

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
NÚCLEO DE QUÍMICA DE HETEROCICLOS**

Keli Maiara Wust

**ESTABILIDADE TÉRMICA, OXIDATIVA E SUPORTE EM SÍLICA
MESOPOROSA DE LÍQUIDOS IÔNICOS DERIVADOS DO
IBUPROFENO**

Santa Maria, RS
2018

Keli Maiara Wust

**ESTABILIDADE TÉRMICA, OXIDATIVA E SUPORTE EM SÍLICA MESOPOROSA
DE LÍQUIDOS IÔNICOS DERIVADOS DO IBUPROFENO**

Tese Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutorado em Ciências**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Clarissa Piccinin Frizzo

Santa Maria, RS
2018

Wust, Keli Maiara

ESTABILIDADE TÉRMICA, OXIDATIVA E SUPORTE EM SÍLICA
MESOPOROSA DE LÍQUIDOS IÔNICOS DERIVADOS DO IBUPROFENO /
Keli Maiara Wust.- 2018.

183 p.; 30 cm

Orientadora: Clarissa Piccinin Frizzo
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2018

1. Líquidos iônicos farmacologicamente ativos 2.
Estabilidade térmica 3. Estabilidade oxidativa 4. Sílica
mesoporosa 5. Líquidos iônicos suportados I. Frizzo,
Clarissa Piccinin II. Título.

Keli Maiara Wust

**ESTABILIDADE TÉRMICA, OXIDATIVA E SUPORTE EM SÍLICA MESOPOROSA
DE LÍQUIDOS IÔNICOS DERIVADOS DO IBUPROFENO**

Tese Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutorado em Ciências**.

Aprovado em 14 de agosto de 2018:



Clarissa Piccinin Frizzo, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Marcos Antônio Pinto Martins, Dr. (UFSM)
(Coorientador)

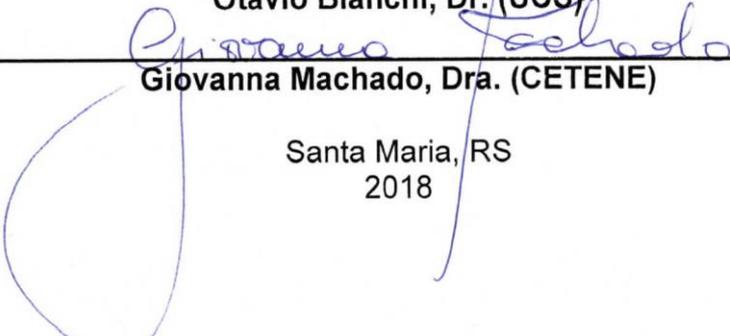
Helio Gauze Bonacorso, Dr. (UFSM)

Marcos Antônio Villetti, Dr. (UFSM)

Otávio Bianchi, Dr. (UCS)

Giovanna Machado, Dra. (CETENE)

Santa Maria, RS
2018



Aos meus pais por priorizarem minha educação, e por acreditarem na minha capacidade. À minha irmã Keyla pelo apoio e carinho!

Ao Moisés meu companheiro de todas as horas, pelo amor, apoio, cuidado e paciência.

*À Professora Clarissa, pela orientação,
incentivo, e pela confiança no
desenvolvimento deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Neli e Valdir por todo amor, incentivo e apoio à minha educação. Por serem meus maiores exemplos de superação, persistência, ética e humildade. Por não me deixarem desamparada em meio às incertezas. Sem vocês eu não chegaria até aqui! “Depois de algum tempo você aprende que há mais dos seus pais em você do que você supunha”. Obrigada por serem os pilares das minhas conquistas profissionais e pessoais!

À minha irmã Keyla, pela amizade, carinho, amor e parceria, por estar sempre disposta a me ouvir.

Ao Moisés, meu namorado, amigo e companheiro. Obrigada pelo carinho e paciência nesta fase. Por compreender minhas ausências, por me ajudar a manter a calma, e pelo tempo dedicado ao meu cuidado. Obrigada por me fazer sentir segura, sabendo que posso contar com teu apoio. Com você eu sou uma pessoa melhor e mais feliz!

À Mariana, a irmã que vida me permitiu escolher, que mesmo longe, sempre esteve comigo. Obrigada por nunca me faltar com teu apoio apesar da distância física, por sempre me ouvir e me entender. “I’ll be there for you, Cause you’re there for me too!”

À Professora e orientadora Clarissa, obrigada pela orientação e pela confiança. Por não ter desistido de mim quando eu mesma pensava em desistir. Por transmitir paixão pela ciência e pesquisa, que inspira e instiga a buscarmos sempre mais e melhor. Pelo tempo dedicado a este trabalho, por todas as discussões, sugestões e entusiasmo a cada novo resultado. “Se eu vi mais longe, foi por estar de pé sobre o ombro de gigantes.” Obrigada!

À Bruna, mais que uma colega... Amiga dos momentos profissionais e pessoais. Obrigada por todos incentivos, pelas ajudas, pelas trocas de conhecimento, ideias, discussões e desabafos. Obrigada por ter sido uns dos meus portos s neste último ano. Por me colocar para cima nos momentos em que tudo parecia desabar, e principalmente por me fazer acreditar mais em mim mesma.

À Gabrielle, amiga que esteve ao meu lado na época mais delicada da minha jornada no Doutorado, me colocando para cima nas horas de crise. Obrigada por ter sido minha companheira de dia-a-dia, de festa, de desabafo. Contar com sua amizade

naquele período foi fundamental. Por mais distante fisicamente que estejamos, levarei para sempre tua amizade e os nossos momentos de alegria.

À Aniele, colega desde o mestrado e também a primeira amizade que construí quando iniciei minha jornada no NUQUIMHE. Obrigada pelos momentos de amizade dentro e fora do laboratório. Pelas ajudas, ideias, sugestões e discussões ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao IC Alessandro pelo trabalho desenvolvido em conjunto e pelos experimentos realizados.

À Thaíssa, pelos experimentos realizados ao longo da iniciação científica e pela convivência diária.

Aos colegas e amigos, Letícia, Andrei, Alexandre, Geórgia, Bruno, Alisson, Jean pelos momentos de descontração, aprendizado e pela convivência diária.

Ao professor Marcos Villetti por toda ajuda durante o desenvolvimento deste trabalho. Por disponibilizar seu laboratório para realização de experimentos. Obrigada por estar sempre disposto a ajudar a melhorar os trabalhos, com ideias e sugestões.

Aos colegas Darcson e Patrícia, pela troca de experiências e aprendizado.

Aos Professores, Nilo, Giovanna, Wilson, Helio e Marcos Villetti pelas contribuições no exame de qualificação.

À Professora Sara pela realização dos experimentos de avaliação das atividades farmacológicas que contribuíram e enriqueceram muito este trabalho.

Ao Professor Robert pela realização dos experimentos de adsorção/dessorção de nitrogênio.

Ao Professor Edilson Benvenuto pela disponibilização das sílicas MCM-41 e SBA-15 para realização de uma das etapas deste trabalho.

À Professora Giovanna Machado pela realização dos experimentos de microscopia eletrônica de transmissão.

Ao Professor Edson Muller pela realização dos experimentos de microscopia eletrônica de varredura.

À Geovana e ao Sérgio Brondani, sempre dispostos a ajudar. Estendo os agradecimentos aos demais funcionários do NAPO.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Química e as funcionárias Ademir e Valéria pela paciência e prestatividade.

As entidades financiadoras FATEC, CNPq, CAPES e FAPERGS pelo financiamento à pesquisa.

Por fim, agradeço a todas pessoas que entraram em minha vida nesse período. Pessoas que contribuíram para conclusão deste trabalho, algumas vieram para acrescentar muito conhecimento, outras vieram para preencher todo vazio com alegria, carinho e amor. Todas vocês foram essências para que esta jornada fosse menos dura, e para que eu conseguisse chegar até aqui!

“Infelizmente não é possível obter em pesquisas científicas a partícula fé. A fé que nos faz crer no invisível - e nem por isso inexistente. A fé que nos conduz a um estado de paz mesmo quando tudo desmorona e explica a coragem de seguir em frente quando toda explicação falha. A fé que justifica e valida o inexplicável, que traduz o intraduzível. Fé é não saber, e assim mesmo crer. Crer na imprevisibilidade da vida, que tece um ponto aqui e arremata lá na frente. Crer no encontro, na inexplicável certeza de que alguns caminhos tinham que se cruzar - para o bem ou para nosso crescimento. Crer mesmo não enxergando. Confiar e acreditar na estrada mesmo quando a neblina encobre todo o caminho. Crer que o fato de estar no lugar certo na hora exata pode ser chamado "sorte", mas não deixa de ser providência. Acreditar que coincidências podem ser eventos aleatórios que te conduzem a um propósito...”

RESUMO

ESTABILIDADE TÉRMICA, OXIDATIVA E SUPORTE EM SÍLICA MESOPOROSA DE LÍQUIDOS IÔNICOS DERIVADOS DO IBUPROFENO

AUTOR: Keli Maiara Wust

ORIENTADOR: Clarissa Piccinin Frizzo

COORIENTADOR: Marcos Antônio Pinto Martins

Neste trabalho, a estabilidade térmica e oxidativa de uma série de líquidos iônicos (LIs) derivados de ingredientes farmacologicamente ativos (LI-IFAs) com ânion ibuprofenato e os cátions: ranitidina [RAN][IBU], lidocaína [LID][IBU], bupivacaína [BUP][IBU] e difenidramina [DIF][IBU] foram avaliadas. A decomposição foi determinada por meio de métodos térmicos e oxidativos com e sem peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sob radiação UV-C. Os resultados mostram que os LI-IFAs são estáveis até 160 °C, e têm uma energia de ativação de 60-100 kJ mol^{-1} para a decomposição térmica, ou seja, requerem consumo de energia para iniciar a decomposição. Sob condições isotérmicas, os LI-IFAs mostram-se estáveis até 50 °C, no entanto, totalmente decompostos após 24 h a 100 °C. Os tempos de meia vida obtidos para faixa de 20-40 °C mostraram que os LI-IFAs podem levar dias ($t_{1/2} = 18-72$) a anos ($t_{1/2} = 13-35$) para serem decompostos. Por outro lado, a decomposição oxidativa em água com e sem H_2O_2 foi mais rápida ($t_{1/2} = 4-12$ min e 2-5 h, respectivamente) resultando em decomposição dos LI-IFAs de minutos a horas. A seguir os mesmos LI-IFAs foram suportados em sílica mesoporosa com poros de 60 Å e 90 Å por um processo simples e eficaz (adsorção pelo solvente) nas proporções 10, 20 e 50% em peso. As técnicas de caracterização não indicaram mudanças de cristalinidade dos materiais suportados. Por outro lado, imagens de microscopia eletrônica de varredura e transmissão mostram variações na morfologia da sílica após a adsorção dos LI-IFAs. A estabilidade térmica dos LI-IFAs suportados na sílica 60 Å teve um aumento até a proporção de 20%, e quando suportados na sílica 90 Å, aumentou apenas na proporção 10%, o que indicou mudanças de interação com a mudança do tamanho do poro. A técnica de adsorção/dessorção de N_2 mostrou que o suporte dos LI-IFAs ocorre pela adsorção dos mesmos nos poros da sílica pois indica que após o suporte ocorreu a diminuição da área específica e volume dos poros. Os perfis de liberação foram avaliados pelo método de saco de diálise em dois meios de dissolução, e mostraram-se sustentados uma vez que o efeito *burst* não foi observado. A atividade anti-inflamatória dos LI-IFAs foi testada e mostrou que o LI-IFAs [DIF][IBU] apresenta atividade de nocicepção, mais eficaz que o ibuprofenato de sódio, 99,6% e 46,2% respectivamente. Baseado nisso, este LI-IFAs foi suportado em sílicas MCM-41 e SBA-15 na proporção 20% em peso. As técnicas de caracterização não indicaram mudanças de cristalinidade dos materiais suportados. A estabilidade térmica teve um aumento apenas quando [DIF][IBU] estava suportado em SBA-15, com aumento de 59 °C em relação ao LI-IFAs puro. A técnica de adsorção/dessorção de N_2 comprovou a adsorção do LI-IFAs nos poros das sílicas, pois houve uma redução de 37% do volume do poro para SBA-15 e 44% para MCM-41. A liberação em dois meios de dissolução mostrou que a sílica SBA-15 (81%) é capaz de liberar maiores quantidades do LI-IFAs do que a sílica MCM-41 (74%).

Palavras-chave: Líquidos iônicos farmacologicamente ativos; estabilidade térmica; estabilidade oxidativa; sílica mesoporosa; líquidos iônicos suportados.

ABSTRACT

THERMAL AND OXIDATIVE STABILITY AND SUPPORT IN MESOPOROUS SILICA OF IBUPROFEN-BASED IONIC LIQUIDS

AUTHOR: Keli Maiara Wust
ADVISOR: Clarissa Piccinin Frizzo
CO-ADVISOR: Marcos Antônio Pinto Martins

In this work, the thermal and oxidative stability of a series of ionic liquids (ILs) derived from active pharmaceutical ingredients (IL-APIs) with ibuprofen anion and cations: ranitidine [RAN][IBU], lidocaine [LID][IBU], bupivacaine [BUP][IBU] and diphenhydramine [DIP][IBU] were evaluated. The decomposition was determined by thermal and oxidative methods with and without hydrogen peroxide (H_2O_2) under UV-C radiation. The results showed that IL-APIs are thermally stable up to 160 °C, and have an activation energy of 60-100 kJ mol^{-1} for thermal decomposition, that is, requires energy consumption to initiate decomposition. Under isothermal conditions, the IL-APIs are stable up to 50 °C, however, fully decomposed after 24h, at 100 °C. The half-life times, obtained for the 20-40 °C range, showed that IL-APIs can take days ($t_{1/2} = 18-72$) for years ($t_{1/2} = 13-35$) to be decomposed. On the other hand, oxidative decomposition in water with and without H_2O_2 was faster ($t_{1/2} = 4-12$ min and 2-5h, respectively), resulting in the decomposition of IL-APIs from minutes to hours. The same IL-APIs were then supported on mesoporous silica with 60 Å and 90 Å pores by a simple and efficient (adsorption from solution) process in the proportions 10, 20 and 50 wt%. Characterization techniques did not indicate changes in crystallinity of the supported materials. On the other hand, scanning and transmission electron microscopy images show variations in the morphology of silica after adsorption of IL-APIs. The thermal stability of the supported IL-APIs on silica 60 Å had an increase up to the ratio of 20 wt%, and when supported on silica 90 Å, increase only in the proportion 10 wt%, which indicated changes in interaction with the change in pore size. The N_2 adsorption/desorption technique, showed that the support of the IL-APIs occurs by the adsorption in pores of the silica because it indicates that after the support occurred the decrease of the specific area and volume of the pores. The release profiles were evaluated by the dialysis bag method in two dissolution media, and were shown to be sustained since the *burst* effect was not observed. The anti-inflammatory activity of IL-APIs was tested and showed that IL-APIs [DIP][IBU] had nociceptive activity, more effective than ibuprofenate sodium, 99.6% and 46.25, respectively. Based on this, this IL-APIs was supported on silica MCM-41 e SBA-15 in proportion 20 wt%. Characterization techniques did not indicate changes in crystallinity of the supported materials. Thermal stability increased only when [DIP][IBU] was supported on SBA-15, increasing by 59 °C over pure IL-APIs. The N_2 adsorption/desorption technique proved the adsorption of the IL-APIs in the silica pores, as there was a 37% reduction in pore volume for SBA-15 and 44% for MCM-41. The release in two media showed that silica SBA-1 (81%) is capable of releasing larger amounts of IL-APIs than MCM-41 (74%).

Keywords: Active pharmaceutical ionic liquids, thermal stability, oxidative stability, mesoporous silica, supported ionic liquids.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - (a) Estrutura dos fármacos orgânicos que podem ser definidos como Lis. (b) Estrutura dos líquidos iônicos a partir de ingredientes farmacologicamente ativos sintetizados por Rogers e col. em 2007.	29
Figura 2 - Estruturas dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno avaliados nesta Tese. ...	32
Figura 3 - Esquema geral correspondente ao Objetivo 1.	33
Figura 4 - Esquema geral correspondente ao Objetivo 2.	35
Figura 5 - Produtos obtidos pela fotodecomposição do ibuprofeno, obtidas por Szabó e col.(2011).	42
Figura 6 - Intermediários observados ao final da degradação fotocatalítica do ibuprofeno. Ibuprofeno 200 ppm, TiO ₂ 1 g L ⁻¹ , O ₂ 40 mg L ⁻¹ e 4 horas de irradiação.	43
Figura 7 - Exemplos de micro-, meso-, e macroporos com respectivos tamanhos e típicas distribuições de poros. Adaptado de Soler-Illia e col. (2002).	45
Figura 8 - Representação das estruturas dos materiais do tipo MCM e representações das estruturas presentes na sílica (EDGE et al., 2001).	46
Figura 9 - Materiais mesoporosos com superfície funcionalizada. Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	50
Figura 10 - Suporte através de ligação covalente. Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	51
Figura 11 - Isotermas do tipo I ao VI. Adaptado de Sing (1985).	54
Figura 12 - Formação de histerese a partir da condensação capilar Adaptado de Sing e col. (1985).	55
Figura 13 - Tipos de histerese (Volume de N ₂ vs P/P ₀).	56
Figura 14 - Esquema geral do princípio de SPR desenvolvido por Kretschmann. Adaptado de BioNavis (2018).	58
Figura 15 - Esquema de um perfil de adsorção do SPR.	59
Figura 16 - Ilustração da formação da bicamada lipídica sobre o chip SiO ₂ . Adaptado de Glasmästar e col. (2002)	60
Figura 17 - Experimento tradicional de liberação <i>in vitro</i> utilizando o saco de diálise como método de separação.	62
Figura 18 - Processo de liberação de um fármaco a partir de uma matriz controlada por difusão.	64
Figura 19 - Algumas aplicações da tecnologia SILP.	65
Figura 20 - Representação esquemática da fase líquida iônica suportada (SILP). Adaptado de Kohler e col. (2014).	66
Figura 21 - LI-IFAs e IFAs suportados em sílica.	67
Figura 22 - (a) Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio e (b) distribuição do tamanho e volume do poro para SiO ₂ -90 (verde) e [P ₄₄₄₄][Ibu] 20% suportado em SiO ₂ -90 (azul). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	68
Figura 23 - Influência da natureza da superfície da sílica na liberação de [P ₄₄₄₄][Ibu] 20% em PBS (pH 7,4): sílica não calcinada (hidrofílica; vermelho) e sílica pré-calcinada (hidrofóbica, azul). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	69
Figura 24 - Influência da quantidade de amostra suportada na velocidade de liberação de [P ₄₄₄₄][Ibu] em PBS (pH 7,4): 10 % (preto), 20% (vermelho) e 50% (azul): sílica pré calcinada. Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	70

Figura 25 - Influência do procedimento de suporte na liberação de [P ₄₄₄₄][Ibu] 20% em PBS (pH 7,4): Adsorção pela solução (azul) e impregnação de umidade incipiente (vermelho). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	71
Figura 26 - Influência do meio de dissolução na liberação de (a) [P ₄₄₄₄][Ibu] e (b) de [Lid][Ibu]. Suportados 20% em peso: PBS pH 7,4 (vermelho); FIS pH 6,8 (azul); e FGS pH 1,2 (preto). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).	71
Figura 27 - Estruturas e siglas dos LI-IFAs estudados nesta Tese.	85
Figura 28 - Esquema geral da divisão de capítulos.	86
Figura 29 - TG e DTG dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno em uma taxa de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ .	88
Figura 30 - Perfil de decomposição de [BUP][IBU] nas taxas 1, 5 e 10 °C min ⁻¹ .	89
Figura 31 - Gráfico ln($\beta da/dT$) versus 1/T obtidos pelo método de Friedman para [BUP][IBU].	91
Figura 32 - Gráficos das energias de ativação (E _a) e fatores de frequência (A) para cada fração de conversão de massa, α , para os LI-IFAS (a) [BUP][IBU]; (b) [RAN][IBU]; (c) [LID][IBU]; (d) [DIF][IBU]. Obtidos pelo método de Friedman.	92
Figura 33 - Gráfico log β versus 1/T obtidos pelo método de Ozawa-Flynn-Wall para [BUP][IBU].	93
Figura 34 - Gráficos das energias de ativação (E _a) e fatores de frequência (A) para cada fração de conversão de massa, α , para os LI-IFAS (a) [BUP][IBU]; (b) [RAN][IBU]; (c) [LID][IBU]; (d) [DIF][IBU]. Obtidos pelo método de O-F-W.	94
Figura 35 - Comparação das médias de E _a calculadas pelos métodos de (a) Friedman; (b) O-F-W, com p>0,05	96
Figura 36 - Relação entre ln k versus 1/T em 50 % de perda de atividade. (a) Método de Friedman. (b) Método de O-F-W. Para (●) [DIF][IBU], (▲) [LID][IBU], (◆) [RAN][IBU], (■) [BUP][IBU].	98
Figura 37 - Tempo de meia-vida dos LI-IFAs para α 0,5 na faixa de temperatura 20-40°C. (a) Método de Friedman; (b) Método de O-F-W.	99
Figura 38 - TG isotérmica do [DIF][IBU] obtida sob atmosfera de N ₂ a 50 °C (azul), 75 °C (vermelha) e 100 °C (preta).	100
Figura 39 - Curvas de TG isotérmico do [DIF][IBU] obtidas a 100 °C sob atmosfera de N ₂ (vermelha) e ar (preta) após 24 h de exposição.	101
Figura 40 - Espectro de excitação e emissão de [BUP][IBU].	102
Figura 41 - Espectros de emissão de fluorescência do [BUP][IBU]. (a) Na ausência de H ₂ O ₂ , λ_{excit} = 230 nm. (b) Na presença de 20 μ L de H ₂ O ₂ , λ_{excit} = 230 nm. (c) Decaimento cinético dos LI-IFAs expostos a radiação UV-C. (d) Decaimento cinético dos LI-IFAs expostos a radiação UV-C/H ₂ O ₂ .	103
Figura 42 - Tempo de meia-vida (t _{1/2}) (min) para os LI-IFAs submetidos a fotodegradação e degradação fotocatalítica calculados pelo acompanhamento dos decaimentos de fluorescência a 25 °C.	105
Figura 43 - Sobreposição dos espectros do [RAN][IBU] – t = 0 s (preto) e t = 280 min - no modo negativo. Modo SCAN (ausência de H ₂ O ₂).	106
Figura 44 - Produtos da oxidação do ibuprofeno. Fragmentos m/z 221.	106
Figura 45 - Sobreposição dos espectros do [RAN][IBU] – t = 0 s (preto) e t = 7 min – no modo negativo. Modo SCAN (UV-C com H ₂ O ₂).	108
Figura 46 - Sílica não calcinada (hidrofílica). (b) Sílica após a calcinação (hidrofóbica). Figura adaptada de Cojocarú (2014).	111

Figura 47 - Esquema geral dos LI-IFAs suportados em sílica para obtenção de material.....	112
Figura 48 - Espectro de difração de raios x em pó da Sílica (preto), [DIF][IBU] 10% (vermelho), [DIF][IBU] 20% (azul). (a) Sílica 60 Å; (b) Sílica 90 Å.....	113
Figura 49 - Figuras MEV 100 µm. (a) Sílica 60 Å (b) [LID][IBU] (c) [BUP][IBU] (d) [DIF][IBU] (e) [RAN][IBU].....	115
Figura 50 - Figuras MEV 2 µm. (a) Sílica 60 Å (b) [LID][IBU] (c) [BUP][IBU] (d) [DIF][IBU] (e) [RAN][IBU].....	116
Figura 51 - Imagens MET do LI-IFAs [DIF][IBU] suportado na sílica 60 Å na proporção 20% em peso. (a) SiO ₂ -60 (50 nm). (b) SiO ₂ -60 (20 nm). (c) [DIF][IBU]/SiO ₂ -60 (50 nm). (d) [DIF][IBU]/SiO ₂ -60 (20 nm).	117
Figura 52 - Imagens MET dos LI-IFAs suportados na sílica 90 Å na proporção 20% em peso. (a) SiO ₂ -90 (50 nm). (b) SiO ₂ -90 (20 nm). (c) [DIF][IBU]/SiO ₂ -90 (50 nm). (d) [DIF][IBU]/SiO ₂ -90 (20 nm).....	118
Figura 53 - Perfil de TG de [DIF][IBU] suportado nas sílicas. (a) 60 Å. (b) 90 Å. Sílica (preto), [DIF][IBU] puro (vermelho), [DIF][IBU] 10% (azul), [DIF][IBU] 20% (verde) e [DIF][IBU] 50% (rosa).	119
Figura 54 - (a) Isotermas de adsorção-dessorção de N ₂ a 77 K da amostra de sílica mesoporosa, com poro de 90 Å, antes e após o suporte com [DIF][IBU]. (b) Distribuição de tamanho de poros antes e após o suporte com [DIF][IBU].	122
Figura 55 - Figura demonstrativa dos locais onde os LI-IFAs podem se acomodar nas partículas de sílica mesoporosas.	123
Figura 56 - Sensogramas de interações dos LI-IFAs com chip de SiO ₂ . Curvas obtidas em diferentes concentrações de LI-IFAs em solução hidroalcoólica. (a) [BUP][IBU]; (b) [DIF][IBU]; (c) [LID][IBU].	124
Figura 57 - Mudança de ângulo em função da concentração para o LI-IFAs [DIF][IBU].	125
Figura 58 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> do [DIF][IBU] livre e suportado nas sílicas 60 Å e 90 Å em PBS pH 7,2 com 1% Tween®	128
Figura 59 - Modelo cinético de Higuchi para os LI-IFAs suportados em (a) SiO ₂ -60. (b) SiO ₂ -90. PBS pH 7,2 com 1% Tween®	129
Figura 60 - Modelo cinético de Higuchi para os LI-IFAs suportados em (a) SiO ₂ -60. (b) SiO ₂ -90. FGS pH 1,2.	131
Figura 61 - [DIF][IBU] fracamente ionizado.	131
Figura 62 - Limiar mecânico de retirada de pata dos animais quando tratado com [DIF][IBU]a. (a) Veículo (10 mL kg ⁻¹); (b) SiO ₂ -60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg ⁻¹); (c) SiO ₂ -60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg ⁻¹); (f) [DIF][IBU] (100 mg kg ⁻¹); (g) [Na][IBU] (300 mg kg ⁻¹); (h) [DIF][CI] (10 mg kg ⁻¹).....	134
Figura 63 - Efeito do LI-IFAs [DIF][IBU] sobre a nocicepção espontânea induzida por capsaicina administrada intraplantara. (a) Veículo (10 mL kg ⁻¹); (b) SiO ₂ -60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg ⁻¹); (c) SiO ₂ -90/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg ⁻¹); (d) [DIF][IBU] (100 mg kg ⁻¹); (e) [Na][IBU] (300 mg kg ⁻¹); (f) [DIF][CI] (10 mg kg ⁻¹).	135
Figura 64 - Perfil de TG de [DIF][IBU] (preto), [DIF][IBU] 20%/MCM-41 (azul) e [DIF][IBU] 20%/SBA-15 (vermelho).	137
Figura 65 - Espectro de difração de raios X em pó da Sílica (preto) e [DIF][IBU] 20% (azul). (a) MCM-41; (b) SBA-15.....	138

Figura 66 - Isotermas de adsorção/dessorção de N ₂ a 77 K das amostras de sílica puras e suportadas com [DIF][IBU] 20%. (a) SBA-15; (b) MCM-41	139
Figura 67 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> do [DIF][IBU] suportado nas sílicas SBA-15 e MCM-41. (a) PBS pH 7,2 com 1% Tween [®] ; (b) FGS pH 1,2.	140
Figura 68 - Modelo cinético de Higuchi para os LI-IFAs suportados nas sílicas SBA-15 e MCM-41. (a) PBS pH 7,2 com 1% Tween [®] ; (b) FGS pH 1,2.	141

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ibuprofeno adsorvido em sílicas mesoporosas.	45
Tabela 2 - Estabilidade térmica dos LI-IFAs e seus IFAs correspondentes suportados em Sílica 90 Å. (ANDREEA COJOCARU et al., 2014).....	69
Tabela 3 - Resultados de TG/DTG dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno.	90
Tabela 4 - Parâmetros cinéticos das reações de decomposição dos LI-IFAs obtidos pelos métodos de Friedman e O-F-W.	95
Tabela 5 - Comparação entre os parâmetros termodinâmicos para a degradação térmica dos LI-IFAs obtidos pelos métodos de Friedman e O-F-W a 298,15 K (25 °C).	97
Tabela 6 - Constante de velocidade de reação (k) e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) dos LI-IFAs a 25°C. para α 0,5.....	98
Tabela 7 - Perda de massa do [DIF][IBU] após 24 horas de exposição em diferentes temperaturas, sob atmosfera de N ₂	100
Tabela 8 - Perda de massa de [DIF][IBU] após 24 h de exposição a 100 °C sob atmosfera de N ₂ e ar.	101
Tabela 9 - Constante da velocidade de degradação (k), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para os LI-IFAs submetidos a fotodegradação e degradação fotocatalítica calculados pelo acompanhamento dos decaimentos de fluorescência a 25 °C.....	104
Tabela 10 - Intensidades e prováveis estruturas de fragmentos m/z observados no espectro do modo negative de [RAN][IBU] na ausência de H ₂ O ₂	107
Tabela 11 - T _{d5%} de LI-IFAs suportados em sílica (10-50% em peso).	120
Tabela 12 - Valores obtidos pela análise de adsorção/dessorção de N ₂	123
Tabela 13 - Constante de dissociação (K _D) que descrevem a afinidade de interação LI-IFAs e superfície do chip SiO ₂ obtidas pela Equação 17.	125
Tabela 14 - Solubilidade dos LI-IFAs em H ₂ O/EtOH 5%(v/v) e PBS pH 7,2 a 37 °C.	126
Tabela 15 - Constantes cinéticas (k) de liberação dos LI-IFAs livres em PBS pH 7,2 com 1% Tween [®] , segundo modelo matemático exponencial dupla.	128
Tabela 16 - Constantes cinéticas (k) de liberação obtidos pelo modelo matemático de Higuchi, para os LI-IFAs suportados em SiO ₂ -60 e SiO ₂ -90 no meio de liberação PBS pH 7,2 com 1% Tween [®]	129
Tabela 17 - Constantes cinéticas (k) de liberação dos LI-IFAs livres em FGS pH 1,2.	130
Tabela 18 - Constantes cinéticas (k) de liberação obtidos pelo modelo matemático de Higuchi, para os LI-IFAs suportados em SiO ₂ -60 e SiO ₂ -90 no meio de liberação FGS pH 1,2.....	132
Tabela 19 - Número de quedas dos animais no teste do cilindro giratório.	135
Tabela 20 - Comparação da % de atividade de nocicepção do LI-IFAs [DIF][IBU] com a cinética de liberação <i>in vitro</i> realizados em PBS pH 7,2 com 1% Tween [®] no período de 1 hora.	136
Tabela 21 - T _{d5%} de LI-IFAs suportados em sílica (10-50% em peso).	137
Tabela 22 - Valores obtidos através das análises de adsorção/dessorção de N ₂ . ..	140
Tabela 23 - Constantes cinéticas (k) de liberação obtidos pelo modelo matemático de Higuchi, para os LI-IFAs suportados nas sílicas MCM-41 e SBA-15.....	142

Tabela 24 - Liberação do [DIF][IBU] em função do meio de dissolução e do tipo de material de suporte.....	143
---	-----

LISTA DE SIGLAS

BET	Brunauer, Emmett e Teller
BJH	Barret, Joyner, Halenda
BMM	<i>Bimodal Mesoporous Material</i> (Material mesoporoso bimodal)
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DTG	<i>Derivative thermogravimetric</i> (Termogravimetria derivativa)
FGS	Fluido gástrico simulado
FIS	Fluido intestinal simulado
HMS	<i>Hollow Mesoporous Spheres</i>
IFAs	Ingredientes farmacologicamente ativos
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
IWI	<i>Incipient wetness impregnation</i>
LI	Líquidos iônicos
LI-IFAs	Líquidos iônicos a partir de ingredientes farmacologicamente ativos
MCM-41	<i>Mobil Crystalline Material</i> n° 41
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MWCO	<i>Molecular weight cut-off</i>
O-F-W	Ozawa-Flynn-Wall
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
SBA-15	<i>Santa Barbara Amorphous</i>
SILP	<i>Supported ionic liquid phase</i>
SPR	<i>Surface plasmon resonance</i> (Ressonância plasmônica de superfície)
TG	Termogravimetria
TGA	<i>Thermogravimetric analysis</i> (Análise termogravimétrica)
TWEEN 80®	<i>Polisorbato 80</i>
UV	Ultravioleta
V.O.	Via oral

LISTA DE SÍMBOLOS

TGA

ΔG^\ddagger	Energia livre de Gibbs
ΔH^\ddagger	Entalpia
ΔS^\ddagger	Entropia
A	Fator pré-exponencial
dT/dt	Varição temperatura em função do tempo
da/dt	Varição de massa em função do tempo
dα/dT	Varição de massa em função da temperatura
Ea	Energia de ativação
f(α)	Função de conversão de massa
h	Constante de Plank
k	Constante de velocidade
k _B	Constante de Boltzman
m ₀	Massa inicial
m _t	Massa no instante t
n	Ordem de reação
R	Constante dos gases ideais
T	Temperatura
t _{1/2}	Tempo de meia vida
t _{d50}	Temperatura de decomposição de 50% da amostra
T _d	Temperatura de decomposição
T _f	Temperatura final de decomposição
T _i	Temperatura inicial de decomposição
α	Fração de conversão de massa
β	Taxa de aquecimento
v	k _B T/h
Δm	Varição de massa
ΔT	T _f -T _i (Intervalo entre temperatura final e inicial)
T _{d5%}	Temperatura de decomposição de 5% da amostra

FLUORESCÊNCIA

hν	Radiação
I	Intensidade de fluorescência remanescente no tempo t
I ₀	Intensidade de fluorescência inicial
k _{H2O2}	Constante de velocidade em função do peróxido
k _{hv}	Constante de velocidade em função da luz
k _{hv + H2O2}	Constante de velocidade em função da luz e peróxido
m/z	Razão massa carga
UV-C	Luz ultravioleta C
λ _{emiss}	Comprimento de onda de emissão
λ _{excit}	Comprimento de onda de excitação

BET

Å	Angstrom
c	Constante de energia de interação adsorbato/adsorvente
d	Diâmetro
K	Kelvin
n	Quantidade molar
P	Pressão parcial
P/P ₀	Pressão relativa
P ₀	Pressão de saturação
r _k	Raio capilar
S	Superfície específica
V _a	Volume do gás
V _m	Volume molar
γ	Tensão de superfície do nitrogênio
θ	Ângulo de contato entre o líquido e a parede do capilar

SOLUBILIDADE/LIBERAÇÃO

pH	Potencial hidrogeniônico
J	Fluxo de difusão
D	Coefficiente de difusão
$\partial C/\partial X$	Gradiente de concentração
Q _t	Quantidade liberada no tempo t
t	Tempo
ε	Porosidade
S	Solubilidade
k _H	Taxa de liberação
H ₂ O/EtOH 5%	Solução água etanol 5%

SPR

K _D	Constante de dissociação
n	Índice de refração
ε	Constante dielétrica
λ	Comprimento de onda

DIFRAÇÃO DE RAIOS X EM PÓ

n	Número natural
λ	Comprimento de onda
d	Distância entre planos atômicos
θ	Ângulo de incidência

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

DI_{50%}

Dose inibitória de 50% da nocicepção

UNIDADES DE MEDIDA

mL kg ⁻¹	Mililitro por quilograma
mg kg ⁻¹	Miligrama por quilograma
mg g ⁻¹	Miligrama por grama
m ² g ⁻¹	Metro quadrado por grama
cm ³ g ⁻¹	Centímetro cúbico por grama
mM	Milimolar
°C	Graus Celcius
L	Litro
kJ mol ⁻¹	Quilo Joule por mol
mol L ⁻¹	mol por litro
µm	Micrometro
nm	Nanômetros
u.a.	Unidade adimensional
°C min ⁻¹	Graus Celcius por minuto
h	Hora
µL	Microlitro
%min ^{1/2}	Porcentagem em meio minuto

SÍMBOLOS DOS ELEMENTOS E MOLÉCULAS

N ₂	Nitrogênio
·OH	Radial hidroxila
TiO ₂	Dióxido de titânio
EtOH	Etanol
Si	Silício
O	Oxigênio
SiO ₂	Dióxido de silício
SiO ₂ -60	Dióxido de silício poro de 60 Angstrons
SiO ₂ -90	Dióxido de silício poro de 90 Angstrons
C	Carbono
NaCl	Cloreto de sódio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato dissódico
NaH ₂ PO ₄	Fosfato monosódico

NOMENCLATURA DOS LÍQUIDOS IÔNICOS ABORDADOS NESTE TRABALHO

[BUP][IBU]	Ibuprofenato de bupivacaína
[DIF][IBU]	Ibuprofenato de difenidramina
[LID][IBU]	Ibuprofenato de lidocaína
[RAN][IBU]	Ibuprofenato de ranitidina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	28
2 REVISÃO DA LITERATURA	36
2.1 CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO	36
2.1.1 Cinética de decomposição térmica.....	36
2.1.2 Cinética de decomposição fotolítica	40
2.2 SÍLICA COMO MATERIAL DE CONTROLE DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	44
2.2.1 Fatores que influenciam o suporte na sílica	47
2.2.1.1 Tamanho do poro	47
2.2.1.2 Área superficial	48
2.2.1.3 Volume do poro	48
2.2.1.4 Morfologia do poro.....	49
2.2.1.5 Materiais mesoporosos de superfície funcionalizada	49
2.2.2 Procedimentos para suporte de compostos na sílica	50
2.2.2.1 Ligações covalentes	50
2.2.2.2 Captura física.....	51
2.2.2.3 Adsorção pela solução	51
2.2.2.4 Impregnação de umidade incipiente	52
2.2.3 Caracterização de materiais suportados em sílica	52
2.2.3.1 Adsorção/dessorção N ₂	52
2.2.3.1.1 Condensação Capilar e histerese	54
2.2.3.1.2 Equações de isothermas BET	56
2.2.3.2 Ressonância Plasmônica de Superfície	57
2.2.4 Liberação a partir de materiais mesoporosos	61
2.2.4.1 Cinética de liberação	63
2.3 LÍQUIDOS IÔNICOS SUPORTADOS EM SÍLICA	64
2.3.1 Líquidos iônicos farmacologicamente ativos suportados em sílica	66
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	72
3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	72
3.1.1 Solução PBS	72
3.1.2 Solução de fluido gástrico simulado (FGS, pH 1,2).....	72
3.2 PROCEDIMENTOS DE SÍNTESE	72
3.2.1 Síntese e caracterização dos LI-IFAs.....	72

3.2.1.1 2-(4-isobutilfenil) propanoato de (<i>E</i>)- <i>N,N</i> -dimetil-1-(5-(((2-((1-(metilamino)-2-nitrovinil) amino) etil) tio) metil)-2-furanil) metilamínio.....	73
3.2.1.2 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 1-butyl-2-((2,6-dimetilfenil) carbamoil) -1-piperidínio.....	73
3.2.1.3 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 2-((2,6-dimetilfenil)amino)- <i>N,N</i> -dietil-2-oxoetanamínio.....	74
3.2.1.4 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 2-((2,6-dimetilfenil)amino)- <i>N,N</i> -dietil-2-oxoetanamínio.....	74
3.2.2 Síntese das sílicas MCM-41 e SBA-15	74
3.2.2.1 MCM-41	75
3.2.2.2 SBA-15	75
3.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA SUPORTE DOS LI-IFAS NAS SÍLICAS.....	75
3.3.1 Preparação da sílica.....	75
3.3.2 Adsorção pela solução	75
3.3.3 Caracterização	76
3.3.4 Solubilidade e Cinética de liberação	76
3.3.4.1 Método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência	76
3.3.4.1.1 Determinação da Linearidade	76
3.3.4.2 Solubilidade	77
3.3.4.3 Perfil de liberação	77
3.4 EQUIPAMENTOS.....	78
3.4.1 Reator fotoquímico	78
3.4.2 Ensaios por Espectrofotometria de Fluorescência	78
3.4.3 Análise Termogravimétrica.....	79
3.4.4 Difração de Raios X em pó	79
3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	79
3.4.6 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	80
3.4.7 Adsorção/dessorção de N ₂	80
3.4.8 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	80
3.4.9 Ressonância Plasmônica de Superfície	81
3.5 ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	81
3.5.1 Animais	81
3.5.2 Tratamento com os LI-IFAs e sais precursores.....	82
3.5.3 Nocicepção espontânea induzida por capsaicina	82
3.5.4 Alodínia Mecânica	83
3.5.5 Avaliação da atividade locomotora.....	84

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
4.1	ESTABILIDADE TÉRMICA E DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE LÍQUIDOS IÔNICOS FARMACOLOGICAMENTE ATIVOS.....	88
4.1.1	Degradação térmica	88
4.1.1.1	Efeito da velocidade de aquecimento no comportamento térmico dos LI-IFAs	88
4.1.2	Parâmetros termocinéticos.....	90
4.1.2.1	Método de Friedman.....	90
4.1.3.2	Método de Ozawa- Flynn-Wall.....	92
4.1.3	Parâmetros termodinâmicos	96
4.1.4	Fotoestabilidade dos LI-IFAs.....	101
4.2	CONCLUSÃO DO CAPÍTULO I.....	108
4.3	LÍQUIDOS IÔNICOS FARMACOLOGICAMENTE ATIVOS SUPORTADOS EM SÍLICA MESOPOROSA.....	111
4.3.1	Síntese e caracterização dos LI-IFAs suportados em sílica	111
4.3.1.1	Síntese dos LI-IFAs suportados.....	111
4.3.1.2	Caracterização da cristalinidade dos LI-IFAs suportados por Difração de raios X em pó	112
4.3.1.3	Caracterização da Morfologia dos LIFAs suportados	114
4.3.1.3.1	Microscopia eletrônica de Varredura (MEV).....	114
4.3.1.3.2	Microscopia eletrônica de transmissão	117
4.3.1.4	Estabilidade térmica dos LI-IFAs suportados	118
4.3.1.5	Adsorção/dessorção de N ₂	121
4.3.1.6	Espectroscopia de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR) ..	123
4.3.2	Solubilidade e cinética de liberação dos LI-IFAs.....	126
4.3.2.1	Determinação da solubilidade dos LI-IFAs	126
4.3.2.2	Cinética de liberação in vitro.....	127
4.3.3	Atividade anti-inflamatória	132
4.3.4	[DIF][IBU] suportado em sílicas mesoporosas organizadas MCM-41 e SBA-15	136
4.4	CONCLUSÃO DO CAPÍTULO II	143
5	CONCLUSÃO.....	145
6	SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO	146
7	REFERÊNCIAS.....	147
	APÊNDICE II - Florescência.....	164
	APÊNDICE III - Difração de raios X em pó.....	166
	APÊNDICE IV - Microscopia Eletrônica de Transmissão	168
	APÊNDICE V - TGA	170
	APÊNDICE VI - Adsorção/Dessorção N ₂	172

APÊNDICE VII - SPR	173
APÊNDICE VIII - Solubilidade e Cinética de Liberação	174
APÊNDICE IX - Atividade anti-inflamatória	181

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

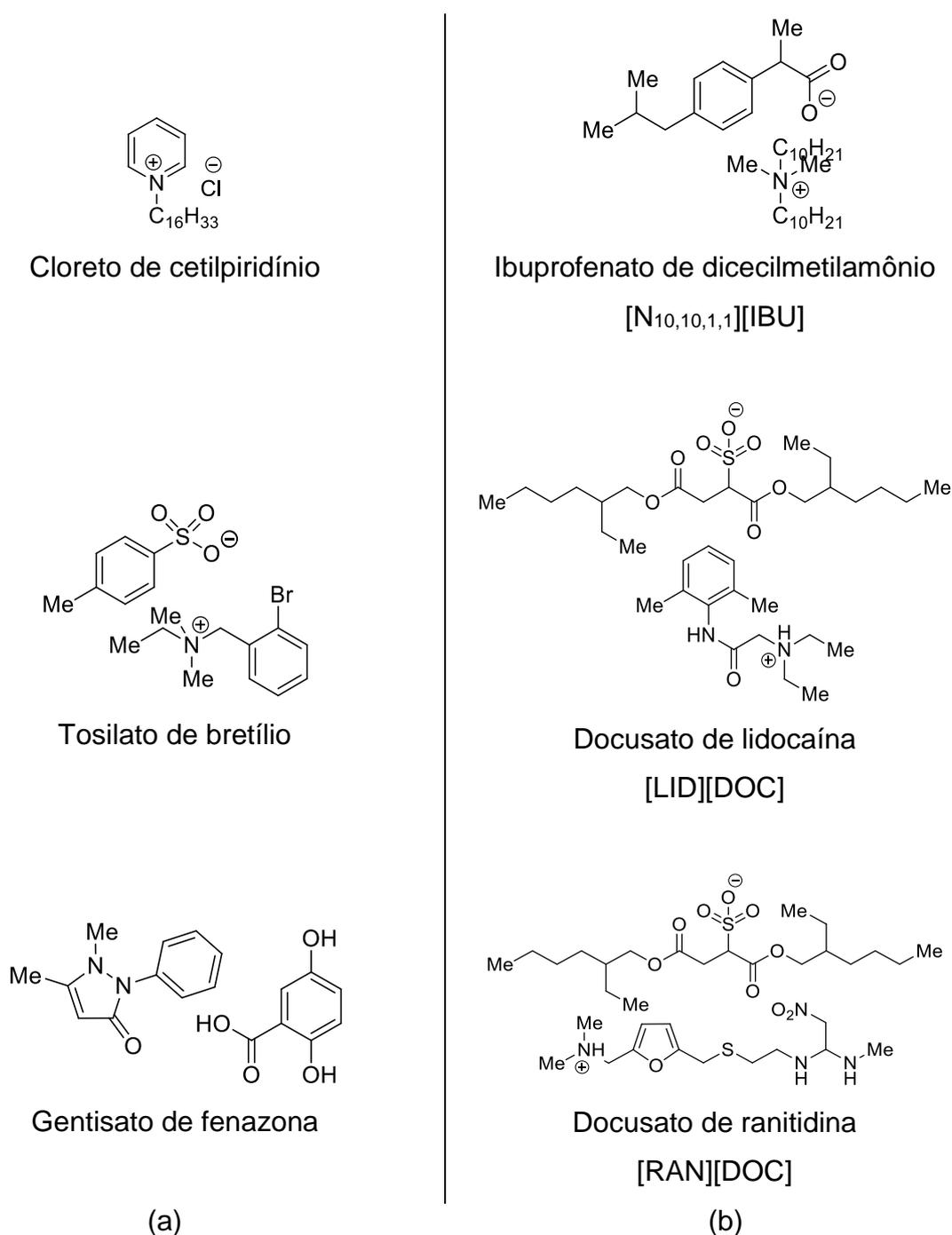
Líquidos iônicos (LIs) são sais orgânicos que fundem a temperaturas abaixo de 100 °C (MARTINS et al., 2014). Estes sais pertencem a uma classe de compostos que podem ser facilmente modificadas (alterando cátions e ânions) para obter as propriedades esperadas (JONES et al., 2006; SMIGLAK; METLEN; ROGERS, 2007; KATRITZKY et al., 2005; HOUGH et al., 2007). Esta relação estrutura-propriedade possibilita aos LIs atuarem como plataforma tecnológicas como a química farmacêutica, medicinal e química de materiais – áreas nas quais há necessidade de encontrar novos produtos químicos com propriedades específicas.

Quando os LIs baseados em 1-alkil-3-metilimidazol foram reportados por Wilkes e col. (1982), eles foram chamados de primeira geração devido às propriedades físicas como baixa ou nenhuma volatilidade e alta estabilidade térmica. A segunda geração de LIs direcionou-se à possibilidade de unir propriedades físicas e químicas, que podem ser aplicados como materiais energéticos, lubrificantes e na complexação de íons metálicos (JOHN S. WILKES AND MICHAEL J. ZAWOROTKO, 1992). Finalmente, a terceira geração de LIs formada pela combinação de cátions e/ou ânions de ingredientes farmacologicamente ativos (IFAs) surgiu visando a produção de LIs com atividade farmacológica. Além disso, essa geração de LIs tem mostrado excelente desempenho na melhoria das propriedades de IFAs tais como solubilidade, estabilidade, biodisponibilidade e transporte por membrana (BALK; HOLZGRABE; MEINEL, 2015; BALK et al., 2015; BICA; ROGERS, 2010; MIWA; HAMAMOTO; ISHIDA, 2016). A conversão de um fármaco em um LI-IFAs é uma abordagem inovadora que elimina muitos problemas, por exemplo, conversão polimórfica ou tendência a cristalizar espontaneamente no caso de fármacos amorfos, enquanto retém a atividade farmacológica e pode ainda neutralizar efeitos colaterais ou indesejados (STOIMENOVSKI et al., 2010; BICA et al., 2012).

Alguns exemplos de fármacos orgânicos que podem ser definidos como LIs são conhecidos a muito tempo na literatura, por exemplo cloreto de cetilpiridínio como anti-séptico (ponto de fusão 77 °C), tosilato de bretílio como antifibrilatório e antiarrítmico (ponto de fusão 86 °C) e gentisato de fenazona como analgésico, anti-inflamatório e antipirético (ponto de fusão 88 °C) (Figura 1-a) (MARRUCHO; BRANCO; REBELO, 2014). Contudo, a ligação entre sal farmacêutico como líquido iônico a partir de ingredientes farmacologicamente ativos (LI-IFAs) apareceu apenas em 2007 quando

Rogers e col. descreveram a síntese do ibuprofenato de didecilmetilamônio, docusato de lidocaína, e docusato de ranitidina (Figura 1-b) (HOUGH; ROGERS, 2007).

Figura 1 - (a) Estrutura dos fármacos orgânicos que podem ser definidos como LIs. (b) Estrutura dos líquidos iônicos a partir de ingredientes farmacologicamente ativos sintetizados por Rogers e col. em 2007.



Embora se espere que nos próximos anos o número de novos LI-IFAs aumente devido ao interesse no tema, bem como nas suas possíveis vantagens, atualmente, nenhuma formulação de LI-IFAs está sendo produzida industrialmente, devido à falta de conhecimento sobre seus efeitos em termos de propriedades biológicas e farmacêuticas que devem ainda ser mais avaliada (MARRUCHO; BRANCO; REBELO, 2014).

Um dos fatores mais importantes no uso destes LI-IFAs como fármacos está relacionado ao intervalo de temperatura em que estes são estáveis e mantém sua ação farmacêutica. O conhecimento da estabilidade destes LI-IFAs é crucial para o armazenamento, transformações tecnológicas e para desenvolvimento de formulações (MARIAN et al., 2013). Além disso, do ponto de vista ambiental, a decomposição (no ambiente ou sob condições controladas) desses compostos é uma preocupação constante, pois os medicamentos descartados no meio ambiente podem ser detectados posteriormente na água (CHRISTOPHORIDIS et al., 2016; BOROVA et al., 2014; THOMAIDI et al., 2015; VIENO et al., 2007; ZIYLAN; INCE, 2011). Entre os efeitos adversos causados por poluentes farmacêuticos estão a toxicidade aquática, o desenvolvimento resistente em bactérias patogênicas e genotoxicidade (YUAN et al., 2009).

As propriedades líquidas dos LI-IFAs representam uma solução para superar desvantagens como solubilidade limitada, baixa biodisponibilidade, polimorfismo, e transporte limitado através de membranas, mas ao mesmo tempo pode apresentar desafios relacionados à sua preparação, manuseio e necessidade de dispositivos especiais para liberação (BICA et al., 2012). A fim de contornar as possíveis desvantagens das propriedades líquidas destes LI-IFAs, uma estratégia conhecida como fase líquida iônica suportada (*SILP* – do inglês - *supported ionic liquids phase*) pode ser aplicada com sucesso, pois fornece uma maneira fácil de manipular e dosar estes LI-IFAs líquidos com vantagens adicionais, tais como melhoria na estabilidade térmica e liberação completa do suporte sólido (BICA et al., 2012).

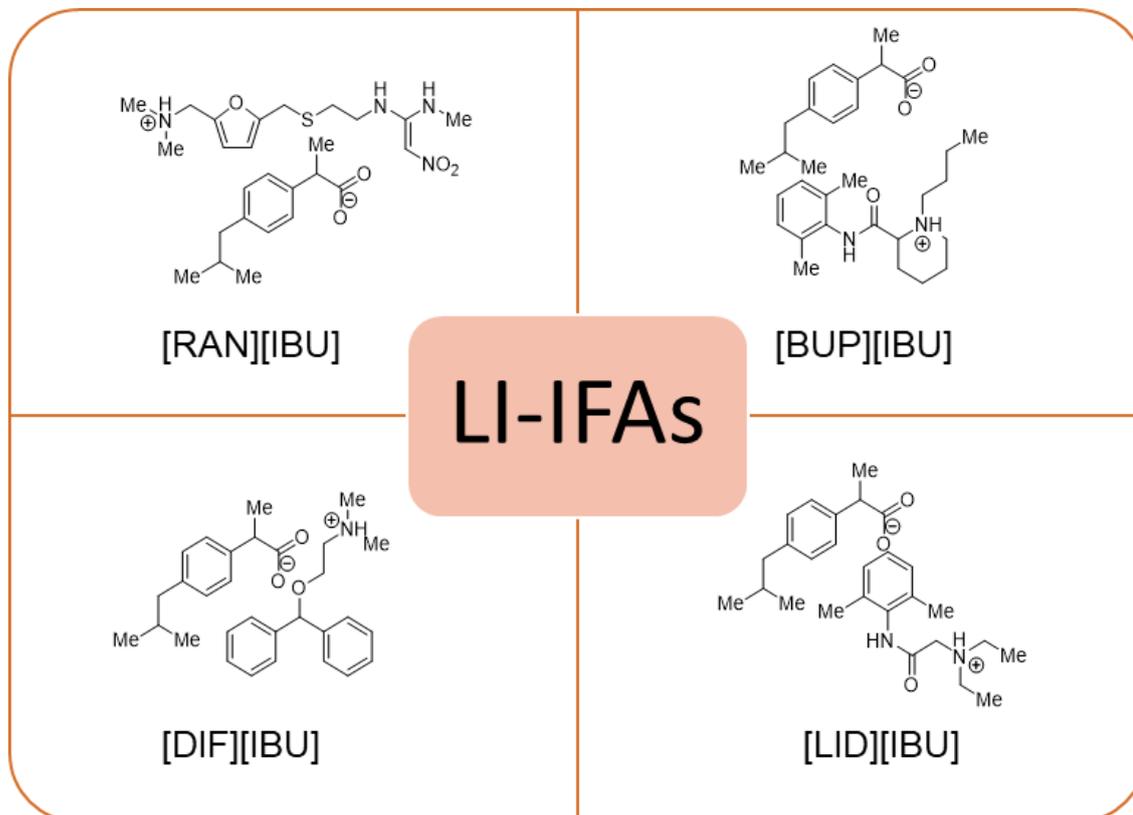
A aplicação de materiais mesoporosos como material de suporte já vem sendo investigada como uma via de administração de medicamentos (CAVALLARO et al., 2004; DOADRIO et al., 2006; IZQUIERDO-BARBA et al., 2005; SONG; HIDAJAT; KAWI, 2005; DOADRIO et al., 2004), o que abriu novas possibilidades para enfrentar as deficiências dos sistemas de dosagem convencionais atuais. Formulações para liberação controlada de fármacos apresentam muitas vantagens que superam as

formas convencionais, tais como redução da frequência de doses, efeito terapêutico prolongado, e redução da toxicidade (QING YANG et al., 2005). Estas vantagens, tornam as tecnologias de liberação promissoras, com um crescimento anual de aproximadamente 10%, e um mercado que consome anualmente milhões de dólares (SAHOO; LABHASETWAR, 2003). Materiais inorgânicos porosos, tais como, zeólitas, xerogel, e sílica porosa surgiram com uma nova categoria de materiais para uso em sistemas de liberação (KORTESUO et al., 2000; AHOLA et al., 2000; AMBROGI et al., 2001; UGLEA et al., 1995), devido algumas características interessantes, como estabilidade biológica, biocompatibilidade, propriedades de adsorção e liberação de fármacos (UNGER et al., 1983).

