares, como é o caso do catião tetraetilamónio ($[TEA]^+$) diminui a solubilidade em água do LI. Por outro lado, existe aumento da hidrofiliicidade do catião, com a introdução de grupos OH, como é o caso dos catiões 1-hidroxietil-3-metilimidazólio ($[OHC_2MIM]^+$) e colina ($[N_{1112OH}]^+$). Os LIs formulados com estes catiões são os que apresentam uma maior solubilidade para ambas as temperaturas estudadas.

Pode-se assim concluir que a escolha do catião é decisiva no incremento da solubilidade em água de PAFs formulados por utilização de LIs, podendo obter-se solubilidades inferiores, iguais ou

superiores às da forma ácida ou salina. A temperatura também apresenta um efeito marcante na solubilidade de PAFs em água pelo que deve ser uma variável rigorosamente controlada.

4.2.4. Coeficientes de Partição octanol – água (Kow's)

A lipofilicidade e a hidrofiliicidade são dois parâmetros essenciais na avaliação do desempenho de um fármaco. O balanço lipofílico/hidrofílico representa simultaneamente a capacidade que um fármaco tem para ser transportado na circulação e a sua afinidade pelas membranas celulares. Esta propriedade encontra-se relacionada de forma directa com o destino do fármaco no organismo. A interacção que os fármacos apresentam para com membranas biológicas é de grande importância para o estudo das suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas. Existem vários modelos mais ou menos sofisticados para descrever este balanço lipofílico/hidrofílico. No entanto, o coeficiente de partição octanol – água é o parâmetro mais estudado e utilizado para este efeito. Inúmeros modelos farmacocinéticos e farmacodinâmicos utilizam este parâmetro. É essencial que os PAFs sejam solúveis no meio onde irá ocorrer a absorção, de forma a serem absorvidos, caso contrário não são absorvidos correctamente e também não são atingidas as concentrações plasmáticas ideais.

Neste trabalho, os coeficientes de partição octanol – água dos LIs sintetizados com base no PAF ampicilina foram determinados utilizando o método “*shake flask*”, descrito na secção 3.2.5 do capítulo 3. O sistema octanol – água é amplamente utilizado, onde o octanol é considerado como o solvente orgânico ideal para determinar a lipofilicidade de compostos, uma vez que as suas propriedades simulam de forma simples as membranas biológicas. Os resultados obtidos encontram-se listados na Tabela 4.3 e esquematizados na Figura 4.4.

Tabela 4.3 – Valores de Kow's determinados para o PAF ampicilina ácida e respectivos líquidos iónicos, a 25°C.

PAF Ampicilina e respectivos LIs	Kow's $\pm \sigma$
Ampicilina	$0,020 \pm 0,10 \times 10^{-3}$
Ampicilina sódica	$0,068 \pm 0,70 \times 10^{-2}$
[N ₁₁₁₂ OH][Amp]	$0,220 \pm 1,80 \times 10^{-2}$
[C ₂ MIM][Amp]	$0,300 \pm 1,70 \times 10^{-2}$
[OHC ₂ MIM][Amp]	$0,140 \pm 1,00 \times 10^{-2}$
[TEA][Amp]	$0,310 \pm 2,00 \times 10^{-2}$

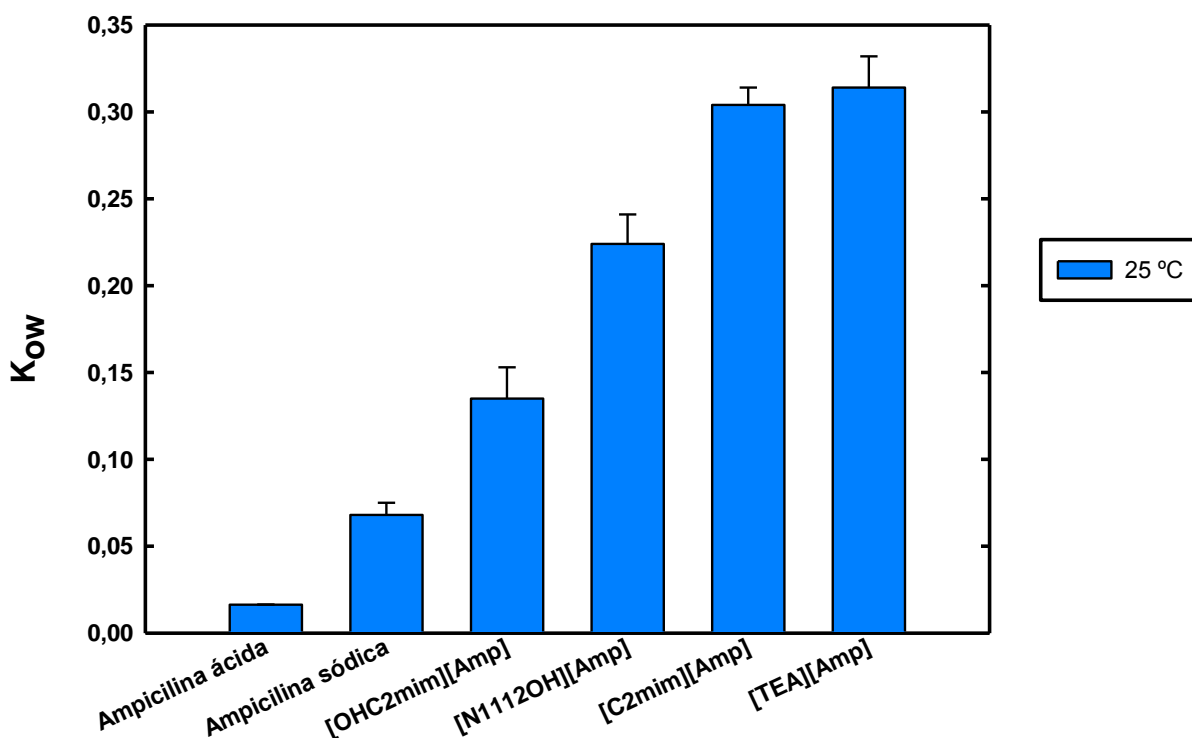


Figura 4.4 – Coeficientes de partição octanol – água (K_{ow} 's) a 25 °C para os LIs baseados no PAF ampicilina.

É importante salientar que os K_{ow} 's obtidos não apresentam qualquer dependência com a concentração de cada um dos compostos, visto que foram efectuados estudos de coeficientes de partição a diferentes concentrações verificando-se que os valores obtidos apresentam desvios na ordem dos 5 %, considerado o erro experimental.

De acordo com a Figura 4.4 é possível constatar que a formulação do princípio activo ampicilina na forma de líquido iónico aumenta o valor do coeficiente de partição octanol – água da ampicilina, PAF de partida, para todos os catiões utilizados. A ampicilina na forma ácida apresenta um K_{ow} de 0,016, sendo este valor aumentado quando este PAF é modificado para a forma de LI. De todos os LIs, o composto que apresentou um maior coeficiente de partição octanol – água foi o [TEA][Amp] com um valor de 0,314, e o LI [OHC₂MIM][Amp] apresentou um menor K_{ow} com um valor de 0,135. Estes resultados são concordantes com a polaridade dos respectivos catiões. Em relação à ampicilina sódica este composto apresenta características intermédias entre a ampicilina ácida e os líquidos iónicos, ou seja, seria de esperar que este composto apresentasse solubilidades elevadas e baixos K_{ow} 's, mas devido ao facto do anião sódio não possuir características orgânicas a lipofilicidade diminui.

Tendo em consideração a estrutura química do catião tetraetilamónio ([TEA]⁺) e de acordo com a presença de cadeias alquílicas na sua constituição, que o torna mais hidrofóbico, o equilíbrio lipofílico/hidrofílico é portanto deslocado para o lado lipofílico, conferindo-lhe assim um maior valor de K_{ow} . Relativamente ao catião 1-hidroxi-3-metilimidazólio ([OHC₂MIM]⁺), este é mais

hidrofílico devido à presença do grupo OH e ao maior potencial de formação de pontes de hidrogénio com a água, daí o valor de Kow ser o menor. No entanto, apesar dos catiões apresentarem diferentes polaridades, e consequentemente valores distintos de Kow's, verifica-se sempre um aumento em relação ao PAF de partida, que é a ampicilina ácida.

Assim, conclui-se com estes resultados que o composto que apresenta uma maior lipofilia ou hidrofobicidade, e portanto se encontra mais apto para penetrar nas membranas biológicas é o [TEA][Amp] e aquele que terá maiores dificuldades de atravessar as membranas biológicas é o [OHC₂MIM][Amp]. É ainda relevante verificar a relação entre o efeito do catião na solubilidade em água e nos Kow's dos líquidos iónicos baseados na ampicilina, como ilustrado na Figura 4.5.

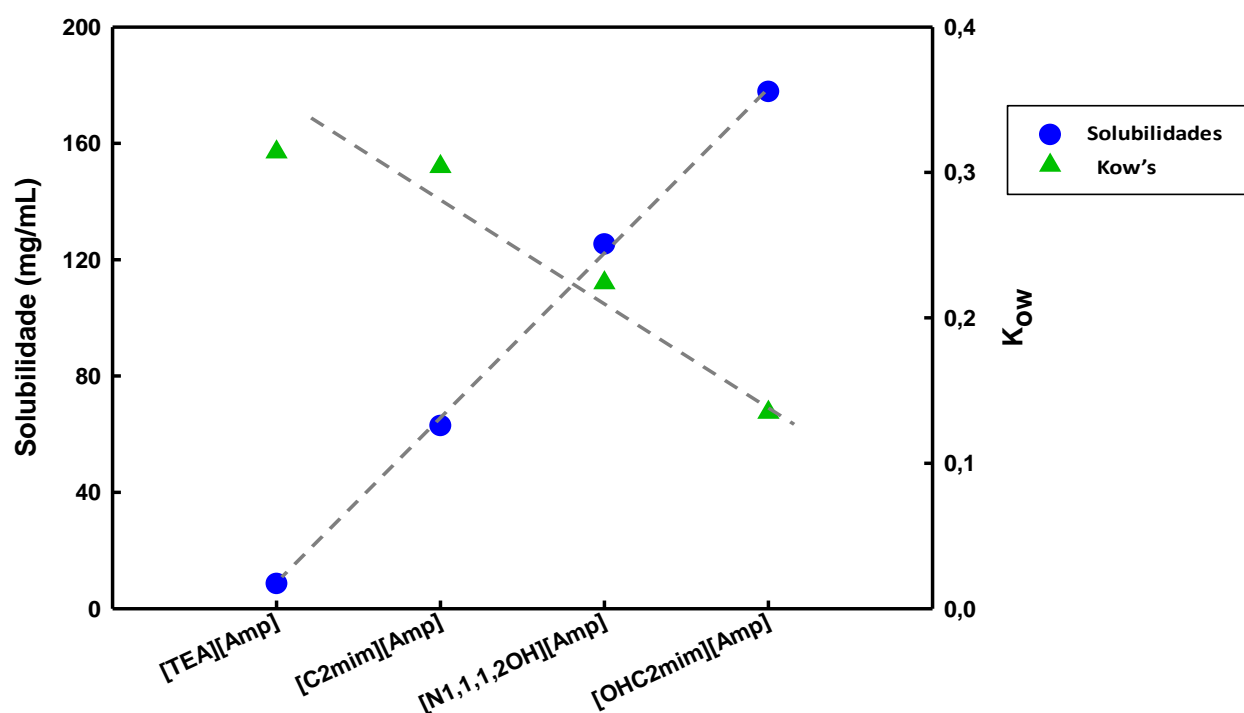


Figura 4.5 – Comparação dos valores de solubilidades em água e Kow's obtidos para os LIs baseados no PAF de ampicilina.

De acordo com a análise da Figura 4.5, pode inferir-se que existe uma relação entre a solubilidade dos LIs baseados no PAF ampicilina e os valores de coeficientes de partição octanol – água apresentados por estes mesmos compostos. O LI que apresenta uma solubilidade em água maior, [OHC₂MIM][Amp], é o que possui um valor de Kow menor, enquanto que aquele que apresenta uma menor solubilidade em água, [TEA][Amp], tem um valor de Kow maior. Verifica-se assim que a solubilidade em água é inversamente proporcional aos coeficientes de partição octanol – água, uma vez que à medida que a solubilidade aumenta, os Kow's diminuem, pois quanto maior a solubilidade em água, mais hidrofílicos serão os compostos, e portanto o rácio hidrofóbico/hidrofílico será menor.

A presente análise, ilustrada na Figura 4.5, permite avaliar dois procedimentos experimentais independentes, a determinação das solubilidades em água e dos coeficientes de partição octanol – água.

4.3. Líquidos iónicos baseados nos PAFs ibuprofeno e naproxeno

Com base na classificação apresentada implementou-se um procedimento sintético idêntico ao utilizado para o PAF ampicilina, ou seja, a formulação de líquidos iónicos baseados no PAF ibuprofeno e naproxeno, para obter fármacos com maior solubilidade em água e maior partilha com membranas biológicas. A alternativa proposta baseia-se na transformação dos princípios activos de partida na forma ácida para a forma de líquido iónico, onde os PAFs ibuprofeno e naproxeno foram sempre utilizados como aniões e conjugados com diversos catiões.

4.3.1. Caracterização

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de protão ^1H , e de carbono ^{13}C , e espectro de massa (ESI) a fim de se verificar as estruturas e purezas obtidas. Os estudos de RMN permitem adicionalmente verificar a correlação catião/anião por integração quantitativa dos picos ^1H característicos.

4.3.2. Velocidade de dissolução

Tal como nos ensaios anteriores, também nos líquidos iónicos baseados nos PAFs ibuprofeno e naproxeno, os estudos foram iniciados através da determinação experimental das suas velocidades de dissolução até atingirem o equilíbrio termodinâmico, e conseqüentemente, a sua solubilidade em água. Verificou-se no decorrer dos ensaios, nas condições experimentais descritas no procedimento experimental (secção 3.2.3 do capítulo 3), que devido à reduzida solubilidade de ambos os PAFs, é necessário um tempo de ensaio mais longo, superior a 48 horas para o ibuprofeno e superior a 91 horas para o naproxeno, para obter uma quantidade dissolvida superior ao limite de detecção do método quantitativo implementado baseado em espectroscopia UV-vis. A Figura 4.6 representa o perfil de dissolução traçado para estes dois PAFs de reduzida solubilidade.

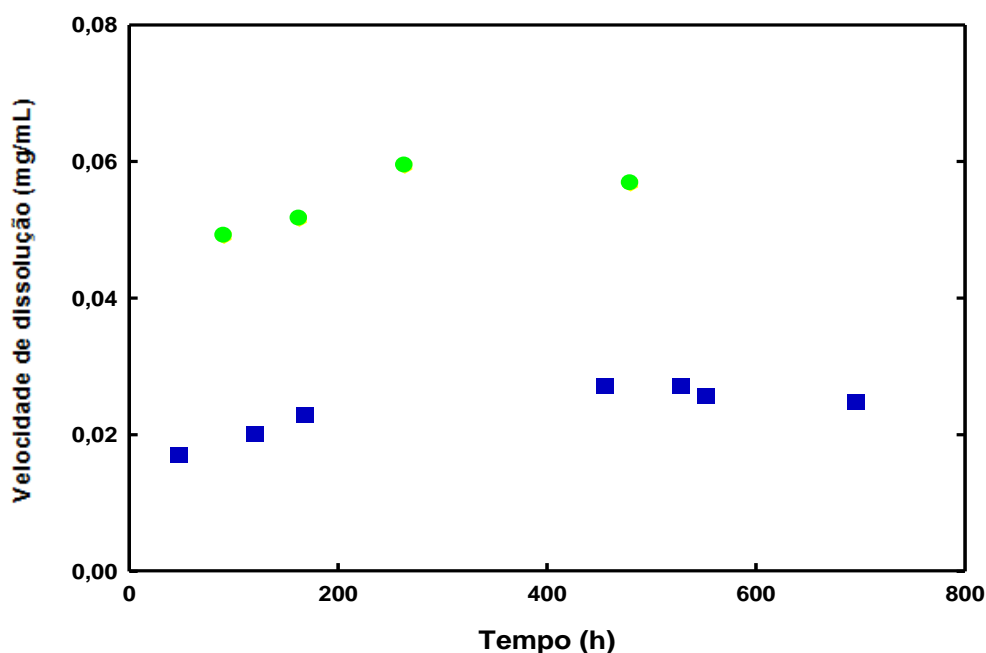


Figura 4.6 - Velocidade de dissolução do ibuprofeno (■) e naproxeno (●) em água a uma temperatura de 25 °C e a uma agitação constante de 1400 rpm.

Através da análise da Figura 4.6 verifica-se que para ambos os princípios activos farmacêuticos de ibuprofeno e naproxeno foi necessário que os ensaios se prolongassem a tempos superiores a cinco dias (~ 120 horas), devido à taxa de dissolução lenta que apresentaram. O equilíbrio foi alcançado, com determinação da respectiva solubilidade máxima, ao fim de aproximadamente 500 horas e 400 horas de ensaios, nas condições experimentais descritas no capítulo 3, para o ibuprofeno e naproxeno, respectivamente.

4.3.3. Solubilidade em água

Com base no procedimento experimental descrito na secção 3.2.3 do capítulo 3, os ensaios para determinação da solubilidade em água foram efectuados através da adição de uma quantidade elevada de soluto ao solvente, de forma a se obter um equilíbrio sólido-líquido, procedendo-se posteriormente à análise quantitativa do PAF na solução sobrenadante.

Adicionalmente à determinação da solubilidade dos PAFs ibuprofeno e naproxeno em água a 25 °C, também para os líquidos iónicos baseados nos PAFs ibuprofeno e naproxeno foram realizados ensaios de solubilidades a duas temperaturas distintas (25 °C e 37 °C). Posteriormente foi efectuada uma comparação com a solubilidade em água dos PAFs de partida, de modo a avaliar a eficácia da metodologia proposta no aumento da solubilidade e biodisponibilidade do princípio activo farmacêutico. A avaliação do efeito da temperatura nas solubilidades destes compostos também será discutida.

Os resultados obtidos referentes às solubilidades dos PAF ibuprofeno e naproxeno, à temperatura de 25 °C e 37 °C, para os diferentes LIs apresentam-se sintetizados na Tabela 4.4, assim como os valores existentes na literatura.

Tabela 4.4 – Valores de solubilidade obtidos para os PAFs ibuprofeno e naproxeno, na forma ácida e na forma de líquido iónico, às duas temperaturas estudadas (25 °C e 37 °C).

Líquidos iónicos baseados em PAFs	Solubilidade 25 °C (mg/mL) (S ± σ)	Solubilidade 37 °C (mg/mL) (S ± σ)
Ibuprofeno	0,026 ± 0,010 (0,020-0,080) ⁽⁷⁶⁾	—
[N _{11120H}][Ibu]	0,70 ± 0,040	1,76
[OHC ₂ MIM][Ibu]	1,24 ± 0,120	2,09
Naproxeno	0,054 ± 0,010 (0,044) ⁽⁷⁷⁾	—
[N _{11120H}][Nap]	1,34 ± 0,030	1,61
[OHC ₂ MIM][Nap]	0,73 ± 0,010	1,85

Na metodologia proposta no presente estudo, os PAFs ibuprofeno e naproxeno foram sempre usados como aniões e combinados com diversos catiões, de modo a poder-se avaliar o efeito que estes apresentam na solubilidade destes compostos e relacionar os resultados obtidos com as estruturas químicas. Para o estudo da determinação da solubilidade em água, apenas foram analisados os catiões colina ([N_{11120H}]⁺) e 1-hidroxietil-3-metilimidazólio ([OHC₂MIM]⁺). Para os outros LIs baseados nos PAFs ibuprofeno e naproxeno, foram utilizados catiões com características tensioactivas. Desta forma, serão avaliadas propriedades relacionadas com estas características como por exemplo a concentração micelar crítica, apresentada na secção 4.5. Os resultados obtidos tanto a 25 °C como a 37 °C para o PAF ibuprofeno encontram-se ilustrados na Figura 4.7.

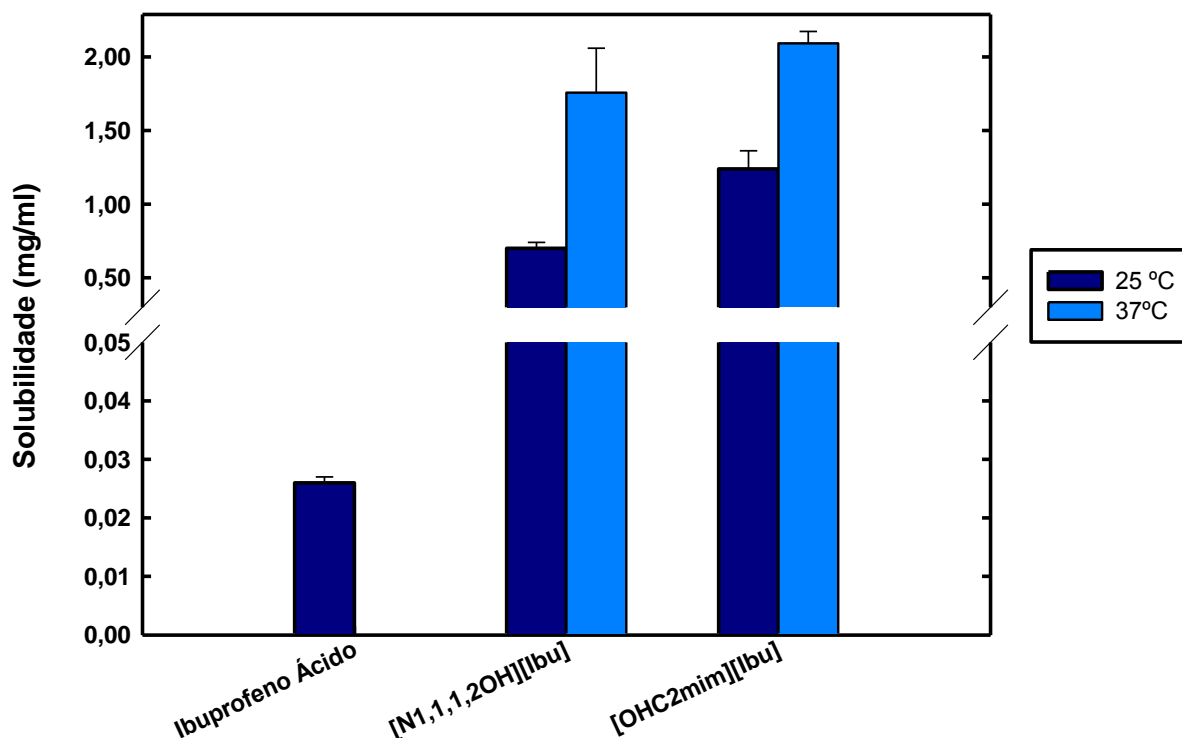


Figura 4.7- Solubilidade em água do PAF ibuprofeno conjugado com os catiões colina ($[N_{1112OH}]^+$) e 1-hidroxietil-3-metilimidazólio ($[OHC_2MIM]^+$) às temperaturas de 25 °C e 37 °C.

Através da análise da Figura 4.7, é possível inferir acerca das diferenças entre o PAF ibuprofeno na forma ácida e quando é transformado em líquido iónico, o que mais uma vez se demonstrou eficaz no aumento da solubilidade, que passou de um valor de 0,026 mg/mL do ibuprofeno ácido para um valor de 0,70 mg/mL para o $[N_{1112OH}][Ibu]$ e 1,24 mg/mL para o $[OHC_2MIM][Ibu]$, quando colocado na forma de líquido iónico. Estes valores de solubilidade em água a 25 °C indicam um aumento desta propriedade por um factor de 30 a 50.

Estes valores de solubilidades obtidos podem ser relacionados com a estrutura química de cada catião, uma vez que a polaridade de cada composto influencia directamente a solubilidade em água. Para os dois catiões conjugados com o PAF ibuprofeno, verifica-se um decréscimo da solubilidade em água na ordem seguinte: $[OHC_2MIM][Ibu] > [N_{1112OH}][Ibu]$, para ambas as temperaturas (25 °C e 37 °C). Ambos os catiões apresentam características que lhe conferem hidrofiliçidade, uma vez que os dois apresentam estruturas com a presença do grupo OH, o que aumenta a solubilidade destes compostos em água. No entanto, a presença de um anel imidazólio em relação às cadeias alquílicas do catião colina, aumenta a polaridade e o potencial de formação de pontes de hidrogénio do catião imidazólio, aumentando assim a sua solubilidade em água.

Os resultados também obtidos para o PAF naproxeno, às temperaturas de 25 °C e de 37 °C, encontram-se ilustrados na Figura 4.8.

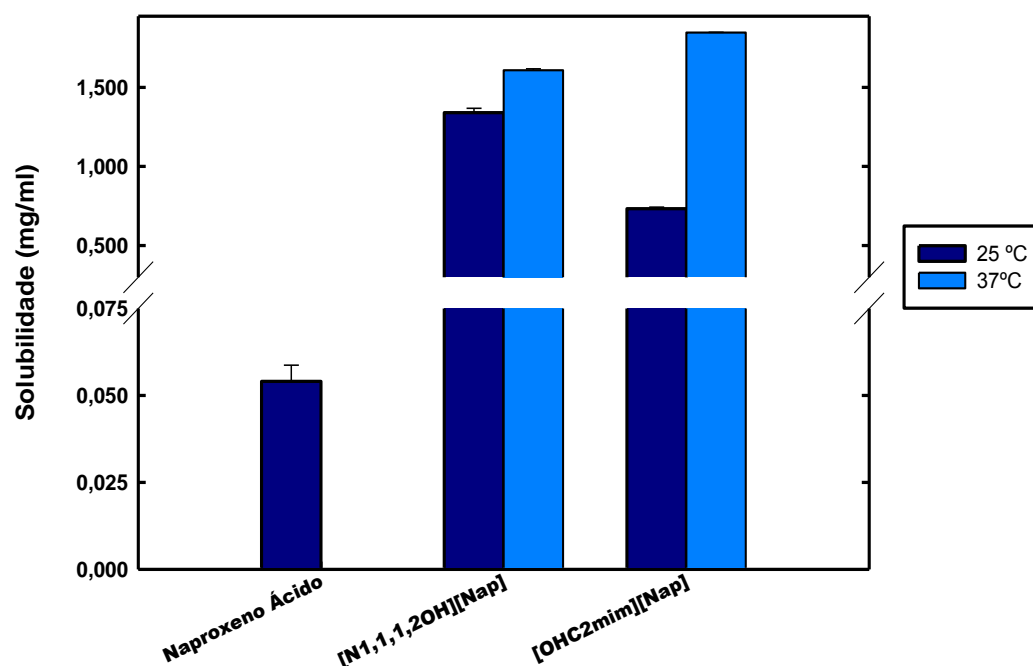


Figura 4.8 - Solubilidade em água do PAF naproxeno conjugado com os catiões colina ($[N_{112OH}]^+$) e 1-hidroxietil-3-metilimidazólio ($[OHC_2MIM]^+$) às temperaturas de 25 °C e 37 °C.

Tal como para o caso do ibuprofeno, é possível inferir acerca das diferenças de solubilidades que o PAF naproxeno apresenta entre a forma ácida e a forma de líquido iónico. Novamente, é notória a eficácia do método de síntese de líquidos iónicos biologicamente activos no aumento da solubilidade, uma vez que o PAF naproxeno na forma ácida comercial apresenta um valor de solubilidade de 0,054 mg/mL e quando transformado em $[N_{112OH}][Nap]$ e $[OHC_2MIM][Nap]$, obtiveram-se os valores de 1,34 mg/mL e 0,73 mg/mL, respectivamente. Estes valores foram obtidos para as solubilidades determinadas em água a 25 °C, que aumentaram num factor de 15 a 25. No entanto, a solubilidade a 25 °C apresenta resultados discordantes com os resultados a 37 °C, uma vez que para 25 °C o $[OHC_2MIM][Nap]$ apresenta uma solubilidade inesperadamente mais baixa do que o $[N_{112OH}][Nap]$, facto que já não se observa a 37 °C. Embora o desvio padrão dos resultados obtidos a $[OHC_2MIM][Nap]$ seja bastante baixo, estes resultados deveriam ser reconfirmados através de uma nova medição experimental.

Por fim, de uma forma geral, é possível concluir que a solubilidade aumenta com a temperatura para os LI-PAFs, tanto no caso do ibuprofeno como naproxeno, quando se passa dos ensaios a 25 °C para 37 °C, tal como se verifica para a grande maioria dos sólidos.

4.4. Líquidos iónicos baseados no catião colina ($[N_{11120H}]^+$) e conjugados com diferentes PAFs

4.4.1. Síntese e Caracterização

Todos os compostos sintetizados baseados no catião $[N_{11120H}]^+$ e conjugados com os PAFs ácido nalidíxico, ácido niflúmico, ácido picolínico, ácido pirazinóico e ácido 4-aminosalicílico, foram caracterizados por RMN de protão 1H , e de carbono ^{13}C , a fim de se verificar as estruturas e purezas obtidas. Os estudos de RMN permitiram também confirmar a correlação catião/anião esperada por integração quantitativa dos picos de ressonância 1H característicos. A caracterização por RMN obtida para cada um dos LIs sintetizados encontra-se presente no anexo A. A quantidade de água de todos os compostos sintetizados foi determinada por titulação coulométrica *Karl Fischer*, sendo inferior a 500 ppm. Adicionalmente, a quantidade de Cl^- foi determinada por um eléctrodo de cloretos, sendo inferior a 2 ppm para todos os compostos sintetizados.

4.4.1.1. Análise térmica

As propriedades térmicas dos LI-PAFs baseados no catião colina encontram-se sumariados na Tabela 4.6. Todos os LI-PAFs foram obtidos como sólidos com temperaturas de fusão ($T_{fusão}$) compreendidas entre 75 °C e 81 °C, excepto no caso do $[N_{11120H}][Picolinato]$ (líquido rosa pálido). Para a colina conjugada com o PAF 4-Aminosalicílico obteve-se um sal fundido com uma temperatura de fusão de 117,32 °C. É importante salientar o sucesso da formulação proposta, LIs baseados em PAFs, na redução dos pontos de fusão iniciais dos PAFs comerciais, listados na Tabela 4.5, por conjugação com o catião colina.

Relativamente às temperaturas de transição vítrea ($T_{vítrea}$), determinadas a uma velocidade de aquecimento/arrefecimento de 1 °C/min para todos os compostos, obtiveram-se valores similares para todos os LI-PAFs (Tabela 4.6), na gama de temperaturas entre os -17 °C e -20 °C, excepto para o caso do $[N_{11120H}][Picolinato]$ e do $[N_{11120H}][Pirazinato]$ que apresentaram valores de -51,06 °C e -47,10 °C, respectivamente.

Tabela 4.5 – Propriedade térmica, ponto de fusão, tabelada de cada um dos PAFs de partida.

PAFs	$T_{fusão}$ Teóricas (°C)
Ácido Pirazinóico	225,0 ⁽¹¹⁵⁾
Ácido Nalidíxico	228,8 ⁽¹¹⁶⁾
Ácido Niflúmico	205,24 ⁽¹¹⁷⁾
Ácido Picolínico	139 - 142 ⁽¹¹⁸⁾
Ácido 4-aminosalicílico	151 - 153 ⁽¹¹⁹⁾

Tabela 4.6 – Propriedades térmicas dos LI-PAFs baseados no catião colina e conjugados com distintos PAFs.

LIs	Estado físico	$T_{fusão}$ (°C)	$T_{vítreo}$ (°C)	T_{dec} (°C)
[N _{11120H}][Nalidixato]	Sólido amarelo pálido	75,91	-17,12	160,96
[N _{11120H}][Niflumato]	Líquido rosa pálido	—	-16,99	189,95
[N _{11120H}][Picolinato]	Líquido rosa pálido	-21,01	-51,06	176,44
[N _{11120H}][Pirazinato]	Sólido amarelo pálido	81,44	-47,10	182,13
[N _{11120H}][4-aminosalicilato]	Sólido castanho	117,32	-19,93	171,20

Adicionalmente foram realizados estudos de decomposição (T_{dec}) para todos os compostos sintetizados através da análise de TGA. Tal como discutido anteriormente, a escolha do catião orgânico influencia a estabilidade térmica dos LIs, e portanto tal como esperado, uma vez que se utilizou sempre o mesmo catião ([N_{11120H}]⁺), as temperaturas de decomposição determinadas são aproximadamente da mesma gama de temperaturas (161 °C – 190 °C). Todos os LI-PAFs baseados no catião colina apresentam estabilidade térmicas similares, sendo o [N_{11120H}][Niflumato] o mais termicamente estável.

4.4.2. Solubilidades dos LIs baseados no catião $[N_{1112OH}]^+$ e conjugados com diferentes PAFs

De modo similar aos anteriores estudos de solubilidade dos LIs baseados em PAFs, também para os líquidos iónicos baseados no catião $[N_{1112OH}]^+$ e conjugados com PAFs, foram inicialmente determinadas as solubilidades para os PAFs de partida em água a 25 °C, e seguidamente foram determinadas as solubilidades dos PAFs na forma de líquidos iónicos. Além das solubilidades em água a 25 °C, estas foram ainda determinadas a uma temperatura de 37 °C em água e fluidos biológicos simulados.

Os fluidos biológicos simulados utilizados para os estudos de solubilidade no presente trabalho estão descritos na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Soluções utilizadas de forma a simular fluidos biológicos.

Fluidos biológicos simulados	
Solução fisiológica	Solução isotónica aquosa de NaCl com força iónica 0,15M, pH \approx 7,4
Fluido gástrico simulado	Solução sem enzimas (pepsina) de HCL 0,1M, pH =1,0
Fluido intestinal simulado	Solução tampão fosfato sem enzimas (pancreatina), pH=6,8

4.4.2.1. Velocidade de dissolução

Utilizando o procedimento experimental descrito na secção 3.2.3 do capítulo 3. As figuras seguintes ilustram alguns destes ensaios, onde foi seleccionado apenas um dos compostos (ácido nalidíxico) como exemplo ilustrativo, em água e num dos fluidos biológicos simulados (solução aquosa com força iónica isotónica – condições fisiológicas), os restantes estudos efectuados encontram-se descritos no anexo D, onde se pode comparar e avaliar a velocidade de dissolução de cada um destes PAFs.

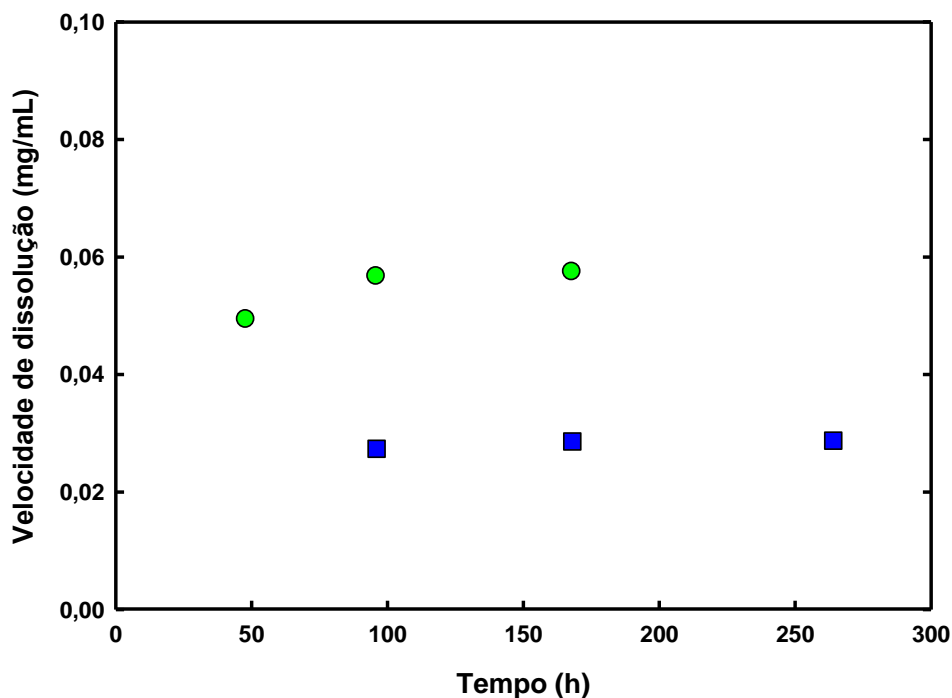


Figura 4.9 – Velocidade de dissolução do ácido nalidíxico em água a uma temperatura de 25 °C (■) e numa solução fisiológica de NaCl 0,15M (força iônica isotônica) a uma temperatura de 37 °C (●).

O procedimento experimental aplicado quer para os ensaios em água, quer para os ensaios nos fluidos biológicos, foi sempre o mesmo assim como as condições experimentais (temperatura de 25 °C e velocidade de agitação constante a 1400 rpm). Em relação às velocidades de dissolução, tanto para o caso do ácido nalidíxico como para os restantes PAFs ácidos pode-se concluir que o tempo que um composto demora a atingir o equilíbrio termodinâmico em água é o mesmo que em qualquer um dos fluidos biológicos, dependendo apenas do PAF em questão.

É necessário realçar que para todos os PAFs ácidos estudados foi verificado se existia ou não alteração do espectro de UV-vis, o que poderia indicar a ocorrência de degradação dos compostos. Para todos os PAFs nas diferentes condições de pH e temperatura não se verificou degradação, com exceção do PAF 4-aminosalicílico em água a 37 °C e nos três fluidos biológicos simulados utilizados no presente trabalho.

Uma vez que o ácido 4-aminosalicílico apresentava indícios de degradação ao longo do tempo, foi realizado um estudo com o tempo mais detalhado para este PAF. Nas soluções de NaCl e de tampão fosfato a pH=6,8, o composto apresentou inicialmente um espectro inalterado, com um pico a 266 nm e outro a 300 nm, como se pode verificar através das Figuras 4.10 e 4.11. A degradação do composto começa a ocorrer às 36 h e 48 h para a solução fisiológica 0,15 M de NaCl e para a solução de pH=6,8, respectivamente, e pode ser seguida através da deformação do pico a 300 nm.

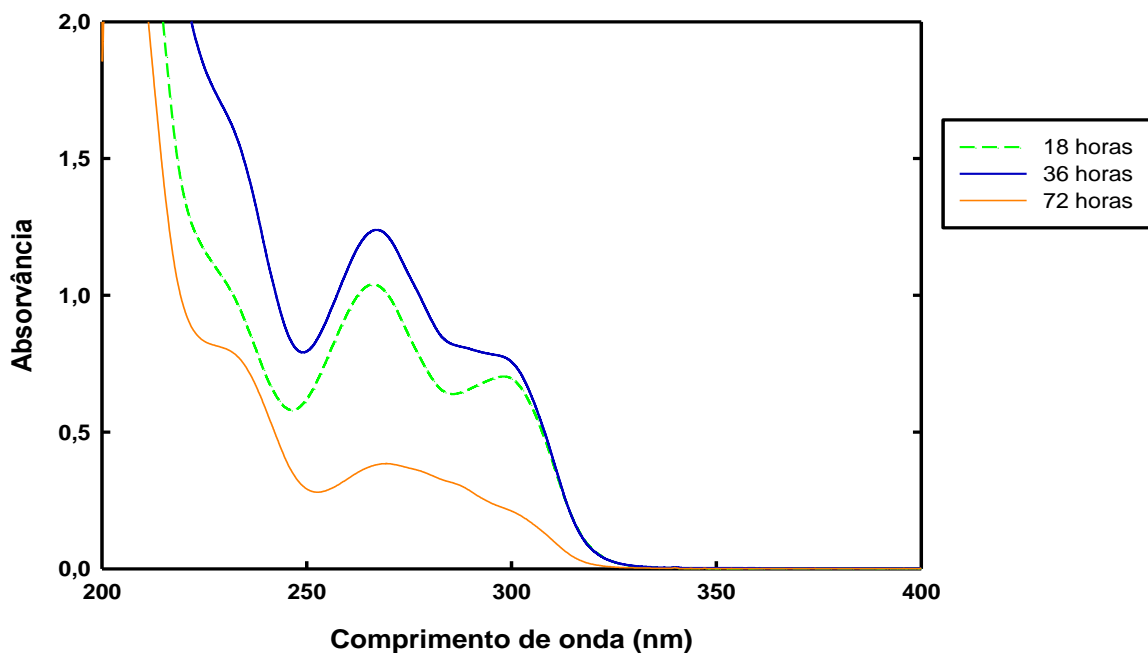


Figura 4.10 - Espectro característico UV-vis do ácido 4-aminosalicílico numa solução fisiológica 0,15M de NaCl a 37 °C e a diferentes tempos de dissolução.

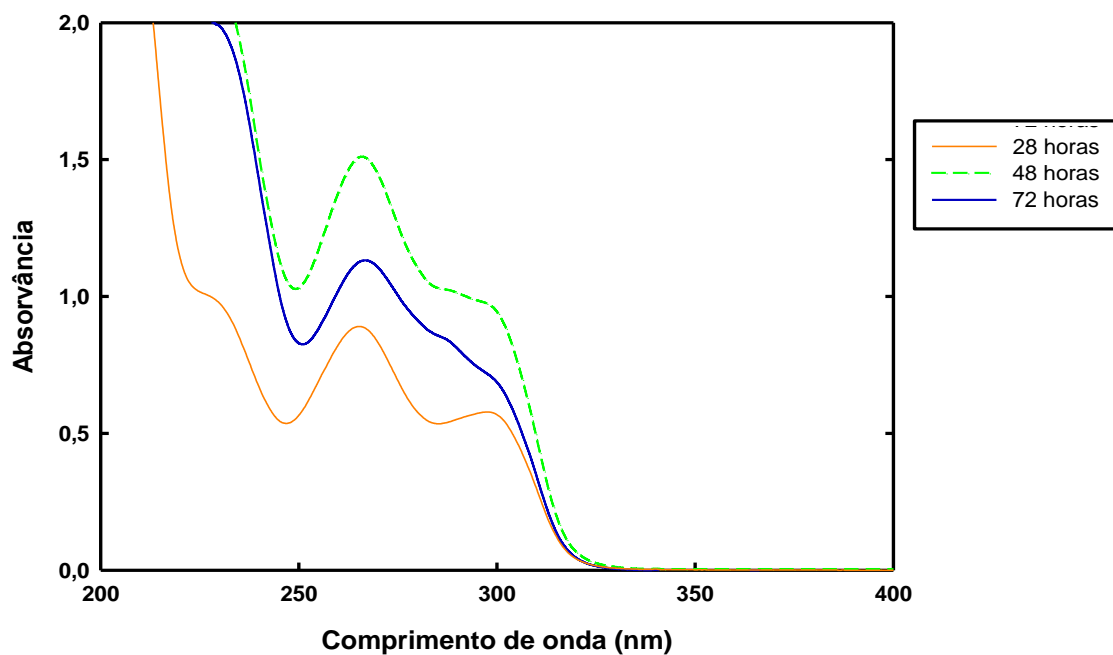


Figura 4.11 – Espectro característico UV-vis do ácido 4-aminosalicílico numa solução tampão fosfato pH=6,8 a 37 °C e a diferentes tempos de dissolução.

Em relação ao comportamento deste PAF numa solução de 0,1 N HCl a pH=1,0, a uma temperatura de 37 °C, verifica-se que o composto começa a degradar-se num espaço de tempo mais curto chegando a modificar por completo o seu espectro, como ilustrado na Figura 4.12.

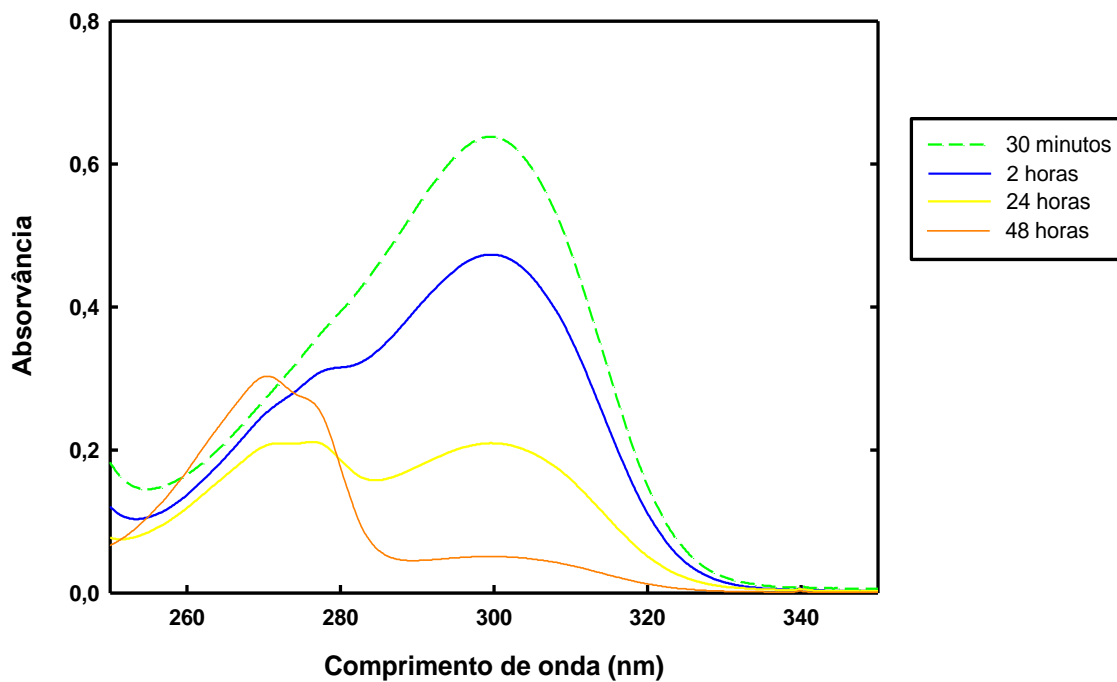


Figura 4.12 – Espectro característico UV-vis do ácido 4-aminosalicílico numa solução 0,1M HCl (pH=1,0) a 37 °C e a diferentes tempos de dissolução.

Seguidamente procedeu-se então ao estudo da velocidade de dissolução deste PAF na gama de tempos em que não apresenta degradação. O perfil de dissolução deste PAF foi determinado a 25 °C e em água, e é ilustrado na figura 4.13.

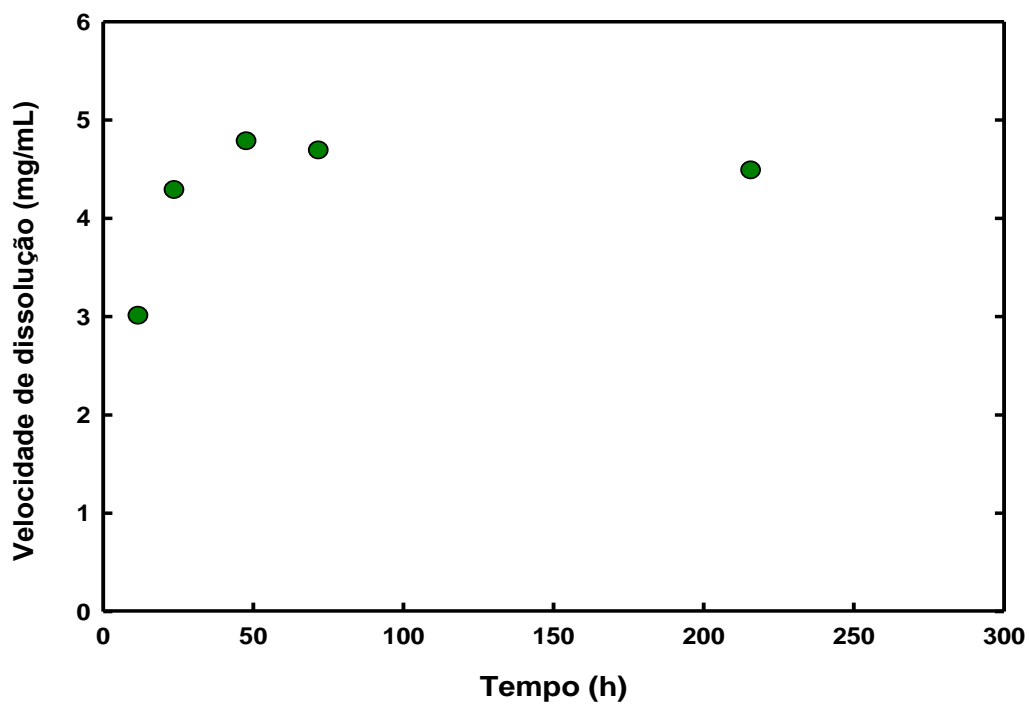


Figura 4.13 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico em água a uma temperatura de 25 °C.

Verificou-se que este PAF demora cerca de 50 horas a atingir o estado estacionário em água, a 25 °C. Neste caso, após o composto ter atingido neste tempo o estado estacionário e de forma a verificar uma possível decomposição com o tempo, foi retirada uma amostra após 225 horas e comprovou-se que este mantinha o valor obtido anteriormente. Quando se tentou reproduzir estes resultados, como descrito no procedimento, para os fluidos biológicos a 37 °C, verificou-se que devido ao aumento de temperatura e à variação do pH do meio, este começa a degradar-se, e o seu pico característico de absorção na zona dos 266 nm em água a 25 °C sofre modificações. Os resultados para a velocidade de dissolução deste composto nos fluidos biológicos encontra-se nas Figuras 4.14, 4.15 e 4.16.

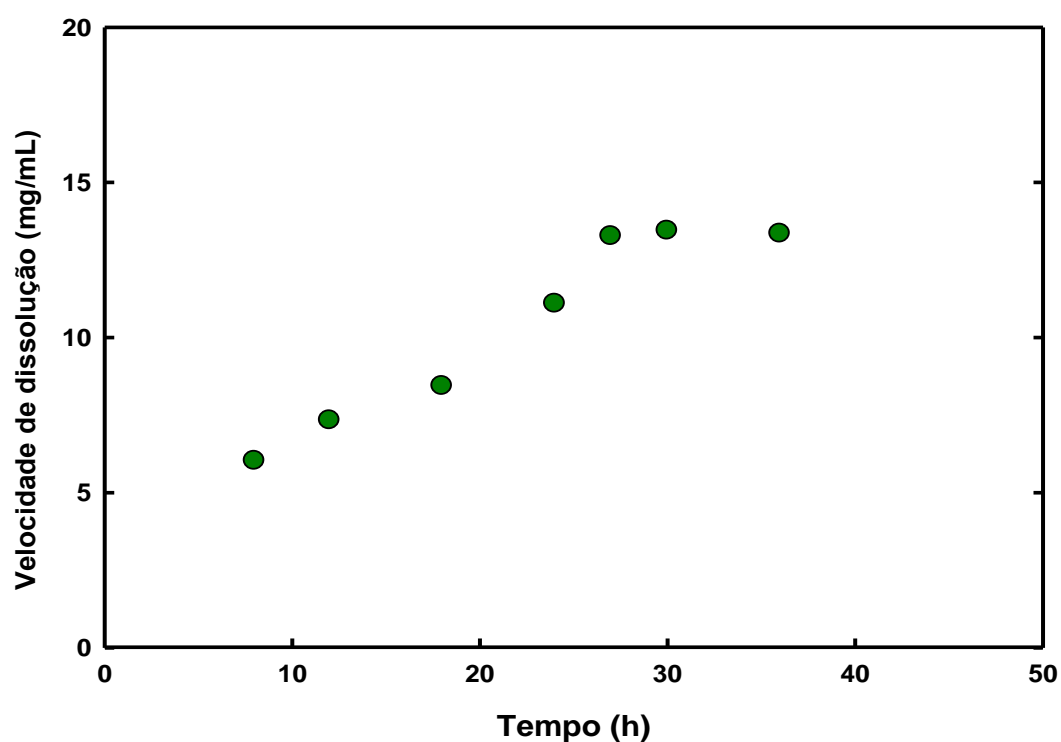


Figura 4.14 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico a 37 °C, numa solução fisiológica de 0,15M de NaCl.

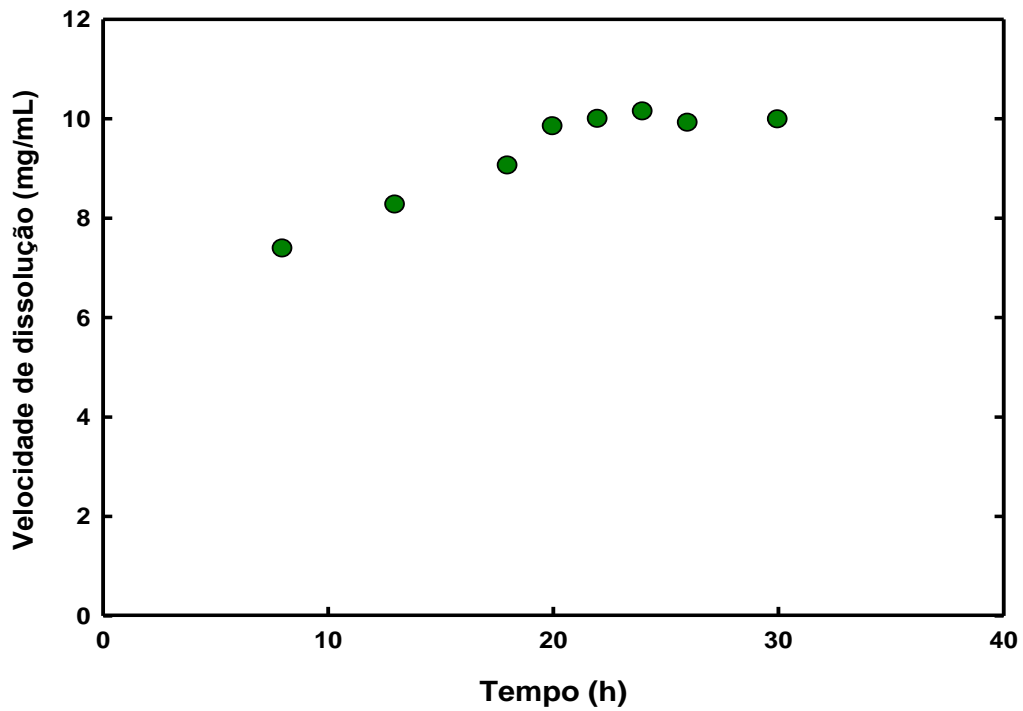


Figura 4.15 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico a 37 °C, numa solução tampão fosfato de pH=6,8.

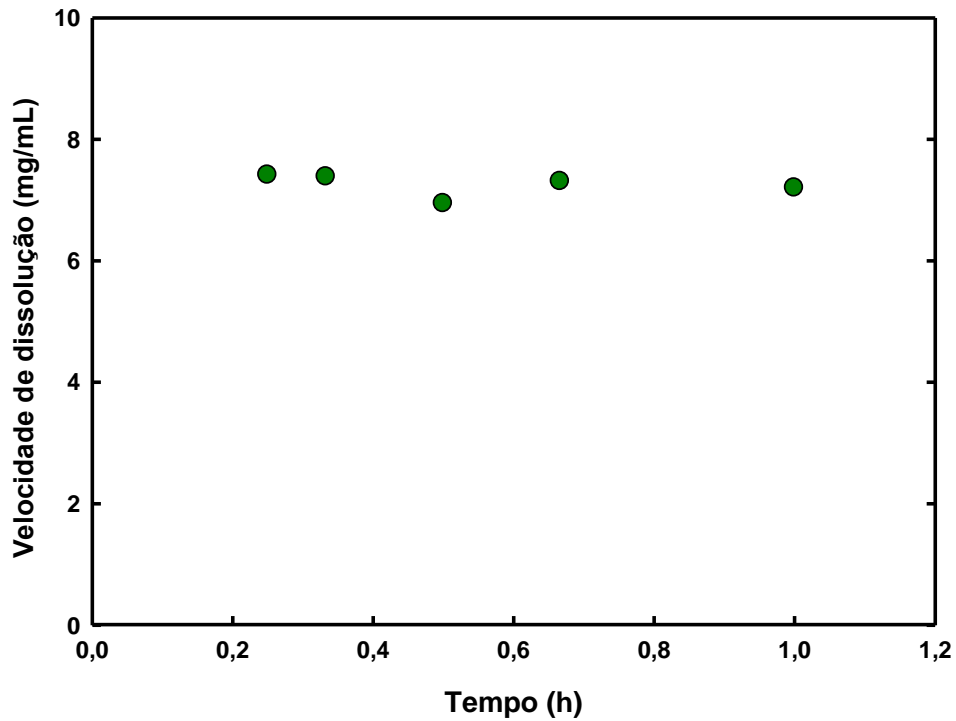


Figura 4.16 – Velocidade de dissolução do ácido 4-aminosalicílico a 37 °C, numa solução tampão 0,1 N HCL a pH=1,0.

Através da análise destas Figuras 4.14, 4.15 e 4.16 referentes à solução fisiológica de NaCl, à solução tampão fosfato a pH=6,8 e à solução 0,1 N HCl a pH=1,0 é possível inferir acerca da velocidade de dissolução do composto nestes solventes, sendo obtidos os tempos máximos em que se atinge o máximo de dissolução em aproximadamente 28 horas, 24 horas e 40 minutos, respectivamente.

4.4.2.2. Solubilidades em água

Os ensaios de solubilidades dos LIs baseados na colina e conjugados com diversos PAFs ácidos e dos respectivos PAFs de partida foram realizados em diversas condições, de forma a poder-se comparar e avaliar o efeito da formulação proposta na solubilidade e biodisponibilidade dos PAFs originais. Inicialmente efectuaram-se estudos de solubilidades em a água à temperatura de 25 °C. Os resultados obtidos para os diferentes PAFs referentes aos valores de solubilidades em água e a 25 °C apresentam-se ilustrados na Figura 4.17, e listados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 – Solubilidade dos LI-PAFs baseados no catião $[N_{1112OH}]^+$ e dos PAFs de partida, em água a 25 °C.

PAFs de partida e combinados com o catião colina	Solubilidade (mg/mL) (S ± σ)
Ácido Nalidíxico [N _{1112OH}][Nalidíxato]	0,028 ± 1,00x10 ⁻³ (0,031)* ⁽¹⁰⁴⁾ 95,12 ± 4,44
Ácido Niflúmico [N _{1112OH}][Niflúmato]	0,021 ± 1,00x10 ⁻³ (0,019)* ⁽¹⁰⁵⁾ 1123,6 ± 37,1
Ácido 4-aminosalicílico [N _{1112OH}][4-aminosalicilato]	4,55 ± 0,22 (2,0)* ⁽¹⁰⁸⁾ 101,3 ± 2,8
Ácido Pirazinóico [N _{1112OH}][Pirazinoato]	6,76 ± 0,06 (8,30)* ⁽¹⁰⁷⁾ 254,9 ± 7,3
Ácido Picolínico [N _{1112OH}][Picolinato]	466,7 ± 32,6 (887,0)* ⁽¹⁰⁶⁾ 350,4 ± 1,5

*Os valores assinalados entre parêntesis correspondem aos valores de solubilidades teóricas destes PAFs.

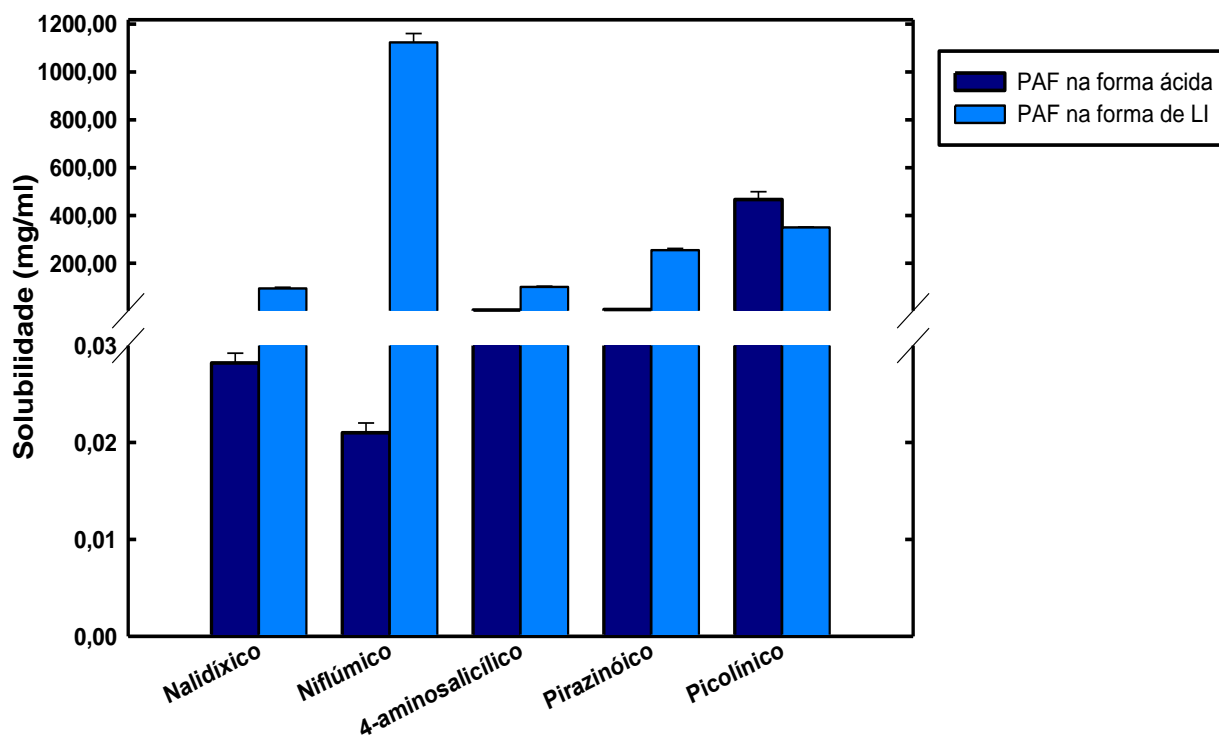


Figura 4.17 – Solubilidades relativas aos LI-PAFs, tanto na forma ácida como na forma de líquido iónico, em água e a 25 °C.

De acordo com a Figura 4.17 pode-se inferir que a formação de um líquido iónico com a presença do catião colina aumenta a solubilidade de todos os PAF de partida, à excepção do ácido picolínico. Este ácido já apresenta uma solubilidade elevada, com um valor de 466,7 mg/mL (classificado como PAF com uma solubilidade elevada, superior a 65 mg/mL, segundo a Tabela 2.1 do capítulo 2) e quando é transformado na forma de líquido iónico, conjugado com o catião colina, a solubilidade decresce, embora de forma não significativa, pois mantém-se na mesma ordem de grandeza, com um valor de 350,4 mg/mL. De recordar que tal como já foi referido na introdução, que o objectivo principal deste estudo para o ácido picolínico não é o aumento da sua solubilidade em água, mas a optimização de uma das suas principais funções como suplemento nutricional. O ácido picolínico é um agente quelante de elementos como o crómio, zinco, manganésio, cobre, ferro e molibdénio no corpo humano. Dado que a colina serve um número de funções no organismo, os LIs baseados no catião colina apresentam o potencial de penetrar nas membranas celulares e substituir a água nas células (120).

4.4.2.3. Solubilidades em Fluidos Biológicos

Além dos ensaios de solubilidades em água de LIs baseados em PAFs, foram também determinados valores de solubilidades destes compostos em fluidos biológicos simulados apropriados para testes de dissolução, indicados na Tabela 4.7, de forma a poder-se comparar e avaliar a sua solubilidade e biodisponibilidade nos locais potenciais de absorção.

Antes de se iniciar os ensaios em fluidos biológicos simulados, é útil verificar o pKa do PAF uma vez que consoante o pKa do PAF e o pH do solvente, podem existir diferentes espécies ou estados de ionização do princípio activo farmacêutico em solução. Os pKa's dos PAFs ácidos estudados encontram-se descritos na Tabela 4.9. Em meios ácidos, as bases fracas encontram-se predominantemente na forma ionizada, polar e com maior dificuldade para passar as membranas biológicas, ao contrário de ácidos fracos que se dissociam pouco, permanecendo na forma molecular, logo sendo mais lipossolúveis e com melhor capacidade de difusão.

Tabela 4.9 – Valores de pKa's a 25 °C para os PAFs de partida estudados.

PAF de partida	pKa (25 °C)
Ácido nalidíxico	6,04 ⁽¹²¹⁾
Ácido niflúmico	4,31 ⁽¹²²⁾
Ácido picolínico	1,31; 5,26 ⁽¹²³⁾
Ácido pirazinóico	2,90 ⁽¹²⁴⁾
Ácido 4-aminosalicílico	1,78; 3,63 ⁽¹²⁵⁾

Na Tabela 4.10 encontram-se listadas as solubilidades de cada um dos PAF nos diferentes fluidos biológicos. Nas Figuras 4.18 – 4.22 optou-se por comparar para cada PAF a solubilidade das diversas formas, na forma de ácido e na forma do respectivo líquido iónico, em que o PAF é utilizado como anião e a colina utilizado como catião, nos vários solventes estudados. Além desta análise é também possível em cada figura, inferir-se acerca dos resultados obtidos a 25 °C em água e dos resultados para cada um dos fluidos biológicos a 37 °C, para ambas as formas do PAF.

Tabela 4.10 - Solubilidade (mg/mL) dos LI-PAFs baseados no catião $[N_{1112OH}]^+$ e dos respectivos PAFs de origem nos diferentes fluidos biológicos a 37 °C.

PAFs de partida e combinados com o catião colina	Fluido gástrico simulado (pH=1,0) 37 °C (S ± σ)	Fluido intestinal simulado (pH=6,8) 37 °C (S ± σ)	Solução fisiológica NaCl 37 °C (S ± σ)
Ácido Nalidíxico [N _{1112OH}][Nalidixato]	0,052 ± 2,00x10 ⁻³ 14,1 ± 0,227	0,330 ± 13,5x10 ⁻³ 38,9 ± 0,425	0,057 ± 5,45x10 ⁻⁴ 95,3 ± 1,41
Ácido Niflúmico [N _{1112OH}][Niflúmato]	0,659 ± 5,17x10 ⁻² 77,6 ± 3,76	1,54 ± 0,102 333,9 ± 36,1	0,086 ± 1,45x10 ⁻³ 952,8 ± 46,1
Ácido 4-aminosalicílico [N _{1112OH}][4-aminosalicilato]	7,24 ± 0,171 19,6 ± 0,383	9,96 ± 0,129 152,3 ± 0,821	13,4 ± 87,7x10 ⁻³ 777,0 ± 0,712
Ácido Pirazinóico [N _{1112OH}][Pirazinoato]	8,55 ± 0,138 67,2 ± 2,21	13,3 ± 0,501 318,5 ± 8,11	9,75 ± 0,513 220,7 ± 10,6
Ácido Picolínico [N _{1112OH}][Picolinato]	535,1 ± 4,81 1195,9 ± 6,33	689,7 ± 19,21 3285,6 ± 1,82	655,4 ± 0,881 —

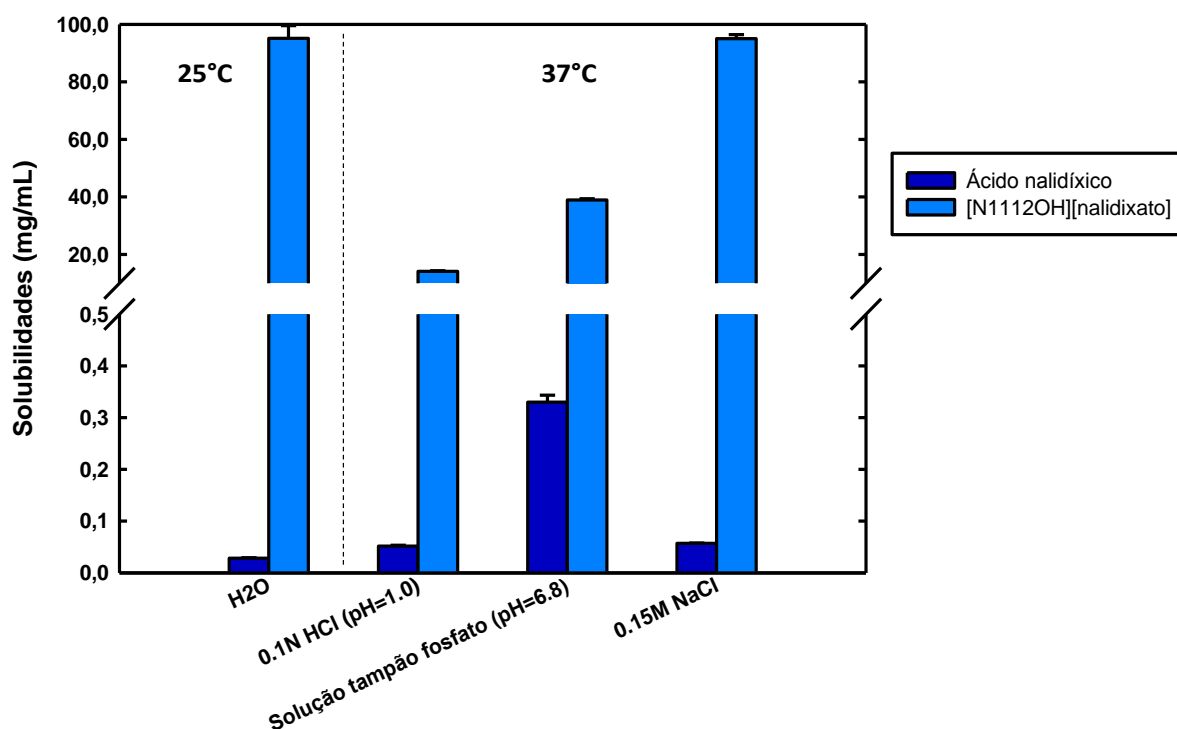


Figura 4.18 – Solubilidades do PAF ácido nalidíxico e respectivo líquido iónico, $[N_{1112OH}][Nalidixato]$, em água a 25 °C e em fluidos biológicos simulados a 37 °C.

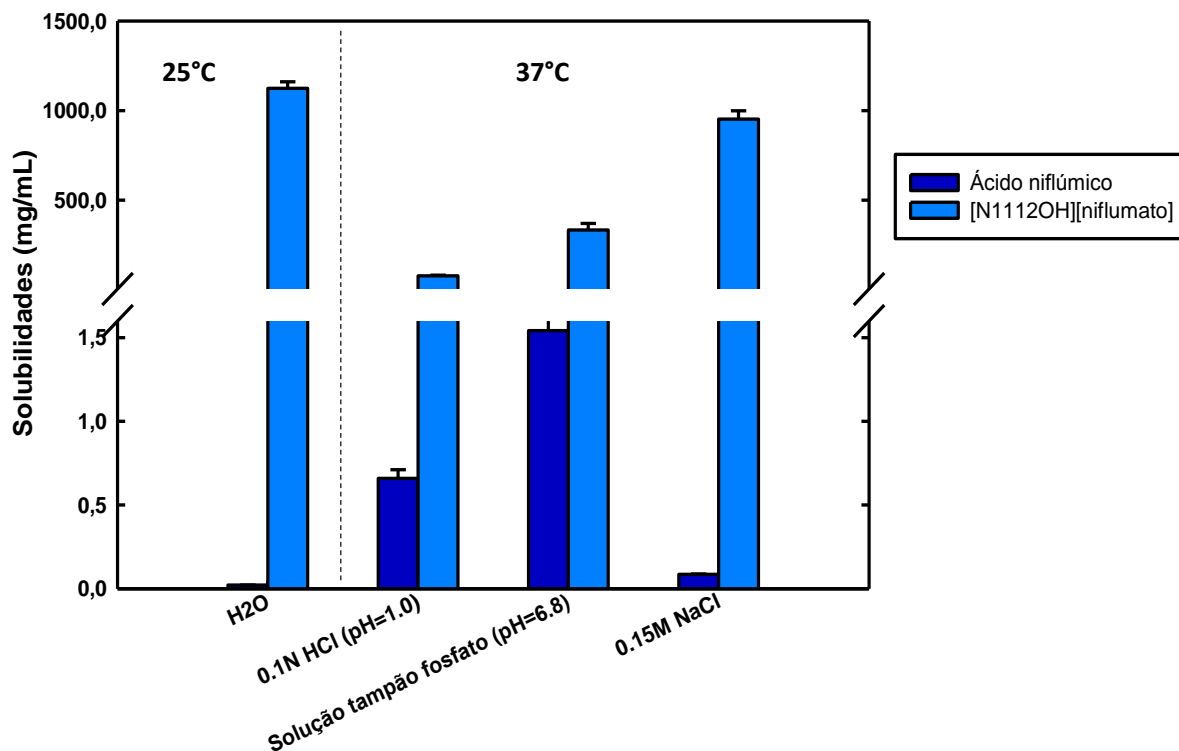


Figura 4.19 – Solubilidades do PAF ácido niflúmico e respectivo líquido iónico, [N₁₁₁₂OH][Niflúmato], em água a 25 °C e em fluidos biológicos simulados a 37 °C.

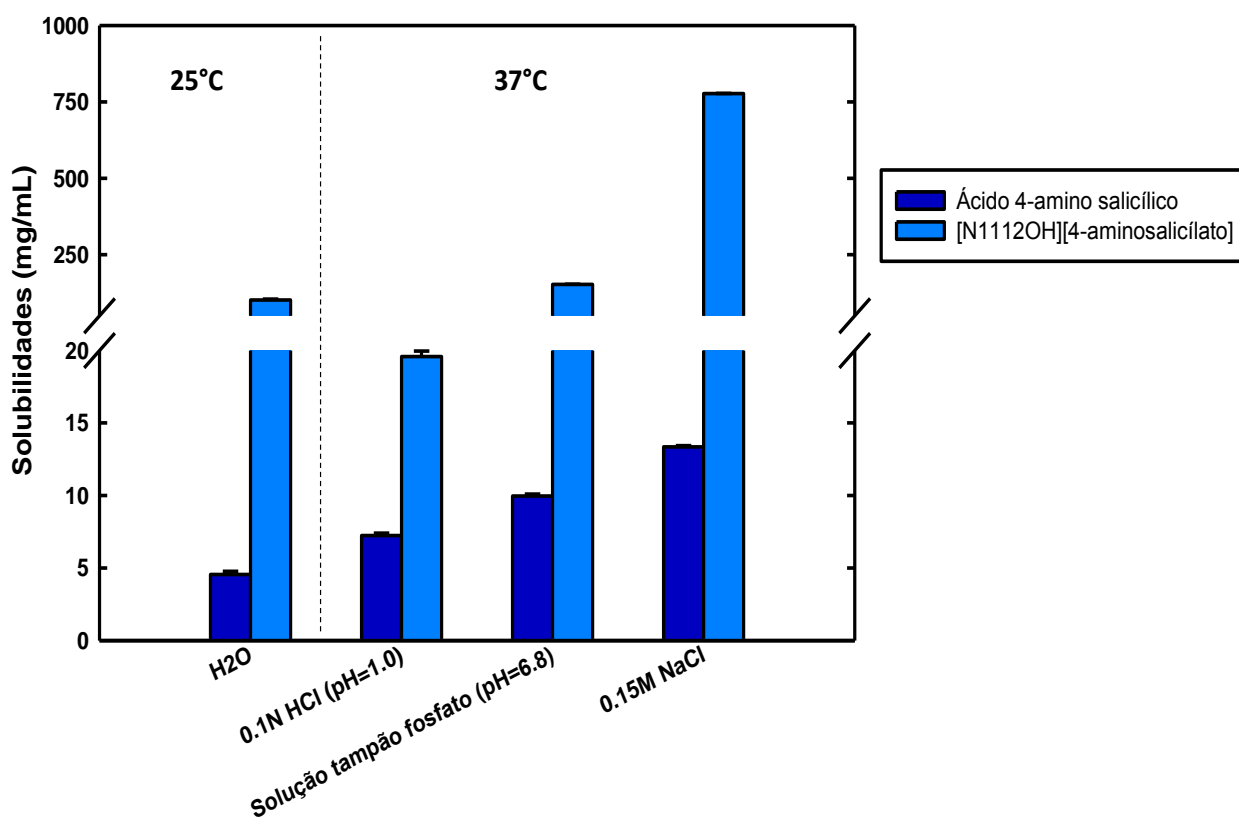


Figura 4.20 – Solubilidades do PAF ácido 4-aminosalicílico e respectivo líquido iónico, [N₁₁₁₂OH][4-aminosalicilato], em água a 25 °C e em fluidos biológicos simulados a 37 °C.

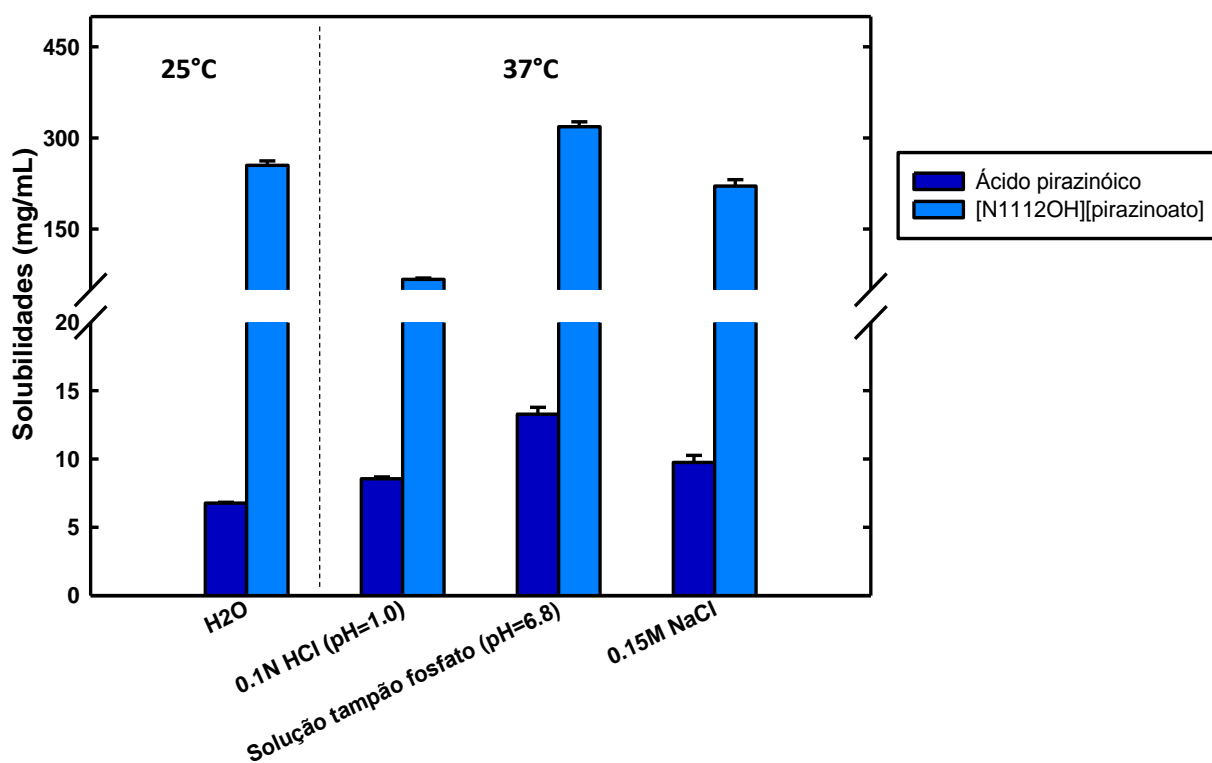


Figura 4.21 – Solubilidades do PAF ácido pirazinóico e respectivo líquido iónico, [N₁₁₁₂OH][pirazinoato], em água a 25 °C e em fluidos biológicos simulados a 37 °C.

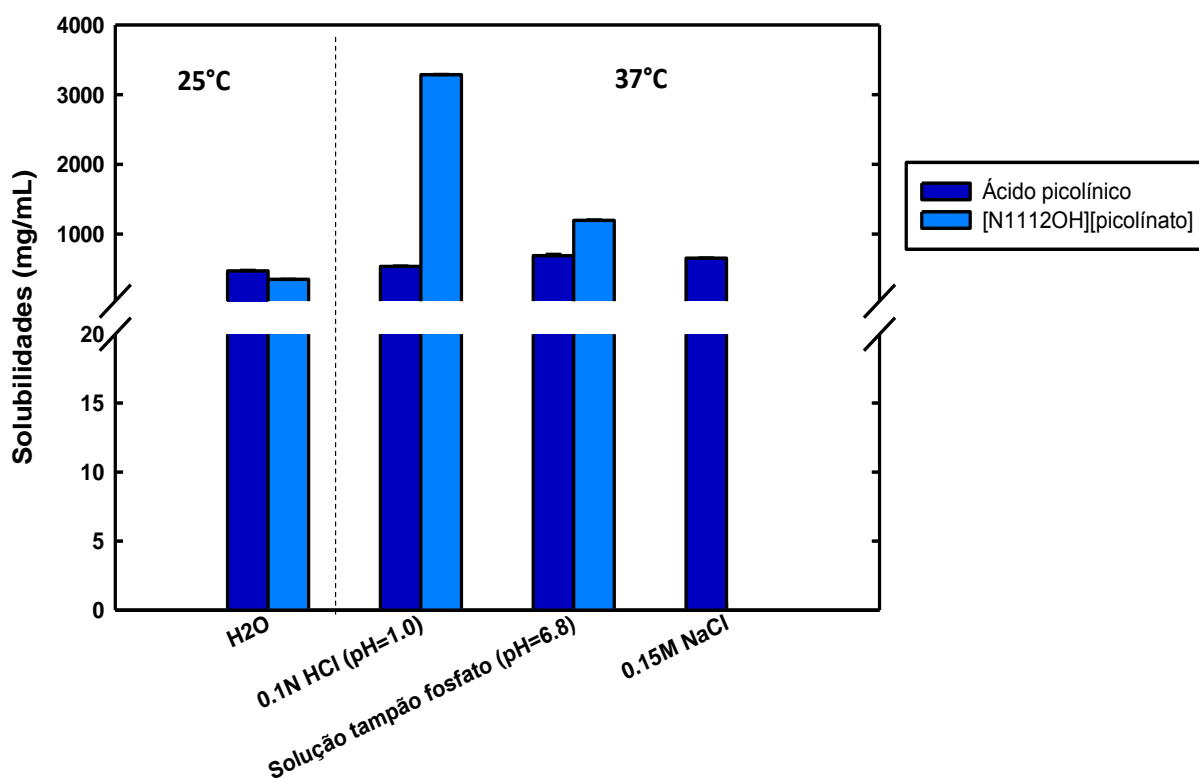


Figura 4.22 – Solubilidades do PAF ácido picolínico e respectivo líquido iónico, [N₁₁₁₂OH][picolínato], em água a 25 °C e em fluidos biológicos simulados a 37 °C.

De uma maneira geral é possível enunciar a evidência do aumento de solubilidades dos PAFs na forma de líquido iónico em relação aos PAFs de partida, tanto para a temperatura de 25 °C como para a temperatura de 37 °C, e o mesmo se verifica para qualquer um dos fluidos biológicos simulados utilizados. Outra das conclusões que se pode retirar da análise destas figuras é o factor de aumento das solubilidades, que é sempre muito superior quando se utiliza como solvente a água em relação aos fluidos biológicos.

Quando tecemos as comparações entre os resultados obtidos em água com aqueles obtidos nos fluidos biológicos para os PAFs de partida, é possível inferir acerca do efeito que valor do pH do solvente apresenta na solubilidade. Em relação aos valores obtidos para cada solvente, e através da análise das figuras e da Tabela 4.9 é perceptível que existe uma tendência lógica para os valores de solubilidades obtidos. Em relação aos PAFs na forma de ácidos, verifica-se sempre uma menor solubilidade em água e a 25 °C, em simultâneo com a solução fisiológica de 0,15 M de NaCl, uma vez que apresentam aproximadamente o mesmo valor de pH (~ 7,0), e portanto as diferenças residem apenas na presença de NaCl e na temperatura. Embora em alguns casos a solubilidade na solução fisiológica seja superior à obtida em água, estes dois valores nunca se apresentam muito discrepantes. Em relação às solubilidades determinadas para a solução de 0,1 N de HCl verifica-se em quase todos os casos, que esta apresenta valores de solubilidades intermédios, ou seja, são sempre superiores aos valores obtidos a 25 °C em água e sempre inferiores à solução tampão fosfato a pH=6,8. Em relação às solubilidades obtidas para a solução fisiológica de NaCl, verifica-se sempre uma diminuição das solubilidades para a solução de 0,1 N de HCl ou em alguns casos os valores de solubilidades são idênticos para ambos os solventes.

Em relação aos PAFs na forma de líquido iónico, e ao invés do que se verifica para a forma ácida, os valores de solubilidades são superiores em água a 25 °C e na solução fisiológica de NaCl a 37 °C, verificando-se em alguns casos a obtenção de valores de solubilidade idênticos para ambas as soluções. Seguidamente, destaca-se os valores de solubilidade menores que são obtidos na solução de 0,1 N de HCl a pH=1, apresentando-se sempre de forma consistente. Por fim, a solução tampão fosfato a pH=6,8 apresenta valores de solubilidades superiores aos obtidos para a solução a pH=1,0 e inferiores ou por vezes idênticos aos valores obtidos para a solução fisiológica de NaCl.

De acordo com o PAF em questão e devido às características físico-químicas que cada um apresenta, podem existir excepções nos valores de solubilidade obtidos e de acordo com as conclusões enunciadas acima. Uma excepção verificada neste trabalho e que se destaca dos restantes PAFs, é o ácido picolínico. Este princípio activo farmacêutico, na forma ácida, ao contrário dos restantes que apresentam solubilidades reduzidas, numa gama de 0,021 mg/mL a 6,76 mg/mL, apresenta um valor de solubilidade muito superior (aproximadamente 15000 vezes superior), com um valor de solubilidade de 471,4 mg/mL. Se já na forma ácida se verifica uma excepção, quando transformado na forma de líquido iónico o mesmo se verifica, pois pela análise da Figura 4.22 este apresenta uma solubilidade superior a pH=1,0 ao invés dos restantes PAFs que apresentam solubilidades inferiores

neste solvente. É importante ainda referir que este composto até à finalização dos ensaios experimentais se apresentava completamente solúvel nas soluções de 0,1N HCl pH=1,0 e de tampão fosfato pH=6,8 (por método visual), e quando quantificadas por espectroscopia de UV-vis apresentaram valores de quantidade dissolvida de 3285,6 mg/mL e 1195,9 mg/mL, respectivamente.

4.5. Concentrações micelares críticas (CMC's)

O estudo sobre a possibilidade de formação micelar em moléculas naturais e fármacos é essencial para a avaliação das suas propriedades e da sua influência nos processos biológicos. Para alguns dos líquidos iónicos baseados nos PAFs estudados neste trabalho, não foi possível determinar as solubilidades em água, uma vez que estes apresentam propriedades tensioactivas. Assim, foi necessário determinar as suas concentrações micelares críticas, uma vez que este é um parâmetro que descreve a forma como um composto se organiza numa solução aquosa. Assim, através de valores de condutividade em função da concentração do LI (procedimento descrito na secção 3.2.4 do capítulo 3) determinou-se experimentalmente as CMC's dos LIs surfactantes: [C₁₆Pir][Cl] (Cloreto de Cetilpiridínio), [C₁₆Pir][Amp] (Ampicilinato de Cetilpiridínio), [C₁₆Pir][Ibu] (Ibuprofenato de Cetilpiridínio), [Aliquat][Ibu] (Ibuprofenato de Aliquat), [P_{6,6,6,14}][Ibu] (Ibuprofenato de Fosfónio) e [OHC₂MIM][Docusato] (Docusato de 1-hidroxietil-3-metilimidazólio).

Antes de se iniciarem os ensaios de determinação das CMC's destes líquidos iónicos, foi necessário efectuar a validação do método, através da determinação da CMC de um surfactante tabelado, o [C₁₆Pir][Cl]. Tal como foi anteriormente descrito na parte experimental, o valor da CMC é obtido por intersecção das duas rectas que representam duas gamas de concentração onde a condutividade é efectuada de formas distintas, como se pode observar na Figura 4.23. O [C₁₆Pir][Cl] apresentou um valor de CMC de 0,330 g/L, o que se demonstrou ser concordante com a bibliografia (0,339 g/L) (126).

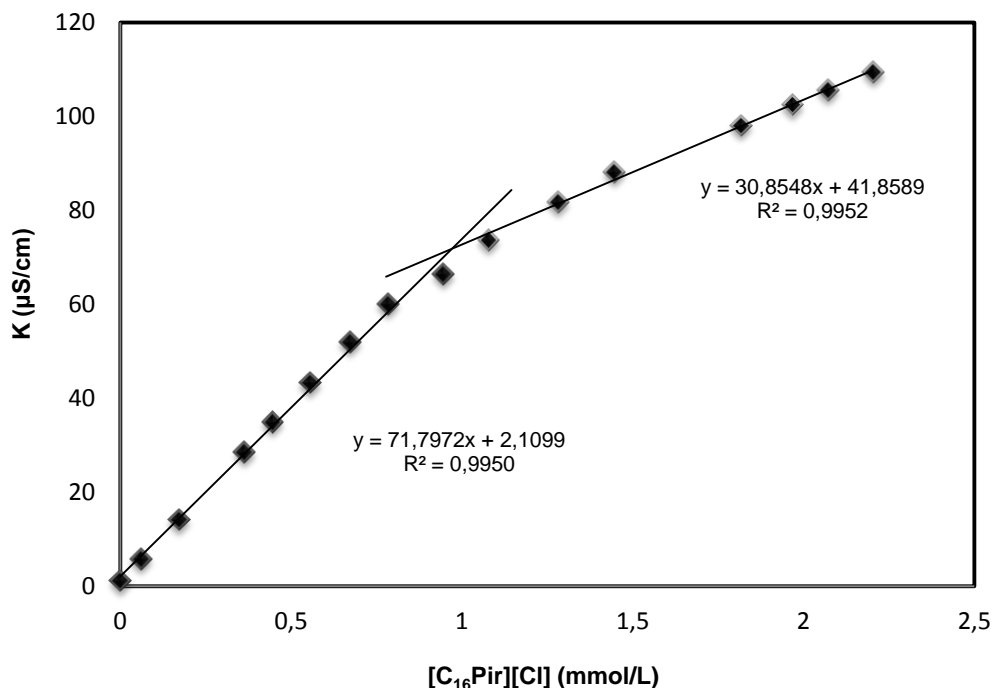


Figura 4.23 – Determinação da CMC do LI Cloreto de cetilpiridínio ([C₁₆Pir][Cl]), em água a 25 °C através da medição da conduividade em função da concentração do tensoactivo.

Assim, através da medição da conduividade em função da concentração do LI determinaram-se experimentalmente as CMC's dos LIs surfactantes: [C₁₆Pir][Cl] (Cloreto de Cetilpiridínio), [C₁₆Pir][Amp] (Ampicilinato de Cetilpiridínio), [C₁₆Pir][Ibu] (Ibuprofenato de Cetilpiridínio), [Aliquat][Ibu] (Ibuprofenato de Aliquat), [P_{6,6,6,14}][Ibu] (Ibuprofenato de Fosfónio) e [OHC₂MIM][Docusato] (Docusato de 1-hidroxietil-3-metilimidazólio) obtendo-se os valores descritos na Tabela 4.11. Os valores de conduividade assim como as suas representações gráficas encontram-se no anexo E. Através da análise das Figuras do anexo E é possível observar em todas elas a ocorrência de uma CMC, apesar de não ser tão evidente em todos os casos, devido à influência de vários factores, como a natureza do tensoactivo, a temperatura e a força iónica.

Tabela 4.11 – CMC de Líquidos iónicos tensoactivos formulados apartir de princípios activos farmacêuticos a 25 °C e em água.

LIs tensoactivos	CMC's (g/L)	CMC's (mmol/L)
[C ₁₆ Pir][Amp]	0,290	0,444
[C ₁₆ Pir][Ibu]	0,036	0,069
[P _{6,6,6,14}][Ibu]	0,556	0,807
[Aliquat][Ibu]	0,194	0,350
[OHC ₂ MIM][Docusato]	0,301	0,549

Com base nestes resultados é possível inferir acerca dos valores de CMC's obtidos, nomeadamente observar as diferenças dos valores obtidos experimentalmente para os LIs constituídos pelo mesmo catião surfactante, cetilpiridínio ([C₁₆Pir]⁺) conjugado com diferentes contra-íões, e comparar o efeito da natureza do catião nas CMC's dos líquidos iónicos baseados no PAF ibuprofeno (anião ibuprofenato, [Ibu]⁻).

Dos LIs baseados no catião cetilpiridínio ([C₁₆Pir]⁺), o que apresenta uma maior CMC é o [C₁₆Pir][Cl]. Resultado expectável, dado que quanto menor o tamanho do contra-íão, maior será a CMC, devido à presença de um grau de hidratação maior para íões mais pequenos e mais electropositivos, tornando mais difícil o processo de formação de micelas. Os íões menos hidratados podem ser facilmente adsorvidos nas superfícies micelares e assim acabam por diminuir a repulsão das cargas entre os grupos polares, conduzindo à formação de micelas grandes. Adicionalmente, a presença de contra íões de natureza orgânica (ampicilinato e ibuprofenato) confere ao LI um valor de CMC mais baixo e, conseqüentemente um número de agregados mais elevado do que na presença de contra íões inorgânicos.

Outra análise possível é a comparação dos LIs que apresentam o mesmo anião, [Ibu]⁻, e se encontram conjugados com diferentes agentes surfactantes. Aquele que apresenta um maior valor de CMC é o [P_{6,6,6,14}][Ibu] e o que apresenta um menor valor de CMC é o [C₁₆Pir][Ibu]. O factor determinante para esta diferença nas CMC's é a hidrofobicidade, que pode ser medida pelo número de carbonos que possuem na cadeia hidrocarbonada. Quanto maior for o número de carbonos na cadeia apolar, menor será o valor da sua CMC, e conseqüentemente maior será o número de agregados formados e o seu tamanho.

A natureza modular intrínseca dos líquidos iónicos permite a obtenção de LIs baseados em PAFs com propriedades surfactantes, que podem apresentar uma série de vantagens e potenciais utilizações em sistemas biológicos. As micelas são actualmente utilizadas na formulação de emulsões

para a entrega de fármacos pouco solúveis em água, porque elas podem solubilizar o componente activo no seu núcleo interno, protegendo-o do contacto com o ambiente aquoso envolvente. Assim, o invólucro da micela proporciona uma maior estabilização no meio aquoso e interage com as proteínas plasmáticas e as membranas celulares. Os LIs biologicamente activos com propriedades surfactantes apresentam um enorme potencial na veiculação de fármacos, permitindo que os transportadores micelares apresentem actividade biológica, possibilitando uma minimização de efeitos secundários do fármaco veiculado ou o desenvolvimento de novas terapias com a conjugação de dois compostos activos. Todas estas possibilidades oferecem interessantes avenidas a serem exploradas.

Capítulo 5

5.1. Síntese do Trabalho e Conclusões

O presente trabalho incidiu no desenvolvimento de uma plataforma de síntese de líquidos iónicos biologicamente activos, em que o anião é um princípio activo farmacêutico (ampicilina, ibuprofeno, naproxeno, ácido nalidíxico, ácido niflúmico, ácido picolínico, ácido pirazinóico, ácido 4-aminosalicílico) e o catião é de natureza orgânica variada, de reduzida toxicidade, biocompatível e alguns biodegradáveis (p.e. colina). O objectivo desta dissertação enquadrava-se na adequação de algumas propriedades dos PAFs, nomeadamente a sua solubilidade em água e fluidos biológicos, assim como o coeficiente de partição octanol – água de forma a aumentar a sua biodisponibilidade. Foram ainda sintetizados e estudados LIs baseados em PAFs com propriedades tensioactivas para possível utilização na veiculação de fármacos.

Através da caracterização térmica dos líquidos iónicos baseados em PAFs, verificou-se que através de uma selecção criteriosa do catião orgânico, é possível modificar propriedades térmicas importantes, tais como, ponto de fusão e estabilidade térmica. Para todos os líquidos iónicos baseados em PAFs estudados no presente trabalho, verificou-se uma redução efectiva do ponto de fusão comparativamente com os PAFs de partida. No entanto, a maioria dos PAFs estudados neste trabalho apresentam-se ainda no estado sólido à temperatura ambiente. Por outro lado, os resultados obtidos demonstram que a selecção criteriosa do catião orgânico permite provocar importantes alterações nas propriedades físicas dos PAFs de partida, verificando-se um aumento das solubilidades em água e em fluidos biológicos, e um aumento do potencial de permeação em membranas dos PAFs de partida quando transformados em LIs.

Relativamente aos PAFs ampicilina, ibuprofeno e naproxeno, que foram conjugados com diversos catiões orgânicos com base na plataforma sintética proposta, os resultados demonstraram-se unânimes e concluiu-se que as solubilidades em água, para ambas as temperaturas, podem ser melhoradas consoante o catião conjugado com o PAF, pois este influencia directamente a solubilidade de acordo com a sua estrutura química e polaridade. Verificaram-se casos de sucesso, em que se conseguiu aumentar as solubilidades num factor de 1000. Adicionalmente, os coeficientes de partição octanol – água para os LIs baseados no PAF ampicilina, indicam que a formulação do PAF ampicilina na forma de LI, para todos os catiões considerados, permite um aumento do coeficiente de partição octanol – água relativamente ao PAF de partida. É relevante salientar a concordância entre o efeito do catião na solubilidade em água e nos K_{ow} 's dos líquidos iónicos baseados na ampicilina, o que permitiu validar estes dois procedimentos experimentais independentes, a determinação da solubilidade em água e dos coeficientes de partição octanol – água.

Tendo em consideração a renitência da área das biociências na utilização de líquidos iónicos, principalmente devido à toxicidade dos contra-íões, sintetizaram-se LIs com diversos ácidos orgânicos com propriedades farmacêuticas, conjugados com o catião colina, um micronutriente essencial, de modo a desenvolver-se LIs baseados em componentes biocompatíveis, biodegradáveis e de reduzida

toxicidade. Para além das solubilidades em água (25 °C), para estes LIs foi determinada a solubilidade a 37 °C em fluidos biológicos, uma vez que a maioria dos PAFs são absorvidos maioritariamente ao nível da mucosa gástrica e intestinal. A partir destes resultados, concluiu-se que a solubilidade embora aumentada da mesma forma que em água a 25 °C, depende dos valores de pH e força iónica, verificando-se uma tendência de solubilidades superiores para a solução de pH superior ou mais básico (solução isotónica de NaCl e fluido intestinal simulado – pH = 6,8) e solubilidades inferiores para a solução de pH inferior ou mais ácido (fluido gástrico simulado – pH = 1,0).

Verificou-se ainda que o catião colina apresenta uma série de vantagens para a sua utilização nestes estudos, dado que todos os PAFs estudados no presente trabalho (ampicilina, ibuprofeno, naproxeno, ácido nalidíxico, ácido niflúmico, ácido picolínico, ácido pirazinóico e ácido 4-aminosalicílico) apresentam resultados melhorados de solubilidade e biodisponibilidade quando combinados com o catião colina. Este catião apresenta portanto propriedades promissoras e interessantes para investigações na área da biomedicina, uma vez que é considerado um micronutriente essencial do organismo.

Por fim, foram também desenvolvidos LIs baseados em PAFs que apresentam na sua constituição catiões com propriedades tensioactivas, tendo-se determinado as suas concentrações micelares críticas. Estes LI-PAFs com propriedades surfactantes apresentam potenciais aplicações para veiculação de fármacos.

Sumariando, os estudos efectuados apresentaram resultados promissores, na medida em que foi possível verificar o aumento das solubilidades em água e em fluidos biológicos, e do potencial de permeação em membranas dos PAFs de partida quando transformados em LIs. Foram também desenvolvidos LI-PAFs com propriedades surfactantes, com potenciais aplicações para veiculação de fármacos. Os resultados obtidos oferecem novas e interessantes avenidas de investigação para ambas as comunidades, farmacêutica e dos líquidos iónicos.

5.2. Desenvolvimentos Futuros

Perante os resultados obtidos é possível concluir sobre a importância deste estudo na 3ª geração de LIs, onde se enquadram os líquidos iónicos baseados em princípios activos farmacêuticos e a sua investigação em estudos posteriores para novos desenvolvimentos em aplicações biomédicas, farmacêuticas e biotecnológicas. Nas últimas duas décadas têm sido realizados esforços importantes na compreensão das propriedades físico-químicas dos LIs que têm conduzido à sua vasta gama de aplicações, e ao seu desenvolvimento. No entanto, é necessária mais investigação nesta área, de forma a explorar mais detalhadamente as suas aplicações biomédicas.

Uma melhor compreensão das propriedades, especialmente a toxicidade, poderá ajudar no desenvolvimento de novos LIs como princípios activos farmacêuticos e torná-los vantajosos através

das inúmeras aplicações possíveis. Uma nova estratégia de modelação dos LIs, através das inúmeras conjugações de catiões e aniões possíveis, tem o potencial de transformar e proporcionar à indústria farmacêutica e médica, PAFs com actividades melhoradas (solubilidades e biodisponibilidade), aplicados em novas opções de tratamentos ou mesmo através de medicação personalizada.

Esta abordagem pode apresentar-se como uma plataforma para melhorar a actividade de PAFs, que muitas vezes são reprovados pelas autoridades reguladoras em ensaios clínicos de última fase, e em vez de serem ignorados ou descartados, podem ser consideradas alternativas ao contorno de problemas no estado sólido, através de uma infinidade de novas possibilidades, desafios e oportunidades.

Bibliografía

6. Referências Bibliográficas

1. **Troutman, Whitney L. Hough, et al.** Ionic liquids with dual biological function: sweet and anti-microbial, hydrophobic quaternary ammonium-based salts. 2009, Vol. 33, pp. 26-33.
2. **Cole, Marsha R., et al.** Design, Synthesis, and Biological Evaluation of B-Lactam Antibiotic-Based Imidazolium- and Pyridinium-Type Ionic Liquids. 2011, Vol. 78, pp. 33-41.
3. **Ferraz, Ricardo, et al.** Ionic Liquids as Active Pharmaceutical Ingredients. 2011, Vol. 6, pp. 975–985.
4. **Soltanpour, Sh. e Jouyban, A.** Solubility of acetaminophen and ibuprofen in polyethylene glycol 600, propylene glycol and water mixtures at 25°C. 2010, Vol. 155, pp. 80-84.
5. **Restolho, José, Mata, José Luis e Saramago, Benilde.** Peculiar surface behavior of some ionic liquids based on active pharmaceutical ingredients. 2011, Vol. 134.
6. **Blagden, N., et al.** Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. 2007, Vol. 59, pp. 617-630.
7. **Prista, Luís Nogueira e col.** Tecnologia Farmacêutica. s.l. : Fundação Calouste Gulbenkian, 6ª edição, 2003. Vol. I.
8. Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de Agosto; Artigo 3º; alínea ee). [Online] [Citação: 15 de Julho de 2012.] <http://www.dre.pt/pdf1s/2006/08/16700/62976383.pdf>.
9. **Gassmann, O., et al.** Leading Pharmaceutical Innovation Trends and Drivers for Growth in the Pharmaceutical Industry. Berlin : Springer, 2009.
10. **Hulse, Wendy L., Gray, Jason e Forbes, Robert T.** A discriminatory intrinsic dissolution study using UV area imaging analysis to gain additional insights into the dissolution behaviour of active pharmaceutical ingredients. 2012, Vol. 434, pp. 133-139.
11. **Kawakami, Kohsaku.** Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs. 2012, pp. 480-495.
12. **Shrama, A. e Jain, C. P.** Techniques to enhance solubility of poorly soluble drugs: A review. s.l. : Journal of Global Pharma Technology, 2010. pp. 18-28. Vol. 2.

13. **Amidon, Gordon L., Lee, Ping I. e Topp, Elizabeth M.** Transport Processes in Pharmaceutical Systems. Amidon, G. L.; Lee P. I., & Topp E. M., Eds. Marcel Dekker, Inc, New York, 2001.). New York : Marcel Dekker, Inc., 2001.
14. Guidance for Industry, Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General considerations. [Online] [Citação: 23 de Julho de 2012.] <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070124.pdf>.
15. **Babu, N. Jagadesh e Nangia, Ashwini.** Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals. 2011, Vol. 11, pp. 2662-2679.
16. **Dahan, Arik, Miller, Jonathan M. e Amidon, Gordon L.** Prediction of Solubility and Permeability Class Membership: Provisional BCS Classification of the World's Top Oral Drugs. 2009, Vol. 11, pp. 740-746.
17. **Zhou, Liping, et al.** Development of a high throughput equilibrium solubility assay using miniaturized shake-flask method in early drug discovery. 2007, Vol. 96, pp. 3052 - 3071.
18. **Sjöblom, J., Lindbergh, R. e Friberg, S.** Microemulsions - phase equilibria characterization, structures, applications and chemical reactions Advances In Colloid and Interface Science. 1996, Vol. 65, pp. 125–287.
19. **Danielsson, I. e Lindman, B.** The definition of a microemulsion, Colloids and Surfaces. 1981, Vol. 3, pp. 391–392.
20. **Chaudhary, Amit, et al.** Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. 2012, Vol. 2, pp. 32-67.
21. **Lieberman, H. A. e Rieger, M. M., Banker, G. S.** Pharmaceutical dosage forms. New York : Marcel Dekker, Inc., 1998.
22. **Patel, D. e Sawant, KK.** Self micro-emulsifying drug delivery system: formulation development and biopharmaceutical evaluation of lipophilic drugs. 2009, Vol. 6, pp. 419-424.
23. **Sha, Xianyi, et al.** Self-microemulsifying drug-delivery system for improved oral bioavailability of probucol: preparation and evaluation. 2012, Vol. 7, pp. 705–712.
24. **Strickley, RG.** Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. 2004, Vol. 21, pp. 201-230.

25. **Fakhree, Mohammad Amin Abolghassemi, et al.** The Importance of Dielectric Constant for Drug Solubility Prediction in Binary Solvent Mixtures: Electrolytes and Zwitterions in Water+Ethanol. 2010, Vol. 11, pp. 1726–1729.
26. **Chaumeil, JC.** Micronization: A method of improving the bioavailability of poorly soluble drugs. 1998, Vol. 20, pp. 211-215.
27. **Patel, Rakesh P., Baria, Ashok H. e Patel, Nikunjana A.** An overview of size reduction technologies in the field of pharmaceutical manufacturing. 2008, Vol. 2, pp. 216-220.
28. **Carneiro, Cláudia Alexandra Vieira.** O papel das interações fármaco-membrana nos efeitos cardiovasculares de β -bloqueadores. Porto : Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 2010.
29. **Avdeef, A., et al.** pH-Metric logP 10. Determination of liposomal membrane-water partition coefficients of ionizable drugs. 1998, Vol. 15.
30. **Barton, Patrick, et al.** Drug-Phospholipid Interactions. 2. Predicting the Sites of Drug Distribution Using n-Octanol/Water and Membrane/Water Distribution Coefficients. 2000, Vol. 86, pp. 1034-1039.
31. **Schraéder, Wolfgang e Andersson, Jan T.** Fast and Direct Method for Measuring 1-Octanol/Water Partition Coefficients Exemplified for Six Local Anesthetics. 2001, Vol. 90, pp. 1948-1954.
32. **Lee, Sang Hyun e Lee, Sun Bok.** Octanol/water partition coefficients of ionic liquids. 2009, Vol. 84, pp. 202-207.
33. **Reichel, Andreas e Begley, David J.** Potential of Immobilized Artificial Membranes for Predicting Drug Penetration Across the Blood–Brain Barrier. 1998, Vol. 15, pp. 1270-1274.
34. **Ropel, Laurie, et al.** Octanol–water partition coefficients of imidazolium-based ionic liquids. 2005, Vol. 7, pp. 83-90.
35. **Leo, Albert J.** Some advantages of calculating octanol-water partition coefficients. 1987, Vol. 76, pp. 166-168.
36. **Lu, Jie.** Crystallization and transformation of pharmaceutical solid forms. 2012, Vol. 6, pp. 581-891.
37. **Kumar, Vineet e Malhotra, V.** Ionic Liquids as Pharmaceuticals Salts: A historical perspective in Ionic Liquid Applications: Pharmaceuticals, Therapeutics, and Biotechnology. s.l. : American Chemical Society, 2010. pp. 1-11.