É importante ressaltar também que escolha do ibuprofeno como formador dos LI-IFAs se deve ao fato deste fármaco ser utilizado como um anti-inflamatório, analgésico e antipirético, sendo um dos fármacos mais vendidos no mundo segundo a Organização Mundial da Saúde (GEISLINGER et al., 1993). Embora este fármaco apresente uma elevada permeabilidade na parede gástrica, não consegue entrar na circulação sistêmica, devido à sua reduzida solubilidade em água a 25°C (0,020 – 0,080 mg mL⁻¹). Além disso, pode apresentar efeitos secundários como complicações gastrointestinais (DOMAÑSKA et al., 2009; MANRIQUE; MARTÍNEZ, 2007; PATEL et al., 2011). Muitos trabalhos são relatados na literatura, visando a transformação deste fármaco em LI-IFAs, e até mesmo no desenvolvimento de sistemas de controle de entrega utilizando o fármaco na sua forma pura.

Desta forma, considerando o interesse no desenvolvimento de novos materiais com propriedades físicas, químicas e farmacológicas vantajosas; o objetivo geral desta Tese foi determinar a estabilidade térmica e oxidativa de uma série de líquidos iônicos farmacologicamente ativos derivados do ibuprofeno (Figura 2), bem como, estabelecer e caracterizar a interação destes LI-IFAs com sílica mesoporosa para o desenvolvimento de um material que combine as vantagens do estado sólido da sílica com as vantagens das propriedades líquidas de um LI-IFAs para o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada.

Figura 2 - Estruturas dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno avaliados nesta Tese.



Os objetivos específicos podem ser resumidos em:

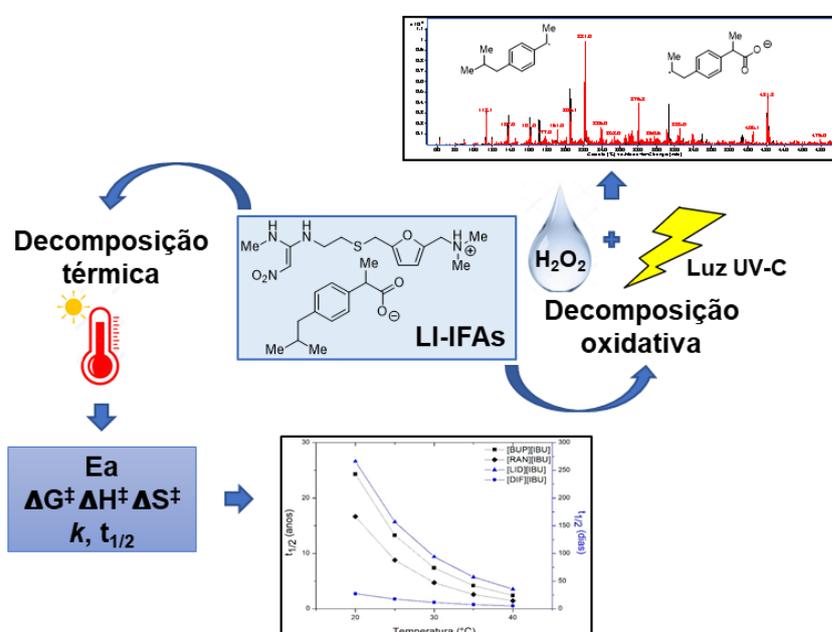
Objetivo 1: Determinar a estabilidade térmica e oxidativa de uma série de líquidos iônicos farmacologicamente ativos derivados do ibuprofenato (Figura 3).

Considerando o potencial dos LI-IFAs como fármacos, é necessário investigar sua decomposição para fornecer informações sobre sua estabilidade e pureza (BASU; ALEXANDER; RIGA, 2006) que determinam o manuseio/processo de formulação e conferem uma estimativa da validade, que por sua vez afeta diretamente a eficiência terapêutica e a toxicidade (LIRA et al., 2007). Assim, este objetivo tem por finalidade observar e investigar a decomposição térmica e oxidativa dos LI-IFAs, e determinar os parâmetros termodinâmicos e cinéticos desta reação, tais como: a energia de ativação (E_a), o fator de Arrhenius (A), constante de velocidade (k), energia de Gibbs (ΔG^\ddagger), entalpia (ΔH^\ddagger), entropia (ΔS^\ddagger); tempo de meia vida ($t_{1/2}$) térmico e fotoquímico.

Hipótese1. A decomposição térmica, fotolítica e fotocatalítica do ibuprofeno tem sido amplamente investigada sob diferentes condições experimentais, nestes casos os parâmetros cinéticos têm sido determinados e os mecanismos de decomposição

propostos (KIM; YAMASHITA; TANAKA, 2009; KIM; TANAKA, 2009; YUAN et al., 2009; PEREIRA; LINDEN; WEINBERG, 2007; DA SILVA et al., 2014; MÉNDEZ-ARRIAGA; ESPLUGAS; GIMÉNEZ, 2008; SZABÓ et al., 2011). No entanto, quando um LI-IFAs é formado, um composto com propriedades desconhecidas também é formado. Assim, as diferentes estruturas dos cátions que interagem com o ânion ibuprofenato afetam a cinética e o mecanismo de decomposição térmica, fotolítica e fotocatalítica. Até onde sabemos, nenhum desses parâmetros foi determinado para os LI-IFAs.

Figura 3 - Esquema geral correspondente ao Objetivo 1.



Objetivo 2: Estabelecer e caracterizar a interação dos LI-IFAs com sílica mesoporosa para o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada a partir de um material de fácil manuseio e preparo (Figura 4).

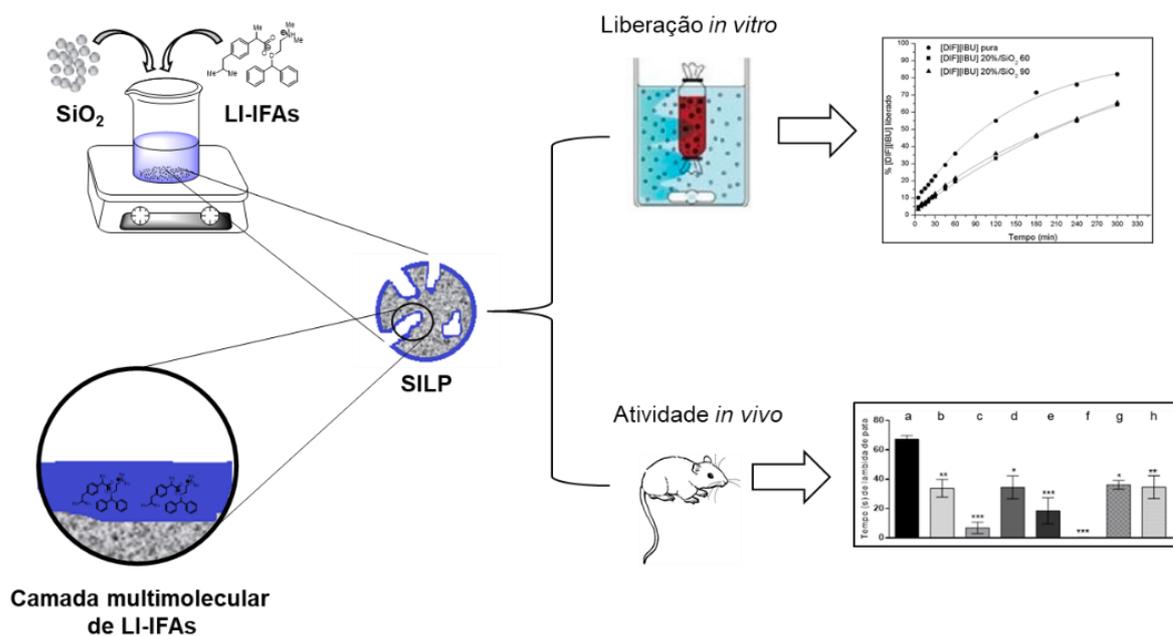
A forma líquida dos LI-IFAs pode apresentar desvantagens relacionados a à sua preparação, manuseio e a necessidade de um mecanismo de entrega. Desta forma, uma estratégia tem sido desenvolvida, conhecida como fase líquida iônica suportada (*SILP* - do inglês - *supported ionic liquid phase*) (MEHNERT et al., 2002; BICA et al., 2012). Esta estratégia não só pode ser aplicada aos LI-IFAs como também fornece uma maneira fácil de manipular e dosar estes LI-IFAs. Entre os sistemas de administração, os materiais porosos inorgânicos são de grande interesse (HEIKKILÄ

et al., 2007). Destes compostos ordenados mesoporosos, a sílica parece ser um bom candidato como sistema de liberação de fármacos, devido às suas propriedades, tais como tamanho de poros sintonizáveis com boa distribuição, boa biocompatibilidade e alta área superficial (WANG, 2009). A necessidade de melhorar a eficácia na administração de medicamentos levou a um rápido crescimento da tecnologia voltada as formas de entrega destes.

Hipótese 2: Alguns LI-IFAs derivados de ibuprofeno e aciclovir apresentaram bom desempenho como materiais suportados em sílica mesoporosa (ANDREEA COJOCARU et al., 2014). Os LI-IFAs formados a partir do ibuprofeno podem desenvolver estas propriedades, e a estrutura dos cátions afetar os parâmetros de interação com a sílica mesoporosa podendo modificar o perfil de liberação controlada.

Para que este objetivo se concretize, os LI-IFAs serão suportados na sílica mesoporosa com poros de 60 Å (SiO₂-60) e 90 Å (SiO₂-90), e nas sílicas MCM-41 e SBA-15 com poros organizados. As alterações na estabilidade térmica, a cristalinidade, e morfologia serão avaliadas. Posteriormente, a adsorção dos LI-IFAs na sílica será avaliada pela técnica de adsorção/dessorção de N₂ e a afinidade entre os LI-IFAs com a superfície da sílica será avaliada pela técnica de ressonância plasmônica de superfície (SPR). Finalmente, serão realizados os experimentos de liberação *in vitro* dos LI-IFAs suportados na sílica em solução tampão (PBS – do inglês – *phosphate buffer saline*) e fluido gástrico simulado (FGS). Testes de atividade anti-inflamatória devem ser realizados para avaliar se mudanças estruturais promovidas pela formação dos LI-IFAs a partir do ibuprofeno alteram sua atividade farmacológica.

Figura 4 - Esquema geral correspondente ao Objetivo 2.



2 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta parte da Tese serão apresentadas referências relacionadas com os estudos realizados neste trabalho.

Inicialmente serão apresentados os modelos matemáticos utilizados na obtenção da cinética de decomposição térmica usando técnica termogravimétrica e fotoquímica dos LI-IFAs. Além disso, serão apresentadas publicações sobre estas propriedades em sistemas relacionados aos LI-IFAs.

A seguir serão apresentadas as principais características e propriedades relacionadas a sílica como material de controle de liberação, bem como as formas de obtenção dos materiais suportados e as técnicas experimentais mais importantes na sua caracterização. Seguido da discussão de publicações que investigam a utilização da sílica como material de suporte e controle de liberação de LI-IFAs.

2.1 CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO

2.1.1 Cinética de decomposição térmica

Vários estudos da literatura são voltados para a decomposição térmica de LIs, entretanto, até o momento nenhum estudo térmico mais aprofundado foi realizado para os LI-IFAs. Considerando o potencial dos LI-IFAs como fármacos, é necessário investigar sua decomposição para fornecer informações sobre sua estabilidade (BASU; ALEXANDER; RIGA, 2006).

As análises térmicas são um conjunto de métodos rotineiros na caracterização de fármacos, e são úteis na fase de pré-formulação. A estabilidade térmica de um fármaco é um dado muito importante, pois está relacionado ao intervalo de temperatura em que o medicamento é estável em relação à sua estrutura, bem como a sua ação farmacêutica (MARIAN et al., 2013), por isto, muitos métodos de degradação forçada em elevadas temperaturas são estudados (TITA et al., 2009).

Dentre as técnicas analíticas de análises térmicas, encontra-se a termogravimetria (TG). Esta técnica quantitativa é capaz de produzir resultados rápidos e reprodutíveis, e pode ser utilizada no controle de qualidade de medicamentos, tendo em vista a melhoria do produto final (FELIX et al., 2009; MACÊDO et al., 1999).

O comportamento térmico das substâncias também pode ser caracterizado pela análise cinética, cujo principal objetivo é determinar o(s) mecanismo(s) de reação e calcular os parâmetros de Arrhenius. Existem duas maneiras de fazer isso, usando a análise isotérmica ou não-isotérmica, sendo que cada uma das técnicas apresenta vantagens e desvantagens (TITA et al., 2008; TITA et al., 2009).

O registro da variação de massa em função do tempo e da temperatura durante análise termogravimétrica possibilita a determinação da taxa temporal de perda de massa sofrida por um material. Esta variação é denominada de fração de conversão de massa, α , (GEORGIEVA; ZVEZDOVA; VLAEV, 2012) conforme Equação 1.

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_f} \quad (1)$$

Na qual, m_0 é a massa inicial, m_f é a massa final e m_t é a massa em um instante t da reação de decomposição. Em condições isotérmicas ou não-isotérmicas, a taxa temporal do processo de conversão de massa ($d\alpha/dt$) é assumida como uma função linear da variação de massa em função do tempo, e independente da temperatura. Matematicamente ela pode ser expressa pela Equação 2.

$$\frac{d\alpha}{dt} = k f(\alpha) \quad (2)$$

Na qual, k é uma constante de proporcionalidade dada pela equação de Arrhenius, escrita sob a forma da Equação 3, e $f(\alpha)$ é a função de conversão de massa em função do tempo. Este parâmetro depende da ordem considerada para as reações de decomposição. Considerando uma cinética de primeira ordem, $f(\alpha)$ será igual a $(1 - \alpha)$ (VYAZOVKIN; WIGHT, 1997).

$$k = A e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (3)$$

De acordo com a Equação de Arrhenius (Eq. 3), o termo A representa o fator pré-exponencial, que indica o número de colisões totais entre as moléculas, e E_a é a energia de ativação necessária para romper um mol de ligações entre os átomos da molécula. Os parâmetros T e R são, respectivamente, a temperatura absoluta e a

constante dos gases ideais (8,31451 J. mol⁻¹. K⁻¹). Assim a equação de taxa pode ser reescrita sob a forma da Equação 4 (VYAZOVKIN; WIGHT, 1997).

$$\left[\frac{d\alpha}{dt}\right] = f(\alpha) A e^{\frac{-E\alpha}{RT}} \quad (4)$$

Para condições não isotérmicas, em que há uma taxa de aquecimento ($\beta = dT/dt$), a Equação 4, pode ser reescrita na forma da Equação 5 (VYAZOVKIN; WIGHT, 1997).

$$\left[\frac{d\alpha}{dT}\right] \beta = A \left(e^{\frac{-E\alpha}{RT}}\right) f(\alpha) \quad (5)$$

A partir da equação de taxa básica (Eq. 5), foram desenvolvidos os diversos métodos para o estudo do perfil cinético de degradação térmica de materiais. Dos métodos isoconversionais empregados no estudo de degradação térmica, os métodos de Friedman (FRIEDMAN, 2007), e Ozawa-Flynn-Wall (OZAWA, 1965) vêm sendo bastante utilizados para descrever a decomposição térmica de materiais.

O método de Friedman é baseado na suposição de que o modelo da reação é independente do programa de aquecimento e depende apenas da velocidade de perda de massa. De acordo com esse método de análise cinética, para uma série de experimentos realizados em diferentes taxas de aquecimento é possível determinar os valores de E_a e A , para cada fração de conversão de massa. Um gráfico de $\ln(\beta d\alpha/dt)$ em função de $1/T$, para condições não isotérmicas produz uma reta cuja inclinação é igual a $-E_a/R$, conforme descrito pela Equação 6.

$$\ln \left[\frac{d\alpha}{dT}\right] \beta = \ln[Af(\alpha)] - \frac{E}{RT} \quad (6)$$

O método de O-F-W permite a determinação da energia de ativação a partir dos dados termogravimétricos não isotérmicos em diferentes taxas de aquecimento, sem um conhecimento prévio da fração de conversão de massa. Pelo gráfico de $\log(\beta)$ versus $1/T$, para cada valor de fração de conversão de massa, é possível determinar a energia de ativação pela inclinação da curva, $-0,4567E_a/R$. A base de cálculo para o método de O-F-W é descrita pela Equação 7.

$$\log \beta = \log \left[\frac{AE}{Rg(\alpha)} \right] - 2,315 - 0,4567 \frac{E}{RT} \quad (7)$$

Estes dois métodos já foram utilizados por Tita e colaboradores (2010) para avaliar a estabilidade térmica do ibuprofeno na sua forma neutra. Os autores observaram pelo método de Friedman uma E_a média de 81 kJ mol⁻¹ e pelo método de O-F-W E_a média de 96 kJ mol⁻¹, mostrando que ambos métodos podem ser utilizados para prever a estabilidade térmica do fármaco.

Os parâmetros cinéticos (E_a , A e k) podem ser utilizados para avaliar os parâmetros de ativação em cada fração de conversão de massa. A análise da mecânica estatística pode ser dada em termos dos parâmetros termodinâmicos de ativação: entalpia (ΔH^\ddagger), entropia (ΔS^\ddagger) e energia de Gibbs (ΔG^\ddagger). Quando associados à cinética química e às taxas de velocidade de reação, esses parâmetros são chamados de parâmetros de ativação e podem ser calculados utilizando as Equações 8-10 (SOVIZI, 2010).

$$A \left(\exp^{-\frac{E_a}{RT}} \right) = v \left(\exp^{-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}} \right) \quad (8)$$

$$\Delta H^\ddagger = E_a - RT \quad (9)$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (10)$$

Na Eq. 8, $v = k_B T/h$ (em que k_B é a constante de Boltzman e h é a constante de Planck, T é a temperatura em Kelvin (K) e R é a constante dos gases em kJ mol⁻¹).

O valor da energia de Gibbs total reflete o aumento de energia no complexo ativado que dará origem aos produtos de decomposição. A energia de Gibbs é influenciada por dois outros parâmetros termodinâmicos, entalpia e entropia de ativação. O valor da entalpia de ativação mostra as diferenças de energia entre o complexo ativado e a estrutura inicial do composto. Pequenos valores de entalpia indicam que a formação do complexo ativado é favorável, devido a barreira de energia. Já a entropia de ativação, indica a situação do sistema em seu equilíbrio termodinâmico. Baixos valores de entropia de ativação revelam que o reagente tem uma baixa reatividade e o tempo necessário para formar o complexo ativado é longo.

No entanto valores altos de entropia de ativação confirmam que a reatividade do reagente é alta.

Assumindo que as reações de decomposição são de primeira ordem, a constante de velocidade para a decomposição pode ser calculada através da Equação 11, em que a temperatura é 25 °C (SHAMSIPUR et al., 2013).

$$\ln k = \ln A - E_a/RT \quad (11)$$

Utilizando a energia de ativação (E_a) e o fator pré exponencial (A) é possível obter o valor de k , que através da Equação 12., fornece o tempo de meia vida.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (12)$$

2.1.2 Cinética de decomposição fotolítica

Processos fotoquímicos e processos oxidativos avançados são um conjunto de técnicas baseadas na energia da radiação UV/visível e na geração de radicais hidroxilas. Um grande número de fármacos é sensível a luz, o que contribui para que estes sejam degradados durante a manufatura, estocagem e transporte. Levando a perda de potência, alteração na eficácia e efeitos biológicos adversos (AHMAD et al., 2016). O termo fotodegradação é definido pela IUPAC (VERHOEVEN, 1998), como a transformação química de uma molécula a frações de menor peso molecular, geralmente através de um processo de oxidação; ao conceito de fotodegradação são associados os processos de oxidação por radiação ultravioleta (UV). A fotodegradação direta é um processo no qual um composto atinge uma instabilidade no estado eletrônico excitada depois de absorver um fóton com energia suficiente. Este fenômeno, leva em parte, à degradação do composto e a formação de subprodutos, e a eficiência desta reação depende do comprimento de onda da luz absorvida (JOSCHEK; MILLER, 1966).

A fotodegradação indireta (fotocatalítica) ocorre quando a luz é absorvida por outro composto capaz de produzir radicais reativos ou transferir a energia para a molécula alvo, gerando assim sua degradação. Entre estes métodos podemos citar as técnicas baseadas na ativação o ozônio (ESPLUGAS et al., 2002; LEGRINI;

OLIVEROS; BRAUN, 1993; GAROMA; GUROL, 2005) e/ou peróxido de hidrogênio (BING; CHUN; KHANG, 2006); BELTRÁN; OVEJERO; RIVAS, 1996; GARCÍA EINSCHLAG et al., 2002).

A avaliação da estabilidade fotoquímica de fármacos é um componente essencial no desenvolvimento de formulações e nos processos na indústria farmacêutica. Além disso, muitos estudos voltados para remoção de fármacos do ambiente têm sido realizados utilizando a degradação fotocatalítica. Estudos recentes mostraram que quantidades numerosas de fármacos têm sido acumuladas no meio-ambiente. Estes compostos acabam sendo descarregados nas estações de água e detectados em vários níveis de concentração (ng até µg por litro).

As fotodegradações e degradações fotocatalíticas dos precursores dos LI-IFAs deste trabalho já foram amplamente investigadas sob diversas condições, os parâmetros cinéticos foram determinados, e os mecanismo de decomposição propostos (KIM; YAMASHITA; TANAKA, 2009; KIM; TANAKA, 2009b; DA SILVA et al., 2014; MÉNDEZ-ARRIAGA; ESPLUGAS; GIMÉNEZ, 2008; PEREIRA; LINDEN; WEINBERG, 2007; SZABÓ et al., 2011; CHRISTOPHORIDIS et al., 2016; RADJENOVIĆ et al., 2010; RAYAROTH; ARAVIND; ARAVINDAKUMAR, 2017).

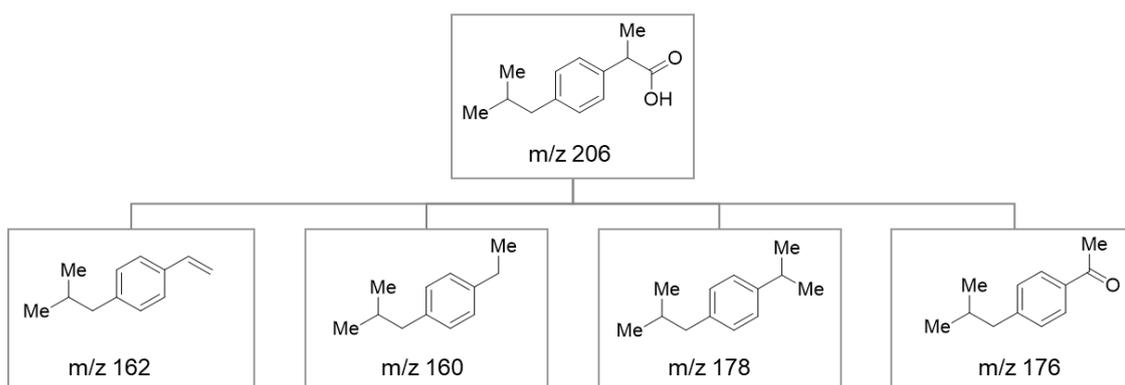
Szabó e colaboradores (2011), determinaram a fotodegradação do ibuprofeno em solução aquosa utilizando radiação ultravioleta, UV (254 nm), radiação UV combinada com radiação ultravioleta de vácuo, VUV (254/185 nm) e borbulhamento de oxigênio ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) na solução. Os autores observaram que utilizando radiação UV 254 nm na presença de oxigênio dissolvido, o ibuprofeno decompõem-se totalmente dentro de 1 h, sendo que nos primeiros 300 s de exposição, já foi observada diminuição da quantidade de ibuprofeno, sugerindo que as espécies formadas diretamente a partir do ibuprofeno contribuem para a reação de degradação nesse período. Além disso, os autores observaram que a presença de radicais de oxigênio aceleram a degradação. A cinética de degradação observada para estas condições foi $k_{UV/O_2} = 1,36 \times 10^{-3}$ s⁻¹.

Quando utilizaram a radiação UV/VUV foi observada uma taxa de degradação 7 vezes maior em relação a condição que utilizada somente UV ($k_{UV/O_2} = 8,55 \times 10^{-3}$ s⁻¹). Esta aceleração na velocidade foi atribuído à presença de radicais OH gerados a partir das moléculas de água pela irradiação VUV. Além disso, a fissão da ligação H-OH da água forma os radicais hidrogênicos que ao reagirem com o oxigênio dissolvido, produzem peróxido de hidrogênio e outros radicais centrados no oxigênio

(BUXTON et al., 1988; KIM; TANAKA, 2009a).

Os produtos obtidos pela fotodegradação do ibuprofeno foram identificados por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas e estão apresentados na Figura 5.

Figura 5 - Produtos obtidos pela fotodecomposição do ibuprofeno, obtidas por Szabó e col.(2011).

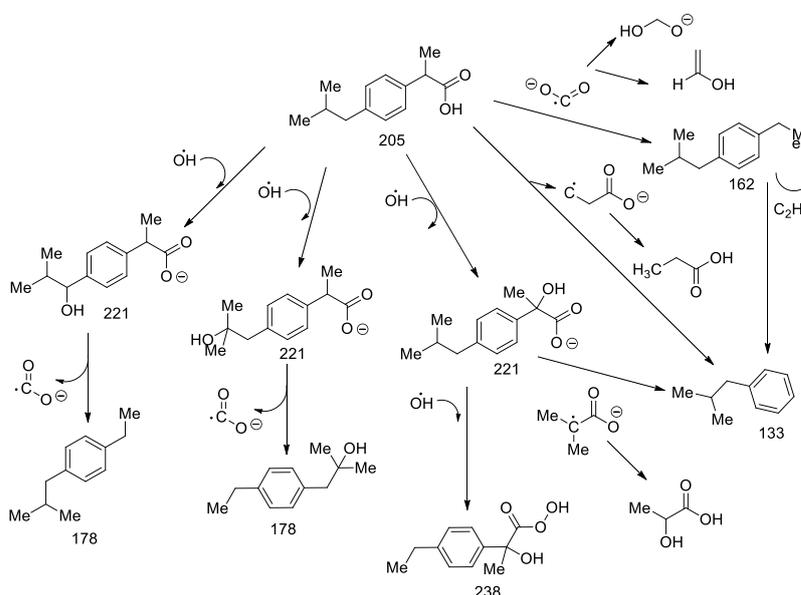


Em outro trabalho Yuan e col. (2009) investigaram a degradação do ibuprofeno e da difenidramina em solução aquosa utilizando radiação UV (254 nm) e radiação UV combinada com peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 0,29 mM). No experimento de fotodegradação na ausência de H_2O_2 , foi verificada uma cinética de pseudo-primeira ordem tanto para o ibuprofeno quanto para a difenidramina, e as cinéticas de degradação obtidas foram $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ e $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, respectivamente. Além disso, no experimento realizado na presença de H_2O_2 foi observada uma velocidade de degradação consideravelmente maior do que a obtida por fotodegradação direta (ausência de H_2O_2). A cinética de degradação foi de segunda-ordem, para o ibuprofeno $k = 6,67 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e para difenidramina $k = 5,42 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Este aumento na velocidade, sugerem que o mecanismo de degradação é fortemente influenciado pela presença de radicais OH.

Outras metodologias de oxidação forçada também podem ser utilizada para investigação da degradação fotocatalítica do ibuprofeno. Méndez e col.(2008) utilizaram um sistema que simulava irradiação solar combinada com oxidante dióxido de titânio (TiO_2). Para isto, os autores utilizaram lâmpada Xe-OP (290-400 nm), solução aquosa de ibuprofeno (25, 50, 100 e 250 ppm) contendo TiO_2 1 g L^{-1} e oxigênio

dissolvido, 40 mg L⁻¹. Neste caso, foi observado que em concentrações menores de ibuprofeno, é possível obter o máximo de degradação em aproximadamente 60 minutos, com mineralização de quase 50%. Embora, os autores tenham observado menores taxas de mineralização nas soluções contendo altas concentrações de ibuprofeno, o índice de degradação foi maior em comparação às soluções sem o tratamento com TiO₂ e oxigênio dissolvido. Um mecanismo de degradação foi proposto pelos autores e está demonstrado na Figura 6.

Figura 6 - Intermediários observados ao final da degradação fotocatalítica do ibuprofeno. Ibuprofeno 200 ppm, TiO₂ 1 g L⁻¹, O₂ 40 mg L⁻¹ e 4 horas de irradiação.



No entanto, quando os LI-IFAs são formados, um novo composto com distintas propriedades é formado. Assim, os LI-IFAs baseados no ibuprofeno, ranitidina, bupivacaína, lidocaína e difenidramina podem desenvolver propriedades não descritas. Por isto, há a necessidade da investigação da degradação fotoquímica destes compostos.

Na investigação das decomposições fotoquímicas e fotocatalíticas foram monitoradas as intensidades de fluorescência dos LI-IFAs e as cinéticas obtidas pela Equação 13. Na qual I é a intensidade do sinal de fluorescência remanescente no tempo, t , I_0 é a intensidade inicial e k é a constante cinética da fotodecomposição dos LI-IFAs com e sem H₂O₂. A partir da inclinação da reta, foi possível obter os valores de k , e calcular os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) para cada um dos LI-IFAs.

$$\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = -kt \quad (13)$$

A Equação 14 foi utilizada para obter a constante cinética considerando somente a influência de H₂O₂ na degradação.

$$k_{HO\cdot} = k_{HO\cdot+h\nu} - k_{hv} \quad (14)$$

2.2 SÍLICA COMO MATERIAL DE CONTROLE DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Materiais porosos têm recebido muita atenção nos últimos anos devido a sua variedade de aplicações, como por exemplo, em tecnologias de separação molecular, adsorção, catálise, sensores e dispositivos (SCOTT; WIRNSBERGER; STUCKY, 2001; TAGUCHI; SCHUTH, 2005). De acordo com a IUPAC, estes materiais são classificados quanto ao diâmetro (d) de seus poros como, micro- ($d < 2$ nm; zeólitas), meso- (2 nm $< d < 50$ nm; sílicas mesoporosas) e macroporosos ($d > 50$ nm; cerâmicas) (Figura 7) (SING et al., 1985).

Materiais mesoporosos possuem poros com tamanho entre 2 e 50 nm e apresentam estrutura altamente ordenada, grande área superficial e distribuição de tamanho de poros regular, o que confere a estes materiais características apropriadas e diversas aplicações, incluindo sistema de liberação controlada de fármacos (WANG, 2009). A sílica mesoporosa é uma boa opção para este tipo de sistema já que apresenta biocompatibilidade, possibilidade de preencher os poros com um fármaco para posterior liberação e possibilidade de fazer modificações químicas na superfície de suas paredes (BARBÉ et al., 2004).

Após sua descoberta em 1992 (KRESGE et al., 1992) uma variedade de tipos de sílica mesoporosa já foram testadas visando aplicação na liberação de fármacos. A Tabela 1 mostra algumas aplicações importantes que envolvem as sílicas MCM-41 (*Mobil Crystalline Material*), MCM-48, SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous*), o fármaco ibuprofeno (Tabela 1).

Figura 7 - Exemplos de micro-, meso-, e macroporos com respectivos tamanhos e típicas distribuições de poros. Adaptado de Soler-Illia e col. (2002).

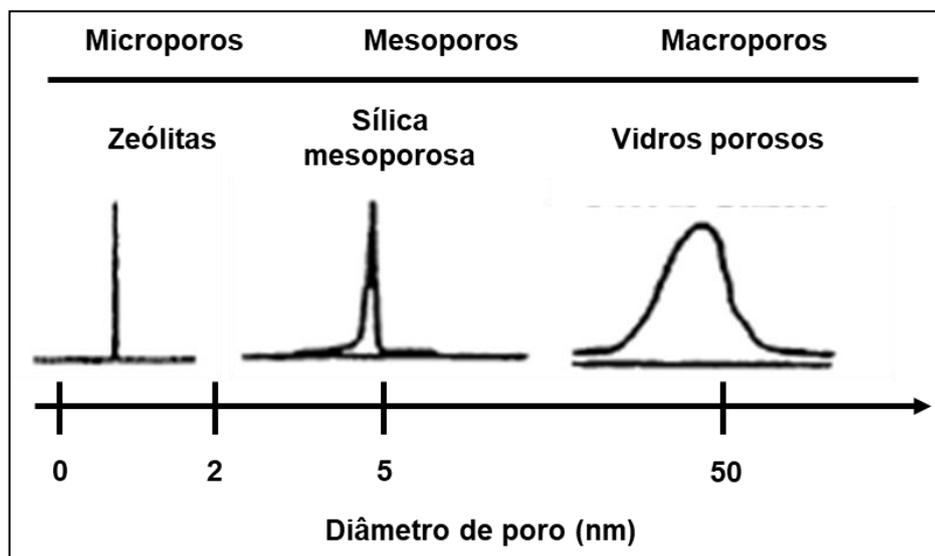


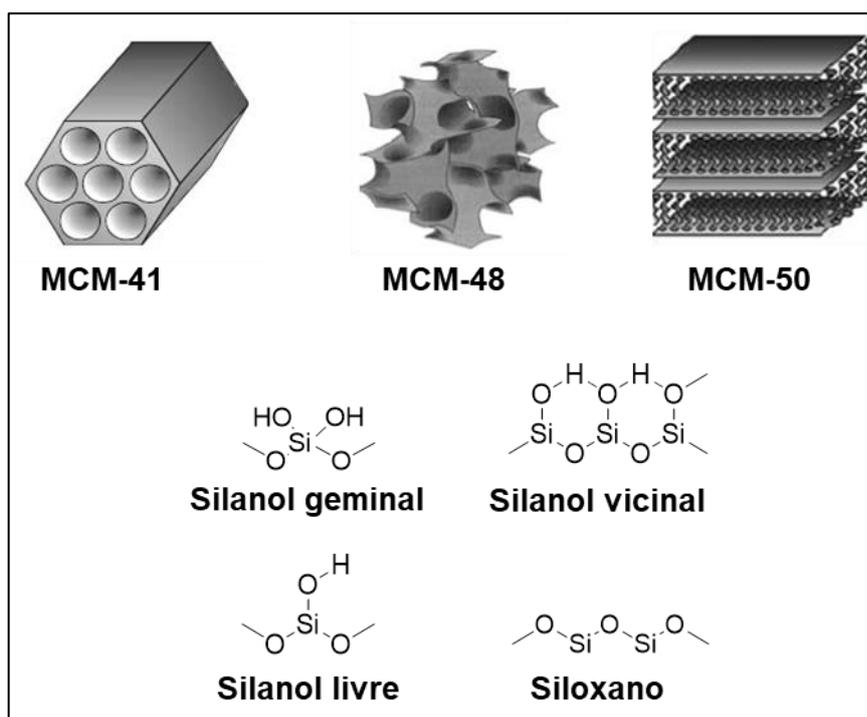
Tabela 1 - Ibuprofeno adsorvido em sílicas mesoporosas.

	Sólido Mesoporoso	Fármaco
	MCM-41	Ibuprofeno (RUAN, 2005)
	MCM-41-NH ₂	Ibuprofeno (MUÑOZ et al., 2003)
MCM	AlSi-MCM-41	Ibuprofeno, Ibuprofenato de sódio (CAVALLARO et al., 2004)
	Si-MCM41-A	Ibuprofeno (MUÑOZ et al., 2003)
	MCM-48	Ibuprofeno (IZQUIERDO-BARBA et al., 2005)
	Si-SBA-15	Ibuprofeno (SONG; HIDAJAT; KAWI, 2005)
SBA	Si-SBA-15-APTMS-O	Ibuprofeno (SONG; HIDAJAT; KAWI, 2005)
	Si-SBA-15-APTMS-P	Ibuprofeno (SONG; HIDAJAT; KAWI, 2005)

Como foi possível observar, a sílica mesoporosa amplamente investigada como sistema de liberação de fármacos é a sílica MCM-41, cuja estrutura mostra organização hexagonal de mesoporos cilíndricos, sendo que as paredes dos poros consistem em uma rede desordenada de pontes de siloxanos e grupos silanóis livres.

A sílica do tipo MCM-41 juntamente com MCM-48 e MCM-50 pertence à classe de materiais M41S. Suas estruturas diferem nos arranjos, que são hexagonal, cúbico e lamelar, respectivamente (ALOTHMAN, 2012). Uma representação destas estruturas é apresentada na Figura 8.

Figura 8 - Representação das estruturas dos materiais do tipo MCM e representações das estruturas presentes na sílica (EDGE et al., 2001).



Outros grupos de materiais mesoporosos com poros maiores denominados SBA (SBA-15, SBA-16, SBA-1 e SBA-3) também são estudados como sistemas de liberação de fármacos. O SBA-15 apresenta poros geralmente de 6 nm de diâmetro, e topologia hexagonal altamente ordenada (YANG et al., 1998), de forma semelhante a MCM-41. No entanto, estes materiais puros, cujas paredes dos poros são formadas apenas por grupos silanol não são ideais como materiais de suporte e liberação de fármacos, isso ocorre, porque as interações com as moléculas orgânicas são fracas, e, portanto, as taxas de liberações não ocorrem de forma sustentada. Porém, modificações na superfície SBA-15 com grupos que podem levar a interações específicas, são ferramentas importantes para uma liberação mais controlada. Doadrio e col. (2006), por exemplo, compararam o perfil de liberação da eritromicina adsorvida em sílica calcinada e funcionalizada com cadeias alquílicas, mostrando que

a taxa de liberação diminuiu conforme as características hidrofóbicas-CH₂ do suporte aumentaram. Além disso, os perfis de liberação dos fármacos apresentados na Tabela 1 sugeriram que as propriedades de superfície e tamanhos dos poros do suporte tem uma grande influência nas taxas de liberação. Zeng e col. (2005) descobriram também que modificações da superfície MCM-41 com aminopropila afetavam o sistema de administração do fármaco aspirina.

2.2.1 Fatores que influenciam o suporte na sílica

Muitas propriedades da sílica podem afetar o suporte de um fármaco, bem como sua liberação. As propriedades dos poros nos materiais de sílica, por exemplo, têm impacto sobre a porcentagem do fármaco que pode ser suportado, sobre a estrutura no estado sólido e a estabilidade do fármaco a longo prazo. Vários estudos têm avaliado o impacto do volume dos poros (CHARNAY et al., 2004; HEIKKILÄ et al., 2007), tamanho dos poros (ANDERSSON et al., 2004; QU et al., 2006; HORCAJADA et al., 2004); área superficial, e conectividade dos poros/geometria/morfologia (HEIKKILÄ et al., 2007; GAO et al., 2012), bem como funcionalização da superfície da sílica ou o procedimento utilizado para o suporte.

2.2.1.1 Tamanho do poro

O tamanho é um dos principais fatores que controlam tanto a adsorção das moléculas do fármaco no suporte transportador, quanto a taxa de liberação do fármaco (LIMNELL et al., 2011; ZHANG et al., 2010; JIA et al., 2012; SHEN et al., 2011). Geralmente a adsorção do fármaco dentro do suporte mesoporoso pode ocorrer se o diâmetro do poro for ligeiramente maior do que o diâmetro do fármaco. Izaque e col. (2005) relataram uma diminuição na taxa de liberação de eritromicina, um fármaco volumoso, em comparação ao ibuprofeno a partir de poros do mesmo diâmetro. O efeito torna-se mais evidente quando o tamanho do poro diminui. Hata e col. (1999) utilizaram o mesmo material mesoporoso para suportar o taxol, e descobriram que o fármaco era adsorvido quando o tamanho do poro era maior do que 1,8 nm, e que não era adsorvido se o tamanho do poro fosse menor do que 1,6 nm. Conseqüentemente, para que um fármaco seja adsorvido facilmente e

posteriormente liberado, o tamanho do poro deve ser pelo menos três vezes maior que o diâmetro da molécula do fármaco (XU; RIIKONEN; LEHTO, 2013).

Uma das vantagens da utilização destas sílicas está relacionada ao processo de preparo do material, pois os diâmetros das sílicas podem ser ajustados para promover um controle na adsorção e liberação dos fármacos (ZHAO et al., 1998; KRESGE et al., 1992).

2.2.1.2 Área superficial

A grande área superficial da sílica mesoporosa é uma característica chave que o torna o transportador potencialmente útil. Muitos grupos de pesquisa têm mostrado que o aumento da área superficial melhora o suporte de fármacos e a taxa de liberação (ANDERSSON et al., 2004; FRIEDRICH et al., 2006; MELLAERTS et al., 2007). Por exemplo, Vallet-Regi e col. (2007) investigaram o suporte do fármaco alendronato nas mesmas condições em sílica MCM-41 (área superficial determinada por BET (S_{BET}) = $1157 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) e SBA-15 (S_{BET} = $719 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) e verificaram que a quantidade de fármaco suportada na matriz sólida foi de 139 mg g^{-1} para MCM-41 e 83 mg g^{-1} para SBA-15.

2.2.1.3 Volume do poro

A interação fármaco-mesoporo é uma variável importante para o suporte de um fármaco. A possível interação fármaco-fármaco fraca pode gerar como resultado o preenchimento dos poros. Neste caso, a quantidade de fármaco adsorvida depende do volume dos poros da matriz. Azaiis e col. (2006), mostraram através de consecutivos suportes do ibuprofeno em sílica MCM-41 com dois diâmetros de poros diferentes (35 e 116 \AA) que um preenchimento maior dos mesoporos poderia ser obtido como resultado das interações intermoleculares do fármaco, levando assim, uma maior porcentagem de fármaco para volumes maiores.

Em outro estudo, Heikkilä e col. (2007) comprovaram que o volume dos poros na adsorção do ibuprofeno em diferentes sílicas mesoporosas (TUD-1, SBA-15 e MCM-41) tem influência na porcentagem de fármaco adsorvida.

2.2.1.4 Morfologia do poro

O comprimento e a morfologia dos canais dos poros também são significativos no suporte e liberação de fármacos da matriz de sílica. Gao e col. (2012) compararam sílica mesoporosa bimodal (BMM) que possui canais curtos com MCM-41, que possui canais ordenados. Os autores relataram que a sílica BMM alcançou maior porcentagem de fármaco suportado e uma liberação mais rápida. Ao comparar as morfologias dos poros TUD-1, MCM-41 e SBA-15, Heikkilä (2007) constatou que TUD-1 produziu uma liberação mais rápida devido a distribuição de seus poros (em rede) foi mais acessível em comparação ao sistema hexagonal unidirecional das sílicas mesoporosas MCM-41 e SBA-15.

Entretanto, há uma pesquisa limitada na literatura investigando a eficácia da mudança da morfologia na porcentagem de suporte e liberação de fármacos. Além disso, o significado da morfologia das partículas mostrou-se muitas vezes inconclusivo, pois os trabalhos publicados até o momento não analisaram especificamente este efeito isoladamente, de modo que a sua influência não pode ser determinada com precisão (MCCARTHY et al., 2016).

2.2.1.5 Materiais mesoporosos de superfície funcionalizada

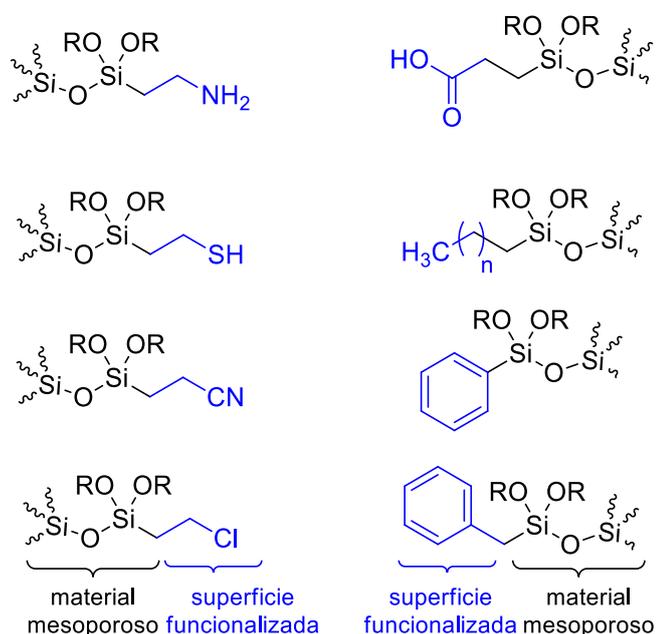
A funcionalização da superfície da sílica fornece inúmeras possibilidades de controlar a adsorção e liberação de fármacos. Portanto, um fator chave para o uso de materiais de sílica como sistema de entrega de fármacos é a funcionalização de sua superfície através de grupos orgânicos capazes de aumentar a atração entre os fármacos e a sílica (VALLET-REGÍ, 2006; HOFFMANN et al., 2006; LIN et al., 2001; MAL; FUJIWARA; TANAKA, 2003).

Existem vários métodos diferentes que podem ser empregados para funcionalizar a sílica mesoporosa, sendo que um dos mais empregados é a amino-funcionalização. Balas e col. (2006) relataram o suporte de alendronato três vezes maior em sílica amino-funcionalizada do que em sílica não funcionalizada. Um dos fármacos mais estudados é o ibuprofeno. Por possuir um grupo carboxil, este fármaco pode ser facilmente suportado em sílica MCM-41 (MUÑOZ et al., 2003) e SBA-15 (SONG; HIDAJAT; KAWI, 2005) amino-funcionalizada. Outra estratégia de funcionalização da superfície é anexar espécies hidrofóbicas a superfície. As

interações fármaco-superfície não são necessariamente aumentadas, mas o meio aquoso não penetra tão facilmente no sistema de sílica diminuindo assim, a taxa de liberação do fármaco (DOADRIO et al., 2006).

A Figura 9, apresenta os grupos funcionais mais comuns utilizados para modificar a superfície do transportador.

Figura 9 - Materiais mesoporosos com superfície funcionalizada. Adaptado de Cojocarú e col. (2014).



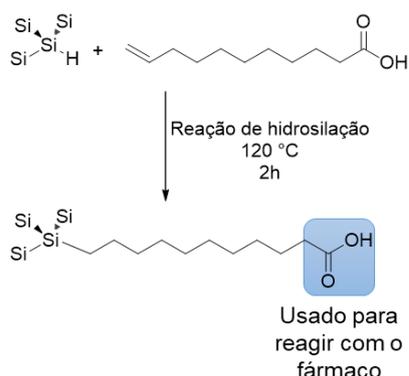
2.2.2 Procedimentos para suporte de compostos na sílica

2.2.2.1 Ligações covalentes

Fármacos com estrutura orgânica podem ser facilmente fixados às paredes dos poros da matriz de sílica *via* ligações covalentes Si-C, que possuem maiores energias de ligação do que as ligações Si-O (WOJTYK et al., 2001). Para isso, uma abordagem comum é ligar uma molécula na matriz sílica, que será um *linker* entre a sílica e a molécula do fármaco. Na Figura 10 ilustra um exemplo de molécula ligante, o ácido undecilênico, que ao reagir com a matriz sílica, produz novas ligações Si-C, e fornece um ácido carboxílico terminal que pode ser usado para o suporte do fármaco (WOJTYK et al., 2001; BOUKHERROUB et al., 2002). No entanto, esse procedimento

apresenta várias desvantagens, principalmente relacionadas à liberação das moléculas do fármaco do suporte sólido. Neste caso, a liberação somente acontecerá se houver quebra das ligações covalentes ou pela degradação da matriz, o que resultará em uma versão modificada do fármaco, pois o *linker* acabará na estrutura da molécula (KILIAN et al., 2006).

Figura 10 - Suporte através de ligação covalente. Adaptado de Cojocarú e col. (2014).



2.2.2.2 Captura física

Dependendo da estrutura, as moléculas de fármacos podem interagir facilmente com as paredes dos poros da matriz sílica, levando a uma baixa quantidade de fármaco suportado. Uma técnica contornar este problema, é o uso de uma agente para induzir a oxidação de Si a SiO₂ (ex.: amônia aquosa) (SWERYDA-KRAWIEC et al., 1996), vapor de piridina (MATTEI; VALENTINI; YAKOVLEV, 2002), quinonas (HARPER; SAILOR, 1997), o que levará a uma expansão do volume, fazendo com que os poros ao encolher, aprisionem as moléculas de fármacos presentes.

2.2.2.3 Adsorção pela solução

Neste método, a matriz de sílica é adicionada a uma solução de fármaco no solvente escolhido (ex.: dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, éter dietílico, etanol, hexano, etc.) e as suspensões resultantes são agitadas várias horas ou dias à temperatura ambiente. Subsequentemente, o solvente é removido por filtração e as amostras suportadas resultantes são secas. A real quantidade de fármaco suportado na matriz sílica é determinada por gravimetria e/ou análise

termogravimétrica (TGA). Este método foi utilizado com sucesso por vários grupos. Por exemplo, Rimoli e col. (2008) mostraram que usando método de adsorção pela solução, o cetoprofeno pode ser suportado em dois tipos diferentes de zeólitas.

2.2.2.4 Impregnação de umidade incipiente

Nesta metodologia, as moléculas de fármaco são suportadas na matriz de sílica por impregnação do suporte sólido com uma solução do fármaco. Charnay e col. (2004) utilizaram este método para carregar o ibuprofeno na sílica MCM-41 e observaram que por este método, a quantidade de fármaco suportado foi significativamente maior do que quando a adsorção pela solução foi utilizada, o preenchimento total dos poros foi possível por impregnações sucessivas.

2.2.3 Caracterização de materiais suportados em sílica

Na sessão de caracterização dos materiais suportados, serão abordadas as técnicas que foram mais importantes e que forneceram as informações que permitiram caracterizar os LI-IFAs como materiais adsorvidos na sílica.

2.2.3.1 Adsorção/dessorção N₂

Os poros são os espaços vazios internos e cavidades que dão origem à porosidade de materiais utilizados como suportes. As propriedades de superfície e poros influenciam diretamente nas propriedades destes materiais. Um dos métodos mais utilizados na determinação da área específica de um sólido baseia-se na determinação da quantidade de adsorbato necessária para recobrir com uma monocamada a superfície de um adsorvente. Os adsorbatos normalmente utilizados para este fim são gases e, por isso, torna-se necessário o estudo a interação entre o gás e o sólido no processo de adsorção (HOWARD; MIDGLEY, 1981).

O processo de adsorção pode ser classificado como um processo físico ou químico, dependendo do tipo de força envolvido. Adsorção física, também denominada de adsorção de van der Waals, é causada por forças de interações entre as moléculas. Este processo pode ser comparado com a condensação de vapor para formação de um líquido, que só é importante a temperatura abaixo da temperatura

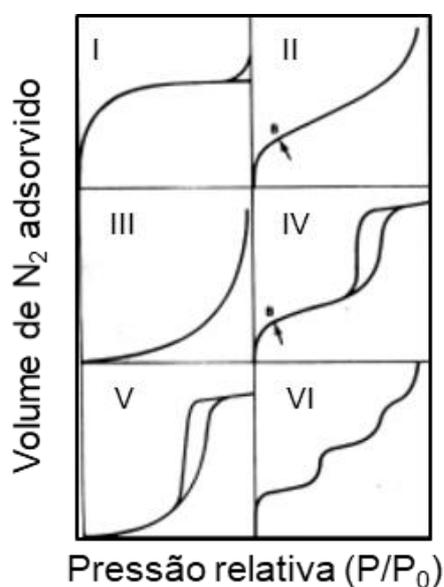
crítica do gás. A adsorção química ou quimissorção envolve interações específicas entre o adsorvente e o adsorbato com energia quase tão alta quanto a de formação de ligações químicas (ROUQUEROL et al., 2014).

Quando o estudo do fenômeno de adsorção é realizado com o objetivo de se obter informações sobre a área específica e a estrutura porosa de um sólido a construção de uma isoterma de adsorção é de fundamental importância, pois sua forma revela muitos detalhes sobre as características do material. A isoterma mostra a relação entre a quantidade molar do gás (n) adsorvida ou dessorvida por um sólido, a temperatura constante, em função da pressão do gás. Por convenção costuma-se expressar a quantidade de gás adsorvida pelo seu volume V_a em condições padrão de temperatura e pressão (0 °C e 101325 Pa), enquanto que a pressão é expressa pela pressão relativa P/P_0 , ou seja, a relação entre a pressão de trabalho e a pressão de vapor do gás na temperatura utilizada. A Figura 11 mostra o formato das isotermas em função do tipo de porosidade do sólido, várias são as formas de isotermas conhecidas, porém todas são variações de seis tipos principais.

A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporosidade ($d < 2$ nm). As isotermas do tipo II e III são típicas de sólidos não porosos e de sólidos com poros razoavelmente grandes respectivamente ($d > 500$ nm). As isotermas do tipo IV e V são características de sistemas mesoporosos (2 nm $> d > 50$ nm) (SING et al., 1985; ROUQUEROL et al., 2014). As isotermas do tipo I mostram um rápido aumento de gás adsorvido à medida que se aumenta a pressão, até um patamar. Característica de um processo de adsorção que forma apenas uma monocamada (SING et al., 1985). Nas isotermas do tipo II observa-se o ponto de inflexão da isoterma, ou seja, o início da parte quase linear, ponto B, indica a capacidade da monocamada, isto é, a quantidade de adsorbato necessária para cobrir a superfície com uma monocamada completa. Nesse ponto começa a formação da multicamada. Isotermas do tipo III não são comuns, mas originam-se sob condições nas quais as moléculas de gás têm maior afinidade umas pelas outras do que pela superfície do adsorvente (SING et al., 1985). Isotermas do tipo IV são obtidas com adsorventes mesoporoso. Esta isoterma, na maioria dos casos, exibe uma proeminente região na qual a pressão relativa varia pouco e o volume adsorvido aumenta bruscamente. Associado a um processo secundário de condensação capilar está o loop de histerese, que traz como resultado o preenchimento completo dos mesoporos em pressão relativa menor que 1 ($P/P_0 < 1$). Nos casos mais simples, a parte inicial da curva segue o mesmo perfil que aquele

do tipo II (SING et al., 1985). As isotermas do tipo V são incomuns e podem aparecer com certos adsorventes porosos. Elas estão relacionadas às isotermas do tipo III em que a interação adsorvente-adsorbato é fraca, mas o preenchimento dos poros também ocorre, levando o valor limite de adsorção para altos valores de P/P_0 (SING et al., 1985). As isotermas do tipo VI representam a adsorção gradual da multicamada e estão associadas à adsorção sobre superfície não porosas uniformes. Estas isotermas são uma variável do tipo II (SING et al., 1985).

Figura 11 - Isotermas do tipo I ao VI. Adaptado de Sing (1985).



2.2.3.1.1 Condensação Capilar e histerese

O loop de histerese apresentado nas isotermas do tipo IV e V são fenômenos associados a condensação capilar. A pressão de vapor sobre uma superfície plana de um líquido é menor do que a pressão de vapor sobre a correspondente superfície convexa. A parede de um capilar umedecida por um líquido que tem uma interface líquido-vapor côncava promoverá no capilar uma pressão de vapor menor do que sobre uma fase líquida qualquer. Esta diferença na pressão de vapor é dada pela equação de Kelvin (Equação 15) (WEBB; ORR, 1997).

$$\ln P/P_0 = \frac{-2\gamma V_m \cos \theta}{r_k RT} \quad (15)$$

Na qual, r_k (Å) é o raio capilar, θ o ângulo de contato entre o líquido e a parede do capilar, γ representa a tensão de superfície do nitrogênio no seu ponto de ebulição, V_m é o volume molar do nitrogênio, R é a constante universal dos gases, e T a temperatura.

A condensação capilar em mesoporosos ocorre somente após uma camada de adsorbato de espessura, τ , forma-se nas paredes dos poros e isso faz com que ela seja considerada um processo secundário. Assim, é necessário levar em consideração a espessura da multicamada, τ , em qualquer cálculo de raio ou largura de grupo mesoporoso (Figura 12) (THOMMES, 2010).

O fenômeno de histerese está associado a condensação capilar em mesoporos e aparece na faixa de adsorção em multicamadas (WEBB; ORR, 1997). A histerese significa que a curva de dessorção não coincide com a curva de adsorção. A adsorção em monocamada sobre a parede do poro em baixas pressões ocorre no ramo de adsorção da isoterma. A adsorção em multicamadas, e, eventualmente a condensação do adsorbato ocorrem com o aumento da pressão. A geometria da interface é assumida ser diferente daquela da adsorção, durante a dessorção, porque a pressão P durante a evaporação do menisco, dada pela equação de Kelvin, é diferente da pressão de saturação de vapor, P_0 . A classificação da IUPAC para isotermas de adsorção engloba quatro tipos de histerese, designadas como H1, H2, H3 e H4, e estão ilustradas na Figura 13 (SING et al., 1985).

Figura 12 - Formação de histerese a partir da condensação capilar Adaptado de Sing e col. (1985).

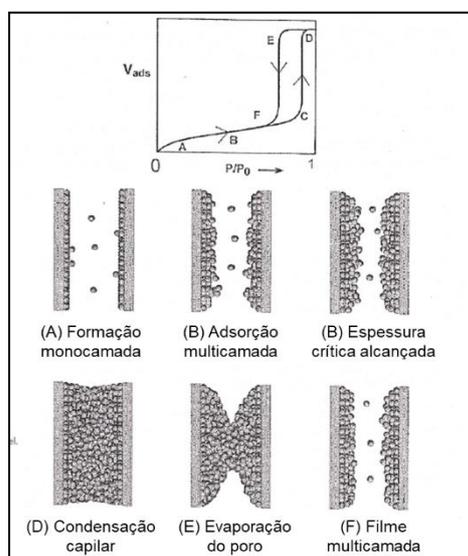
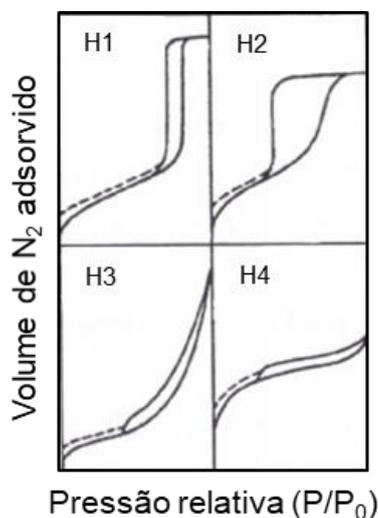


Figura 13 - Tipos de histerese (Volume de N₂ vs P/P₀).



De acordo com a classificação da IUPAC, a histerese do tipo H1 é frequentemente associada com materiais porosos que consistem em poros bem definidos do tipo canais cilíndricos ou aglomerados compactos de esferas uniformes. A histerese do tipo H2 é atribuída a materiais que apresentam muitas vezes distribuição de tamanhos de poros desordenados e forma de poro não definida. A histerese do tipo H3 não exibe ponto de saturação nem mesmo em alta pressão P/P_0 . Este tipo de histerese é observada em materiais não rígidos e agregados de partículas que dão origem a fendas em forma de poros. A histerese do tipo H4 é também muitas vezes associada com poros na forma de fenda, mas agora incluindo poros na região de microporos (SING et al., 1985).

2.2.3.1.2 Equações de isotermas BET

Para obter informações sobre as características porosas, principalmente a área de um sólido a partir da isoterma de adsorção, vários métodos foram desenvolvidos com base em modelos empíricos e teóricos. Langmuir (1918) foi o primeiro a desenvolver uma teoria que relacionasse a quantidade de gás adsorvida com a pressão de equilíbrio do gás. Entretanto, esta teoria aplica-se principalmente a sistemas que envolvem adsorção química, já que se limita em considerar apenas a formação de uma monocamada do gás.

Na década de 1930, os pesquisadores, Brunauer, Emmett e Teller (1938) derivaram uma equação para adsorção de gases em multicamadas na superfície de sólidos. A equação, denominada BET, se baseia na hipótese de que as forças responsáveis pela condensação do gás são também responsáveis pela atração de várias moléculas para a formação de multicamadas. Desconsiderando-se o longo desenvolvimento matemático, obtém-se uma expressão final, denominada equação de BET (Equação 16).

$$P/V(P_0/P) = 1/V_m c + [(c - 1)/V_m c]P/P_0 \quad (16)$$

Na qual, P é a pressão parcial do gás, P₀ é a pressão de vapor de saturação do adsorbato, V_m é o volume de gás correspondente à monocamada de moléculas adsorvidas e c é a constante relacionada com a energia de interação entre adsorbato (gás) e o adsorvente (sólido).

No desenvolvimento da Equação 16, as seguintes considerações foram feitas;

1. As condições de adsorção das demais camadas acima da primeira são iguais.
2. Em todas as camadas, exceto a primeira, a energia de adsorção é igual a energia de condensação.
3. Quando P = P₀, a multicamada tem espessura infinita.

Através do método de BET a adsorção de nitrogênio pode ser relacionada à área superficial. A área específica, S_{BET} (m² g⁻¹), de um sólido poroso é igual à soma de suas áreas de superfície interna e externa. A área de superfície interna origina das paredes dos poros. Para a maioria das amostras, mas de 97 % da área de superfície é a área de superfície interna devido aos poros (SING et al., 1985; ROUQUEROL et al., 2014).

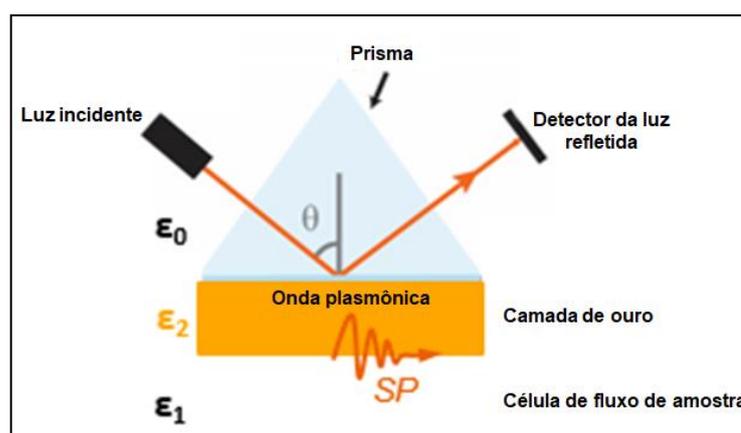
2.2.3.2 Ressonância Plasmônica de Superfície

O primeiro fenômeno de ressonância plasmônica de superfície (SPR – *do inglês* – Surface Plasmon Resonance) foi observado por Wood nos anos 1900 (WOOD, 1901; 1912) . Entretanto aplicações surgiram na década de 1980 como uma tecnologia revolucionária (NYLANDER; LIEDBERG; LIND, 1982) . Desde então, muitas são as aplicações desta técnica principalmente para analisar interações biomoleculares. As vantagens trazidas pela técnica de SPR incluem o monitoramento em tempo real,

mínimo pré-tratamento da amostra, resposta quantitativa e boa sensibilidade e reprodutibilidade.

Os princípios físicos desta técnica baseiam-se nas propriedades ópticas e pode ser empregada em estudos de fenômeno de superfície, monitorando a medida da mudança do índice de refração (n) devido, por exemplo, a ligação de uma camada orgânica à superfície do metal (HOMOLA; YEE; GAUGLITZ, 1999; O'BRIEN et al., 2001; MARIANI; MINUNNI, 2014). O efeito de ressonância de plasma de superfície é uma oscilação da densidade de carga longitudinal, ao longo da interface de dois meios com constantes dielétricas (ϵ) de sinais opostos, onde um é metal e outro, um dielétrico (GREEN et al., 2000). O metal a ser utilizado deve exibir comportamento de elétrons livres, sendo os mais adequados, ouro, prata, cobre e alumínio, dentre os quais, ouro e prata são os mais empregados (RICH; MYSZKA, 2000). Para a excitação do plasma de superfície dois sistemas experimentais foram desenvolvidos, um por Otto (1968) e outro por Kretschmann (1975), porém a configuração de refletância total atenuada, desenvolvida por Kretschmann, é normalmente usada na maior parte dos instrumentos de SPR (GREEN et al., 2000; DE CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003) (Figura 14).

Figura 14 - Esquema geral do princípio de SPR desenvolvido por Kretschmann. Adaptado de BioNavis (2018).

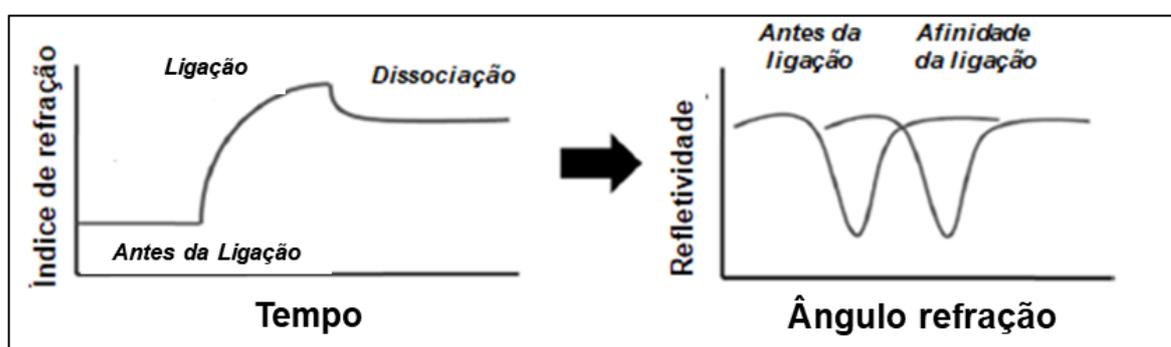


Esta configuração, baseia-se no fenômeno de reflexão interna total. Este fenômeno ocorre quando a luz polarizada atravessa um meio óptico denso (ex: vidro) e alcança uma interfase entre este meio o meio de densidade óptica menor (ex: ar) e é refletida de volta para o meio mais denso. Embora a luz incidente, seja totalmente

refletida internamente, uma componente desta radiação, penetra a interface menos densa, até a distância de 1λ . Em um determinado ângulo de incidência, quando o vetor de onda do plasma é igual ao vetor de onda do campo evanescente, parte da radiação acopla com os elétrons livre oscilantes (plasma) no filme metálico, ocorrendo a ressonância de plasma de superfície. Em consequência, ocorre uma perda de energia da luz incidente para o filme metálico, resultando na redução da intensidade da luz refletida, a qual pode ser detectada como um arranjo bidimensional de fotodiodos (DE CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003). O vetor de onda do plasma de superfície é dependente do índice de refração, no meio. Se o índice de refração imediatamente acima da superfície do metal sofre alguma alteração, pela adsorção de uma camada de qualquer molécula, uma mudança no ângulo de incidência é requerida para que a excitação do plasma e superfície ocorra. Através do monitoramento deste ângulo no qual ocorre a ressonância, durante o processo de adsorção em função do tempo, um perfil de adsorção pode ser obtido pela técnica de SPR. Variações de aproximadamente 0,5 miligráus, correspondem a aproximadamente 1×10^{-5} variações de índice de refração (para $\lambda=670$ nm), e podem ser detectadas (GREEN et al., 2000), porém a resolução depende do comprimento de onda incidente.

A Figura 15 é um modelo de sensograma característico de SPR, no qual é possível visualizar a interação em tempo real entre o analito alvo e o chip sensor.

Figura 15 - Esquema de um perfil de adsorção do SPR.



Inicialmente a superfície é preparada com uma solução adequada ao experimento para gerar uma linha base sob a curva SPR. Uma vez que o analito entra em contato com a superfície, ocorre uma adsorção rápida, a qual resulta em um aumento no ângulo de ressonância do SPR seguido por um patamar no perfil de

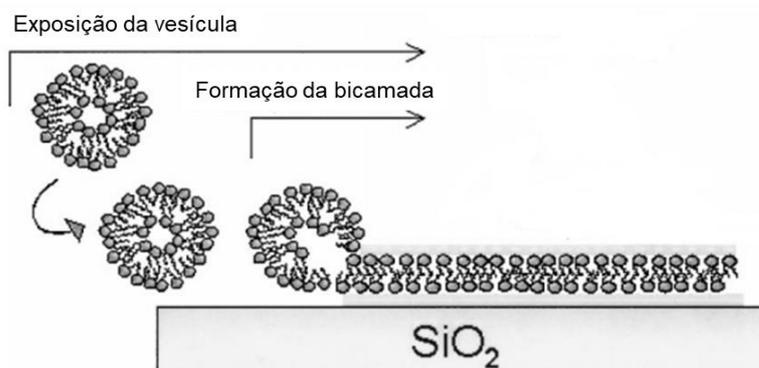
adsorção, devido a saturação da superfície com o analito, ou porque o processo atingiu o equilíbrio. Finalmente, a solução contendo analito é trocada pela solução de limpeza, que remove somente o material fracamente ligado. A diferença entre o ângulo de ressonância inicial e o final fornece uma indicação sobre a extensão da adsorção. O gradiente positivo da curva de adsorção do SPR determina a velocidade de adsorção (GREEN et al., 2000; DE CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003).

Nas últimas décadas, a técnica de SPR evoluiu de um fenômeno físico para uma ferramenta óptica amplamente utilizada em investigações físicas, químicas e biológicas, onde a caracterização de uma interface é de interesse. No presente trabalho, o interesse é avaliar a afinidade da interação entre os LI-IFAs e a sílica, para isso, foi utilizado a superfície do chip sensor revestido com óxido de silício (SiO_2)

Como não foram encontrados na literatura trabalhos que envolvem a interação de LIs com chip SiO_2 será apresentado um exemplo do suporte de uma membrana de bicamada fosfolipídica sobre o sensor (GLASMÄSTAR et al., 2002).

Para a realização dos experimentos, foi utilizado um chip de titânio recoberto com uma camada de SiO_2 (100 nm). As vesículas solubilizadas em tampão pH 8,0 foram colocadas em contato com a superfície SiO_2 . Ao entrar em contato com a superfície do chip SiO_2 , as vesículas são adsorvidas, e em seguida se transformam espontaneamente em uma bicamada (KELLER; KASEMO, 1998), conforme pode ser visto na Figura 16.

Figura 16 - Ilustração da formação da bicamada lipídica sobre o chip SiO_2 . Adaptado de Glasmästar e col. (2002).



De maneira semelhante, espera-se que os LI-IFAs estudados neste trabalho, fiquem adsorvidos formando um filme na superfície do chip SiO_2 .

As afinidades das interações entre os LI-IFAs e a superfície do chip SiO₂, serão obtidas pelo valor de constante de dissociação de equilíbrio (K_D) vs a concentração, utilizando a Equação 17.

$$Y = Bmax \times C / (C + K_D) \quad (17)$$

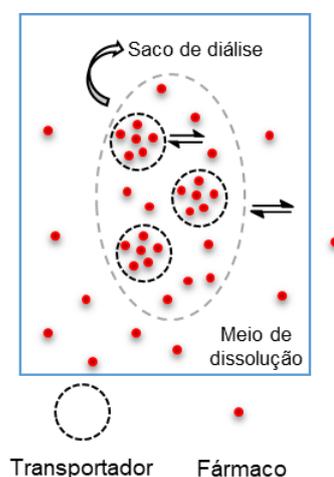
Na qual Y é a mudança de ângulo, Bmax é o sinal máximo, C é a concentração e K_D é a constante de dissociação do equilíbrio.

2.2.4 Liberação a partir de materiais mesoporosos

Os métodos convencionais utilizados para quantificar a concentração do fármaco liberado, tais como, espectrometria UV ou cromatografia líquida de alta eficiência só são viáveis se o material usado como suporte for removido para a análise, uma vez que o suporte pode interferir nas medições. Assim, técnicas de separação são comumente utilizadas para isolar o suporte do fármaco. Os métodos comumente utilizados para separar o suporte do fármaco são a centrifugação (MERODIO et al., 2001; HINDI et al., 2009) e a separação pelo saco de diálise (SOPPIMATH et al., 2001; ZHANG; MISRA, 2007). O principal problema da centrifugação é que a aplicação da força centrífuga pode induzir a liberação prematura do fármaco, resultando em mais fármaco liberado do que o esperado quando nenhuma força externa é imposta ao suporte. O método do saco de diálise inclui o método de diálise positivo e a diálise reversa. Nesta Tese trataremos do método de diálise positivo conforme Figura 17.

No método de diálise positivo uma solução que contém o fármaco suportado no material transportador é colocada dentro do saco de diálise, que é então introduzido em um reservatório de volume conhecido. Nos pretendidos intervalos de tempo, amostras da solução de fora do saco de diálise são removidas para análise (espectroscopia UV ou CLAE). Estes dados são usados para gerar o perfil cinético de liberação, isto é, concentração do fármaco em função do tempo.

Figura 17 - Experimento tradicional de liberação *in vitro* utilizando o saco de diálise como método de separação.



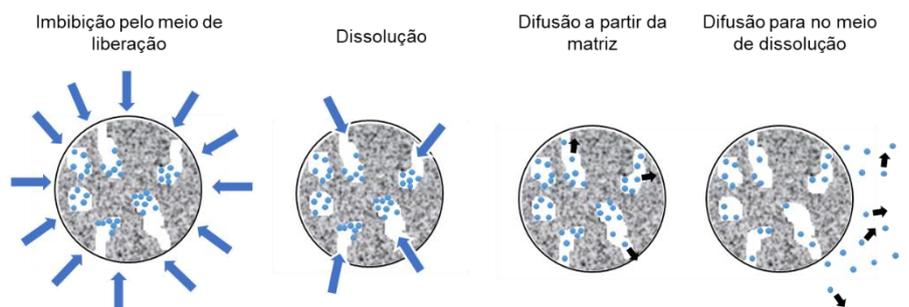
No método de diálise positivo, o perfil de liberação compreende a difusão de moléculas do fármaco do transportador para o interior do saco de diálise e depois para o reservatório. Em sistemas macroscópicos, o processo de difusão é consideravelmente lento. Por outro lado, o processo ocorre rapidamente para sistemas submicrométricos, com tempos de liberação na ordem de horas ou minutos para partículas na faixa de tamanho nanométrico. Neste caso, o suporte mantém sua integridade estrutural, pois a liberação do fármaco resulta somente de uma alteração no equilíbrio de partição entre a partícula do fármaco e a fase contínua (WASHINGTON, 1990). Embora este método seja útil, devido a duas barreiras difusionais, a cinética de liberação do fármaco medido será mais lenta, e dependendo do sistema fármaco/suporte, erros significativos podem ser introduzidos (MORENO-BAUTISTA; TAM, 2011). Para que alguns erros sejam minimizados, cuidados no preparo do experimento podem ser tomados. Moreno-Bautista e Tam, (2011), por exemplo, já demonstraram que o corte de peso molecular (MWCO- *do inglês* – molecular weight cut-off) tem impacto na difusão de fármacos e conseqüentemente na cinética de liberação. Em seu estudo, os autores testaram sacos de diálise com MWCO de 2, 7 e 10 kDa, e verificaram que uma taxa de difusão mais lenta ocorria no saco de diálise com menor MWCO. Isso pode ser explicado pelo fato de que um saco de diálise com maior MWCO possui um poro maior, que oferece menor resistência à difusão de moléculas de fármacos, portanto, maior quantidade de moléculas pode passar através do saco por um período de tempo fixo, resultando em uma maior taxa

de difusão. Por outro lado, se o MWCO do saco de diálise for muito pequeno, então a barreira difusional se sobrepõem ao perfil de liberação. Como consequência, a liberação medida corresponderá à liberação controlada pelo saco de diálise ao invés do suporte do fármaco (MORENO-BAUTISTA; TAM, 2011). Em princípio, os autores recomendam selecionar um saco de diálise com uma barreira difusional muito menor que o suporte do fármaco de modo que o perfil de liberação seja dominado pela liberação a partir do suporte. Assim, um saco de diálise com MWCO de maior tamanho de poro possível, e ainda menor do que o tamanho do suporte é ideal para estudos de liberação (MORENO-BAUTISTA; TAM, 2011). Os autores avaliaram também o efeito do gradiente de concentração na difusão, e observaram que quanto maior a concentração, maior é a taxa de difusão. Este resultado sugere que um gradiente de concentração exerce força motriz maior para a difusão. Mas por outro lado, o tempo necessário para atingir a concentração máxima de fármaco na solução também é maior, ou seja, o gradiente de concentração entre o interior e o exterior do saco de diálise afeta a taxa de liberação observada (MORENO-BAUTISTA; TAM, 2011). Além disso, o experimento de liberação *in vitro* usando o saco de diálise apresenta uma taxa de liberação do suporte maior do que a taxa de difusão do fármaco para fora do saco de diálise, portanto os dados experimentais não refletem totalmente o perfil de liberação do fármaco a partir do suporte. Sendo assim, novamente uma solução possível é realizar os experimentos utilizando saco de diálise com o maior MWCO possível, para minimizar o impacto da barreira difusional.

2.2.4.1 Cinética de liberação

O perfil de liberação de um fármaco é muito importante na concepção de sistemas de liberação. Entendendo o processo de liberação de um medicamento é possível otimizar a cinética de liberação. Acredita-se que o processo de liberação de um fármaco pode ser dividido em quatro etapas consecutivas: (i) a imbibição pelo meio de liberação no sistema microesférico acionado por pressão osmótica decorrentes de gradientes de concentração, (ii) a dissolução, (iii) a difusão a partir do suporte devido aos gradientes de concentração, e (iv) o transporte difusional e convectivo para o meio de liberação. Uma ou mais destas etapas podem controlar o processo de liberação (LI et al., 2004) (Figura 18).

Figura 18 - Processo de liberação de um fármaco a partir de uma matriz controlada por difusão.



Para muitos sistemas de liberação, o processo de liberação do fármaco pode ser explicado com a equação de difusão clássica de Fick dada na Equação 18, na qual, J é o fluxo, D é o coeficiente de difusão, $\partial C/\partial X$ é o gradiente de concentração.

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial X} \quad (18)$$

Higuchi (1961) foi o primeiro a derivar uma equação a partir da difusão de Fick para descrever a liberação de um fármaco de uma matriz insolúvel como a raiz quadrada de um processo dependente do tempo (Equação 19) (WANG, 2009).

$$Q_t = [2DS_\varepsilon(A - 0,55S_\varepsilon)]^{0,5} x t^{0,5} = k_H \sqrt{t} \quad (19)$$

Na qual Q_t é a quantidade de fármaco liberada no tempo t , D é o coeficiente de difusão, S é a solubilidade do fármaco no meio de dissolução, ε é a porosidade, A é o conteúdo de fármaco por centímetro cúbico da matriz e k_H é a taxa de liberação constante para o modelo de Higuchi. O modelo de Higuchi é geralmente válido para os sistemas onde a concentração o fármaco é muito maior do que solubilidade do fármaco. A liberação do ibuprofeno a partir de sílica mesoporosa, já foi relatada em vários trabalhos como sendo governada por difusão e a sua cinética obtida pelo método de Higuchi (HORCAJADA et al., 2004; IZQUIERDO-BARBA et al., 2005).

2.3 LÍQUIDOS IÔNICOS SUPORTADOS EM SÍLICA

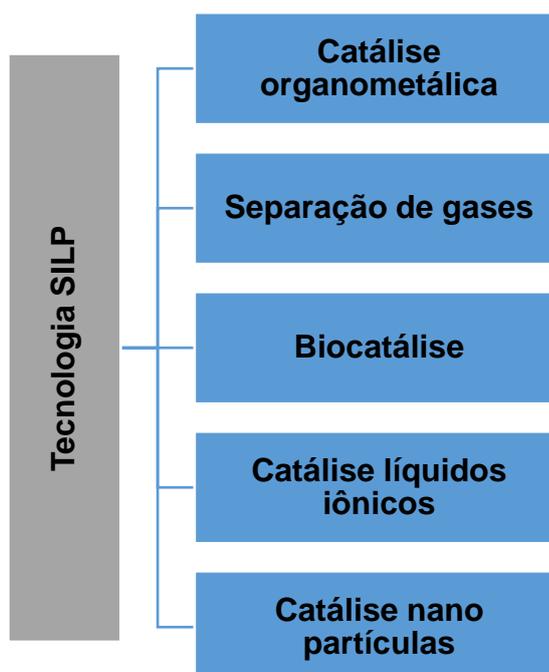
Durante os últimos anos, os LIs tornaram-se disponíveis como uma classe de solventes com baixa volatilidade e ampla faixa de miscibilidade em muitos solventes

(FERREIRA et al., 2012). Essas duas propriedades principais dos LIs são perfeitamente adequadas para várias aplicações.

As combinações de um cátion com baixa simetria, como imidazólio, piridínio, fosfônio, etc, e um ânion, que pode ser escolhido livremente entre os ânions conhecidos, fornece um número enorme de combinações que possibilitam uma grande quantidade de propriedades disponíveis. Estas propriedades podem variar de polares a não polares, hidrofílicos e hidrofóbicos e miscíveis a imiscíveis em solventes orgânicos típicos, e pode ser adaptado para os requisitos específicos da aplicação (WELTON, 2014).

As propriedades dos LIs também podem ser modificadas quando suportados em diferentes substratos (ex.: grafite, mica, sílica, silício oxidado, etc.). No início dos anos 2000 os grupos de Mehnert (2002), Fehrmann e Wasserscheid (2006) introduziram um novo conceito fases líquidas iônicas suportadas – SILP – do inglês - *supported ionic liquid phases*. Desde então, está tecnologia tem servido como plataforma em uma variedade aplicações, incluindo catálise e separação de gases (Figura 19) (MEHNERT, 2005; SCHÖNWEIZ; FRANKE, 2014; GARCIA-VERDUGO; LOZANO; LUIS, 2014).

Figura 19 - Algumas aplicações da tecnologia SILP.

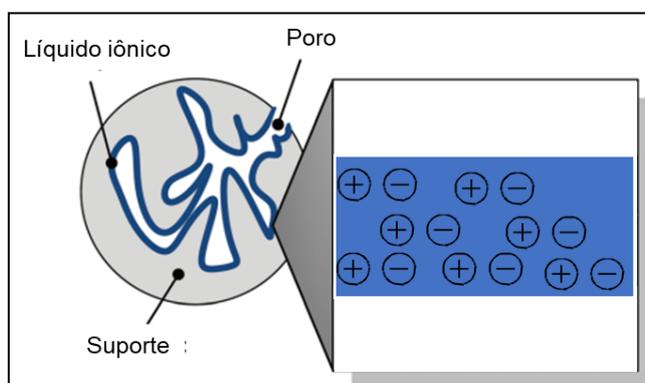


Pesquisas realizadas nesta área mostraram que a estratégia SILP pode levar a um comportamento drasticamente diferente para LIs suportados, principalmente devido às interações entre os ânions e/ou cátions dos LIs e a matriz sólida. No material SILP, um filme fino de um LI é disperso sobre a superfície interna de um material mesoporoso (Figura 20) por fisiorção, e em alguns casos por quimiossorção (VAN DOORSLAER et al., 2010).

Bovio e col.(2009) mostraram que, suportando o LI 1-bitul-3-metilimidazol bis(trifluorometilsulfonil)imida ([BMIM][NTf₂]) em uma matriz sólida (ex.: sílica amorfa, sílica oxidada, e mica), as transições de fase líquido-sólido são induzidas quando filmes finos de LIs se reorganizam em uma fase sólida.

As interações entre o suporte sólido e os LIs têm uma forte influência nas propriedades resultantes do sistema, estas propriedades podem ser afetadas por vários fatores, incluindo a forma como a amostra é preparada, a estrutura dos LIs, as interações entre as paredes dos poros e os LIs, entre outros.

Figura 20 - Representação esquemática da fase líquida iônica suportada (SILP). Adaptado de Kohler e col. (2014).



2.3.1 Líquidos iônicos farmacologicamente ativos suportados em sílica

As primeiras aplicações da estratégia SILP em LI-IFAs foram realizadas por Riisager e col.(2014) e Bica e col.(2012) em uma série de LI-IFAs (Figura 21), tais como, ibuprofenato de tetrabutílfosfônio [P₄₄₄₄][Ibu], ibuprofenato de lidocaína [Lid][Ibu], aciclovir colina [Ch][Aci], aciclovir tributílmethylamônio [N₄₄₄₁][Aci], aciclovir trimetilexadecilamônio [N₁₁₁₁₆][Aci], e seus análogos neutros (ibuprofeno, e aciclovir) foram suportados em sílica mesoporosa com poro de 90 Å (SiO₂-90) e suas

propriedades térmicas e de liberação foram avaliados. Para a síntese destes materiais suportados, os autores utilizaram o método de adsorção da solução. A sílica SiO₂-90 foi adicionada à solução de LI-IFAs em etanol para promover uma variação de massa de 10, 20 e 50% em peso. As misturas foram agitadas por 2 horas em temperatura ambiente, após o tempo de reação o solvente foi evaporado. Utilizando a técnica de adsorção/dessorção de N₂, isotermas típicas do tipo IV para o suportado [P₄₄₄₄][Ibu] em 20% foram observadas (Figura 22-a), além disso os autores conseguiram comprovar o decréscimo na área superficial da sílica (Figura 22-b) após o suporte do LI-IFAs, indicando que os poros da sílica foram preenchidos com [P₄₄₄₄][Ibu].

Figura 21 - LI-IFAs e IFAs suportados em sílica.

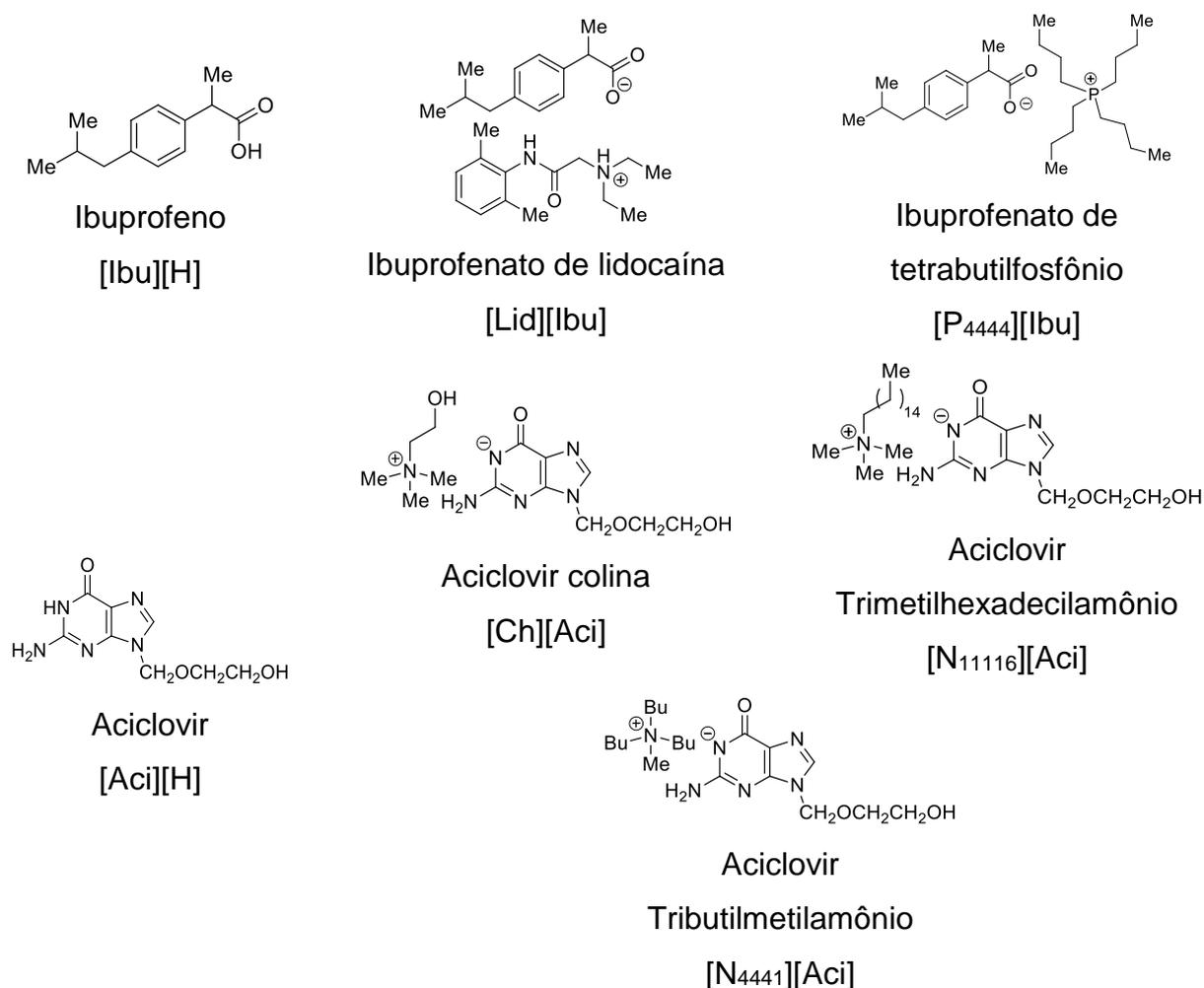
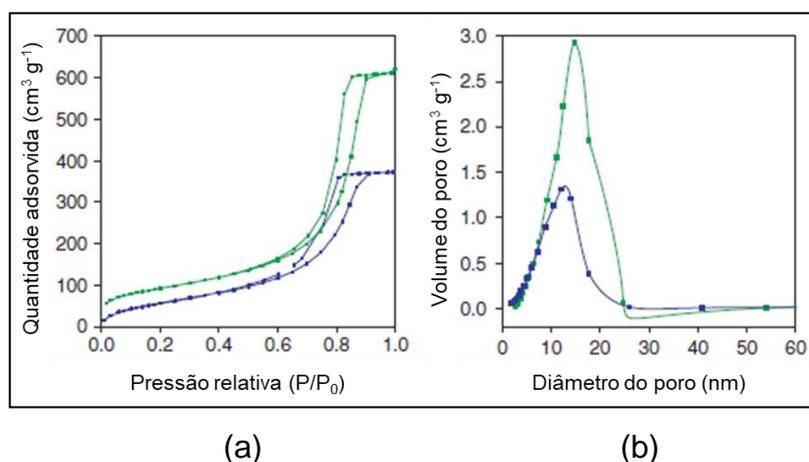


Figura 22 - (a) Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio e (b) distribuição do tamanho e volume do poro para SiO₂-90 (verde) e [P₄₄₄₄][Ibu] 20% suportado em SiO₂-90 (azul). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).



Segundo os autores, os LI-IFAs foram suportados na sílica de forma não covalente, porém com aspecto sólido, de fácil manipulação e com estabilidade térmica melhorada comparada aos puros (Tabela 2). Por exemplo, em 10 % de peso [P₄₄₄₄][Ibu] adsorvido em sílica 90 Å tem uma T_{d5%} de 386 °C, que é 150 °C maior do que o LI-IFAs puro. O mesmo aumento de estabilidade foi observado para os IFAs suportados na mesma sílica: T_{d5%} para 10% do ibuprofeno suportado em SiO₂-90 (300 °C) foi maior do que T_{d5%} para ibuprofeno puro (155 °C).

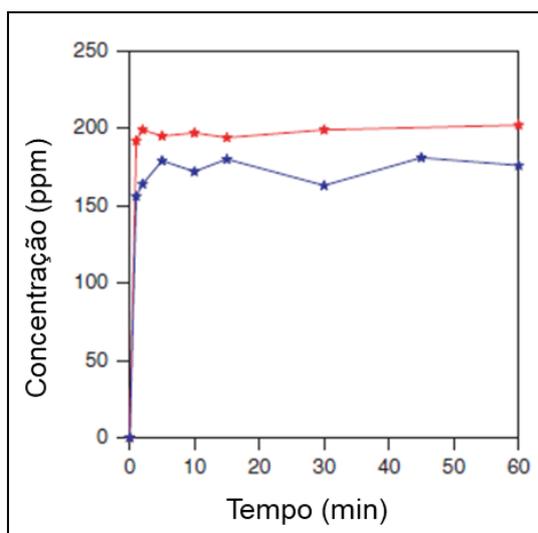
Para o estudo de liberação dos LI-IFAs a partir da sílica, foram avaliadas três condições fisiológicas: solução salina tamponada com fosfato (PBS, pH 7,4), fluido intestinal simulado (FIS, pH 6,8) e fluido gástrico simulado (FGS, pH 1,2), sob condições de imersão a 37 °C. Os autores verificaram que a taxa de liberação é influenciada por vários fatores. Um desses fatores é a natureza da superfície da sílica (hidrofóbica vs hidrofílica): a calcinação da sílica hidrofílica a 450 °C por 24 h produz uma superfície hidrofóbica, que leva a uma liberação incompleta em PBS (pH 7,4) dos 20% de [P₄₄₄₄][Ibu] suportado (Figura 23), sugerindo que com a maior hidrofobicidade da superfície uma porcentagem do [P₄₄₄₄][Ibu] fica retida nos poros.

Tabela 2 - Estabilidade térmica dos LI-IFAs e seus IFAs correspondentes suportados em Sílica 90 Å. (ANDREEA COJOCARU et al., 2014).

Composto	% Peso SiO ₂ -90	T _d ^a	Composto	% Peso SiO ₂ -90	T _d ^a
Ibuprofeno	Puro	155 ^b	Aciclovir colina	Puro	123 ^a
	10	300 ^b		10	167 ^a
Ibuprofenato de tetrabutílfosfônio	Puro	236 ^b	Aciclovir tributílmethylamônio	20	165
	10	386 ^b		Puro	203 ^a
	20	263 ^b		10	208 ^a
Ibuprofenato de lidocaína	Puro	174 ^b	Aciclovir trimetilexadecilamônio	20	204 ^a
	20	170 ^b		Puro	189 ^a
Aciclovir	Puro	249 ^a	10	241 ^a	
	10	257 ^a	20	234 ^a	
	20	260 ^a			

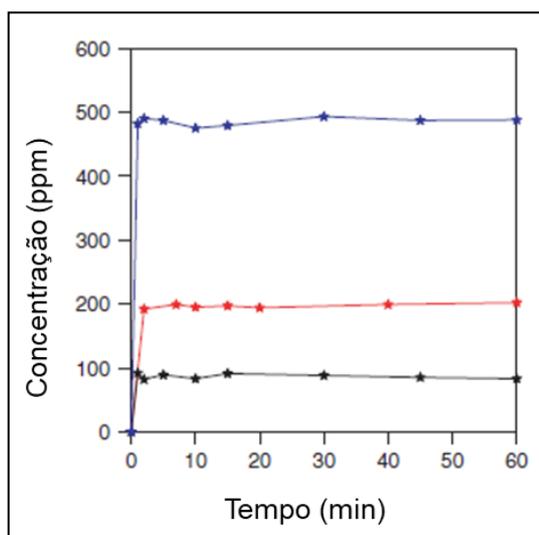
^aT_d: Temperatura de decomposição. ^bT_{d5%}: Temperatura de decomposição de 5% da amostra.

Figura 23 - Influência da natureza da superfície da sílica na liberação de [P₄₄₄][Ibu] 20% em PBS (pH 7,4): sílica não calcinada (hidrofílica; vermelho) e sílica pré-calcinada (hidrofóbica, azul). Adaptado de Cojocaru e col. (2014).



A influência da quantidade de LI-IFAs suportado na taxa de liberação do LI-IFAs [P₄₄₄₄][Ibu] em PBS também foi estudado. Quando 10, 20 e 50% em peso do LI-IFAs suportado em sílica calcinada foram investigadas, uma liberação completa foi observada nos três casos dentro dos primeiros 5 minutos (Figura 24).

Figura 24 - Influência da quantidade de amostra suportada na velocidade de liberação de [P₄₄₄₄][Ibu] em PBS (pH 7,4): 10 % (preto), 20% (vermelho) e 50% (azul): sílica pré calcinada. Adaptado de Cojocarú e col. (2014).



Os efeitos dos procedimentos para o suporte dos LI-IFAs (método de adsorção pela solução e impregnação de umidade incipiente) sobre a taxa de liberação foram avaliados (Figura 25). Os autores observaram uma liberação rápida e completa dos LI-IFAs suportados pelo método de adsorção pela solução, enquanto que menos de 50% do LI-IFAs foi liberado quando o método de suporte era impregnação de umidade incipiente. Estes dados sugerem que o método impregnação de umidade incipiente não é ideal, pois não proporciona um suporte efetivo. Dependendo da natureza do meio de liberação utilizado, diferentes comportamentos foram obtidos. No caso de [P₄₄₄₄][Ibu] 20%, uma liberação rápida e completa foi obtida quando PBS e FIS foram utilizados como ambientes, enquanto em FGS, um meio ácido, foi observada uma liberação lenta e incompleta. Um comportamento diferente foi observado para o [LID][IBU] 20%. A liberação de forma rápida e completa foi observada quando o meio era PBS, porém uma liberação lenta e incompleta foi obtida nos meios em que a acidez aumentou (FIS e FGS) (Figura 26). Este comportamento sugere que que as

mudanças na ionicidade do [LID][IBU] fracamente ionizado, porém a natureza desse comportamento não é bem conhecida.

Figura 25 - Influência do procedimento de suporte na liberação de [P₄₄₄₄][Ibu] 20% em PBS (pH 7,4): Adsorção pela solução (azul) e impregnação de umidade incipiente (vermelho). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).

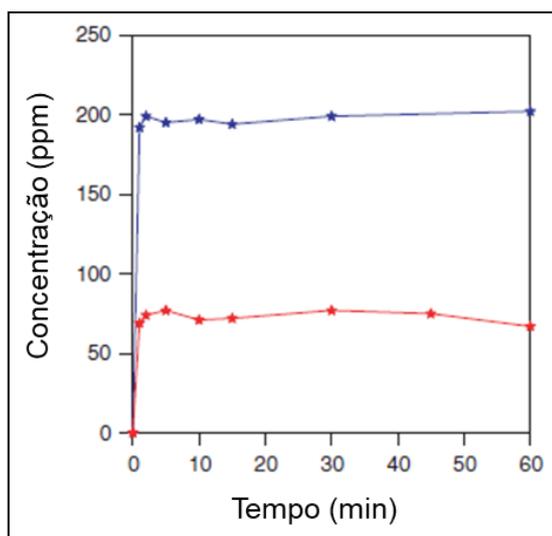
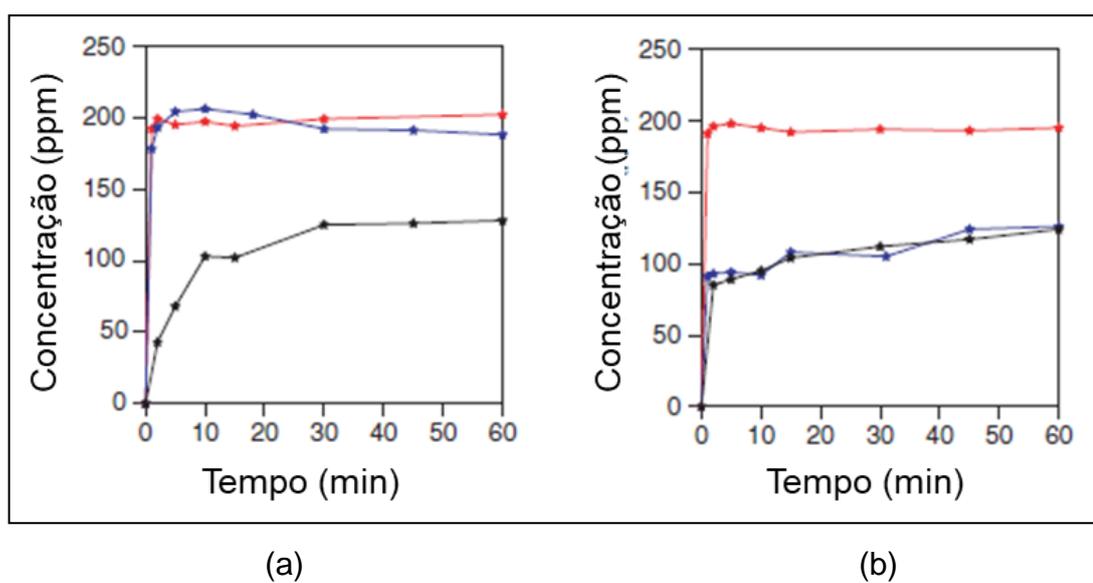


Figura 26 - Influência do meio de dissolução na liberação de (a) [P₄₄₄₄][Ibu] e (b) de [Lid][Ibu]. Suportados 20% em peso: PBS pH 7,4 (vermelho); FIS pH 6,8 (azul); e FGS pH 1,2 (preto). Adaptado de Cojocarú e col. (2014).



3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os solventes e reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (Milli-Q).

3.1.1 Solução PBS

A solução estoque de PBS foi obtida através da dissolução de NaCl (82 g), Na₂HPO₄ (10,5 g) e NaH₂PO₄ (3,55 g) em 1 L de água ultrapura (Milli-Q). O pH foi monitorado utilizando pHgâmetro e ajustado em 7,2,.100 mL desta solução foram então diluídos com água ultrapura para obtenção de um volume final de 1L, esta solução foi utilizada na elaboração dos testes.

3.1.2 Solução de fluido gástrico simulado (FGS, pH 1,2)

Esta solução foi preparada através da dissolução de NaCl (2 g) em 100 mL de água ultrapura. 7 mL de HCl foram adicionados e a solução diluída para 1000 mL. O pH foi monitorado utilizando pHgâmetro e ajustado em 1,2 com ácido clorídrico ou hidróxido de sódio.

3.2 PROCEDIMENTOS DE SÍNTESE

3.2.1 Síntese e caracterização dos LI-IFAs

Os LI-IFAs foram sintetizados e caracterizados de acordo com metodologia previamente descritas na literatura (FRIZZO et al., 2016; HOUGH; ROGERS, 2007). Dados espectrais de ¹H e ¹³C, ESI/MS e de análises térmicas dos LI-IFAs [RAN][IBU], [BUP][IBU], [LID][IBU] e [DIF][IBU] estão descritos a baixo. Os produtos químicos utilizados na síntese dos LI-IFAs foram adquiridos em alto grau de pureza e utilizados sem purificação prévia. Os IFAs cloridrato de ranitidina, cloridrato de difenidramina, cloridrato de bupivacaina, cloridrato de lidocaína e ibuprofenato de sódio (mistura racêmica) utilizados apresentam pureza maior que 98%. Todos os solventes e

reagentes utilizados foram obtidos da Tedia (Rio de Janeiro, RJ, BR) e da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

3.2.1.1 2-(4-isobutilfenil) propanoato de (E)-N,N-dimetil-1-(5-(((2-((1-(metilamino)-2-nitrovinil) amino) etil) tio) metil)-2-furanil) metilamínio

[RAN][IBU]. Rend.: 79%. Líquido viscoso marrom. ESI/MS (ES+) [m/z] = 315,2 (ES-) [m/z] = 205,1. Anál. Elem. C, 58,83; H, 7,86; N, 10,92. RMN ¹H 600 MHz (DMSO-d₆): 0,85 (d, 6H, 2CH₃), 1,34 (d, 3H, CH₃), 1,80 (m, 1H, CH), 2,14 (s, 6H, 2CH₃), 2,41 (s, 3H, CH₃), 3,40 (s, 2H, CH₂), 3,61 (q, 1H, CH), 3,81 (s, 2H, CH₂), 6,19 (d, 1H, CH), 6,19-6,24 (d, 1H, CH-Ar), 6,45-6,53 (d, 1H, CH-Ar), 7,10 (d, 2H, 2CH-Ar), 7,18 (d, 2H, CH-Ar), 3,71 (d, 1H, NH), 9,9 (d, 1H, NH); RMN ¹³C 600 MHz (DMSO-d₆): 18,7 (CH₃), 22,1 (2CH₃), 27,04 (CH₂), 29,6 (CH, CH₃), 44,2-44,3 (2CH₃, CH, CH₂), 96,9 (CH-Ar), 108,3 (CH-Ar), 109,3 (CH), 127,0 (2CH-Ar), 128,8 (2CH-Ar), 138,5 (C-Ar), 139,4 (C-Ar), 150,6 (C-Ar), 151,6 (C-Ar), 175,51 (C=O).

3.2.1.2 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 1-butil-2-((2,6-dimetilfenil) carbamoil) -1-piperidínio

[BUP][IBU]. Rend.: 82 %. Líquido viscoso laranja. ESI/MS (ES+) [m/z] = 289,3 (ES-) [m/z] = 205,1. Anál. Elem.C, 73,94; H, 9,27; N, 5,86. RMN ¹H 600 MHz (DMSO-d₆): 0,85 (d, 6H, 2CH₃), 0,88 (t, 3H, CH₃), 1,22-1,29 (m, 3H, CH₂, CH), 1,33 (d, 3H, CH₃), 1,51 (m, 3H, CH₂, CH), 1,60 (m, 1H, CH), 1,69-1,72 (m, 2H, CH₂), 1,79-1,85 (m, 2H, 2CH), 2,03 (m, 1H, CH), 2,13 (s, 6H, 2CH₃), 2,24 (m, 1H, CH), 2,41 (d, 2H, CH₂), 2,62-2,67 (m, 1H, CH), 2,88 (m, 1H, CH), 3,10 (d, 1H, CH), 3,62 (q, 1H, CH), 7,05 (s, 3H, CH-Ar), 7,10 (d, 2H, CH-Ar), 7,18 (d, 2H, CH-Ar), 9,10 (sinal alargado, 1H, NH); RMN ¹³C 600 MHz (DMSO-d₆): 13,9 (CH₃), 18,0 (2CH₃), 18,4 (CH₃), 20,1 (CH₂), 22,1 (CH₂), 22,9 (2CH₃), 24,7 (CH), 28,10 (CH), 29,5 (CH₂), 30,0 (CH₂), 44,1 (CH₂), 44,2 (CH), 50,9 (CH₂), 55,8 (CH₂), 67,4 (CH), 126,3 (CH-Ar), 127,0 (2CH-Ar), 127,6 (2CH-Ar), 128,9 (2CH-Ar), 134,0 (C-Ar), 135,2 (2C-Ar), 138,4 (C-Ar), 139,4 (C-Ar), 171,7 (NHCO), 175,4 (C=O).

3.2.1.3 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 2-((2,6-dimetilfenil)amino)-N,N-dietil-2-oxoetanamínio

[LID][IBU]. Rend.: 79 %. Líquido viscoso incolor. ESI/MS (ES+) [m/z] = 256,2 (ES-) [m/z] = 205,1. Anál. Elem.C, 76,72; H, 8,63; N, 3,45. RMN ¹H 600 MHz (DMSO-d₆): 0,86 (d, 6H, 2CH₃), 1,07 (t, 6H, 2CH₃), 1,34 (d, 3H, CH₃), 1,80 (m, 1H, CH), 2,13 (s, 6H, 2CH₃-Ar), 2,41 (d, 2H, CH₂), 2,62 (q, 4H, 2CH₂), 3,14 (s, 2H, CH₂), 3,62 (q, 1H, CH), 7,06 (s, 3H, 3H-Ar), 7,10 (d, 2H, 2H-Ar), 7,19 (d, 2H, 2H-Ar), 9,16 (sinal alargado, 1H, NH); RMN ¹³C 600 MHz (DMSO-d₆): 12,0 (2CH₃), 18,1 (2CH₃-Ar), 18,5 (CH₃), 22,1 (2CH₃), 29,5 (CH), 44,2 (CH), 44,3 (CH₂), 48,2 (2CH₂), 56,6 (CH₂), 126,2 (CH-Ar), 127,0 (2CH-Ar), 127,5 (2CH-Ar), 128,9 (2CH-Ar), 135,0 (2C-Ar), 135,2 (C-Ar), 138,5 (C-Ar), 139,4 (C-Ar), 169,4 (NHCO), 175,4 (C=O).