38. **Stoimenovski, Jelena, et al.** Crystalline vs. Ionic Liquid Salt Forms of Active Pharmaceutical Ingredients: A Position Paper. 2009, Vol. 27, pp. 521 - 526 .
39. **Byrn, Stephen R., Pfeiffer, Ralph R. e Stow, Joseph G.** Solid-State Chemistry of Drugs. s.l. : West Lafayette: SSCI, Inc., 1999.
40. **MA., Perrin.** Crystallography of drug polymorphism: emergence of new resolution methods and prediction of crystalline structures. 2002, Vol. 60, pp. 187-202.
41. **Purohit, Rahul e Venugopalan, P.** Polymorphism: An overview. s.l. : Resonance, 2009. pp. 882-893. Vol. 14.
42. **Hilfiker, Rolf, Blatter, Fritz e Raumer, Markus von.** Relevance of Solid-state Properties for Pharmaceutical Products. Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry. 2006.
43. **Ya, Liu.** Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. 2001, Vol. 48, pp. 27–42.
44. **Van, Patricia Arnum.** Advancing Approaches in Detecting Polymorphism. 2007, pp. 58-64.
45. **SX, Yin e JA, Grosso.** Selecting and controlling API crystal form for pharmaceutical development--strategies and processes. 2008, Vol. 11, pp. 771-777.
46. **Bauer, J., et al.** Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. 2001, Vol. 18, pp. 859-866.
47. **Lu, J. e Rohani, S.** Polymorphism and crystallization of active pharmaceutical ingredients (APIs). 2009, Vol. 16, pp. 884-905.
48. **Newman, Ann W. e Byrn, Stephen R.** Solid-state analysis of the active pharmaceutical ingredient in drug products. 2003, Vol. 8, pp. 898-905.
49. **Dean, Palmela M., et al.** Exploring an Anti-Crystal Engineering Approach to the Preparation of Pharmaceutically Active Ionic Liquids. 2009, Vol. 9, pp. 1137-1145.
50. **Hough, Whitney L., et al.** The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients. 2007, Vol. 31, pp. 1429-1436.
51. **Ferraz, Ricardo, et al.** Development of novel ionic liquids based on ampicillin. 3, 2012, pp. 494-497.
52. **Yang, Zhen e Pan, Wubin.** Ionic liquids: Green solvents for nonaqueous biocatalysis. 2005, Vol. 37, pp. 19-28.

53. **Marsh, K. N., Boxall, J. A. e Lichtenthaler, R.** Room temperature ionic liquids and their mixtures-a review. 2004, Vol. 219, pp. 93-98.
54. **Chiappe, C. e Pieraccini, D.** Ionic liquids: solvents properties and organic reactivity. 2005, Vol. 18, pp. 275-297.
55. **Ferreira, Jeannette Pereira de Sousa.** Extração de Hemiceluloses com Líquidos Iônicos. Aveiro : s.n., 2009.
56. **Weingartner, Hermann.** Understanding Ionic Liquids at the Molecular Level: Facts, Problems, and Controversies. 2008, Vol. 47, pp. 654 – 670.
57. **T. Torimoto, T. Tsuda, K. Okazaki and S. Kuwabata.** New frontiers in materials science opened by ionic liquids. 2010, Vol. 19, pp. 1196-1221.
58. **Marsh, Kenneth N., et al.** Room Temperature Ionic Liquids as Replacements for Conventional Solvents - A Review. 2002, Vol. 19, pp. 357-362.
59. **Zhao, Hua.** Methods for stabilizing and activating enzymes in ionic liquids - a review. 2010, Vol. 85, pp. 891-907.
60. **Robert, Hayes, et al.** Amphiphilicity determines nanostructure in protic ionic liquids. 2011, Vol. 13, pp. 3237–3247.
61. **Freemantle, M.** An Introduction to Ionic Liquids. s.l. : Ed. RSC Publishing, 2010. pp. 1-62.
62. **Martín, R., et al.** Imidazolium ionic liquids in OLEDs: synthesis and improved electroluminescence of an ‘ionophilic’ diphenylanthracene, Tetrahedron, 2008, 64, pp.6270-6274. 2008, Vol. 64, pp. 6270-6274.
63. **Wei, D. e Ivaska, A.** Applications of ionic liquids in electrochemical sensors. 2008, Vol. 607, pp. 126-135.
64. **Tan, Zhi-Cheng, et al.** Ionic Liquids: Theory, Properties, New Approaches; Chapter 1- Thermodynamic Properties of Ionic Liquids - Measurements and Predictions . s.l. : InTech, 2011. pp. 1 - 24 .
65. **Wilkes, John S.** Properties of ionic liquid solventes for catalysis. 2004, Vol. 214, pp. 11-17.
66. **Dupont, Jairton, Souza, Roberto F. de e Suarez, Paulo A. Z.** Ionic Liquid (Molten Salt) Phase Organometallic Catalysis. Chem. Rev. 2002, Vol. 102, p. 3667–3692.

67. **Lenardão, E. J., et al.** Green Chemistry – The 12 principles of green chemistry and its insertion in the teaching and research activities. 2003, Vol. 26, pp. 123-129.
68. **Mihkel, K. e Lee, A. Jared.** Ionic Liquids in Chemical Analysis. s.l. : CRC Press, 2008.
69. **Holbrey, J. D. e Rogers, R. D.** Physicochemical Properties of Ionic Liquids: Melting Points and Phase Diagrams, In: Ionic Liquids in Synthesis. s.l. : Wasserscheid, P., & Welton, T., Eds., 2008. Vol. 1.
70. **Crowhurst, Lorna, et al.** Solvent–solute interactions in ionic liquids. 2003, Vol. 5, pp. 2790–2794.
71. **Smirnova, N. A. e Safonova, E. A.** Ionic Liquids as Surfactants. 2010, Vol. 84, pp. 1695-1704.
72. **Halder, Mintu.** Determination of the Critical Micellar Concentration (CMC) of a Cationic Micelle from Stokes Shift Data. 2007, Vol. 12, pp. 33-36.
73. **Anderson, Jared L., et al.** Surfactant solvation effects and micelle formation in ionic liquids. 2003, pp. 2444–2445.
74. **Bica, Katharina, et al.** In search of pure liquid salt forms of aspirin: ionic liquid approaches with acetylsalicylic acid and salicylic acid. 2010, Vol. 12, pp. 2011-2017.
75. **Plechkovaa, Natalia V. e Seddon, Kenneth R.** Applications of ionic liquids in the chemical industry. 2008, Vol. 37, pp. 123-150.
76. **Domanska, Urszula, et al.** pKa and Solubility of Drugs in Water, Ethanol, and 1-Octanol. 2009, Vol. 113, pp. 8941–8947.
77. **Weber, Horst e Trümpener, Klaudia Meyer.** Esters of Naproxen as Prodrugs for Skin Penetration, I: Synthesis and Physico-chemical Properties. 1994, Vol. 327, pp. 337–345.
78. **Jones, R.S. Howell, et al.** A review of the microbiology, antibiotic usage and resistance in chronic skin wounds. 2005, Vol. 55, pp. 143-149.
79. **McGowan, S. J., et al.** analysis of the carbapenem gene cluster of *Erwinia carotovora*: definition of the antibiotic biosynthetic genes and evidence for a novel β -lactam resistance mechanism. 1997, Vol. 26, pp. 545–556.
80. **O’Neill, Michael A. A. e Gaisfordb, Simon.** Application and use of isothermal calorimetry in pharmaceutical development. 2011, Vol. 411, pp. 83-93.

81. **Han, Jun, Gupte, Sangeeta e Suryanarayanan, Raj.** Applications of pressure differential scanning calorimetry in the study of pharmaceutical hydrates. II. Ampicillin trihydrate. 1998, Vol. 170, pp. 63-72.
82. **P., Botme, Dahlström, B. e Dinding, N. A.** Ampicillin: Comparison of Bioavailability and Pharmacokinetics after Oral and Intravenous Administration of Three Brands. 1976, pp. 237-243.
83. **Marlière, G. L. L., Ferraz, M. B. e Santos, J. Quirino dos.** Antibiotic consumption patterns and drug leftovers in 6000 Brazilian households. 2000, Vol. 17, pp. 32-44.
84. **Domagala, J. M.** Structure-Activity and Structure-Side-Effect Relationships for the Quinolone Antibacterials. 1994, Vol. 34, pp. 685 - 706.
85. **Bourgiugnon, Gerard J., Levitt, Martin e Sternglanz, Rolf.** Studies on the Mechanism of Action of Nalidixic Acid. 1973, pp. 479-486.
86. **Pollice, A., et al.** Removal of nalidixic acid and its degradation products by an integrated MBR-ozonation system. 2012, Vol. 203, pp. 46-52.
87. **O'Reilly LM, Daborn CJ.** The epidemiology of Mycobacterium bovis infections in animals and man: a review. 1995, Vol. 76, pp. 1-46.
88. **Nizova, A. V., et al.** Determination of drug resistance of the clinical strains of Mycobacterium tuberculosis to pyrazinamide. s.l.: MOLECULAR GENETICS, MICROBIOLOGY AND VIROLOGY, 2008, pp. 184-188. Vol. 23.
89. **Youmans, Guy P., Raleigh, Gordon W. e Youmans, Anne S.** The Tuberculostatic Action of para-Aminosalicylic Acid. 1947, Vol. 54, pp. 409-416.
90. **Yü, T'sai fun, et al.** Effect of Pyrazinamide and Pyrazinoic Acid on Urate Clearance and Other Discrete Renal Functions. 1957, Vol. 96, pp. 264-267.
91. **G. W., Evans e E. C., Johnson.** Zinc absorption in rats fed a low-protein diet and a low-protein diet supplemented with tryptophan or picolinic acid. 1980, Vol. 110, pp. 1076-1080.
92. **LA, García Rodriguez e H, Jick.** Risk of upper gastrointestinal bleeding and perforation associated with Individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. 1994, Vol. 343, pp. 769-772.
93. **Brater, D. C.** Clinical pharmacology of NSAIDs. 1988, Vol. 28, pp. 518-523.
94. **Manrique, Juliana e Martínez, Fleming.** Solubility of Ibuprofen in Some Ethanol + Water Cosolvent Mixtures at Several Temperatures. 2007, Vol. 26, pp. 344-354.

95. **Patel, Shravan Kumar, et al.** Solubility enhancement of ibuprofen using hydrotropic agents. 2011, Vol. 2, pp. 542-545.
96. **Kokot, Zenon e Zmidzinska, Hanna.** Solubility and dissolution rate of ibuprofen in ionic and non-ionic micellar systems. 2001, Vol. 58, pp. 117-120.
97. **Oberoi, Lalit M., Alexander, Kenneth S. e Riga, Alan T.** Study of interaction between ibuprofen and nicotinamide using differential scanning calorimetry, spectroscopy, and microscopy and formulation of a fast-acting and possibly better ibuprofen suspension for osteoarthritis patients. 2005, Vol. 94, pp. 93–101.
98. **Martino, Piera Di, et al.** Physical characterization of naproxen sodium hydrate and anhydrate forms. 2001, Vol. 14, pp. 293-300.
99. **Iqbal, Md. Yakub, et al.** Characterization and relative response factor determination of process related impurity in Naproxen by nuclear magnetic resonance spectroscopy. 2011, Vol. 56, pp. 484-490.
100. **Law, Simon, Derry, Sheena e Moore, R. Andrew.** Naproxen with or without antiemetic for acute migraine headaches in adults. 2011, Vol. 11.
101. **Criddle, D. N., et al.** Effect of niflumic acid on noradrenaline-induced contractions of the rat aorta. 1996, Vol. 118, pp. 1065–1071.
102. **Etesse, H. Carsenti, et al.** Pharmacokinetic parameters and killing rates in serum of volunteers receiving amoxicillin, cefadroxil or cefixime alone or associated with niflumic acid or paracetamol. 1998, Vol. 23, pp. 357-366.
103. **Plumb, Donald C.** Veterinary Drug Handbook Fourth Edition. 2002.
104. **Jouyban, A., et al.** Solubility prediction in water-ethanol mixtures based on the excess free energy approach using a minimum number of experimental data. 2004 , Vol. 59, pp. 117-120.
105. **Yalkowsky, S.H. e Dannenfelser, R.M.** Aquasol Database of Aqueous Solubility. 1992, Vol. 5.
106. **Grant, R. S., Coggan, S. E. e Smythe, G. A.** The Physiological Action of Picolinic Acid in the Human Brain. 2009, Vol. 2, pp. 71-79.
107. **Stoehr.** Reaxys Literature Service. [Online] Journal fuer Praktische Chemie (Leipzig), 1895. [Citação: 25 de Junho de 2012.]
[https://www.reaxys.com/reaxys/secured/paging.do?performed=true&action=restore.](https://www.reaxys.com/reaxys/secured/paging.do?performed=true&action=restore)

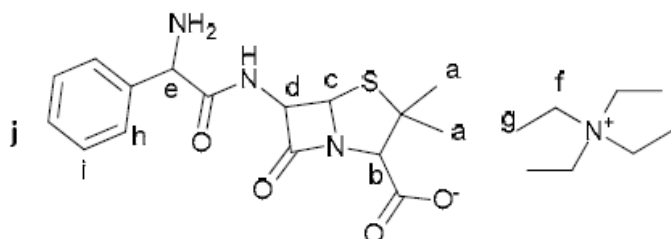
108. Chemical Book. CAS DataBase List in 4-Aminosalicylic acid. [Online] [Citação: 27 de Maio de 2012.] http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB9679687.htm.
109. **Wang, Ke, Karlsson, Göran e Almgren, Mats.** Aggregation Behavior of Cationic Fluorosurfactants in Water and Salt Solutions. A CryoTEM Survey. 1999, Vol. 103, pp. 9237-9246.
110. OECD Guideline for the testing of chemicals. [Online] [Citação: 27 de Janeiro de 2012.] <http://www.oecd.org/env/chemicalsafetyandbiosafety/testingofchemicals/chemicalstestingdraftocdguidelinesforthetestingofchemicals-sections1-5.htm>.
111. **Dinares, I., et al.** Imidazolium ionic liquids: A simple anion exchange protocol. 2009, Vol. 11, pp. 1507-1510.
112. **Fukaya, Y., et al.** Bio ionic liquids: Room temperature ionic liquids composed wholly of biomaterials. 2007, Vol. 9, pp. 1155-1157.
113. **Fukumoto, K., Yoshizawa, M. e Ohno, H.** Room temperature ionic liquids from 20 natural amino acids. 2005, Vol. 127, pp. 2398–2399.
114. **Pinho, José de Jesus Ribeiro Gomes de Pinho e Storpirtis, Sílvia.** Estudo comparativo “in vitro” das propriedades biofarmacotécnicas de comprimidos de cloridrato de metformina comercializados no Brasil. 2001, Vol. 37, pp. 95-105.
115. **S, Fujii.** Deoxygenations of 2-(D-arabino-tetrahydroxybutyl)pyrazine 4-N-oxide and 1-N-oxide. 1972, Vol. 37, pp. 2635-2637.
116. **Jouyban, A., et al.** Solubility prediction in water-ethanol mixtures based on the excess free energy approach using a minimum number of experimental data. 2004, Vol. 59, pp. 117-120.
117. **Surov, A. O. e Surov, O. V.** Thermochemistry of fenamates vaporization. 2008, Vol. 78, p. 1481.
118. **Suksrichavalit, T., et al.** Copper complexes of pyridine derivatives with superoxide scavenging and antimicrobial activities. 2009, Vol. 44, pp. 3259-3265.
119. **Abiraj, K., Srinivasa, G. R. and Gowda, D. C.** Simple and Efficient Reduction of Aromatic Nitro Compounds Using Recyclable Polymer-Supported Formate and Magnesium. 2005, Vol. 35.
120. **Kyriakou, G.; Beaumont, S. K. and Lambert, R. M.,** Aspects of Heterogeneous Enantioselective Catalysis by metals. *Langmuir*, 2011. pp. 9671-9675. Vol. 27.

Anexos

Anexo A

A.1. Caracterização dos LIs baseados no PAF Ampicilina

[TEA][Amp]



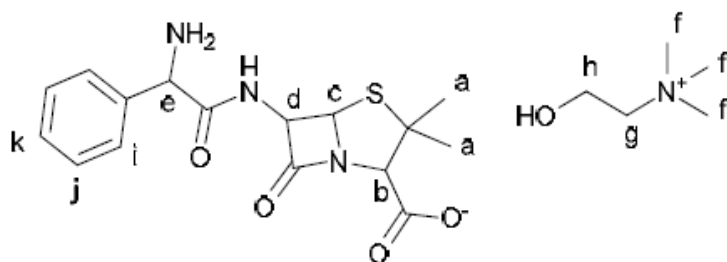
¹H RMN (CD₃OD, 400.13 MHz)

$\delta = 7.48$ (2H, d, $J = 7.4$ Hz, h), 7.36 (t, 1H, $J = 7.3$ Hz, j), 7.30 (m, 2H, i), 5.00 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, c), 4.64 (s, 1H, b), 4.33 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, d), 3.42 , (s, 1H, e) 3.28 (q, 8H, $J = 7.3$ Hz, f), 1.45 (s, 3H, a), 1.28 (tt, 12H, $J = 1.9$ Hz, $J = 7.3$ Hz g), 1.22 (s, 3H, a) ppm.

¹³C-NMR (CD₃OD, 100.62 MHz)

$\delta = 175.58, 174.83, 140.88, 130.06, 129.88, 129.22, 128.58, 77.13, 66.66, 60.19, 60.00, 59.54, 53.27, 53.24, 53.21, 27.79, 27.44, 7.63$ ppm.

[N_{11120H}][Amp]



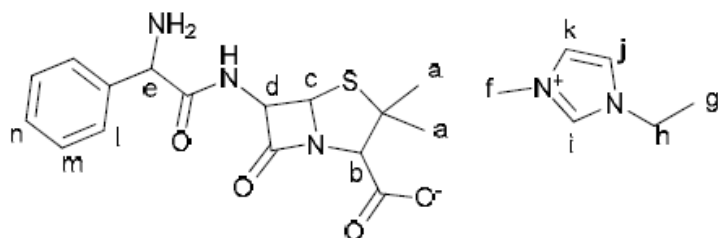
¹H RMN (CD₃OD, 400.13 MHz)

$\delta = 7.49-7.27$ (m, 5H, i, j, k), 5.00 (d, 1H, J=6.0 Hz, c), 4.65 (s, 1H, b), 4.34 (d, 1H, J=6.0Hz, d), 3.98 (m, 2H, h), 3.46 (m, 2H, g), 3.42 (s, 1H, e), 3.19 (s, 9H, f), 1.45 (s, 3H, a), 1.22 (s, 3H, a) ppm.

¹³C-NMR (CD₃OD, 100.62 MHz)

$\delta = 175.59, 174.91, 174.82, 140.95, 129.88, 129.22, 128.56, 77.11, 69.06, 66.67, 60.20, 60.04, 59.53, 57.10, 54.73, 27.78, 27.47$ ppm.

[C₂MIM][Amp]



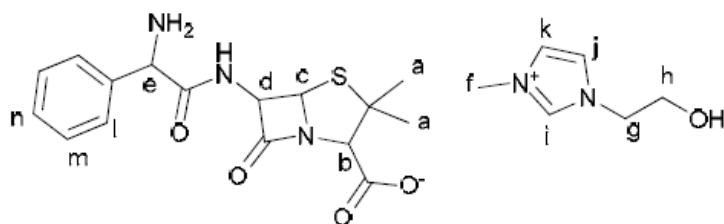
¹H RMN (CD₃OD, 400.13 MHz)

$\delta = 7.63$ (d, 1H, J = 1.9Hz, k), 7.55 (d, 1H, J = 1.9Hz, j), 7.48-7.46 (m, 2H, l), 7.36-7.32 (m, 2H, m), 7.27-7.25 (m, 1H, n); 5.01 (d, 1H, J=6.0 Hz, c), 4.59 (s, 1H, b), 4.32 (d, 1H, J=6.0 Hz, d) 4.24 (q, 2H, J= 7.4Hz, h), 3.90 (s, 3H, f), 3.43 (s, 1H, e), 1.52 (t, 3H, J=7.4Hz, g), 1.46 (s, 3H, a), 1.22 (s, 3H, a) ppm.

¹³C-NMR (CD₃OD, 100.62 MHz)

$\delta = 175.57, 175.15, 174.84, 141.24, 129.83, 129.12, 128.50, 124.96, 123.31, 77.12, 66.67, 60.18, 60.11, 59.54, 46.03, 36.46, 27.78, 27.47, 15.63$ ppm.

[OHC₂MIM][Amp]



¹H RMN (CD₃OD, 400.13 MHz)

δ = 7.61 (d, 1H, J= 1.8Hz, k), 7.55 (d, 1H, J= 1.8Hz, j), 7.47 (d, 2H, J = 7.2Hz, l), 7.35 (t, 2H, J= 7.3Hz, m), 7.29 (d, 1H, J = 7.2Hz, n), 5.00 (d, 1H, J=6.0 Hz, c), 4.63 (s, 1H, b), 4.33 (d, 1H, J=6.0 Hz, d), 4.28 (t, 2H, J=3.8 Hz, g), 3.92 (s, 3H, f), 3.87 (t, 2H, J=3.8 Hz), 3.42 (s, 1H, e), 1.45 (s, 3H, a), 1.22 (s, 3H, a) ppm.

¹³C-NMR (CD₃OD, 100.62 MHz)

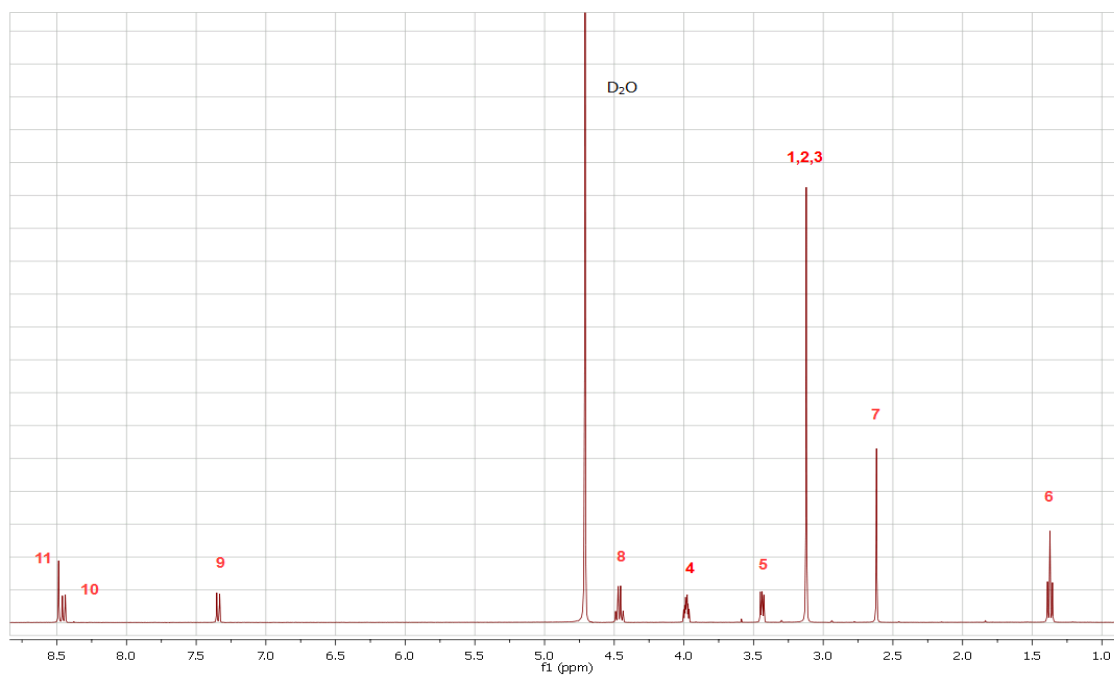
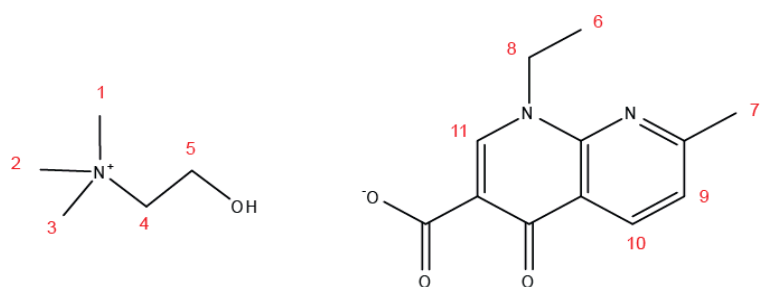
δ = 175.60, 175.17, 174.85, 141.22, 129.85, 129.14, 128.51, 124.74, 124.03, 77.11, 66.67, 61.06, 60.19, 60.12, 59.53, 53.29, 36.46, 27.78, 27.48 ppm.

A.2. Caracterização dos LIs baseados no catião colina ([N_{1112OH}]⁺) e conjugados com PAFs

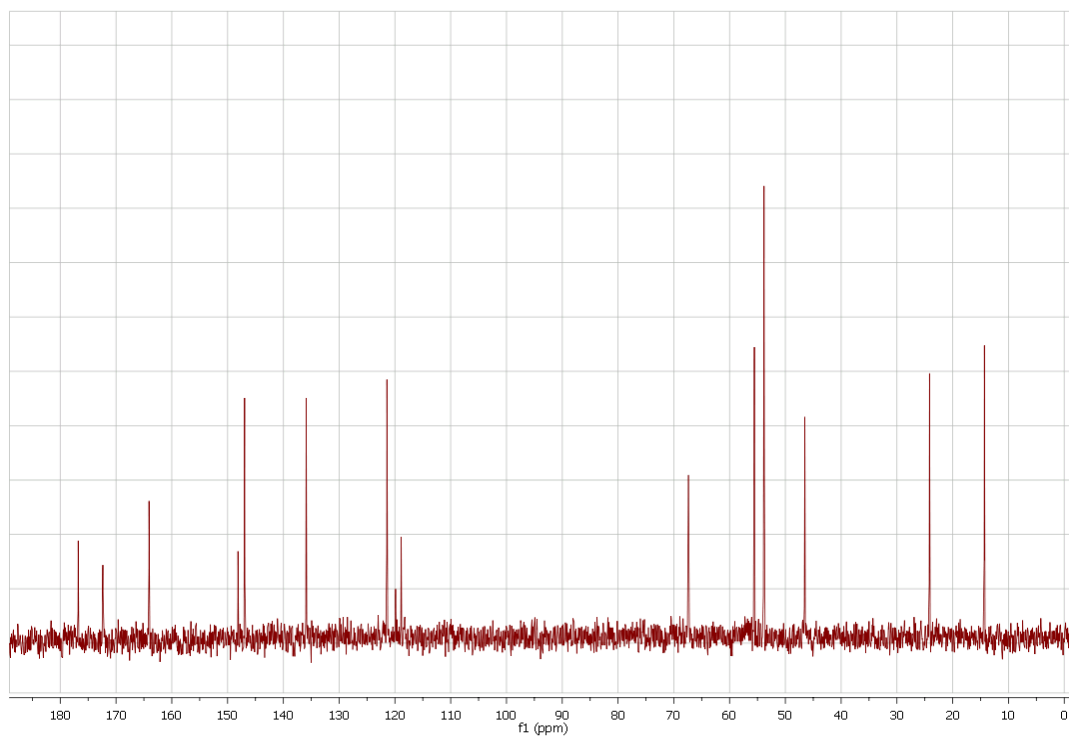
A estrutura química da série de líquidos iônicos, baseados no catião colina e conjugados com diversos PAFs, preparados no presente trabalho foi confirmada por RMN de próton ¹H e de carbono ¹³C. A pureza dos líquidos iônicos foi confirmada como a seguir descrito. No espectro de RMN de próton ¹H, não se verificam ressonâncias atribuídas às impurezas. A correlação catião/anião esperada foi confirmada por integração quantitativa dos picos de ressonância ¹H característicos. As impurezas de halogenetos, apenas Cl⁻ pelo protocolo de síntese implementado, nos líquidos iônicos obtidos foram verificadas por eléctrodo de cloretos. Para todos os LIs sintetizados a quantidade de Cl⁻ é inferior a 2 ppm.

Colina Nalidixato, ([N_{11120H}][NaI])

¹H RMN (D₂O, 400 MHz)

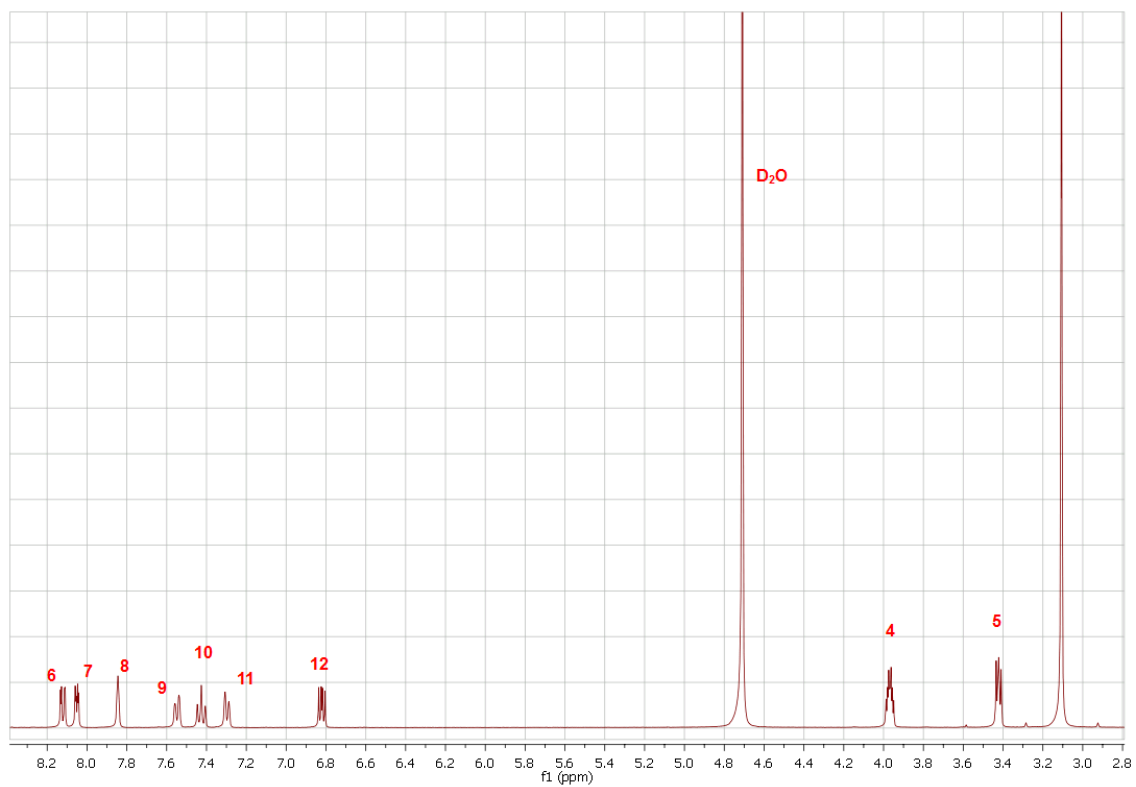
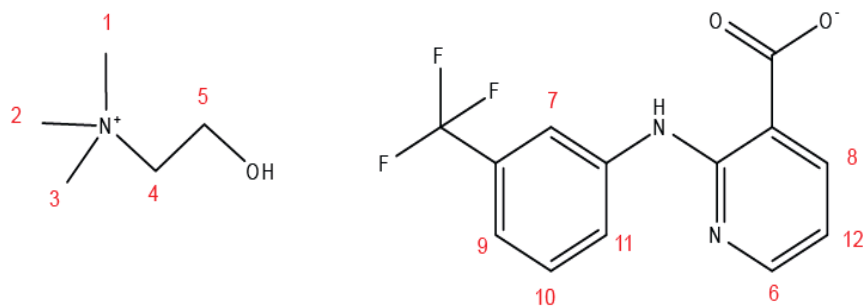


^{13}C RMN (D_2O , 400 MHz)

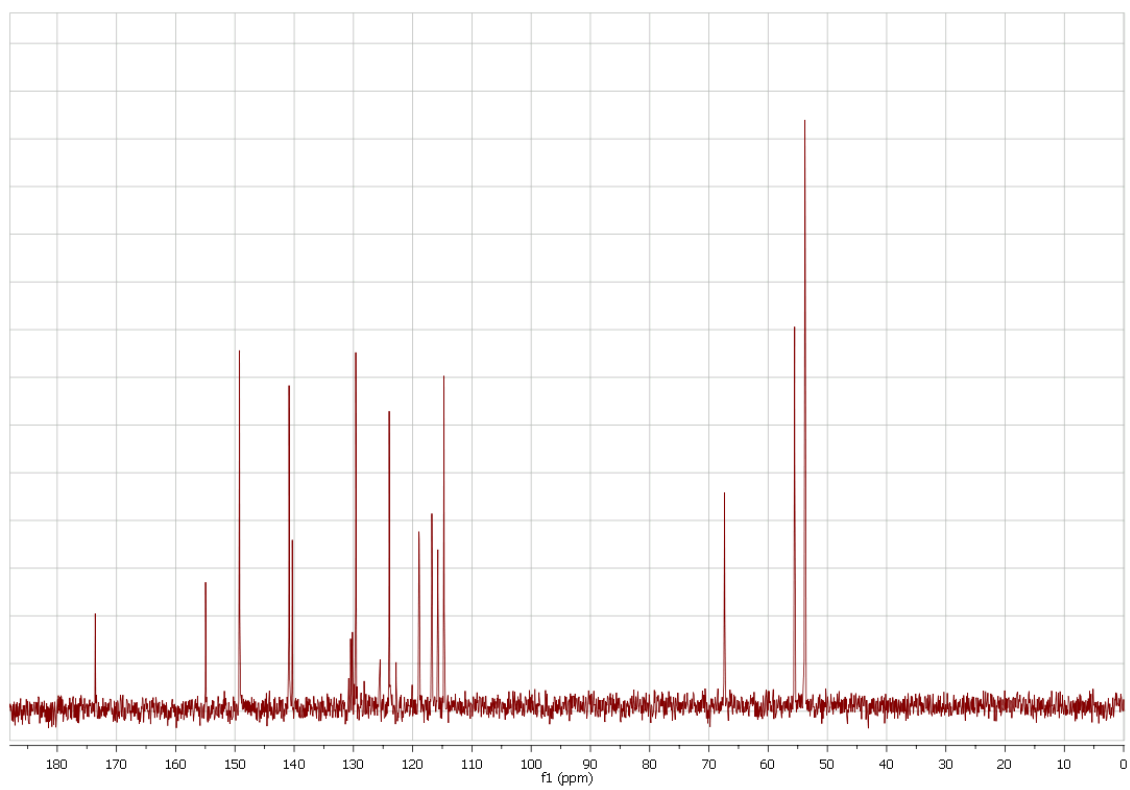


Colina Niflumato, ([N_{1112OH}][Nif])

¹H RMN (D₂O, 400 MHz)

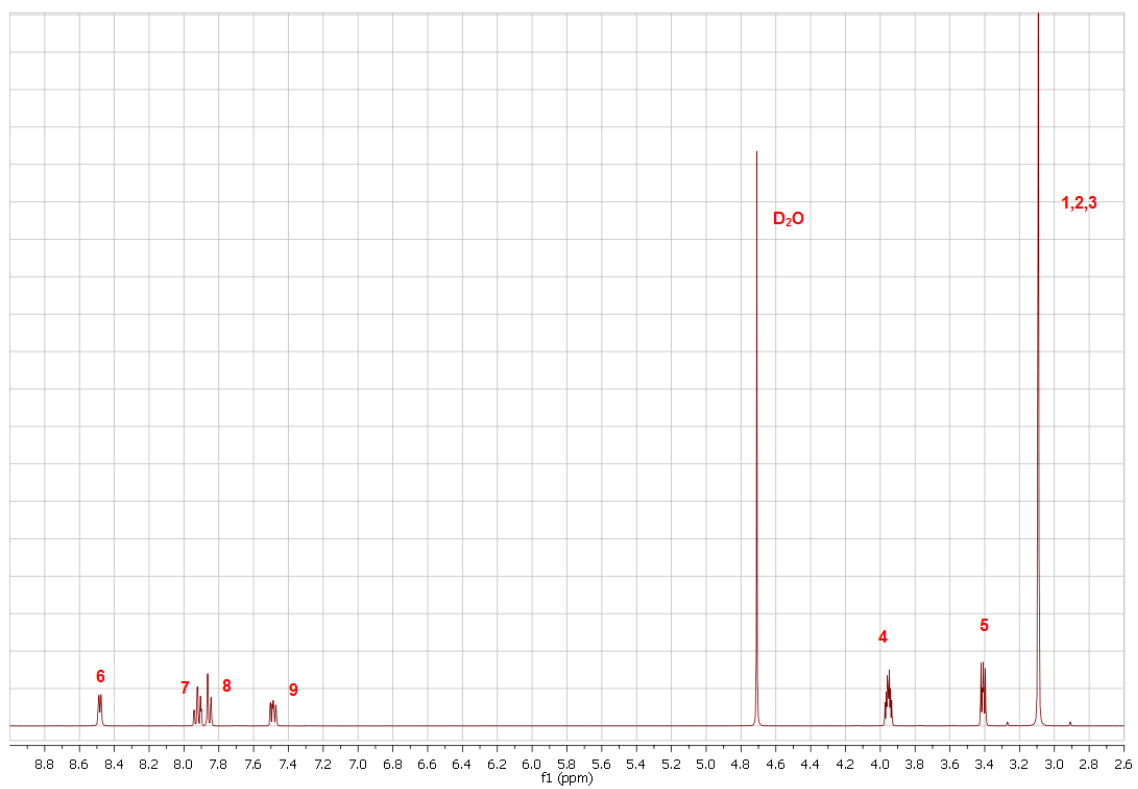
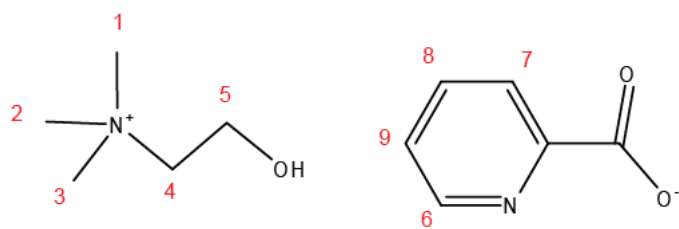


^{13}C RMN (D_2O , 400 MHz)

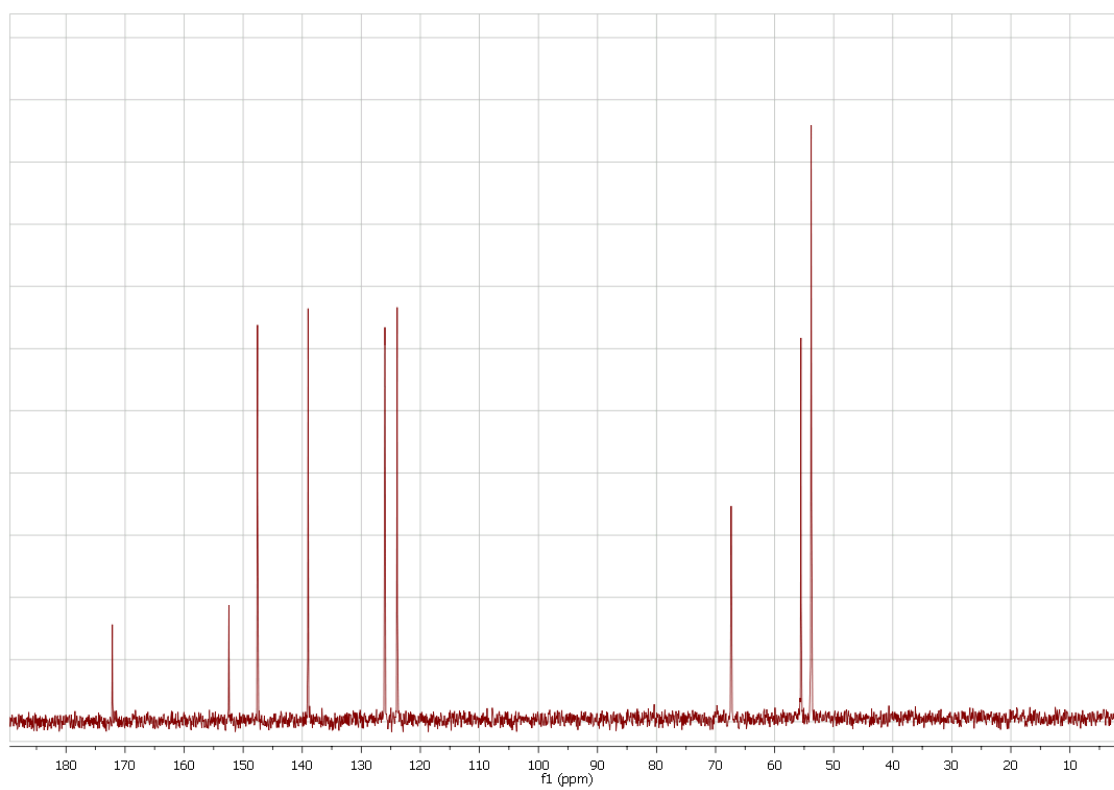


Colina Picolinato, ([N_{11120H}][Pic])

¹H RMN (D₂O, 400 MHz)

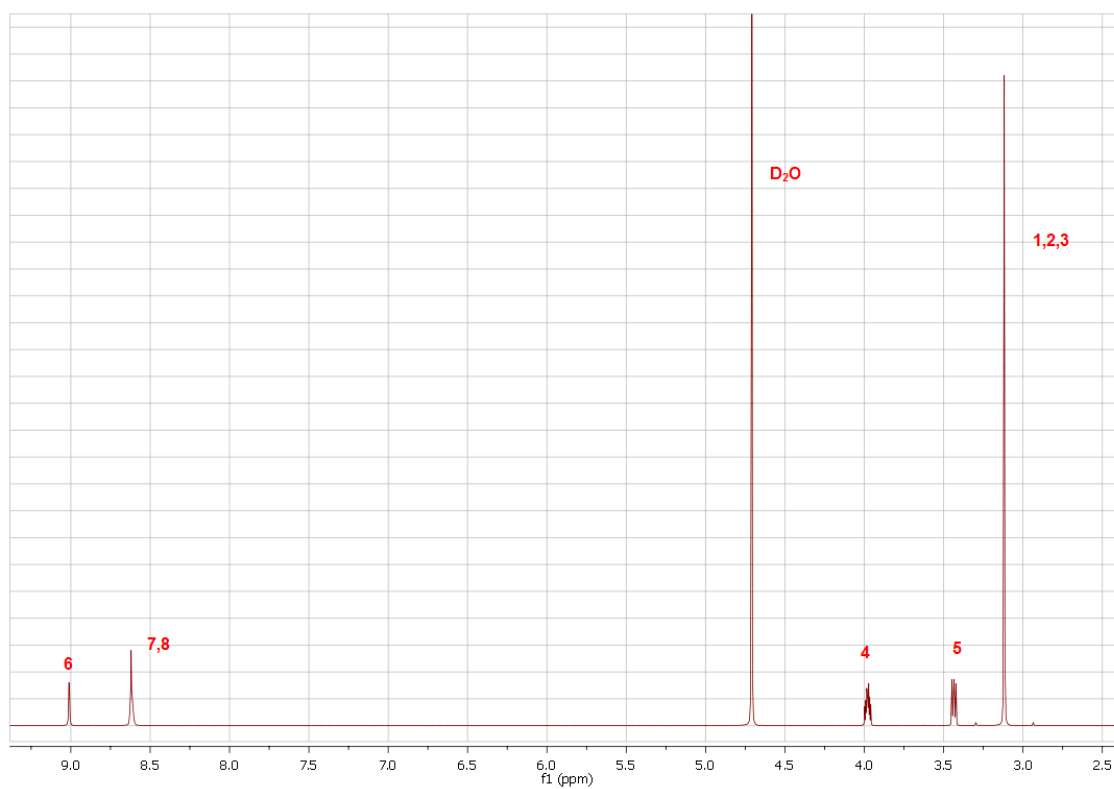
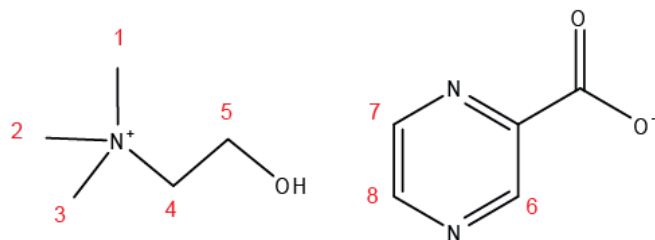


^{13}C RMN (D_2O , 400 MHz)

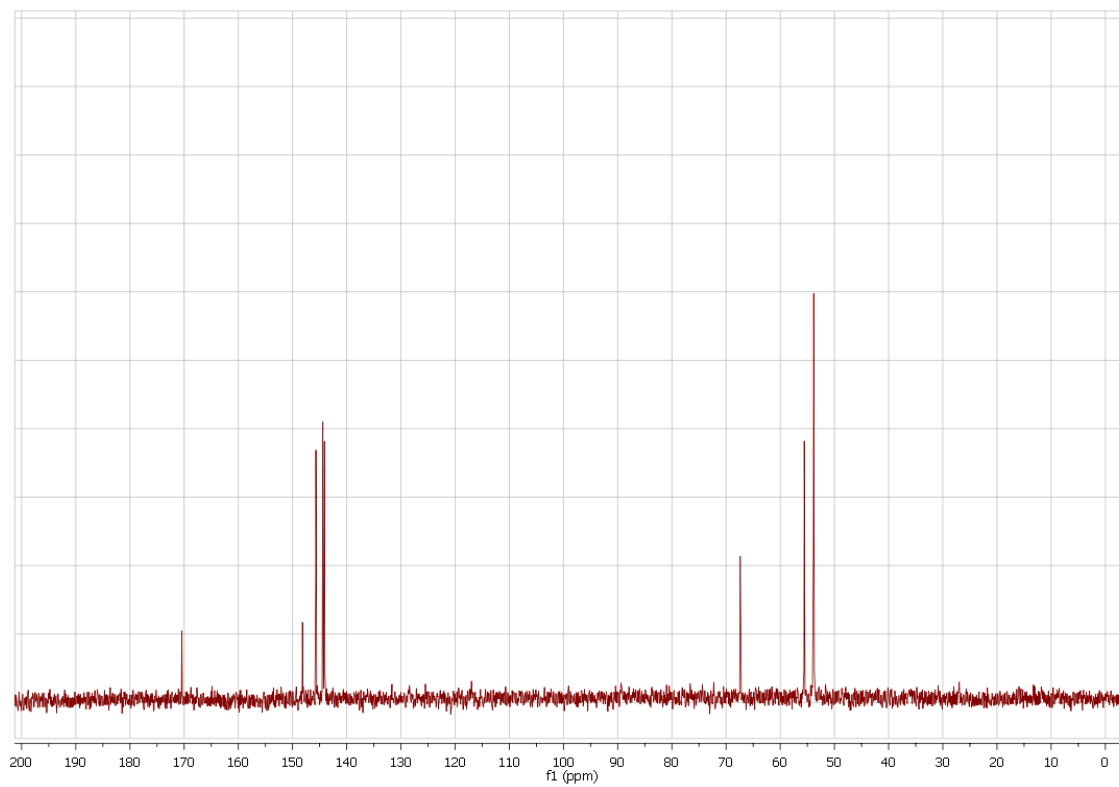


Colina Pirazinoato, ([N₁₁₁₂OH][Pir])

¹H RMN (D₂O, 400 MHz)

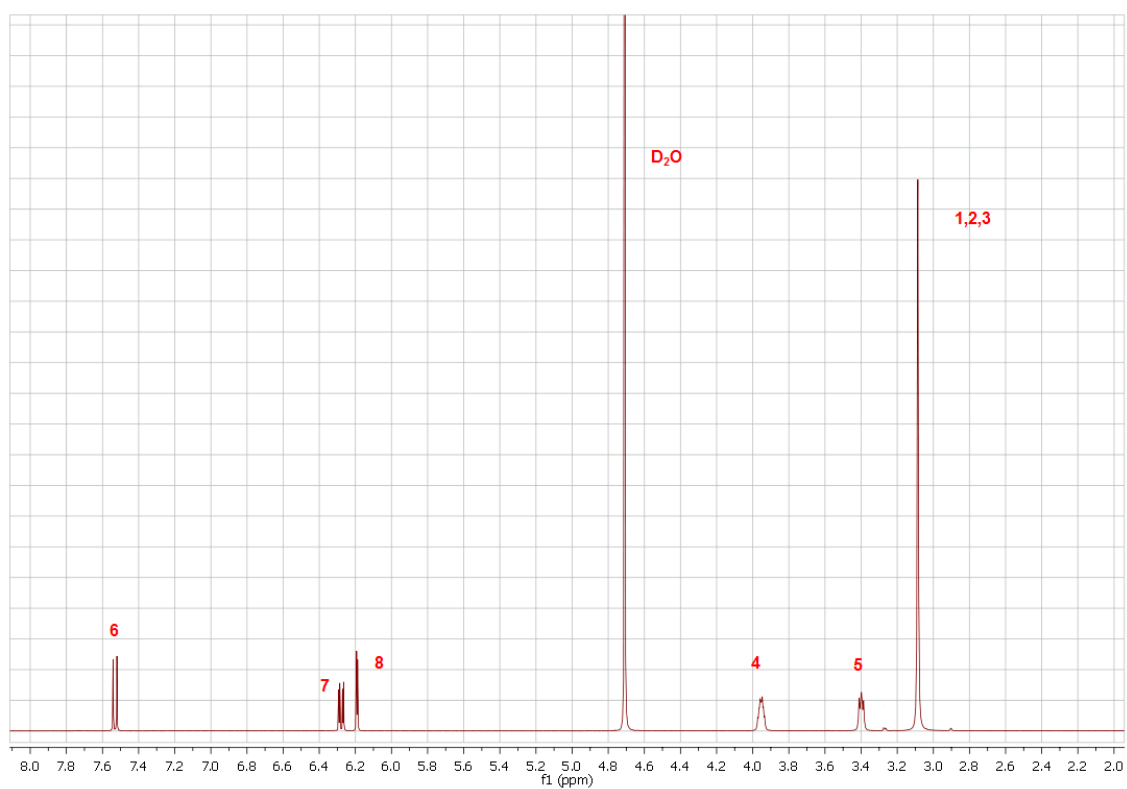
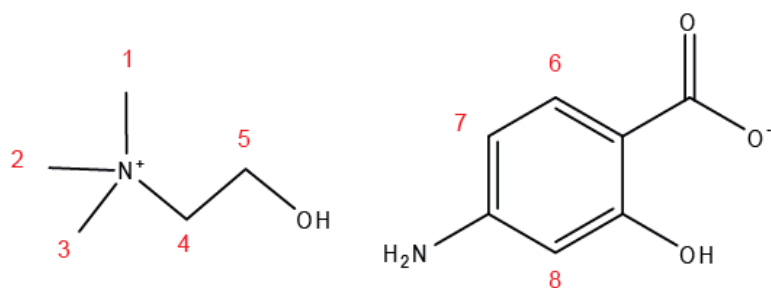


^{13}C RMN (D_2O , 400 MHz)

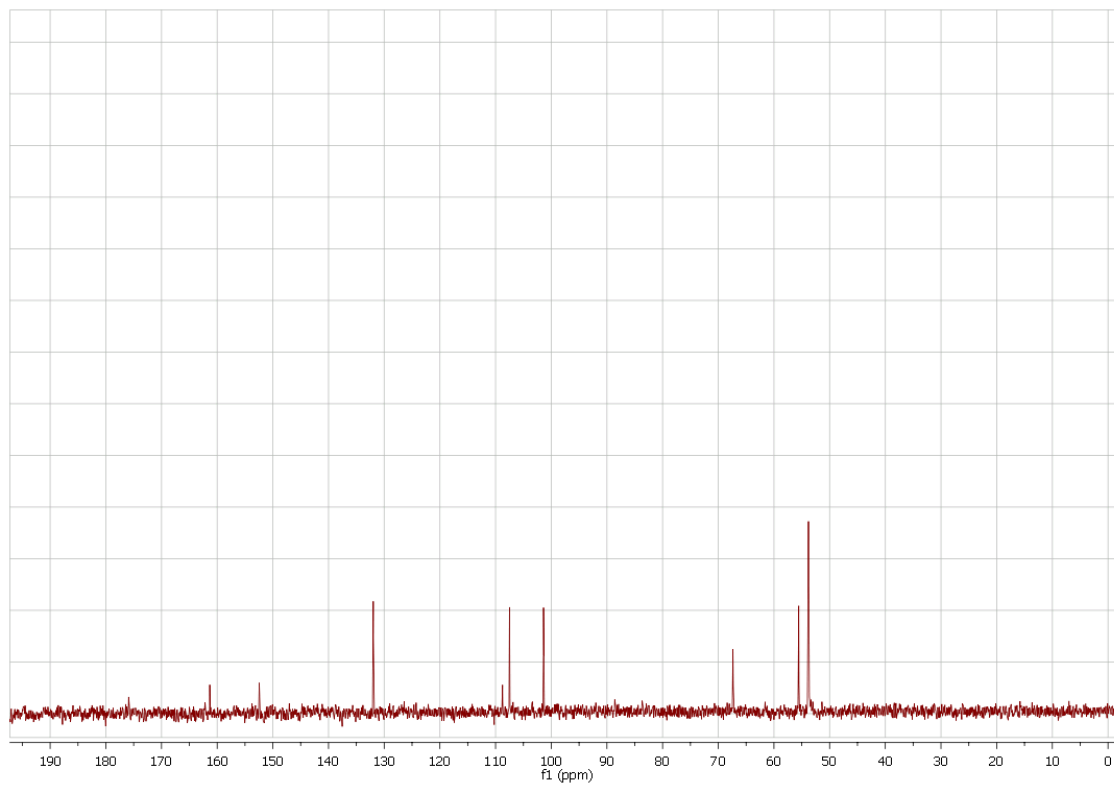


Colina 4-AminoSalicilato, ([N_{11120H}][4-AminoSal])

¹H RMN (D₂O, 400 MHz)



^{13}C RMN (D_2O , 400 MHz)



Anexo B

B.1. Espectros UV-vis obtidos para cada PAF estudado, tanto na forma ácida como na forma de LI.

B.1.1. Ampicilina e respectivos LIs

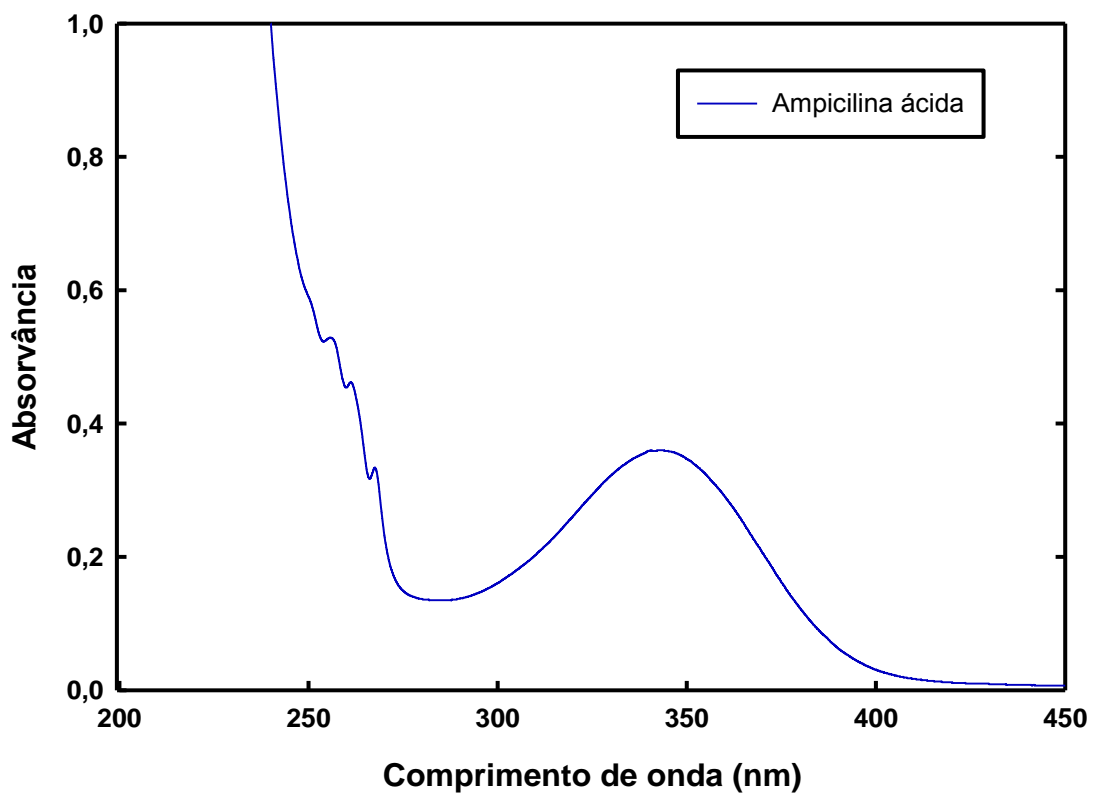


Figura B.1 - Espectro UV-vis da Ampicilina ácida em água.

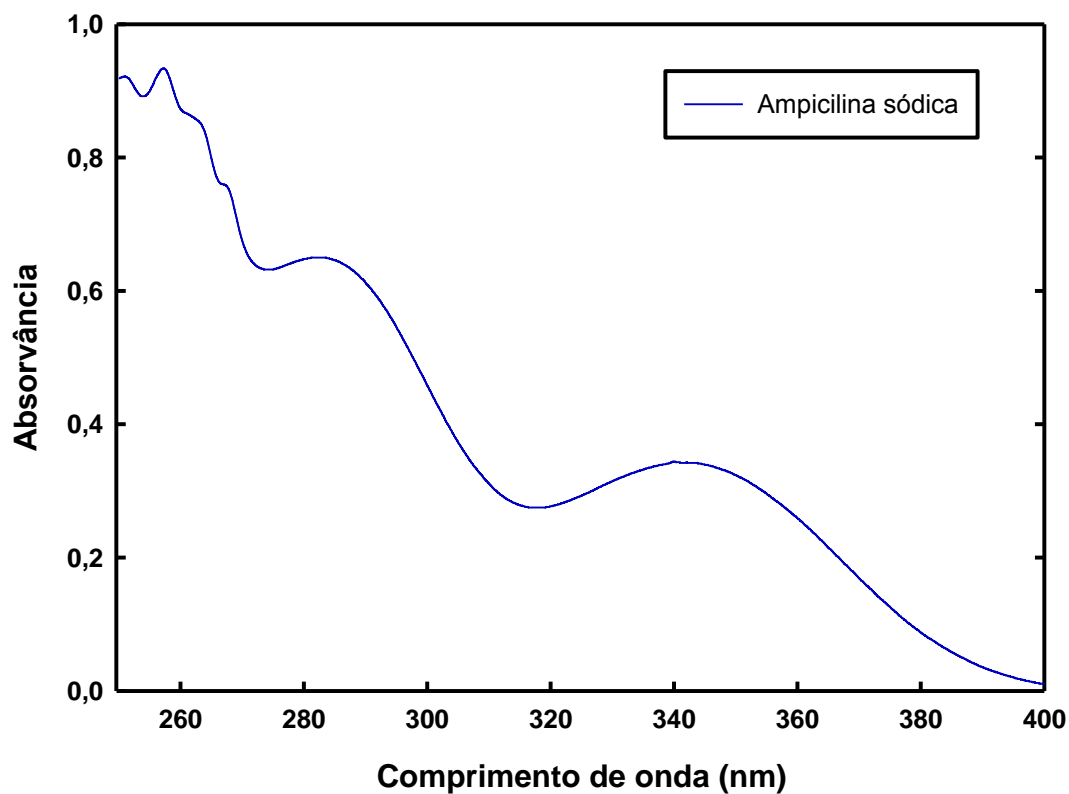


Figura B 2. Espectro UV-vis da Ampicilina sódica em água.

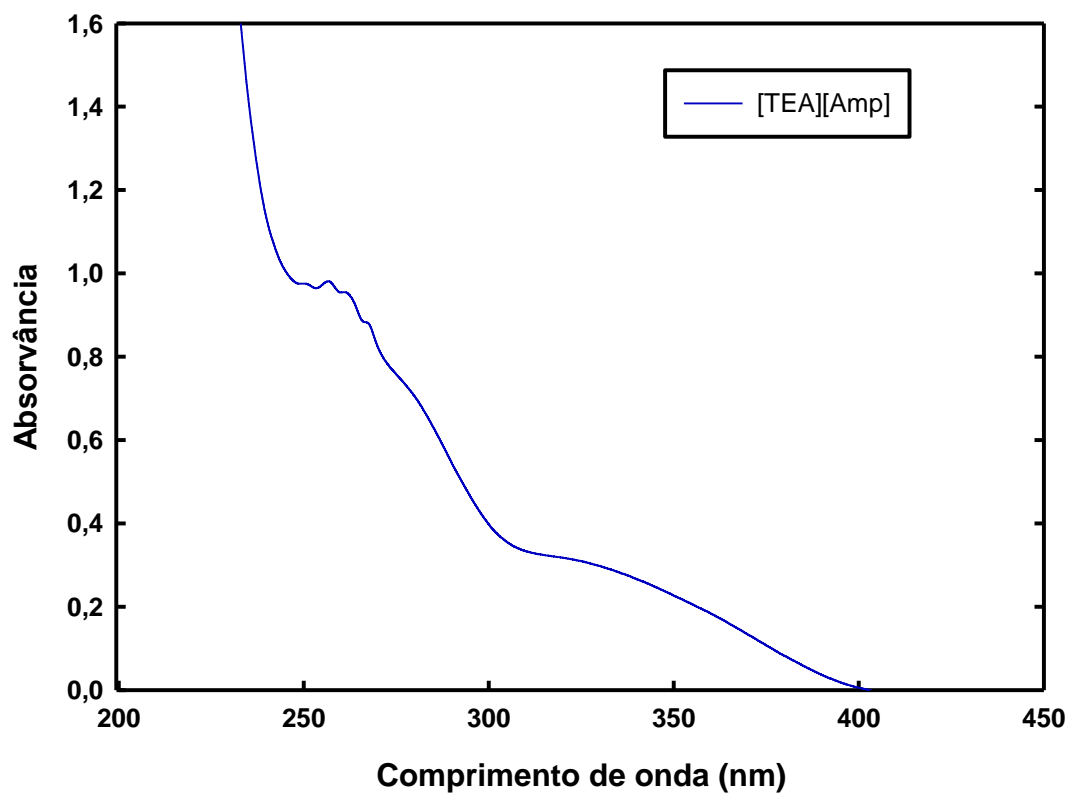


Figura B.3 - Espectro UV-vis do LI [TEA][Amp] em água.

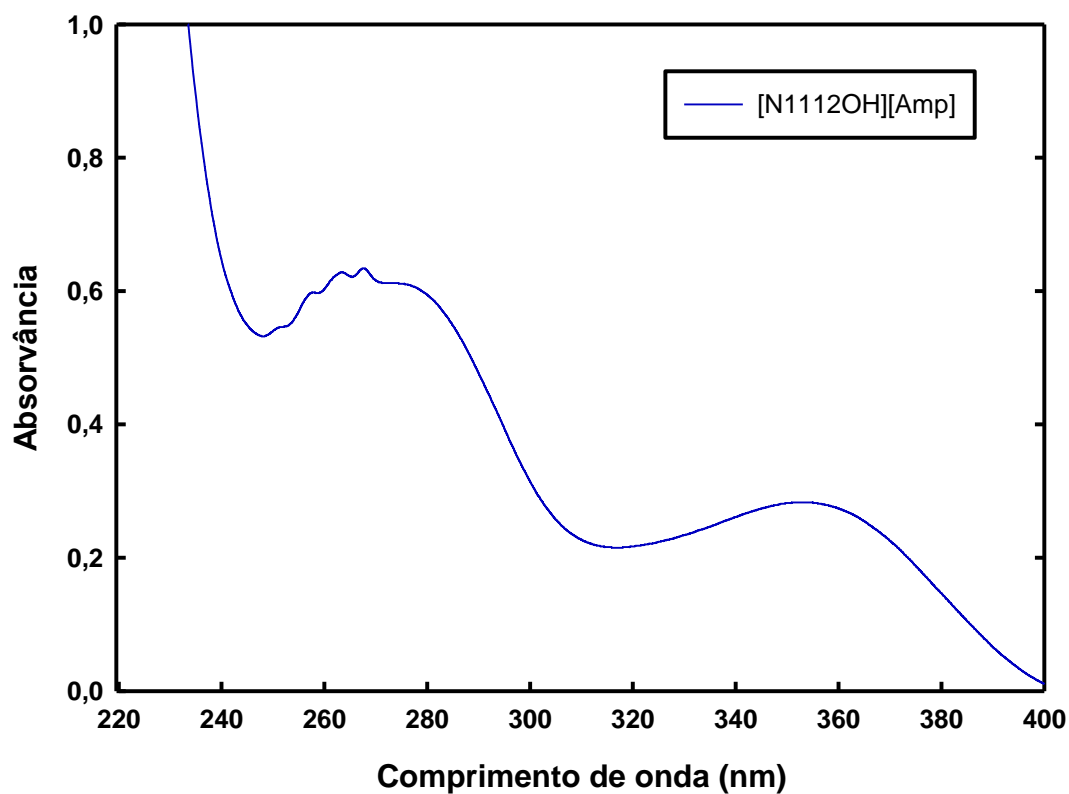


Figura B.4 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][Amp] em água.

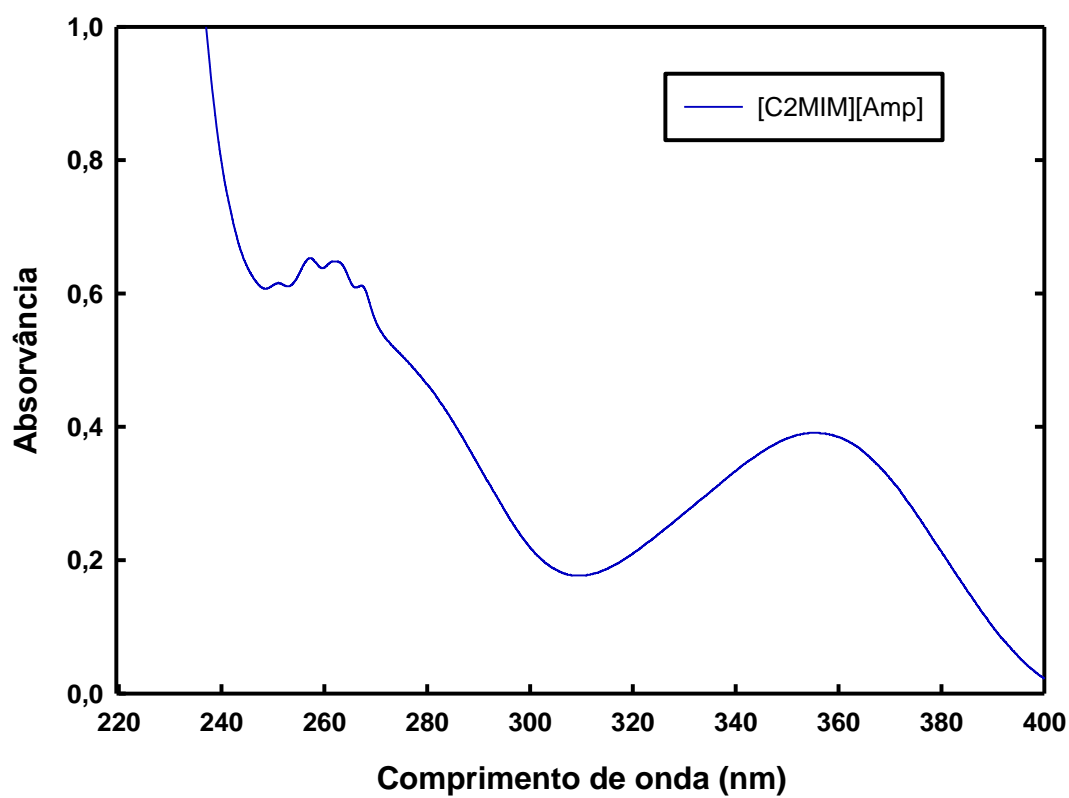


Figura B.5 - Espectro UV-vis do LI [C₂MIM][Amp] em água.

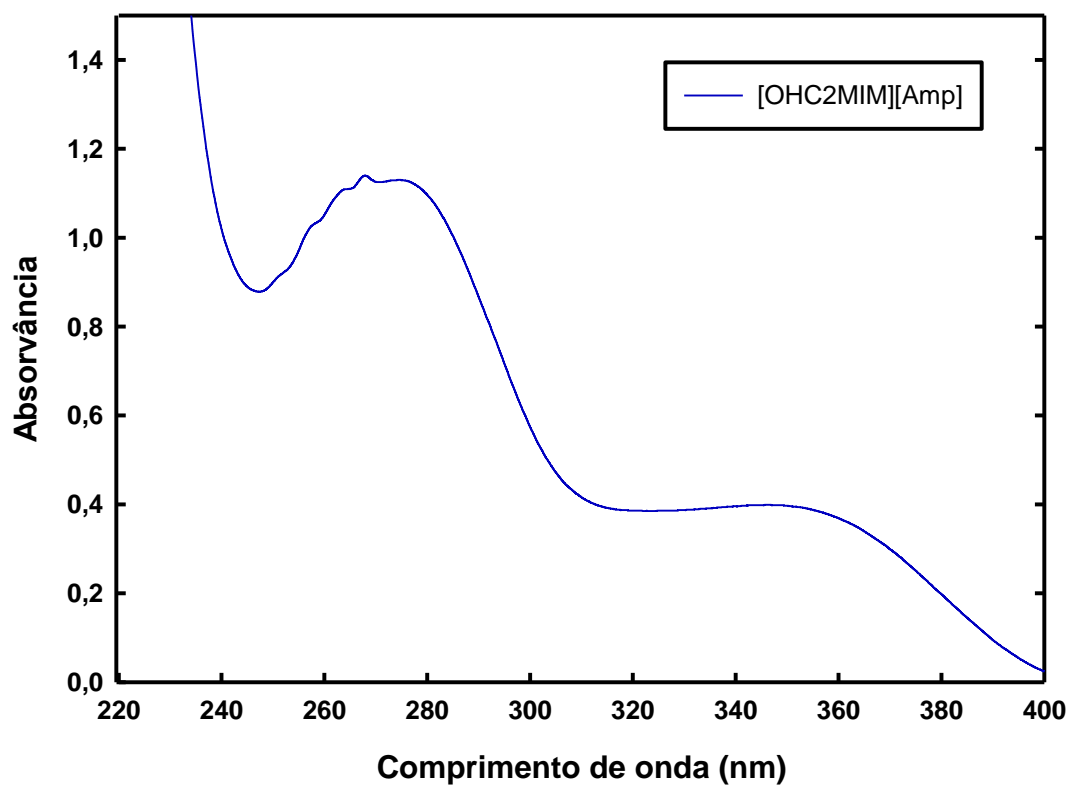


Figura B.6 - Espectro UV-vis do LI [OHC₂MIM][Amp] em água.

B.1.2. Ibuprofeno e respectivos LIs

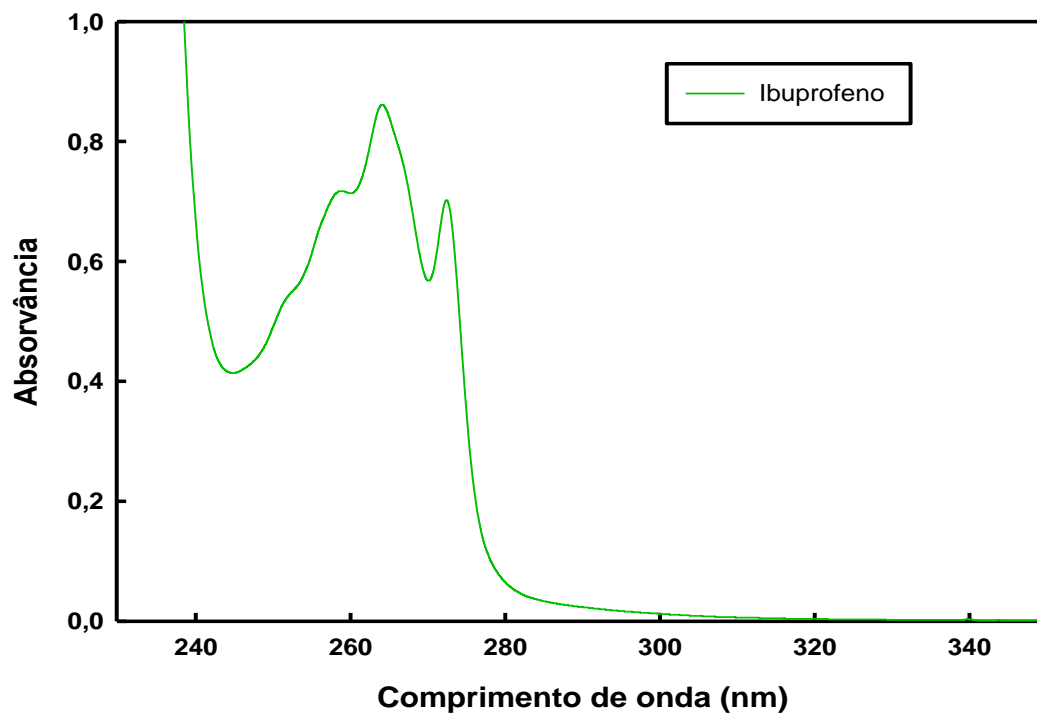


Figura B.7 - Espectro UV-vis do Ibuprofeno em água.

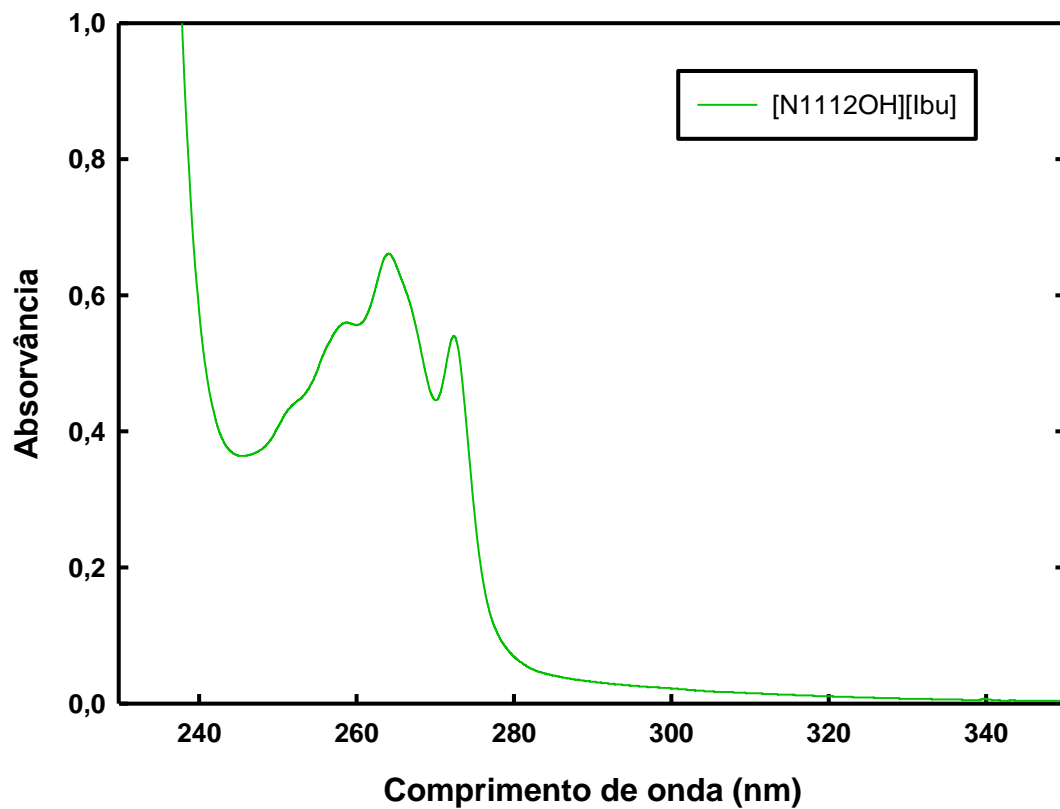


Figura B.8 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][Ibu] em água.

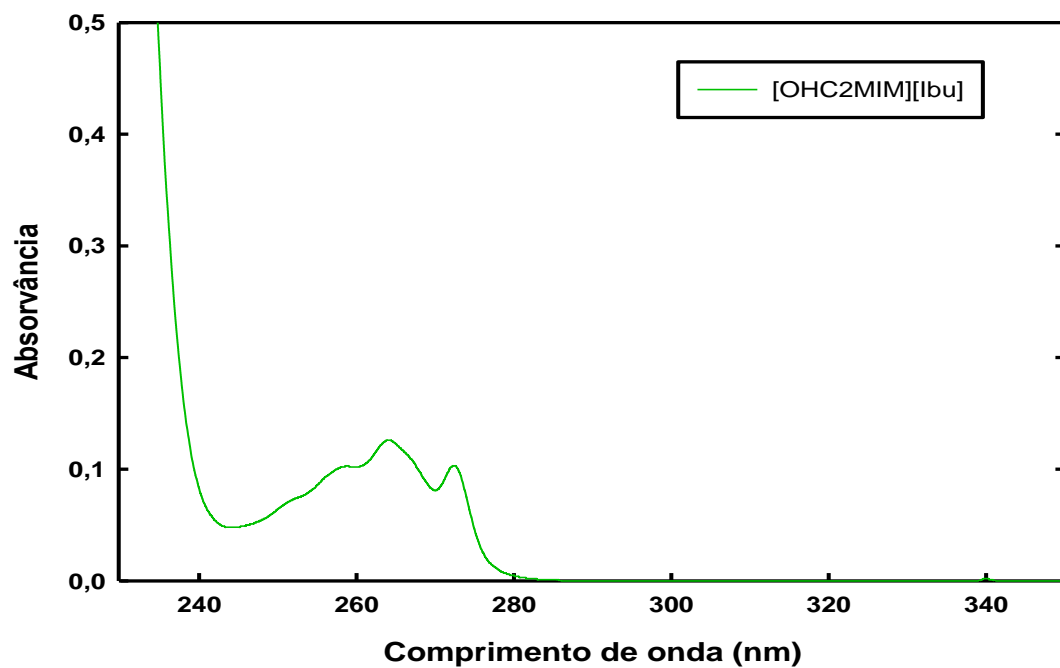


Figura B.9 - Espectro UV-vis do LI [OHC₂MIM][Ibu] em água.

B.1. 3. Naproxeno e respectivos LIs

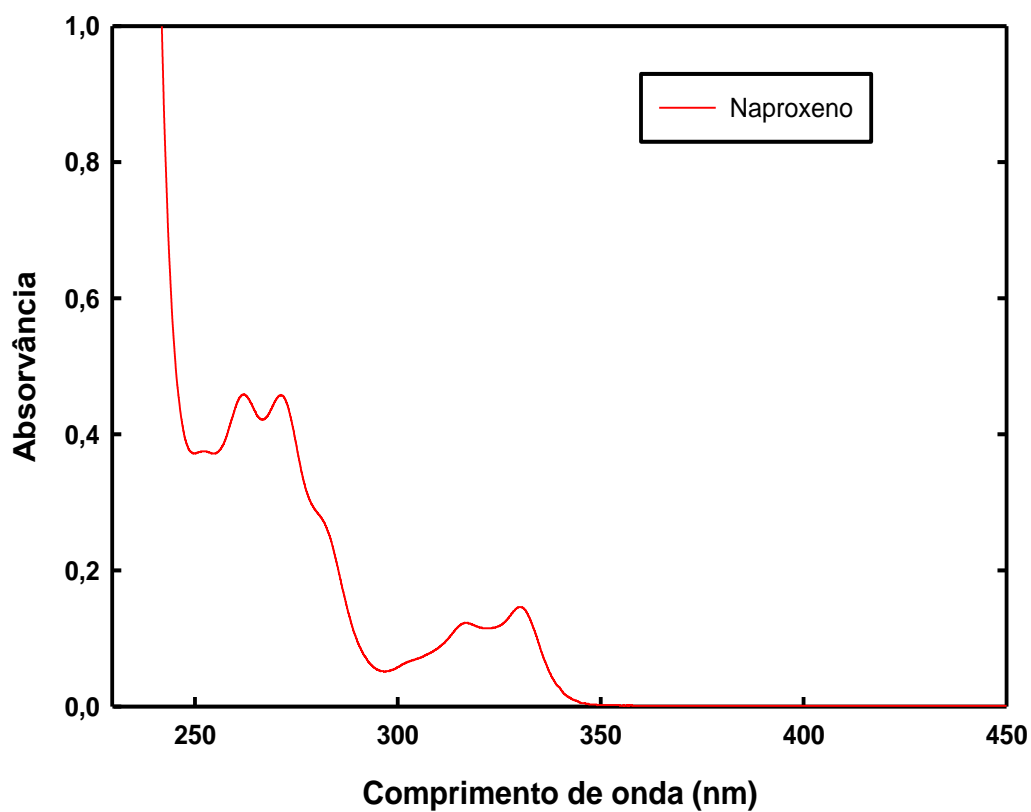


Figura B.10 - Espectro UV-vis do Naproxeno em água.

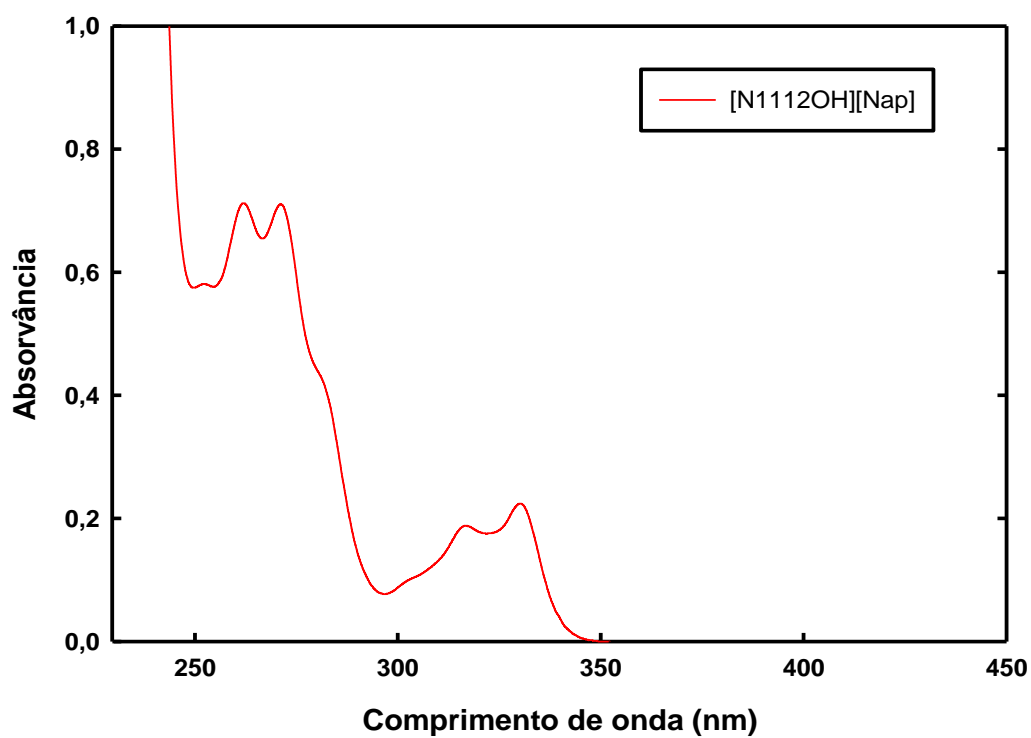


Figura B.11 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Nap] em água.

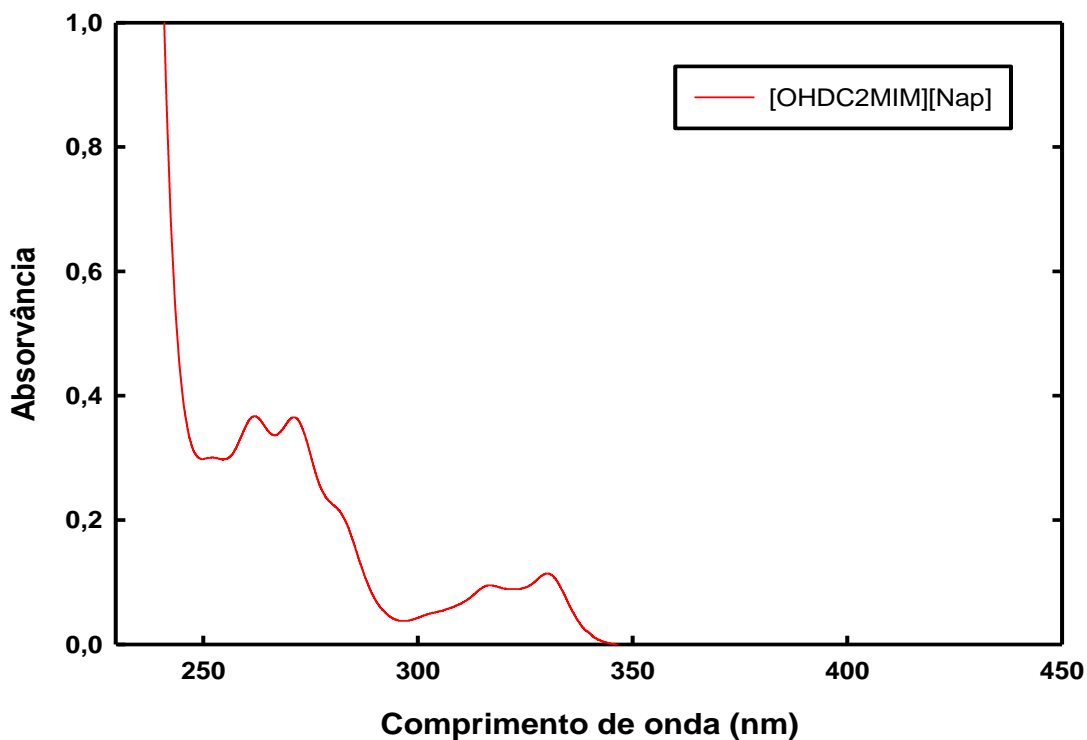


Figura B.12 - Espectro UV-vis do LI [OHDC₂MIM][Nap] em água.

B.1.4. Ácido Nalidíxico e respectivo LI, em água e fluidos biológicos

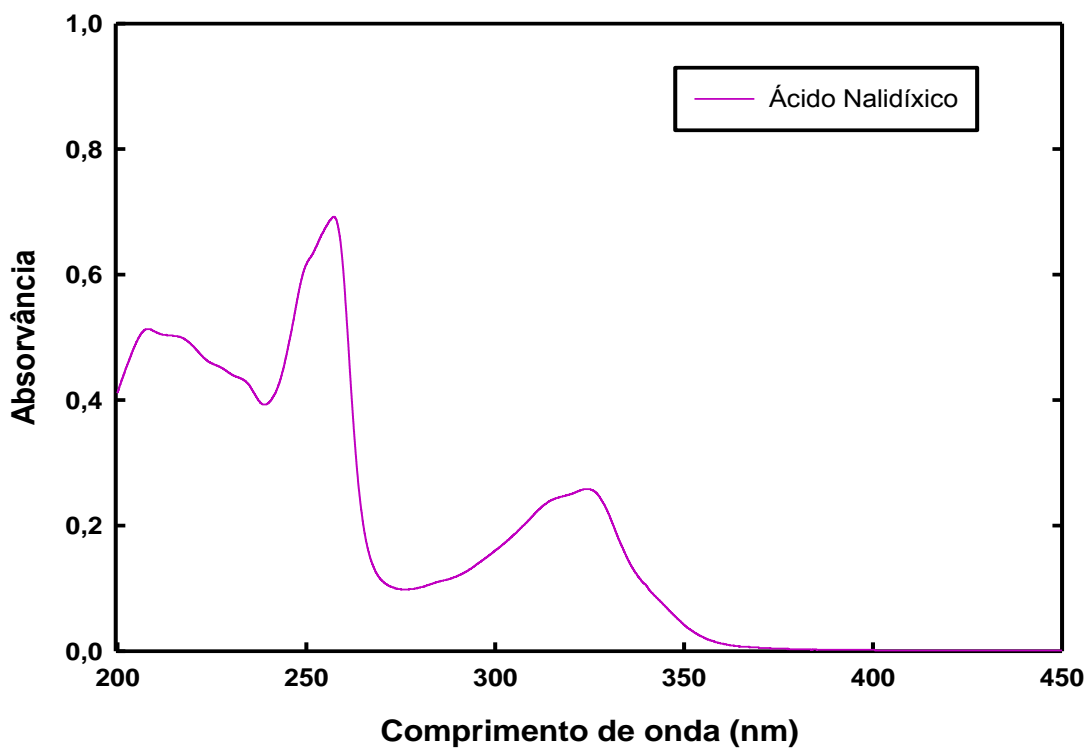


Figura B.13 - Espectro UV-vis do Ácido Nalidíxico em água.

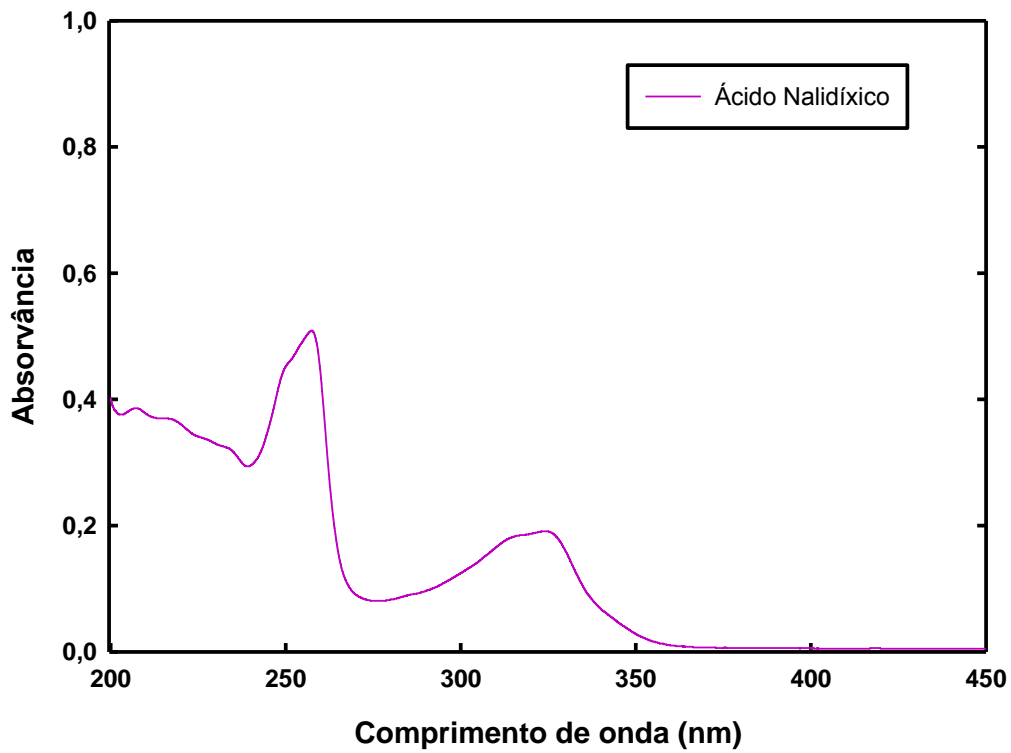


Figura B. 14 - Espectro UV-vis do ácido Nalidíxico em NaCl.

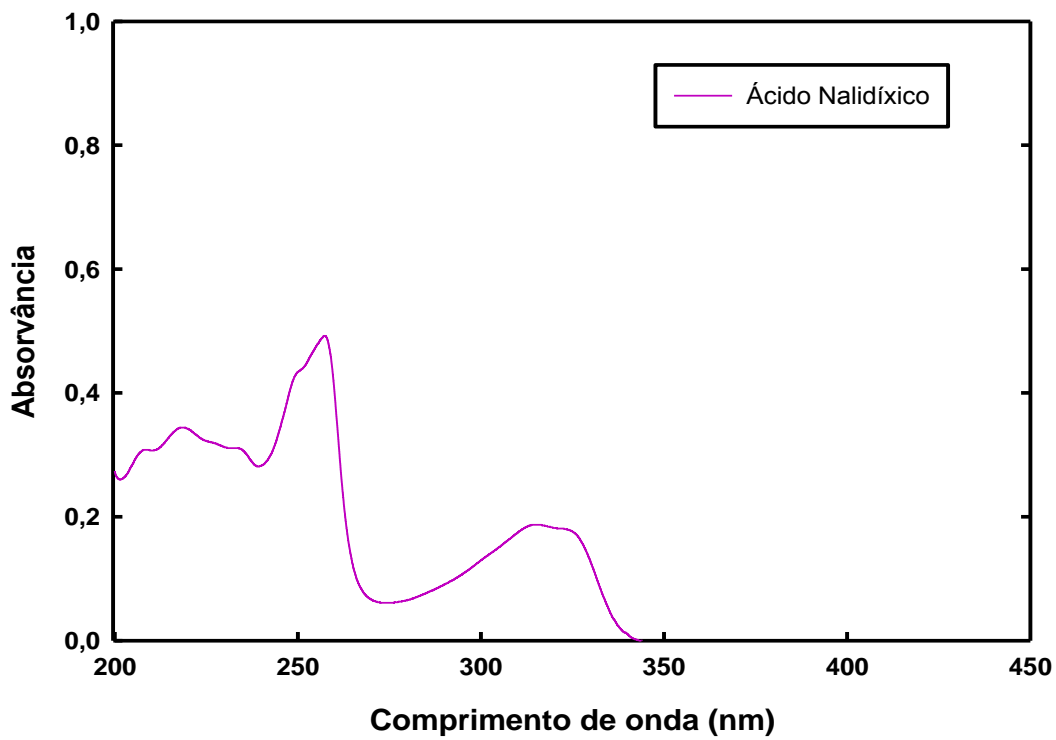


Figura B.15 - Espectro UV-vis do ácido Nalidíxico a pH=1,0.

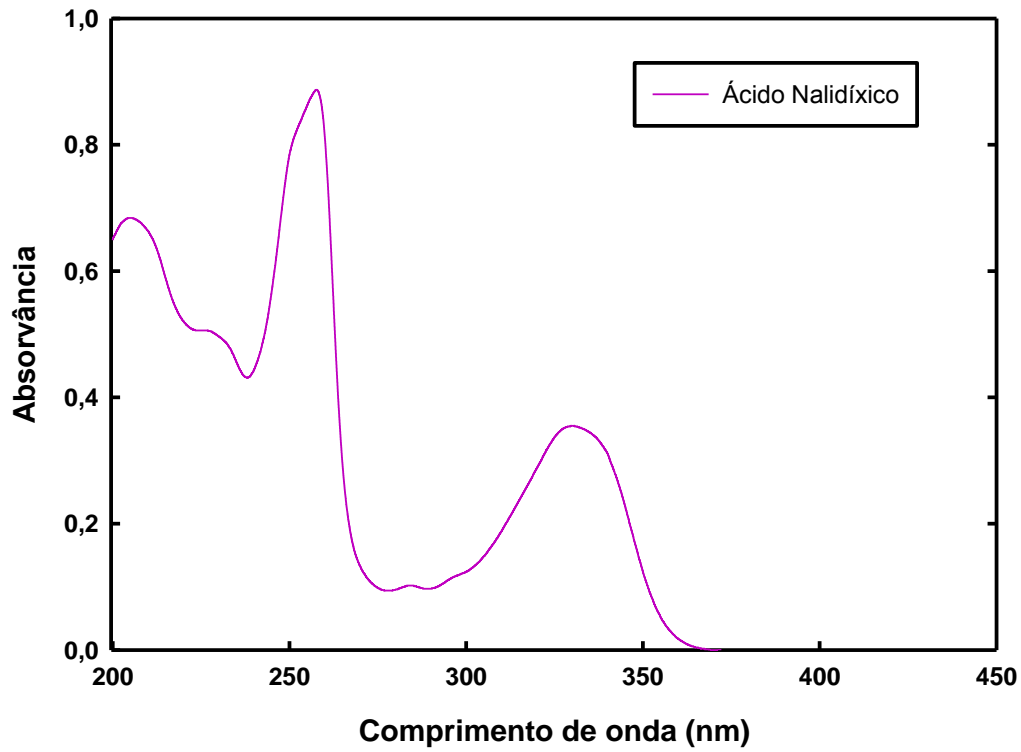


Figura B.16 - Espectro UV-vis do ácido Nalidixico a pH=6,8.

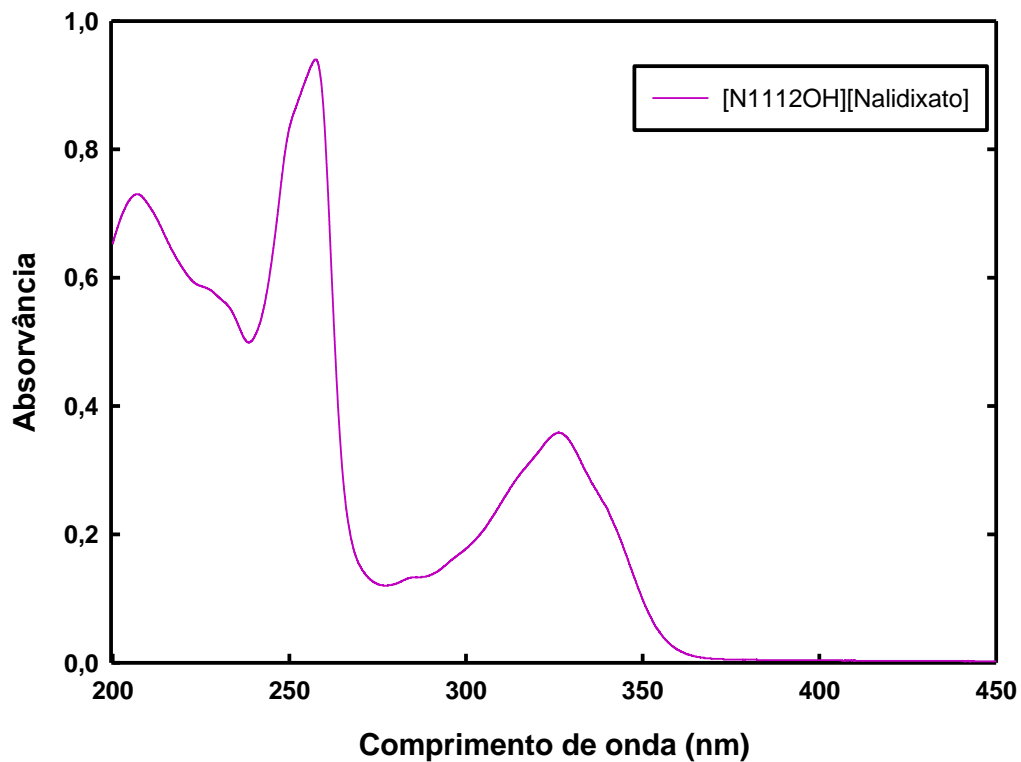


Figura B.17 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Nalidixato] em água.

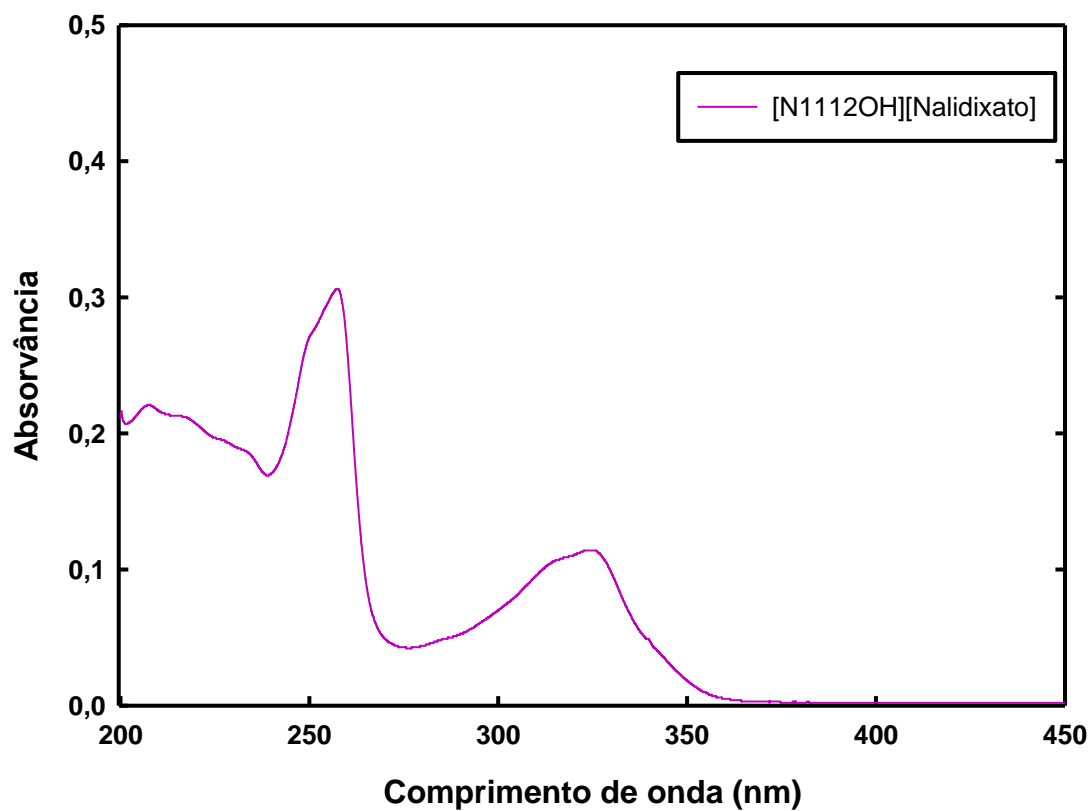


Figura B.18 - Espectro UV-vis do LI [N1112OH][Nalidixato] em NaCl.

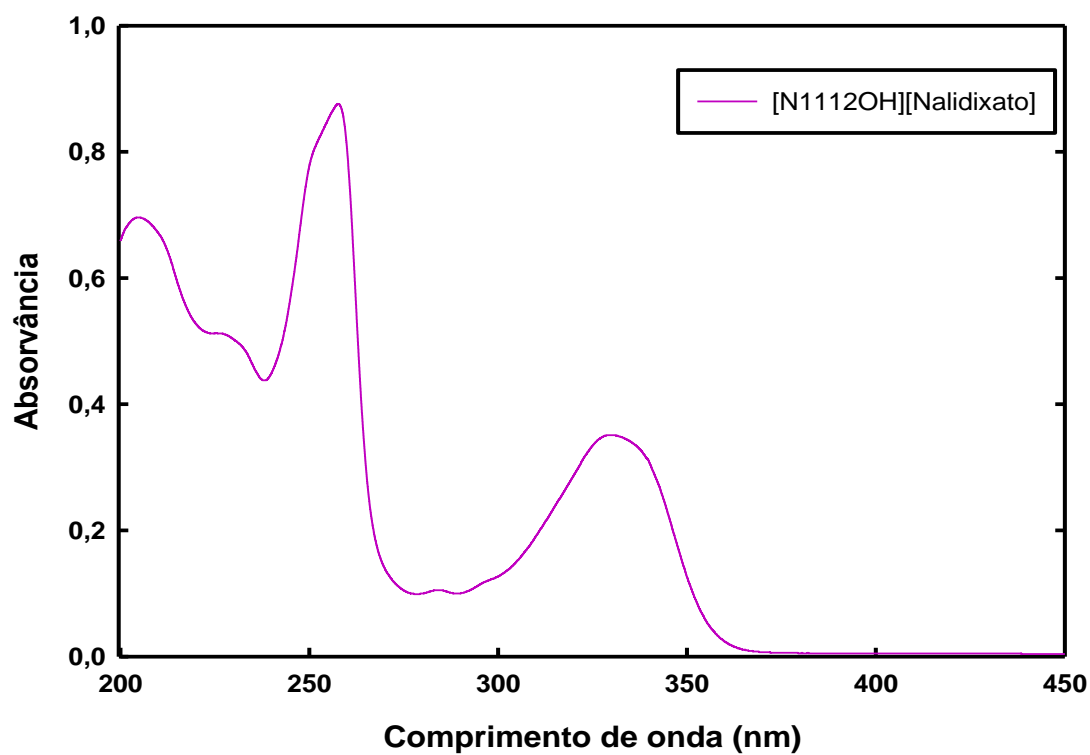


Figura B.19 - Espectro UV-vis do LI [N1112OH][Nalidixato] a pH=6,8.

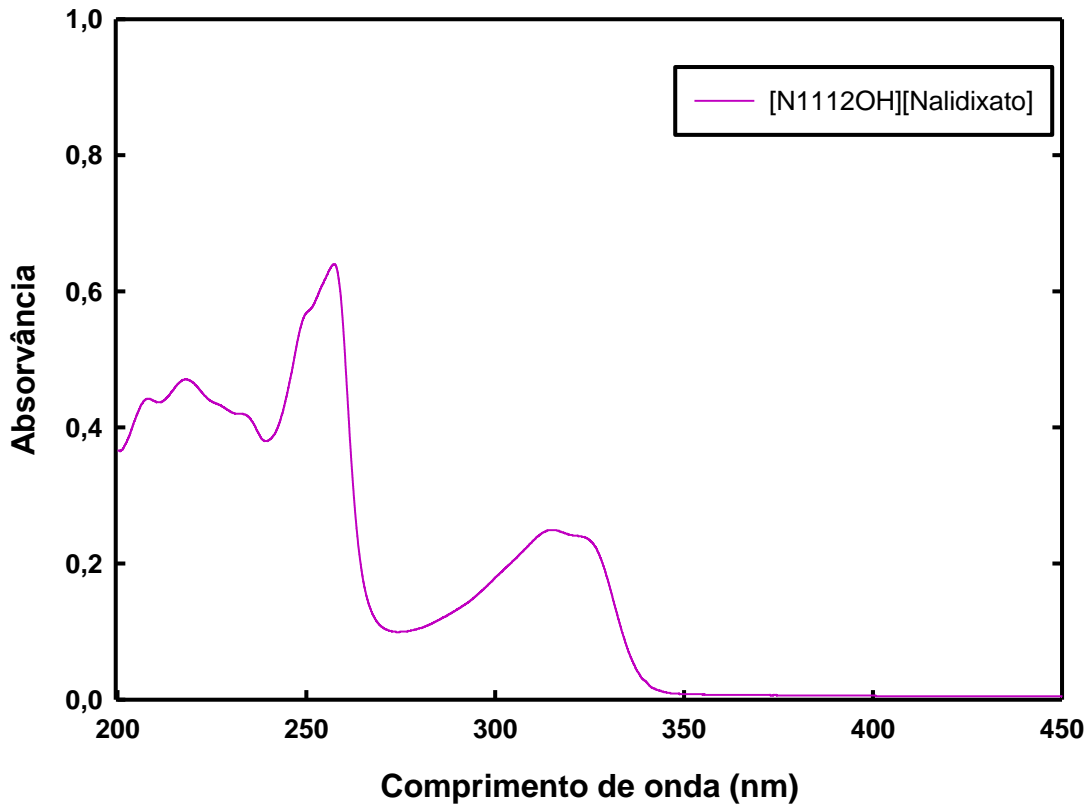


Figura B.20 - Espectro UV-vis do LI [N1112OH][Nalidixato] a pH=1,0.

B.1.5. Ácido Niflúmico e respectivo LI, em água e fluidos biológicos

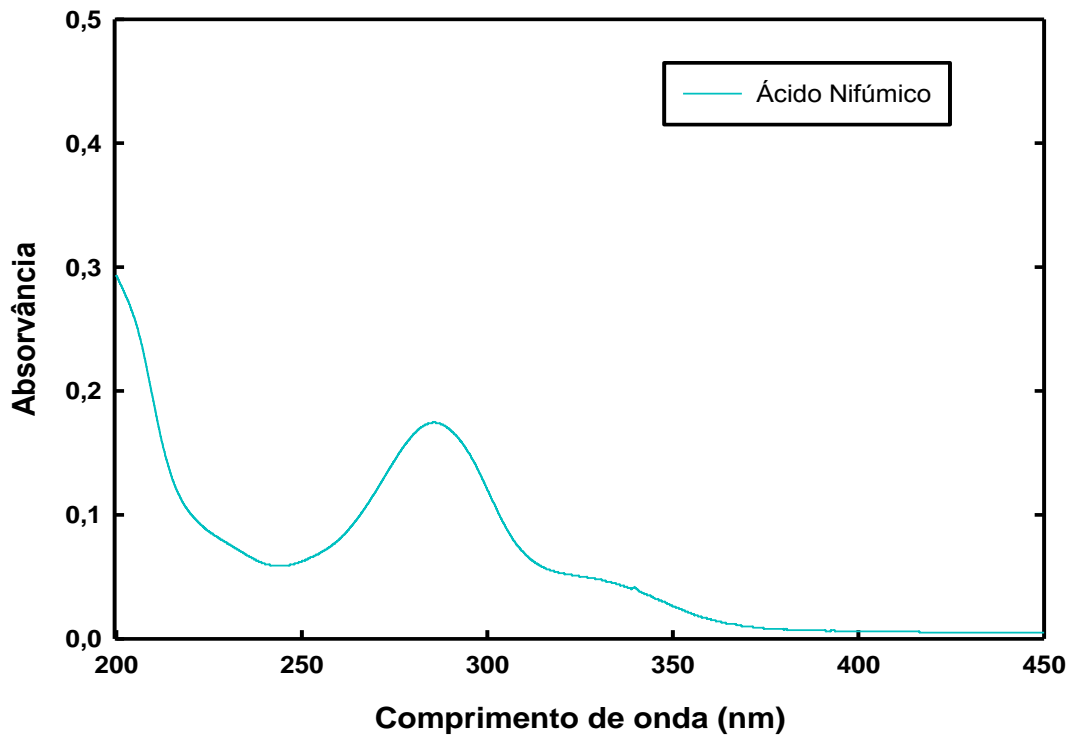


Figura B.21 - Espectro UV-vis do ácido niflúmico em água.