3.2.1.4 2-(4-isobutilfenil) propanoato de 2-((2,6-dimetilfenil)amino)-N,N-dietil-2-oxoetanamínio

[DIF][IBU]. Rend.: 79 %. Líquido viscoso incolor. ESI/MS (ES+) [m/z] = 256,2 (ES-) [m/z] = 205,1. Anál. Elem. C, 76,72; H, 9,14; N, 3,45. RMN ¹H 600 MHz (DMSO-d₆): 0,85 (d, 6H, 2CH₃), 1,34 (d, 3H, CH₃), 1,80 (m, 1H, CH), 2,21 (s, 6H, 2CH₃-Ar), 2,40 (d, 2H, CH₂), 2,58 (t, 2H, CH₂), 3,49 (t, 2H, CH₂), 3,60 (q, 1H, CH), 5,45 (s, 1H, CH), 7,08 (d, 2H, 2CH-Ar), 7,19 (d, 2H, 2CH-Ar), 7,23 (t, 2H, 2CH-Ar), 7,32 (t, 4H, 4CH-Ar), 7,36 (d, 4H, 4CH-Ar); RMN ¹³C 600 MHz (DMSO-d₆): 18,6 (CH₃), 22,1 (2CH₃), 29,6 (CH), 44,2 (CH₂), 44,6 (CH), 45,0 (2CH₃), 57,9 (CH₂), 66,3 (CH₂), 82,7 (CH), 126,5 (4CH-Ar), 127,0 (2CH-Ar), 127,2 (2CH-Ar), 128,2 (4CH-Ar), 128,8 (2CH-Ar), 138,9 (C-Ar), 139,3 (C-Ar), 142,5 (2C-Ar), 175,7 (C=O).

3.2.2 Síntese das sílicas MCM-41 e SBA-15

As sílicas MCM-41 e SBA-15 foram fornecidas pelo Professor Edilson Bervenutti, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, e sintetizadas segundo metodologias abaixo.

3.2.2.1 MCM-41

A sílica MCM-41 (*Mobil Crystalline Material*) foi sintetizada segundo metodologias descritas (BECK et al., 1992), com algumas modificações. Foram utilizados 2,40 g de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB), o qual foi dissolvido em frasco contendo 120 mL de água destilada e 9 mL de solução de amônia a 28%. O sistema foi aquecido a 50 ° C, sob agitação magnética. Após foi adicionado 11,4 mL de tetraetil ortosilicato (TEOS), mantido sob agitação por 24 horas. Posteriormente, a mistura foi transferida para uma autoclave e mantida a 100 ° C por 24 horas para tratamento hidrotérmico. O precipitado foi filtrado e lavado com água destilada, seco a 80 ° C por 4 horas e calcinado a 550 ° C por 6 horas.

3.2.2.2 SBA-15

A sílica SBA-15 (*Santa Barbara Amorphou*) foi sintetizada conforme metodologia reportada (ZHAO et al., 1998). Foram solubilizados 4,0 g de Pluronic 123[®] em 150 mL de ácido clorídrico (HCl – 1,6 mol L⁻¹). Após, 9,2 mL de TEOS foram adicionados sob agitação magnética. A solução foi mantida sob agitação, a 40 ° C por 24 h, em atmosfera ambiente. Em sequência, a mistura foi transferida para autoclave e aquecida a 100 ° C por 24 horas. O sólido obtido foi lavado com água destilada e seco por 2 horas a 60 ° C e calcinado a 550 ° C por 5 horas (DIDÓ et al., 2018).

3.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA SUPORTE DOS LI-IFAS NAS SÍLICAS

3.3.1 Preparação da sílica

Sílicas mesoporosas do tipo gel para cromatografia com poro de 60 Å e de 90 Å Siga-Aldrich (St. Louis, MO, USA), foram utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho. Para a calcinação, a sílica foi aquecida a 450 ° C, por 24 horas. Além disso, as sílicas MCM-41 e SBA-15 foram utilizadas com o LI-IFAs [DIF][IBU].

3.3.2 Adsorção pela solução

Os LI-IFAs utilizados foram secos sob vácuo e aquecimentos para remoção de qualquer volátil, como água ou solventes. Após, os LI-IFAs foram dissolvidos em

etanol (20 mL), em seguida, a sílica mesoporosa pré-calcinada (450°C, 24h, poro de 60 e 90 Å) foi adicionada para promover uma variação de massa de 10%, 20% e 50% e as misturas foram agitadas por 2h a temperatura ambiente (25° C), conforme já descrito por Bica e col., (2012). O solvente foi removido e as amostras mantidas sob pressão reduzida por 12h. As misturas contendo 10% e 20% de massa de LI-IFAs foram obtidas na forma de pó branco ou levemente amareladas. As misturas contendo 50% de massa de LI-IFAs, foram obtidas na forma de um material mais pastoso.

De maneira semelhantes, o LI-IFAs [DIF][IBU] foi suportado nas sílicas MCM-41 e SBA-15. O LI-IFAs [DIF][IBU] foi dissolvido em etanol (20 mL), e em seguida, a sílica (SBA-15 ou MCM-41) foi adicionada para promover uma variação de massa de 20%, e a mistura agitada por 24 horas a temperatura ambiente (25° C). O solvente foi removido e as amostras mantidas sob pressão reduzida por 12h.

3.3.3 Caracterização

Os compostos suportados nas sílicas mesoporosas 60 Å (SiO₂-60), 90 Å (SiO₂-90), SBA-15 e MCM-41 foram caracterizadas por meio da análise termogravimétrica, difração de Raios X em pó, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e adsorção/dessorção de N₂.

3.3.4 Solubilidade e Cinética de liberação

3.3.4.1 Método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um método utilizado rotineiramente no controle de qualidade de fármacos, devido sua alta sensibilidade, repetibilidade, especificidade e boa performance na análise.

3.3.4.1.1 Determinação da Linearidade

A linearidade do método proposto foi avaliada através da construção de curvas de calibração produzidas com soluções de diferentes concentrações para cada LI-

IFAs estudado. As curvas de calibração foram construídas em todos solventes de interesse no estudo: PBS pH 7,2, H₂O/EtOH 5% (v/v), PBS pH 7,2 com 1% Tween®.

As imagens das curvas de calibração, estão nos Apêndice VIII. A linearidade da curva analítica foi obtida através de regressão linear e os coeficientes de correlação linear mostram-se iguais ou superiores a 0,99.

3.3.4.2 Solubilidade

A determinação das solubilidades máximas foi realizada seguindo protocolo Flask Method (OECD, 1995). 1 mL de soluções H₂O/EtOH 5%(v/v) e PBS pH 7,2 supersaturadas dos LI-IFAs foram submetidas a agitação por 24 h à 37 ± 1°C, após esse tempo, as soluções permaneceram em repouso por 1h a 37 °C, foram retirados 100 µL do sobrenadante que foram diluídos para 1 mL, as concentrações foram determinadas por CLAE pela regressão linear: $A = axC + b$ das retas obtidas previamente (na qual A é a unidade de área obtida e C é a concentração).

3.3.4.3 Perfil de liberação

A avaliação do perfil de liberação do LI-IFAs puros e a partir das sílicas foi realizada utilizando-se a técnica de difusão em saco de diálise. Inicialmente foram preparadas suspensões de sílica/LI-IFAs 20% (SiO₂/LI-IFAs 20%) nos meios de interesse. 1 mL das suspensões foram transferidas para o interior da membrana de diálise, a qual após seu fechamento, foi colocada em um bécher contendo 30 mL dos meios (PBS pH 7,2 com 1% Tween 80® ou FGS pH1,2). Este sistema foi mantido em banho termostaticado sob agitação. Em intervalos de tempo pré-determinados (0, 5, 10, 15, 20,25, 30, 45, 60, 120, 180,240, 300 min) alíquotas de 250 µL do meio de liberação foram coletadas e analisadas por CLAE, segundo condições cromatográficas previamente estabelecidas no estudo, o volume retirado era imediatamente repostado com o meio de liberação, a fim de manter a condição *sink*, isto é, em meio de dissolução com concentração equivalente a até 10% da saturação. O ensaio foi realizado para [DIF][IBU], [LID][IBU] e [RAN][IBU] suportado nas sílicas 60 e 90 Å, bem como para o LI-IFAs puros. O perfil de liberação do LI-IFAs [DIF][IBU] suportado nas sílicas MCM-41 e SBA-15 foi realizado seguindo procedimento a cima.

Apenas os experimentos de liberação utilizando o LI-IFAs [DIF][IBU] foram realizados em duplicata. Uma vez que estes mostram boa reprodutibilidade, a liberação das demais LI-IFAs foi medida uma única vez.

As cinéticas de liberação para os LI-IFAs suportados foram obtidas pelo modelo de Higuchi, segundo Equação 20.

$$Q_t = k_H \sqrt{t} \quad (20)$$

3.4 EQUIPAMENTOS

3.4.1 Reator fotoquímico

Neste trabalho foi utilizado um sistema de irradiação que consiste numa lâmpada monocromática UV de 254 nm (Philips; 15 W, UV-C) inserida numa caixa retangular com dimensões de 53 cm de comprimento, 22 cm de largura e 24 cm de altura. O espectro de irradiação foi medido na faixa de 220-280 nm usando um Espectrorradiômetro RPS 900. O valor de irradiação foi 9,2 W m⁻². Para a irradiação das amostras, a lâmpada foi estabilizada por 10 minutos, e, foi utilizada uma cubeta retangular de quartzo com 10 mm de aresta, 4,5 cm de altura e capacidade máxima de 3,5 mL de amostra, a qual permaneceu durante a irradiação, a uma distância de 14,8 cm da lâmpada contida no sistema.

3.4.2 Ensaio por Espectrofotometria de Fluorescência

Os espectros de excitação foram obtidos entre 200 e 800 nm. Os espectros de emissão foram obtidos fixando-se os comprimentos de onda de excitação de cada LI-IFAs com máxima intensidade. Para [BUP][IBU] o comprimento de onda de excitação foi fixado em 230 nm, para [RAN][IBU] 223 nm, para [LID][IBU] 225 nm e para [DIF][IBU] 227 nm. Em todas as medidas o slit foi mantido em 5 nm. Foi utilizada uma solução hidroalcolica 50% de pH 6,8, e concentração das soluções foi 5x10⁻⁵ mol L⁻¹. As medidas foram realizadas em um espectrofotômetro de fluorescência Cary Eclipse (Varian) usando uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico. O equipamento está localizado no Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM (RS).

3.4.3 Análise Termogravimétrica

A estabilidade térmica dos compostos foi determinada por um equipamento TGA Q5000 (TA Instruments Inc. USA) sob atmosfera inerte de N_2 (50 mL min^{-1}). O equipamento é calibrado com $CaC_2O_4 \cdot H_2O$ (99,9%). A massa de amostra pesada foi de aproximadamente 2-5 mg. Os dados foram tratados utilizando o Software TA Universal Analysis 2000, versão 4.5 (TA Instruments Inc., USA). O equipamento está localizado no Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM (RS).

Capítulo I: As taxas de aquecimento utilizadas foram de 1, 5 e $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

Capítulo II: A taxa de aquecimento utilizada foi $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

3.4.4 Difração de Raios X em pó

As análises de difração de raios X pelo método do pó foi realizada nas amostras de sílica 60 e 90 \AA e SBA e MCM antes e após os LI-IFAs serem suportados, respectivamente. As análises foram realizadas em um difratômetro de pó Brucker D5005, conectado a um goniômetro. Radiação monocromática $Cu-K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ nm}$) por um cristal de grafite foi utilizada. Padrões foram coletados no modo varredura com um passo de 0,01 e contagem de tempo de 0,5 s na faixa angular de 5° a 80° com configuração $\theta - 2\theta$, usando 40 kV e 30 mA. O pó foi pressionado manualmente dentro do porta amostras. Todos os espectros de difração foram coletados em ar a temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$). O equipamento está localizado no Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM (RS).

3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da sílica SiO_2 -60 pura e suportada com os LI-IFAs 20% foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura de campo (Tescan Mira 3). Todas as amostras foram depositadas em fita de carbono e, posteriormente, revestidas com ouro antes da obtenção da imagem. O Equipamento está localizado na Universidade de Caxias do Sul (RS).

3.4.6 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A morfologia dos materiais suportados nas sílicas foi investigada com um microscópio eletrônico FEI-Morgagni 268D operando a uma voltagem de 80 kV. As amostras foram medidas a 25 °C em uma grade de cobre revestida por “carbono perfurado” (*Holey Carbon*). O equipamento está localizado no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE, Recife,-PE).

3.4.7 Adsorção/dessorção de N₂

A área superficial, volume e diâmetro de poro foram obtidos através da adsorção/dessorção de N₂, utilizando um equipamento Micromeritics ASAP2020N Surface Area and Porosity Analyzer, através de isotermas de adsorção/dessorção de N₂ a 77 K, sendo que as amostras contendo os LI-IFAs foram secas em temperatura de aproximadamente 100 °C e sob vácuo.

O método de Brunauer Emmet e Teller (BET) utilizado para o cálculo da área superficial específica. Enquanto que o a determinação do diâmetro médio de poros, volumes e distribuição de tamanho de poros, deu-se pelo método de Barret-Joyner-Halenda (BJH). O equipamento está localizado no Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM (RS).

3.4.8 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A solubilidade e a liberação em função do tempo para os LI-IFAs foram quantificadas a partir de um equipamento CLAE (série HEWLETT PACKARD 1100). Métodos individuais foram desenvolvidos para garantir que os componentes dos LI-IFAs fossem observados em diferentes tempos de retenção. Em todos os experimentos, o CLAE foi equipado com uma coluna ZORBAX Eclipse XDB-C (4,6 x 100 mm, 8 nm poro, 3,5 µm). Utilizou-se um volume de injeção de 100 µL a um fluxo de eluente 1 mL min⁻¹. O comprimento de onda de detecção no intervalo UV-Visível foi estabelecido em 210 nm. As amostras foram eluídas com uma fase móvel contendo uma mistura acetonitrila e água ultrapura em uma relação (v/v) de 60:40.

O equipamento está localizado no Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM (RS).

3.4.9 Ressonância Plasmônica de Superfície

As medidas de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR) foram realizadas em comprimento de onda 670 nm, a 25 °C e fluxo de 50 $\mu\text{L min}^{-1}$, utilizando equipamento Multi-Paramétrico de Ressonância Plasmônica de Superfície (MP-SPR) SPRNavi 200 (BioNAvis®, Finlândia). Os experimentos foram realizados utilizando um chip sensor de SiO_2 (SPR102- SiO_2). O equipamento está localizado no Centro de Ciências Naturais e Exatas da UFSM (RS).

A condição do chip sensor foi confirmada pelo modo de varredura em água. Para cada medida, o chip sensor foi inicialmente submetido à solução hidroalcoólica 50% durante 10 minutos até que a linha base estável fosse alcançada. Os experimentos consistiram de injeções de 250 μL de solução do LI-IFAs [BUP][IBU], [LID][IBU] e [DIF][IBU]. Não foi possível realizar o experimento para o LI-IFAs [RAN][IBU].

Para determinação da constante de dissociação (K_D) foram analisados os LI-IFAs que interagem com a sílica do chip injetando soluções de diferentes concentrações. Os K_D das interações LI-IFAs/ SiO_2 foram calculados com a intensidade do sinal RU registrada em 5 min para cada LI-IFAs usando o software TraceDrawer v.1.6 (Ridgeview Instruments AB, Vänge, Suécia).

3.5 ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

Os testes de atividade farmacológica foram realizados no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Santa Maria, sob supervisão da Professora Sara Marchesan de Oliveira.

3.5.1 Animais

Para os experimentos foram utilizados camundongos *Swiss* adultos machos, pesando aproximadamente 25-30 g. Os animais foram mantidos em uma sala com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), sob um ciclo claro-escuro de 12 h com livre acesso a água e comida. Os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes éticas estabelecidas para investigações de dor experimental em animais conscientes (ZIMMERMANN, 1983). O protocolo experimental seguiu a legislação nacional e

internacional para uso animal (diretrizes do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal - CONCEA - e da Política de Serviço a Saúde Pública dos EUA sobre Cuidados Humanos e Uso de Animais de Laboratório - Política PHS). Os estudos comportamentais também seguiram as diretrizes de pesquisa animal (ARRIVE - do inglês - *Animal Research: Reporting in vivo Experiments*) (MCGRATH; LILLEY, 2015) e foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA nº: 3091291117/2018). O número de animais e a intensidade de estímulos nocivos foram o mínimo necessário para demonstrar os efeitos consistentes dos tratamentos.

3.5.2 Tratamento com os LI-IFAs e sais precursores

Os animais foram tratados por via oral (v.o.) com veículo (5% de etanol e 95% de solução salina (0,9%); 10 mL kg⁻¹, v.o.), ibuprofenato de ranitidina, bupivacaína, lidocaína e difenidramina (100 mg kg⁻¹, v.o.). Os compostos ibuprofenato de sódio (300 mg kg⁻¹, v.o.) e cloridrato de difenidramina (10 mg kg⁻¹, v.o.) foram utilizados como controles positivos para o teste. Os compostos foram diluídos no veículo antes da administração oral. A capsaicina (1 nmol pata⁻¹, 20 µL) foi administrada via intraplantar (i.pl.), e, foi adquirida da Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA). Todos os testes foram realizados 1 h após a administração dos compostos. As doses usadas e o horário dos tratamentos que antecedem os testes foram baseados em estudos prévios (OLIVEIRA et al., 2009; DA SILVA BRUM et al., 2016).

3.5.3 Nociceção espontânea induzida por capsaicina

Primeiramente os animais foram habituados ao local de observação, que consistiu de uma câmara de vidro, durante pelo menos 30 minutos antes do experimento. Posteriormente à habituação, os animais foram tratados com veículo (10 mL kg⁻¹, v.o.) ou com os LI-IFAs ([RAN][IBU]; [BUP][IBU]; [DIF][IBU] e [LID][IBU]; 100 mg kg⁻¹, v.o.), 1 hora depois dos tratamentos foram injetados 20 µL de capsaicina (1 nmol pata⁻¹) intraplantarmente (i.pl.) na pata traseira direita dos camundongos. O tempo total gasto pelo animal para lambe a pata injetada foi cronometrado durante 5 min como um índice de nociceção (OLIVEIRA et al., 2009; DA SILVA BRUM et al., 2016).

Também foi avaliado no teste da capsaicina uma curva de dose-resposta (10, 30, 60, 100 mg kg⁻¹, v.o.) para o LI-IFAs [DIF][IBU] (que apresentou melhor efeito no teste anterior), assim como seus respectivos controles cloridrato de difenidramina (10 mg kg⁻¹, v.o.) e ibuprofenato sódico (300 mg kg⁻¹, v.o.). Além disso, o LI-IFAs [DIF][IBU] suportados nas sílicas de 60 Å e 90 Å foi avaliado na dose de 100 mg kg⁻¹, v.o.

3.5.4 Alodínia Mecânica

A medida da alodínia mecânica foi avaliada usando o paradigma Up-and-Down, como descrito anteriormente por Oliveira e col. (2016). Os camundongos foram aclimatados primeiramente em caixas de Plexiglas individuais (7 x 9 x 11 cm) sobre uma plataforma elevada de malha de arame para permitir o acesso à superfície plantar das patas traseiras. Os filamentos de von Frey de intensidades crescentes (0,02-10,0 g) foram aplicados à superfície plantar da pata traseira dos camundongos com uma pressão fazendo com que o filamento dobre. A ausência de um levantamento da pata após 5 segundos levou à utilização do próximo filamento da escala com maior intensidade. A ocorrência de um levantamento da pata, indicando uma resposta positiva frente ao estímulo aplicado, levou à utilização do próximo filamento da escala com menor intensidade. Este paradigma foi continuado até um total de seis medidas ou até quatro respostas positivas ou quatro respostas negativas consecutivas. O limiar mecânico de retirada de pata (LRP) foi calculado a partir das pontuações resultantes tal como descrito anteriormente por Dixon (1980). O LRP foi expresso em gramas (g) e avaliado várias vezes após as injeções.

Para verificar se os compostos causavam alterações no limiar mecânico dos animais em condições fisiológicas, ou seja, sem a indução de qualquer modelo de dor, primeiramente foi avaliado o limiar mecânico basal dos animais (B; antes dos tratamentos). Em seguida eles foram tratados com veículo (10 mL kg⁻¹, v.o.) ou com os LI-IFAs ([RAN][IBU]; [BUP][IBU]; [DIF][IBU] e [LID][IBU]; 100 mg kg⁻¹, v.o.).

Também foi avaliado o limiar mecânico dos animais após a administração de diferentes doses (curva dose-resposta: 10, 30, 60 e 100 mg kg⁻¹, v.o.) para o LI-IFAs [DIF][IBU] (que apresentou melhor efeito no teste da capsaicina) assim como seus respectivos precursores como controles, cloridrato de difenidramina (10 mg kg⁻¹, v.o.) e o ibuprofenato sódico (300 mg kg⁻¹, v.o.).

Além disso, o LI-IFAs [DIF][IBU] (100 mg kg^{-1} , v.o.) suportado nas sílicas de 60 Å e 90 Å foi avaliado para ambos, o limiar mecânico e a nocicepção espontânea.

3.5.5 Avaliação da atividade locomotora

Para avaliar possíveis efeitos sedativos ou relaxantes musculares não específicos a atividade locomotora forçada foi analisada através do teste do cilindro giratório (BRUSCO et al., 2017). Esse teste consiste em um cilindro giratório (3,7 cm de diâmetro, com velocidade de 8 rpm) onde os animais foram treinados até permanecerem no aparelho por 60 segundos sem cair. No dia do teste, o número de quedas dos animais do cilindro em movimento foi avaliado durante 4 min.

Os animais foram tratados por via oral com veículo (10 mL kg^{-1} , v.o.) ou com os LI-IFAs ([RAN][IBU]; [BUP][IBU]; [DIF][IBU] e [LID][IBU]; 100 mg kg^{-1} , v.o.).

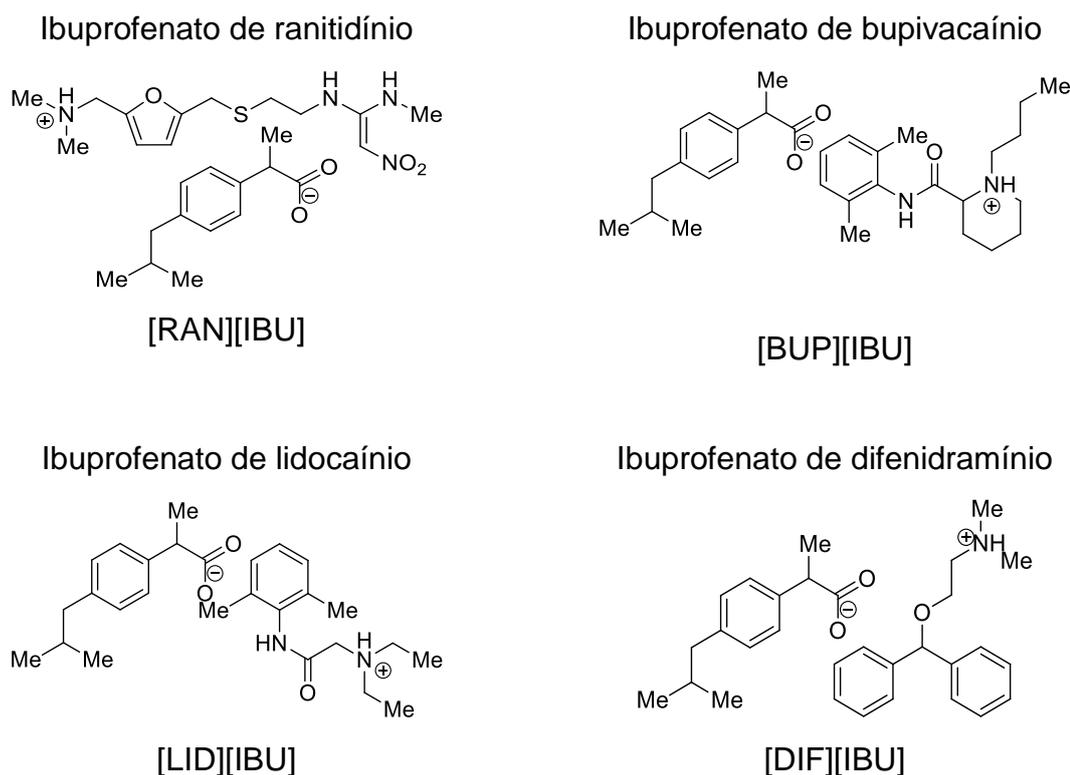
Também foi avaliada a atividade locomotora dos animais que receberam diferentes doses (curva dose-resposta: 10, 30, 60 e 100 mg kg^{-1} , v.o.) LI-IFAs [DIF][IBU] (que apresentou melhor efeito no teste da capsaicina) assim como seus respectivos precursores como controles, cloridrato de difenidramina (10 mg kg^{-1} , v.o.) e o ibuprofenato sódico (300 mg kg^{-1} , v.o.).

A atividade locomotora foi também avaliada em animais que receberam a administração do LI-IFAs [DIF][IBU] (100 mg kg^{-1} , v.o.) suportado nas sílicas de 60 Å e 90 Å.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o desenvolvimento deste trabalho foram selecionados quatro LI-IFAs formados pelo ânion ibuprofenato e os seguintes cátions: ranitidínio, bupivacaínio, difenidramínio e lidocaínio. Estes LI-IFAs foram selecionados considerando-se as atividades anti-inflamatória e analgésica do ibuprofeno, que é o um dos fármacos amplamente utilizado. Os LI-IFAs utilizados neste trabalho foram sintetizados e caracterizados previamente, segundo metodologias já descritas (FRIZZO et al., 2016). Para um melhor entendimento dos resultados apresentados, adotou-se um sistema de siglas para os LI-IFAs. Estas siglas foram adotadas de acordo com as estruturas e nomes comuns dos cátions e ânions, conforme Figura 27.

Figura 27 - Estruturas e siglas dos LI-IFAs estudados nesta Tese.



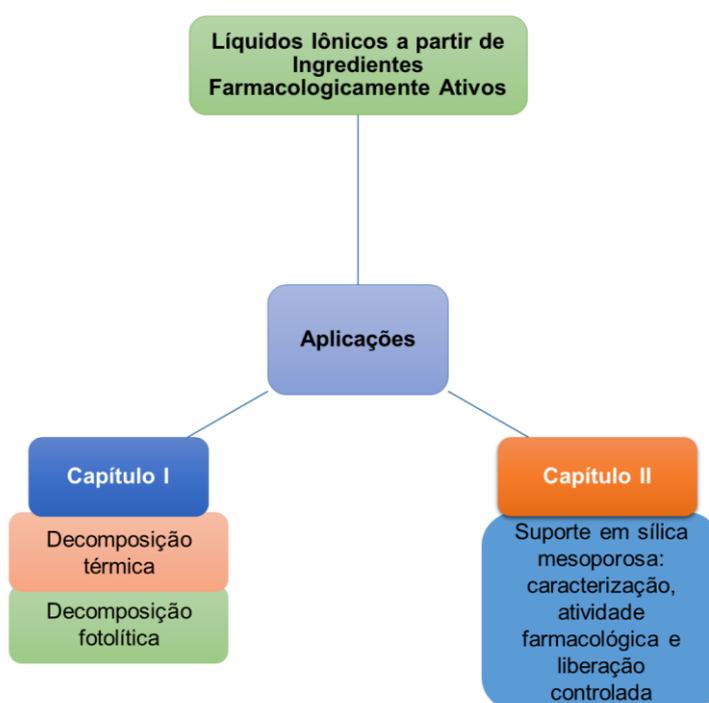
Este capítulo está organizado em dois sub-capítulos: Capítulo I e Capítulo II (Figura 28).

Os resultados do Capítulo I são referentes ao estudo de degradação dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno tais como: (i) degradação térmica; (ii) degradação fotolítica; (iii) degradação fotoquímica.

Os resultados do Capítulo II são referentes ao estudo das propriedades dos LI-IFAs suportados em sílica mesoporosa, tais como: (i) estabilidade dos LI-IFAs; (ii) morfologia (iii) cinética de liberação *in vitro*.

Desta forma, essa parte da tese tem a finalidade de apresentar os resultados referentes às propriedades físico-químicas de degradação dos LI-IFAs e das propriedades resultantes da interação destes LI-IFAs com sílica mesoporosa.

Figura 28 - Esquema geral da divisão de capítulos.



CAPITULO I

4.1 ESTABILIDADE TÉRMICA E DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE LÍQUIDOS IÔNICOS FARMACOLOGICAMENTE ATIVOS

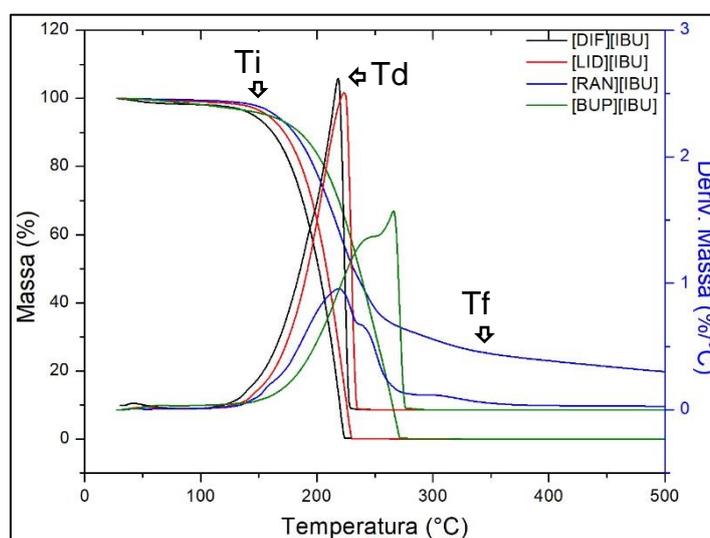
O estudo de degradação térmica e oxidativa foi realizado a fim de obter informações sobre a estabilidade dos LI-IFAs com as mudanças de temperatura, exposição a luz UV-C e agentes oxidantes (H_2O_2). Uma vez que estes LI-IFAs apresentam potencial uso farmacêutico estas propriedades são de fundamental importância considerando-se a manufatura, condições e tempo de estocagem.

4.1.1 Degradação térmica

4.1.1.1 Efeito da velocidade de aquecimento no comportamento térmico dos LI-IFAs

O método termogravimétrico (TG) utilizado no desenvolvimento deste trabalho é considerado um método dinâmico também chamado não-isotérmico, no qual a perda de massa é registrada continuamente à medida que a temperatura aumenta a uma razão constante ou linear. Os perfis de degradação dos LI-IFAs na taxa de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ estão demonstrados na Figura 29.

Figura 29 - TG e DTG dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno em uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.



Nas curvas de TG, a perda de massa (expressa no eixo vertical em porcentagem) é caracterizada por duas temperaturas T_i e T_f . T_i é a temperatura inicial da degradação e T_f é a temperatura final. Neste trabalho T_i e T_f estão representados por ΔT , que corresponde a faixa onde ocorre perda de massa visível (Figura 29).

Os LI-IFAs foram submetidos a três taxas de aquecimento, 1, 5 e 10 °C min⁻¹. As curvas de TGA nestas taxas de aquecimento do [BUP][IBU] são mostradas na Figura 30. A curva de TGA do [BUP][IBU] apresentou apenas um pico na derivada de perda de massa (DTG), indicando que a degradação térmica desse composto ocorre em uma única etapa, nas condições avaliadas. Os demais LI-IFAs apresentaram comportamento semelhante e os perfis de degradação estão demonstrados no Apêndice I. Em todas as taxas, um comportamento similar é observado, e um pequeno deslocamento no perfil das curvas termogravimétricas ocorre em função do aumento da taxa de aquecimento. Conforme Tabela 3 o mesmo comportamento é observado para os demais LI-IFAs derivados do ibuprofeno. De acordo com os dados de TG/DTG, uma única etapa de perda de massa foi observada com $\Delta m > 95\%$ para [BUP][IBU], [LID][IBU], [DIF][IBU] e $\Delta m < 90\%$ para [RAN][IBU].

As variações dos picos de temperatura de degradação observadas nas curvas TG/DTG foram utilizadas para determinar os parâmetros termocinéticos dos LI-IFAS

Figura 30 - Perfil de decomposição de [BUP][IBU] nas taxas 1, 5 e 10 °C min⁻¹.

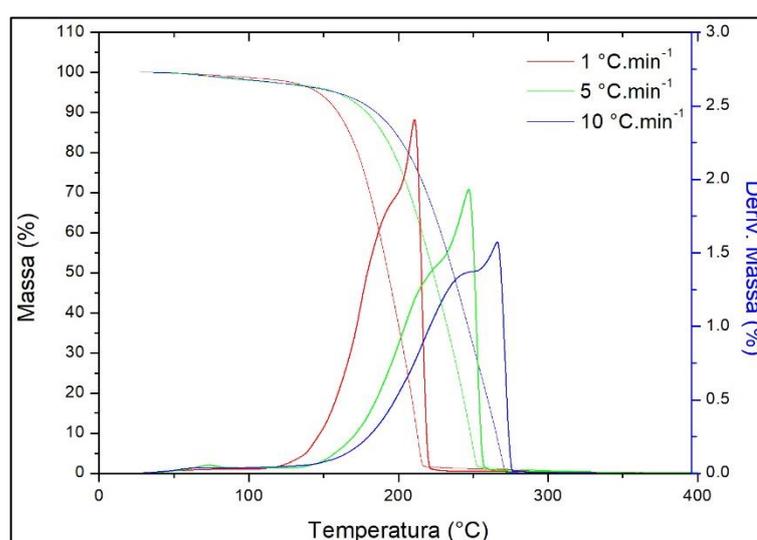


Tabela 3 - Resultados de TG/DTG dos LI-IFAs derivados do ibuprofeno.

Taxa de aquecimento (°C min ⁻¹)	[DIF][IBU]			[LID][IBU]		
	ΔT^a (°C)	T_d^b	% Perda de massa	ΔT (°C)	T_d	% Perda de massa
1	94-176	161	98	107-188	172	98
5	115-214	197	98	123-219	203	98
10	120-242	218	98	137-247	223	99
Taxa de aquecimento (°C min ⁻¹)	[RAN][IBU]			[BUP][IBU]		
	ΔT (°C)	T_d	% Perda de massa	ΔT (°C)	T_d	% Perda de massa
1	59-661	179	82	113-243	210,2	97
5	109-629	200	82	125-301	245,3	97
10	132-601	219	81	135-321	266,3	97

^a ΔT = faixa de decomposição dos LI-IFAs ($T_i - T_f$). ^b T_d = temperatura de máxima decomposição.

4.1.2 Parâmetros termocinéticos

A degradação térmica dos LI-IFAs foi determinada experimentalmente usando a técnica de TG dinâmica. Os parâmetros cinéticos foram calculados utilizando o método diferencial de Friedman (FRIEDMAN, 2007) e o método integral de Ozawa-Flynn-Wall (O-F-W) (OZAWA, 1965).

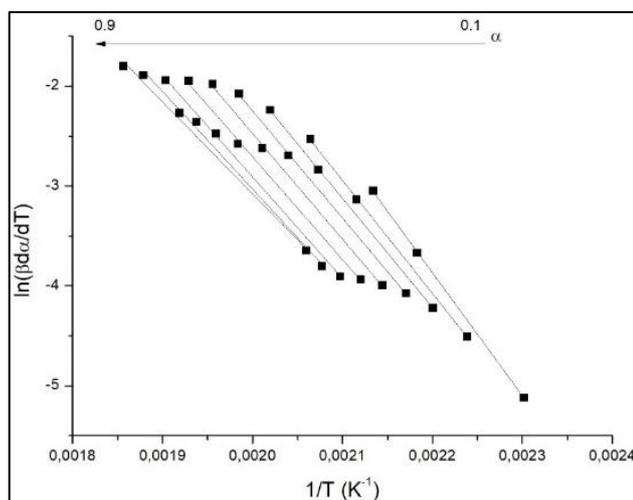
4.1.2.1 Método de Friedman

O método de Friedman é baseado na suposição de que o modelo da reação é independente do programa de aquecimento e depende apenas da velocidade de perda de massa. De acordo com esse método de análise cinética, para uma série de experimentos realizados em diferentes taxas de aquecimento é possível determinar o valor da energia de ativação (E_a), para cada fração de conversão de massa, α . Um gráfico $\ln(\beta d\alpha/dT)$ em função de $1/T$, para condições não isotérmicas produz uma reta cujo coeficiente angular é igual a E_a/R , conforme descrito na Equação 6, em que $f(\alpha)$

será igual a $(1 - \alpha)$. Os dados obtidos para [BUP][IBU] são mostrados na Figura 31. Os gráficos correspondentes aos outros LI-IFAs encontram-se no Apêndice I.

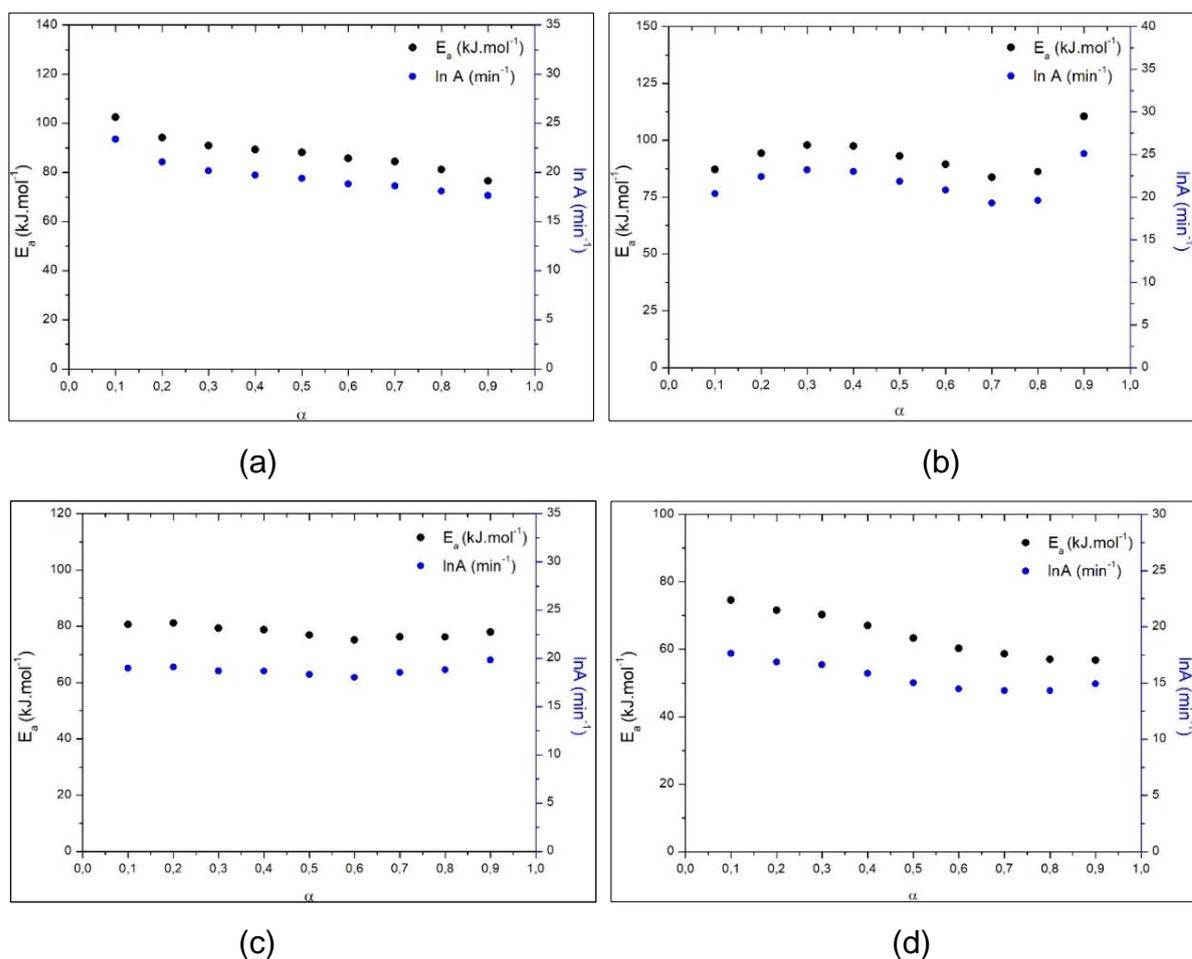
$$\ln \left[\frac{d\alpha}{dT} \right] \beta = \ln[Af(\alpha)] - \frac{E}{RT} \quad (6)$$

Figura 31 - Gráfico $\ln(\beta d\alpha/dT)$ versus $1/T$ obtidos pelo método de Friedman para [BUP][IBU].



Os valores de E_a assumidos na faixa de fração de conversão de massa (α), entre 0,1 e 0,9 variaram para todos os LI-IFAs, conforme pode ser visto nas Figuras (32 a-d). Para [BUP][IBU], com o aumento de α , os valores de E_a e $\ln A$ diminuíram. Para [RAN][IBU] houve um aumento de E_a e $\ln A$ quando $0,1 > \alpha < 0,4$, e quando $0,5 > \alpha < 0,8$ houve uma diminuição destes parâmetros, e novamente um aumento em α 0,9. [LID][IBU] apresentou valores de E_a e $\ln A$ com mudanças menos significativas com o aumento de α , e [DIF][IBU], apresentou diminuição de E_a e $\ln A$ com aumento de α . Este comportamento observado nos LI-IFAs permite considerar a hipótese de que mais de uma reação ocorre no processo de decomposição dos mesmos (TITA et al., 2010). Sabe-se que a decomposição de fármacos é um processo complexo que tende a ocorrer em vários estágios. Dentro deste processo complexo e simultâneo, reações competitivas e consecutivas podem ocorrer (MARIAN et al., 2013).

Figura 32 - Gráficos das energias de ativação (E_a) e fatores de frequência (A) para cada fração de conversão de massa, α , para os LI-IFAS (a) [BUP][IBU]; (b) [RAN][IBU]; (c) [LID][IBU]; (d) [DIF][IBU]. Obtidos pelo método de Friedman.



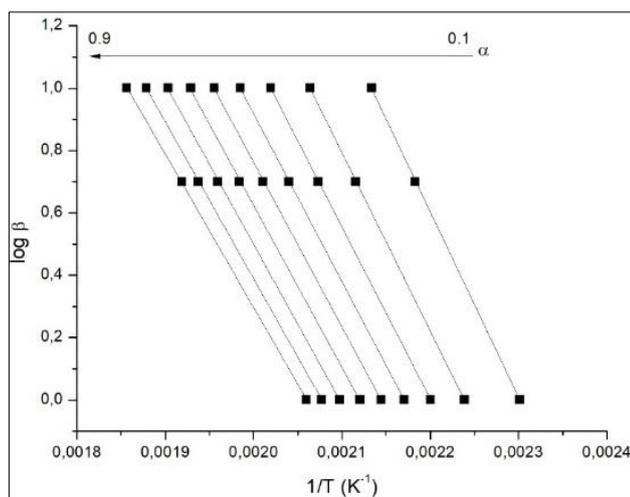
4.1.3.2 Método de Ozawa- Flynn-Wall

O método de O-F-W permite a determinação da energia de ativação a partir dos dados termogravimétricos não isotérmicos em diferentes taxas de aquecimento, sem um conhecimento prévio da fração de conversão de massa e do fator de frequência. A base de cálculo para o método de O-F-W é descrita pela Equação 7.

$$\log \beta = \log \left[\frac{AE}{Rg(\alpha)} \right] - 2,315 - 0,4567 \frac{E}{RT} \quad (7)$$

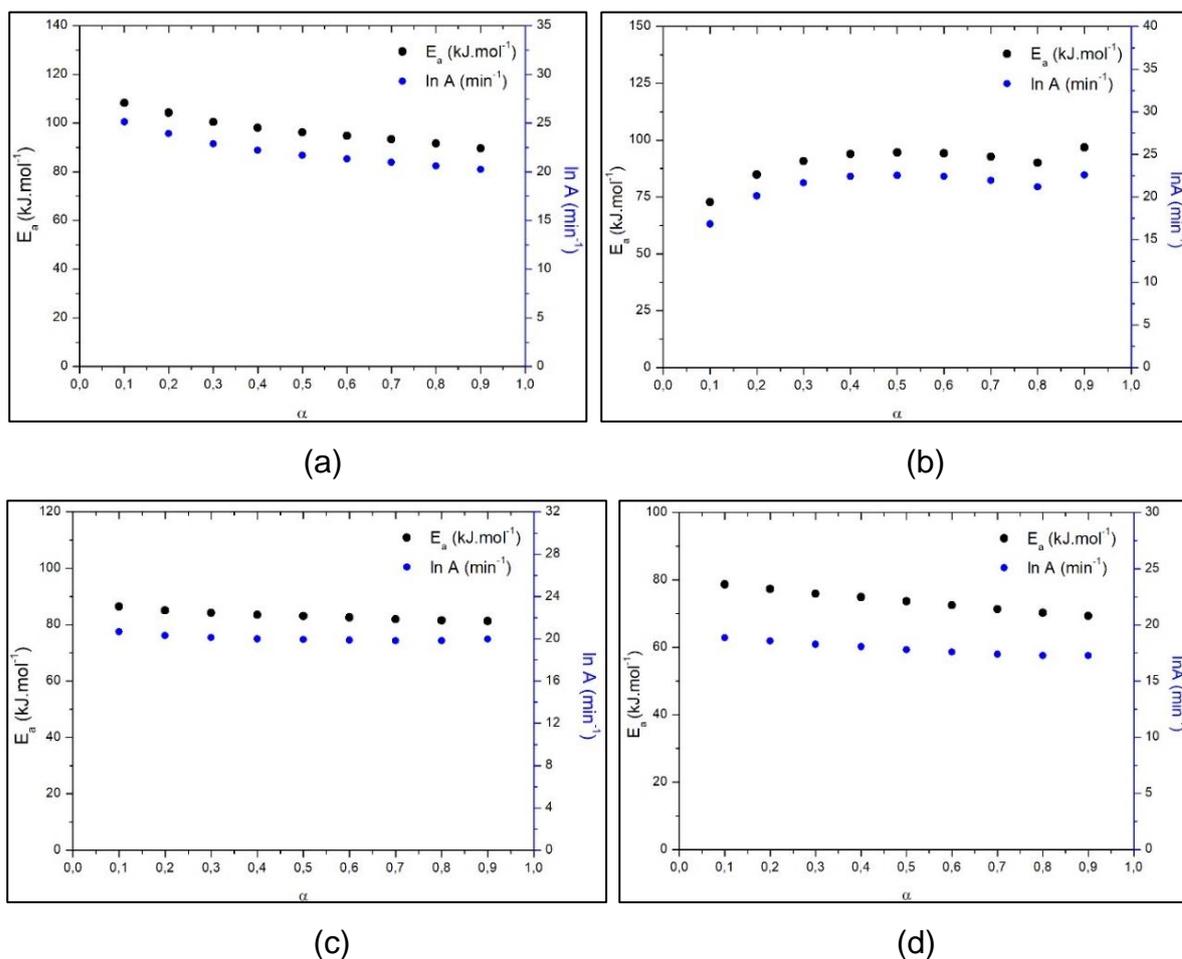
Pelo gráfico de $\log \beta$ versus $1/T$, para cada valor de fração de conversão de massa é possível determinar a energia de ativação pelo coeficiente angular da curva, $-E_a/R$. A Figura 33 apresenta os dados obtidos para [BUP][IBU]. Os gráficos correspondentes aos outros LI-IFAs encontram-se no Apêndice I.

Figura 33 - Gráfico $\log \beta$ versus $1/T$ obtidos pelo método de Ozawa-Flynn-Wall para [BUP][IBU].



De modo geral, os perfis de decomposição dos LI-IFAs obtidos pelo método de O-F-W foram muito semelhantes aos obtidos pelo método de Friedman como mostrado na Figura 34.

Figura 34 - Gráficos das energias de ativação (E_a) e fatores de frequência (A) para cada fração de conversão de massa, α , para os LI-IFAS (a) [BUP][IBU]; (b) [RAN][IBU]; (c) [LID][IBU]; (d) [DIF][IBU]. Obtidos pelo método de O-F-W.



Como pode ser visto na Tabela 4, os valores de E_a e $\ln A$ para os métodos de Friendam e O-F-W são similares. Esta comparação sugere que os dados podem ser calculados aplicando diferentes métodos cinéticos em cada composto. A Tabela 4 apresenta os valores obtidos pelos dois métodos nas frações de conversão de massa, 0,1 e 0,5, que correspondem a 10% e 50% de perda de atividade, respectivamente.

Tabela 4 - Parâmetros cinéticos das reações de decomposição dos LI-IFAs obtidos pelos métodos de Friedman e O-F-W.

LI-IFAs	Friedman		O-W-F	
	E_a (kJ mol ⁻¹)	ln A (min ⁻¹)	E_a (kJ mol ⁻¹)	ln A (min ⁻¹)
[RAN][IBU]	87,1 ^a	20,4 ^a	72,7 ^a	16,8 ^a
	93,2 ^b	21,7 ^b	94,5 ^b	22,5 ^b
[BUP][IBU]	102,6 ^a	23,4 ^a	108,3 ^a	25,1 ^a
	88,1 ^b	19,4 ^b	96,2 ^b	21,7 ^b
[LID][IBU]	80,6 ^a	19,0 ^a	86,5 ^a	20,7 ^a
	76,9 ^b	18,3 ^b	83,5 ^b	20,0 ^b
[DIF][IBU]	74,5 ^a	17,4 ^a	78,7 ^a	18,8 ^a
	63,3 ^b	15,0 ^b	73,7 ^b	17,8 ^b

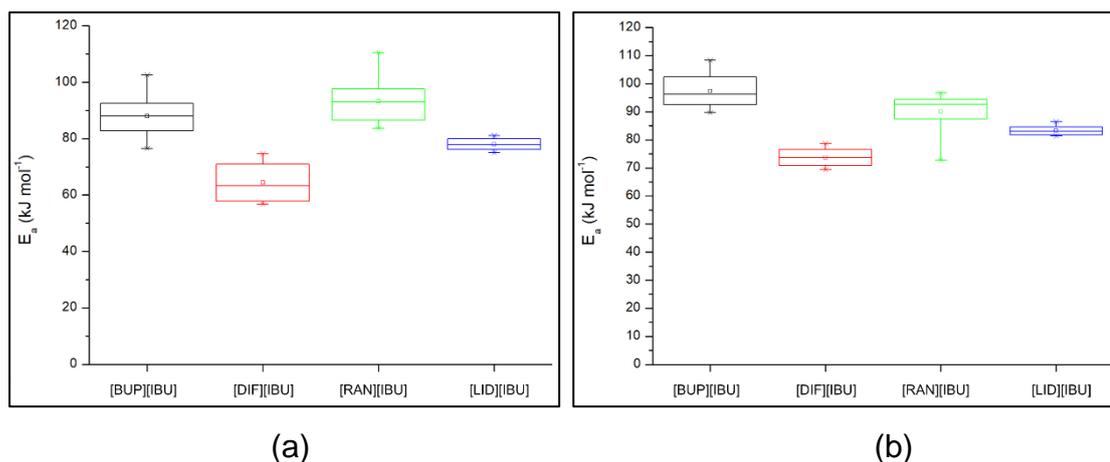
^aFator de conversão $\alpha = 0.1$.^bFator de conversão $\alpha = 0.5$.

Os valores de E_a correspondem a diferença de energia entre os reagentes e o estado de transição. Quanto maior o valor de E_a , mais energia é necessária para os reagentes (moléculas dos LI-IFAs) atingirem o estado de transição da reação de decomposição. Sendo assim, pode-se assumir uma ordem crescente de estabilidade para os LI-IFAs, considerando 50% de perda de atividade: [DIF][IBU] < [LID][IBU] < [BUP][IBU] < [RAN][IBU]. Esta sequência é observada tanto na E_a determinada por Friedman, quanto na E_a determinada por O-F-W. A diferença no perfil de E_a em função de α – observada para esta série de LI-IFAs – mostra que os cátions são determinantes na degradação térmica dos LI-IFAs baseados no ibuprofeno.

Uma vez que os valores das E_a dos LI-IFAs mostraram-se próximos, utilizando ANOVA e aplicando o teste de Bonferroni a comparação das médias com $p > 0,05$ foi realizada. Na Figura 35-a é mostrado o boxchart de comparação das medidas das E_a calculadas pelo método de Friedman para os LI-IFAs. Considerando um intervalo de 95% de confiança não há diferença estatística nos valores de E_a entre [RAN][IBU] e [BUP][IBU]. Em relação aos demais LI-IFAs há diferenças estatísticas. Entretanto, quando são comparadas as médias das E_a estimadas pelo método O-F-W (Figura 35-b) diferenças estatísticas entre todas as amostras foram observadas. A diferença está no fato que o método O-F-W utiliza uma aproximação para a integral de Arrhenius.

Desta forma, a ordem de estabilidade atribuída para o método de Friedman é $[RAN][IBU] = [BUP][IBU] > [LID][IBU] > [DIF][IBU]$, e para o método de O-F-W é $[BUP][IBU] > [RAN][IBU] > [LID][IBU] > [DIF][IBU]$.

Figura 35 - Comparação das médias de E_a calculadas pelos métodos de (a) Friedman; (b) O-F-W, com $p > 0,05$.



4.1.3 Parâmetros termodinâmicos

Os parâmetros cinéticos (E_a e $\ln A$) obtidos pelos métodos de Friedman e O-F-W foram utilizados para obtenção da energia de Gibbs (ΔG^\ddagger), entalpia (ΔH^\ddagger) e entropia (ΔS^\ddagger) para a formação do complexo ativado da reação de degradação térmica de cada um dos LI-IFAs (Tabela 5). Os parâmetros de ativação foram calculados a 25 °C (298,15 K) utilizando valores de E_a e $\ln A$ em $\alpha = 0,1$ e $0,5$. A determinação dos parâmetros nestes valores de α são importantes do ponto de vista farmacêutico, pois 10% de perda de atividade está geralmente associada ao tempo de prateleira, enquanto que 50% de perda de atividade está relacionada ao tempo de meia-vida dos compostos.

O ΔG^\ddagger é influenciado pelo ΔH^\ddagger e ΔS^\ddagger da formação do complexo ativado. Os valores de entalpia de ativação mostram as diferenças de energia entre o complexo ativado e a estrutura inicial dos LI-IFAs. Como esperado, os valores de ΔG^\ddagger e ΔH^\ddagger são positivos, devido a degradação térmica ser um processo endergônico, ou seja, que as formações dos estados de transição dos LI-IFAs são não-espontâneas e dependentes do aquecimento. Quanto maior e mais positivo os valores de ΔH^\ddagger , mais energia é

necessária para quebrar as ligações covalentes dos LI-IFAs. Os valores de ΔH^\ddagger confirmam a ordem de estabilidade estimada baseada nos valores de E_a para os LI-IFAs para ambos métodos. A ΔS^\ddagger é uma medida da ordem gerada ou perdida quando se compara o complexo ativado com os reagentes. Baixos valores de entropia de ativação indicam a baixa reatividade dos compostos. Assim, os valores negativos de ΔS^\ddagger para a degradação destes LI-IFAs confirmam que o complexo ativado do processo de degradação tem um alto grau de organização, ou seja, o complexo ativado é mais organizado em relação aos reagentes (LI-IFAs) (SHAMSIPUR et al., 2013).

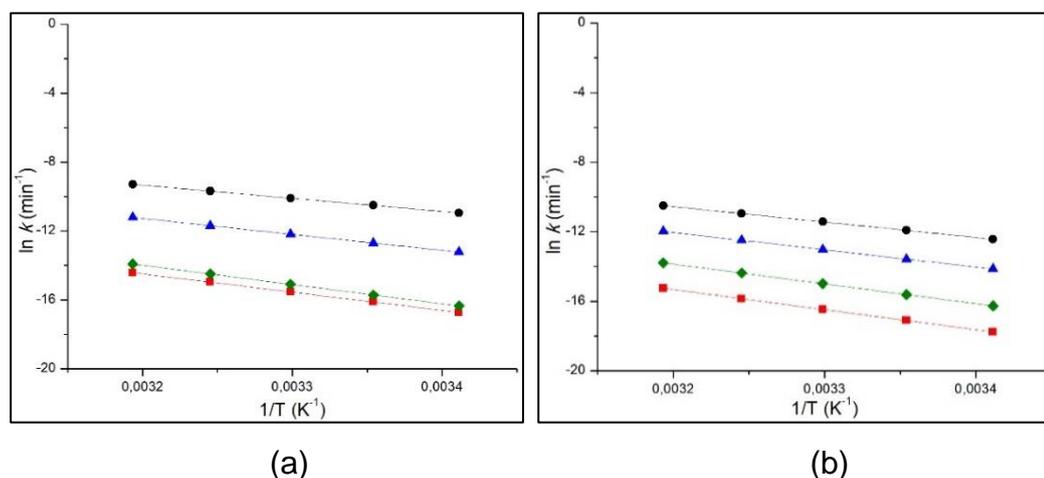
Tabela 5 - Comparação entre os parâmetros termodinâmicos para a degradação térmica dos LI-IFAs obtidos pelos métodos de Friedman e O-F-W a 298,15 K (25 °C).

LI-IFAs	Friedman				O-F-W			
	ΔG^\ddagger kJmol ⁻¹	ΔH^\ddagger kJmol ⁻¹	ΔS^\ddagger kJmol ⁻¹ K ⁻¹	$-T\Delta S^\ddagger$ kJ mol ⁻¹	ΔG^\ddagger kJmol ⁻¹	ΔH^\ddagger kJmol ⁻¹	ΔS^\ddagger kJ mol ⁻¹ K ⁻¹	$-T\Delta S^\ddagger$ kJmol ⁻¹
[RAN][IBU]	119,6 ^a	84,5 ^a	-0,118 ^a	35,1 ^a	114,1 ^a	70,2 ^a	-0,147 ^a	43,9 ^a
	139,5 ^b	107,9 ^b	-0,105 ^b	31,6 ^b	121,9 ^b	92,1 ^b	-0,099 ^b	29,8 ^b
[BUP][IBU]	127,8 ^a	100,0 ^a	-0,093 ^a	27,7 ^a	129,2 ^a	105,8 ^a	-0,078 ^a	23,4 ^a
	123,1 ^b	85,6 ^b	-0,126 ^b	37,5 ^b	125,6 ^b	93,7 ^b	-0,107 ^b	31,9 ^b
[LID][IBU]	116,8 ^a	78,2 ^a	-0,130 ^a	38,6 ^a	118,4 ^a	84,0 ^a	-0,116 ^a	34,4 ^a
	114,6 ^b	74,4 ^b	-0,135 ^b	40,2 ^b	116,8 ^b	80,6 ^b	-0,122 ^b	36,2 ^b
[DIF][IBU]	114,0 ^a	72,0 ^a	-0,141 ^a	41,9 ^a	115,1 ^a	76,2 ^a	-0,130 ^a	8,9 ^a
	109,2 ^b	60,8 ^b	-0,162 ^b	48,4 ^b	112,7 ^b	71,2 ^b	-0,139 ^b	41,5 ^b

^aFator de conversão $\alpha = 0,1$. ^bFator de conversão $\alpha = 0,5$.

As Figuras 36 a-b demonstram o $\ln k$ versus $1/T$ para a degradação térmica dos LI-IFAs em $\alpha = 0,5$ nas temperaturas de 20-40 °C. Como observado, a cinética de reação de primeira ordem é descrita pela equação de Arrhenius. As retas mostraram a mesma tendência para ambos os métodos analisados. Contudo no método de Friedman, as retas de [BUP][IBU] e [RAN][IBU] ficam mais próximas, e no método de O-F-W, as retas estão separadas.

Figura 36 - Relação entre $\ln k$ versus $1/T$ em 50 % de perda de atividade. (a) Método de Friedman. (b) Método de O-F-W. Para (●) [DIF][IBU], (▲) [LID][IBU], (◆) [RAN][IBU], (■) [BUP][IBU].



Os resultados da cinética de degradação térmica e as constantes de velocidade dos LI-IFAs mostraram que os compostos [RAN][IBU] e [BUP][IBU] são termicamente mais estáveis e possuem um maior tempo de prateleira. Por outro lado, [LID][IBU] e [DIF][IBU] possuem baixas estabilidades térmicas. Os tempos de meia-vida para os LI-IFAs foram calculados para $\alpha = 0,5$ usando a Eq. 21 e estão mostrados na Tabela 6.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (21)$$

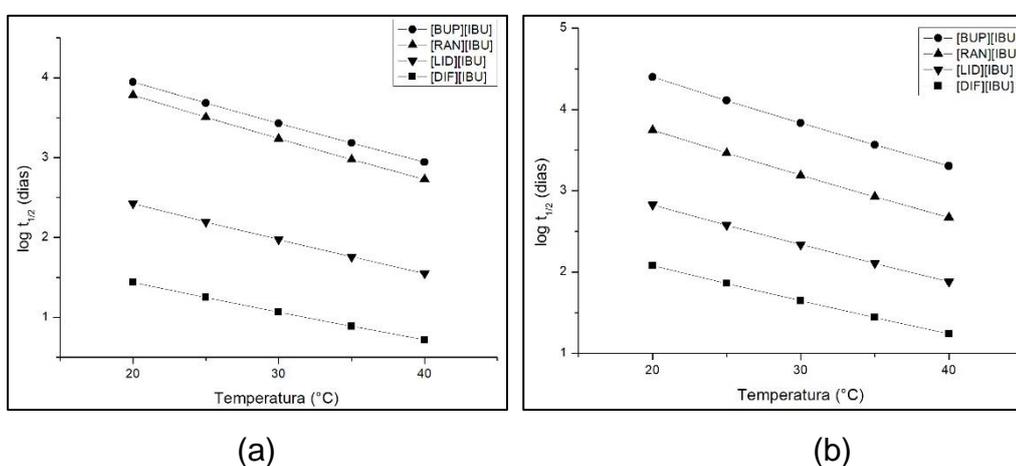
Tabela 6 - Constante de velocidade de reação (k) e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) dos LI-IFAs a 25°C. para $\alpha 0,5$.

LI-IFAs	Friedman		O-F-W	
	$k \cdot 10^{-6}(\text{min}^{-1})$	$t_{1/2}$	$k \cdot 10^{-6}(\text{min}^{-1})$	$t_{1/2}$
[RAN][IBU]	0,2	9 ^a	0,2	8 ^a
[BUP][IBU]	0,1	13 ^a	0,04	35 ^a
[LID][IBU]	3,1	157 ^b	1,3	379 ^b
[DIF][IBU]	27,0	18 ^b	6,6	72 ^b

^ameia-vida em anos; ^bmeia-vida em dias.

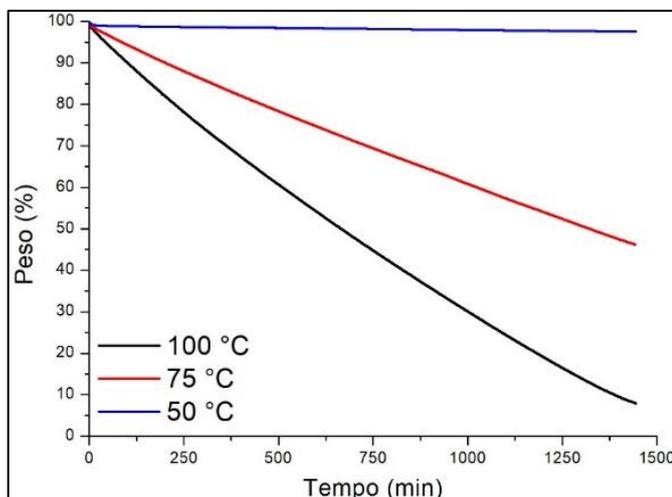
Como pode ser observado na Figura 37, variações na temperatura de armazenamento dos LI-IFAs (20-40 °C) mostraram efeito significativo sobre a meia-vida. Ou seja, o tempo de meia-vida é um parâmetro fortemente dependente da temperatura e decresce com o aumento da mesma. A Figura 37 ainda mostram, que os LI-IFAs [LID][IBU] e [DIF][IBU] são mais sensíveis ao calor, em comparação a [RAN][IBU] e [BUP][IBU]. Esta tendência foi observada tanto para o método de Friedman, quando para O-F-W.

Figura 37 - Tempo de meia-vida dos LI-IFAs para α 0,5 na faixa de temperatura 20-40°C. (a) Método de Friedman; (b) Método de O-F-W.



Uma vez que o [DIF][IBU] apresentou a menor estabilidade térmica consequentemente menores tempos de meia-vida pelos métodos de determinação dinâmicos (Friedman e O-F-W), o método isotérmico foi aplicado ao composto. Em um método isotérmico, a amostra é mantida a uma temperatura constante por um período de tempo enquanto a perda de massa é registrada. Do ponto de vista de aplicações farmacêuticas, os LI-IFAs devem ser estáveis a temperaturas constantes por um determinado tempo (horas, dias ou meses). Neste sentido, o método isotérmico é mais realista quanto ao dado de estabilidade térmica. A Figura 38 mostra as curvas de TGA pelo método isotérmico de [DIF][IBU] obtidas em diferentes temperaturas por um período de 24 h, sob atmosfera de N₂.

Figura 38 - TG isotérmica do [DIF][IBU] obtida sob atmosfera de N₂ a 50 °C (azul), 75 °C (vermelha) e 100 °C (preta).



Este gráfico claramente mostra que [DIF][IBU] tem uma estabilidade térmica melhor na temperatura de 50 °C (Tabela 7) e não é estável em altas temperaturas (100 °C).

Uma comparação sobre a influência da atmosfera na estabilidade térmica do [DIF][IBU] também foi realizada sob atmosfera de ar e N₂ em método isotérmico e 100°C. Os resultados da Tabela 8 e da Figura 39 mostram que o [DIF][IBU] é mais estável sob atmosfera de N₂ do que ar. Sob atmosfera de N₂ para que ocorresse 50% da perda de massa, foram necessários 663 minutos, enquanto que em ar, essa mesma perda precisou de 155 minutos menos. Esta diferença de estabilidade com a mudança da atmosfera, deve-se ao fato de que na presença de oxigênio os LI-IFAs sofrem reações de peroxidação, o que acelera o processo de degradação (MATON; DE VOS; STEVENS, 2013).

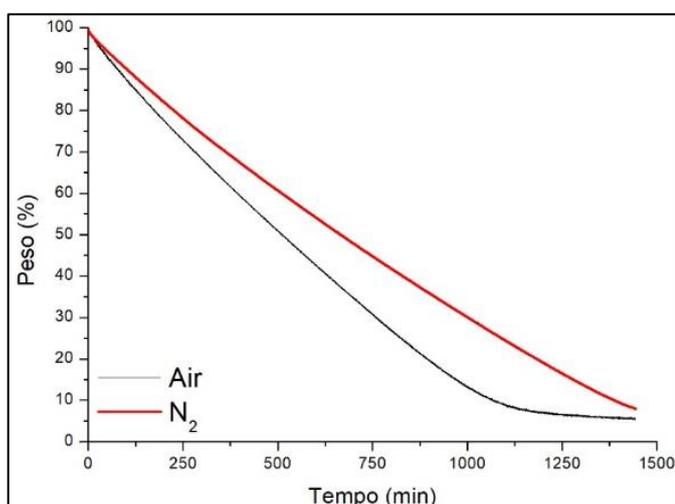
Tabela 7 - Perda de massa do [DIF][IBU] após 24 horas de exposição em diferentes temperaturas, sob atmosfera de N₂.

Temperature (°C)	t _{d50} (min)	Δm (%)
50	-	2
75	-	52
100	663	92

Tabela 8 - Perda de massa de [DIF][IBU] após 24 h de exposição a 100 °C sob atmosfera de N₂ e ar.

Atmosfera	t _{50onset} (min)	Δm (%)
N ₂	663	92
Air	508	95

Figura 39 - Curvas de TG isotérmico do [DIF][IBU] obtidas a 100 °C sob atmosfera de N₂ (vermelha) e ar (preta) após 24 h de exposição.

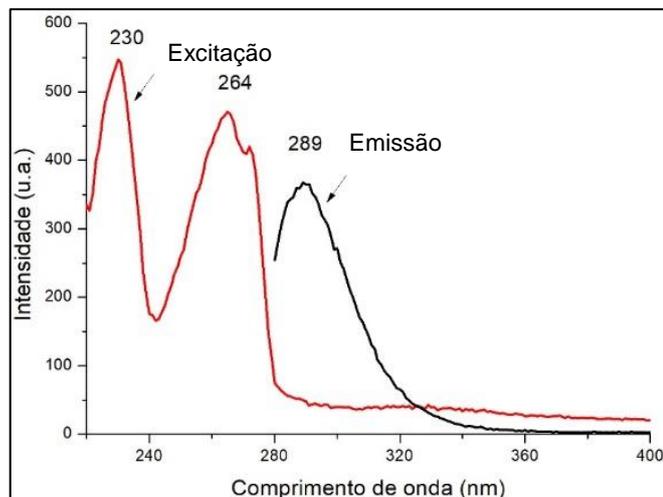


4.1.4 Fotoestabilidade dos LI-IFAs

O perfil de fotodegradação dos LI-IFAs foi avaliado em solução hidroalcolólica em intervalos de tempo na mesma condição (5×10^{-5} mol L⁻¹). Inicialmente, os LI-IFAs foram expostos a radiação UV-C através de uma lâmpada de comprimento de onda 254 nm contida em uma câmara. A temperatura da câmara foi controlada para 25 °C. A fotodegradação dos LI-IFAs expostos a radiação UV-C foi monitorada por meio da técnica de fluorescência.

Na Figura 40 estão apresentados os espectros de excitação e emissão de [BUP][IBU] na concentração 5×10^{-5} mol L⁻¹, os espectros dos demais LI-IFAs encontram-se no Apêndice II. A curva de excitação possui dois máximos de intensidade, em 230 nm e 264 nm. Nos experimentos de fotodegradação, as curvas de emissão de fluorescência deste composto foram obtidas utilizando o comprimento de onda de excitação de 230 nm.

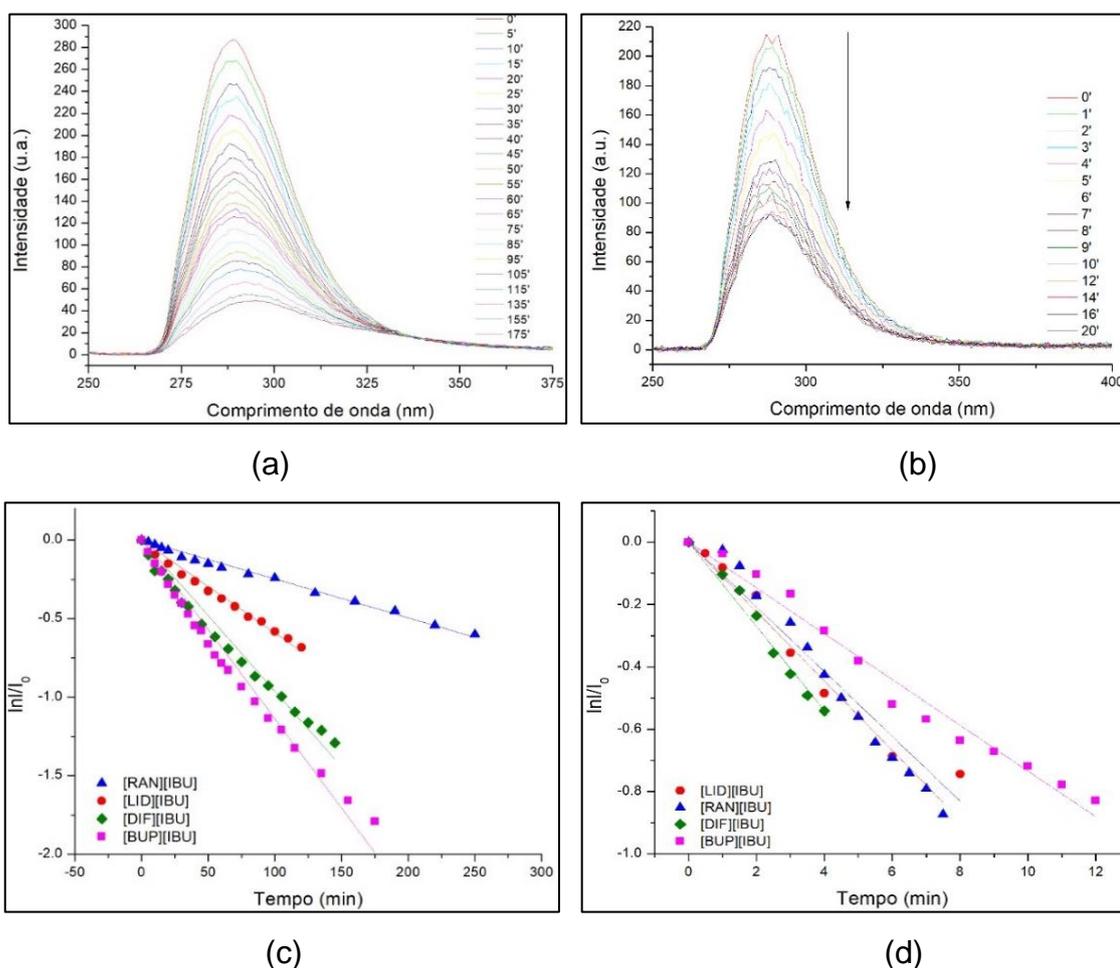
Figura 40 - Espectro de excitação e emissão de [BUP][IBU].



O decaimento da intensidade de emissão de fluorescência de [BUP][IBU] durante a fotodegradação está representada na Figura 41-a. A intensidade máxima do sinal de fluorescência do [BUP][IBU] foi monitorada em intervalos de 5 minutos e diminuiu ao longo do tempo como mostrado na Figura 41-a, atingindo um valor mínimo em 175 minutos, quando a radiação foi removida e a reação considerada finalizada. A mesma análise foi realizada para os demais LI-IFAs. Os resultados indicaram que a fotodegradação de [RAN][IBU], [DIF][IBU] e [LID][IBU] foi completa em 220, 145 e 120 minutos, respectivamente.

Os mesmos experimentos foram realizados com a adição de 20 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na concentração de 30% para avaliar a degradação fotocatalítica dos LI-IFAs. A Figura 41-b mostra a variação na intensidade do sinal de fluorescência do [BUP][IBU] monitorado em intervalos de um minuto ao longo do tempo. A intensidade máxima do sinal de fluorescência diminuiu durante o período de 20 minutos, quando a radiação foi removida e a reação considerada como concluída. A mesma análise foi realizada para os demais LI-IFAs. Os resultados indicaram completa degradação do [RAN][IBU], [DIF][IBU] e [LID][IBU] em 16, 5 e 15 minutos, respectivamente.

Figura 41 - Espectros de emissão de fluorescência do [BUP][IBU]. (a) Na ausência de H_2O_2 , $\lambda_{\text{excit}} = 230 \text{ nm}$. (b) Na presença de $20 \mu\text{L}$ de H_2O_2 , $\lambda_{\text{excit}} = 230 \text{ nm}$. (c) Decaimento cinético dos LI-IFAs expostos a radiação UV-C. (d) Decaimento cinético dos LI-IFAs expostos a radiação UV-C/ H_2O_2 .



O perfil de fotodegradação (com e sem H_2O_2) dos LI-IFAs indicou uma típica cinética de primeira ordem (Figuras 41-c e 41-d). Sob estas condições, a constante cinética para cada um dos LI-IFAs foi calculada a partir da Equação 13. A partir da inclinação da reta, foi possível obter os valores de k , e calcular os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) para cada um dos LI-IFAs (Tabela 9).

A Equação 14 foi utilizada para obter a constante cinética considerando somente a influência de H_2O_2 na degradação. Os resultados estão mostrados na Tabela 9.

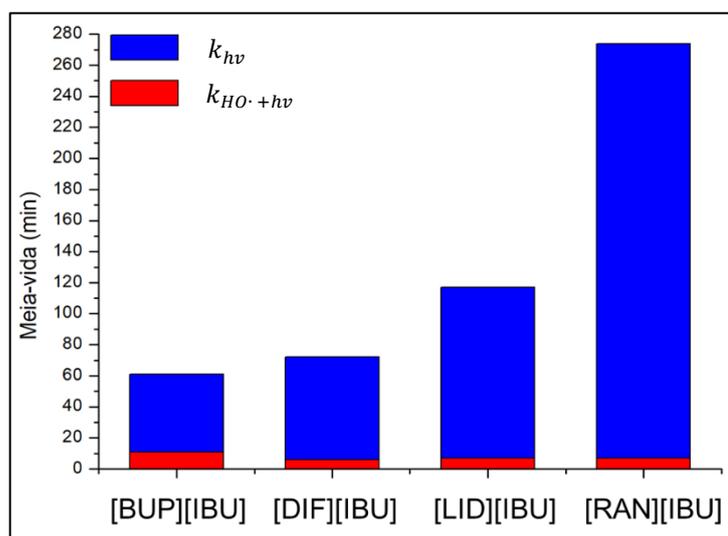
Tabela 9 - Constante da velocidade de degradação (k), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para os LI-IFAs submetidos a fotodegradação e degradação fotocatalítica calculados pelo acompanhamento dos decaimentos de fluorescência a 25 °C.

LI-IFAs	k (min^{-1}) ^a	$t_{1/2}$ (min)	IL-API	k (min^{-1}) ^a	$t_{1/2}$ (min)
[BUP][IBU] k_{hv}	$1,32 \times 10^{-2}$	61	[LID][IBU] k_{hv}	$5,92 \times 10^{-3}$	117
[BUP][IBU] $k_{HO\cdot}$	$6,02 \times 10^{-2}$	11	[LID][IBU] $k_{HO\cdot}$	$1,07 \times 10^{-1}$	7
[BUP][IBU] $k_{HO\cdot + hv}$	$7,34 \times 10^{-2}$	9	[LID][IBU] $k_{HO\cdot + hv}$	$1,11 \times 10^{-1}$	6
[DIF][IBU] k_{hv}	$9,62 \times 10^{-3}$	72	[RAN][IBU] k_{hv}	$2,48 \times 10^{-3}$	279
[DIF][IBU] $k_{HO\cdot}$	$1,25 \times 10^{-1}$	6	[RAN][IBU] $k_{HO\cdot}$	$1,01 \times 10^{-1}$	7
[DIF][IBU] $k_{HO\cdot + hv}$	$1,35 \times 10^{-1}$	5	[RAN][IBU] $k_{HO\cdot + hv}$	$1,04 \times 10^{-1}$	7

^aOs coeficientes de correlação maiores do que 0,99.

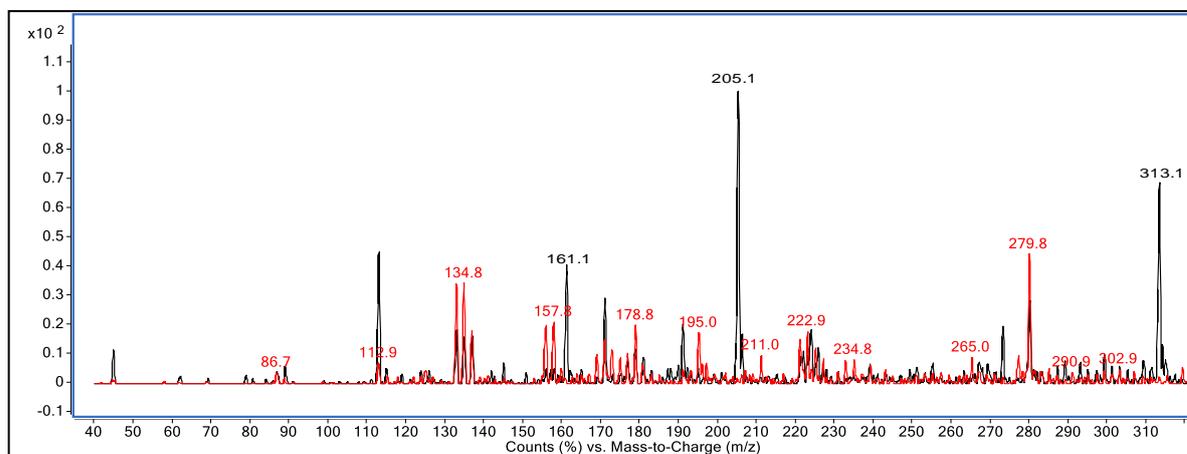
O sistema fotoquímico (sob irradiação UV-C) resulta em uma cinética de decomposição que é sensível a estrutura química dos LI-IFAs. O [RAN][IBU] por exemplo, se decompõe mais lentamente, seguido por [LID][IBU], [DIF][IBU] e [BUP][IBU], conforme apresentado na Tabela 9. Na degradação fotocatalítica (UV-C/H₂O₂), a cinética de degradação foi mais rápida (5-40 vezes) do que o sistema sem H₂O₂, e similar para todos os LI-IFAs (5-9 minutos) (Figura 42). Conseqüentemente, os efeitos estruturais não foram observados. A maior cinética de degradação em H₂O₂ pode ser atribuída à geração mais fácil e rápida *in situ* de radicais hidroxilas. Quando o H₂O₂ está ausente, os radicais hidroxilas precisam ser formados a partir da homólise da água, que é um processo mais lento (SZABÓ et al., 2011). Como pode ser visto, a presença de H₂O₂ na degradação fotocatalítica foi o fator de maior contribuição para a degradação mais rápida dos LI-IFAs, ou seja, a degradação mais rápida está associada à formação mais rápida de radicais OH.

Figura 42 - Tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) (min) para os LI-IFAs submetidos a fotodegradação e degradação fotocatalítica calculados pelo acompanhamento dos decaimentos de fluorescência a 25 °C.



Para obter informações sobre os produtos de degradação dos LI-IFAs, os espectros de massa dos LI-IFAs foram obtidos em modo positivo e modo negativo, usando a ionização por eletrospray. Os espectros foram adquiridos para amostras antes da fotodegradação ($t=0$) e no final da reação ($t=final$), na presença e na ausência de H_2O_2 . Os espectros de massa obtidos no modo negativo foram os mais ricos em informações estruturais dos produtos da degradação. Os fragmentos m/z observados nos espectros do modo negativo do LI-IFAs [RAN][IBU] sem H_2O_2 e as suas estruturas prováveis a $t=0$ e $t=280$ minutos são mostrados na Tabela 10. Como esperado, o espectro de massa em $t=0$ mostrou fragmentos típicos do ibuprofeno, sem fragmentos de degradação. A m/z correspondente ao íon molecular da ranitidina também foi observada no espectro, confirmando que o LI-IFAs não havia sofrido fotodegradação. Após 280 minutos de irradiação UV-C, observa-se que os picos correspondentes ao íon molecular de ibuprofeno (m/z 205) e da ranitidina (m/z 315) desapareceram. Da mesma forma, outros picos correspondentes à fragmentação do ibuprofeno estavam ausentes, o que indica que os produtos gerados a partir da fotodegradação são estruturalmente diferentes dos fragmentos observados na fragmentação do ibuprofeno sem irradiação UV-C. É provável que os produtos da fotodegradação sejam instáveis e não detectados no espectro de massa, conforme é possível verificar na sobreposição dos espectros na Figura 43.

Figura 43 - Sobreposição dos espectros do [RAN][IBU] – t = 0 s (preto) e t = 280 min – no modo negativo. Modo SCAN (ausência de H₂O₂).



Os fragmentos m/z observados nos espectros do modo negativo do [RAN][IBU] com H₂O₂, em conjunto com as suas prováveis estruturas (t=0 e t=7 min) são mostrados na Tabela 10. O espectro de massa em t = 0 foi semelhante ao da amostra em t = 0 sem H₂O₂ – fragmentos típicos de ibuprofeno e ranitidina foram evidentes. Após 7 minutos de irradiação UV-C, o pico correspondente ao íon molecular do ibuprofeno (m/z 205) foi observado em menor intensidade. O íon molecular da ranitidina (m/z 313) e o fragmento com m/z 170 desapareceram. Em contraste com a fotodegradação sem H₂O₂, o pico correspondente ao produto de degradação do ibuprofeno foi observado em m/z 221. Este fragmento já foi descrito na literatura como um fragmento formado na degradação fotocatalítica do ibuprofeno quando utilizado como catalisador o TiO₂ (DA SILVA et al., 2014). Os autores sugeriram que um radical hidroxila gerado por TiO₂ exposto a radiação UV-C é incorporado na porção isobutila ou propiônica do ibuprofeno, formando assim o produto de oxidação do ibuprofeno (Figura 44).

Figura 44 - Produtos da oxidação do ibuprofeno. Fragmentos m/z 221.

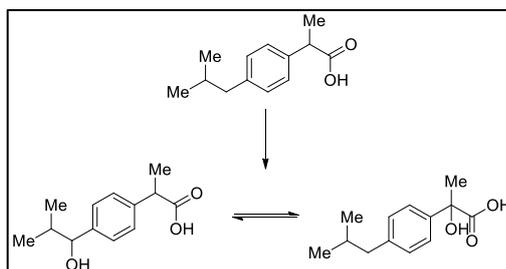
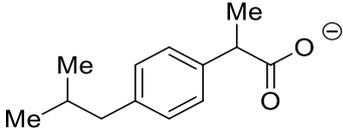
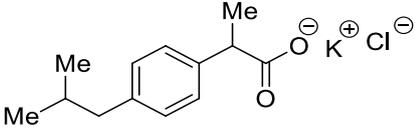
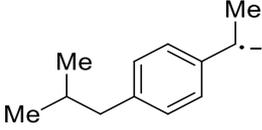
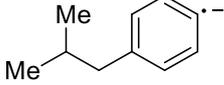
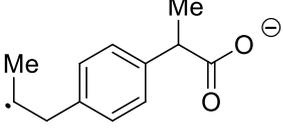
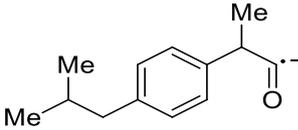


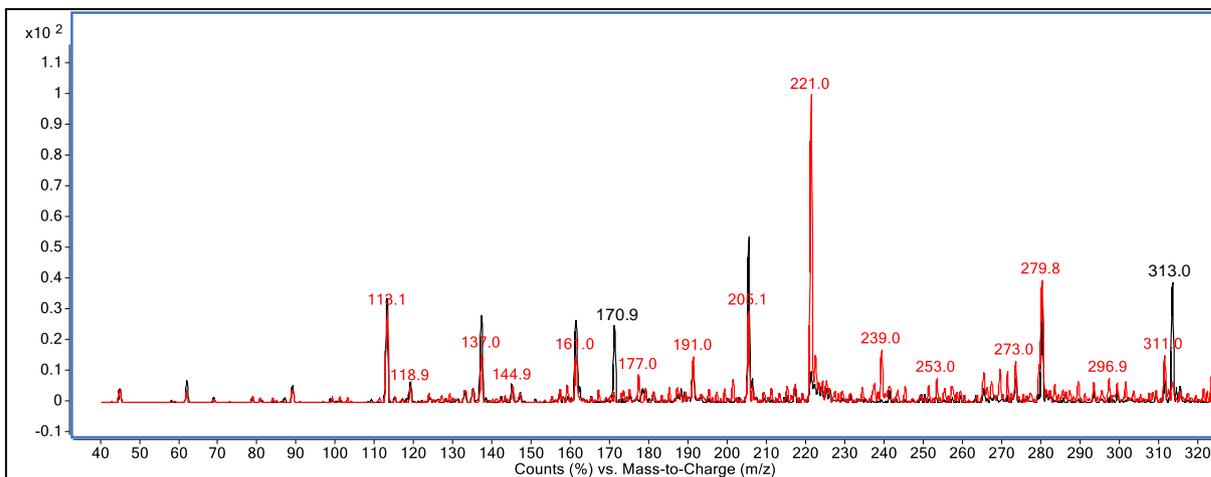
Tabela 10 - Intensidades e prováveis estruturas de fragmentos m/z observados no espectro do modo negativo de [RAN][IBU] na ausência de H₂O₂.

	m/z (Intensidade) t = 0	m/z (Intensidade) t = 280 min ^b	Estrutura
IBU	205 (100)	- ^a	
	279 (28)	279 (20)	
	161 (40)	- ^a	
	133(20)	133(1.3)	
	190 (20)	- ^a	 ou 
	RAN	313 (65)	- ^a

^a Fragmentos m/z não foram observados no final da decomposição. ^b Fragmento com m/z 156 (133+Na⁺) foi observado.

Comparando os resultados no final da fotodegradação do [RAN][IBU] com e sem H₂O₂, sugere-se que o mecanismo de fotodegradação na presença de H₂O₂ difere daquele quando o H₂O₂ está ausente. No entanto uma investigação mais detalhada desta reação de fotodegradação é necessária para esclarecer o mecanismo. Os espectros sobrepostos em t = 0 e t = 7 min de fotodegradação do [RAN][IBU] com H₂O₂ é mostrado na Figura 45.

Figura 45 - Sobreposição dos espectros do [RAN][IBU] – t = 0 s (preto) e t = 7 min – no modo negativo. Modo SCAN (UV-C com H₂O₂).



4.2 CONCLUSÃO DO CAPÍTULO I

Foi possível determinar a estabilidade térmica e oxidativa de uma série de líquidos iônicos farmacologicamente ativos derivados do ibuprofenato.

- (i) Os LI-IFAs são termicamente estáveis até 160 °C, e eles tem uma energia de ativação para decomposição de 60 a 100 kJ mol⁻¹, o que indica que a decomposição destes LI-IFAs requer consumo de energia.
- (ii) Os LI-IFAs [BUP][IBU] e [RAN][IBU] possuem E_a comparáveis as E_a do ibuprofeno tanto pelo método de Friedman quanto O-F-W. Já os LI-IFAs [LID][IBU] e [DIF][IBU] sofreram diminuição deste parâmetro em relação ao ibuprofeno, indicando assim que a estrutura dos cátions é um fator determinante no perfil de decomposição dos LI-IFAs.
- (iii) [DIF][IBU] é estável até 50 °C, mas totalmente decomposto a temperaturas de 100 °C num período de 24 horas.
- (iv) A meia vida destes LI-IFAs em um intervalo de 20-40 °C podem levar dias (18-72) ou ano (13-35) para se decomposição.
- (v) A decomposição oxidativa em água/etanol com ou sem H₂O₂ (4-12 min e 1-5 horas) foi mais rápida, resultando em decomposição dos LI-IFAs de minutos a horas.

- (vi) Os produtos de decomposição no processo oxidativo foram caracterizados por espectrometria de massas mostraram que a presença de H_2O_2 promove uma maneira alternativa de decomposição dos LI-IFAs.

CAPÍTULO II

4.3 LÍQUIDOS IÔNICOS FARMACOLOGICAMENTE ATIVOS SUPORTADOS EM SÍLICA MESOPOROSA

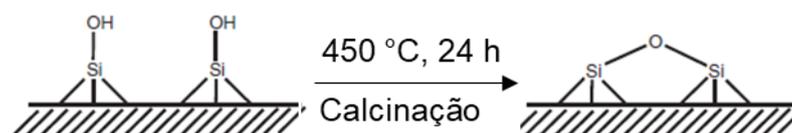
Considerando as possíveis vantagens da utilização de LI-IFAs suportados em sílica, há uma necessidade da determinação e compreensão de como as propriedades físico-químicas e farmacológicas dos LI-IFAs são alteradas ao serem suportados na sílica mesoporosa. Portanto, este capítulo reúne informações sobre a reação que promove o suporte dos LI-IFAs em sílica, a caracterização destes LI-IFAs suportados pelas técnicas de difração de raios X em pó, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, análise termogravimétrica, adsorção/dessorção de N₂ (usando a técnica de BET), liberação *in vitro*, e atividade farmacológica.

4.3.1 Síntese e caracterização dos LI-IFAs suportados em sílica

4.3.1.1 Síntese dos LI-IFAs suportados

Os LI-IFAs foram suportados nas sílicas mesoporosas de 60 e 90 Å calcinadas (450°C, 24h). A calcinação da sílica produz uma superfície hidrofóbica que promove uma maior retenção dos LI-IFAs (também hidrofóbicos) nos poros (Figura 46) (BICA et al., 2012).

Figura 46 - Sílica não calcinada (hidrofílica). (b) Sílica após a calcinação (hidrofóbica).
Figura adaptada de Cojocarú (2014).

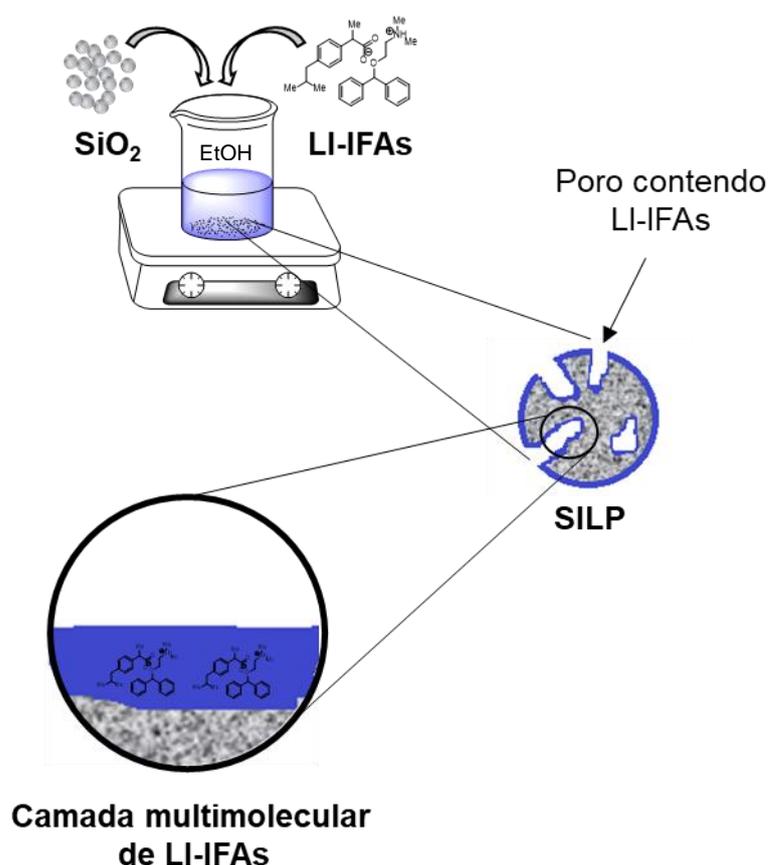


Os LI-IFAs [RAN][IBU], [BUP][IBU], [LID][IBU] e [DIF][IBU] são solúveis em etanol que é considerado um meio não tóxico e farmacologicamente aceitável (BICA et al., 2012).

Portanto, a preparação dos LI-IFAs suportados em sílica foi realizada em etanol. Após a dissolução dos LI-IFAs em etanol (20 mL), as sílicas mesoporosas 60

Å (SiO₂-60) e 90 Å (SiO₂-60) pré-calcinadas (450°C, 24h) foram adicionadas para promover uma variação de massa de 10%, 20% e 50% e as misturas foram agitada por 2h a temperatura ambiente (~25°C) (Figura 47). Esta metodologia é conhecida como adsorção pela solução, e já foi descrita (ANDREEA COJOCARU et al., 2014) como eficiente na adsorção tanto de LI-IFAs quanto de fármacos na sílica mesoporosa. As misturas contendo 90% e 80% de massa de sílica foram obtidas na forma de pó. As misturas com 50% de massa de sílica foram obtidas na forma de um material granulado.

Figura 47 - Esquema geral dos LI-IFAs suportados em sílica para obtenção de material.



4.3.1.2 Caracterização da cristalinidade dos LI-IFAs suportados por Difração de raios X em pó

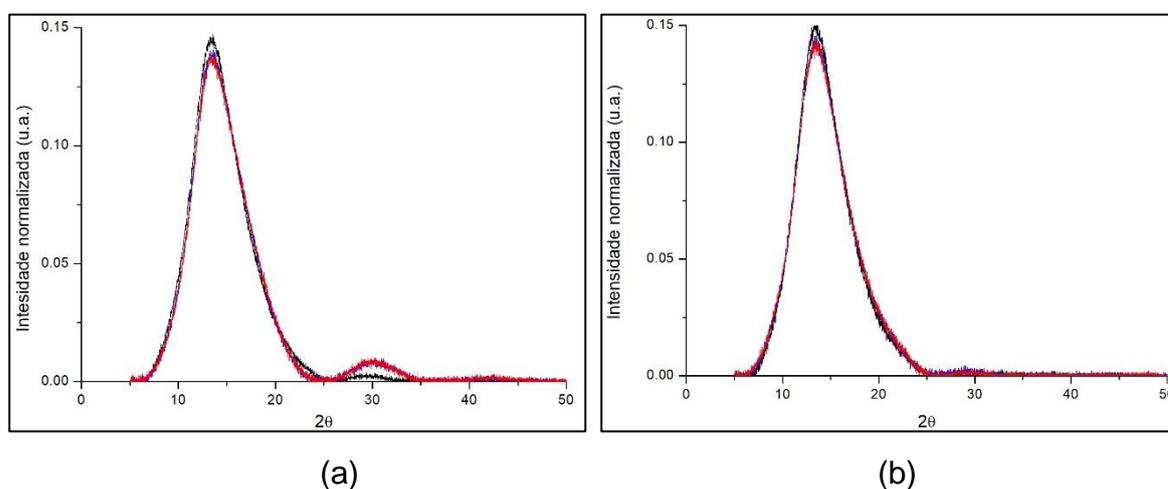
A difração de raios X pó é capaz de mostrar se a combinação de sílica com os LI-IFAs altera a cristalinidade dos materiais suportados. Foram realizadas medidas de

difração de raios X em pó das sílicas calcinadas, antes e após os LI-FAs serem suportados. É importante ressaltar que a sílica calcinada apresenta uma estrutura amorfa, bem como os LI-IFAs (caracterizados pela técnica de DSC), assim, picos de cristalinidade no espectro de difração de raios X em pó são uma indicação da cristalização dos LI-IFAs na superfície ou poros da sílica.

Os espectros de difração de raios X em pó das sílicas 60 Å e 90 Å e do LI-IFAs [DIF][IBU] suportado nas proporções 10 e 20% em peso são mostrados na Figura 48. Comparando os o espectro de difração de raios X do [DIF][IBU] suportado na sílica 60 Å (Fig. 48-a) com o da sílica pura, nota-se que não ocorreram mudanças significativas, apenas um leve aumento da intensidade em $2\theta = 30$. Este comportamento não se repetiu quando o LI-IFAs foi suportado na sílica 90 Å (Fig. 48-b), que não mostrou diferença no espectro de raios X em pó do LI-IFAs suportado em relação ao da sílica pura.

A diferença no espectro de raios X em pó no caso da sílica 60 Å, pode ser um indicativo de que o LI-IFAs interage de maneira diferente com cada uma das sílicas. De maneira geral, este dado permite afirmar que a mistura sílica e LI-IFAs se manteve amorfa, e para elucidar como o LI-IFAs está interagindo com a sílica, outras técnicas de caracterização são necessárias. O comportamento descrito aqui para o [DIF][IBU] foi observado para os demais LI-IFAs e os espectros de difração de raios X em pó podem ser encontrados no Apêndice III.

Figura 48 - Espectro de difração de raios X em pó da Sílica (preto), [DIF][IBU] 10% (vermelho), [DIF][IBU] 20% (azul). (a) Sílica 60 Å; (b) Sílica 90 Å.



4.3.1.3 Caracterização da Morfologia dos LIFAs suportados

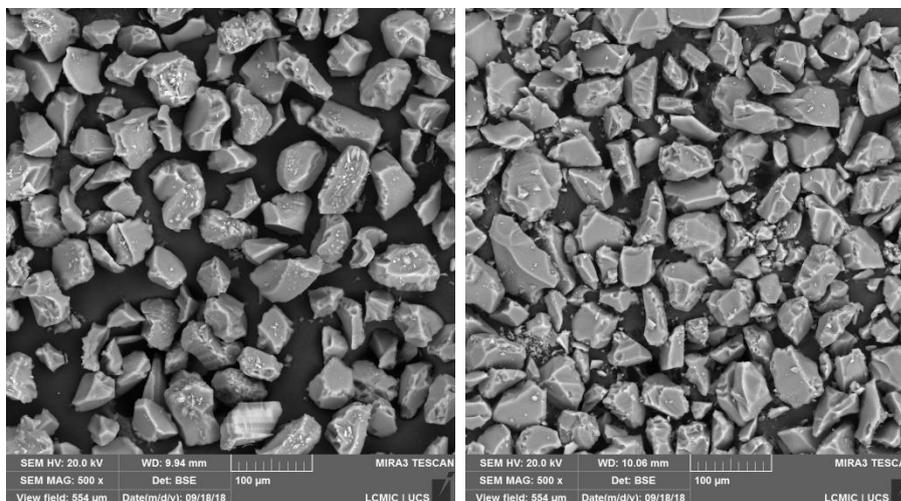
As mudanças das características de morfologia e superfície da sílica com e sem os LI-IFAs suportados pode ser um indicativo da ocorrência de interação ou da adsorção dos LI-IFAs na sílica. Para isso, foram empregadas duas técnicas, a microscopia eletrônica de varredura (MEV), que fornece informações sobre propriedades de superfície, e a microscopia eletrônica de transmissão (TEM), que fornece informações sobre a distribuição e formato dos poros.

4.3.1.3.1 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)

Foram adquiridas imagens de MEV da sílica pré-calcinada, antes e após os LI-IFAs serem suportados. As imagens da sílica com os LI-IFAs suportados foram obtidas a partir dos compostos suportados em sílica 60 Å na proporção de 20% (Figura 49). As imagens mostram que as partículas de sílica pura estão na forma de grânulos de tamanhos uniformes (Figura 49-a). A sílica com o LI-IFAs suportado também apresenta grânulos, entretanto, os tamanhos são irregulares, havendo grânulos de vários tamanhos (círculo branco nas Figuras 49b-e), esta diferença no tamanho dos grânulos é mais evidente na sílica suportada com os LI-IFAs [LID][IBU] e [BUP][IBU].

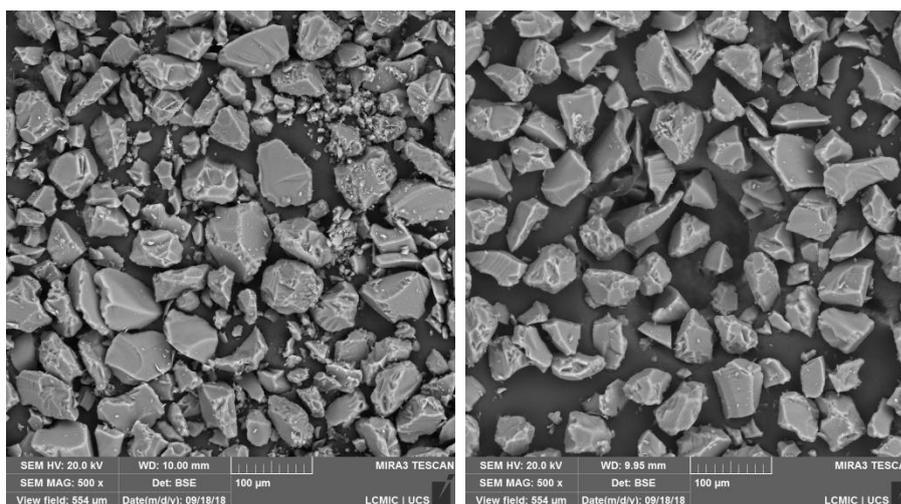
A Figura 50-a mostra que a superfície da sílica na ausência dos LI-IFAs aparenta ser mais lisa, entretanto, na presença dos LI-IFAs (Fig. 50 b-e) a superfície apresenta grânulos. Estes grânulos indicam mudanças na superfície da sílica pela presença dos LI-IFAs.

Figura 49 - Figuras MEV 100 μm . (a) Sílica 60 Å (b) [LID][IBU] (c) [BUP][IBU] (d) [DIF][IBU] (e) [RAN][IBU].



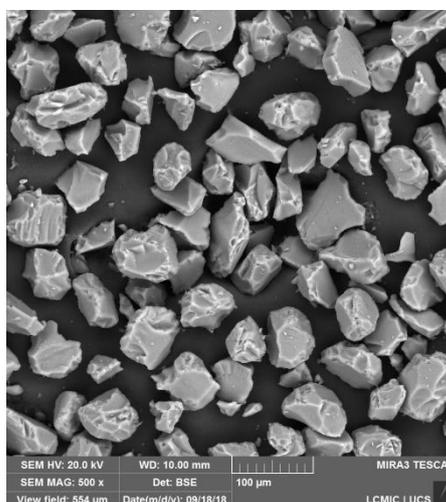
(a)

(b)



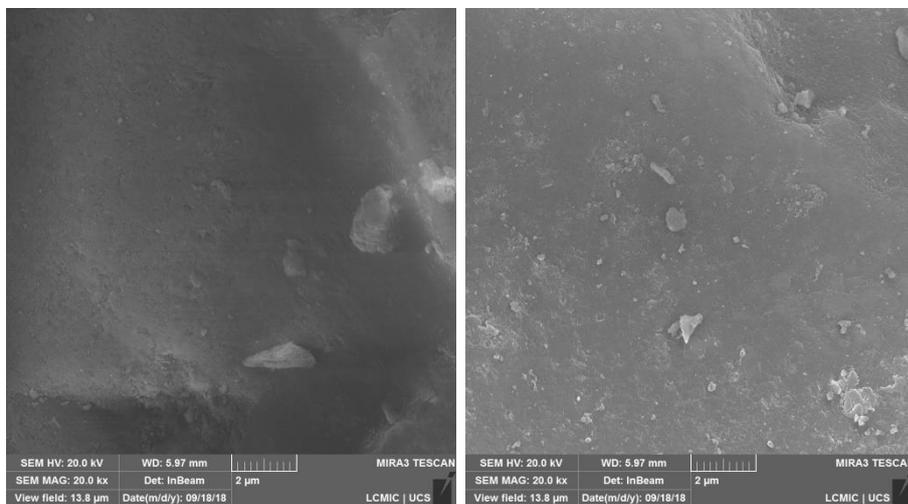
(c)

(d)



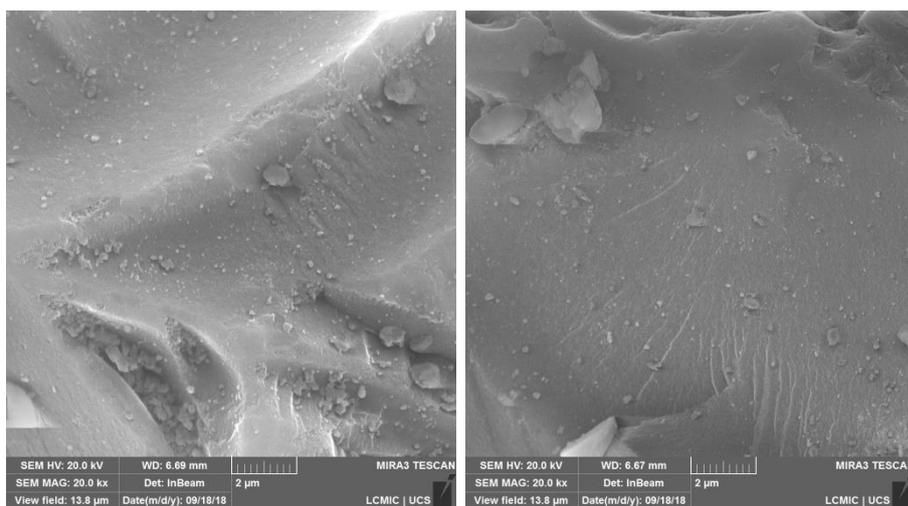
(e)

Figura 50 - Figuras MEV 2 μm . (a) Sílica 60 Å (b) [LID][IBU] (c) [BUP][IBU] (d) [DIF][IBU] (e) [RAN][IBU].