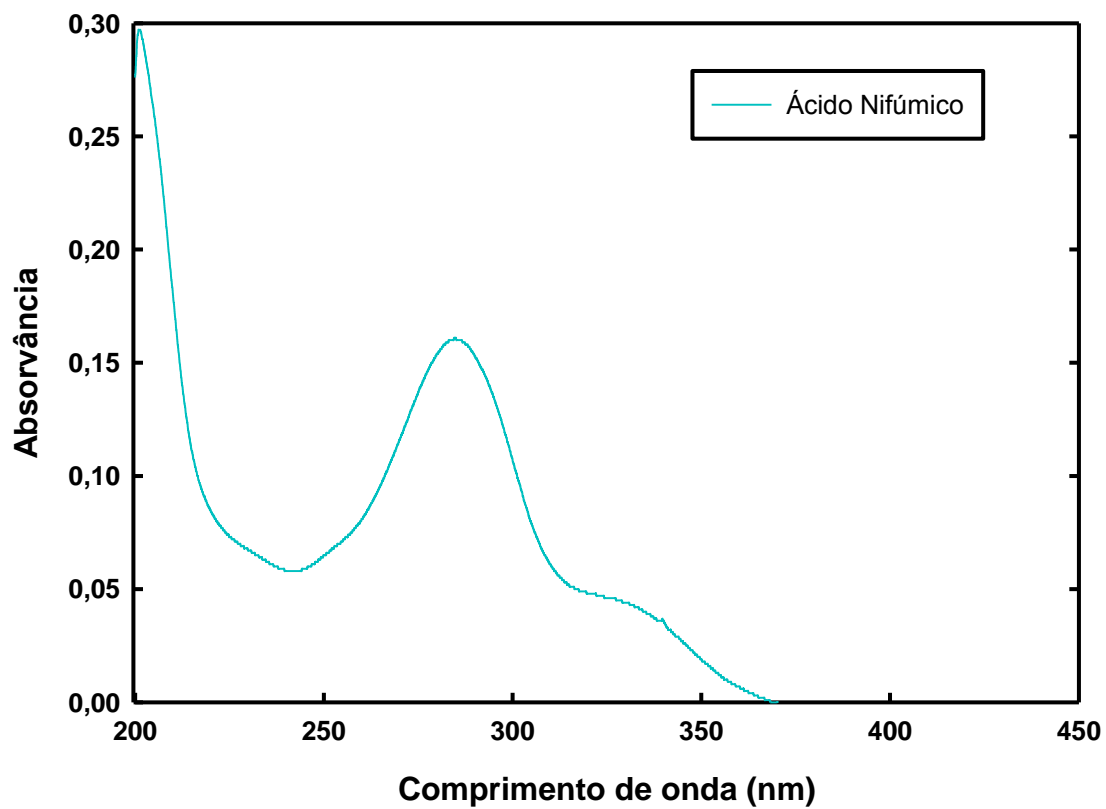


Figura B.22 - Espectro UV-vis do ácido niflúmico em NaCl.

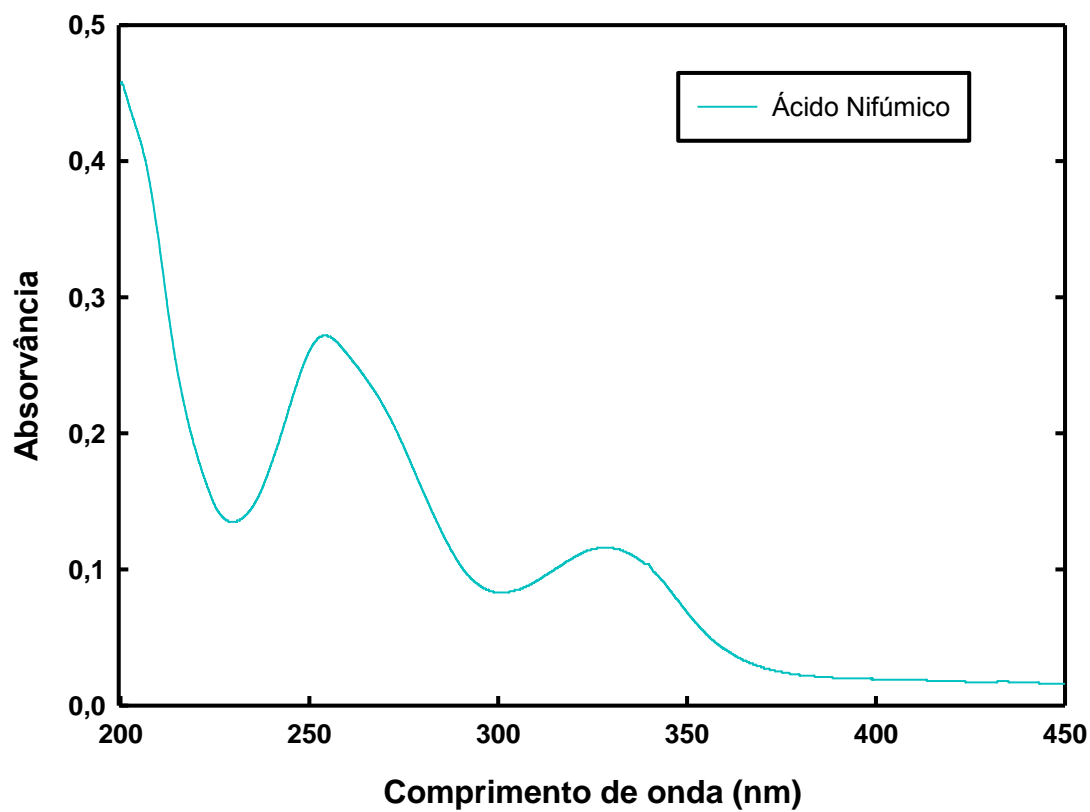


Figura B.23 - Espectro UV-vis do ácido niflúmico a pH=1,0

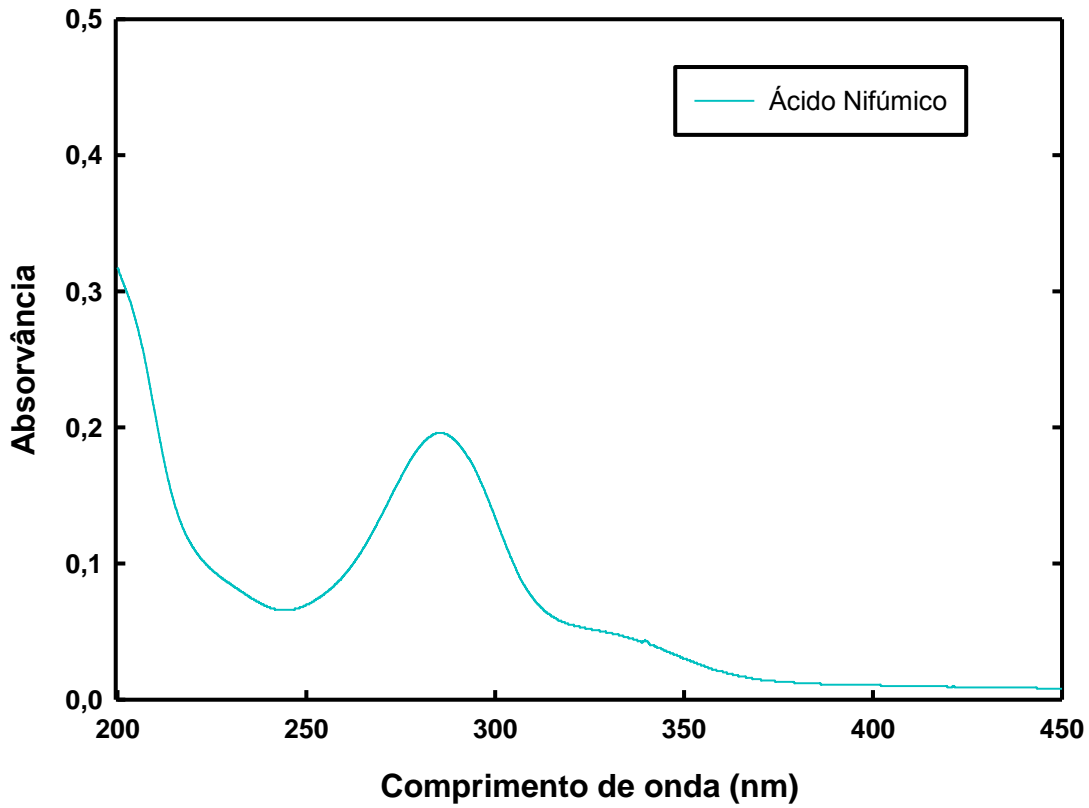


Figura B.24 - Espectro UV-vis do ácido niflúmico a pH=6,8.

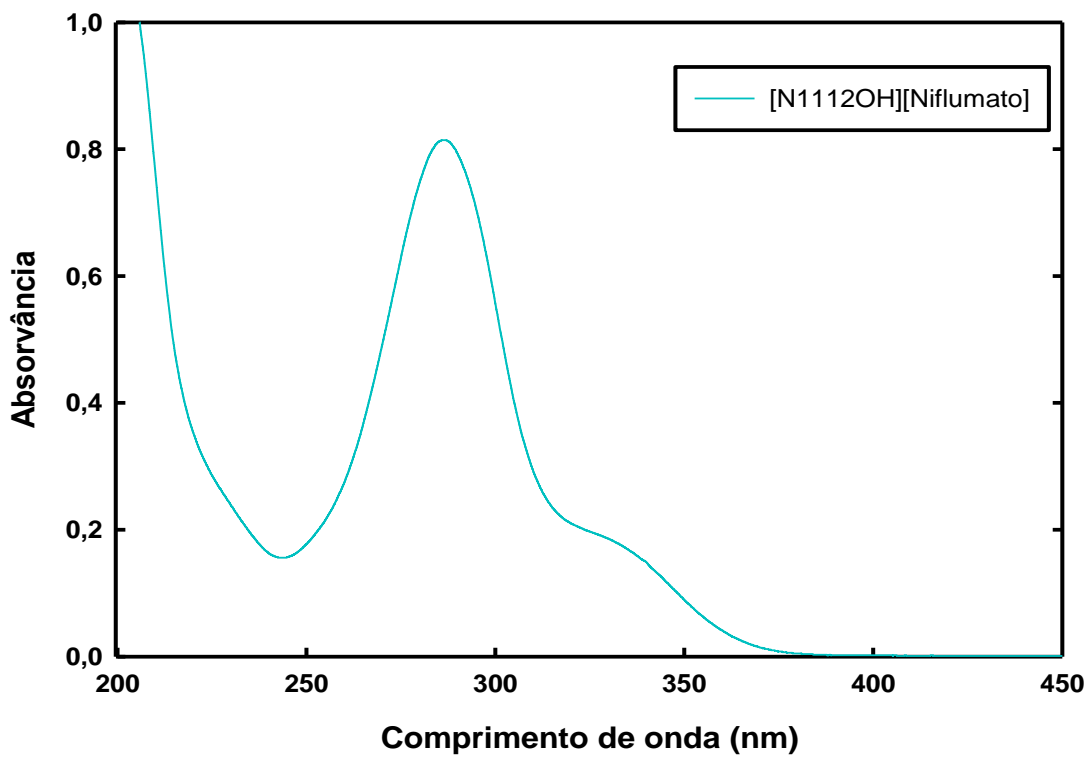


Figura B.25 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][Niflumato] em água.

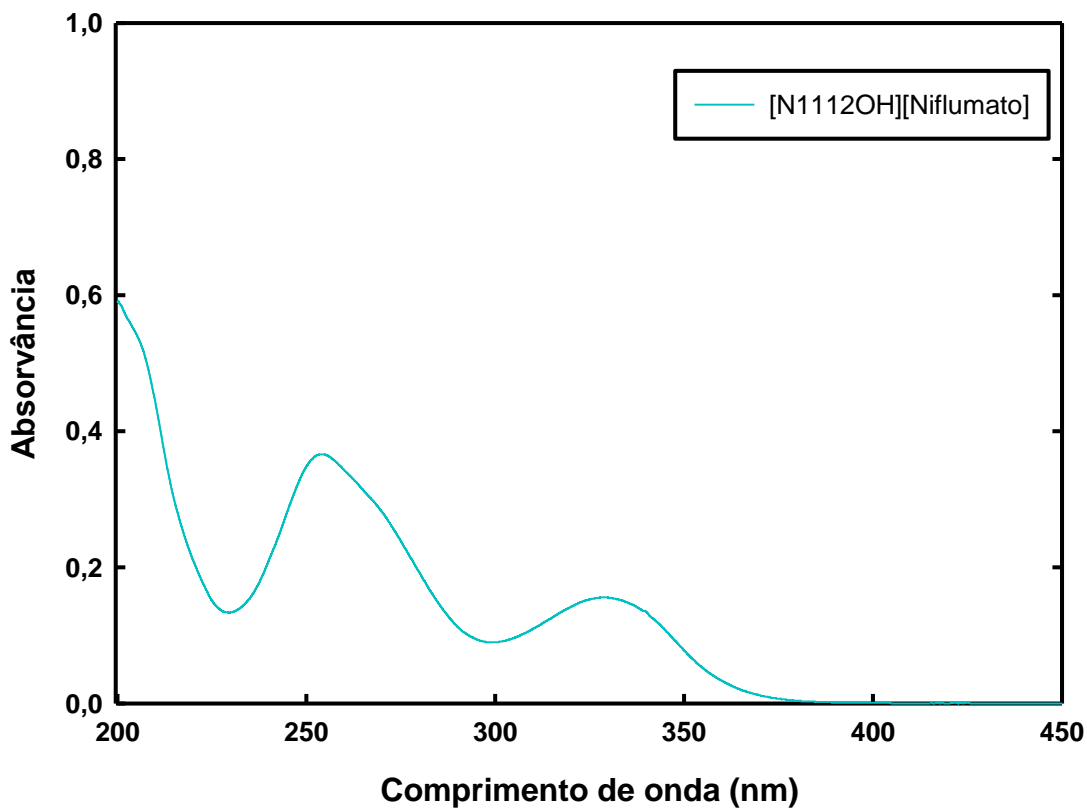


Figura B.26 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Niflumato] a pH=1,0

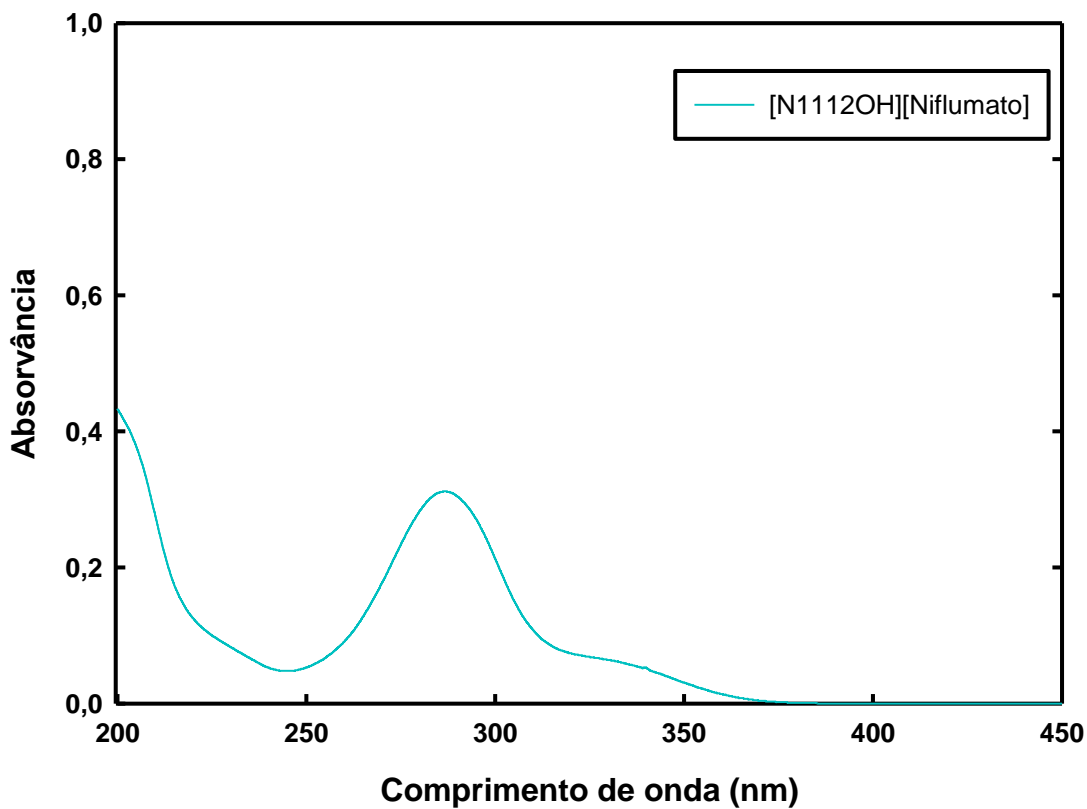


Figura B.27 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Niflumato] a pH=6,8.

B.1.6. Ácido Pirazinóico e respectivo LI, em água e fluidos biológicos

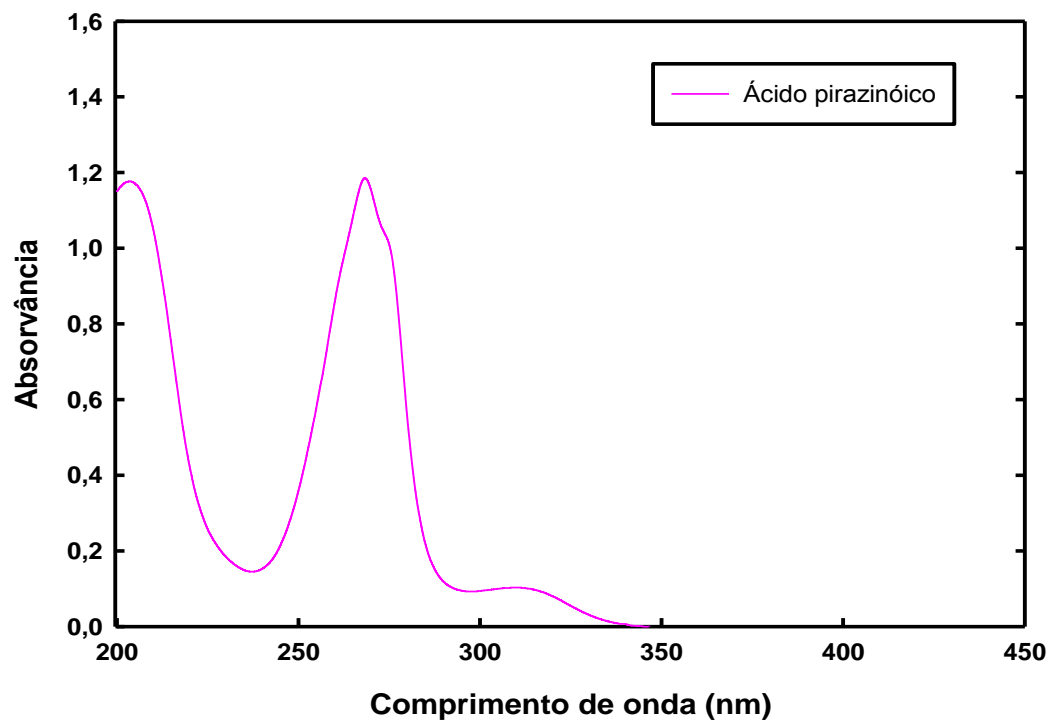


Figura B.28 - Espectro UV-vis do ácido pirazinóico em água.

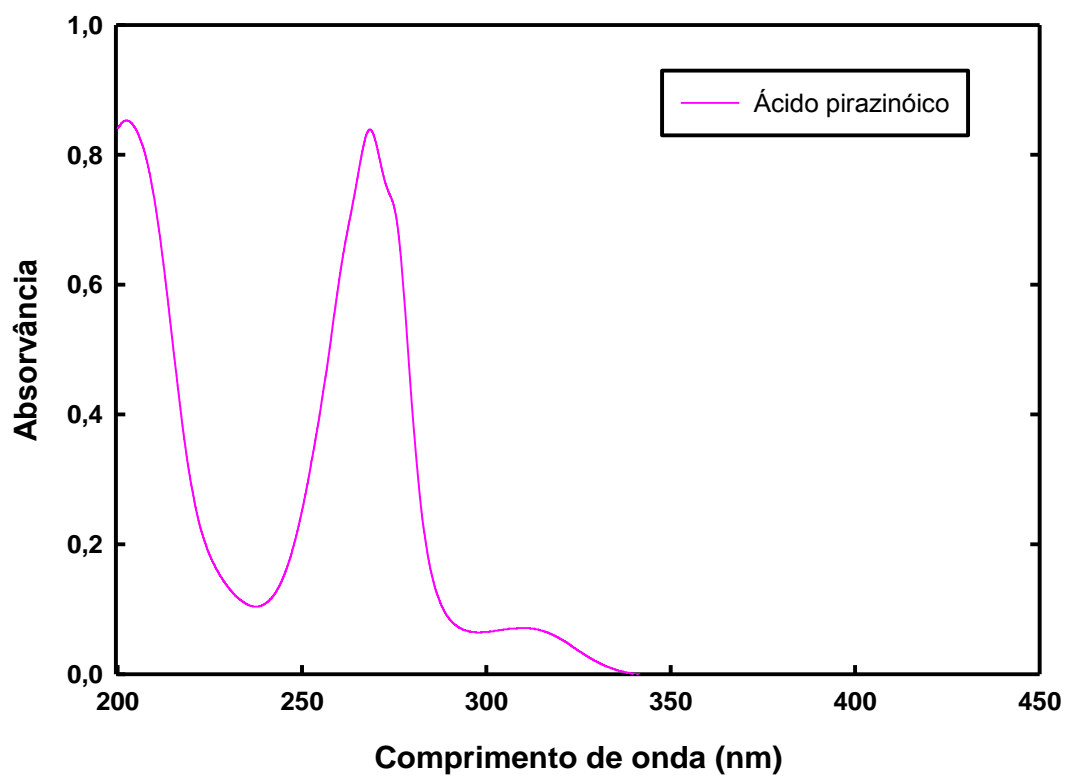


Figura B.29 - Espectro UV-vis do ácido pirazinóico a pH=6,8.

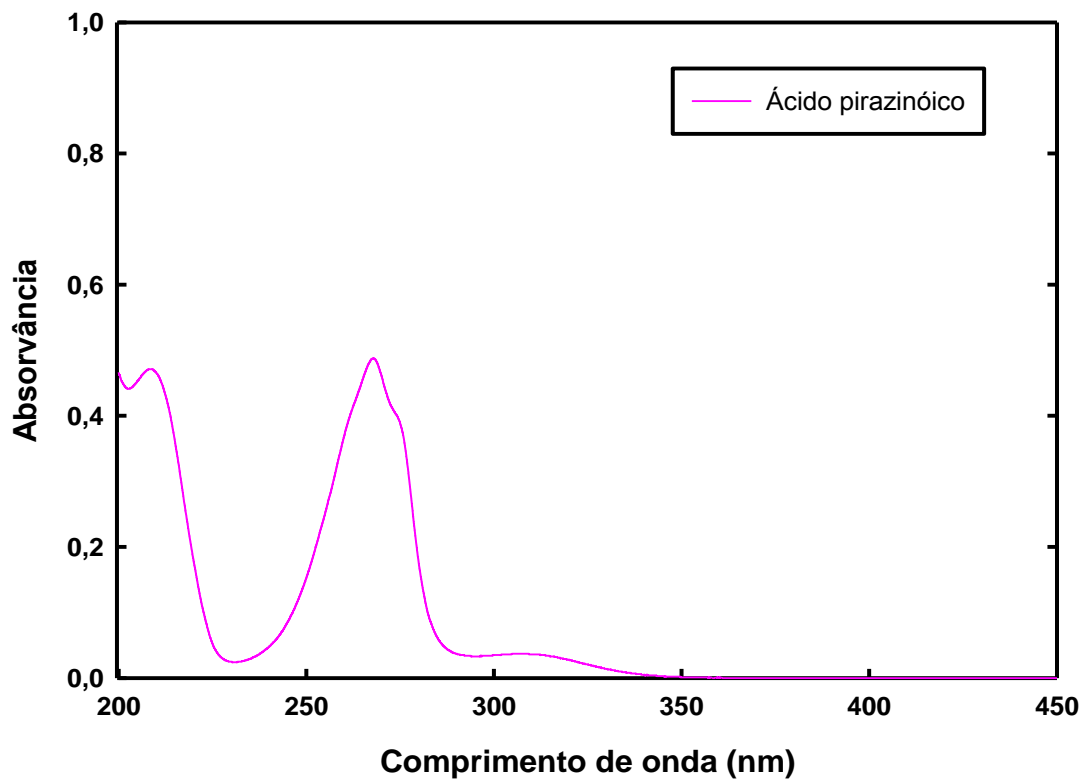


Figura B.30 - Espectro UV-vis do ácido pirazinóico a pH=1,0.

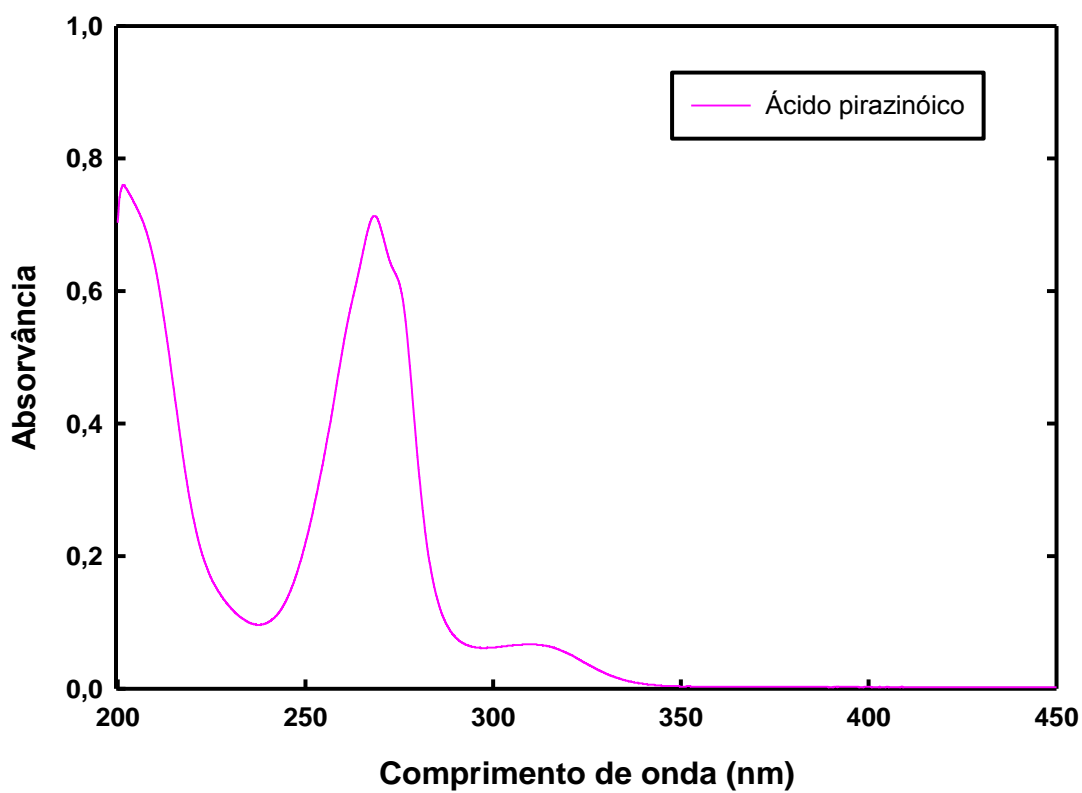


Figura B.31 - Espectro UV-vis do ácido pirazinóico em NaCl.

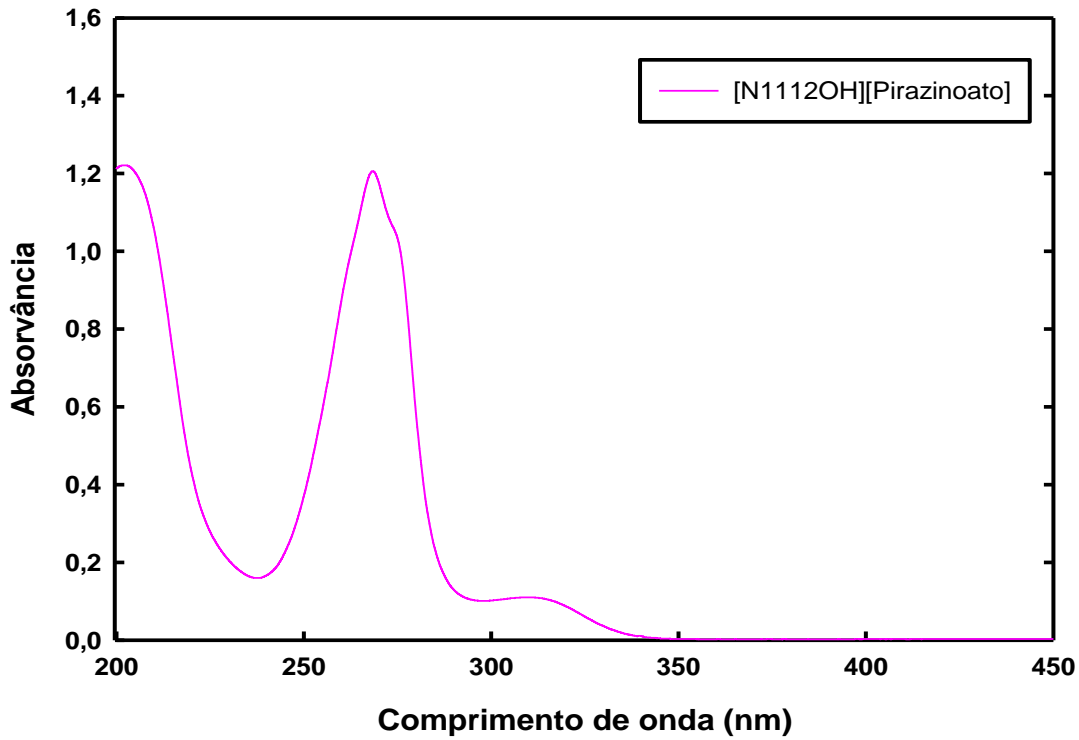


Figura B.32 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Pirazinoato] em água.

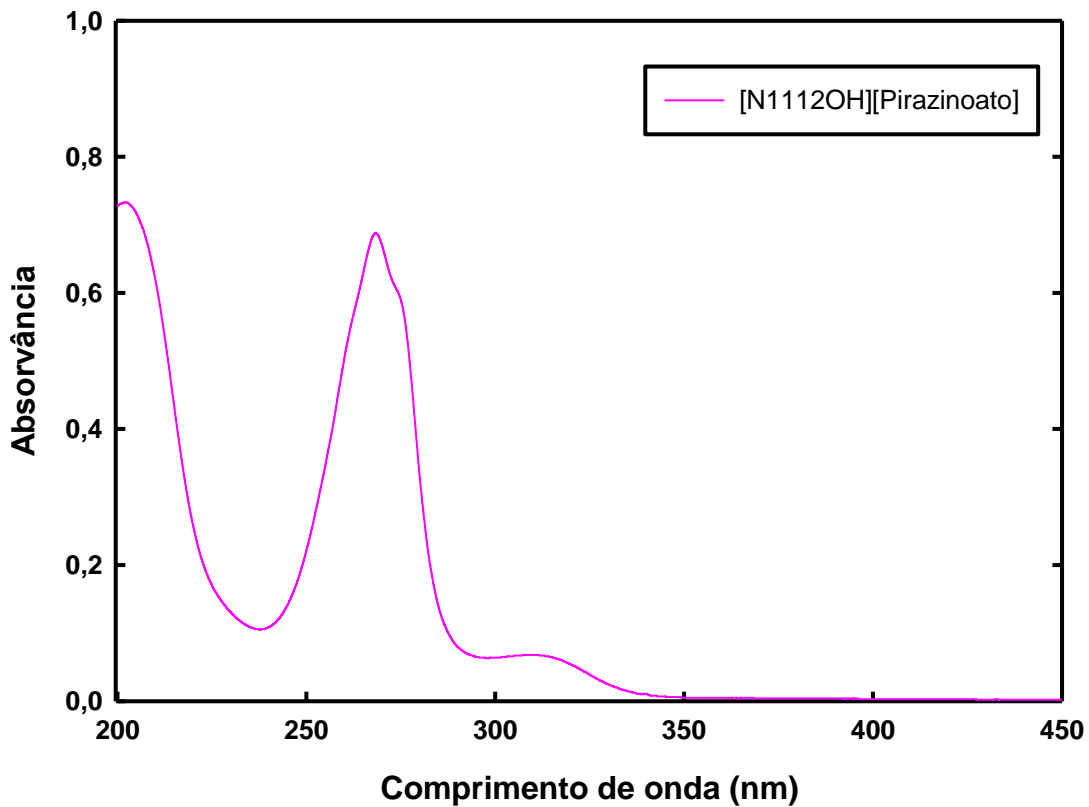


Figura B.33 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Pirazinoato] em pH=6,8.

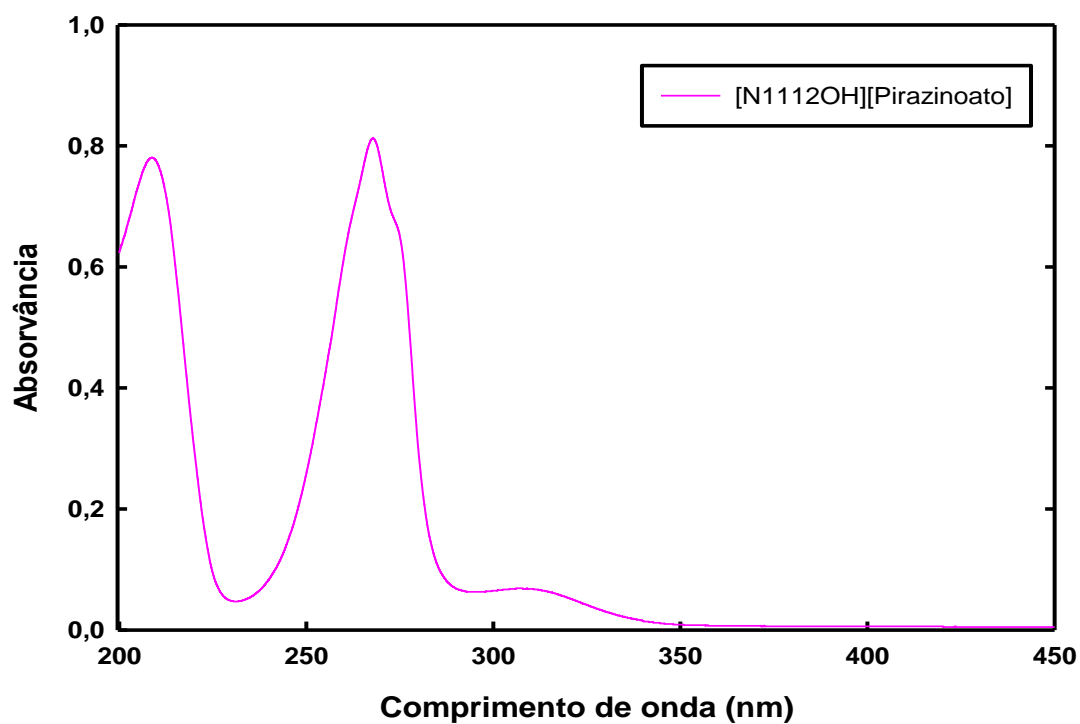


Figura B.34 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][Pirazinoato] em pH=1,0

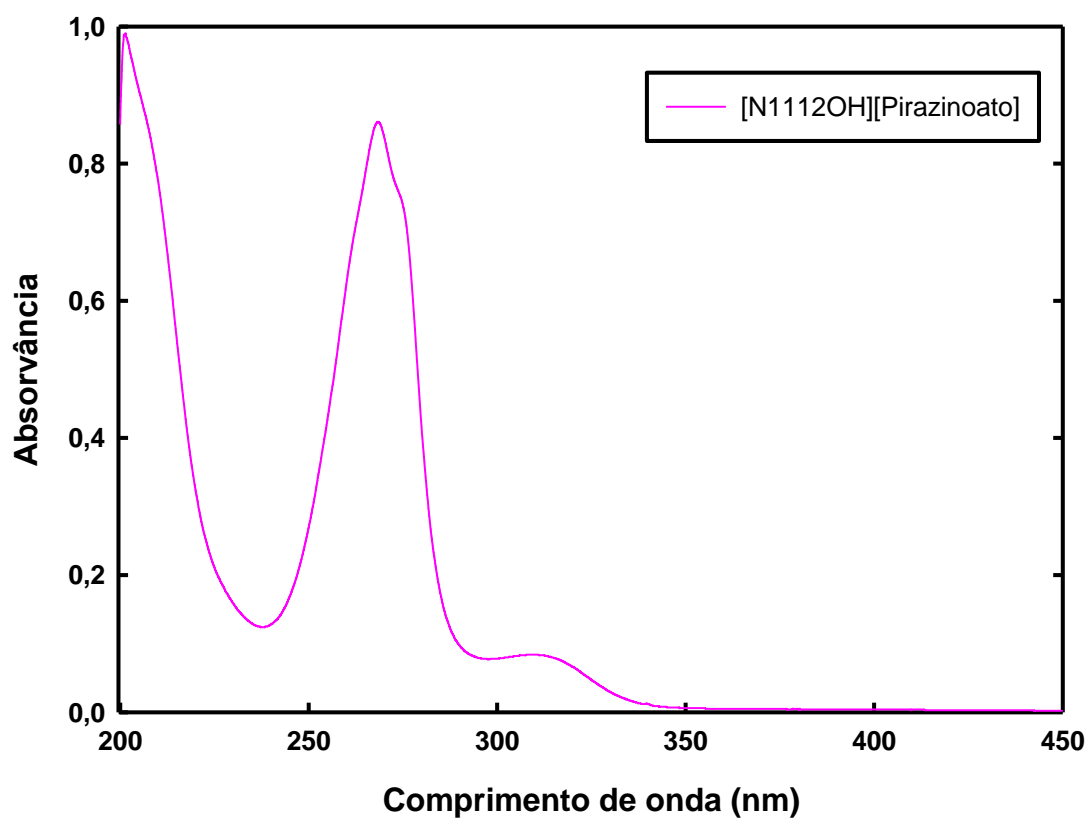


Figura B.35 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][Pirazinoato] em NaCl.

B.1.7. Ácido Picolínico e respectivo LI, em água e fluidos biológicos

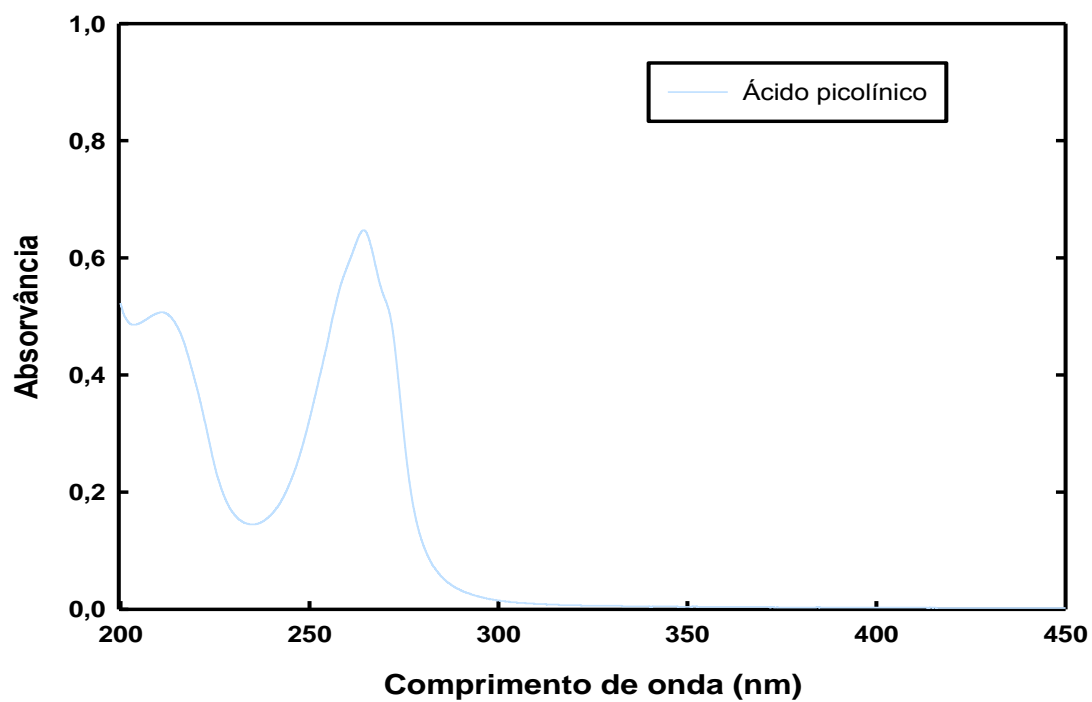


Figura B.36 - Espectro UV-vis do ácido picolínico em água.

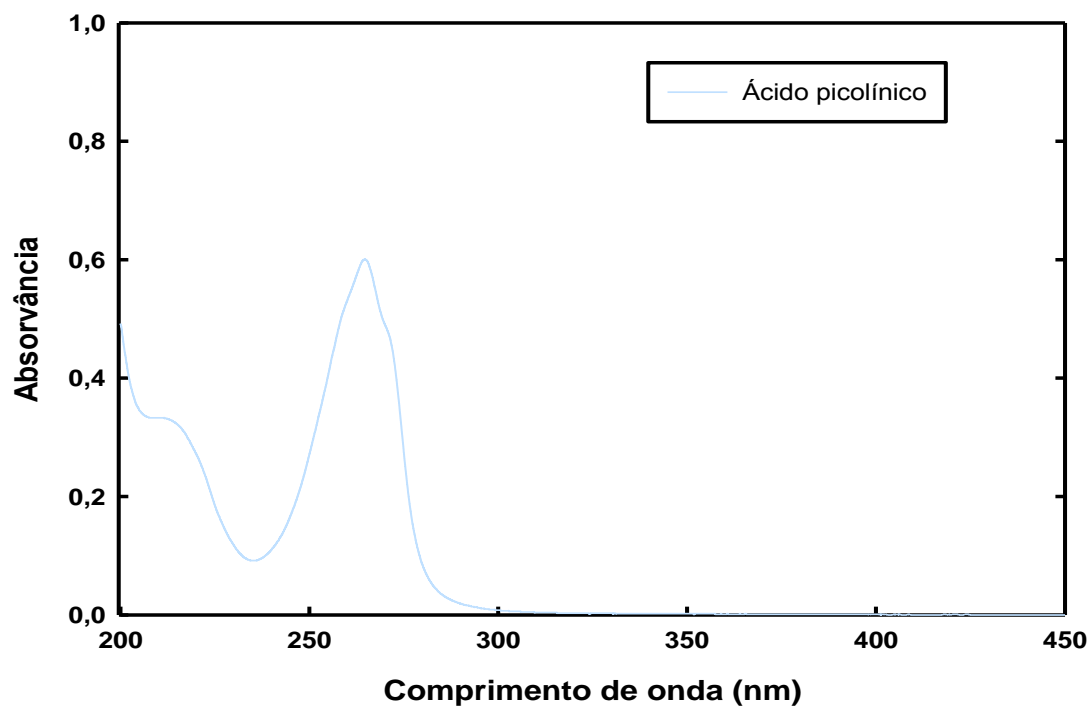


Figura B.37 - Espectro UV-vis do ácido picolínico a pH=1,0.

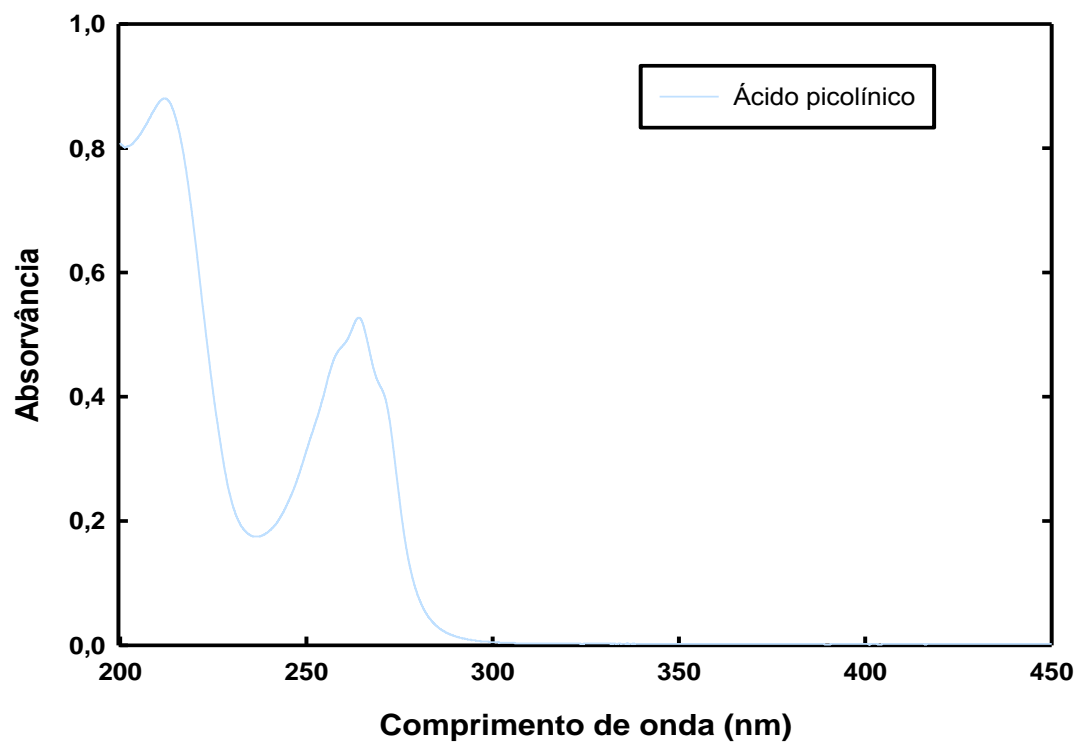


Figura B.38 - Espectro UV-vis do ácido picolínico a pH=6,8.

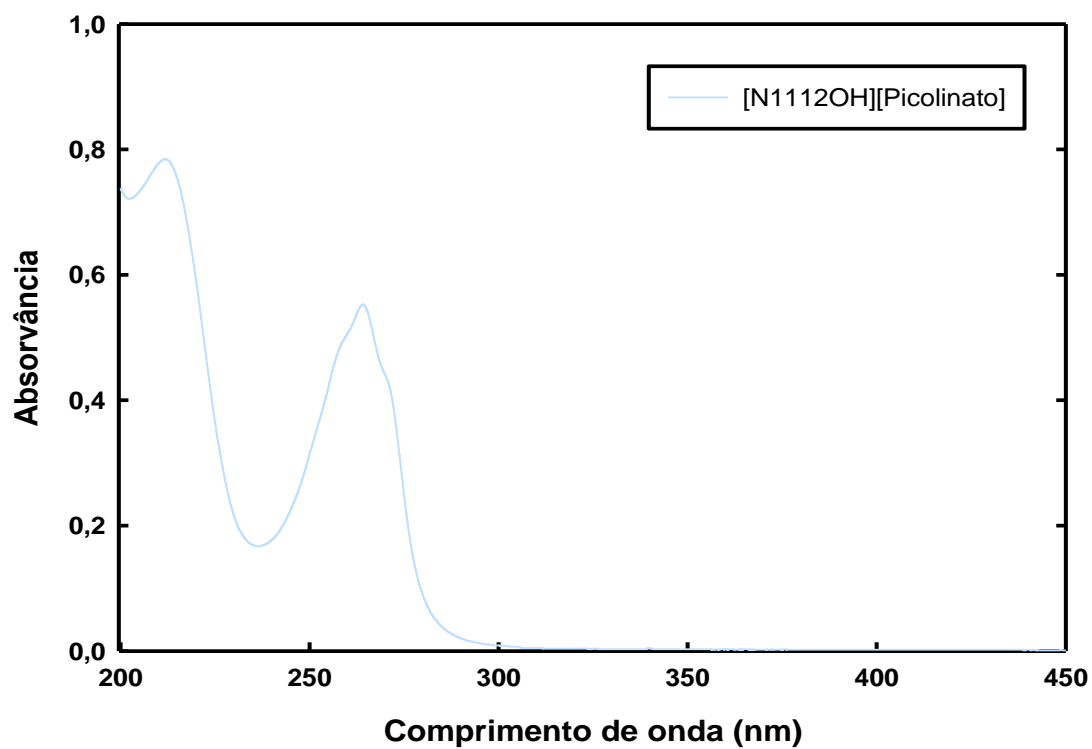


Figura B.39 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₂OH][Picolinato] em água.

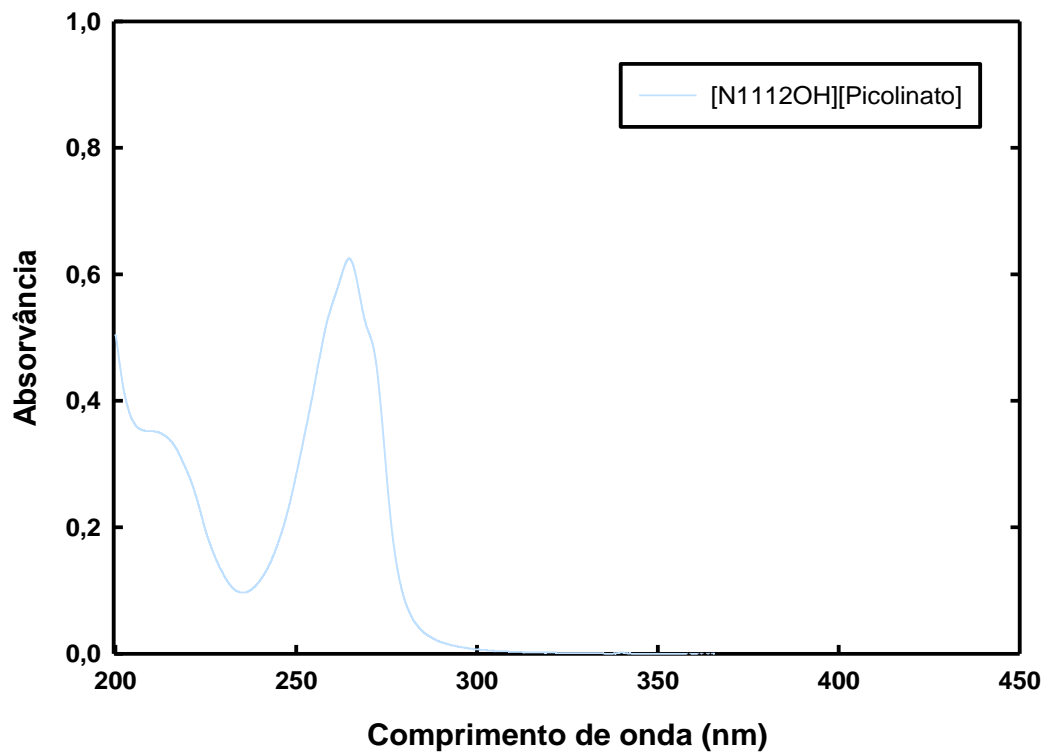


Figura B.40 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Picolinato] a pH=1,0.

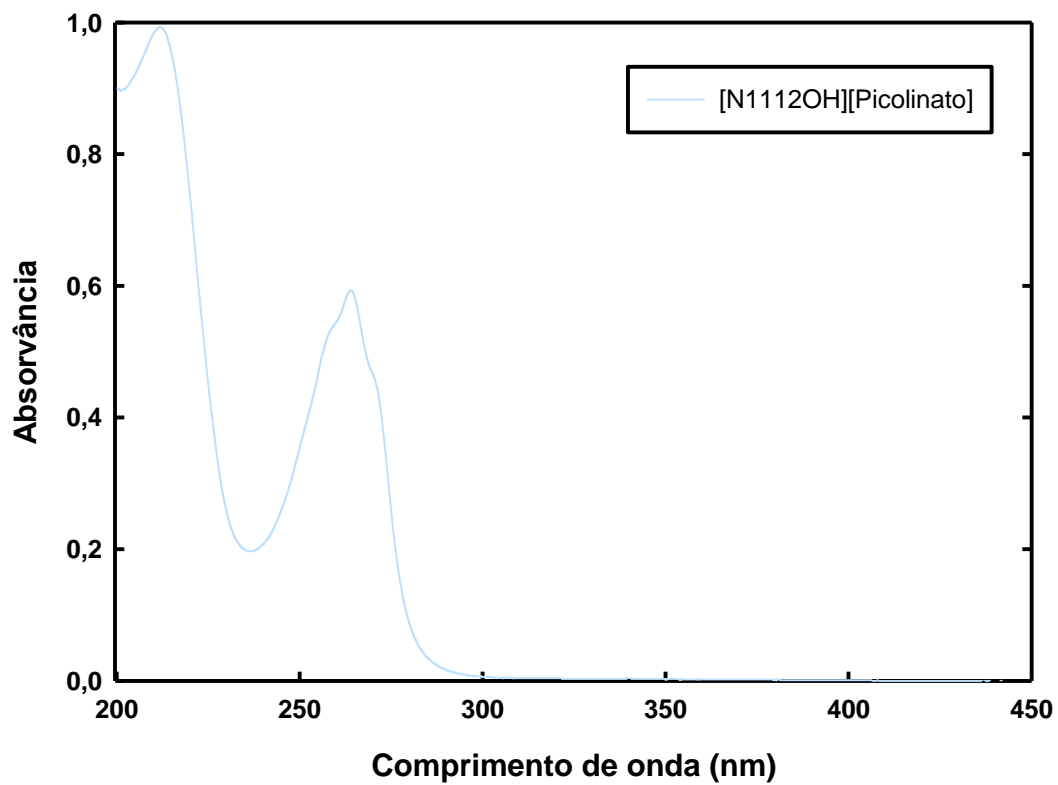


Figura B.41 - Espectro UV-vis do LI [N_{1112OH}][Picolinato] a pH=6,8.