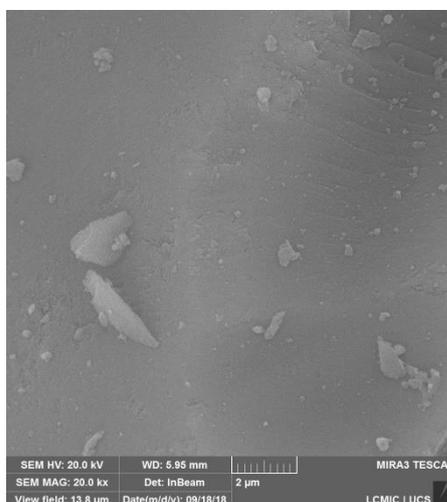
(a)

(b)



(c)

(d)



(e)

4.3.1.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão

As imagens de MET das sílicas 60 Å e 90 Å revelaram estas como graduladas e aglomeradas. As imagens do LI-IFAs [DIF][IBU] suportado nas sílicas 60 Å e 90 Å, por sua vez, mostraram as sílicas mais dispersas e com grânulos menores, o que indica que estas estão recobertas pelo LI-IFAs, conforme Figura 51 a-d e Figura 52 a-d. Os demais LI-IFAs apresentam imagens de MET semelhantes e estão no Apêndice IV

Figura 51 - Imagens MET do LI-IFAs [DIF][IBU] suportado na sílica 60 Å na proporção 20% em peso. (a) SiO₂-60 (50 nm). (b) SiO₂-60 (20 nm). (c) [DIF][IBU]/SiO₂-60 (50 nm). (d) [DIF][IBU]/SiO₂-60 (20 nm).

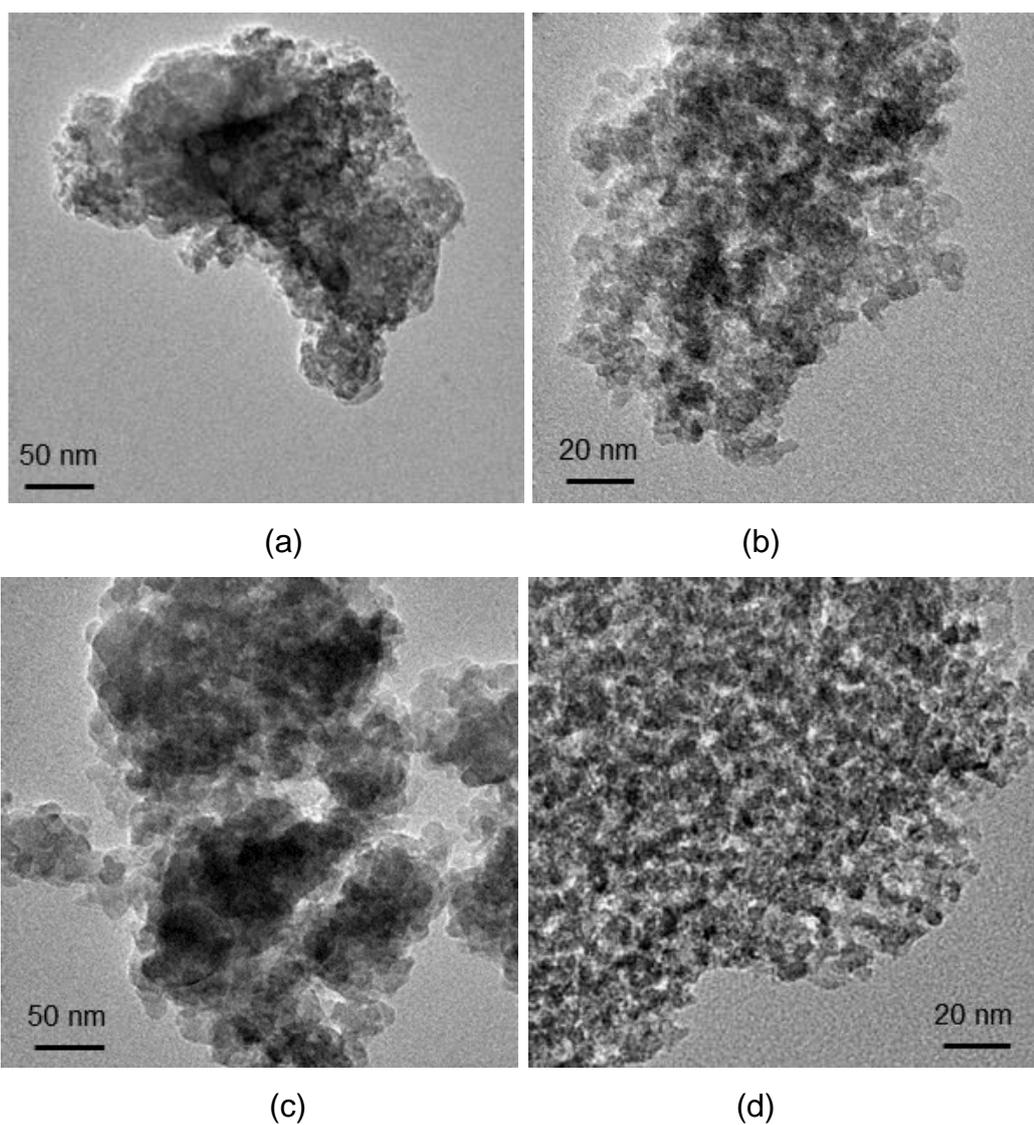
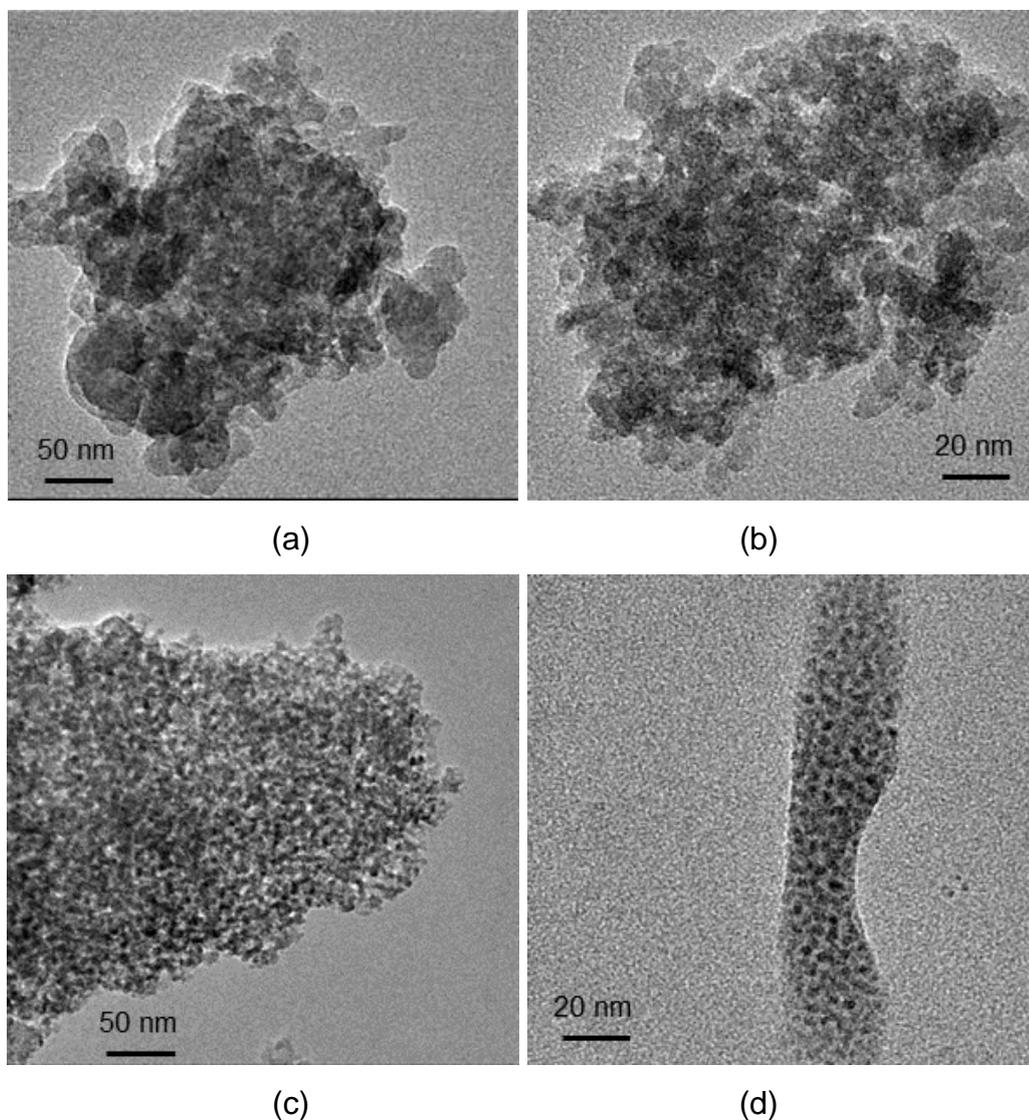


Figura 52 - Imagens MET dos LI-IFAs suportados na sílica 90 Å na proporção 20% em peso. (a) SiO₂-90 (50 nm). (b) SiO₂-90 (20 nm). (c) [DIF][IBU]/SiO₂-90 (50 nm). (d) [DIF][IBU]/SiO₂-90 (20 nm).

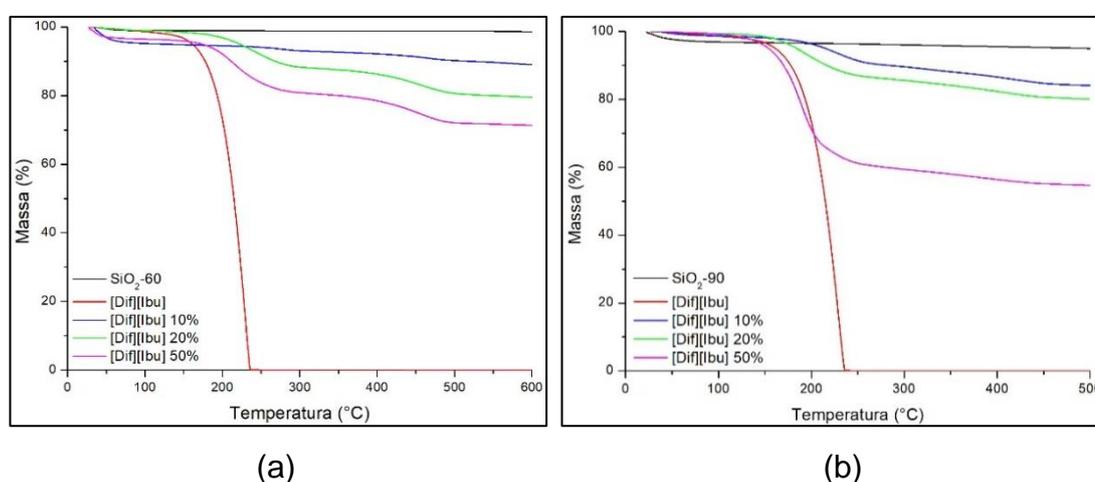


4.3.1.4 Estabilidade térmica dos LI-IFAs suportados

As propriedades térmicas dos LI-IFAs podem ser modificadas quando estes são suportados em sólidos mesoporosos como a sílica. As interações entre o suporte sólido e os LI-IFAs afetam intensamente as propriedades térmicas do sistema. As mudanças nessas propriedades podem ser severamente afetadas de várias formas, incluindo, preparo da amostra, a estrutura do LI-IFAs, tipo e força da interação entre o LI-IFAs e o poro, entre outras. Uma das formas de avaliar como as interações entre

o suporte e os LI-IFAs influenciam as propriedades térmicas, é a avaliação das mudanças observadas nas temperaturas de decomposição dos LI-IFAs após o suporte. Os perfis de TG de cada um dos LI-IFAs suportados foram determinados a fim de verificar mudanças nas estabilidades quando comparados aos LI-IFAs puros. O comportamento térmico do [DIF][IBU] quando suportado na sílica de 60 Å e na sílica de 90 Å está ilustrado nas Fig. 53 a-b, os demais encontram-se no Apêndice V.

Figura 53 - Perfil de TG de [DIF][IBU] suportado nas sílicas. (a) 60 Å. (b) 90 Å. Sílica (preto), [DIF][IBU] puro (vermelho), [DIF][IBU] 10% (azul), [DIF][IBU] 20% (verde) e [DIF][IBU] 50% (rosa).



Como verificado na Tabela 11, os valores de $T_{d5\%}$ (temperatura de decomposição de 5% da amostra) dos LI-IFAs [LID][IBU], [BUP][IBU] e [RAN][IBU] suportados na sílica 60 Å, demonstraram um aumento significativo na estabilidade térmica dos LI-IFAs suportados em sílica na proporção de 10% e 20% de peso, comparados aos LI-IFAs puros. [DIF][IBU] em 10% apresentou uma diminuição da estabilidade e um aumento em 20%. Todos os LI-IFAs na proporção 50% mostraram estabilidade térmica similar aos LI-IFAs puros. Quando suportados em sílicas 90 Å, os LI-IFAs apresentaram aumento na estabilidade térmica apenas na proporção 10%, e uma diminuição nas proporções de 20% e 50%, este mesmo comportamento foi observado por Bica e col. para os LI-IFAs [LID][IBU] e [P₄₄₄₄][IBU] suportados em sílica 90 Å (BICA et al., 2012).

Considerando que a interação entre LI-IFA e sílicas 60 Å resulta em aumento da estabilidade térmica nas proporções de 10% e 20%, sugere-se que nestas

proporções os LI-IFAs estão interagindo mais fortemente com a sílica. Entretanto, quando suportados em sílicas 90 Å, apenas na proporção 10% os LI-IFAs há aumento da estabilidade e, portanto, interação mais forte com a superfície da sílica. Na proporção de 20%, acredita-se que a maior quantidade de LI-IFAs faz com que as camadas de LI-IFAs na superfície (poros) fiquem mais espessas e assim, favoreçam mais as interações entre as moléculas dos LI-IFAs do que as interações estabilizantes entre LI-IFAs e sílica. Este dado pode ser um indicativo, de que os LI-IFAs interagindo com a sílicas 60 Å estão menos alojados nos poros da sílica, e mais adsorvidos na superfície. A seletividade do tamanho, área da superfície e volume do poro tem influência direta sobre a adsorção dos LI-IFAs na sílica (ANDREEA COJOCARU et al., 2014). Geralmente a adsorção dos LI-IFAs dentro dos poros da sílica mesoporosa pode ocorrer mais facilmente, se os poros forem ligeiramente maiores do que o diâmetro dos LI-IFAs (HATA et al., 1999).

Tabela 11 - $T_{d5\%}$ de LI-IFAs suportados em sílica^a (10-50% em peso).

LI-IFAs	Puro	SiO ₂ 60Å			SiO ₂ 90Å		
		10%	20%	50%	10%	20%	50%
[DIF][IBU]	161	126	223	174	215	184	154
[LID][IBU]	158	250	213	177	230	167	150
[BUP][IBU]	160	228	276	161	220	183	140
[RAN][IBU]	165	228	186	154	244	202	154

^aOs LI-IFAs foram suportados em sílica calcinada (450°C; 24h) (diâmetro do poro: 60 Å). O material de suporte foi adicionado para proporcionar uma variação de massa e de 10, 20, 50% em peso, após a dissolução em EtOH e agitação por 2h à temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Remoção dos voláteis sob vácuo elevado. ^bOs dados de TG foram obtidos sob uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹.

Outro dado que pode ser obtido pelo perfil de TG dos LI-IFAs suportados é a quantidade do LI-IFAs que foi aderido a sílica, ou seja, a eficiência de adsorção. Conforme é possível verificar na Figura 53, quando [DIF][IBU] está suportado na sílica 60 Å, ele está presente nas proporções 10 e 20% conforme esperado, entretanto, quando se esperava a proporção de 50%, o LI-IFAs está presente na proporção 30%. Quando o [DIF][IBU] está suportado na sílica 90 Å, ele está presente nas proporções 10, 20 e 50%, compatíveis com as proporções desejadas. Esta informação, é a comprovação de que os LI-IFAs interagem de maneira diferente com as sílicas 60 e 90 Å, muito provavelmente, na sílica 60 Å houve uma saturação pelo LI-IFAs quando este

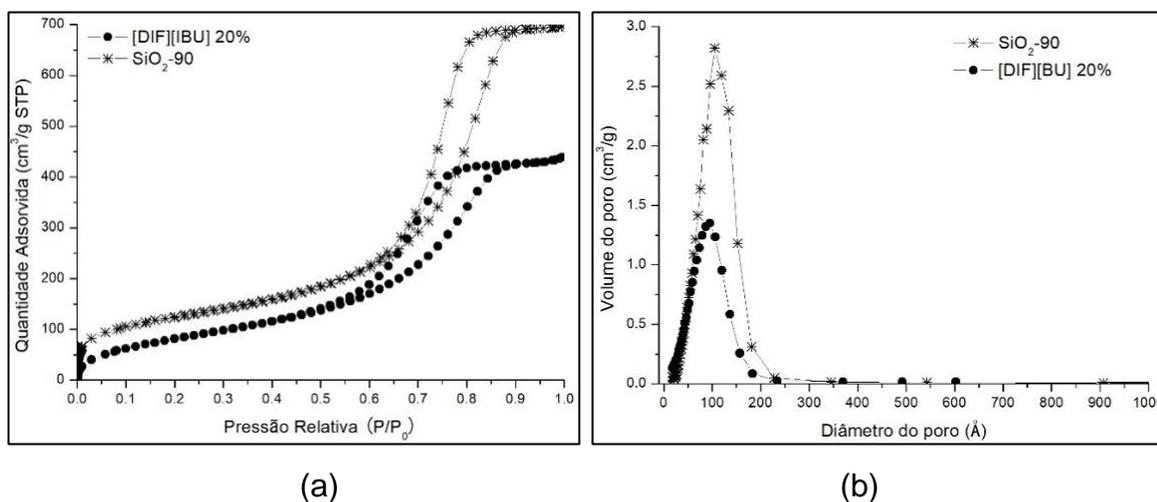
alcançou a proporção 30%. Já na sílica 90 Å houve uma maior capacidade de adsorção. Estes dados foram muito semelhantes para os demais LI-IFAs e os perfis de TG podem ser encontrados no Apêndice V.

4.3.1.5 Adsorção/dessorção de N₂

O uso da sorção de nitrogênio é de extrema importância para este tipo de materiais pois permite avaliar as propriedades tais como tamanho e volume do poro da sílica mesoporosa. Desta forma, por comparação com valores obtidos para as sílicas puras e as sílicas suportadas, pode-se estimar, se o LI está adsorvido. Neste trabalho, apenas o LI-IFAs [DIF][IBU] na proporção 20% em peso foi submetido a técnica de adsorção/dessorção de N₂.

A Figura 54-a apresenta as isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio na sílica 90 Å antes e após o suporte do [DIF][IBU]. As isotermas apresentaram perfis semelhantes do tipo IV, típicas de materiais mesoporosos de acordo com a IUPAC, ou seja, apresentam poros com diâmetros na faixa de 2 a 50 nm (BICA et al., 2012). Além disso, as isotermas apresentam uma histerese, que ocorre devido a diferença no mecanismo de adsorção e dessorção. O nitrogênio ao se condensar preenche os poros, mas no processo de dessorção, quando ele evapora, tem influência de interações superficiais entre o N₂ e a sílica, dificultando a saída do gás do interior dos poros. Essa histerese é classificada como do tipo H1 e é característica de poros cilíndricos ou compactos de esferas uniformes. Outro dado que estas isotermas fornecem é a diminuição da quantidade de nitrogênio adsorvida após o suporte do [DIF][IBU] indicando, que houve um preenchimento dos poros da sílica 90 Å pelo LI-IFA, hipótese esta, que é confirmada ao analisar a Figura 54-b, que mostra a diminuição do volume dos poros após o suporte. A sílicas 60 Å apresentou comportamento semelhante, e as figuras encontram-se no Apêndice VI.

Figura 54 - (a) Isotermas de adsorção-dessorção de N_2 a 77 K da amostra de sílica mesoporosa, com poro de 90 Å, antes e após o suporte com [DIF][IBU]. (b) Distribuição de tamanho de poros antes e após o suporte com [DIF][IBU].



Os valores de área superficial, volume e tamanho dos poros da sílica 90 Å e 60 Å antes do suporte com o LI-IFAs [DIF][IBU] foram obtidos utilizando os valores de adsorção deduzidos através dos modelos de BET e BJH, e estão demonstrados na Tabela 12. Com base nos valores obtidos para as sílicas antes do suporte, pode-se dizer que a área superficial de ambas as sílicas é muito similar. Já o volume e tamanho dos poros, foram menores para a sílica 60 Å como já era de se esperar. Após o suporte, em ambos os casos, houve uma diminuição do volume e tamanho dos poros. Após o suporte, área superficial da sílica 60 Å diminuiu 50%, enquanto que a área superficial da sílica 90 Å teve uma redução de 27%. O volume do poro da sílica 60 Å diminuiu 60%, enquanto o volume do poro da sílica 90 Å teve uma redução de 39%. Já o tamanho dos poros teve uma redução de 15 e 13% para as sílicas de 60 Å e 90 Å respectivamente.

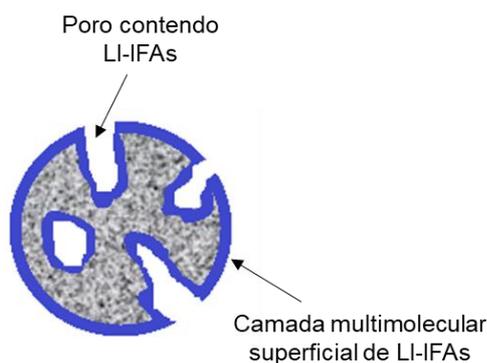
Tabela 12 - Valores obtidos pela análise de adsorção/dessorção de N₂.

Amostra	Área Superficial ^a		Volume do poro ^a	Tamanho do Poro ^a	
	BET (m ² g ⁻¹)	BJH (m ² g ⁻¹)	BJH (m ² g ⁻¹)	BET (Å)	BJH (Å)
SiO ₂ -90	442,4±0,7	523,5±2,5	1,08±0,003	97,5±0,4	82,2±0,6
[DIF][IBU]/SiO ₂ -90	320,7±1,0	404±1,9	0,65±0,002	84,5±0,06	64,8±0,1
SiO ₂ -60	498,6±4,2	590,0±22,4	0,88±0,02	69,9±0,3	60,0±0,7
[DIF][IBU]/SiO ₂ -60	259,1±15,9	307,9±19,5	0,36±0,02	58,8±0,2	47,3±0,3

^aValores obtidos para o processo de adsorção de N₂ em duplicata. Sílica 90 Å (SiO₂-90); Sílica 60 Å (SiO₂-60); Sílica 90Å com [DIF][IBU] suportado ([DIF][IBU]/SiO₂-90); Sílica 60Å com [DIF][IBU] suportado ([DIF][IBU]/SiO₂-60).

Estes valores corroboram com os dados obtidos pela técnica de TGA, que indicou uma maior interação do LI-IFAs com a superfície da sílica 60 Å do que com a superfície da sílica 90 Å. A Figura 55 ilustra a interação/adsorção do LI-IFA na superfície e/ou nos poros da sílica mesoporosa.

Figura 55 - Figura demonstrativa dos locais onde os LI-IFAs podem se acomodar nas partículas de sílica mesoporosas.

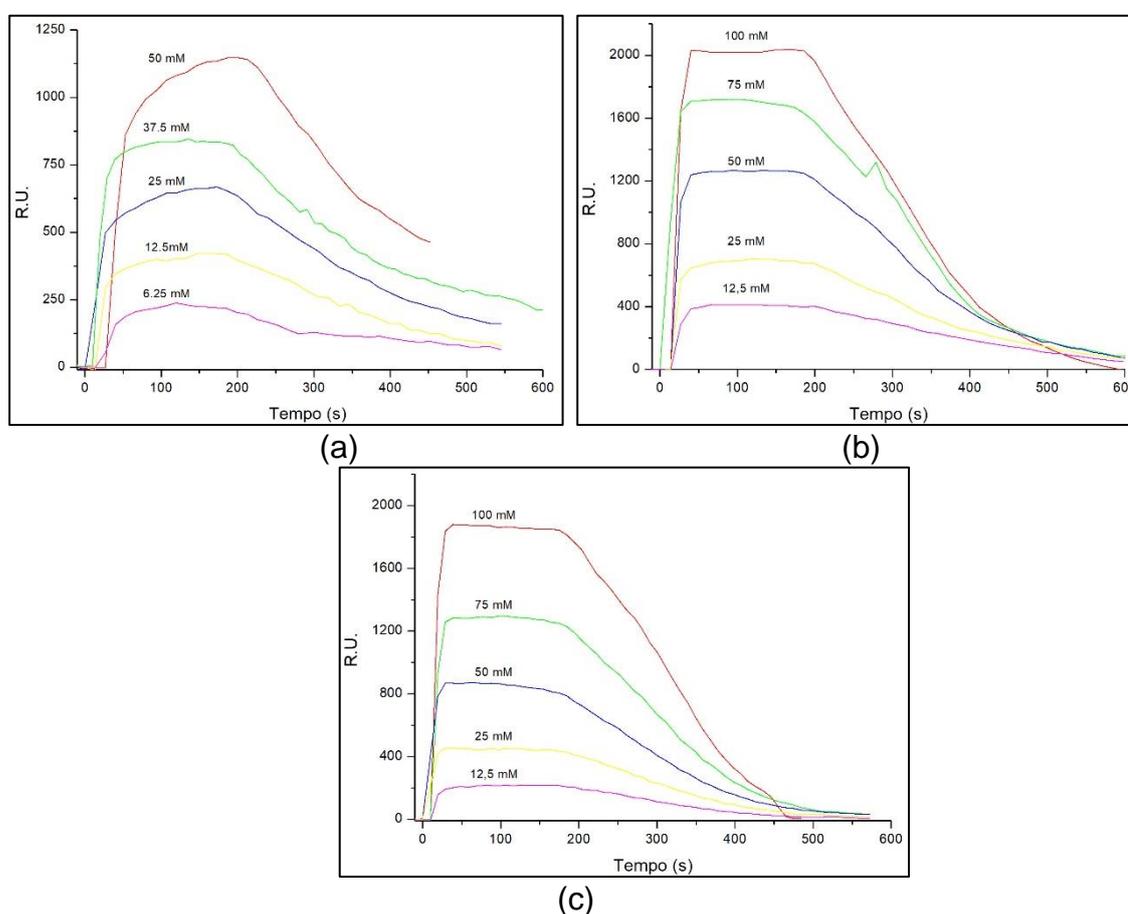


4.3.1.6 Espectroscopia de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR)

A SPR foi realizada para investigar as interações dos LI-IFAs com a sílica pela medida da afinidade dos LI-IFAs pela superfície da sílica (SiO₂). Para isto, os LI-IFAs foram imobilizados em um sensor de SiO₂ na presença de um fluxo de solução hidroalcoólica 50%. Os sensogramas da interação entre [DIF][IBU], [LID][IBU] e

[BUP][IBU] são mostrados na Figura 56 e confirmam a interação entre os LI-IFAs e a superfície de SiO_2 . A interação é caracterizada pelo aumento da intensidade dos sinais de ressonância (R.U.) em função da concentração dos LI-IFAs e esses resultados indicam que a quantidade de LI-IFAs que interage com o SiO_2 é proporcional ao aumento da concentração dos LI-IFAs.

Figura 56 - Sensogramas de interações dos LI-IFAs com chip de SiO_2 . Curvas obtidas em diferentes concentrações de LI-IFAs em solução hidroalcoólica. (a) [BUP][IBU]; (b) [DIF][IBU]; (c) [LID][IBU].



Os sensogramas da interação dos três LI-IFAs estudados e o SiO_2 foram similares. Entretanto, se compararmos o comportamento de [BUP][IBU] verificamos que a intensidade do sinal de SPR não volta para linha base após o término da injeção dos 250 μL de solução, ou seja, podemos dizer que uma quantidade do LI-IFA ficou retida na superfície do sensor, ao contrário do observado para [DIF][IBU] e [LID][IBU]. Esta retenção, é devido possivelmente as interações de [BUP][IBU] serem mais fortes

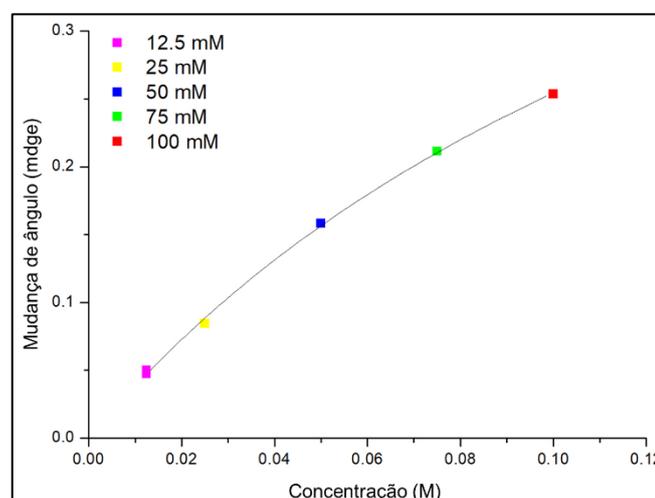
do que as do [DIF][IBU] e [LID][IBU]. A maior afinidade do [BUP][IBU] pela superfície da sílica pode estar relacionada à sua maior hidrofobicidade.

As interações moleculares são investigadas a partir da constante de equilíbrio de dissociação (K_D) que fornecem uma medida da afinidade entre duas moléculas. Em outras palavras, K_D é uma medida direta da força de uma interação. Levando-se em conta o equilíbrio $A + B \rightleftharpoons AB$ sabe-se que quanto menor o valor de K_D , maior afinidade da molécula A com a molécula B. Os valores mostrados na Tabela 13, mostram que a associação entre o LI-IFAs [BUP][IBU] e a superfície da sílica mostrou o menor valor de K_D , ou seja, maior afinidade para formar a interação com SiO_2 , seguindo pelo [DIF][IBU] e [LID][IBU]. Na Figura 57 está demonstrada a mudança no ângulo em função da concentração que fornece o valor de K_D para o LI-IFAs [DIF][IBU]. O tratamento matemático dos dados foi realizado no software TraceDrawer®. As demais figuras encontram-se no Apêndice VII.

Tabela 13 - Constante de dissociação (K_D) que descrevem a afinidade de interação LI-IFAs e superfície do chip SiO_2 obtidas pela Equação 17.

LI-IFAs	K_D (M)	Erro
[BUP][IBU]	$8,38 \times 10^{-2}$	$5,33 \times 10^{-3}$
[DIF][IBU]	$1,58 \times 10^{-1}$	$1,74 \times 10^{-3}$
[LID][IBU]	$8,94 \times 10^{14}$	$6,57 \times 10^{-4}$

Figura 57 - Mudança de ângulo em função da concentração para o LI-IFAs [DIF][IBU].



4.3.2 Solubilidade e cinética de liberação dos LI-IFAs

4.3.2.1 Determinação da solubilidade dos LI-IFAs

Alguns LI-IFAs relatados da literatura foram sintetizados com o objetivo de promover aumento da solubilidade em água dos precursores, no entanto, a determinação da solubilidade em água mostrou redução da solubilidade quando comparados aos materiais de partida. O [LID][DOC] estudado por Hough e col. (2007) por exemplo, apresentou solubilidade máxima em água (1,24 mM) menor do que os respectivos materiais de partida [LID][Cl] e [Na][DOC]. O docusato de tetraciclina também apresentou redução da solubilidade em água com solubilidade máxima em 20°C de 0,28 mM, ou seja, muito menor do que a solubilidade apresentada pelo docusato de sódio na mesma temperatura que é de 33,70 mM (ALVES et al., 2013). Devido à possibilidade de baixa solubilidade água, esta propriedade dos LI-IFAs estudados nesta tese foi determinada em solução de H₂O/EtOH 5%(v/v) a 37°C. Para isto, uma curva de calibração para cada um dos LI-IFAs foi estabelecida. A leitura foi efetuada em equipamento CLAE com detector UV-vis. Para obtenção da solubilidade máxima em solução de H₂O/EtOH 5%(v/v) (Tabela 14), soluções supersaturadas dos LI-IFAs ficaram sob agitação por 24 h à 37 ± 1°C, após esse tempo, as soluções ficaram em repouso por 1h a 37 °C e foram retiradas alíquotas do sobrenadante. As concentrações foram determinadas através da regressão linear: $A = xC + b$ (na qual A é a unidade de área obtida e C é a concentração) (Apêndice VIII). A mesma metodologia foi empregada na determinação da solubilidade dos LI-IFAs em solução de PBS pH 7,2 a 37°C, a fim de simular fluidos biológicos.

Tabela 14 - Solubilidade dos LI-IFAs em H₂O/EtOH 5%(v/v) e PBS pH 7,2 a 37 °C.

LI-IFAs	H ₂ O/EtOH 5%(v/v)	PBS pH 7,2
[RAN][IBU]	375,8 mM	Solúvel ^a
[BUP][IBU]	1,65 mM	>>> 1,65 ^b
[LID][IBU]	31,3 mM	22,69 mM
[DIF][IBU]	20,8 mM	18,21 mM

^aA solubilidade do [RAN][IBU] em PBS não foi determinada. ^bNão foi possível quantificar a solubilidade do [BUP][IBU] em PBS devido baixa solubilidade deste LI-IFAs.

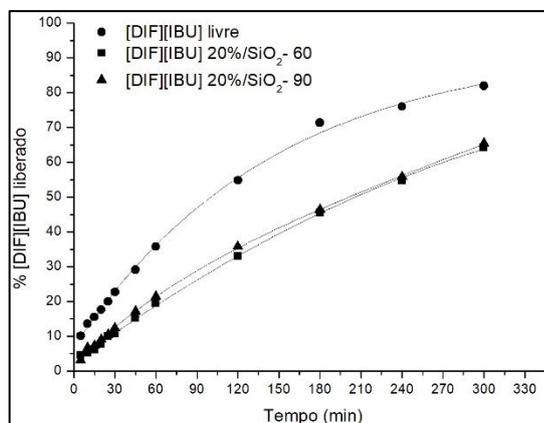
Como mostrado na Tabela 14, os LI-IFAs tem baixa solubilidade tanto em solução H₂O/EtOH, quanto em solução de PBS pH 7,2, exceto o [RAN][IBU] que foi altamente solúvel. Este resultado, provavelmente está relacionado à alta hidrofobicidade dos LI-IFAs, uma vez que ambos os íons são orgânicos. A diferença de solubilidade entre os LI-IFAs derivados do ibuprofeno pode ser relacionada a características estruturais dos cátions. [RAN][IBU] apresentou solubilidade mais elevada devido ao cátion ranitidina possuir mais sítios polares, facilitando assim, a solvatação. Já os demais cátions [BUP], [DIF] e [LID] apresentam cadeias alquílicas maiores e provavelmente capacidade de solvatação reduzida, influenciando assim para uma baixa solubilidade destes LI-IFAs. A partir dos dados de solubilidade, foi possível desenvolver o ensaio de liberação *in vitro* dos LI-IFAs a partir do suporte sílica.

4.3.2.2 Cinética de liberação *in vitro*

A aplicação de materiais mesoporosos inorgânicos biocompatíveis para a liberação de ingredientes ativos tem sido foco de vários estudos (ANDERSSON et al., 2004; HEIKKILÄ et al., 2007; BICA et al., 2012). Este controle na liberação pode ser definido como um método pelo qual fármacos, nutrientes e outros compostos ativos são disponibilizados, a partir da matriz carregadora (ex. SiO₂), em local, e tempo específico, com uma taxa controlada de liberação. Vários mecanismos de liberação são descritos para compostos encapsulados e suportados, sendo os mais comuns controlados por difusão através dos poros, que é principalmente dependente das interações entre o material de suporte e o composto a ser liberado, além da solubilidade e diâmetro dos poros.

No presente trabalho, os perfis de liberação *in vitro* dos LI-IFAs suportados nas sílicas 60 Å e 90 Å na proporção de 20% foram avaliados utilizando o método de saco de diálise a 37 °C. Os meios de liberação utilizados foram os fluidos biológicos simulados: tampão fosfato (PBS) pH 7,2 com 1% Tween® e FGS (fluido gástrico simulado) pH 1,2. A concentração de saturação de cada um dos LI-IFAs foi de 10% (condição *sink*). Para comparação, também foram investigados os perfis de liberação para o LI-IFAs não-suportado (livres). A Figuras 58 mostra o perfil de liberação do LI-IFA [DIF][IBU] livre e suportado na sílica de 60Å e de 90Å em PBS pH 7,2 com 1% Tween® durante o período de 5 horas.

Figura 58 - Perfil de liberação *in vitro* do [DIF][IBU] livre e suportado nas sílicas 60 Å e 90 Å em PBS pH 7,2 com 1% Tween®.



Como podemos observar, o [DIF][IBU] suportado em ambas sílicas apresenta uma liberação sustentada e sem efeito *burst*, ou seja, uma liberação lenta para o meio de dissolução quando este é o PBS pH 7,2 com 1% Tween®. Porém, o [DIF][IBU] livre apresenta efeito *burst*, pois não há barreira para liberação. Neste caso, o modelo cinético exponencial duplo foi aplicado para determinação da liberação do LI-IFAs não suportado, mostrando uma liberação na fase inicial ($k_1 = 6,6 \times 10^{-3}$) seguida de uma segunda liberação ($k_2 = 5,8 \times 10^{-3}$) e uma quantidade liberada de 82% para o meio de dissolução ($R = 0,9963$). Este mesmo comportamento foi observado para os LI-IFAs [LID][IBU] e [RAN][IBU] e as constantes cinéticas (k) são mostradas na Tabela 15, os gráficos encontram-se nos Apêndice VIII. O experimento de liberação não foi realizado para [BUP][IBU] devido à dificuldade em determinar sua solubilidade.

Tabela 15 - Constantes cinéticas (k) de liberação dos LI-IFAs livres em PBS pH 7,2 com 1% Tween®, segundo modelo matemático exponencial dupla.

LI-IFAs	k_1 (min^{-1})	k_2 (min^{-1})	R	% liberado
[RAN][IBU]	$1,0 \times 10^{-2}$	$9,3 \times 10^{-4}$	0,99835	47
[LID][IBU]	$2,4 \times 10^{-3}$	$3,3 \times 10^{-5}$	0,99969	47
[DIF][IBU] ^a	$6,6 \times 10^{-3}$	$5,8 \times 10^{-3}$	0,9963	82

Para os LI-IFAs suportados, foi aplicado o modelo matemático de Higuchi (1961) a fim de obter-se as constantes cinéticas. O perfil de liberação está mostrado

na Figura 59. A quantidade de LI-IFAs liberado, os coeficientes lineares para o modelo cinético de Higuchi bem como as constantes cinéticas de liberação para a sílica 60 Å e 90 Å no meio de dissolução PBS pH 7,2 com 1% Tween® são dados na Tabela 16.

Figura 59 - Modelo cinético de Higuchi para os LI-IFAs suportados em (a) SiO₂-60. (b) SiO₂-90. PBS pH 7,2 com 1% Tween®.

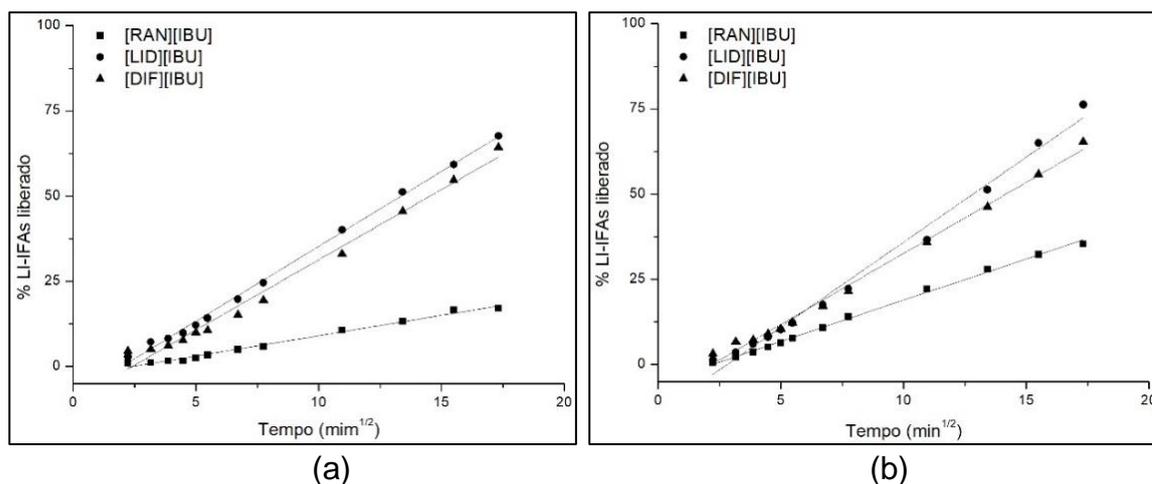


Tabela 16 - Constantes cinéticas (k) de liberação obtidos pelo modelo matemático de Higuchi, para os LI-IFAs suportados em SiO₂-60 e SiO₂-90 no meio de liberação PBS pH 7,2 com 1% Tween®.

LI-IFAs	SiO ₂ -60			SiO ₂ -90		
	k (%min ^{1/2})	R	% liberado	k (%min ^{1/2})	R	% liberado
[RAN][IBU]	1,2	0,98776	17	2,4	0,99728	35
[LID][IBU]	4,4	0,99718	67	5,0	0,98931	76
[DIF][IBU] ^a	4,8	0,98582	63	4,1	0,99594	65

^avalores obtidos através de duplicada do experimento. As medidas em duplicata foram realizadas apenas para o LI-IFAs [DIF][IBU]. SiO₂-60: Desvio padrão: $k = 0,94$, $R = 0,0018$, % liberado = 16; SiO₂-90: Desvio padrão: $k = 0,11$, $R = 0,0043$, % liberado = 0,55.

Como é possível verificar na Tabela 16, os resultados experimentais são explicados pelo modelo de Higuchi ($R > 0,98$) indicando que este modelo cinético é adequado para descrever a cinética de liberação dos LI-IFAs suportados nas sílicas. O modelo de Higuchi sugere que o mecanismo de liberação dos LI-IFAs é controlado pelo processo de difusão.

Em relação a cinética de liberação dos LI-IFAs suportados, os resultados mostram que há dependências da natureza do sistema de liberação. Os LI-IFAs [RAN][IBU] e [LID][IBU] suportados na sílica SiO₂-90 mostram uma cinética de liberação mais rápida do que quando estes mesmos LI-IFAs estavam suportados na SiO₂-60. Este comportamento pode estar relacionado ao fato do poro da sílica 90 ser maior, e, portanto, os LI-IFAs tem maior facilidade em difundir. Já o [DIF][IBU] teve uma cinética de liberação mais rápida quando suportado na SiO₂-60 do que quando suportado na SiO₂-90 o que sugere este LI-IFAs está em maior proporção na superfície da sílica do que adsorvido nos poros.

Quando os experimentos foram realizados usando o FGS pH 1,2 como meio de liberação, o perfil de liberação dos LI-IFAs foi distinto para cada LI-IFAs (Tabela 17). O [RAN][IBU] livre, por exemplo, mostrou uma liberação explicada pelo modelo de Higuchi. Já [LID][IBU] e [DIF][IBU] mostraram um perfil de liberação com duas cinéticas (modelo duplo exponencial).

Tabela 17 - Constantes cinéticas (*k*) de liberação dos LI-IFAs livres em FGS pH 1,2.

LI-IFAs	<i>k</i> ₁ (min ⁻¹)	<i>k</i> ₂ (min ⁻¹)	R	% liberado
[RAN][IBU] ^a	1,9 ^c	-	0,9852	30
[LID][IBU] ^b	3,5x10 ⁻²	8,8x10 ⁻⁴	0,9922	68
[DIF][IBU] ^b	7,8x10 ⁻³	1,2x10 ⁻³	0,9997	47

^aModelo de Higuchi. ^bModelo duplo exponencial. ^c(% min^{1/2})

O modelo de Higuchi novamente foi aplicado aos LI-IFAs suportados (Figura 60). A correlação linear foi menor do que a obtida no meio de liberação PBS pH 7,2 com 1% Tween®, mas os valores de R ainda estão dentro do aceitável (R>0,95). Então, pode-se dizer que o mecanismo de liberação dos LI-IFAs é controlado pelo processo de difusão. Novamente é possível verificar que a porcentagem dos LI-IFAs liberado para o meio pode estar relacionada ao tipo de interação da sílica com os LI-IFAs, pois há mudanças significativas na cinética da sílica 60 Å e 90 Å (Tabela 18). Além disso, quando o meio de dissolução muda, a cinética de liberação também muda. Por exemplo, [DIF][IBU] suportado em SiO₂-60 quando no meio de dissolução PBS pH 7,2 com 1% Tween® libera 63%, já no meio de dissolução FGS libera 84%. Estas mudanças em função do meio de dissolução podem estar relacionadas, a ionicidade

dos LI-IFAs. O [DIF][IBU] (FRIZZO et al., 2016) e o [LID][IBU] (WANG et al., 2014), por exemplo são relatados como LI-IFAs fracamente ionizados. Uma hipótese é que o íon ibuprofenato seja neutralizado no meio fortemente ácido, e com isso ocorra liberação é do ibuprofeno independente do seu par catiônico (Figura 61).

Figura 60 - Modelo cinético de Higuchi para os LI-IFAs suportados em (a) SiO₂-60. (b) SiO₂-90. FGS pH 1,2.

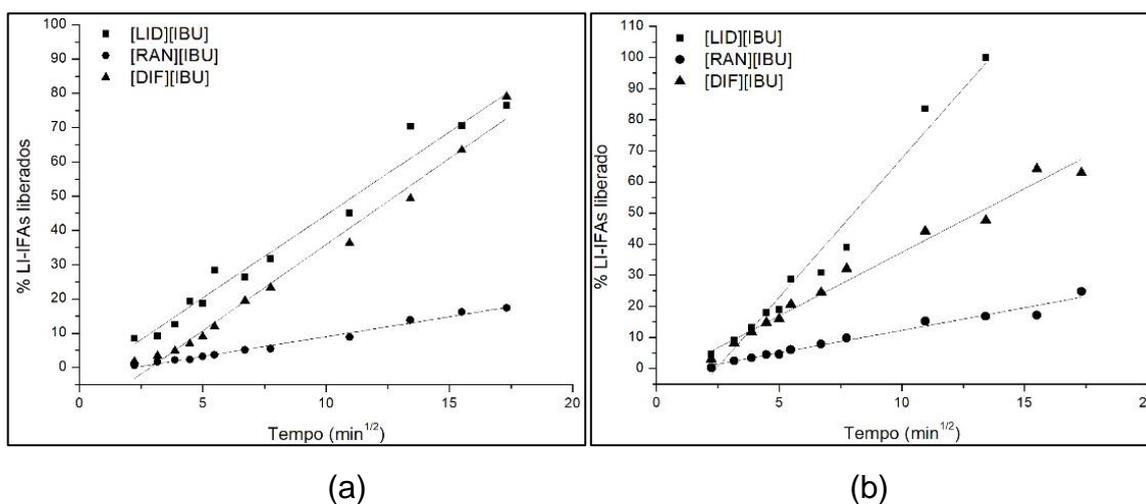


Figura 61 - [DIF][IBU] fracamente ionizado.

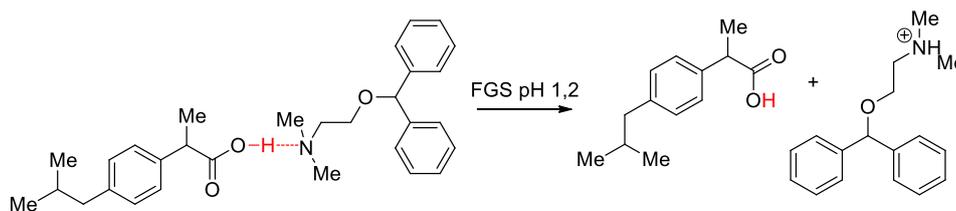


Tabela 18 - Constantes cinéticas (k) de liberação obtidos pelo modelo matemático de Higuchi, para os LI-IFAs suportados em SiO₂-60 e SiO₂-90 no meio de liberação FGS pH 1,2.

LI-IFAs	SiO ₂ -60			SiO ₂ -90		
	k (%min ^{1/2})	R	% liberado	k (%min ^{1/2})	R	% liberado
[RAN][IBU]	1,2	0,98612	17	1,45	0,96809	24
[LID][IBU]	4,8	0,97203	76	8,95	0,96961	100
[DIF][IBU] ^a	5,1	0,97829	84	3,9	0,9843	63

^avalores obtidos através de duplicata do experimento. As medidas em duplicata foram realizadas apenas para o LI-IFAs [DIF][IBU]. SiO₂-60: Desvio padrão: $k = 0,59$, $R = 0,00738$, % liberado = 6,8; SiO₂-90: Desvio padrão: $k = 0,21$, $R = 0,00648$, % liberado = 0,31.

4.3.3 Atividade anti-inflamatória

Os LI-IFAs estudados neste trabalho foram obtidos a partir do ibuprofeno, um fármaco que apresenta propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e antipiréticas. Entretanto, quando o LI-IFAs é formado, não sabemos se as propriedades anti-inflamatórias do ibuprofeno são mantidas, eliminadas ou potencializadas. Portanto, para avaliar como a combinação do ibuprofeno com outros cátions afeta suas propriedades, a atividade anti-inflamatória dos LI-IFAs foi investigada em testes *in vivo*.

Uma vez que os LI-IFAs [LID][IBU] e [BUP][IBU] possuem cátion com atividade anestésicas, o teste de avaliação do limiar mecânico foi realizado para descartar interferência deste efeito. Os resultados mostraram que os LI-IFAs não alteraram o limiar de retirada de pata mecânico (LRP) dos animais, ou seja, eles não alteraram a sensibilidade dos animais à estímulos mecânicos, descartando possível efeito sedativo-anestésico do LI-IFA. (Os dados são apresentados em gráfico no Apêndice IX).

A seguir foram medidos os efeitos dos LI-IFAs quanto a nocicepção espontânea induzida por capsaicina. Observou-se que a capsaicina causou lambida de pata nos animais, de aproximadamente 65 segundos. O [LID][IBU] reduziu o tempo de lambida de pata dos animais com uma inibição máxima de 64,4±9,2% (Apêndice IX). Da mesma forma, o [DIF][IBU] também reduziu o tempo de lambida de pata dos animais,

com inibição máxima de $99,6 \pm 0,2\%$. Ou seja, O [LID][IBU] e o [DIF][IBU] reduziram o comportamento nociceptivo espontâneo dos animais.

A fim de certificar que o efeito de nocicepção é decorrente dos LI-IFAs foi realizado o teste de avaliação de atividade locomotora dos animais. Por meio de teste do cilindro giratório, observou-se que o [LID][IBU] promoveu um número de quedas maior que o grupo de animais tratado com veículo (3,5 vs 0,5), ou seja, ele alterou a atividade locomotora dos animais (Tabela no Apêndice IX). Desta forma, o efeito de reduzir a nocicepção espontânea mencionado acima pode se tratar de um resultado falso positivo, já que o [LID][IBU] compromete a atividade locomotora dos animais. Diante disso, os experimentos foram seguidos apenas com o LI-IFAs [DIF][IBU] que se mostrou altamente eficaz na redução da dor espontânea sem alterar o limiar mecânico ou a atividade locomotora dos animais.

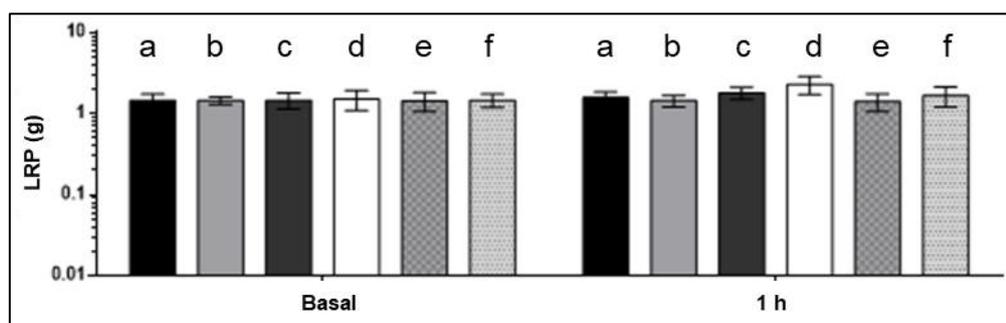
Para encontrar a dose mais efetiva do LI-IFAs [DIF][IBU] foram realizadas curvas de dose-reposta (10-30-60-100 mg kg⁻¹, via oral) (Apêndice IX). Observou-se que nenhuma das doses testadas do [DIF][IBU] alterou o limiar de retirada de pata mecânico (LRP), ou seja, ele não alterou a sensibilidade dos animais à estímulos mecânicos, descartando seu efeito sedativo-anestésico. Sendo assim, o efeito sobre a nocicepção espontânea foi realizado para [DIF][IBU] nas várias concentrações da curva (10, 30, 60 e 100 mg kg⁻¹, via oral). Em um primeiro momento observou-se que a capsaicina causou lambida de pata nos animais de aproximadamente 65 segundos.

O LI-IFAs [DIF][IBU] foi capaz de reduzir o tempo de lambida de pata dos animais induzido por capsaicina nas doses de 60 e 100 mg kg⁻¹, quando administrado por via oral, mas não nas doses de 10 e 30 mg kg⁻¹. As inibições observadas para o [DIF][IBU] na dose 60 mg kg⁻¹ foi de $69,3 \pm 6,7\%$ e na dose de 100 mg kg⁻¹ foi de $99,6 \pm 0,2\%$. Ou seja, o [DIF][IBU] apresentou um melhor efeito em reduzir a nocicepção espontânea na dose de 10 mg kg⁻¹, via oral. A dose inibitória (50%) calculada, ou seja, a dose necessária para inibir 50% da nocicepção espontânea foi de 12,3 mg kg⁻¹ com um intervalo de confiança de 5,8 – 26,3 mg kg⁻¹ [DI₅₀=12,3 (5,8-26,3) mg kg⁻¹].

A avaliação da atividade locomotora dos animais para as doses da curva também mostrou que o LI-IFAs [DIF][IBU] não alterou o número de quedas dos animais no teste do cilindro giratório em nenhuma das doses testadas, ou seja, ele não alterou a atividade locomotora dos animais, descartando um efeito falso-positivo no teste de nocicepção espontânea.