B.8. Ácido 4-aminosalicílico e respectivo LI, em água e fluidos biológicos

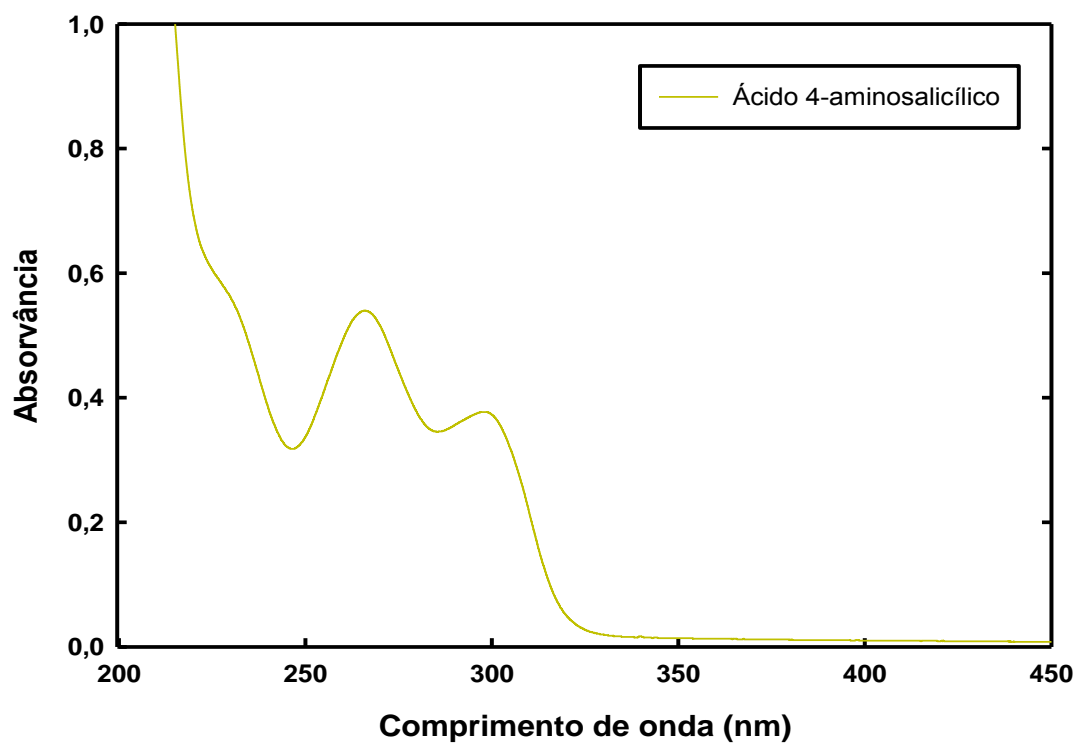


Figura B.42 - Espectro UV-vis do ácido 4-aminosalicílico em água.

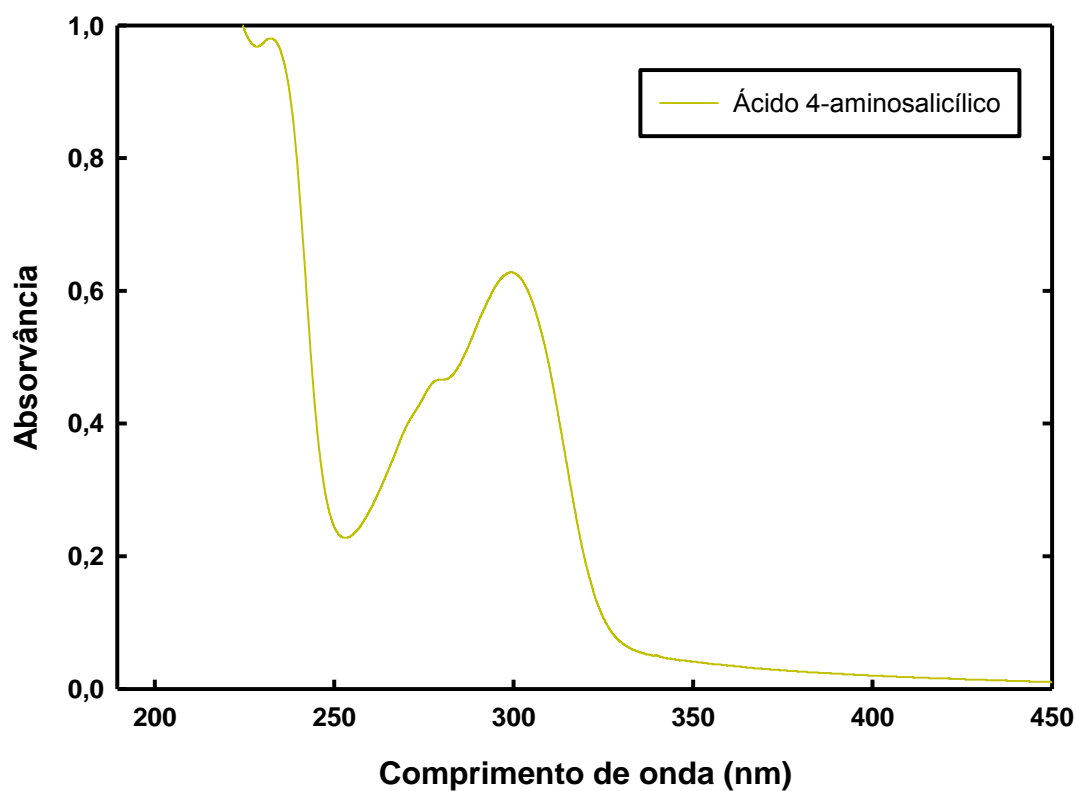


Figura B.43 - Espectro UV-vis do ácido 4-aminosalicílico a pH=1,0

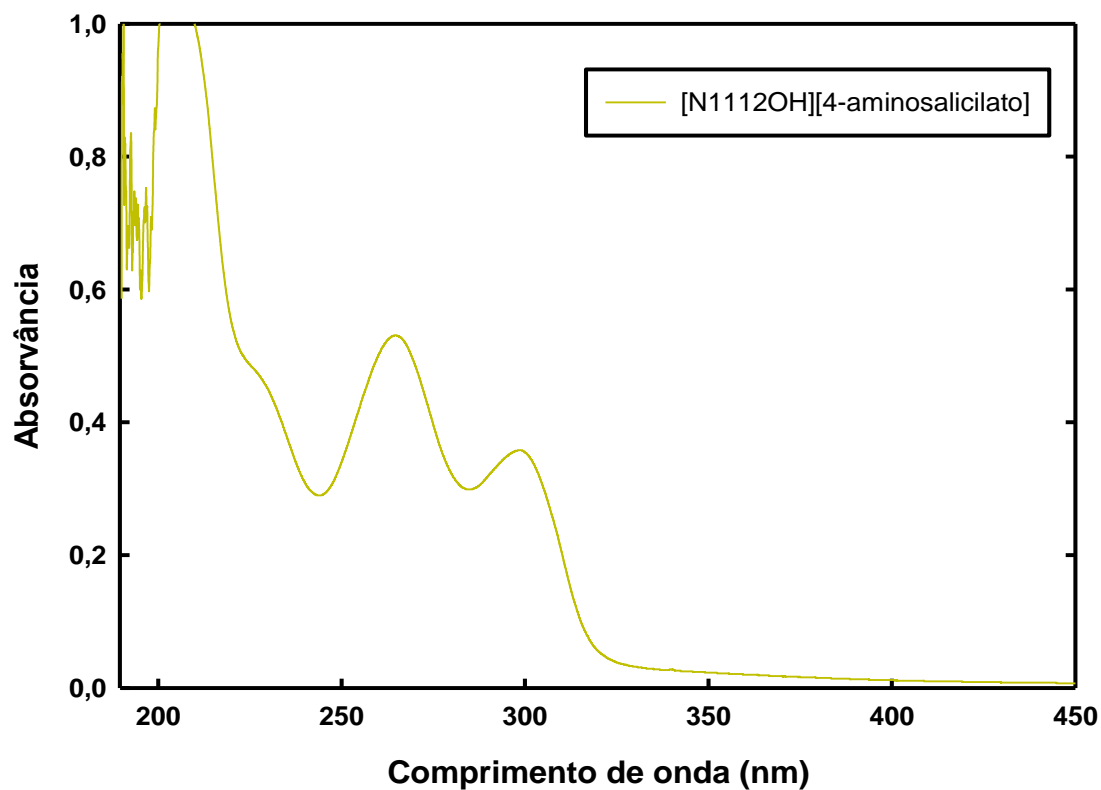


Figura B.44 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][4-aminosalicilato] em NaCl.

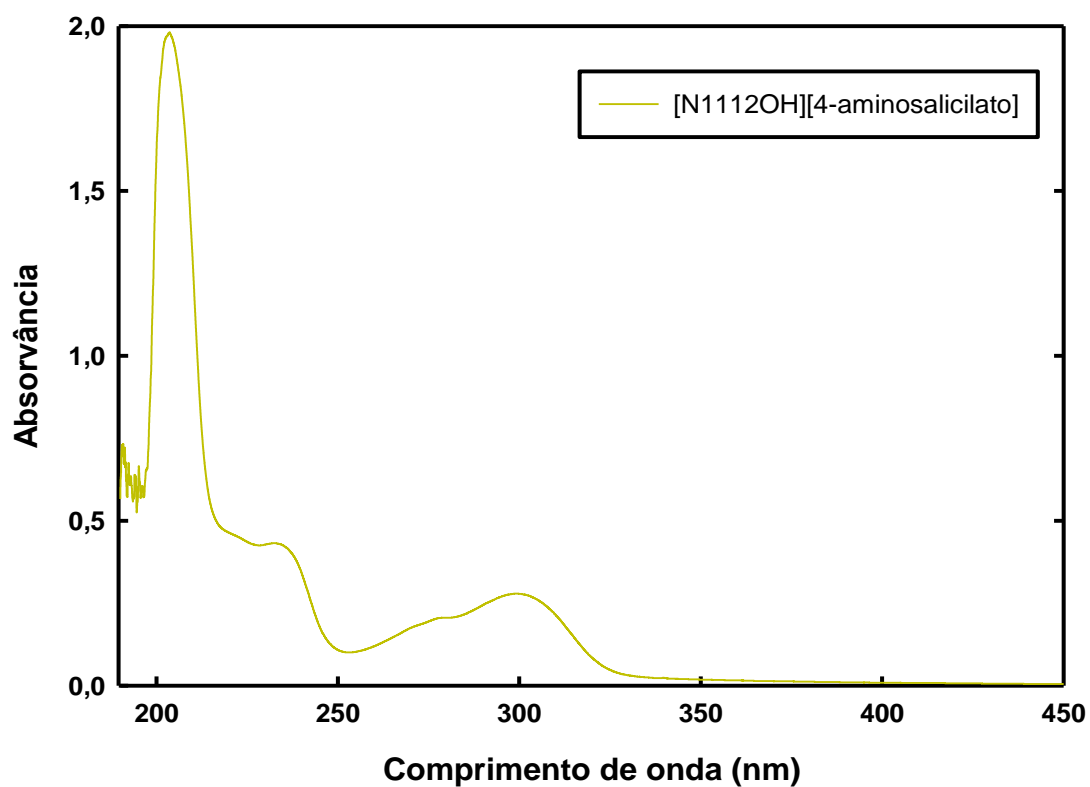


Figura B.45 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][4-aminosalicilato] a pH=1,0.

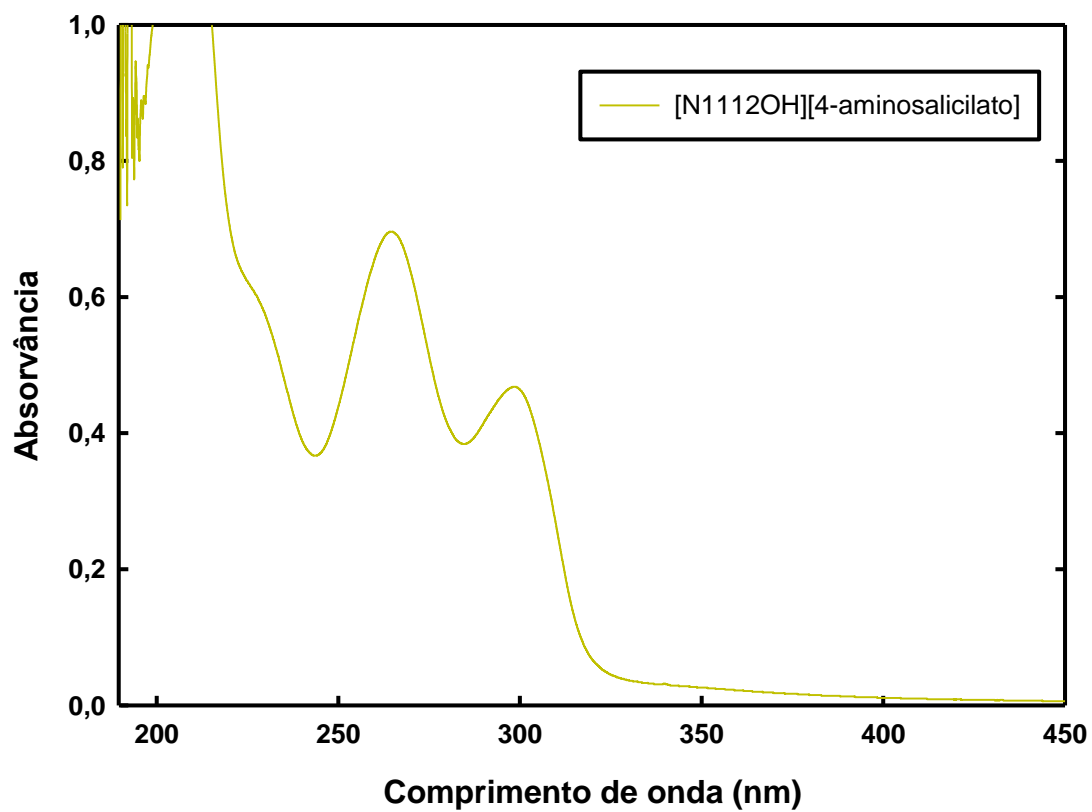


Figura B.46 - Espectro UV-vis do LI [N₁₁₁₂OH][4-aminosalicilato] a pH=6,8.

Anexo C

C.1. Rectas de calibração traçadas para cada PAF estudado na forma ácida e na forma de LI.

C.1.1. PAF Ampicilina e respectivos LIs

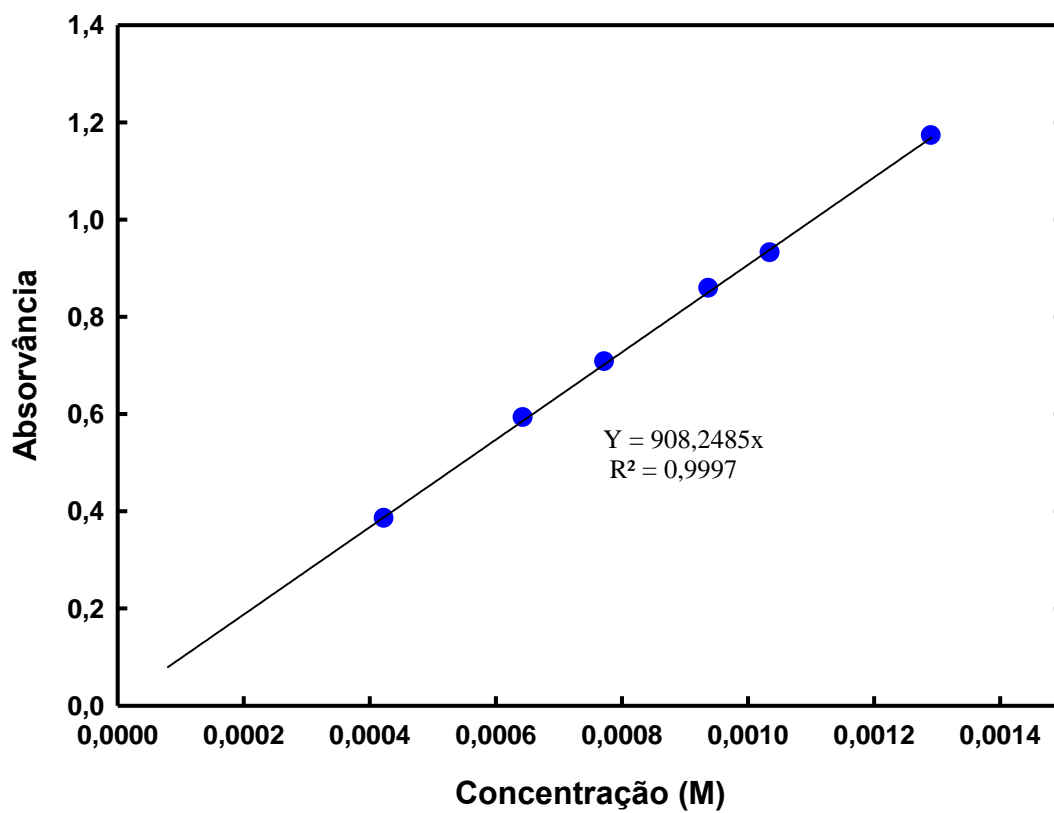


Figura C.1 – Recta de calibração para o LI [OHC₂MIM][Amp] em água.

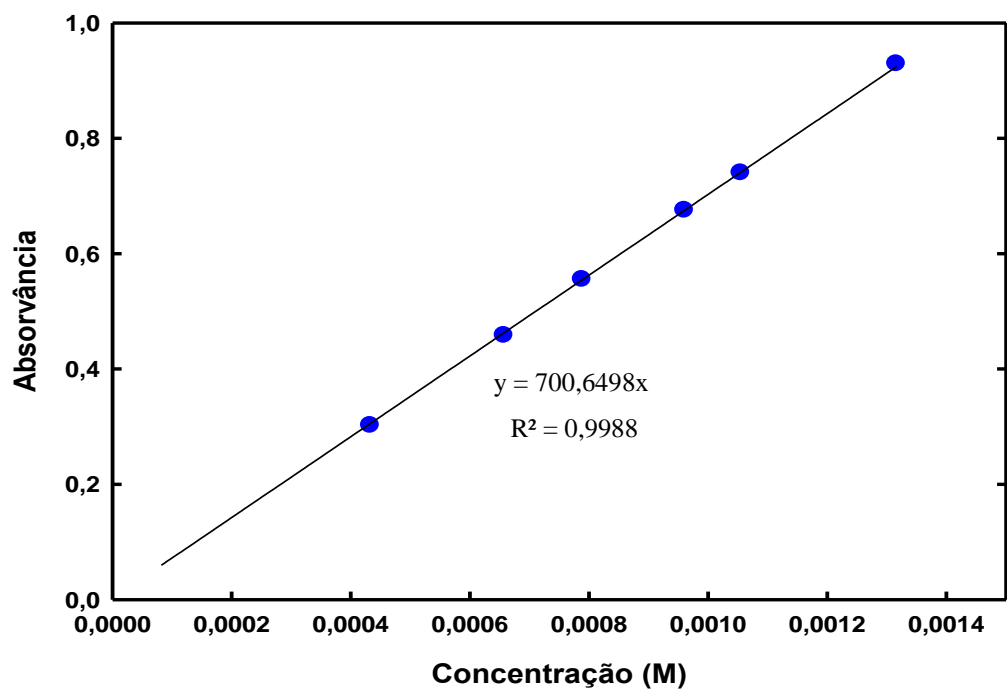


Figura C.2. – Recta de calibração para o LI [C₂MIM][Amp] em água.

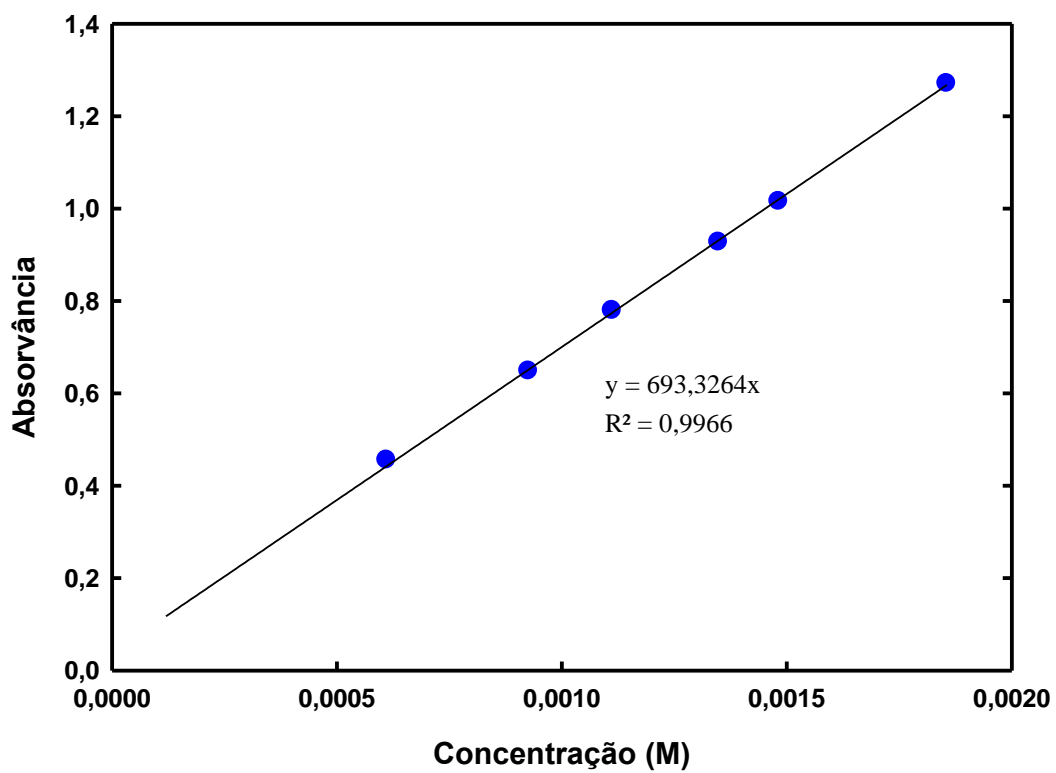


Figura C.3 – Recta de calibração para o LI [N_{1120H}][Amp] em água.

C.1.2. Ibuprofeno e respectivos LIs

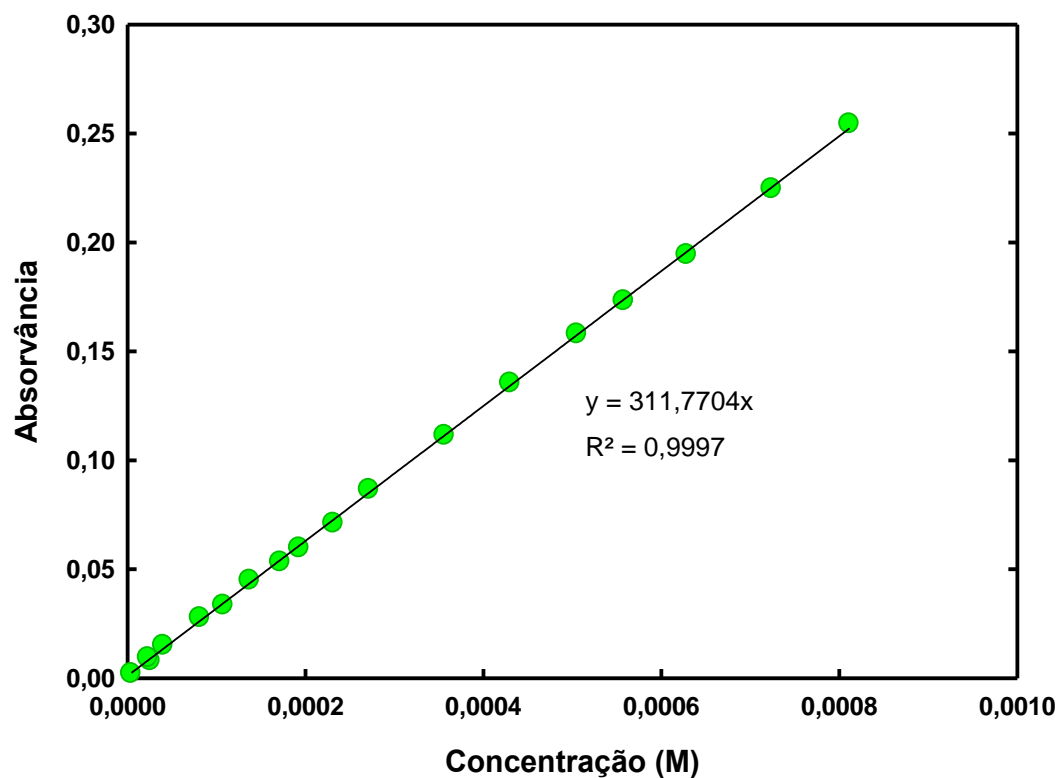


Figura C.4 – Recta de calibração para o Ibuprofeno em água.

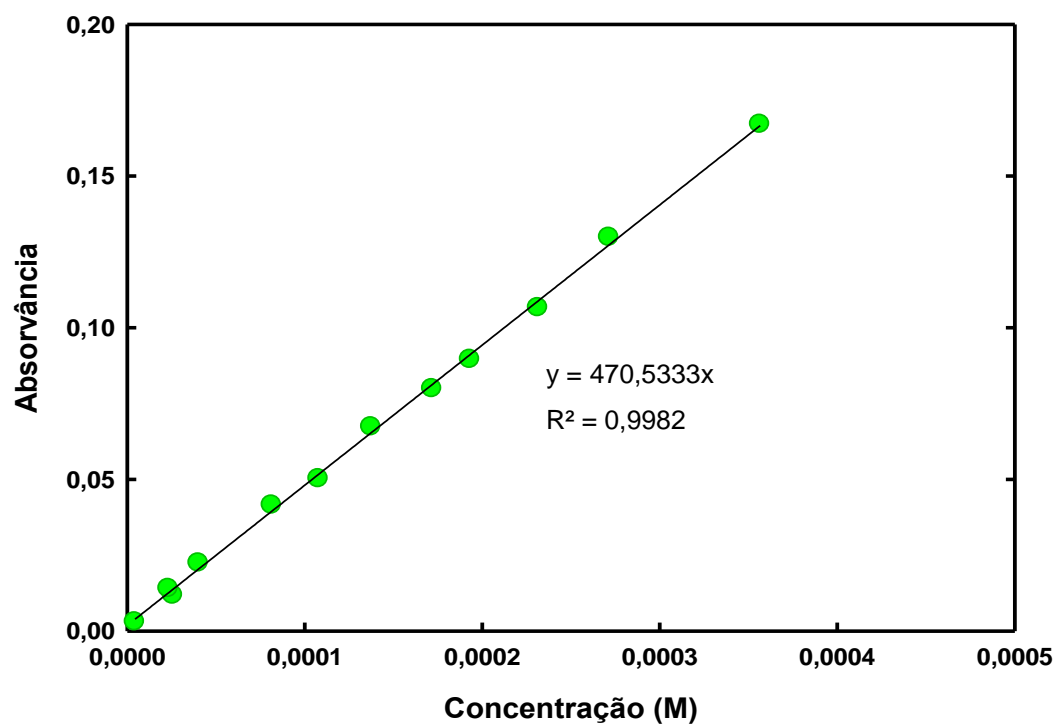


Figura C.5 – Recta de calibração para o LI $[N_{11120H}][IBu]$ em água.

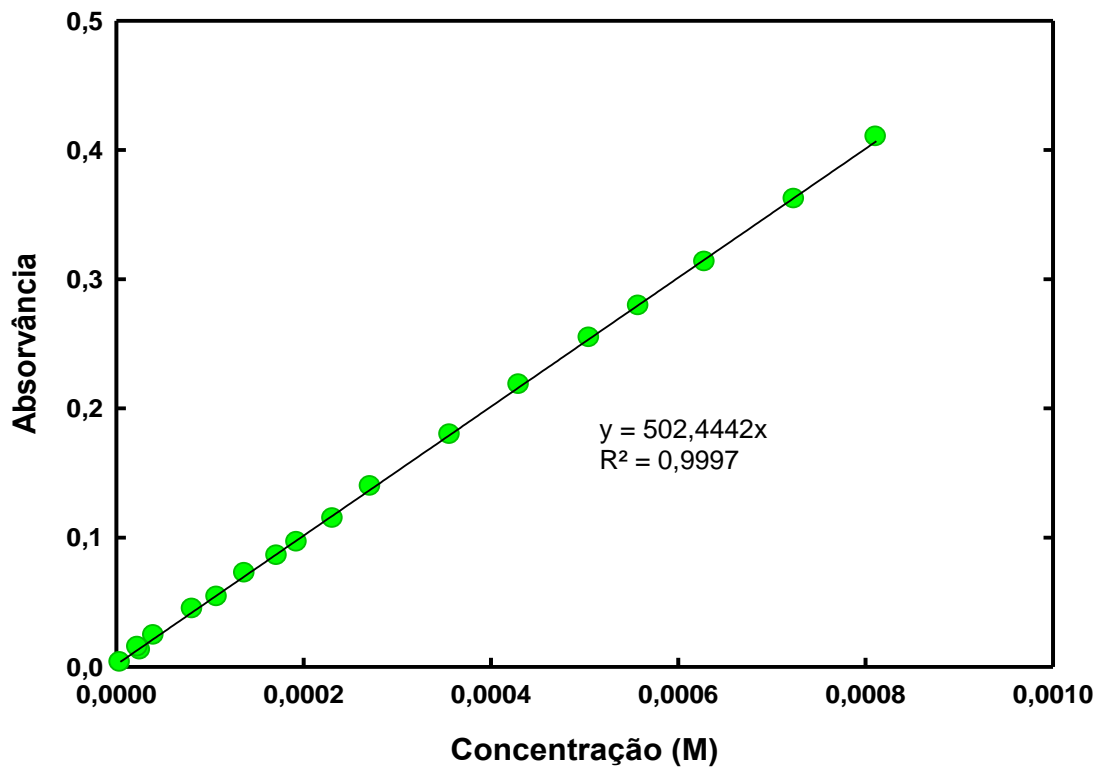


Figura C.6 – Recta de calibração para o LI [OHC₂MIM][IBu] em água.

C.1.3. Naproxeno e respectivos LIs

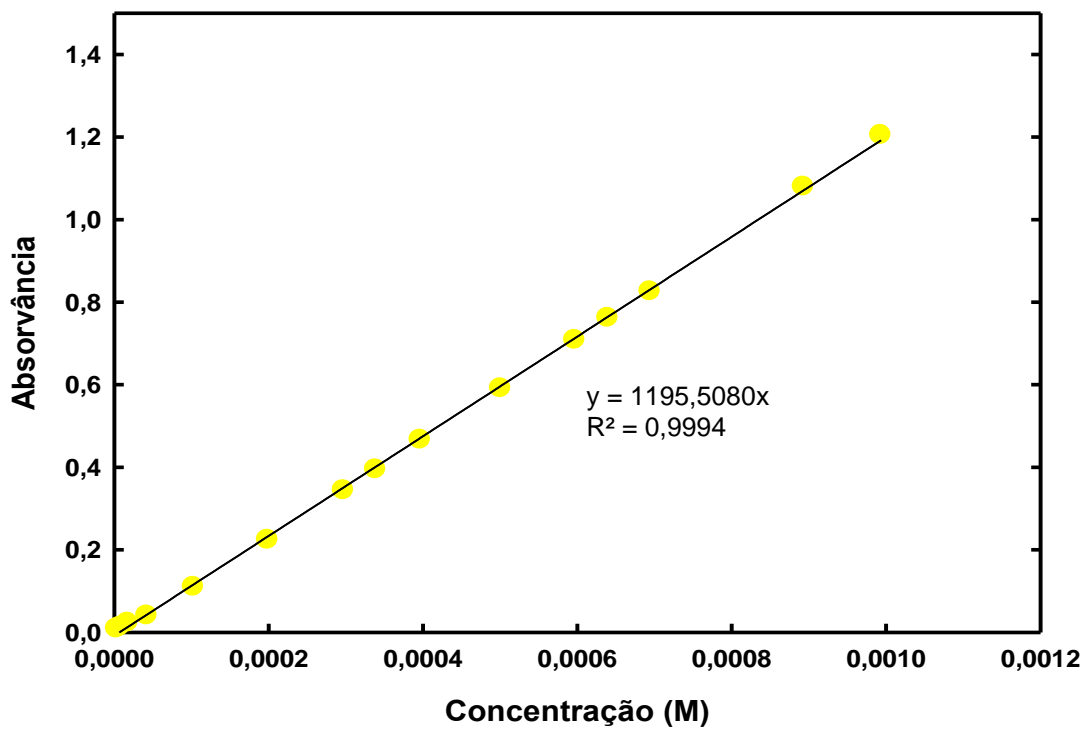


Figura C.7 – Recta de calibração para o Naproxeno em água.

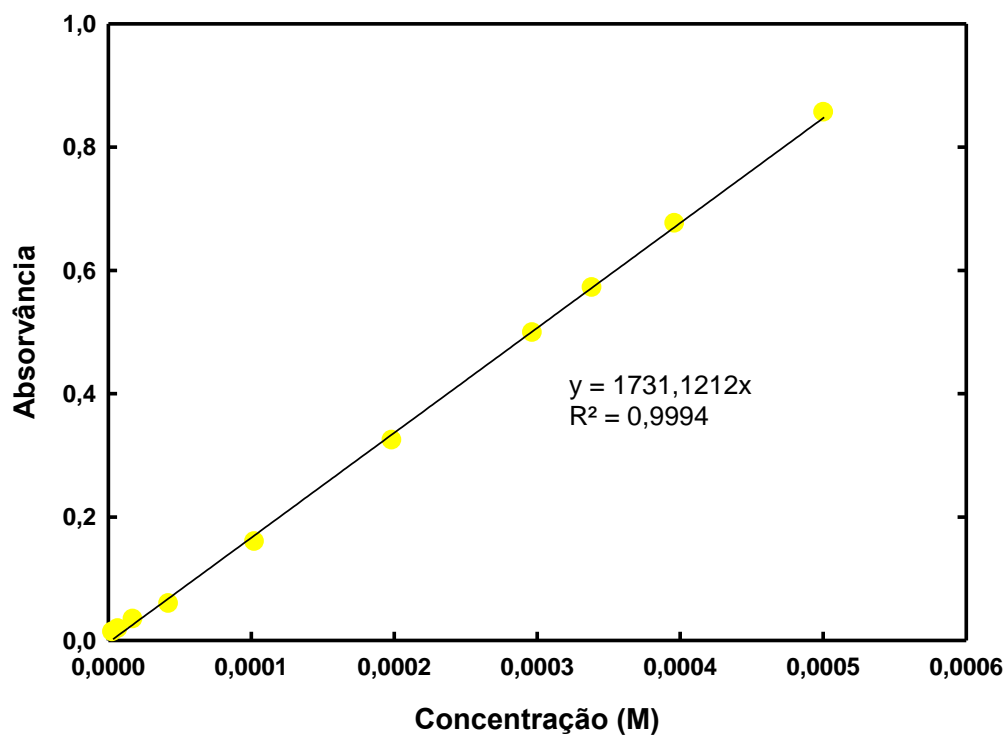


Figura C.8 – Recta de calibração para o LI [N_{1120H}][Nap] em água.

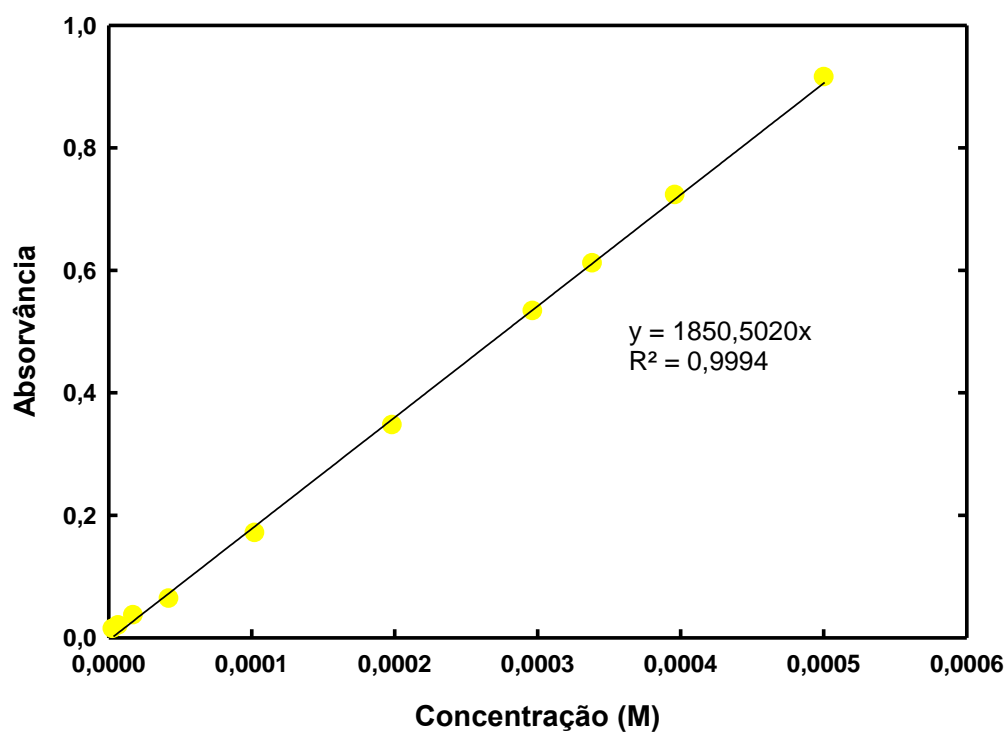


Figura C.9 – Recta de calibração para o LI [OHC₂MIM][Nap] em água.

C.1.4. PAF Ácido Nalidíxico e respectivos LIs

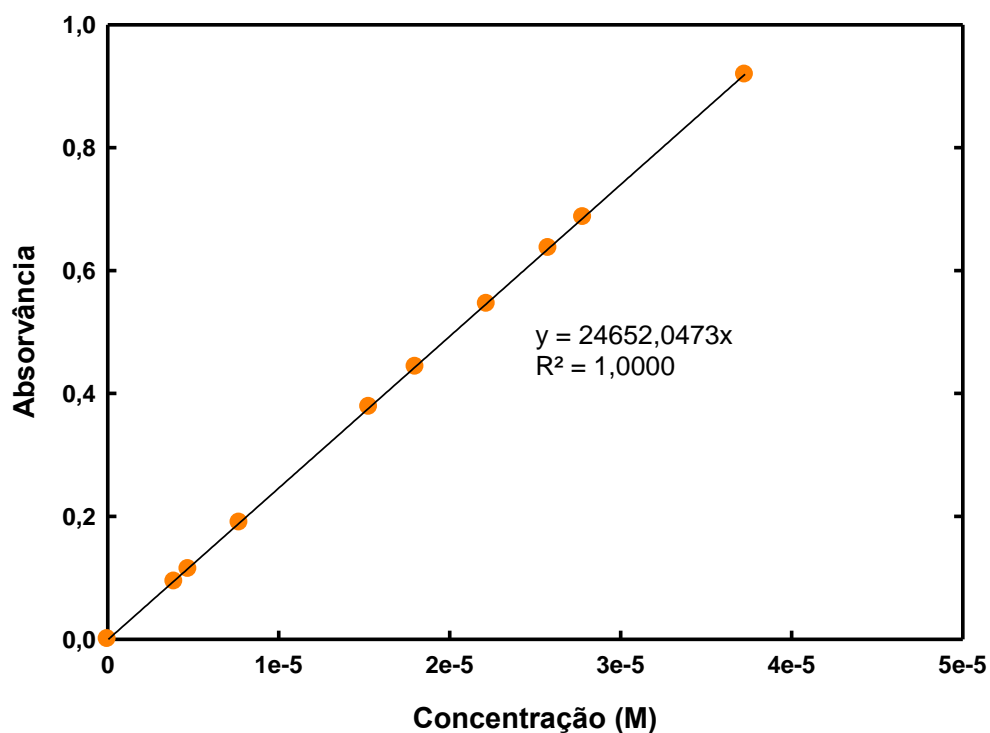


Figura C.10 – Recta de calibração para o ácido nalidíxico em água.

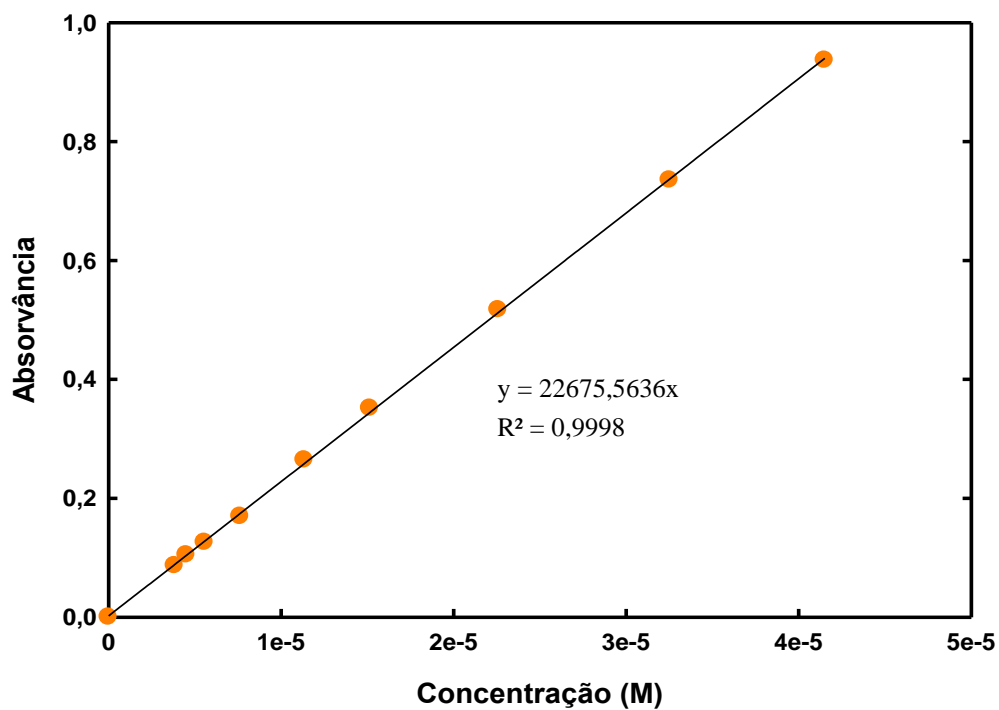


Figura C.11 – Recta de calibração para o LI $[N_{11120H}][Nalidíxato]$ em água.

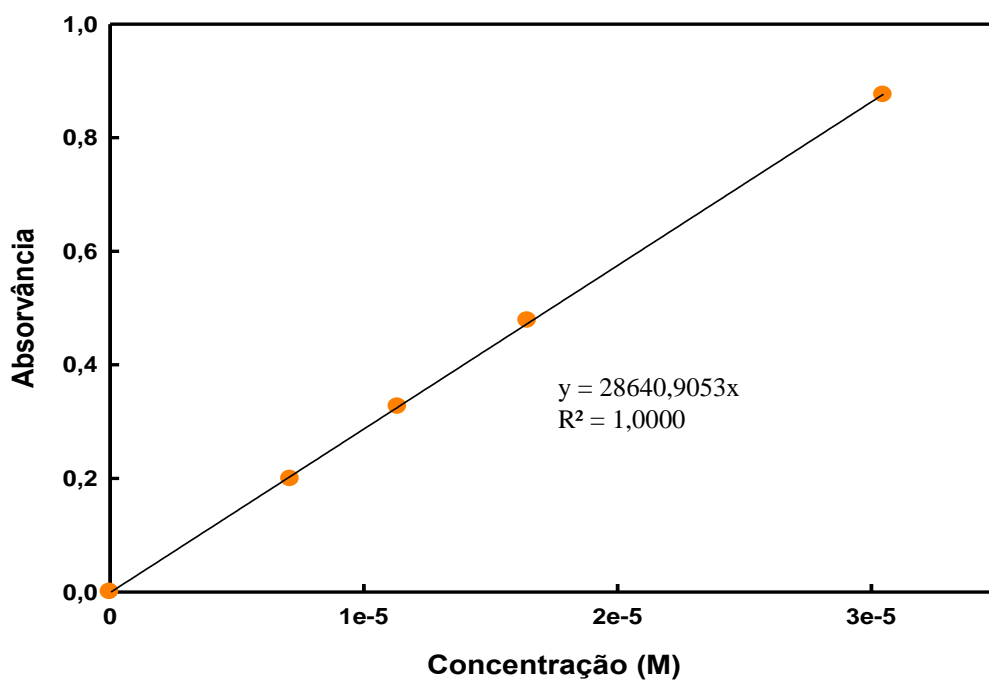


Figura C.12 – Recta de calibração para o LI $[N_{11120H}][Nalidíxato]$ a pH=6,8.

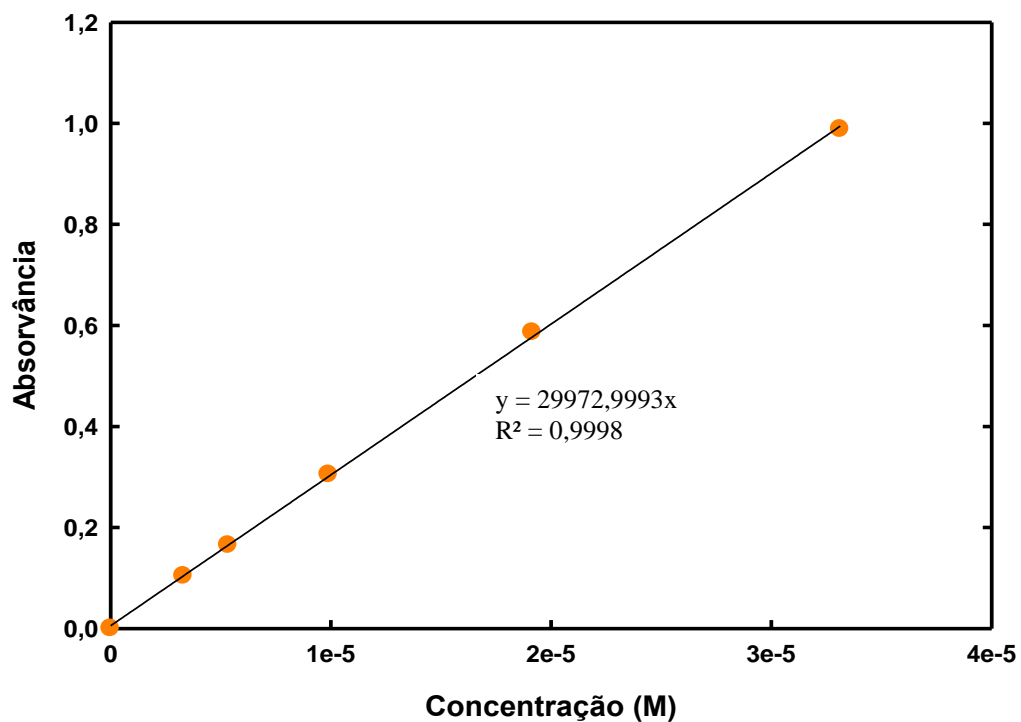


Figura C.13 – Recta de calibração para o LI $[N_{11120H}][Nalidíxato]$ em NaCl.

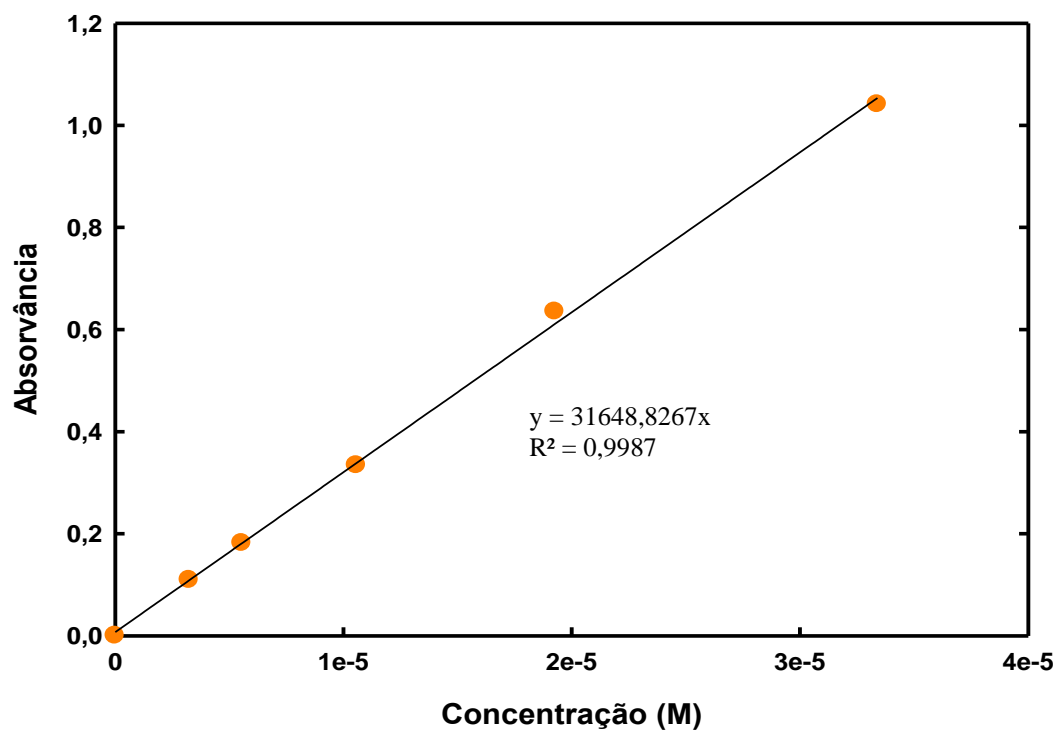


Figura C.14 – Recta de calibração para o LI [N1112OH][Nalidixato] a pH=1,0.

C.1.5. PAF Ácido Niflúmico e respectivos LIs

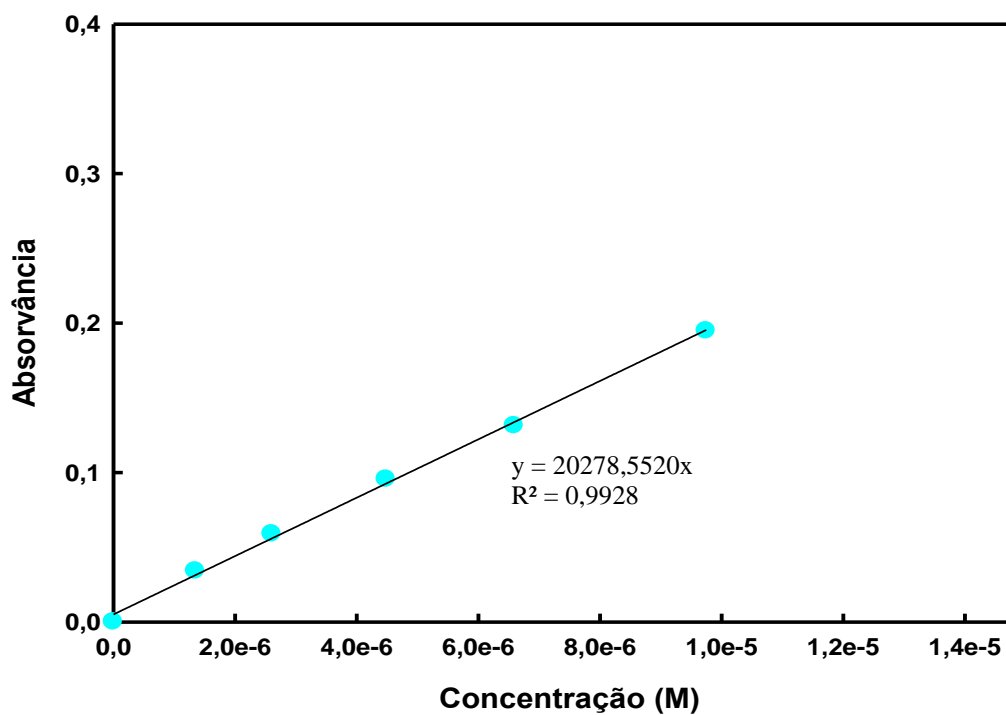


Figura C.15 – Recta de calibração para o ácido niflúmico em água.

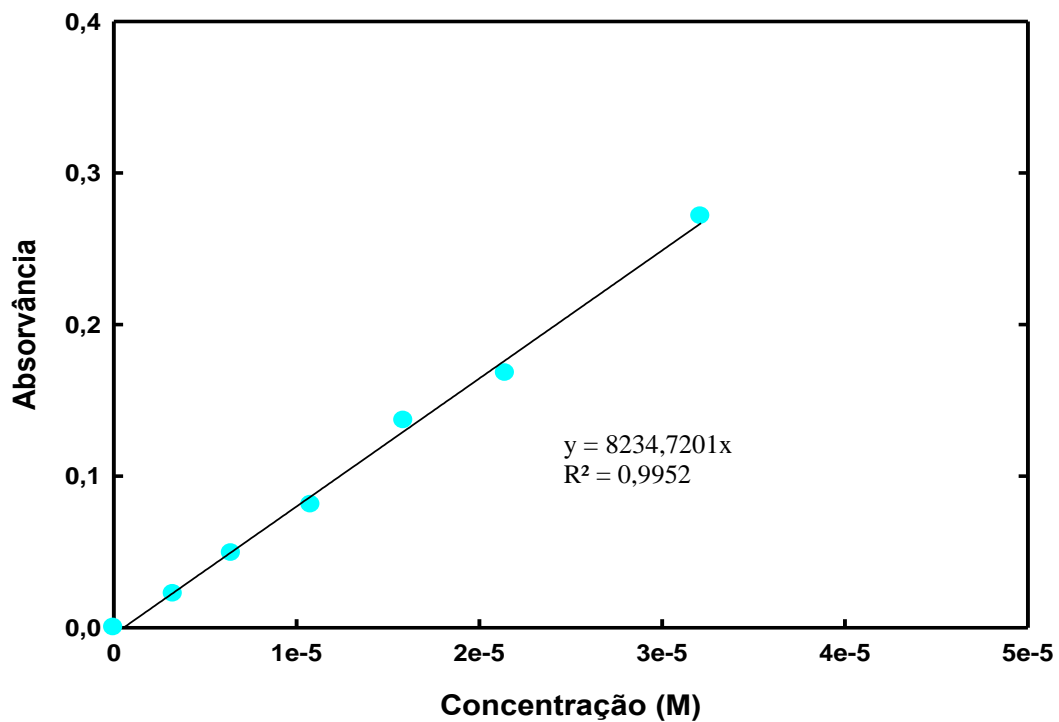


Figura C.16 – Recta de calibração para o ácido niflúmico a pH=1,0.

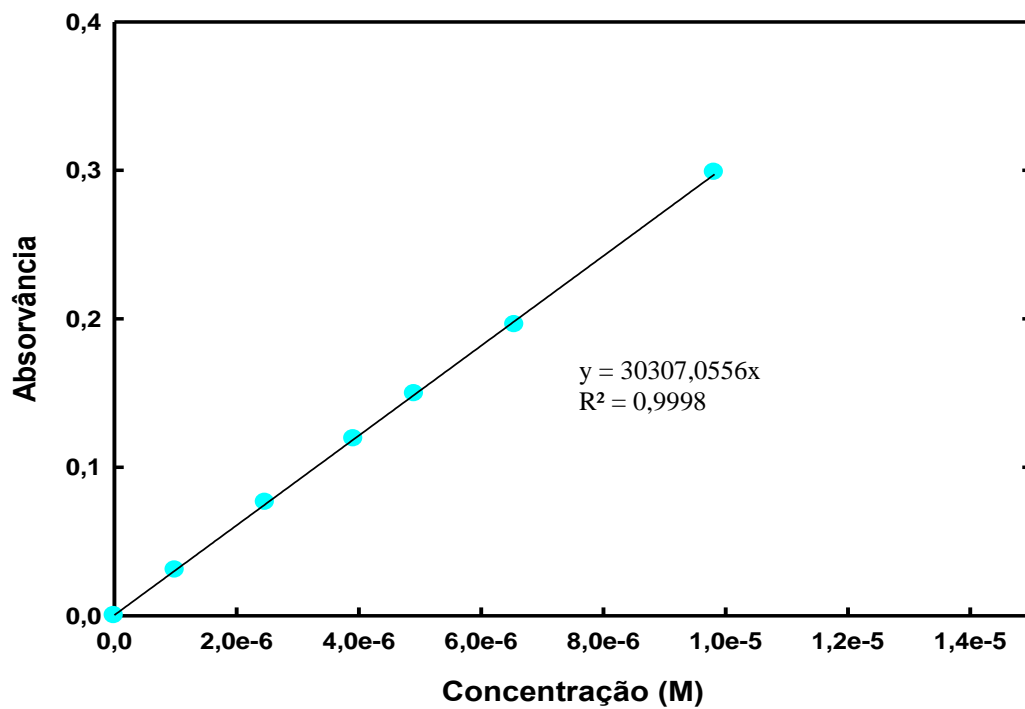


Figura C.17 – Recta de calibração para o ácido niflúmico a pH=6,8.

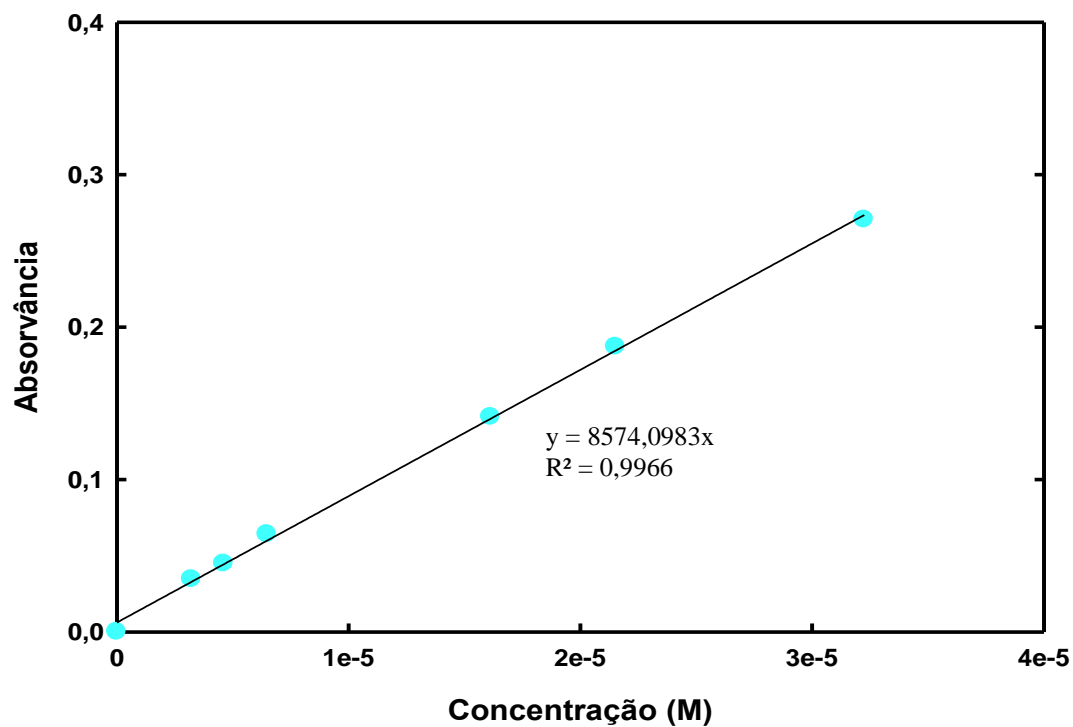


Figura C.18 – Recta de calibração para o ácido niflúmico em NaCl.

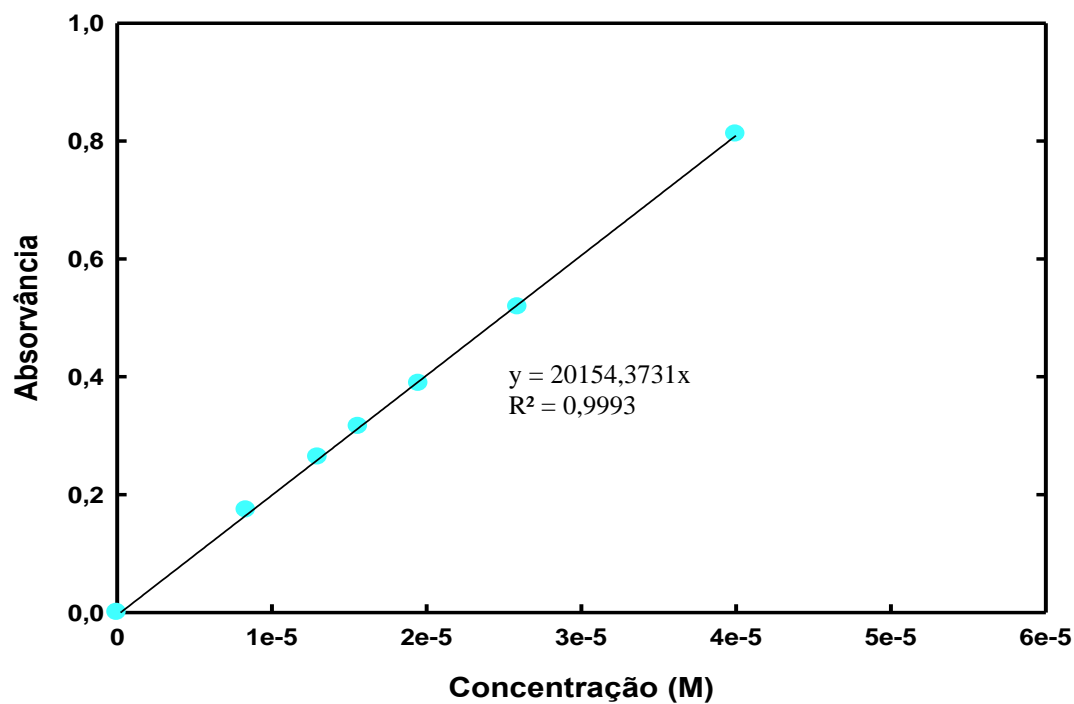


Figura C.19 – Recta de calibração para o LI [N_{11120H}][Niflumato] em água.

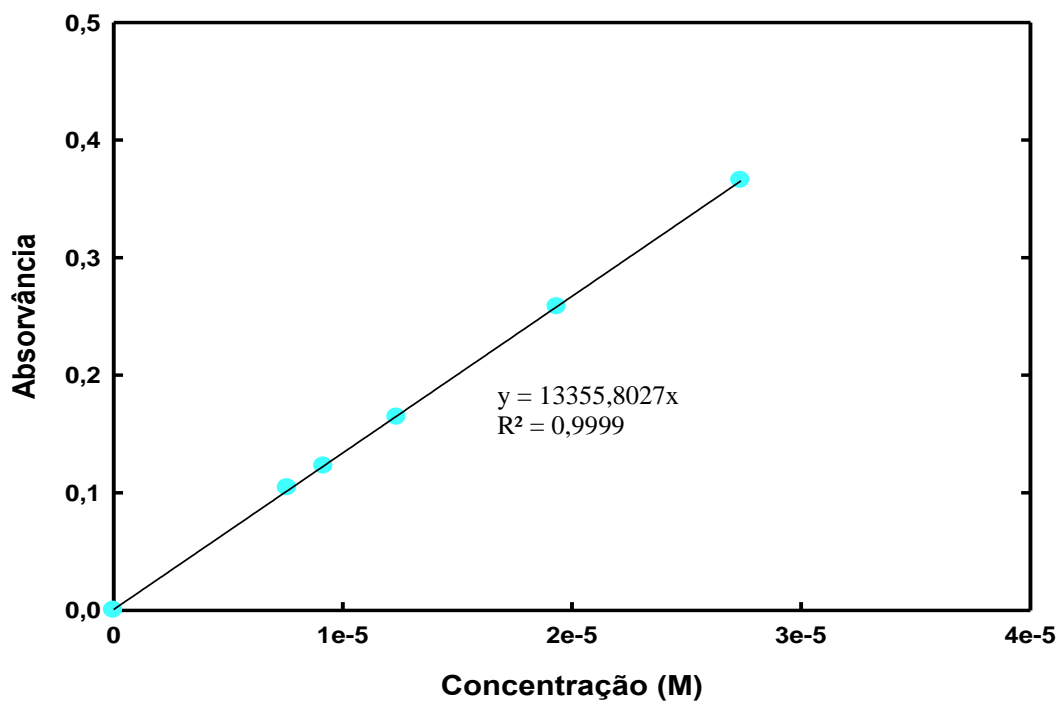


Figura C.20 – Recta de calibração para o LI [N_{11120H}][Niflumato] a pH=1,0.

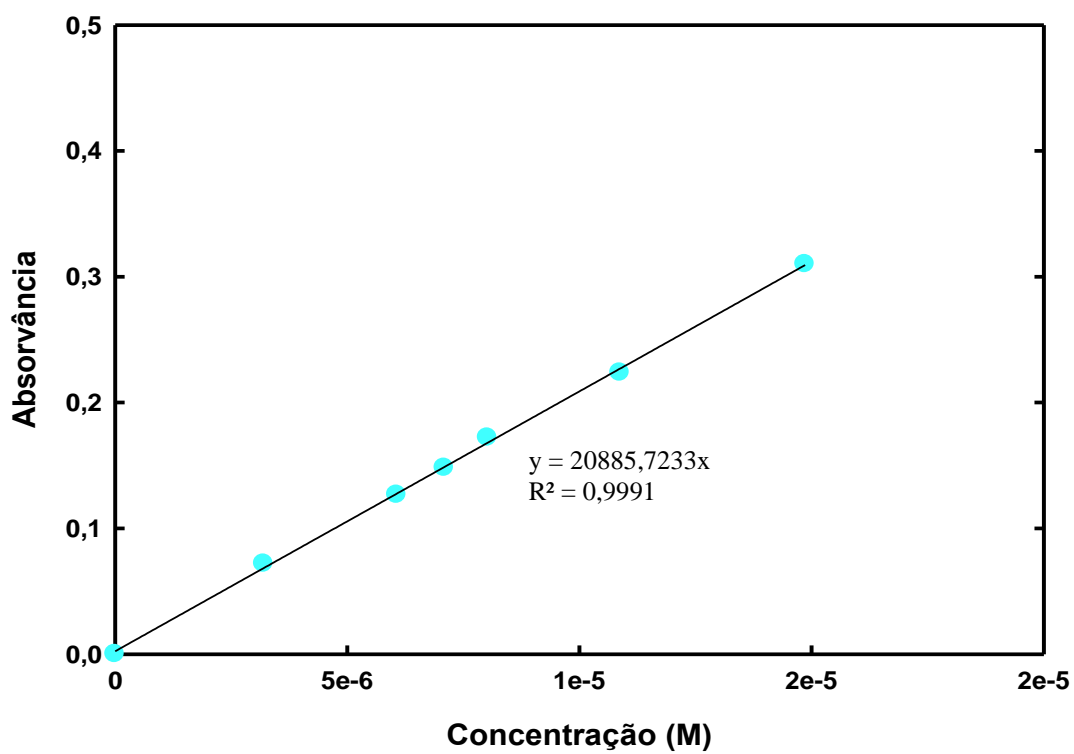


Figura C.21 – Recta de calibração para o LI [N_{11120H}][Niflumato] a pH=6,8.

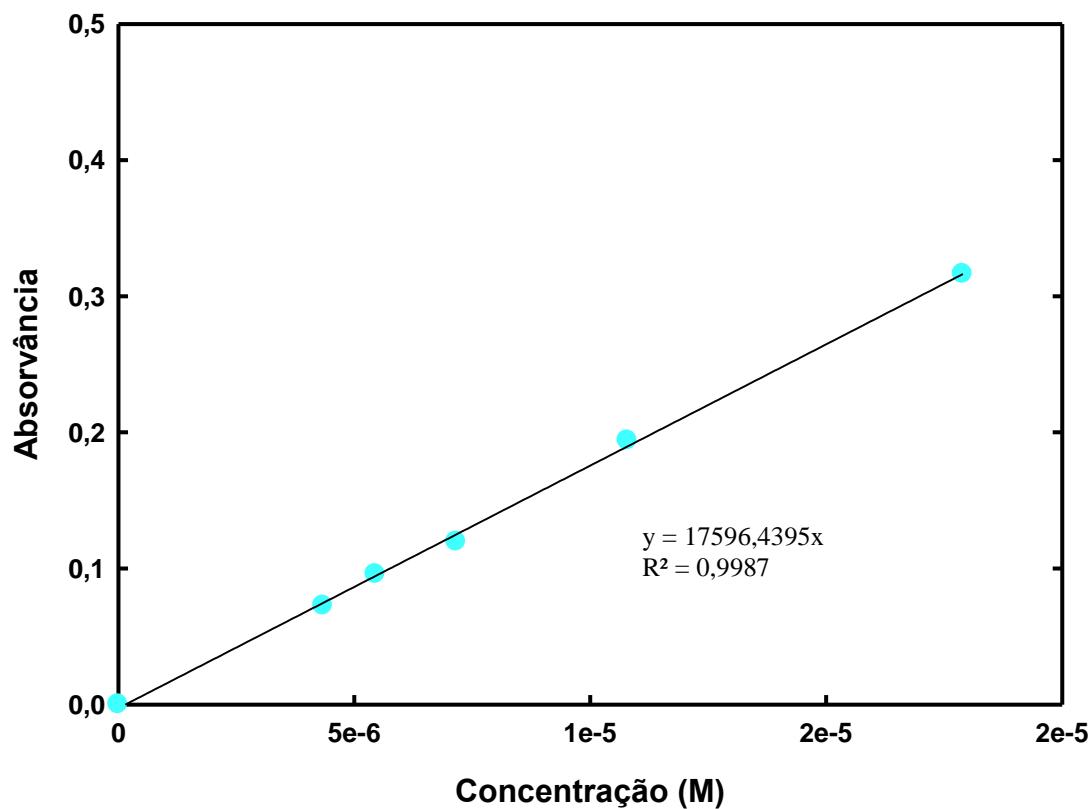


Figura C.22 – Recta de calibração para o LI [N_{11120H}][Niflumato] em NaCl.

C.1.6. Ácido Picolínico e respectivos LIs

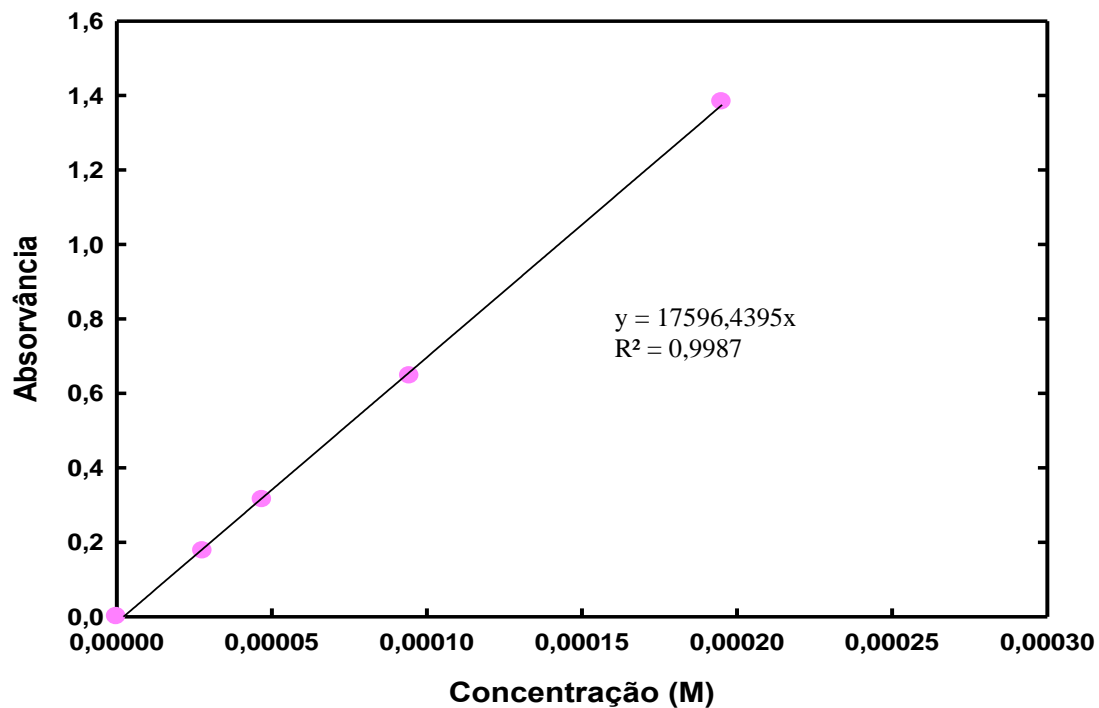


Figura C.23 – Recta de calibração para o ácido picolínico em água.

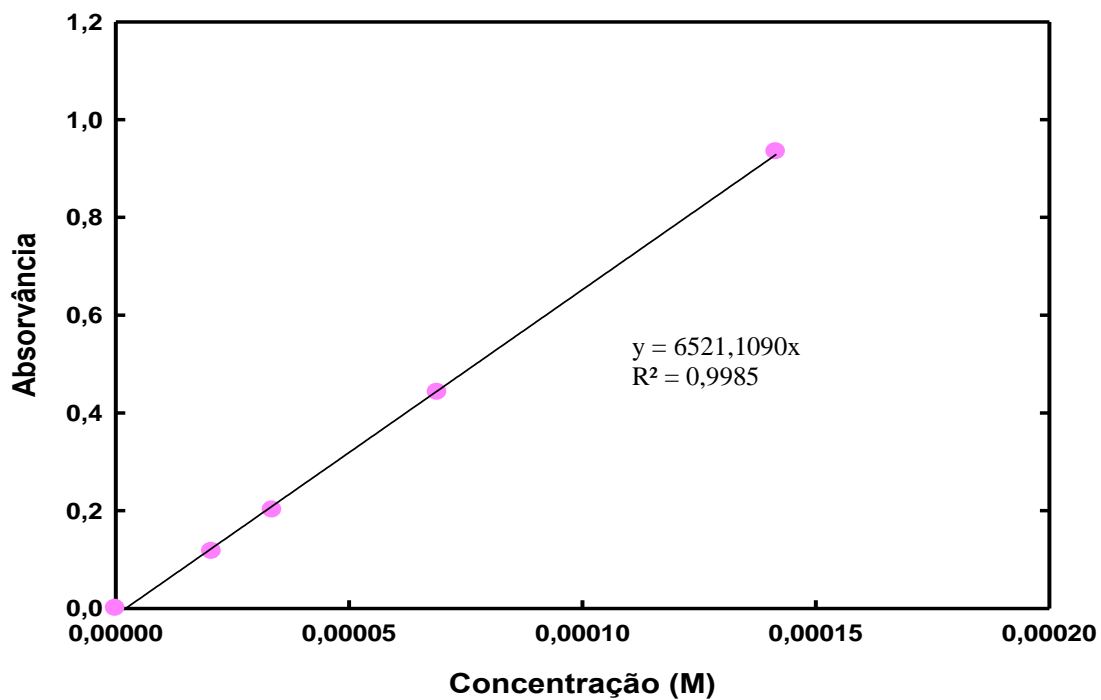


Figura C.24 – Recta de calibração para o ácido picolínico em NaCl.

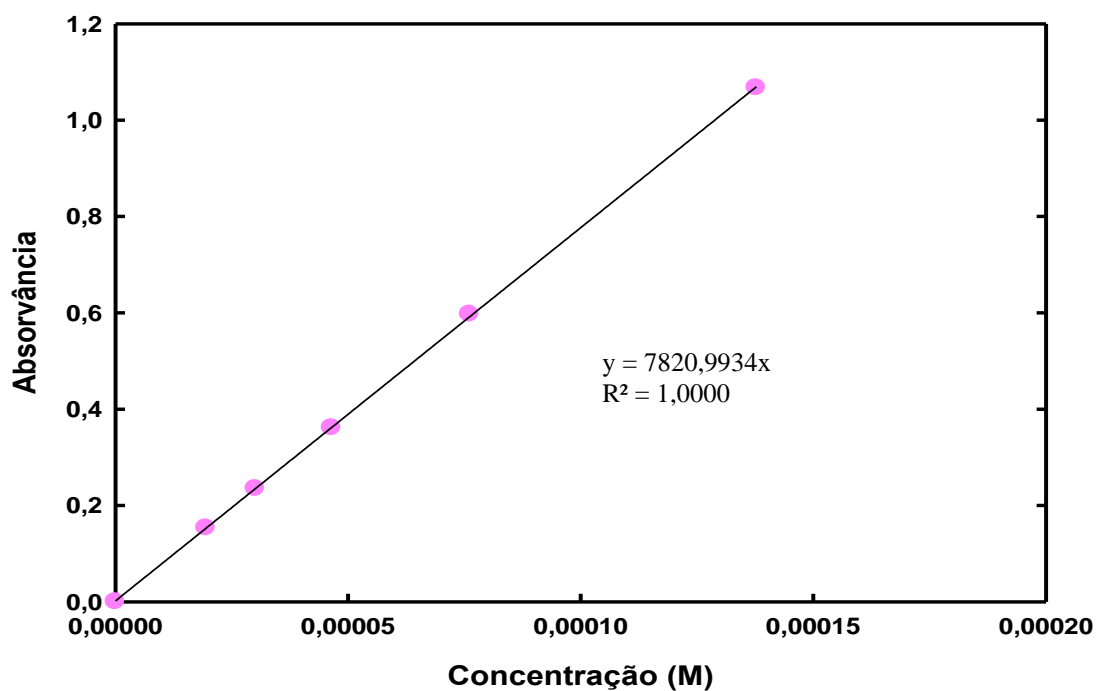


Figura C.25 – Recta de calibração para o ácido picolínico a pH=1,0.

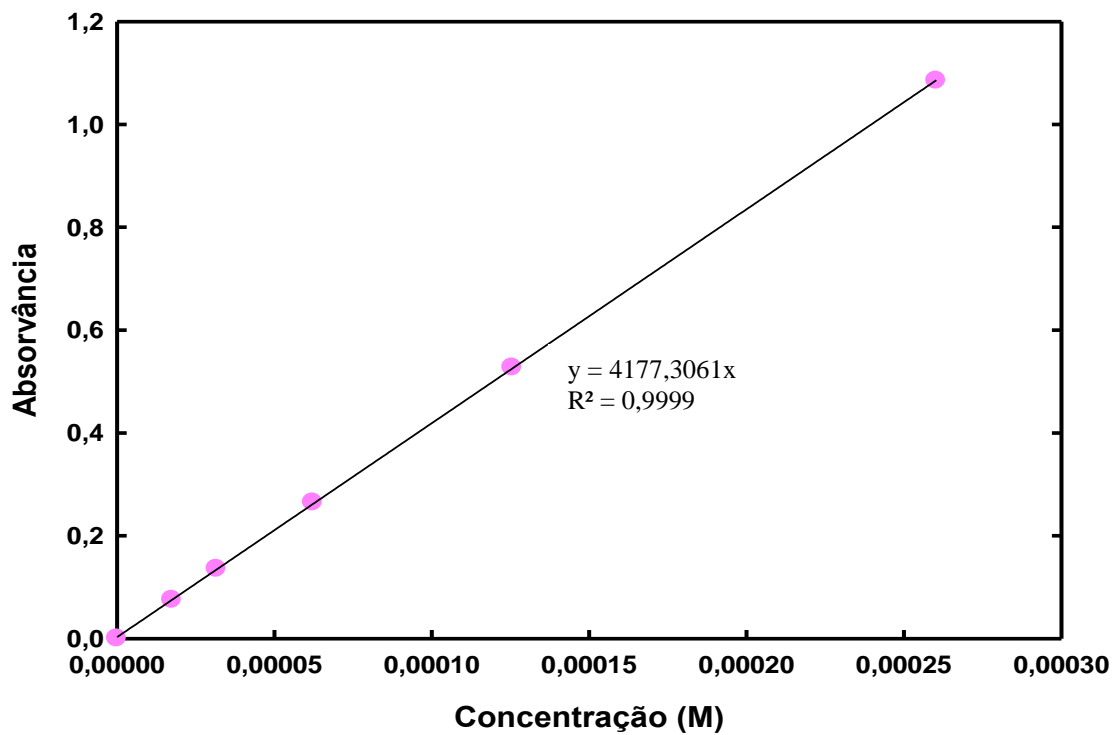


Figura C.26 – Recta de calibração para o ácido picolínico a pH=6,8.

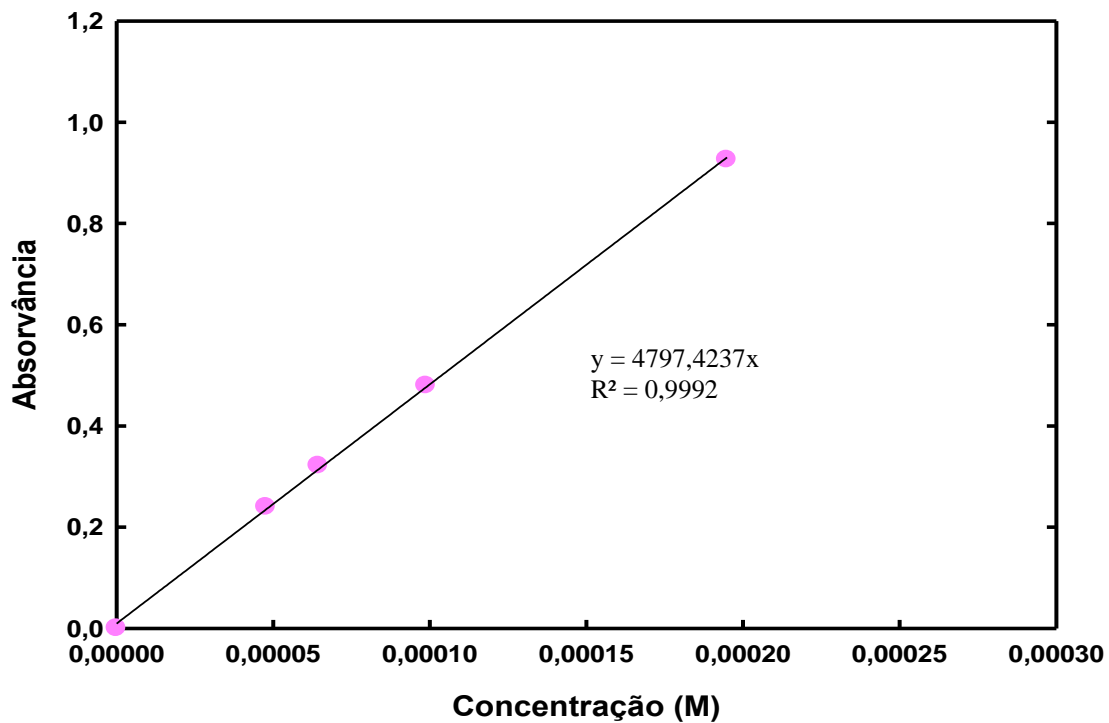


Figura C.27 – Recta de calibração para o LI [N_{11120H}][Picolinato] em NaCl.

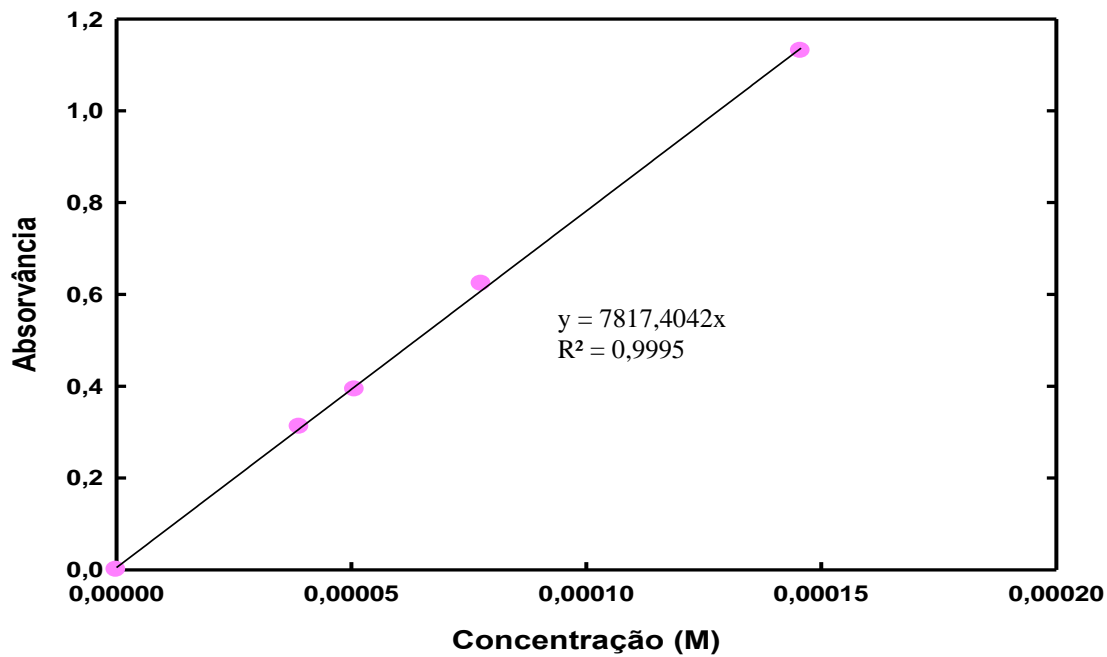


Figura C.28 – Recta de calibração para o LI [N_{1120H}][Picolinato] a pH=1,0.

C.1.7. Ácido Pirazinóico e respectivos LIs

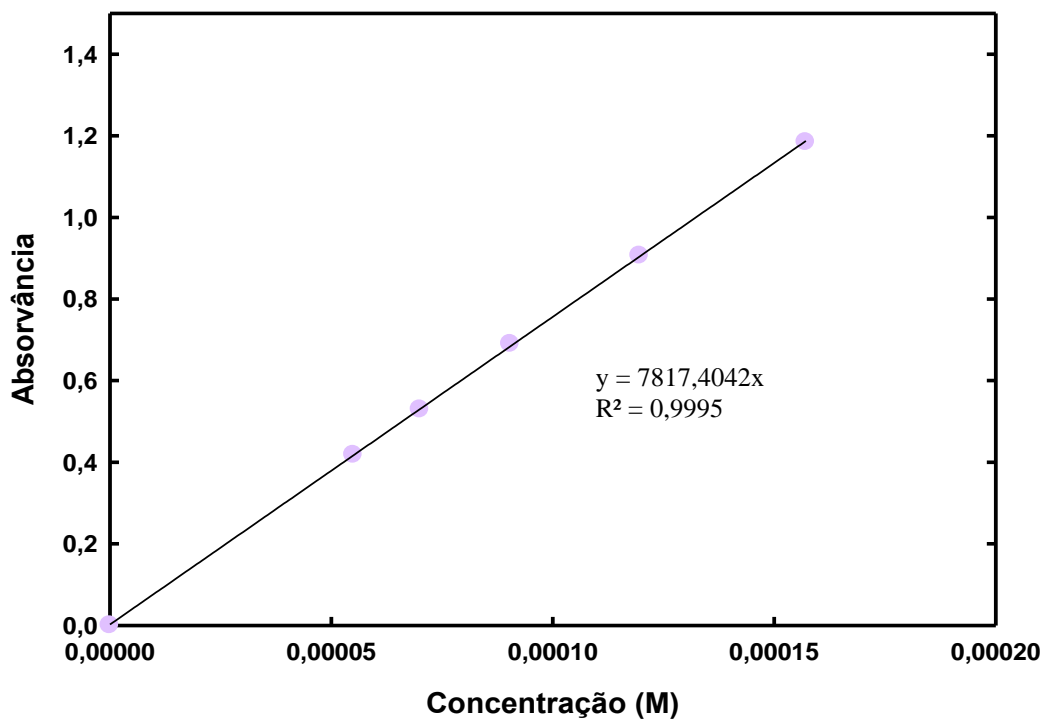


Figura C.29 – Recta de calibração para o ácido pirazinóico em água.

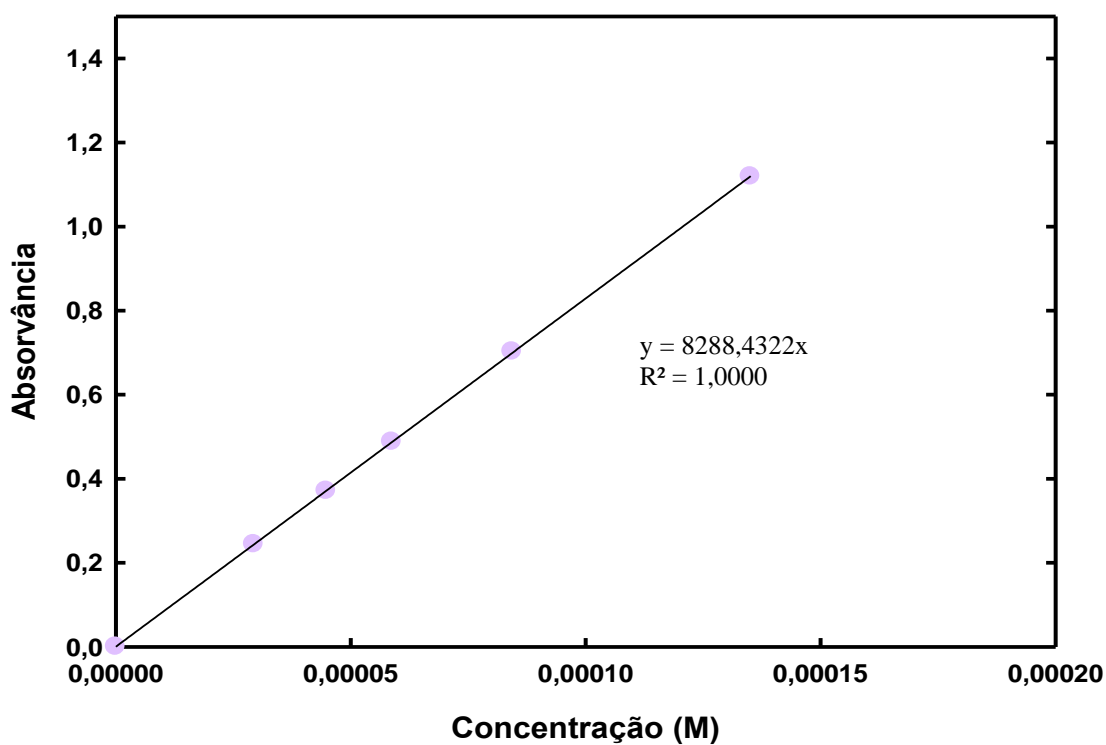


Figura C.30 – Recta de calibração para o ácido pirazinóico a pH=1,0.

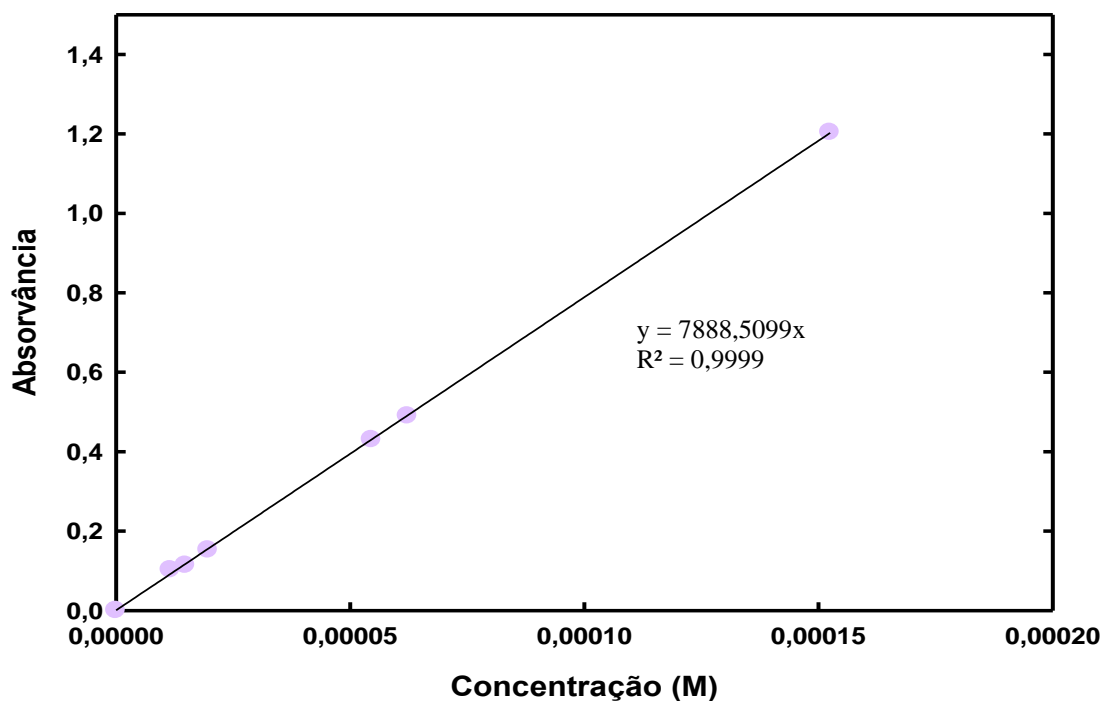


Figura C.31 – Recta de calibração para o LI $[N_{112OH}][\text{Pirazinoato}]$ em água.

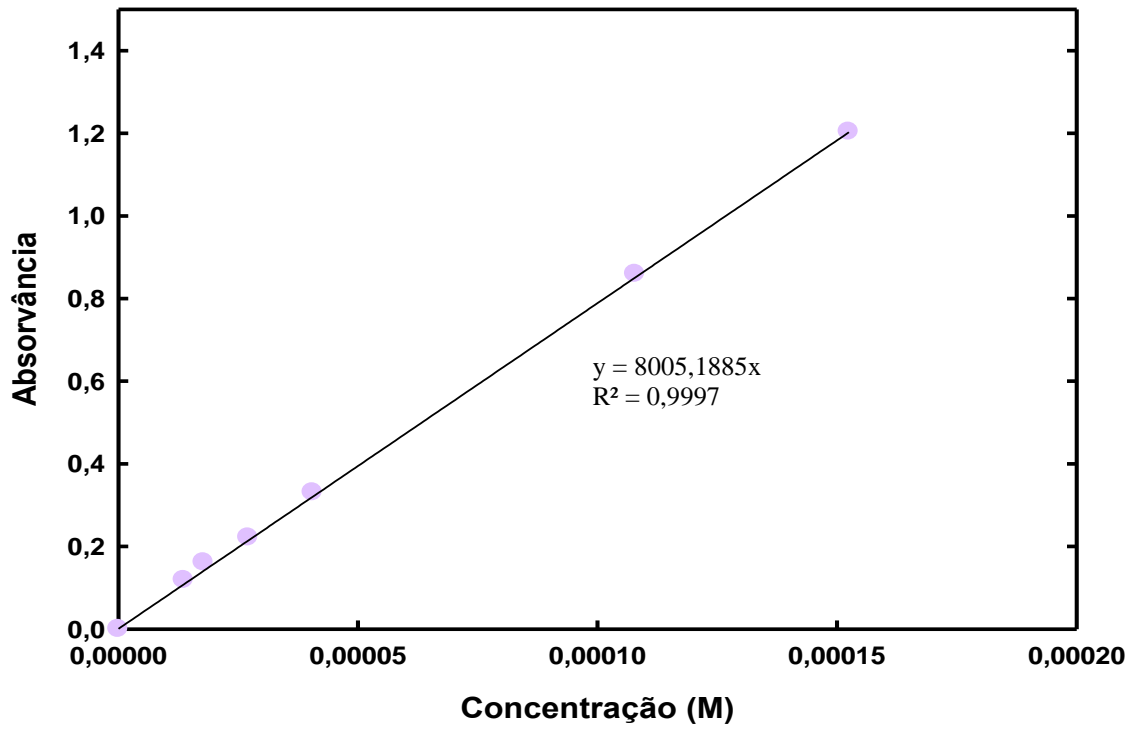


Figura C.32 – Recta de calibração para o LI $[N_{1120H}][Pirazinoato]$ em NaCl.

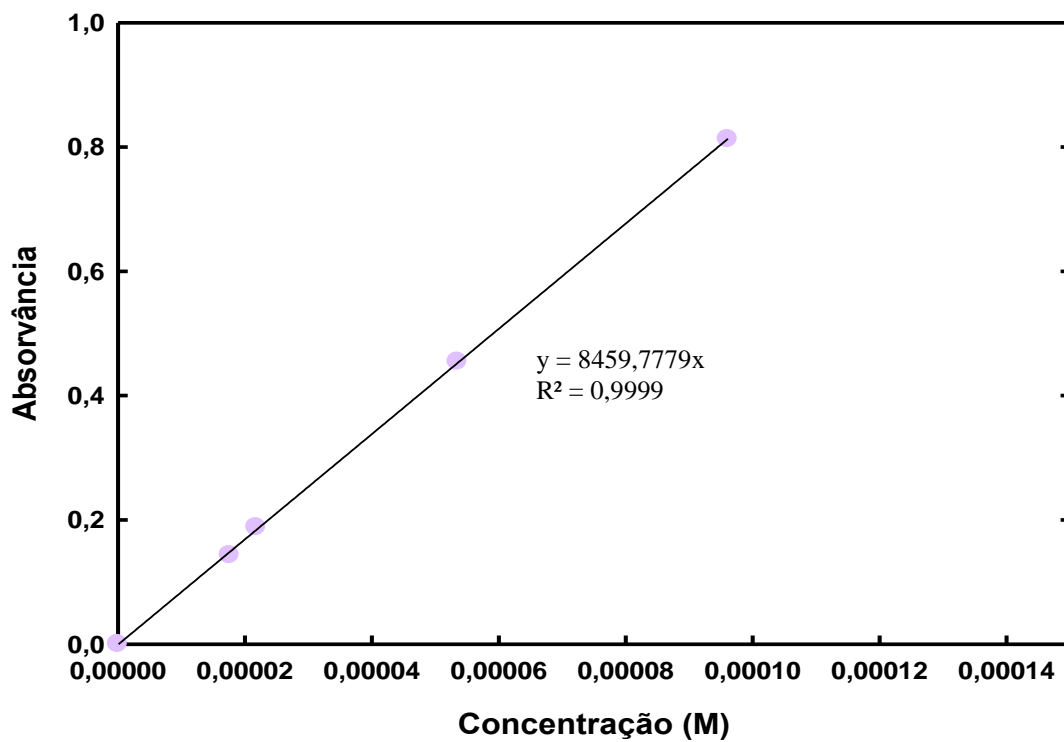


Figura C.33 – Recta de calibração para o LI $[N_{1120H}][Pirazinoato]$ a pH=1,0.

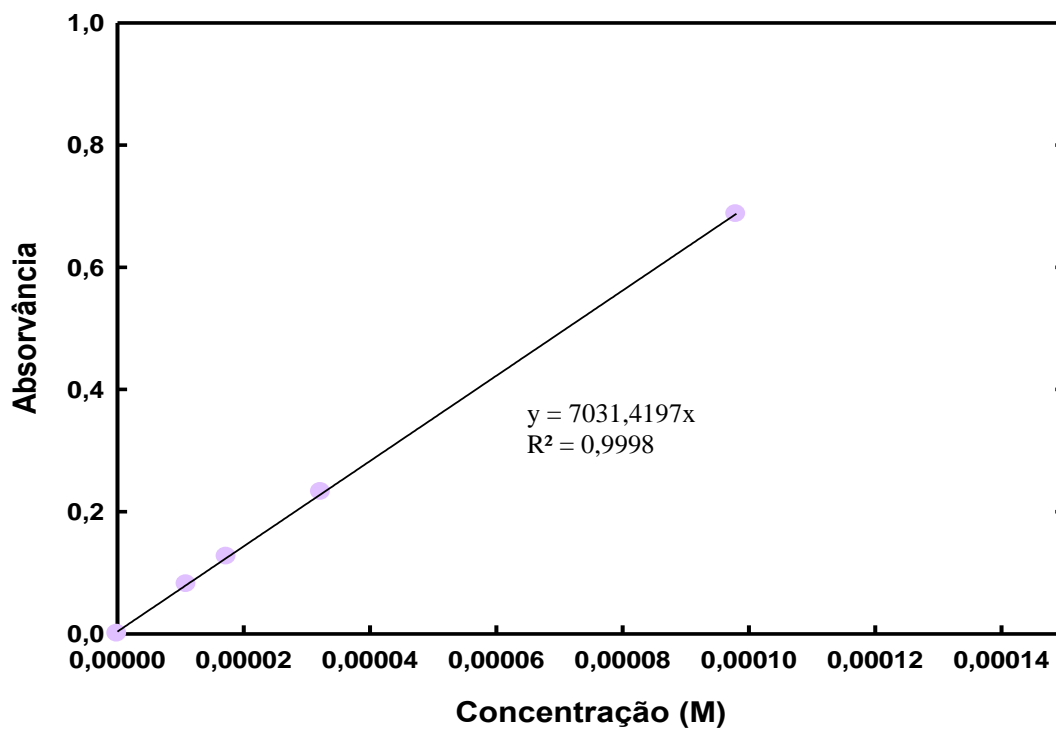


Figura C.34 – Recta de calibração para o LI [N_{1120H}][Pirazinato] a pH=6,8.

C.1.8. Ácido 4-aminosalicílico e respectivos LIs

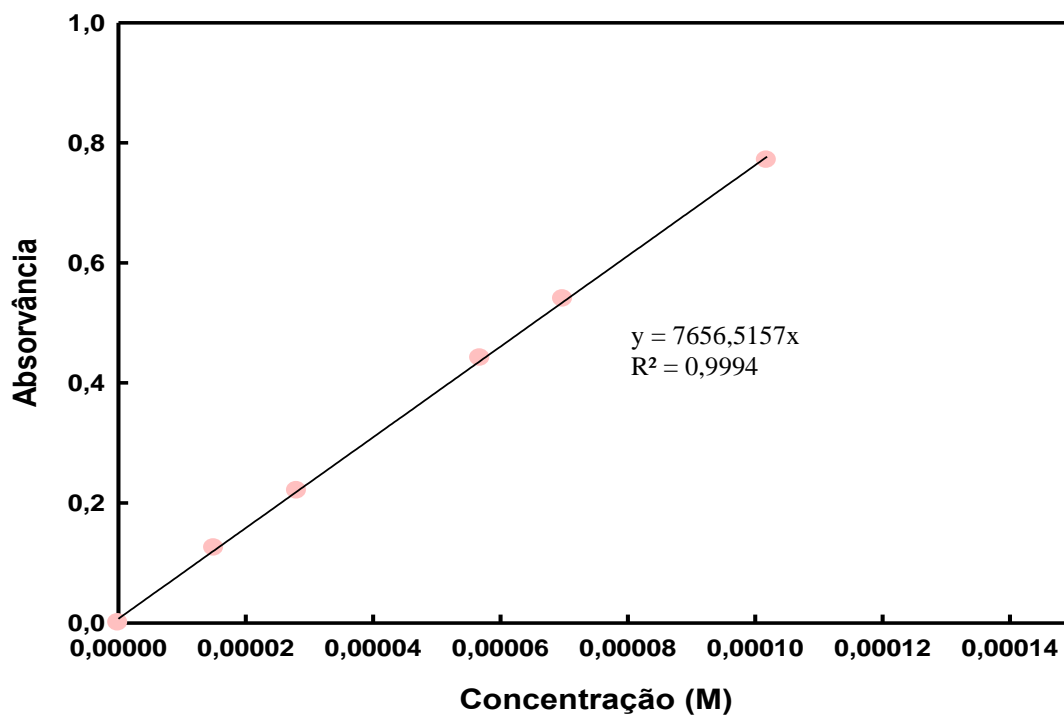


Figura C.35 – Recta de calibração para o ácido 4-aminosalicílico em água.

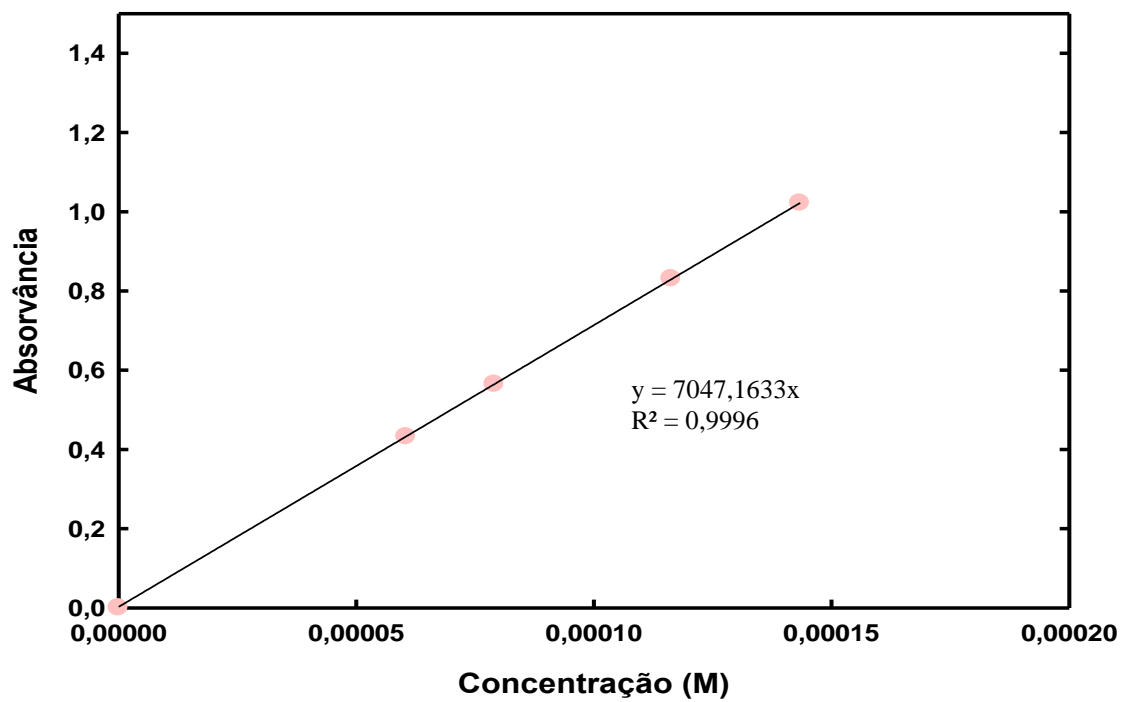


Figura C.36 – Recta de calibração para o ácido 4-aminosalicílico em NaCl.

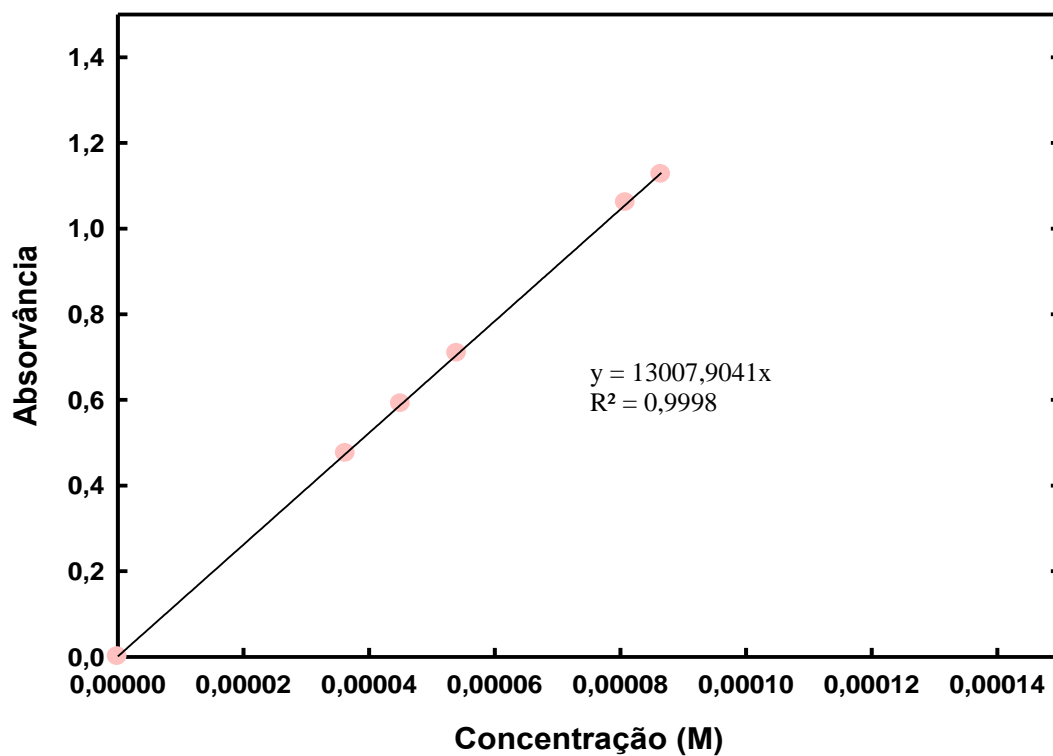


Figura C.37 – Recta de calibração para o ácido 4-aminosalicílico a pH=6,8.