Após a comprovação da eficiência dos LI-IFAs [DIF][IBU] quanto a nocicepção espontânea. Os procedimentos apresentados à cima foram repetidos utilizando o LI-IFAs suportado nas sílicas 60 Å e 90 Å. Os compostos incorporados em sílica de 60 Å e 90 Å não alteraram o limiar de retirada de pata mecânico (LRP) dos animais. Da mesma forma, os controles ibuprofenato de sódio [Na][IBU] e cloridrato de difenidramina [DIF][Cl] também não alteraram o limiar mecânico dos animais (Figura 62).

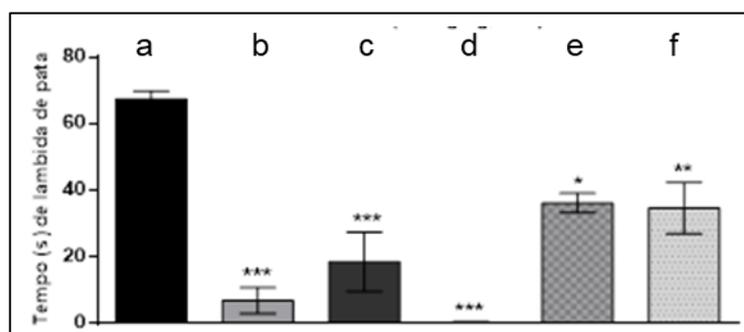
Figura 62 - Limiar mecânico de retirada de pata dos animais quando tratado com [DIF][IBU]. (a) Veículo (10 mL kg⁻¹); (b) SiO₂-60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg⁻¹); (c) SiO₂-60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg⁻¹); (f) [DIF][IBU] (100 mg kg⁻¹); (g) [Na][IBU] (300 mg kg⁻¹); (h) [DIF][Cl] (10 mg kg⁻¹).



^aBasal refere-se à avaliação do limiar mecânico de retirada de pata dos animais antes do tratamento com os compostos. O tempo de 1h refere-se à avaliação do limiar mecânico de retirada de pata dos animais em 1h após a administração dos compostos. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. ^bdose 10 mL kg⁻¹, via oral. ^cdose 100 mg kg⁻¹, via oral

Quanto a nocicepção espontânea induzida por capsaicina, observou-se que a capsaicina causou lambida de pata nos animais de aproximadamente 65 segundos. O LI-IFAs [DIF][IBU] (100 mg kg⁻¹, v.o.) incorporado nas sílicas 60 Å e 90 Å foi capaz de reduzir o tempo de lambida de pata dos animais induzido por capsaicina com inibição máxima de 89,8±3,9% e 72,5±8,9%, respectivamente. Os controles positivos ibuprofenato de sódio (300 mg kg⁻¹, v.o.) e cloridrato de difenidramina (10 mg kg⁻¹, v.o.) reduziram o tempo de lambida de pata dos animais com inibição de 46,3±2,9% e 48,6±7,8%, respectivamente (Figura 63).

Figura 63 - Efeito do LI-IFAs [DIF][IBU] sobre a nocicepção espontânea induzida por capsaicina administrada intraplantara. (a) Veículo (10 mL kg⁻¹); (b) SiO₂-60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg⁻¹); (c) SiO₂-90/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg⁻¹); (d) [DIF][IBU] (100 mg kg⁻¹); (e) [Na][IBU] (300 mg kg⁻¹); (f) [DIF][Cl] (10 mg kg⁻¹).



P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001 quando comparado com o grupo veículo. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. Via de administração oral.

Os compostos incorporados em sílica de 60 Å e 90 Å não alteraram o número de quedas dos animais no cilindro giratório. Da mesma forma, os controles ibuprofenato de sódio e cloridrato de difenidramina também não alteraram o número de quedas dos animais. Ou seja, nenhum dos LI-IFAs testados alterou a atividade locomotora dos animais, descartando um efeito falso-positivo no teste de nocicepção espontânea (Tabela 19).

Tabela 19 - Número de quedas dos animais no teste do cilindro giratório.

Composto	Número de quedas no teste do cilindro giratório
Veículo (10 mL kg ⁻¹ , v.o.)	0,6 ± 0,2
SiO ₂ -60/[DIF][IBU] 20% (100 mg kg ⁻¹ , v.o.)	1,1 ± 0,4
SiO ₂ -90/[DIF][IBU] 20%(100 mg kg ⁻¹ , v.o.)	3,0 ± 1,2
[DIF][IBU] (100 mg kg ⁻¹ , v.o)	0,8 ± 0,4
[Na][IBU] (300 mg kg ⁻¹ , v.o.)	0,5 ± 0,3
[DIF][Cl] (10 mg kg ⁻¹ , v.o.)	1,8 ± 1,0

ANOVA de uma via seguida pelo Teste post hoc de Tukey.

Como é possível Tabela 20, os dados obtidos no teste de liberação *in vitro* realizados em PBS pH 7,2 com 1% Tween® no período de 1 hora colaboram com os dados de % de atividade de nocicepção mostrada pelo LI-IFAs [DIF][IBU] livre e suportados nas sílicas 60 Å e 90 Å. Ou seja, quando o LI-IFAs está suportado na sílica 90 Å há uma liberação com a cinética mais lenta, e um menor % do [DIF][IBU] liberado, conseqüentemente uma atividade de nocicepção reduzida. Entretanto, quando o LI-IFAs está suportado na sílica 60 Å a porcentagem liberada para o meio é maior, e conseqüentemente a % de atividade de nocicepção também maior.

Tabela 20 - Comparação da % de atividade de nocicepção do LI-IFAs [DIF][IBU] com a cinética de liberação *in vitro* realizados em PBS pH 7,2 com 1% Tween® no período de 1 hora.

[DIF][IBU]	k^a (%min ^{-1/2})	% liberado ^b	% de atividade de nocicepção (100 mg kg ⁻¹)
Livre	-	35	99,6±0,2%.
SiO ₂ -60/[DIF][IBU]	3,62	26	89,8±3,9%
SiO ₂ -90/[DIF][IBU]	3,23	21	72,2±8,9%

^aCinética de liberação obtida pelo modelo de Higuchi para uma 1 h de liberação. ^b% de [DIF][IBU] liberada em 1 hora.

4.3.4 [DIF][IBU] suportado em sílicas mesoporosas organizadas MCM-41 e SBA-15

Os resultados de atividade anti-inflamatória mostraram que o [DIF][IBU] é o LI-IFAs mais promissor como analgésico. A partir desta observação, este LI-IFA foi suportado também nas sílicas MCM-41 e SBA-15. Estas duas sílicas são amplamente investigadas como suporte para liberação de fármacos, pois apresentam uma organização hexagonal dos poros, diferentemente das sílicas amorfas mencionadas nos experimentos desta Tese.

Para realização desta parte do trabalho, as sílicas MCM-41 e SBA-15 foram disponibilizadas pelo Professor Edilson Benvenuto da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As sílicas foram sintetizadas segundo metodologias descritas. (ZHAO et al., 1998 ;BECK et al., 1992).

Inicialmente o [DIF][IBU] foi suportado nas sílicas mesoporosas SBA-15 e MCM-41 na variação de massa 20% usando o procedimento de adsorção pelo solvente, já descrito para as sílicas mesoporosas, entretanto, o tempo de reação foi de 24h, a fim de garantir máxima adsorção possível já que os poros destas sílicas podem ser menores.

A mudança na estabilidade térmica foi avaliada e os perfis de decomposição estão demonstrados na Figura 64 e o valores na Tabela 21. Quando o [DIF][IBU] foi suportado na sílica MCM-41 não houve mudança significativa na estabilidade, porém, quando suportado na sílica SBA-15, a estabilidade do [DIF][IBU] aumentou. Esta diferença pode estar relacionada ao fato da sílica SBA-15 possuir grupos silanóis na superfície do poro o que pode levar interações intermoleculares mais fortes (ligação de hidrogênio) com [DIF][IBU], enquanto a sílica MCM-41 possui além de grupos silanóis e grupos silanos que formam interações intermoleculares mais fracas, do tipo van der Waals.

Figura 64 - Perfil de TG de [DIF][IBU] (preto), [DIF][IBU] 20%/MCM-41 (azul) e [DIF][IBU] 20%/SBA-15 (vermelho).

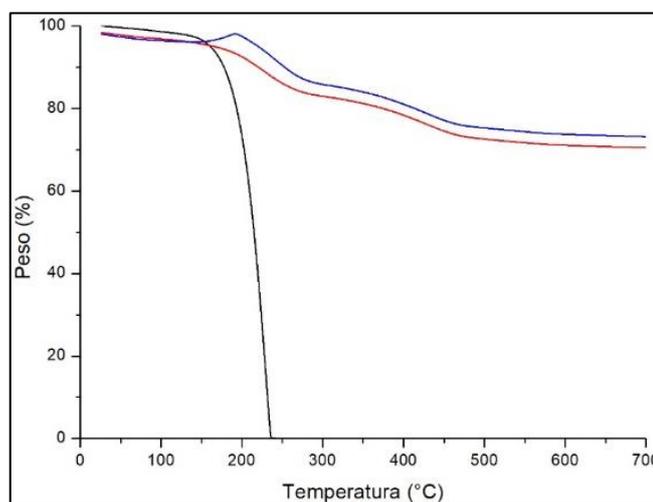
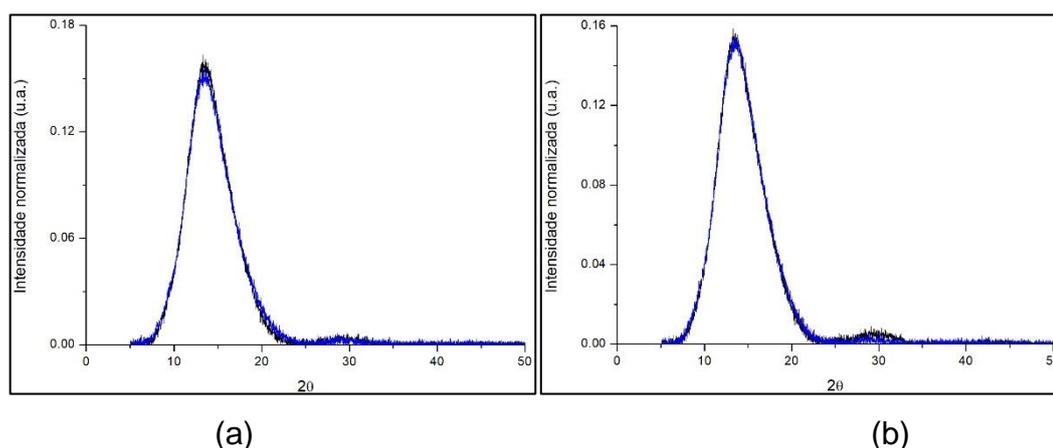


Tabela 21 - $T_{d5\%}$ de LI-IFAs suportados em sílica (10-50% em peso).

LI-IFAs- $T_{d5\%}$	Puro	MCM-41	SBA-15
[DIF][IBU]	162	167	221

As amostras de sílicas SBA-15 e MCM-41 também foram submetidas a análise de difração de raios X em pó. Apesar de apresentarem poros organizados em rede hexagonal bidimensional, os padrões de difração de raios X em pó a alto ângulo produzem apenas bandas largas, pois as paredes da sílica são compostas por SiO₂ amorfo. Seria possível distinguir apenas picos de interferência que correspondem a alguns nanômetros, quando a difração de raios X de baixo ângulo fosse realizada. Uma vez que neste trabalho não foi utilizada a técnica de difração raios X a baixo ângulo os perfis demonstrados na Figura 65 são característicos de estruturas amorfas, não havendo mudanças significativas nos padrões das sílicas puras e suportadas com o [DIF][IBU] 20% para nenhum dos casos.

Figura 65 - Espectro de difração de raios X em pó da Sílica (preto) e [DIF][IBU] 20% (azul). (a) MCM-41; (b) SBA-15.

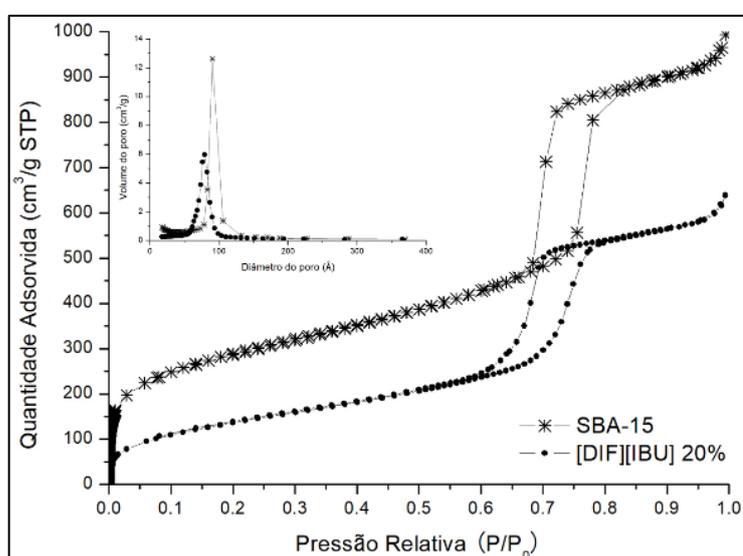


A análise de sorção/dessorção de N₂ de [DIF][IBU] suportado em SBA-15 foi similar àquela obtida para a sílica SBA-15 (Figura 66-a). Assim, pode-se dizer que as dimensões dos poros foram inalteradas após o processo de suporte do LI-IFAs (Figura 66-a), o que sugere um empacotamento das moléculas do LI-IFAs dentro dos poros. Observou-se também, para a isoterma desta amostra uma redução na quantidade total de N₂ adsorvido sob diferentes condições de pressão relativa (P/P_0), indicando a presença de LI-IFAs adsorvido na rede mesoporosa da SBA-15 (DOADRIO et al., 2004). O deslocamento observado na isoterma de adsorção/dessorção do LI-IFAs em relação à isoterma da sílica SBA-15, somado a uma redução de aproximadamente 37% do volume do poro e de 49% para área superficial (Tabela 22), comprovou a

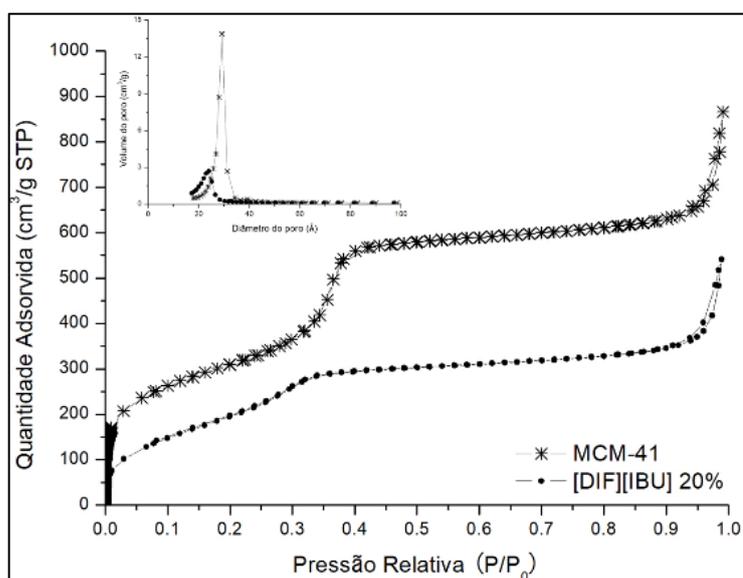
adsorção do LI-IFAs na sílica. O tamanho médio dos poros aumentou devido ao preenchimento total dos mesoporos menores (HEIKKILÄ et al., 2007).

As isotermas de adsorção/dessorção de N₂ obtidas tanto para MCM-41 quanto para o [DIF][IBU] suportado em MCM-41, mostraram o mesmo comportamento (Figura 66-b). A isoterma é do tipo IV segundo IUPAC, com redução na quantidade total de N₂ adsorvido. Uma redução de 27% para área superficial e 44% para volume do poro, confirmam a adsorção deste LI-IFAs nos poros da sílica MCM-41.

Figura 66 - Isotermas de adsorção/dessorção de N₂ a 77 K das amostras de sílica puras e suportadas com [DIF][IBU] 20%. (a) SBA-15; (b) MCM-41.



(a)



(b)

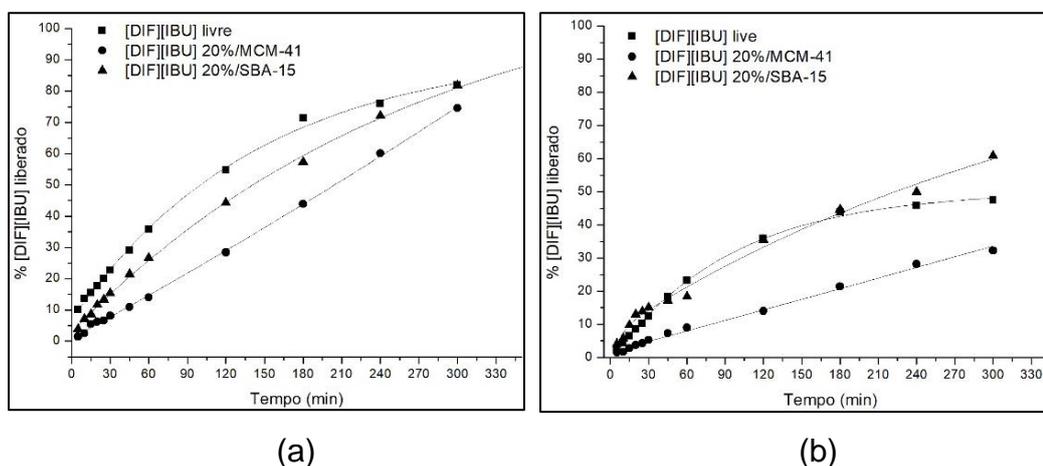
Tabela 22 - Valores obtidos através das análises de adsorção/dessorção de N₂.

Amostra*	Área		Volume do poro ^a (V)	Tamanho do poro ^a	
	superficial ^a (S _{BET})			BET	BJH
	BET (m ² g ⁻¹)	BJH (m ² g ⁻¹)	BJH (m ² g ⁻¹)	BET (Å)	BJH (Å)
MCM-41	1155,5±21,6	1375,6±	1,4±0,03	47,0±0,1	40,3±0,03
[DIF][IBU]/ MCM-41	843,3±11,4	719,8±6,9	0,8±0,01	39,5±0,2	42,4±0,2
SBA-15	1031,5±48,6	1000,9±56,1	1,6±0,08	62,0±0,04	63,6±0,4
[DIF][IBU]/ SBA-15	542,5±52,9	565,3±3,9	0,9±0,003	77,7±0,3	67,9±0,2

^aValores obtidos para o processo de adsorção de N₂ em duplicata. *MCM-41 com [DIF][IBU] suportado ([DIF][IBU]/MCM-41); SBA-15 com [DIF][IBU] suportado ([DIF][IBU]/SBA-15).

Finalmente, o perfil de liberação *in vitro* do LI-IFAs suportado na proporção 20% na SBA-15 e MCM-41 foi avaliado (Figura 67-a). Os dados obtidos para liberação do [DIF][IBU] no meio de dissolução PBS pH 7,2 com 1% Tween[®] mostraram uma liberação mais rápida quando este estava suportado na sílica SBA-15 do que quando suportado em MCM-41, porém sem efeito *burst*. Entretanto, quando o meio de liberação era o FGS pH 1,2 (Fig. 67-b) a liberação do LI-IFAs suportado na sílica SBA-15 foi semelhante ao [DIF][IBU] na sua forma livre e mais rápida do que do o LI-IFAs suportado em MCM-41 (Tabela 23).

Figura 67 - Perfil de liberação *in vitro* do [DIF][IBU] suportado nas sílicas SBA-15 e MCM-41. (a) PBS pH 7,2 com 1% Tween[®]; (b) FGS pH 1,2.



A cinética da liberação foi calculada pelo modelo de Higuchi. Considerou-se duas etapas de liberação quando o meio de liberação foi PBS pH 7,2 com 1% Tween® (Figura 68-a). Sendo na primeira etapa, que corresponde aos 60 minutos, uma cinética de $4,15 \% \text{ min}^{1/2}$, seguida de uma segunda etapa de cinética $5,60 \% \text{ min}^{1/2}$ para o [DIF][IBU]/SBA-15. Para o [DIF][IBU]/MCM-41 na primeira etapa, que corresponde aos primeiros 60 minutos, foi obtida uma cinética de $2,26 \% \text{ min}^{1/2}$, seguida de uma segunda etapa de cinética $7,22 \% \text{ min}^{1/2}$. Estes dados indicam que para que a liberação do [DIF][IBU] ocorra, um maior tempo de contato com o meio de liberação é necessário. As diferenças nas cinéticas de liberação do [DIF][IBU] em função das sílicas podem estar associadas ao fato de o poro da SBA-15 ser maior (62 \AA) do que o poro da MCM-41 (47 \AA), como consequência, o LI-IFAs tem maior dificuldade em deixar o poro da sílica MCM-41.

Figura 68 - Modelo cinético de Higuchi para os LI-IFAs suportados nas sílicas SBA-15 e MCM-41. (a) PBS pH 7,2 com 1% Tween®; (b) FGS pH 1,2.

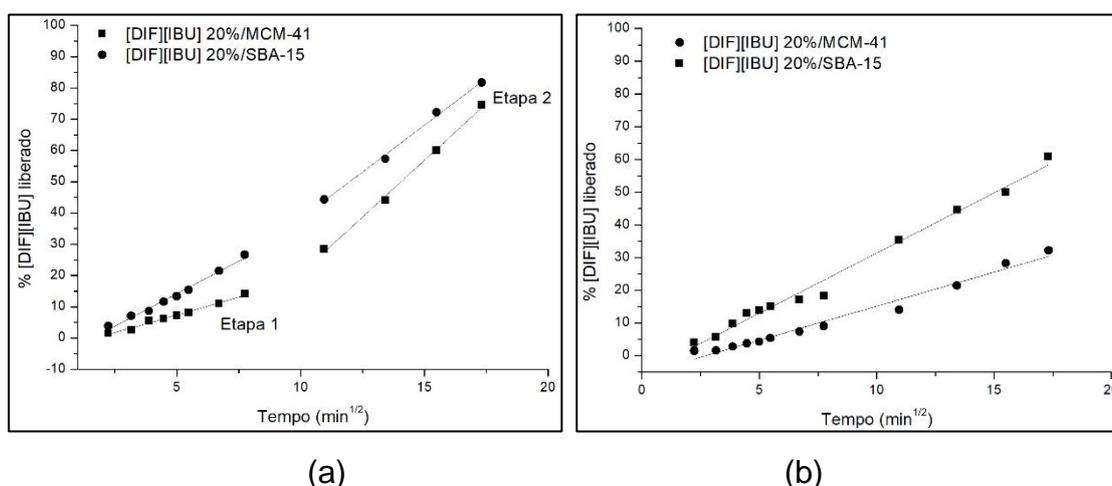


Tabela 23 – Constantes cinéticas (k) de liberação obtidos pelo modelo matemático de Higuchi, para os LI-IFAs suportados nas sílicas MCM-41 e SBA-15.

LI-IFAs	PBS			FGS		
	k (%min ^{1/2})	R	% liberado	k (%min ^{1/2})	R	% liberado
MCM-41	2,27	0,98629	14	2,1	0,97644	32
	7,27	0,99547	74			
SBA-15	4,15	1	27	3,68	0,9876	71
	5,60	0,99411	81			

A fim de comparar qual dos sistemas de liberação desenvolvidos para o LI-IFAs [DIF][IBU] foi o mais promissor, as % do LI-IFAs liberadas ao final de 5 horas foram comparadas e os dados estão demonstrados na Tabela 24. Foi possível observar que quando o meio de dissolução é o PBS pH 7,2 com 1% de Tween® as menores porcentagem de liberação foram obtidas para as sílicas 60 Å e 90 Å (63 e 65% respectivamente), seguidas pelas sílicas MCM-41 (74%) e SBA-15 (81%) que mostrou uma liberação comparável ao LI-IFAs livre (82%). Com base nestes dados, pode-se sugerir, que as sílicas SBA-15 e MCM-41 foram mais eficientes no controle de liberação, pois liberaram quantidades similares ao LI-IFAs livre, porém de forma gradual e sem efeito *burst*, enquanto que as sílicas 60 Å e 90 Å liberaram uma quantidade do LI-IFAs bem menor. Entretanto quando o meio de liberação foi o FGS pH 1,2, a mesma tendência não foi observada, pois o sistema que mostrou menor % de liberação foi o do [DIF][IBU] suportado na MCM-41, seguido pelo LI-IFAs livre, SBA-15, e sílica 60 Å e finalmente sílica 90 Å. Com base nestes resultados, sugere-se que o pH do meio de liberação tem influência sobre o comportamento do LI-IFAs, conforme mencionado à cima, não se descarta a possibilidade de o [DIF][IBU] estar sofrendo neutralização no meio FGS. Além disso, as interações entre o LI-IFAs [DIF][IBU] com a superfície da sílica também pode ser afetada pelo pH, estas são algumas das hipóteses que poderiam ajudar a explicar a diferença dos % liberados com a mudança do meio de liberação. Entretanto, outros experimentos devem ser realizados para comprovação das hipóteses aqui levantadas.

Tabela 24 - Liberação do [DIF][IBU] em função do meio de dissolução e do tipo de material de suporte.

[DIF][IBU]	PBS pH 7,2 com 1% Tween® (%)	FGS (%)
Livre	82	47
SiO ₂ -60	63	84
SiO ₂ -90	65	63
SBA-15	81	71
MCM-41	74	32

4.4 CONCLUSÃO DO CAPÍTULO II

Foi possível obter uma série de LI-IFAs suportados em sílica (60 Å e 90 Å), por um processo simples e eficaz (adsorção pelo solvente).

- (i) As técnicas de caracterização, difração de raios X em pó, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão, não foram conclusivas quantitativamente quanto a adsorção dos LI-IFAs nos poros das sílicas 60 Å e 90 Å.
- (ii) A estabilidade térmica dos LI-IFAs suportados na sílica 60 Å aumentou até a proporção de 20% em peso dos LI-IFAs em relação ao LI-IFAs puro e quando suportados na sílica 90 Å, a estabilidade térmica aumentou apenas na proporção 10%, indicando que a interação dos LI-IFAs com a sílica é influenciada pelo tamanho do poro.
- (iii) Os perfis de liberação dos LI-IFAs suportados foram sustentados e lentos, sem efeito *burst*. Além disso foram dependentes do tamanho do poro da sílica (60 e 90 Å), de maneira geral poros maiores liberaram os LI-IFAs mais rapidamente
- (iv) O meio de dissolução (PBS pH 7,2 com 1% Tween® e FGS pH 1,2) também mostrou influência sobre a velocidade de liberação, sendo que em FGS foram liberados de forma mais rápida.

- (v) A afinidade das interações dos LI-IFAs com chip SiO₂ foi dependente da hidrofobicidade dos LI-IFAs, quanto mais hidrofóbico, menor a constante de dissociação (K_D).
- (vi) Isotermas de adsorção/dessorção de N₂ comprovaram a adsorção do [DIF][IBU] nos poros das sílicas 60 Å e 90 Å, indicando formação de monocamada de LI-IFAs na sílica 60 Å e multicamada na sílica 90 Å.
- (vii) O [DIF][IBU] apresentou maior efeito de nocicepção comparado aos outros LI-IFAs sem comprometer a atividade locomotora dos animais. Além disso, [DIF][IBU] mostrou efeito de nocicepção maior do que o precursor ibuprofenato de sódio, utilizado como anti-inflamatório, podemos concluir assim que a difenidramina potencializa o efeito do ibuprofeno.
- (viii) O efeito de nocicepção do [DIF][IBU] suportado na sílica 60 Å foi maior do que o efeito mostrado no [DIF][IBU] suportado na sílica 90 Å, mostrando que liberação do LI-IFAs em sistema *in vivo* é comparável ao sistema *in vitro*.
- (ix) Foi obtido também o LI-IFAs [DIF][IBU] suportado nas sílicas SBA-15 e MCM-41. A estabilidade térmica do [DIF][IBU] suportado SBA-15 teve aumento em função das possíveis ligações de hidrogênio formadas entre o LI-IFAs e os grupos silanóis da superfície da sílica.
- (x) Isotermas de adsorção/dessorção de N₂ mostraram que houve formação de multicamada do LI-IFAs [DIF][IBU] na sílica MCM-41 e monocamada na sílica SBA-15.
- (xi) A liberação em PBS pH 7,2 com 1% de Tween[®] do [DIF][IBU] suportado nas sílicas SBA-15 e MCM-41 mostrou dependência da quantidade de LI-IFAs adsorvido no interior dos poros da MCM-41 e SBA-15, uma vez que uma maior quantidade do [DIF][IBU] foi liberada a partir da sílica SBA-15.

5 CONCLUSÃO

Dois métodos bem conhecidos (Friedman e O-F-W) podem ser utilizados na determinação da energia de ativação das reações de decomposição dos LI-IFAs. Ambos métodos podem fornecer a constante cinética de decomposição térmica e valores de meia-vida. Baseados nestes dados, podemos concluir que os LI-IFAs [BUP][IBU] e [RAN][IBU] são termicamente estáveis, enquanto [LID][IBU] e [DIF][IBU] possuem estabilidade térmica reduzida.

A determinação das estabilidades fotolítica e fotocatalítica foi possível por metodologias bem estabelecidas na literatura. Conclui-se que fotoestabilidade dos LI-IFAs é dependente da estrutura dos cátions, enquanto que a estabilidade fotocatalítica não mostrou essa dependência.

Dadas as possíveis desvantagens da forma líquida dos LI-IFAs, a tecnologia SILP parece ser uma alternativa promissora para manipulação e dosagem destes LI-IFAs. Com a combinação dos LI-IFAs com dispositivos de suporte, como a sílica, há a possibilidade de liberação controlada. Os LI-IFAs suportados nas sílicas SiO₂-60, SiO₂-90, MCM-41 e SBA-15 mostraram liberações sustentada e lentas, sem efeito *burst*, em comparação aos LI-IFAs livres. Além disso, com a manipulação das variáveis do suporte, como área superficial, volume, tamanho e morfologia do poro várias abordagens de liberação podem ser desenvolvidas uma vez que os resultados mostraram que as sílicas amorfas 60 Å e 90 Å liberaram menores quantidades do [DIF][IBU] do que as sílicas organizadas MCM-41 e SBA-15 que liberaram quantidades comparáveis ao LI-IFAs livre.

6 SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO

Tendo em vista a importância de estudos voltados para os líquidos iônicos formados a partir de ingredientes farmacologicamente ativos visando aplicações farmacêuticas, sugere-se para trabalho futuros:

- (i) Estudo detalhado dos mecanismos de fotodecomposição na presença e ausência de H_2O_2 para os LI-IFAs derivados do ibuprofeno.
- (ii) Estudo do suporte dos LI-IFAs em sílicas de superfícies modificadas.
- (iii) Suporte dos LI-IFAs em sílicas utilizando método de adsorção pela solução assistida por ultrassom.
- (iv) Obtenção da cinética de adsorções dos LI-IFAs nas diferentes sílicas.
- (v) Estudo da interação sílica/LI-IFAs pela técnica de RMN no estado sólido.
- (vi) Estudo de interações dos LI-IFAs com vesículas fosfolipídicas pela técnica de SPR.
- (vii) Estudo das interações dos LI-IFAs com superfície de TiO_2 pela técnica de SPR.
- (viii) Imobilização dos LI-IFAs em sensores de SPR para estudo de interações com proteínas.
- (ix) Estudo da influência do pH do meio na liberação dos LI-IFAs suportados.
- (x) Estudo da farmacocinética *in vivo* dos LI-IFAs.

7 REFERÊNCIAS

AHMAD, I. et al. **Photostability and Photostabilization of Drugs and Drug Products** *International Journal of Photoenergy*, 2016.

AHOLA, M. et al. Silica xerogel carrier material for controlled release of toremifene citrate. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 195, n. 1–2, p. 219–227, 2000.

ALOTHMAN, Z. A. **A review: Fundamental aspects of silicate mesoporous materials** *Materials*, 2012.

ALVES, F. et al. Synthesis, characterization, and liposome partition of a novel tetracycline derivative using the ionic liquids framework. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 102, n. 5, p. 1504–1512, 2013.

AMBROGI, V. et al. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents - I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 220, n. 1–2, p. 23–32, 2001.

ANDERSSON, J. et al. Influences of material characteristics on ibuprofen drug loading and release profiles from ordered micro- and mesoporous silica matrices. *Chemistry of Materials*, v. 16, n. 21, p. 4160–4167, 2004.

ANDREEA COJOCARU, O. et al. Pharmaceutically Active Supported Ionic Liquids. In: **Supported Ionic Liquids: Fundamentals and Applications**. [s.l: s.n.]. p. 385–406.

AZAS, T. et al. Solid-State NMR Study of Ibuprofen Confined in MCM-41 Material. *Chemistry of Materials*, v. 18, n. 13, p. 6382–6390, 2006.

BALAS, F. et al. Confinement and controlled release of bisphosphonates on ordered mesoporous silica-based materials. *Journal of the American Chemical Society*, v. 128, n. 25, p. 8116–8117, 2006.

BALK, A. et al. Transformation of acidic poorly water soluble drugs into ionic liquids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 94, p. 73–82, 2015.

BALK, A.; HOLZGRABE, U.; MEINEL, L. Pro et contra' ionic liquid drugs - Challenges and opportunities for pharmaceutical translation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 94, n. June, p. 291–304, 2015.

BARBÉ, C. et al. Silica particles: A novel drug-delivery system. *Advanced Materials*, v. 16, n. 21, p. 1959–1966, 2004.

BASU, P.; ALEXANDER, K. S.; RIGA, A. T. A statistical model for the optimization of DSC performance in the evaluation of drugs for preformulation studies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 83, n. 1, p. 19–22, 2006.

BECK, J. S. et al. A New Family of Mesoporous Molecular Sieves Prepared with Liquid Crystal Templates. *Journal of the American Chemical Society*, v. 114, n. 27, p.

10834–10843, 1992.

BELTRÁN, F. J.; OVEJERO, G.; RIVAS, J. Oxidation of polynuclear aromatic hydrocarbons in water. 3. UV radiation combined with hydrogen peroxide. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 35, n. 3, p. 883–890, 1996.

BICA, K. et al. Pharmaceutically active ionic liquids with solids handling, enhanced thermal stability, and fast release. **Chemical Communications**, v. 48, n. 44, p. 5422, 2012.

BICA, K.; ROGERS, R. D. Confused ionic liquid ions—a “liquification” and dosage strategy for pharmaceutically active salts. **Chemical Communications**, v. 46, n. 8, p. 1215, 2010.

BING, C.; CHUN, Y.; KHANG, G. O. H. N. Photolysis pathway of nitroaromatic compounds in aqueous solutions in the UV/H₂O₂ process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1061–1064, 2006.

BOROVA, V. L. et al. Highly sensitive determination of 68 psychoactive pharmaceuticals, illicit drugs, and related human metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 17, p. 4273–4285, 2014.

BOUKHERROUB, R. et al. Thermal Hydrosilylation of Undecylenic Acid with Porous Silicon. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 149, n. 2, p. H59, 2002.

BOVIO, S. et al. Nanometric ionic-liquid films on silica: a joint experimental and computational study. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 21, n. 42, p. 424118, 2009.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 60, n. 2, p. 309–319, 1938.

BRUSCO, I. et al. α -Spinasterol: a COX inhibitor and a transient receptor potential vanilloid 1 antagonist presents an antinociceptive effect in clinically relevant models of pain in mice. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 23, p. 4247–4262, 2017.

BUXTON, B. V. et al. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms, and hydroxyl radicals in aqueous solution. **J. Phys. Chem. Ref. Data**, v. 17, n. 2, p. 513, 1988.

CAVALLARO, G. et al. Drug Delivery Devices Based on Mesoporous Silicate. **Drug Delivery**, v. 11, n. 1, p. 41–46, 2004.

CHARNAY, C. et al. Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: Drug loading and release property. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 3, p. 533–540, 2004.

CHRISTOPHORIDIS, C. et al. Ozonation of ranitidine: Effect of experimental parameters and identification of transformation products. **Science of the Total**

Environment, v. 557–558, p. 170–182, 2016.

DA SILVA BRUM, E. et al. Tabernaemontana catharinensis ethyl acetate fraction presents antinociceptive activity without causing toxicological effects in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 191, p. 115–124, 2016.

DA SILVA, J. C. C. et al. Photolysis and photocatalysis of ibuprofen in aqueous medium: Characterization of by-products via liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry and assessment of their toxicities against Artemia Salina. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 49, n. 2, p. 145–153, 2014.

DE CARVALHO, R. M.; RATH, S.; KUBOTA, L. T. **SPR - Uma nova ferramenta para biossensores** *Quimica Nova*, 2003.

DIDÓ, C. A. et al. Small gold nanoparticles with narrow size distribution achieved in SBA-15 pores by using ionic silsesquioxane instead of thiol group as stabilizer and adhesion agent. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 270, p. 48–56, 2018.

DIXON, W. J. Efficient Analysis of Experimental Observations. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 20, n. 1, p. 441–462, 1980.

DOADRIO, A. L. et al. Mesoporous SBA-15 HPLC evaluation for controlled gentamicin drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 97, n. 1, p. 125–132, 2004.

DOADRIO, J. C. et al. Functionalization of mesoporous materials with long alkyl chains as a strategy for controlling drug delivery pattern. **Journal of Materials Chemistry**, v. 16, n. 5, p. 462–466, 2006.

DOMAŃSKA, U. et al. **pKa and solubility of drugs in water, ethanol, and 1-octanol**. Journal of Physical Chemistry B. **Anais...**2009

EDGE, M. et al. The retention of heterocyclics by siliceous frameworks. Part I. The role of the heterocyclic. **Journal of Materials Science**, v. 36, n. 6, p. 1443–1450, 2001.

ESPLUGAS, S. et al. Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. **Water Research**, v. 36, n. 4, p. 1034–1042, 2002.

FELIX, F. S. et al. Thermal behavior study and decomposition kinetics of salbutamol under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 95, n. 3, 2009.

FERREIRA, A. R. et al. Overview of the liquid-liquid equilibria of ternary systems composed of ionic liquid and aromatic and aliphatic hydrocarbons, and their modeling by COSMO-RS. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 8, 2012.

FRIEDMAN, H. L. Kinetics of thermal degradation of char-forming plastics from thermogravimetry. Application to a phenolic plastic. **Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia**, v. 6, n. 1, p. 183–195, 2007.

FRIEDRICH, H. et al. Dissolution rate improvement of poorly water-soluble drugs

obtained by adsorbing solutions of drugs in hydrophilic solvents onto high surface area carriers. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 62, n. 2, p. 171–177, 2006.

FRIZZO, C. P. et al. Novel ibuprofenate- and docusate-based ionic liquids: emergence of antimicrobial activity. **RSC Adv.**, v. 6, n. 102, p. 100476–100486, 2016.

GAO, L. et al. Influence of different structured channels of mesoporous silicate on the controlled ibuprofen delivery. **Materials Chemistry and Physics**, v. 135, n. 2–3, p. 786–797, 2012.

GARCIA-VERDUGO, E.; LOZANO, P.; LUIS, S. V. **Biocatalytic processes based on supported ionic liquids**. Supported Ionic Liq. **Anais...**2014

GARCÍA EINSCHLAG, F. S. et al. Evaluation of the efficiency of photodegradation of nitroaromatics applying the UV/H₂O₂ technique. **Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 18, p. 3936–3944, 2002.

GAROMA, T.; GUROL, M. D. Modeling aqueous ozone/UV process using oxalic acid as probe chemical. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 20, p. 7964–7969, 2005.

GEISSLINGER, G. et al. Variability in the stereoselective disposition of ibuprofen in patients with rheumatoid arthritis. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 35, n. 6, p. 603–607, 1993.

GEORGIEVA, V.; ZVEZDOVA, D.; VLAEV, L. Non-isothermal kinetics of thermal degradation of chitosan. **Chemistry Central Journal**, v. 6, n. 1, 2012.

GLASMÄSTAR, K. et al. Protein adsorption on supported phospholipid bilayers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 246, n. 1, p. 40–47, 2002.

GREEN, R. J. et al. Surface plasmon resonance analysis of dynamic biological interactions with biomaterials. **Biomaterials**, v. 21, n. 18, p. 1823–1835, 2000.

HARPER, T. F.; SAILOR, M. J. Using porous silicon as a hydrogenating agent: Derivatization of the surface of luminescent nanocrystalline silicon with benzoquinone [13]**Journal of the American Chemical Society**, 1997.

HATA, H. et al. Adsorption of taxol into ordered mesoporous silicas with various pore diameters. **Chemistry of Materials**, v. 11, n. 4, p. 1110–1119, 1999.

HEIKKILÄ, T. et al. Evaluation of mesoporous TCPSi, MCM-41, SBA-15, and TUD-1 materials as API carriers for oral drug delivery. **Drug Delivery**, v. 14, n. 6, p. 337–347, 2007.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 10, p. 874–875, 1961.

HINDI, K. M. et al. The antimicrobial efficacy of sustained release silver-carbene

complex-loaded L-tyrosine polyphosphate nanoparticles: Characterization, in vitro and in vivo studies. **Biomaterials**, v. 30, n. 22, p. 3771–3779, 2009.

HOFFMANN, F. et al. **Silica-based mesoporous organic-inorganic hybrid materials** *Angewandte Chemie - International Edition*, 2006.

HOMOLA, J.; YEE, S. S.; GAUGLITZ, G. Surface plasmon resonance sensors: review. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 54, n. 1, p. 3–15, 1999.

HORCAJADA, P. et al. Influence of pore size of MCM-41 matrices on drug delivery rate. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 68, n. 1–3, p. 105–109, 2004.

HOUGH, W. L. et al. The third evolution of ionic liquids: Active pharmaceutical ingredients. **New Journal of Chemistry**, v. 31, n. 8, p. 1429–1436, 2007.

HOUGH, W. L.; ROGERS, R. D. Ionic liquids then and now: From solvents to materials to active pharmaceutical ingredients. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 80, n. 12, p. 2262–2269, 2007.

HOWARD, G. J.; MIDGLEY, C. A. The formation and structure of suspension-polymerized styrene–divinylbenzene copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 26, n. 11, p. 3845–3870, 1981.

IZQUIERDO-BARBA, I. et al. Release evaluation of drugs from ordered three-dimensional silica structures. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 5, p. 365–373, 2005.

JIA, L. et al. Successfully tailoring the pore size of mesoporous silica nanoparticles: Exploitation of delivery systems for poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 439, n. 1–2, p. 81–91, 2012.

JOHN S. WILKES AND MICHAEL J. ZAWOROTKO. Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids. **J. Chem. Soc., Chem. Commun**, n. 13–1992, p. 965–967, 1992.

JONES, C. B. et al. Oxygen-balanced energetic ionic liquid. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 45, n. 30, p. 4981–4984, 2006.

JOSCHEK, H. I.; MILLER, S. I. Photooxidation of Phenol, Cresols, and Dihydroxybenzenes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 88, n. 14, p. 3273–3281, 1966.

KATRITZKY, A. R. et al. 1-Butyl-3-methylimidazolium 3,5-dinitro-1,2,4-triazolate: A novel ionic liquid containing a rigid, planar energetic anion. **Chemical Communications**, n. 7, p. 868–870, 2005.

KELLER, C. A.; KASEMO, B. Surface specific kinetics of lipid vesicle adsorption measured with a quartz crystal microbalance. **Biophysical Journal**, v. 75, n. 3, p. 1397–1402, 1998.

KILIAN, K. A. et al. **Optimisation of nanostructured porous silicon surface chemistry towards biophotonic sensors**. Proceedings of the 2006 International Conference on Nanoscience and Nanotechnology, ICONN. **Anais...2006** Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-48749120081&partnerID=40&md5=1de5ba747331fb4d5aec28058c105a0a>

KIM, I.; TANAKA, H. Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment. **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 793–802, 2009.

KIM, I.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Photodegradation of pharmaceuticals and personal care products during UV and UV/H₂O₂ treatments. **Chemosphere**, v. 77, n. 4, p. 518–525, 2009.

KOHLER, F. T. U. et al. Supported ionic liquid phase (SILP) materials for removal of hazardous gas compounds – efficient and irreversible NH₃ adsorption. **Green Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 3560, 2014.

KORTESUO, P. et al. In vitro evaluation of sol-gel processed spray dried silica gel microspheres as carrier in controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 200, n. 2, p. 223–229, 2000.

KRESGE, C. T. et al. Ordered Mesoporous-Sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. **Nature**, v. 359, p. 710–712, 1992.

KROGER, E.; KRETSCHMANN, E. Reflection and transmission of light by a rough surface, including results for surface-plasmon effects. **Journal of the Optical Society of America B**, v. 65, n. 2, p. 150–154, 1975.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, n. 9, p. 1361–1403, 1918.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M. Photochemical Processes for Water Treatment. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 2, p. 671–698, 1993.

LI, H. et al. Numerical simulation of controlled nifedipine release from chitosan microgels. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93, n. 4, p. 1928–1937, 2004.

LIMNELL, T. et al. Drug delivery formulations of ordered and nonordered mesoporous silica: Comparison of three drug loading methods. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 8, p. 3294–3306, 2011.

LIN, V. S. Y. et al. Molecular recognition inside of multifunctionalized mesoporous silicas: Toward selective fluorescence detection of dopamine and glucosamine [8] **Journal of the American Chemical Society**, 2001.

LIRA, A. M. et al. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. **Thermochimica Acta**, v. 457, n. 1–2, p. 1–6, 2007.

MACÊDO, R. O. et al. **Application of Thermogravimetry in the Quality Control of**

Chloramphenicol Tablets *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 1999.
Disponível em:
<<http://www.akademai.com/content/k337684577183676/fulltext.pdf?page=1>>

MAL, N. K.; FUJIWARA, M.; TANAKA, Y. Photocontrolled reversible release of guest molecules from coumarin-modified mesoporous silica. **Nature**, v. 421, n. 6921, p. 350–353, 2003.

MANRIQUE, J.; MARTÍNEZ, F. Solubility of ibuprofen in some ethanol + water cosolvent mixtures at several temperatures. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 344–354, 2007.

MARIAN, E. et al. Thermal behaviour of erythromycin-active substance and tablets: Part 1. Kinetic study of the active substance under non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 2, p. 1025–1031, 2013.

MARIANI, S.; MINUNNI, M. Surface plasmon resonance applications in clinical analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 9–10, p. 2303–2323, 2014.

MARRUCHO, I. M.; BRANCO, L. C.; REBELO, L. P. N. Ionic liquids in pharmaceutical applications. **Annual review of chemical and biomolecular engineering**, v. 5, p. 527–46, 2014.

MARTINS, M. A. P. et al. Update 1 of: Ionic liquids in heterocyclic synthesis. **Chemical Reviews**, v. 114, p. PR1–PR70, 2014.

MATON, C.; DE VOS, N.; STEVENS, C. V. Ionic liquid thermal stabilities: decomposition mechanisms and analysis tools. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 13, p. 5963, 2013.

MATTEI, G.; VALENTINI, V.; YAKOVLEV, V. A. An FTIR study of porous silicon layers exposed to humid air with and without pyridine vapors at room temperature. **Surface Science. Anais...2002**

MCCARTHY, C. A. et al. Mesoporous silica formulation strategies for drug dissolution enhancement: a review. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 13, n. 1, p. 93–108, 2016.

MCGRATH, J. C.; LILLEY, E. Implementing guidelines on reporting research using animals (ARRIVE etc.): New requirements for publication in BJP. **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 13, p. 3189–3193, 2015.

MEHNERT, C. P. et al. Supported ionic liquid catalysis - A new concept for homogeneous hydroformylation catalysis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 44, p. 12932–12933, 2002.

MEHNERT, C. P. **Supported ionic liquid catalysis** *Chemistry - A European Journal*, 2005.

MELLAERTS, R. et al. Enhanced release of itraconazole from ordered mesoporous SBA-15 silica materials. **Chemical Communications**, n. 13, p. 1375–1377, 2007.

MÉNDEZ-ARRIAGA, F.; ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J. Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO₂ and simulated solar irradiation. **Water Research**, v. 42, n. 3, p. 585–594, 2008.

MERODIO, M. et al. Ganciclovir-loaded albumin nanoparticles: characterization and in vitro release properties. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 3, p. 251–9, 2001.

MIWA, Y.; HAMAMOTO, H.; ISHIDA, T. Lidocaine self-sacrificially improves the skin permeation of the acidic and poorly water-soluble drug etodolac via its transformation into an ionic liquid. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 102, p. 92–100, 2016.

MORENO-BAUTISTA, G.; TAM, K. C. Evaluation of dialysis membrane process for quantifying the in vitro drug-release from colloidal drug carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 389, n. 1–3, p. 299–303, 2011.

MUÑOZ, B. et al. MCM-41 organic modification as drug delivery rate regulator. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 2, p. 500–503, 2003.

NYLANDER, C.; LIEDBERG, B.; LIND, T. Gas detection by means of surface plasmon resonance. **Sensors and Actuators**, v. 3, n. C, p. 79–88, 1982.

O'BRIEN, M. J. et al. A surface plasmon resonance array biosensor based on spectroscopic imaging. **Biosensors & bioelectronics**, v. 16, n. 1–2, p. 97–108, 2001.

OECD. **Test No. 105: Water Solubility**. [s.l: s.n.]. v. Section 1

OLIVEIRA, S. M. et al. Antinociceptive effect of a novel tosylpyrazole compound in mice. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 104, n. 2, p. 122–129, 2009.

OLIVEIRA, S. M. et al. Antinociceptive effect of a novel armed spider peptide Tx3-5 in pathological pain models in mice. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 468, n. 5, p. 881–894, 2016.

OTTO, A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. **Zeitschrift für Physik**, v. 216, n. 4, p. 398–410, 1968.

OZAWA, T. A New Method of Analyzing Thermogravimetric Data. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 38, n. 11, p. 1881–1886, 1965.

PATEL, S. K. et al. Solubility enhancement of ibuprofen using hydrotropic agents. **Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS)**, v. 2, n. 2, p. 542–545, 2011.

PEREIRA, V. J.; LINDEN, K. G.; WEINBERG, H. S. Evaluation of UV irradiation for photolytic and oxidative degradation of pharmaceutical compounds in water. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4413–4423, 2007.

QING YANG et al. pH-Responsive Carrier System Based on Carboxylic Acid Modified Mesoporous Silica and Polyelectrolyte for Drug Delivery. **Chemistry of Materials**, v. 17, n. 24, p. 5999–6003, 2005.

QU, F. et al. A controlled release of ibuprofen by systematically tailoring the morphology of mesoporous silica materials. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 179, n. 7, p. 2027–2035, 2006.

RADJENOVIĆ, J. et al. Characterization of intermediate products of solar photocatalytic degradation of ranitidine at pilot-scale. **Chemosphere**, v. 79, n. 4, p. 368–376, 2010.

RAYAROTH, M. P.; ARAVIND, U. K.; ARAVINDAKUMAR, C. T. Photocatalytic degradation of lignocaine in aqueous suspension of TiO₂nanoparticles: Mechanism of degradation and mineralization. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2017.

RICH, R. L.; MYSZKA, D. G. Advances in surface plasmon resonance biosensor analysis. p. 54–61, 2000.

RIISAGER, A. et al. Supported Ionic Liquid Phase (SILP) catalysis: An innovative concept for homogeneous catalysis in continuous fixed-bed reactorsEuropean **Journal of Inorganic Chemistry**, 2006.

RIMOLI, M. G. et al. Synthetic zeolites as a new tool for drug delivery. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 87, n. 1, 2008.

ROUQUEROL, F. et al. **Adsorption by powders and porous solids: Principles, Methodology and Applications**. [s.l: s.n.].

RUAN, Y. Z. AND J. S. AND W. S. AND H. C. AND X. D. AND M. Preparation of novel hollow mesoporous silica spheres and their sustained-release property. **Nanotechnology**, v. 16, n. 11, p. 2633, 2005.

SAHOO, S. K.; LABHASETWAR, V. **Nanotech approaches to drug delivery and imagingDrug Discovery Today**, 2003.

SCHÖNWEIZ, A.; FRANKE, R. Supported Ionic Liquid Phase (SILP) Materials in Hydroformylation Catalysis. In: **Supported Ionic Liquids: Fundamentals and Applications**. [s.l: s.n.]. p. 307–326.

SCOTT, B. J.; WIRNSBERGER, G.; STUCKY, G. D. **Mesoporous and mesostructured materials for optical applicationsChemistry of Materials**, 2001.

SHAMSIPUR, M. et al. Thermal Stability and Decomposition Kinetic Studies of Acyclovir and Zidovudine Drug Compounds. **AAPS PharmSciTech**, v. 14, n. 1, p.

287–293, 2013.

SHEN, S. C. et al. Physical state and dissolution of ibuprofen formulated by co-spray drying with mesoporous silica: Effect of pore and particle size. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 410, n. 1–2, p. 188–195, 2011.

SING, K. S. W. et al. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. **Pure & Appl. Chem.**, v. 57, n. 4, p. 603–619, 1985.

SMIGLAK, M.; METLEN, A.; ROGERS, R. D. The second evolution of ionic liquids: From solvents and separations to advanced materials - Energetic examples from the ionic liquid cookbook. **Accounts of Chemical Research**, v. 40, n. 11, p. 1182–1192, 2007.

SOLER-ILLIA, G. J. D. A. A. et al. Chemical strategies to design textured materials: From microporous and mesoporous oxides to nanonetworks and hierarchical structures. **Chemical Reviews**, v. 102, n. 11, p. 4093–4138, 2002.

SONG, S. W.; HIDAJAT, K.; KAWI, S. Functionalized SBA-15 materials as carriers for controlled drug delivery: Influence of surface properties on matrix-drug interactions. **Langmuir**, v. 21, n. 21, p. 9568–9575, 2005.

SOPPIMATH, K. S. et al. Biodegradable Polymeric Nanoparticles as Drug Delivery Devices. **Journal of Controlled Release**, v. 70, n. 1–2, p. 1–20, 2001.

SOVIZI, M. R. Thermal behavior of drugs: Investigation on decomposition kinetic of naproxen and celecoxib. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 102, n. 1, p. 285–289, 2010.

STOIMENOVSKI, J. et al. Crystalline vs. ionic liquid salt forms of active pharmaceutical ingredients: A position paper. **Pharmaceutical Research**, v. 27, n. 4, p. 521–526, 2010.