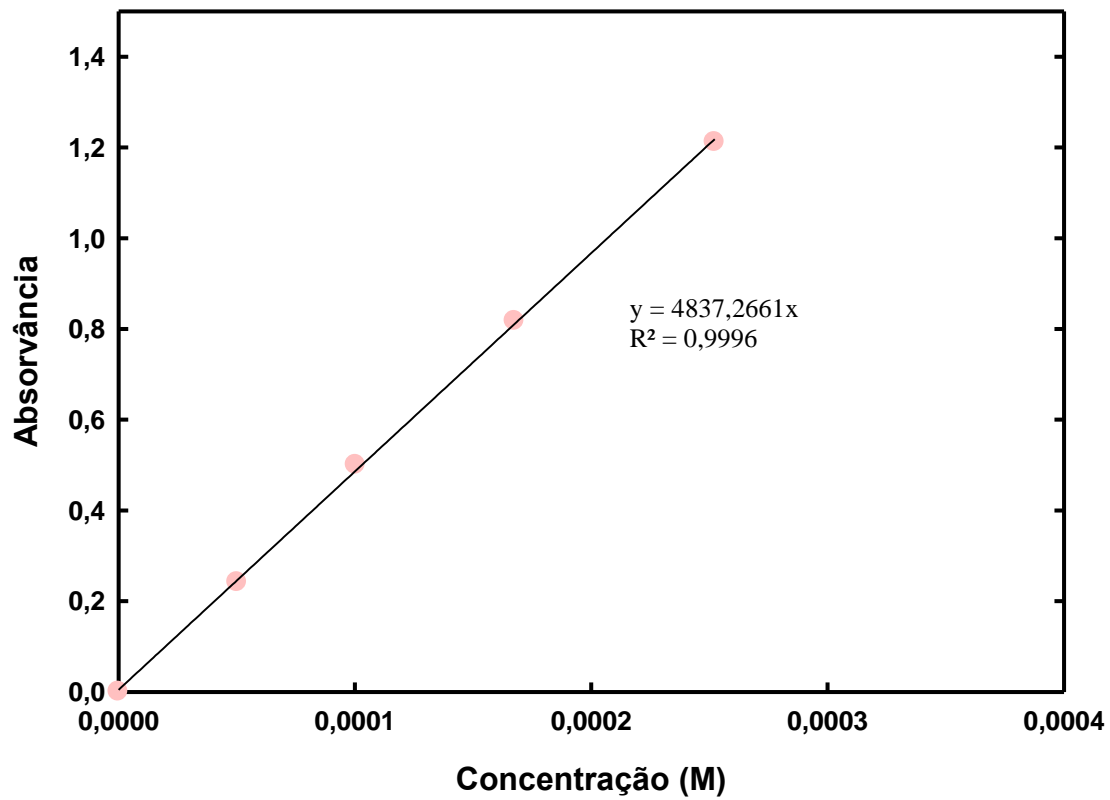


Figura C.38 – Recta de calibração para o ácido 4-aminosalicílico a pH=1,0.

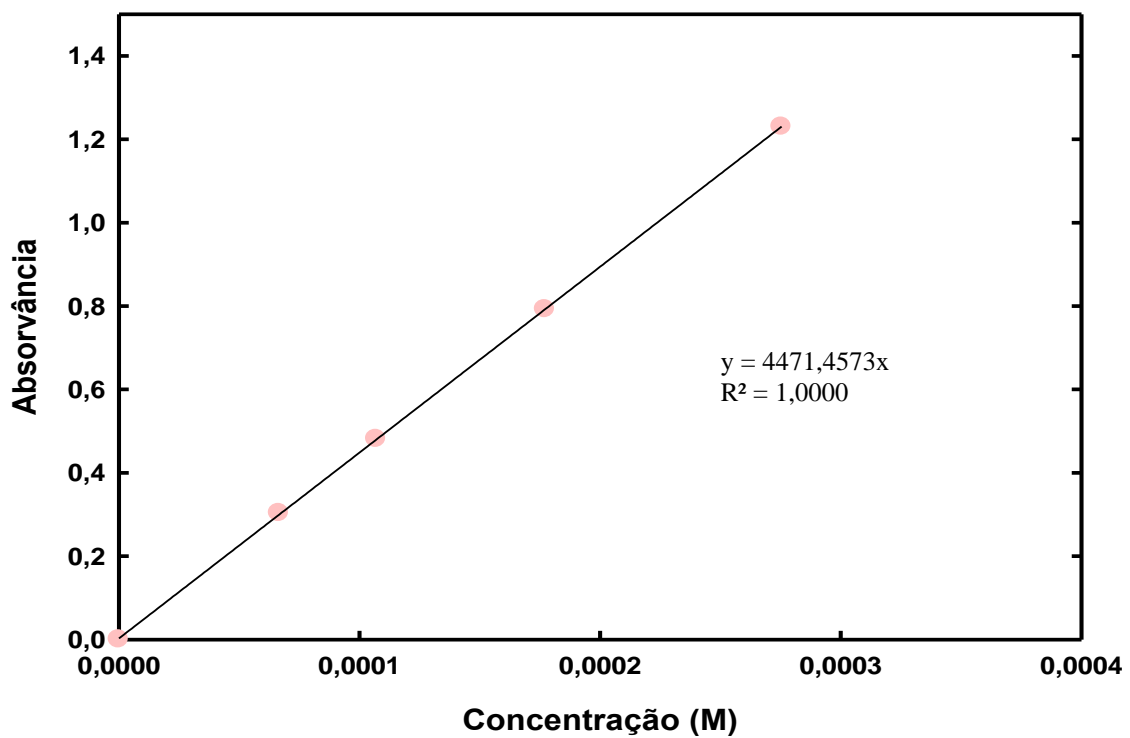


Figura C.39 – Recta de calibração para o LI $[N_{11120H}][4\text{-aminosalicylate}]$ a pH=1,0.

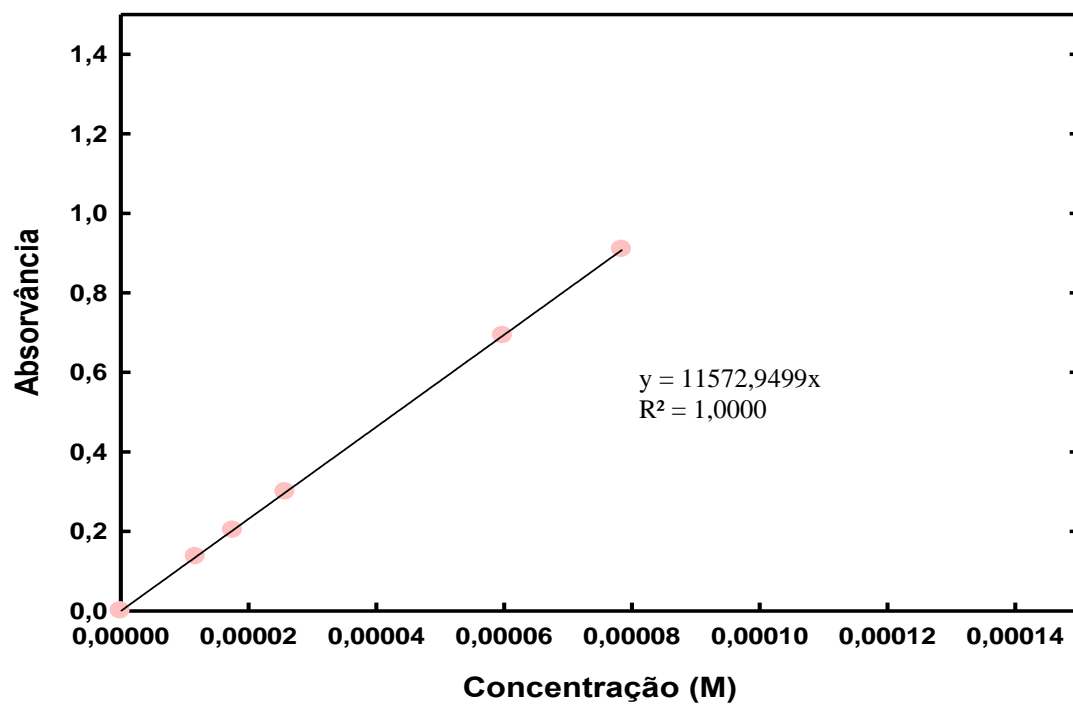


Figura C.40 – Recta de calibração para o LI [N_{1120H}][4-aminosalicilato] a pH=6,8.

Anexo D

D.1. Velocidades de dissolução para os diferentes PAFs

D.1.1. Ácido nalidíxico

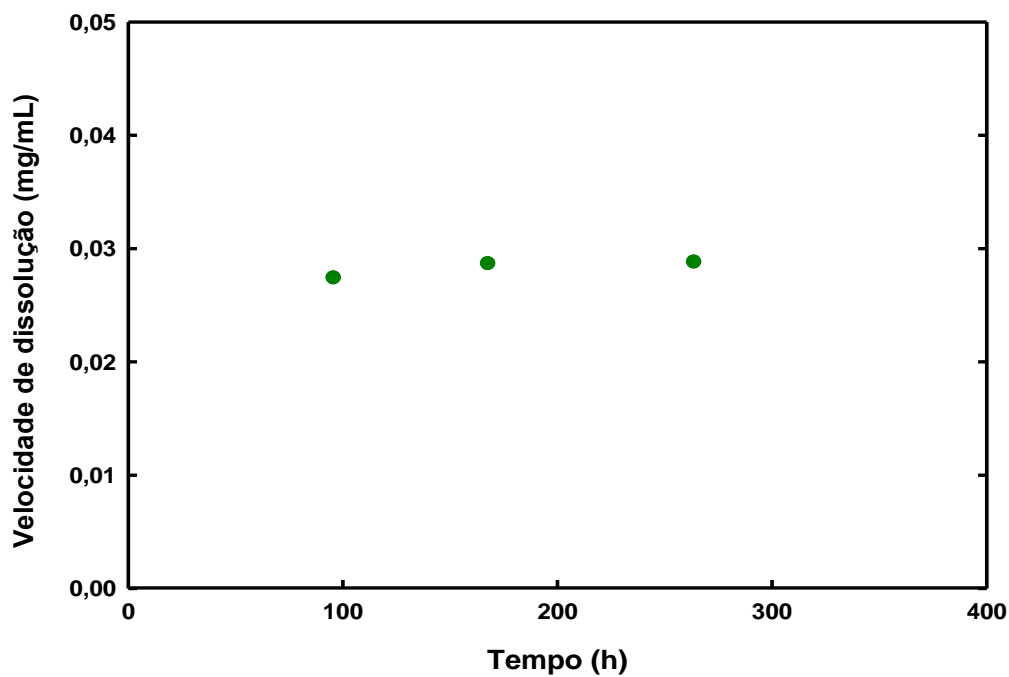


Figura D.1 – Velocidade de dissolução para o ácido nalidíxico em água.

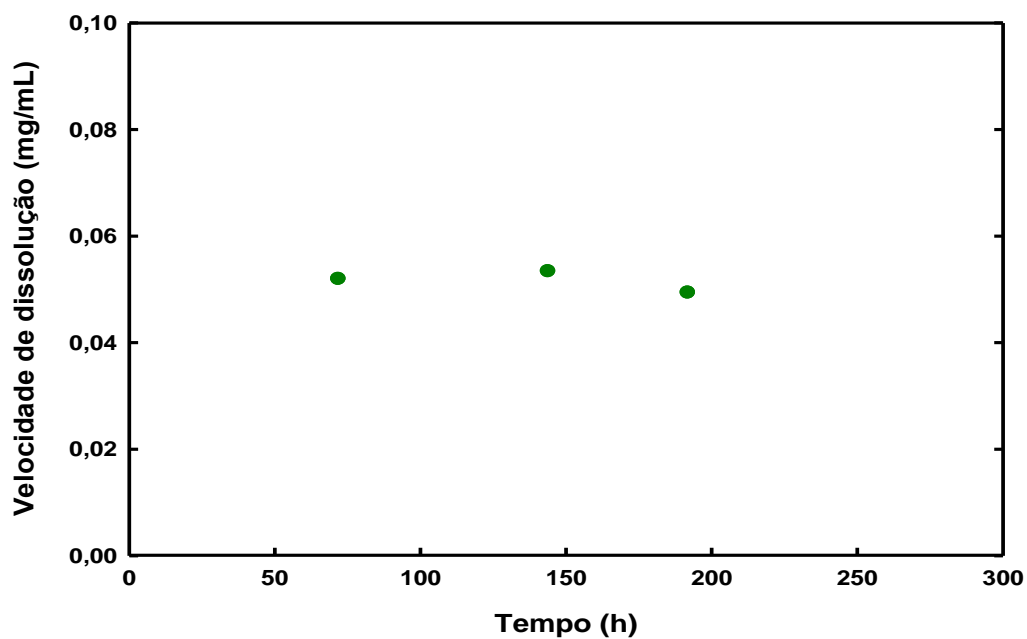


Figura D.2 – Velocidade de dissolução para o ácido nalidíxico a pH=1,0.

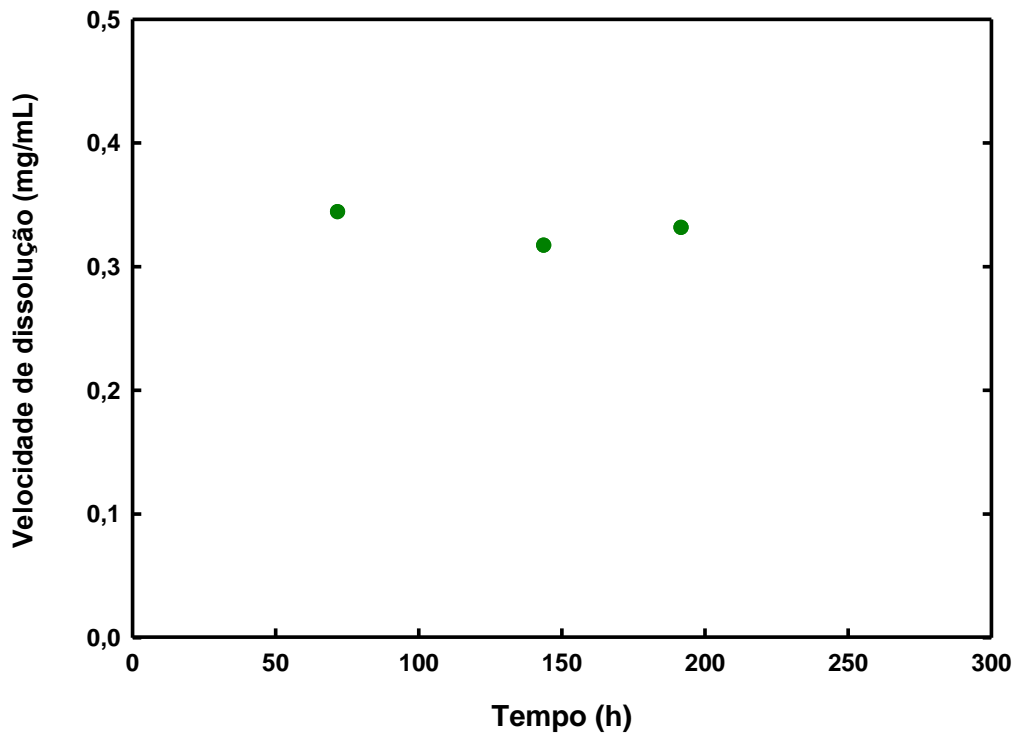


Figura D.3 – Velocidade de dissolução para o ácido nalidíxico a pH=6,8.

D.1.2. Ácido Niflúmico

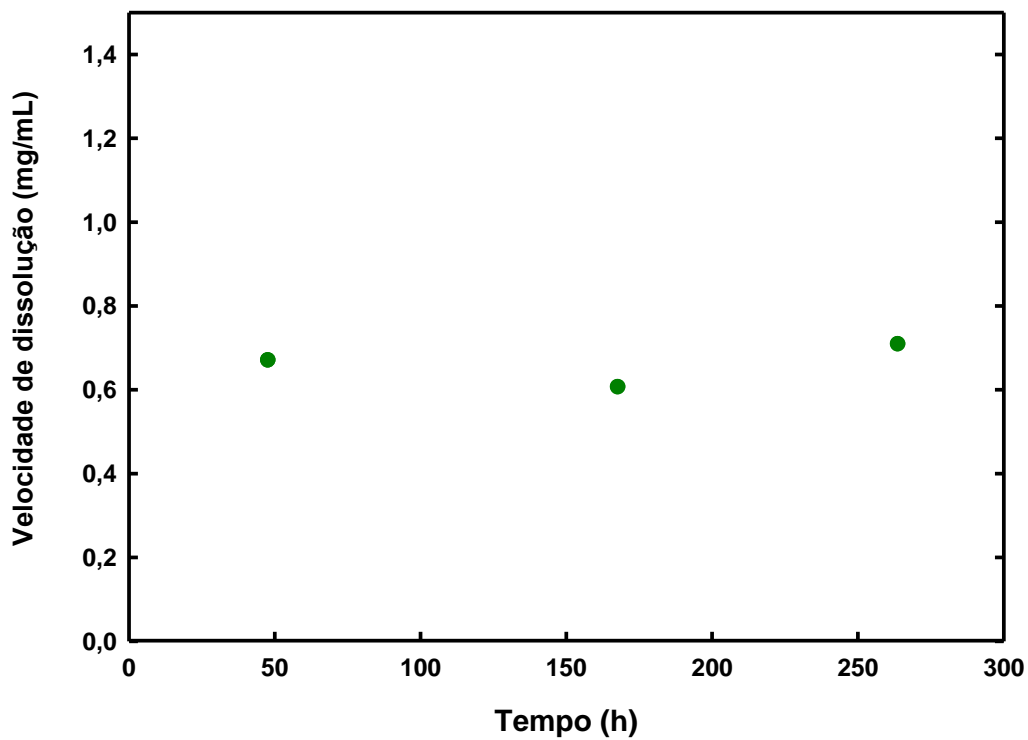


Figura D.4 – Velocidade de dissolução para o ácido niflúmico a pH=1,0.

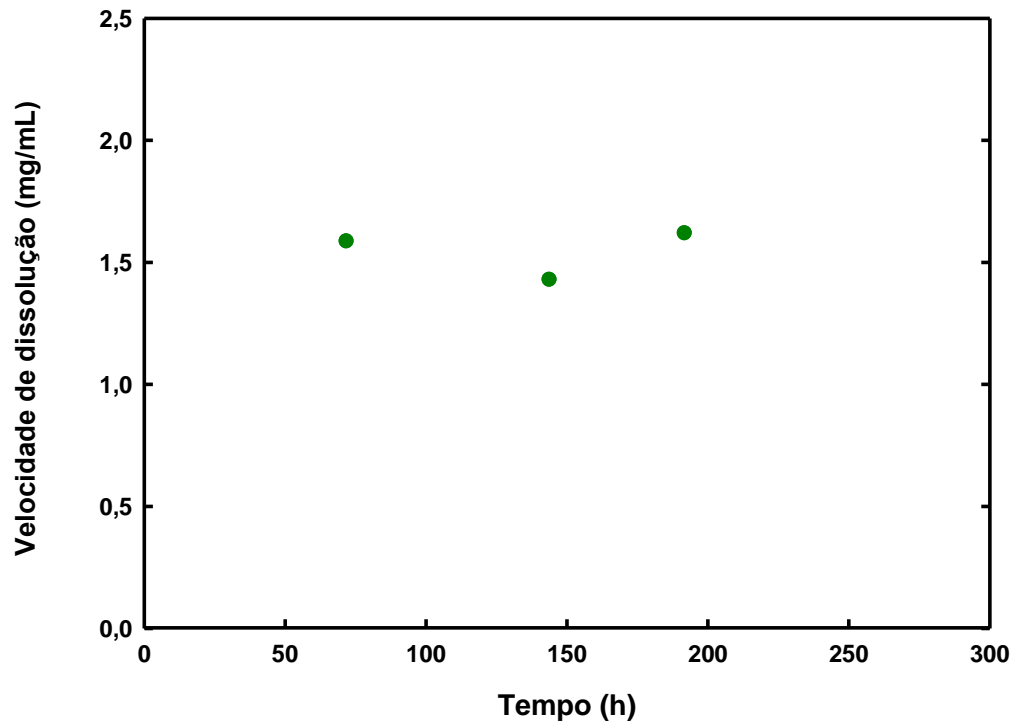


Figura D.5 – Velocidade de dissolução para o ácido niflúmico a pH=6,8.

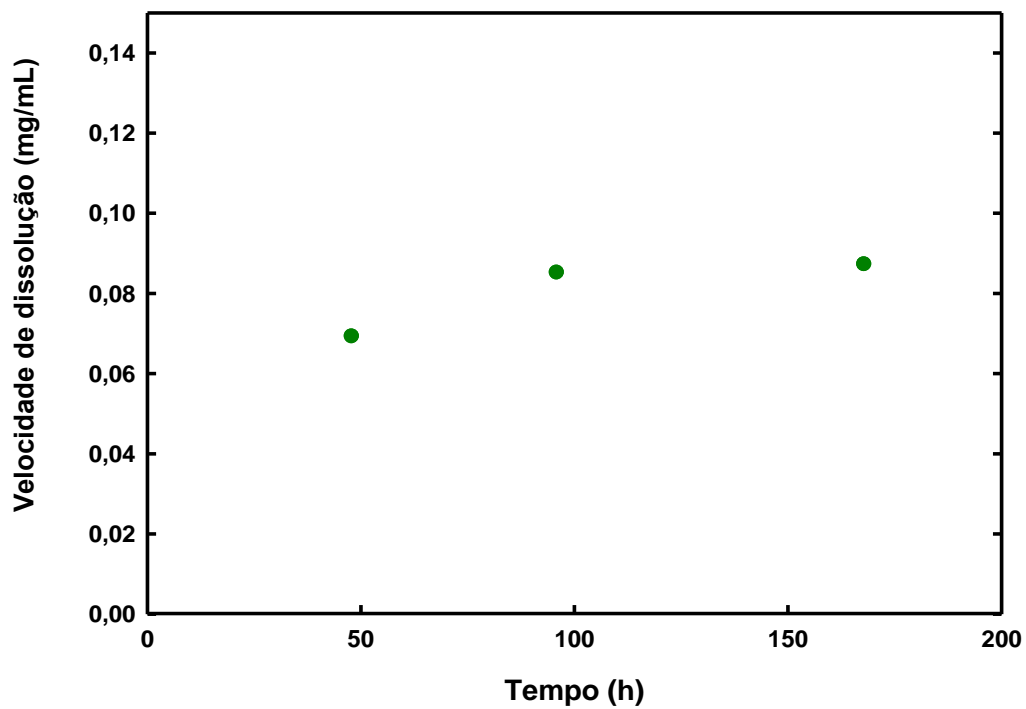


Figura D.6 – Velocidade de dissolução para o ácido niflúmico em NaCl.

D.1.3. Ácido Pirazinóico

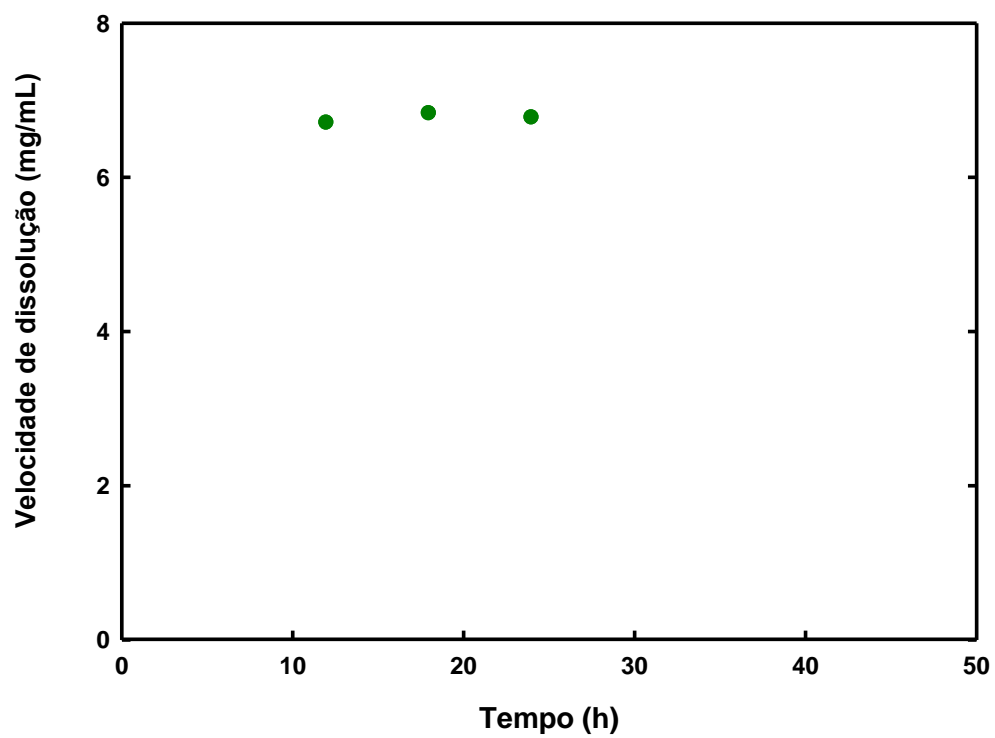


Figura D.7 – Velocidade de dissolução para o ácido pirazinóico em água.

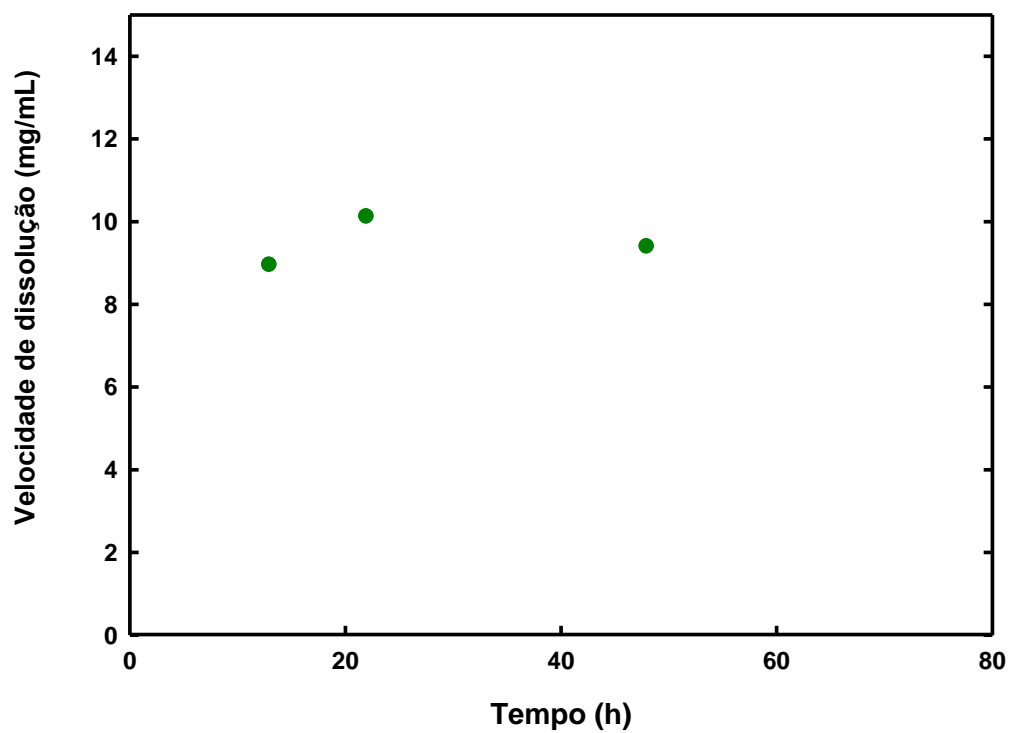


Figura D.8 – Velocidade de dissolução para o ácido pirazinóico em NaCl.

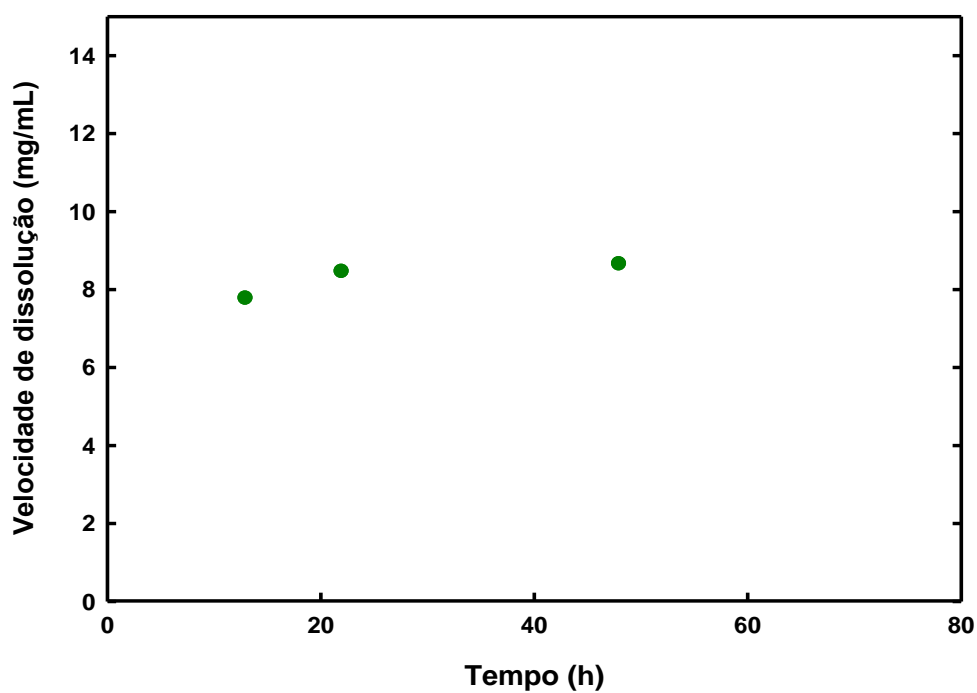


Figura D.9 – Velocidade de dissolução para o ácido pirazinóico a pH=1,0.

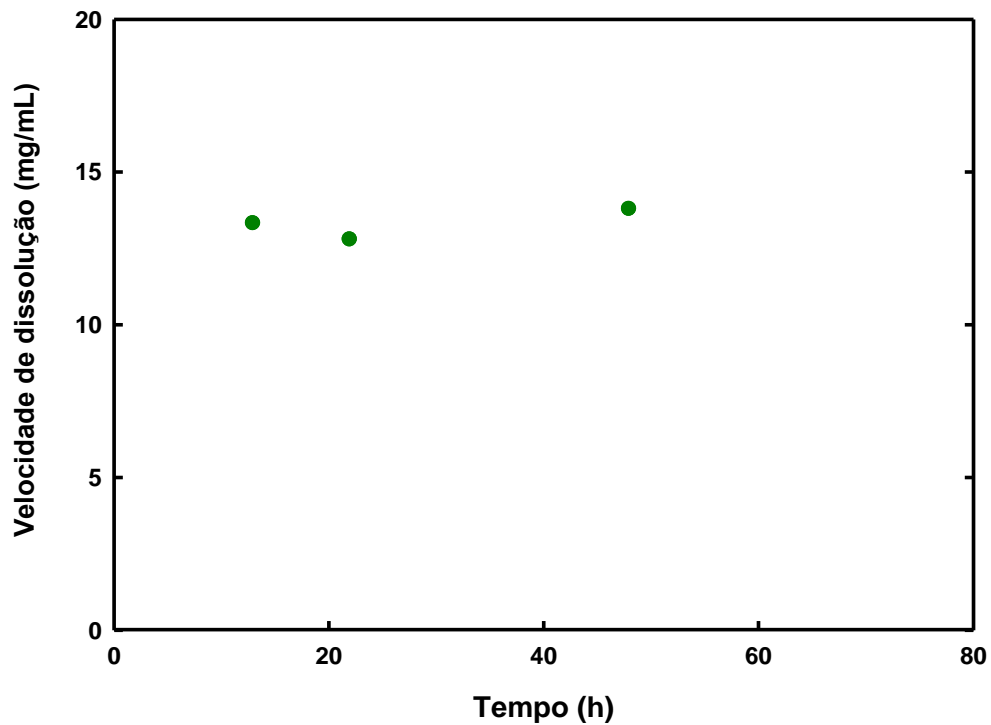


Figura D.10 – Velocidade de dissolução para o ácido pirazinóico a pH=6,8.

D.1.4. Ácido Picolínico

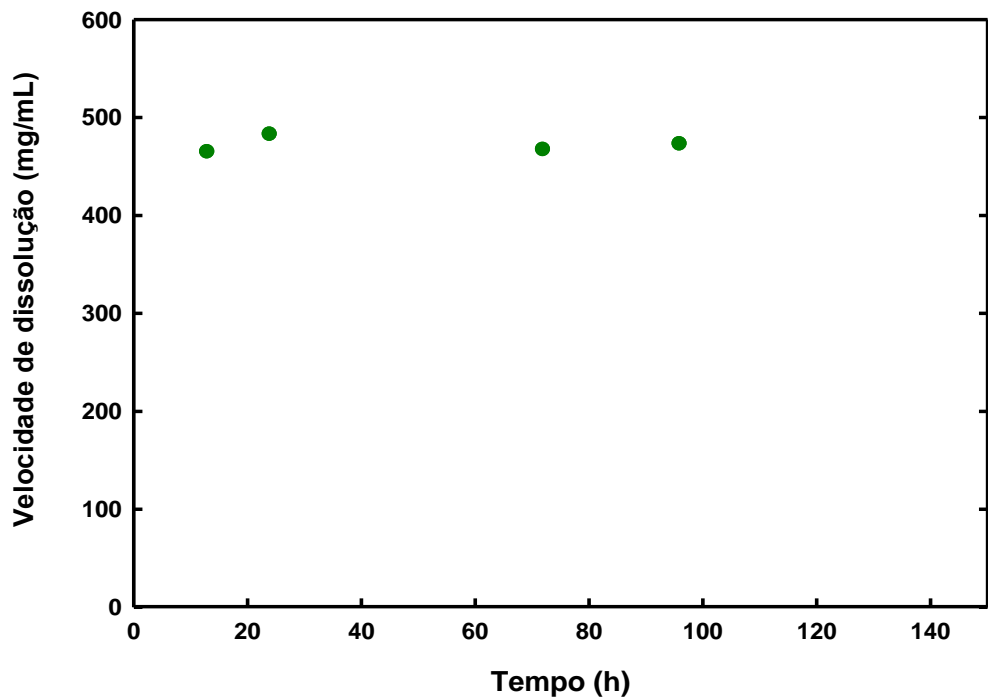


Figura D.11 – Velocidade de dissolução para o ácido picolínico em água.

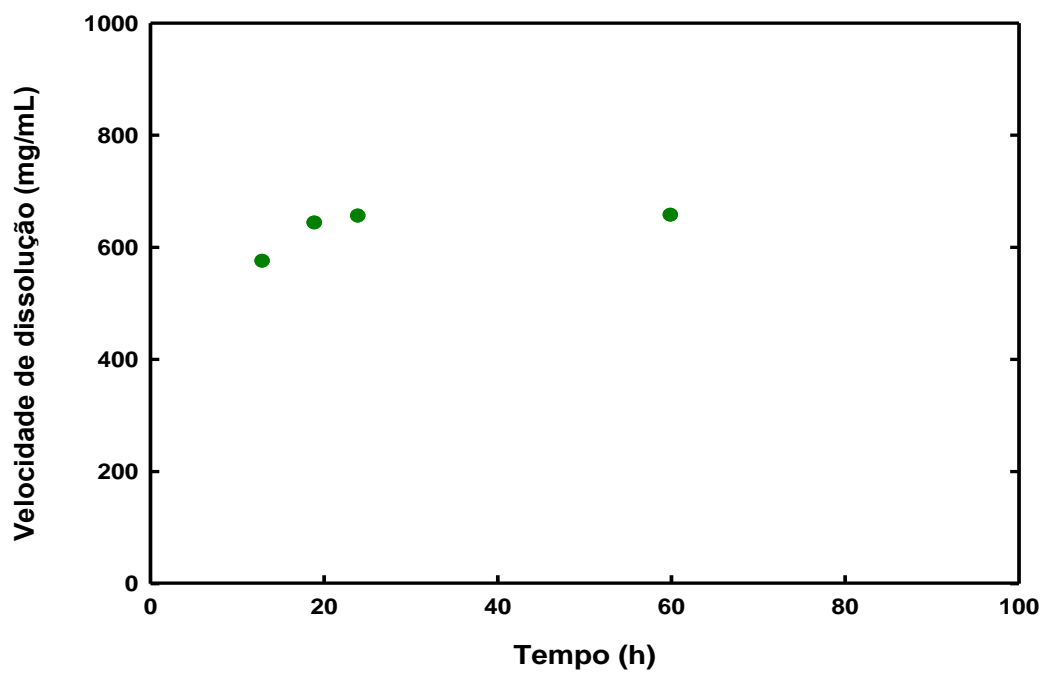


Figura D.12 – Velocidade de dissolução para o ácido picolínico em NaCl.

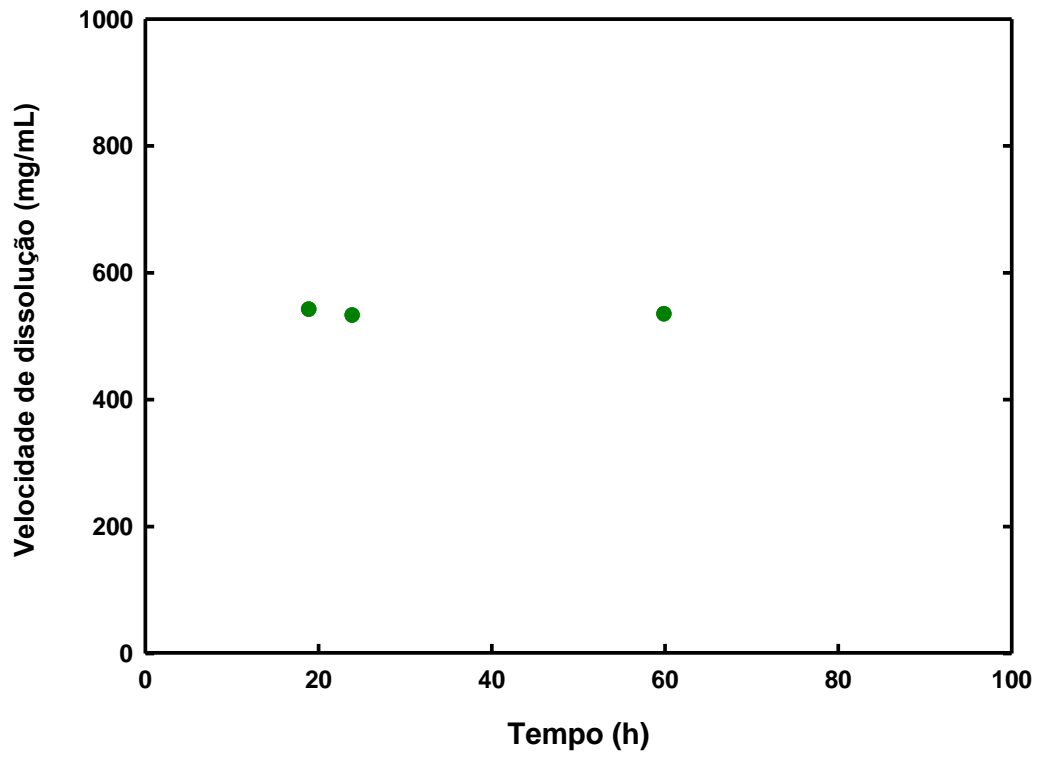


Figura D.13 – Velocidade de dissolução para o ácido picolínico a pH=1,0.

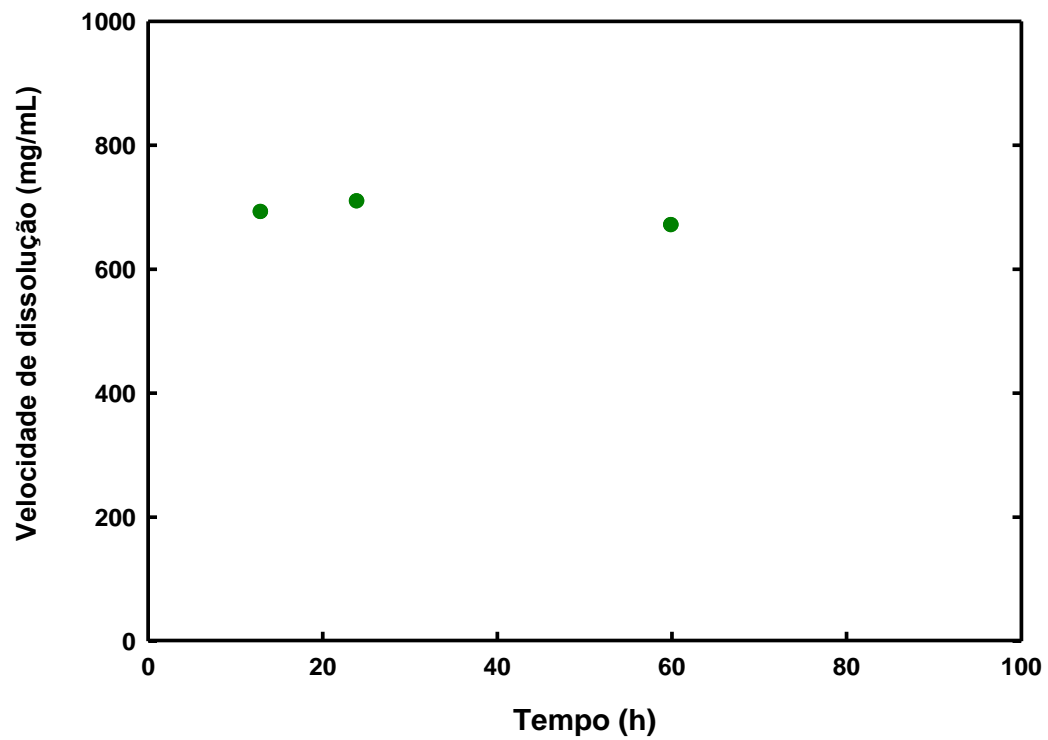


Figura D.14 – Velocidade de dissolução para o ácido picolínico a pH=6,8.

Anexo E

E.1. Gráficos correspondentes à determinação das Concentrações micelares críticas e respectivos valores de condutividades de cada LI surfactante.

Tabela E.1 – Condutividades obtidas na determinação da CMC do LI [C₁₆Pir][Ampicilinato].

Concentração (mmol/L)	Condutividade (K) (μ S/cm)
0	0
0,037	1,03
0,075	2,64
0,115	4,17
0,259	8,22
0,328	9,95
0,385	11,15
0,450	13,02
0,507	14,36
0,585	16,04
0,667	17,52
0,789	20,30
0,916	22,71
1,05	25,08
1,23	28,40

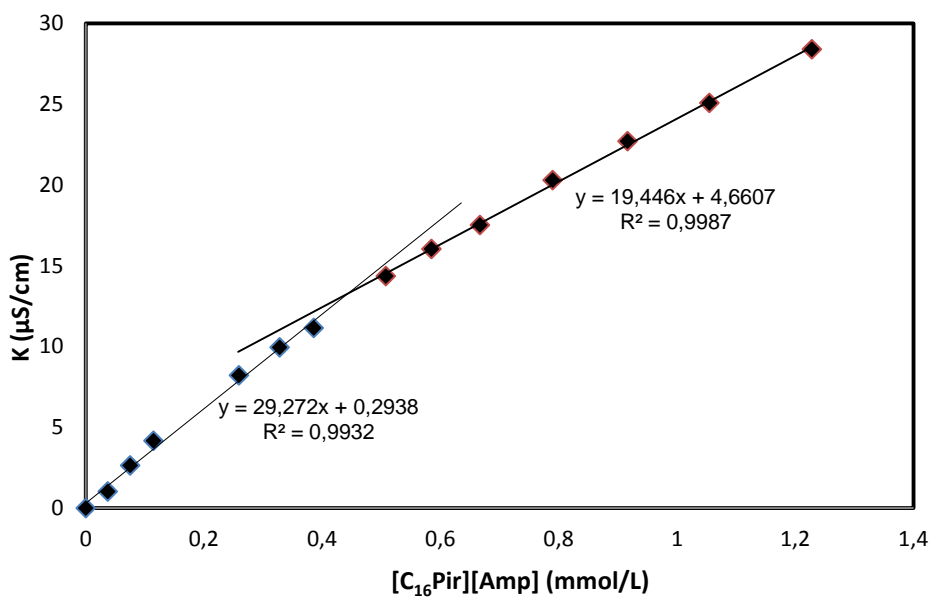


Figura E.1. - Determinação da CMC do LI Ampicilinato de cetilpiridínio ([C₁₆Pir][Amp]), em água a 25 °C.

Tabela E.2 – Conduktividades obtidas na determinação da CMC do LI [C₁₆Pir][Ibuprofenato].

Concentração (mmol/L)	Condutividade (K) (μS/cm)
0	0
0,003	0,07
0,008	0,49
0,021	0,98
0,036	1,82
0,043	2,25
0,051	2,57
0,060	3,07
0,079	3,85
0,093	4,14
0,096	4,24
0,100	4,30
0,105	4,50
0,109	4,56
0,114	4,78
0,118	4,78
0,118	4,84

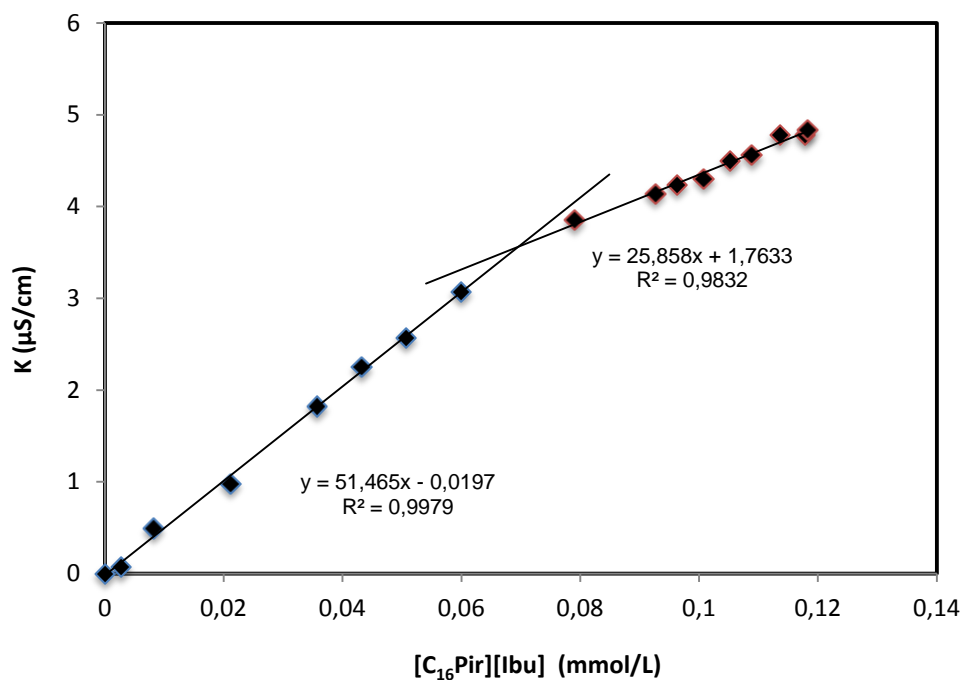


Figura E.2 – Determinação da CMC do LI Ibuprofenato de cetilpiridínio ($[C_{16}Pir][Ibu]$), em água a 25 °C.

Tabela E.3 – Condutividades obtidas na determinação da CMC do LI [Aliquat][Ibuprofenato].

Concentração (mmol/L)	Condutividade (K) ($\mu S/cm$)
0	0,00
0,028	1,13
0,054	2,83
0,079	4,31
0,187	10,68
0,249	14,24
0,295	16,55
0,337	18,67
0,389	21,18
0,561	27,90
0,620	30,71
0,789	36,05
0,897	40,32
0,965	43,24
1,046	46,23

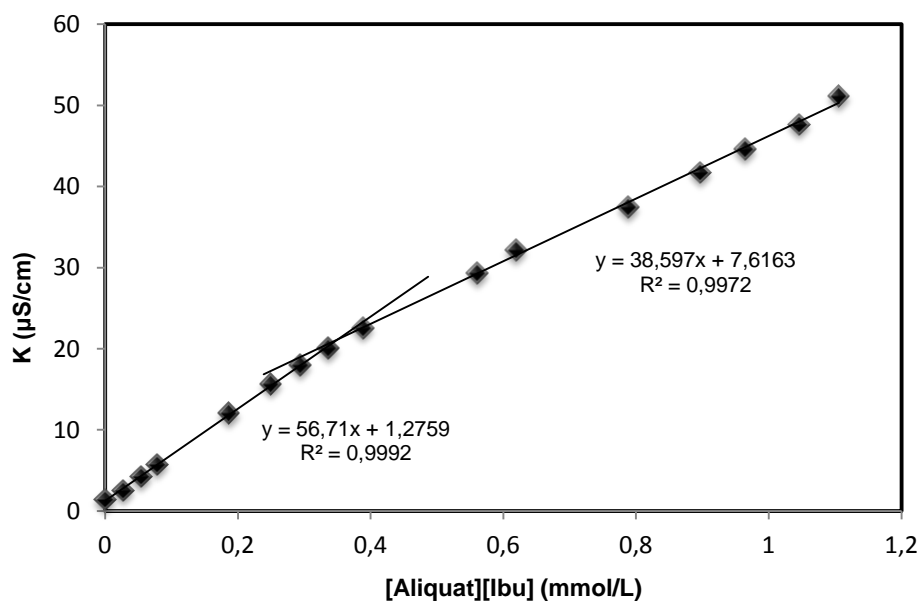


Figura E.3 – Determinação da CMC do LI Ibuprofenato de Aliquat ([Aliquat][Ibu]), em água a 25 °C.

Tabela E.4 – Condutividades obtidas na determinação da CMC do LI [P_{6,6,6,14}][Ibuprofenato].

Concentração (mmol/L)	Condutividade (K) (μS/cm)
0	0
0,011	0,20
0,024	1,17
0,051	3,76
0,075	6,34
0,096	8,34
0,129	11,67
0,157	14,85
0,184	17,44
0,205	19,44
0,225	21,49
0,243	23,28
0,266	25,35
0,296	28,32
0,324	30,95
0,351	33,35
0,379	35,84
0,411	38,50
0,458	42,30
0,611	55,41
0,639	57,69
0,671	61,13
0,786	70,53
0,888	78,83
0,972	85,53
1,321	112,33
1,336	113,53
1,365	115,73
1,416	119,43
1,537	128,43
1,623	134,73
1,694	139,73
1,713	141,13
1,765	144,83

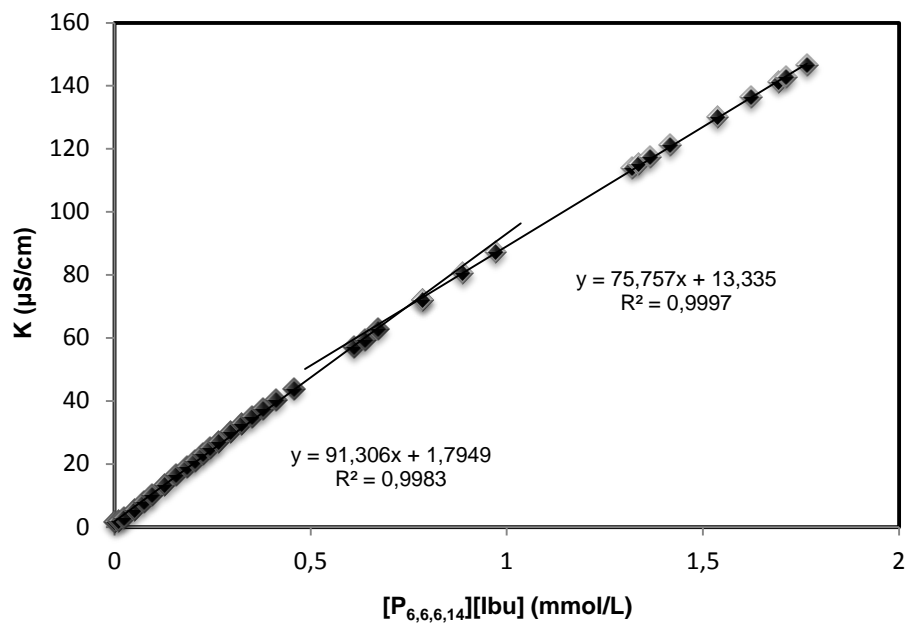


Figura E.4 – Determinação da CMC do líquido iônico Ibuprofenato de fosfônio ($[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{Ibu}]$), em água a 25°C .

Tabela E.5 – Condutividades obtidas na determinação da CMC do LI [OHC₂MIM][Docusato].

Concentração (mmol/L)	Condutividade (K) (μS/cm)
0	0
0,012	0,80
0,0576	2,95
0,087	4,54
0,158	8,09
0,214	10,87
0,265	13,46
0,315	16,05
0,376	19,30
0,447	22,74
0,524	26,60
0,569	28,58
0,605	30,10
0,652	32,17
0,684	33,79
0,781	38,25
0,819	40,08
0,869	42,36
0,950	46,18
1,00	48,59
1,144	55,48
2,019	93,20
2,234	103,20
2,529	116,90
2,788	128,60
3,079	140,40

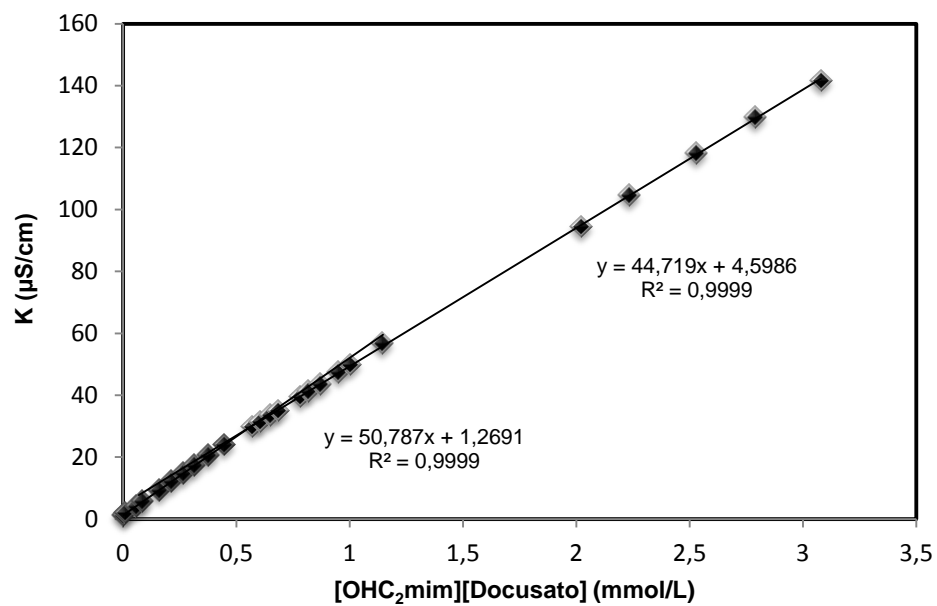


Figura E.5 – Determinação da CMC do líquido iónico Docusato de 1-hidroxietil-3-metilimidazólio ($[\text{OHC}_2\text{mim}][\text{Docusato}]$), em água a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.