SWERYDA-KRAWIEC, B. et al. A comparison of porous silicon and silicon nanocrystallite photoluminescence quenching with amines. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 32, p. 13776–13780, 1996.

SZABÓ, R. K. et al. Phototransformation of ibuprofen and ketoprofen in aqueous solutions. **Chemosphere**, v. 84, n. 11, p. 1658–1663, 2011.

TAGUCHI, A.; SCHUTH, F. Ordered mesoporous materials in catalysis. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 77, n. 1, p. 1–45, 2005.

THOMAIDI, V. S. et al. Is there a risk for the aquatic environment due to the existence of emerging organic contaminants in treated domestic wastewater? Greece as a case-study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 740–747, 2015.

THOMMES, M. Physical adsorption characterization of nanoporous materials. **Chemie-Ingenieur-Technik**, v. 82, n. 7, p. 1059–1073, 2010.

TITA, B. et al. Thermal behaviour of Indomethacin - Active substance and tablets kinetic study under non-isothermal conditions. **Revista de Chimie**, v. 60, n. 11, 2009.

TITA, B. et al. Thermal stability of ibuprofen. kinetic study under non-isothermal conditions. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 55, n. 9, p. 553–558, 2010.

TIȚA, B. et al. Comparative kinetic study of decomposition of some diazepam derivatives under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 94, n. 2, p. 447–452, 2008.

UGLEA, C. V. et al. Drug delivery systems based on inorganic materials: I. Synthesis and characterization of a zeolite-cyclophosphamide system. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 6, n. 7, p. 633–637, 1995.

UNGER, K. et al. The use of porous and surface modified silicas as drug delivery and stabilizing agents. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 9, n. 1–2, p. 69–91, 1983.

VALLET-REGI, M. et al. Drug Confinement and Delivery in Ceramic Implants. **Drug Metabolism Letters**, v. 1, n. 1, p. 37–40, 2007.

VALLET-REGÍ, M. Revisiting ceramics for medical applications. **Dalton Transactions**, n. 44, p. 5211–5220, 2006.

VAN DOORSLAER, C. et al. Immobilization of molecular catalysts in supported ionic liquid phases. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 36, p. 8377–8390, 2010.

VERHOEVEN, J. W. Glossary of Terms Used in Photochemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 70, n. 5, p. 1129–1143, 1998.

VIENO, N. M. et al. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. **Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 14, p. 5077–5084, 2007.

VYAZOVKIN, S.; WIGHT, C. A. Kinetics in Solids. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 48, n. 1, p. 125–149, 1997.

WANG, H. et al. Simultaneous membrane transport of two active pharmaceutical ingredients by charge assisted hydrogen bond complex formation. **Chemical Science**, v. 5, n. 9, p. 3449–3456, 2014.

WANG, S. Ordered mesoporous materials for drug delivery. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 117, n. 1–2, p. 1–9, 2009.

WASHINGTON, C. Drug release from microdisperse systems: critical review. **Int. J. Pharm.**, v. 58, n. Jan 15, p. 1–12, 1990.

WEBB, P.; ORR, C. **Analytical Methods in Fine Particle Technology**. [s.l: s.n.].

WELTON, T. Introducing Ionic Liquids. In: **Supported Ionic Liquids: Fundamentals**

and Applications. [s.l: s.n.]. p. 11–36.

WILKES, J. S. et al. Dialkylimidazolium Chloroaluminate Melts: A New Class of Room-Temperature Ionic Liquids for Electrochemistry, Spectroscopy, and Synthesis. **Inorganic Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 1263–1264, 1982.

WOJTYK, J. T. C. et al. “Reagentless” micropatterning of organics on silicon surfaces: Control of hydrophobic/hydrophilic domains [19]**Journal of the American Chemical Society**, 2001.

WOOD, R. W. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. **Proceedings of the Physical Society of London**, v. 18, n. 1, p. 269–275, 1901.

WOOD, R. W. XXVII. Diffraction gratings with controlled groove form and abnormal distribution of intensity. **Philosophical Magazine Series 6**, v. 23, n. 134, p. 310–317, 1912.

XU, W.; RIIKONEN, J.; LEHTO, V. P. **Mesoporous systems for poorly soluble drugs****International Journal of Pharmaceutics**, 2013.

YANG, P. et al. Triblock-Copolymer-Directed Syntheses of Large-Pore Mesoporous Silica Fibers. **Chemistry of Materials**, v. 10, n. 8, p. 2033–2036, 1998.

YUAN, F. et al. Degradation of selected pharmaceuticals in aqueous solution with UV and UV/H₂O₂. **Water Research**, v. 43, n. 6, p. 1766–1774, 2009.

ZENG, W. et al. Organic modified mesoporous MCM-41 through solvothermal process as drug delivery system. **Materials Research Bulletin**, v. 40, n. 5, p. 766–772, 2005.

ZHANG, J.; MISRA, R. D. K. Magnetic drug-targeting carrier encapsulated with thermosensitive smart polymer: Core-shell nanoparticle carrier and drug release response. **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 6, p. 838–850, 2007.

ZHANG, Y. et al. Spherical mesoporous silica nanoparticles for loading and release of the poorly water-soluble drug telmisartan. **Journal of Controlled Release**, v. 145, n. 3, p. 257–263, 2010.

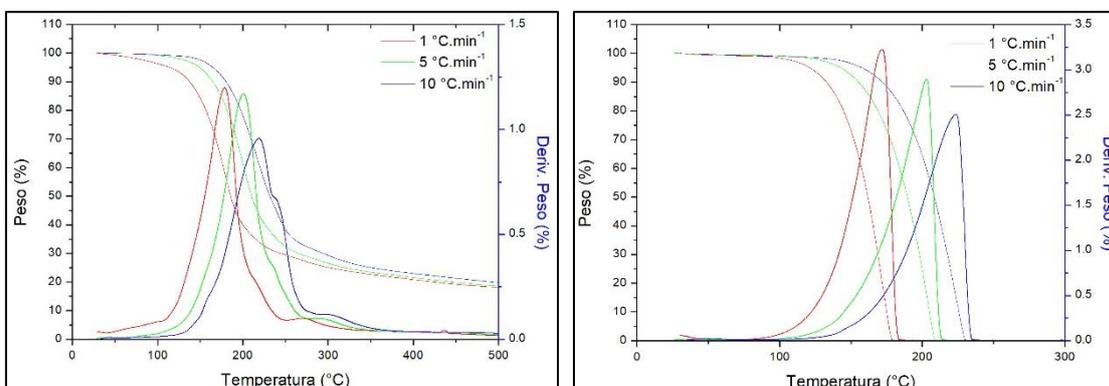
ZHAO, D. et al. Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. **Science**, v. 279, n. 5350, p. 548–552, 1998.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, n. 2, p. 109–110, 1983.

ZIYLAN, A.; INCE, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, n. 1–3, p. 24–36, 2011.

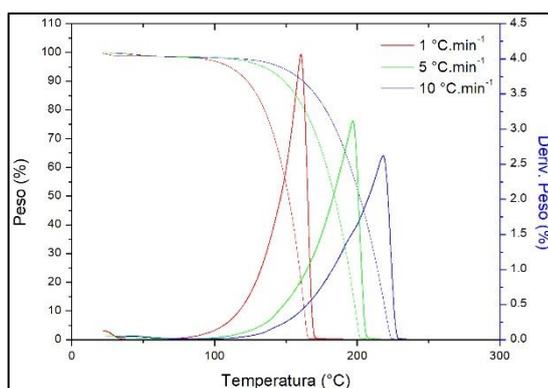
APÊNDICE I - TGA

Figura A1 – Sobreposição das curvas de TG em diferentes taxas de aquecimento para (a) [RAN][IBU]; (b) [LID][IBU]; (c) [DIF][IBU]



(a)

(b)



(c)

Figura A2 – (a) Gráfico $\ln(\beta d\alpha/dT)$ vs $1/T$ obtidos pelo método de Friedman.(b) Gráfico $\log \beta$ vs $1/T$ obtidos pelo método de O-F-W. [RAN][IBU].

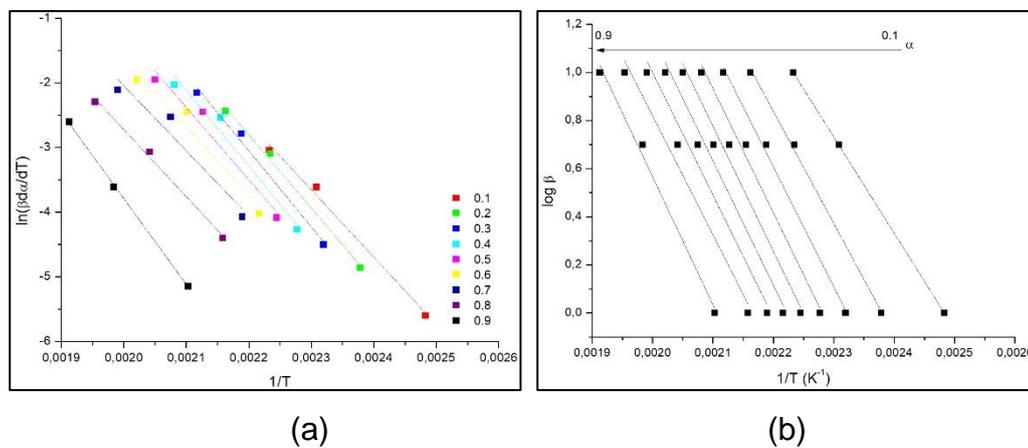


Tabela A1 – Coeficientes de correção (r) das curvas do $\ln(\beta d\alpha/dT)$ vs $1/T$ e $\ln(\beta d\alpha/dT)$ vs $1/T$ para [RAN][IBU].

α	Friedman	O-F-W
0,1	0,98522	1
0,2	0,99094	0,99743
0,3	0,98365	0,99351
0,4	0,94798	0,9863
0,5	0,93799	0,97838
0,6	0,92871	0,96984
0,7	0,89282	0,96167
0,8	0,98967	0,95843
0,9	0,99876	0,98702

Figura A3 – (a) Gráfico $\ln(\beta da/dT)$ vs $1/T$ obtidos pelo método de Friedman.(b) Gráfico $\log \beta$ vs $1/T$ obtidos pelo método de O-F-W. [LID][IBU].

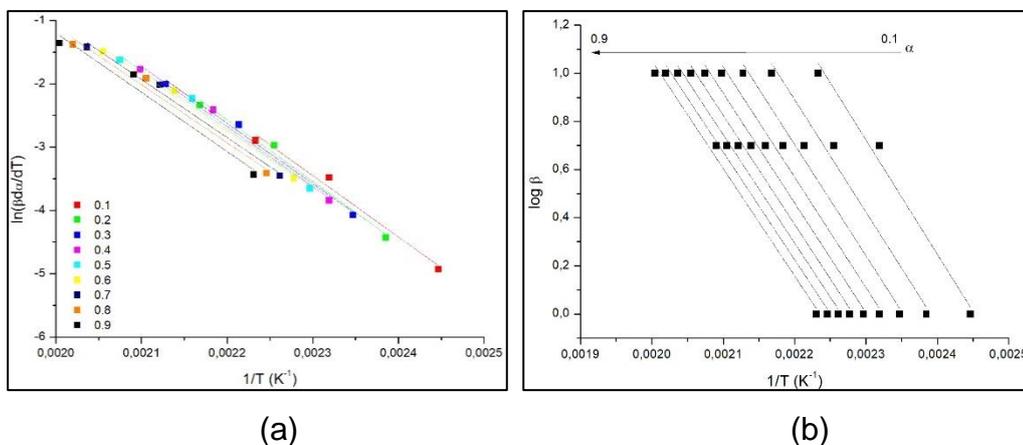


Tabela A2 – Coeficientes de correção (r) das curvas do $\ln(\beta da/dT)$ vs $1/T$ (Friedman) e $\ln(\beta da/dT)$ vs $1/T$ (O-F-W) para [LID][IBU].

α	Friedman	O-F-W
0,1	0,96726	0,97457
0,2	0,97501	0,97518
0,3	0,98268	0,97937
0,4	0,98478	0,98185
0,5	0,9837	0,984
0,6	0,98795	0,98507
0,7	0,98268	0,98572
0,8	0,96802	0,9853
0,9	0,9501	0,98357

Figura A4 – (a) Gráfico $\ln(\beta da/dT)$ vs $1/T$ obtidos pelo método de Friedman.(b) Gráfico $\log \beta$ vs $1/T$ obtidos pelo método de O-F-W. [DIF][IBU].

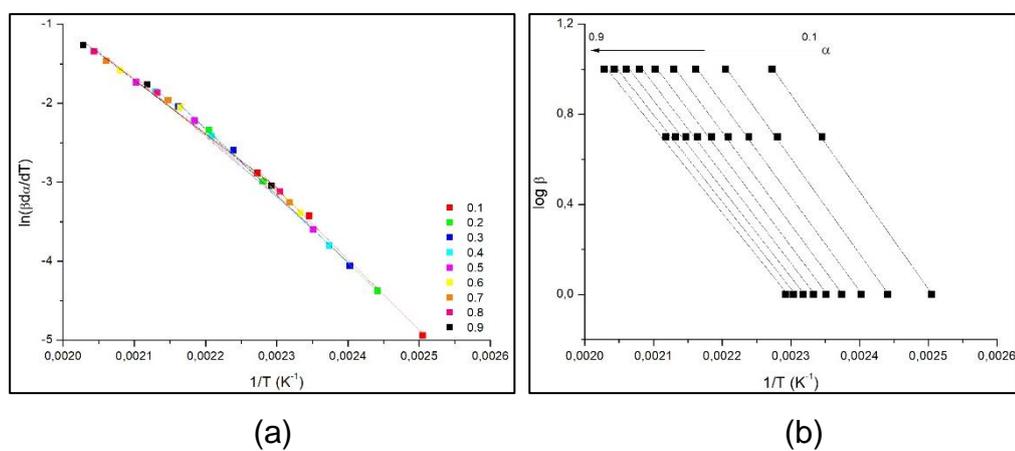


Tabela A3 – Coeficientes de correção (r) das curvas do $\ln(\beta da/dT)$ vs $1/T$ (Friedman) e $\ln(\beta da/dT)$ vs $1/T$ (O-F-W) para [DIF][IBU].

α	Friedman	O-F-W
0,1	0,99429	0,99961
0,2	1	0,9991
0,3	0,99449	0,99897
0,4	0,99678	0,99876
0,5	0,98867	0,99792
0,6	0,98658	0,99723
0,7	0,99191	0,99672
0,8	0,99504	0,99626
0,9	0,9912	0,99623

Tabela A4 – Coeficientes de correção (r) das curvas do $\ln(\beta d\alpha/dT)$ vs $1/T$ (Friedman) e $\ln(\beta d\alpha/dT)$ vs $1/T$ (O-F-W) para [BUP][IBU].

α	Friedman	O-F-W
0,1	0,99978	0,99976
0,2	0,99968	0,99992
0,3	0,99991	0,99995
0,4	0,99953	0,99993
0,5	0,9981	0,99978
0,6	0,99778	1
0,7	0,99929	0,99963
0,8	0,99383	0,99995
0,9	0,99358	0,99994

APÊNDICE II - Florescência

Figura A5 - Espectros de excitação e emissão de (a) [RAN][IBU]; (b) [LID][IBU]; (c) [DIF][IBU].

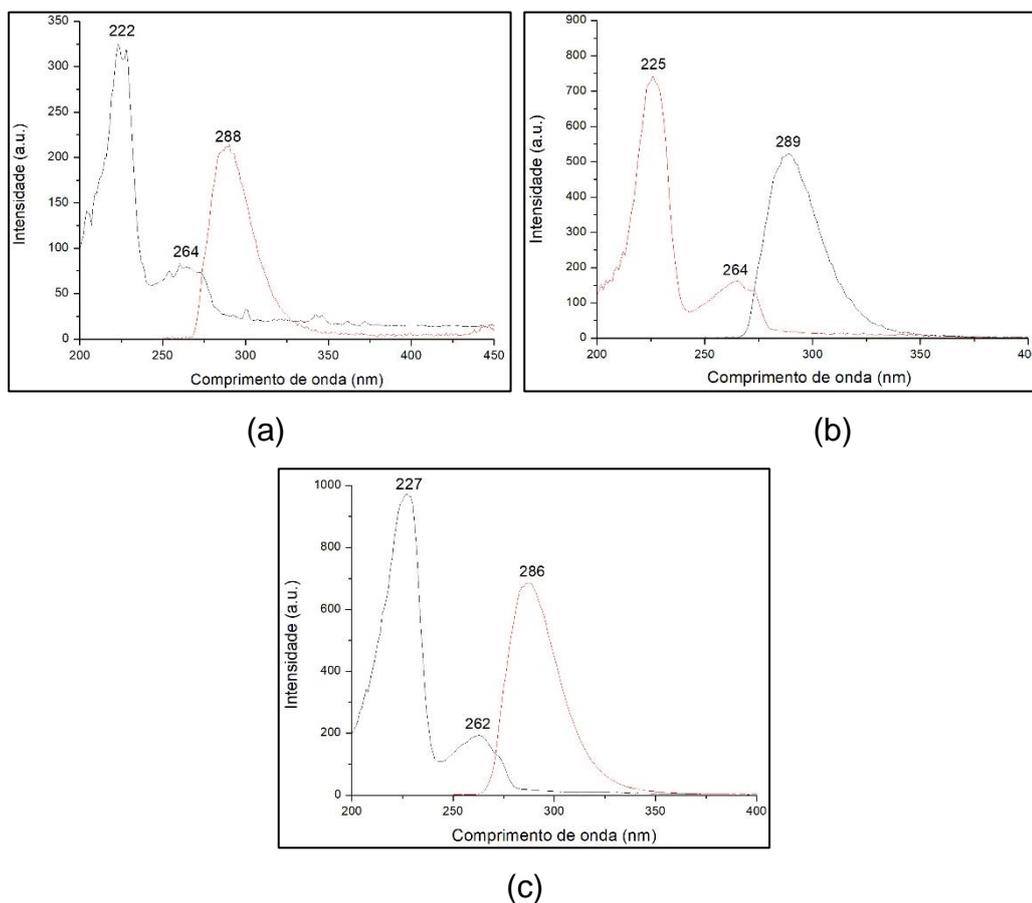


Figura A6 - Espectros de emissão de fluorescência do [RAN][IBU], $\lambda_{excit} = 222$ nm. (a) Ausência de H_2O_2 , (b) 10 μL H_2O_2 .

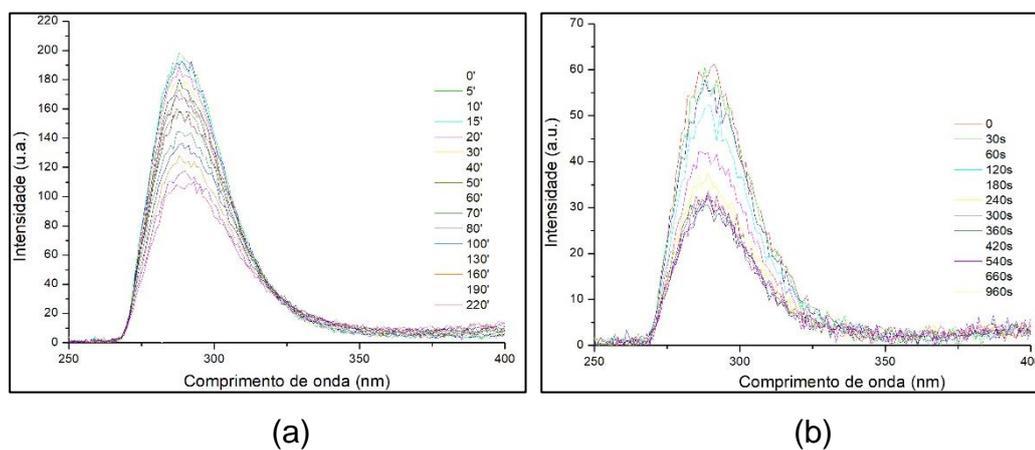


Figura A7 - Espectros de emissão de fluorescência do [LID][IBU], $\lambda_{excit} = 225$ nm.(a) Ausência de H_2O_2 , (b) 10 μ L H_2O_2 .

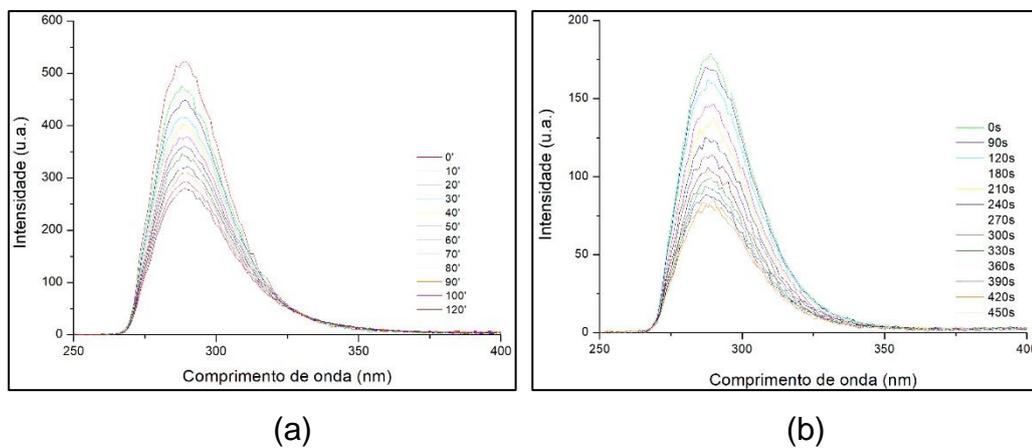
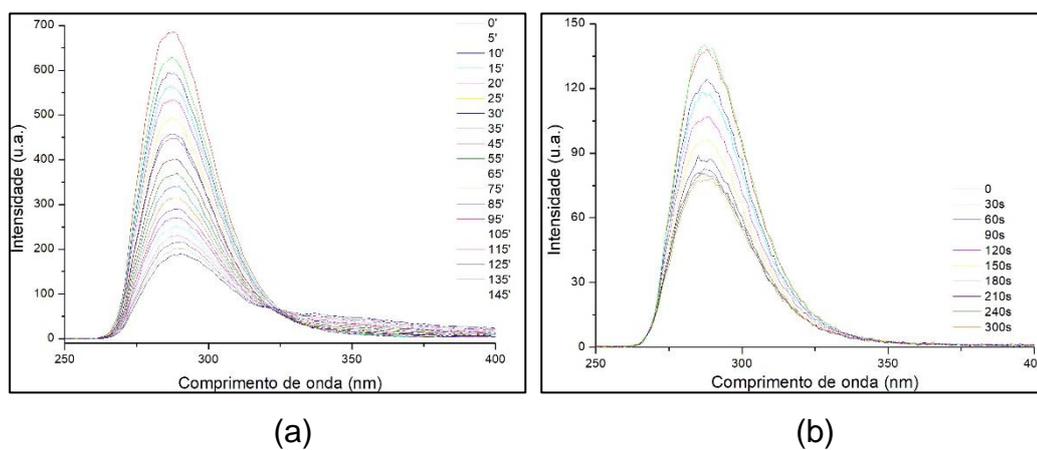


Figura A8 - Espectros de emissão de fluorescência do [DIF][IBU], $\lambda_{excit} = 227$ nm.(a) Ausência de H_2O_2 , (b) 10 μ L H_2O_2 .



APÊNDICE III - Difração de raios X em pó

Figura A8 – Espectro de difração de raios-x em pó da Sílica (preto), [BUP][IBU] 10% (vermelho), [BUP][IBU] 20% (azul). (a) Sílica 60 Å; (b) Sílica 90 Å.

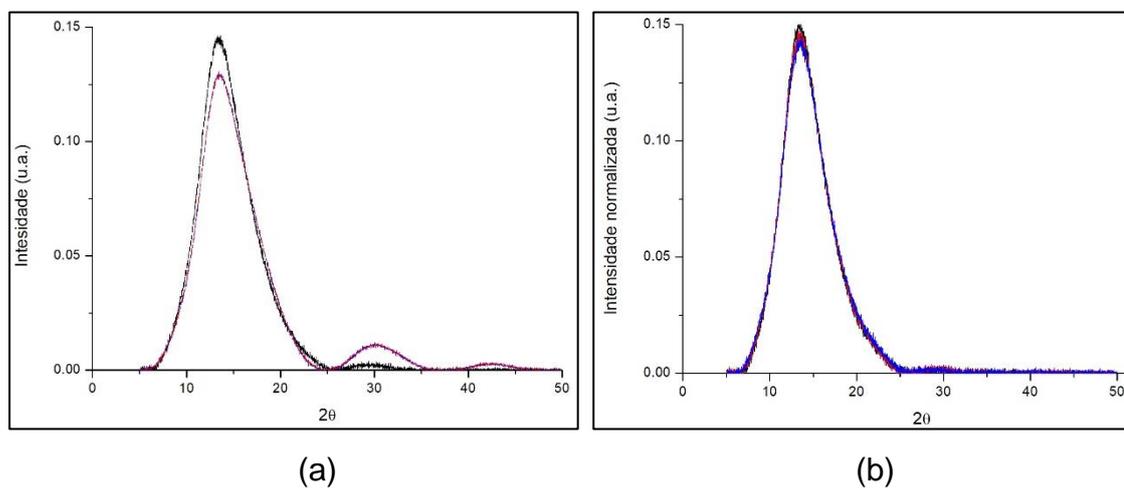


Figura A9 – Espectro de difração de raios-x em pó da Sílica (preto), [LID][IBU] 10% (vermelho), [LID][IBU] 20% (azul). (a) Sílica 60 Å; (b) Sílica 90 Å.

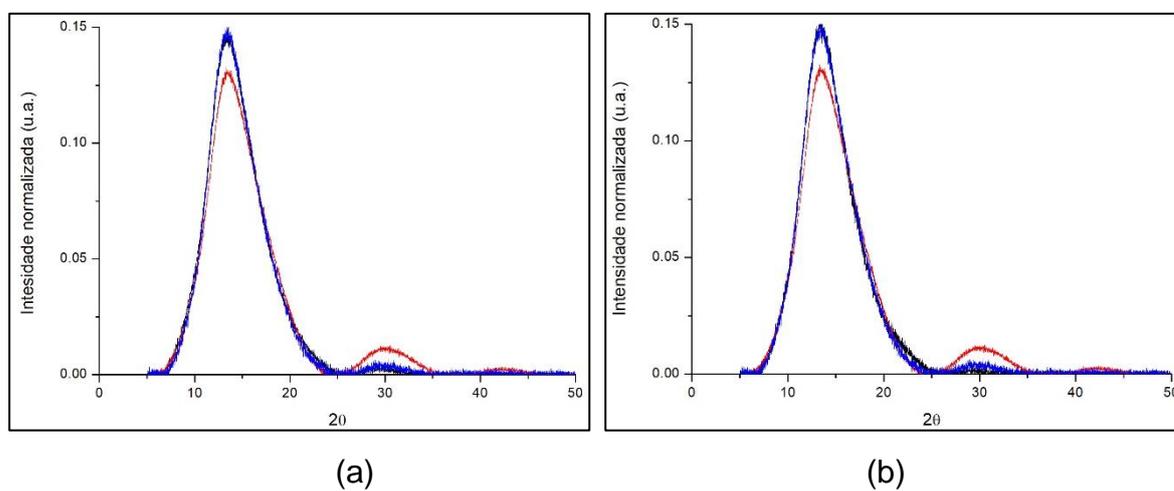
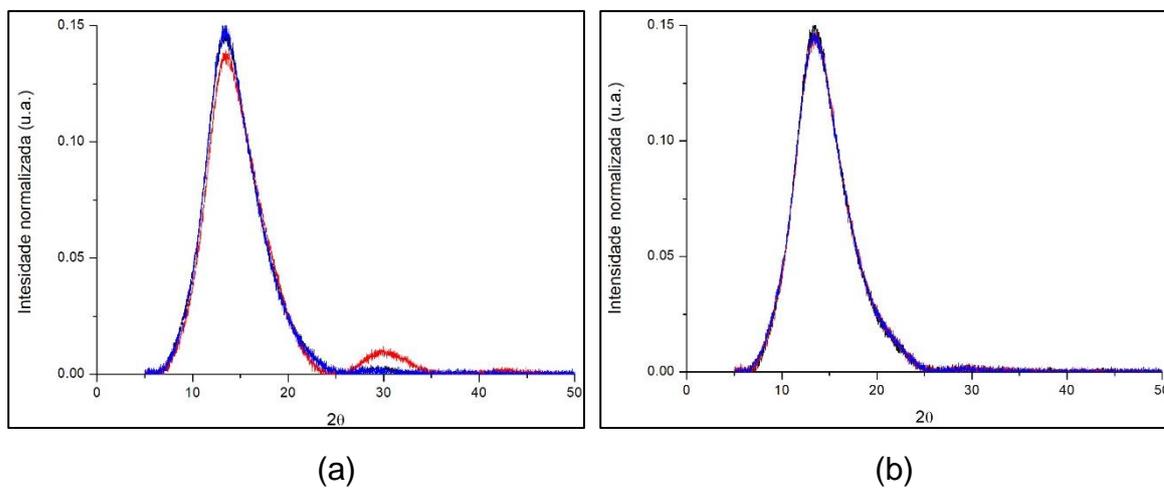
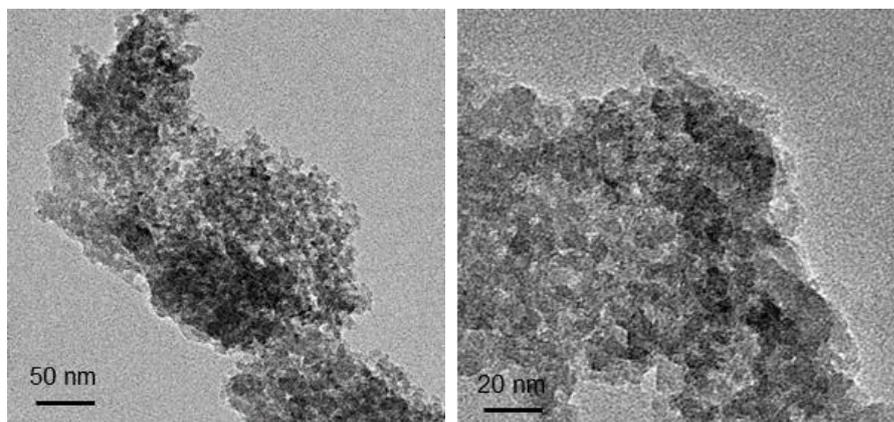


Figura A10 - Espectro de difração de raios X em pó da Sílica (preto), [RAN][IBU] 10% (vermelho), [RAN][IBU] 20% (azul). (a) Sílica 60 Å; (b) Sílica 90 Å.

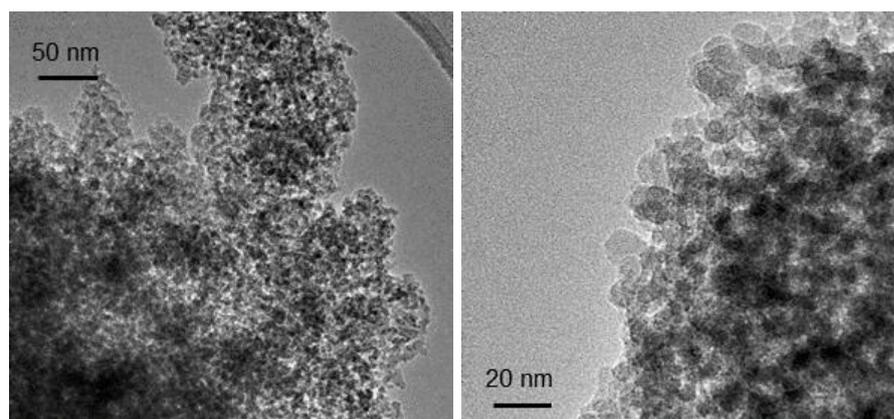


APÊNDICE IV - Microscopia Eletrônica de Transmissão

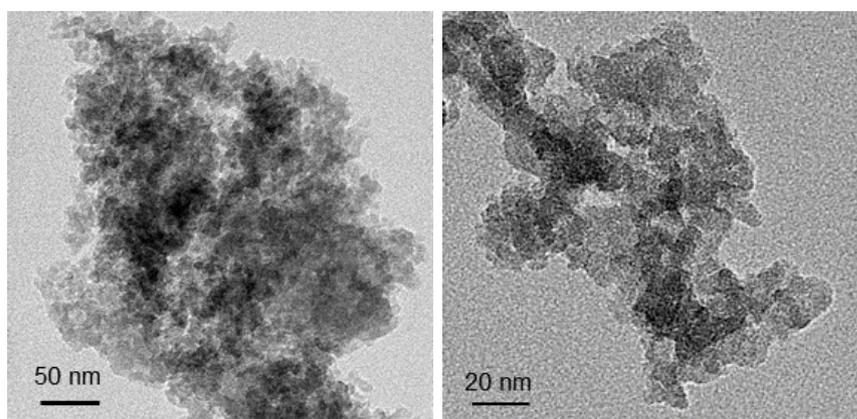
Figura A11 - Imagens MET dos LI-IFAs suportados na sílica 60 Å na proporção 20% em peso. (a) [LID][IBU]; (b) [BUP][IBU]; (c) [RAN][IBU].



(a)

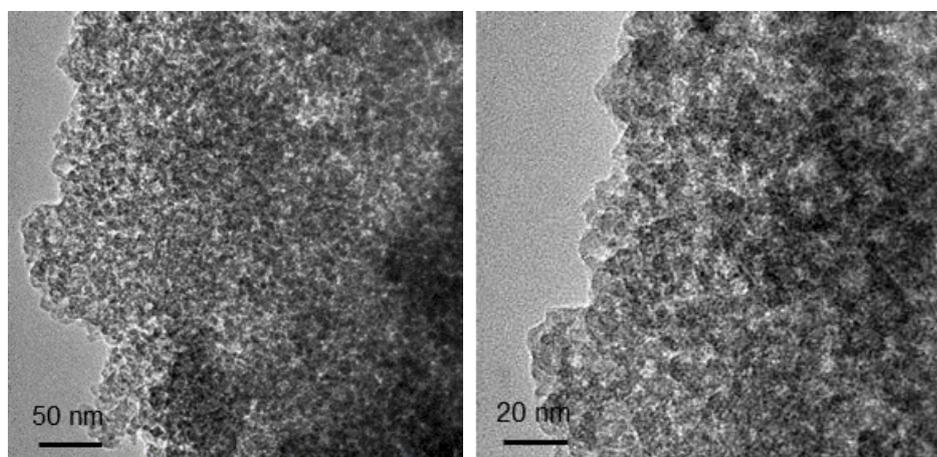


(b)



(c)

Figura A12 - Imagens MET do LI-IFAs [LID][IBU] suportado na sílica 90 Å na proporção 20% em peso.



APÊNDICE V - TGA

Figura A13 - Perfil de TG de [DIF][IBU] suportado nas sílicas. (a) 60 Å. (b) 90 Å. SiO₂

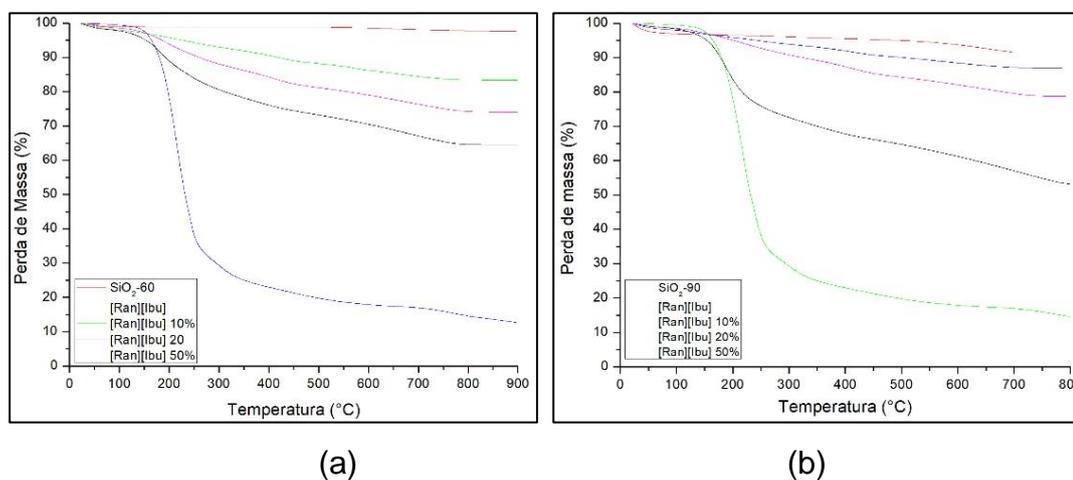


Figura A14 - Perfil de TG de [LID][IBU] suportado nas sílicas. (a) 60 Å. (b) 90 Å. SiO₂

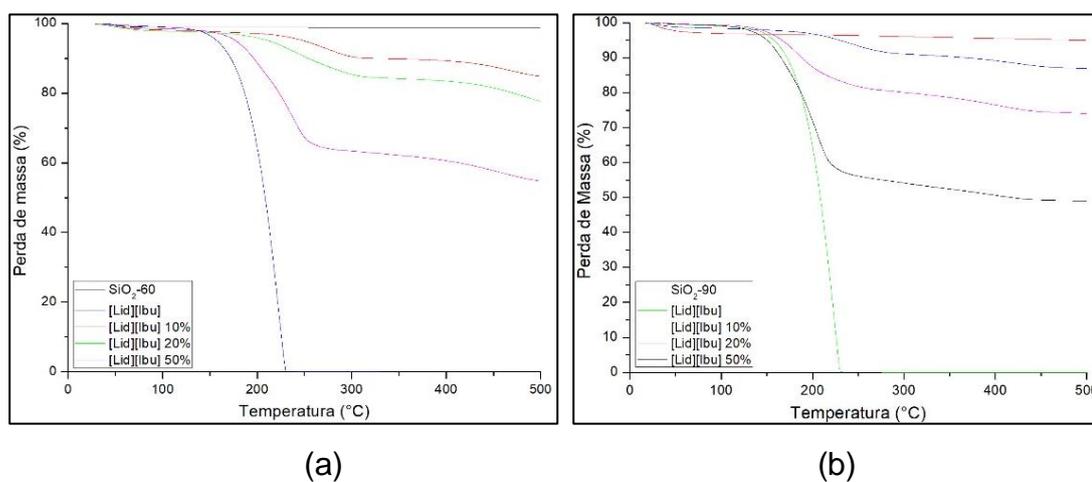
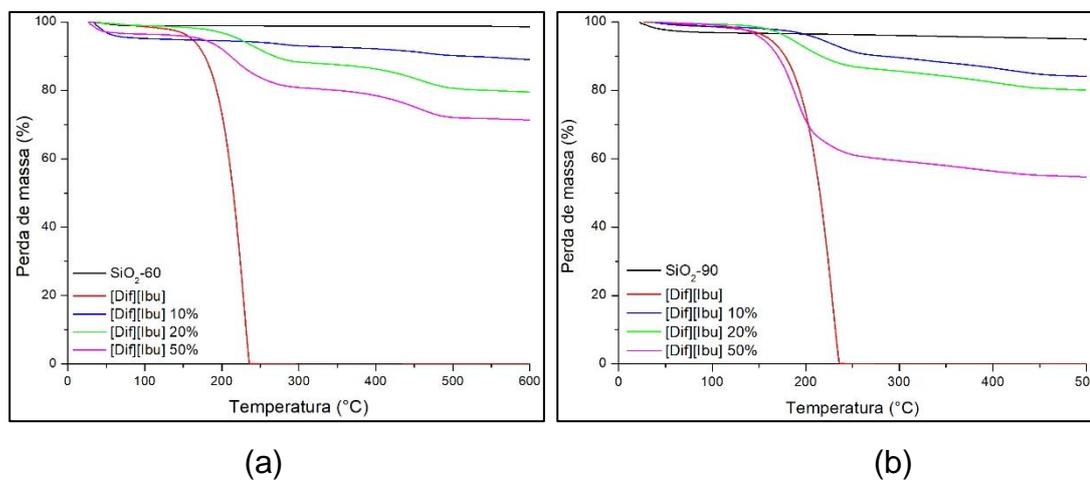


Figura A15 - Perfil de TG de [DIF][IBU] suportado nas sílicas. (a) 60 Å. (b) 90 Å. SiO₂

APÊNDICE VI - Adsorção/Dessorção N₂

Figura A16 – (a) Isotermas de adsorção-dessorção de N₂ a 77 K da amostra de sílica mesoporosa, com poro de 60 Å, antes e após o suporte com [DIF][IBU]. (b) Distribuição de tamanho de poros antes e após o suporte com [DIF][IBU].

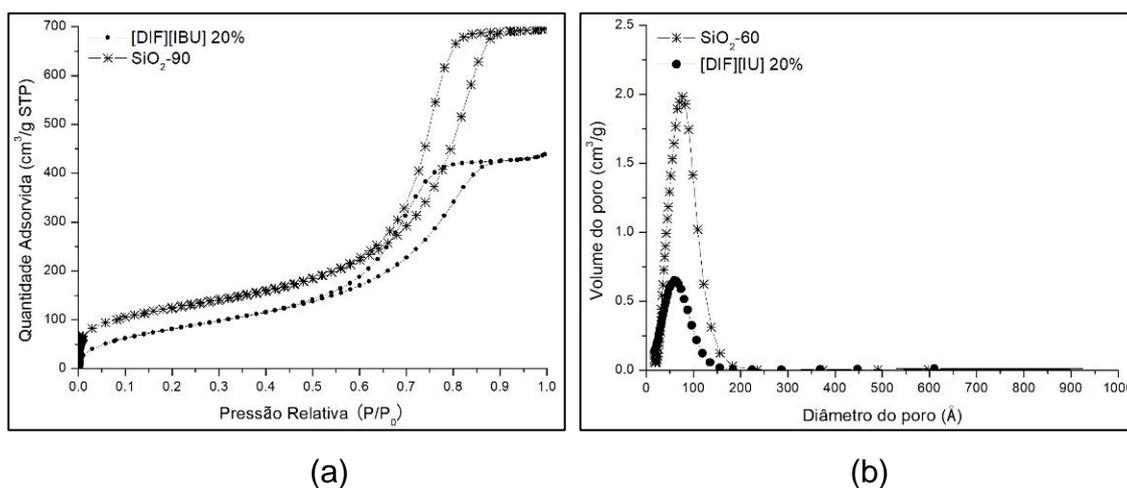
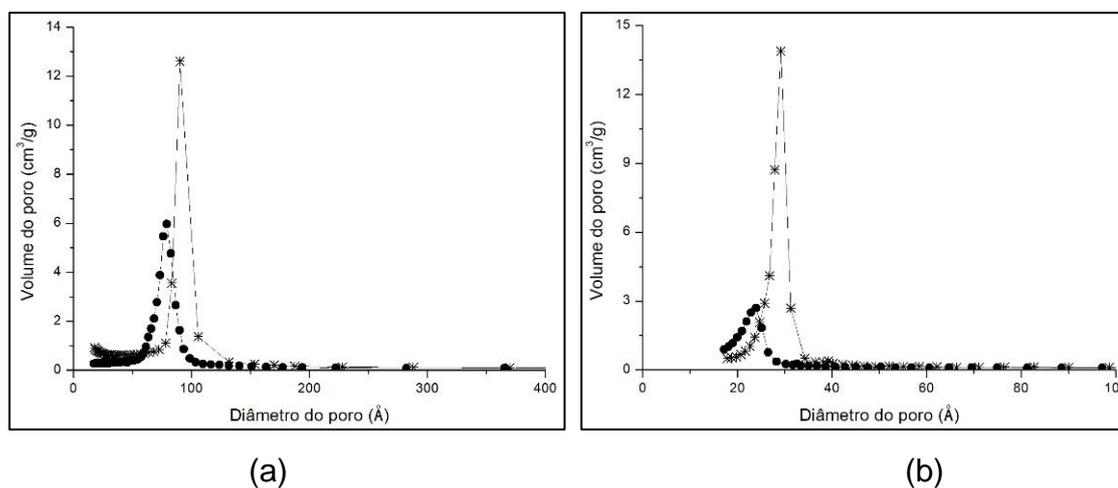


Figura A17 - Distribuição de tamanho de poros antes e após o suporte com [DIF][IBU].(a) SBA-15. (b) MCM-41



APÊNDICE VII - SPR

Figura A18- Representação regressão linear da mudança de ângulo em função da concentração para o LI-IFAs [BUP][IBU].

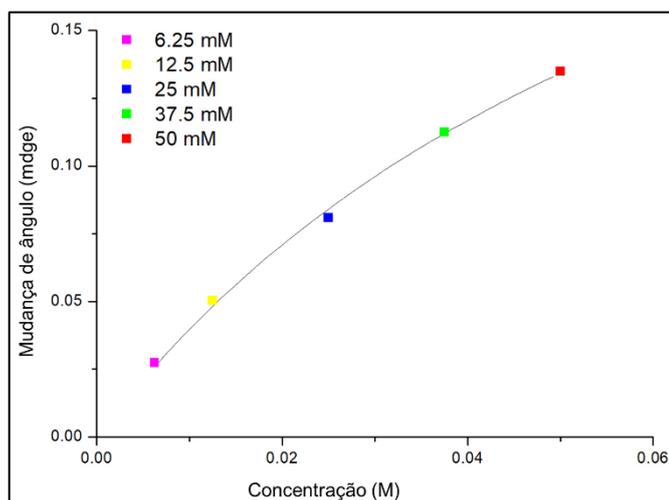
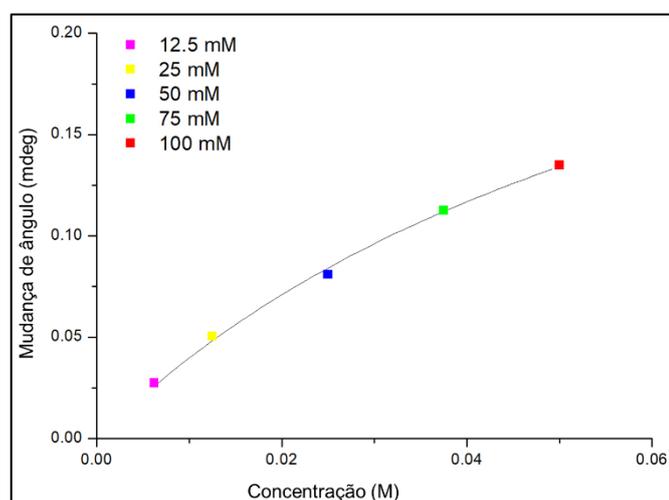
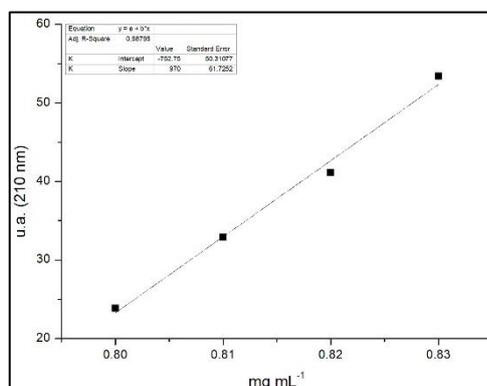


Figura A19- Representação regressão linear da mudança de ângulo em função da concentração para o LI-IFAs [LID][IBU].



APÊNDICE VIII - Solubilidade e Cinética de Liberação

Figura A20 – Curva de calibração do teste de solubilidade do [BUP][IBU] em H₂O/EtOH 5% (v/v).



$$y=970x-752,75; R=0,98795$$

Figura A21 – Curvas de calibração do teste de solubilidade do [RAN][IBU]. (a) H₂O/EtOH 5% (v/v); (b) PBS pH 7,2.

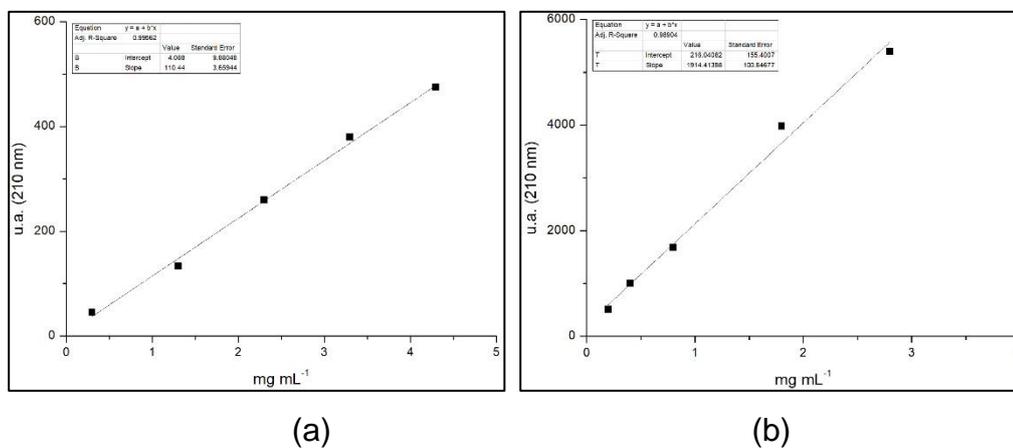


Figura A22 – Curvas de calibração do teste de liberação *in vitro* do [RAN][IBU]. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®; (b) FGS pH 1,2.

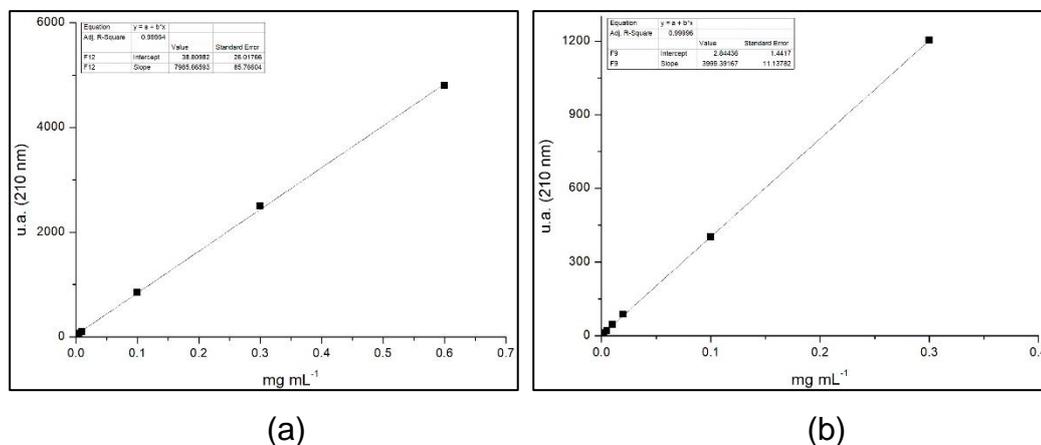


Tabela A5 – Equações das retas e coeficientes de correlação (R^2) do [RAN][IBU], dos testes de solubilidade e liberação *in vitro*.

Meio de preparo	Equação da reta	R^2
H ₂ O/EtOH 5%	$y=110,44x+4,088$	0,99562
PBS pH 7,2	$y=1914,41398x+216,04082$	0,98904
PBS pH 7,2 1% Tween®	$y=7985,66593x+38,80982$	0,99954
FGS pH 1,2	$y=3999,39167x+2,84436$	0,99996

Figura 23 – Perfil de liberação *in vitro* do [RAN][IBU] suportado nas sílicas 60Å e 90Å. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®; (b) FGS pH 1,2.

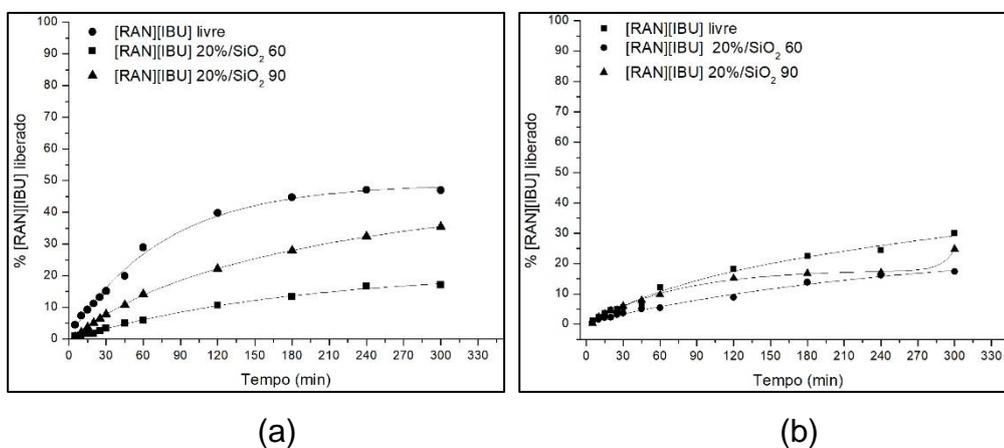
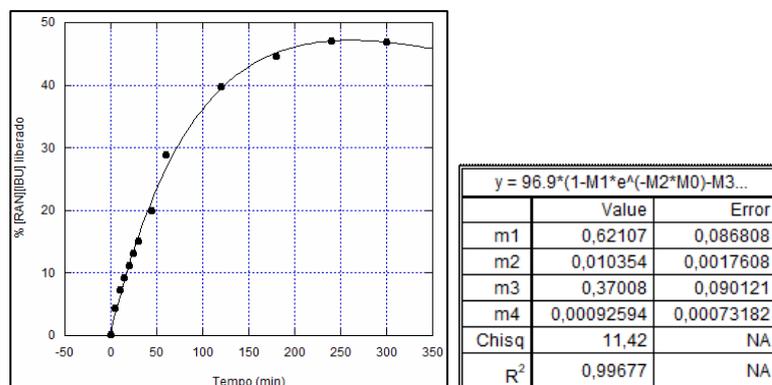
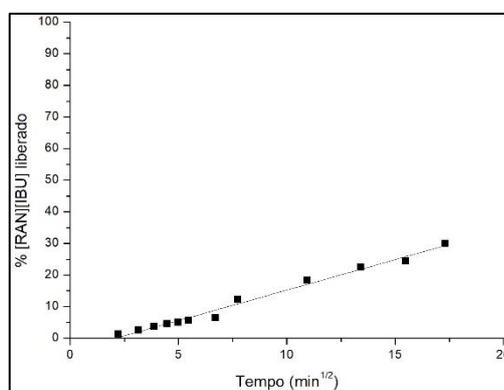


Figura 24 – Cinética de liberação para LI-IFAs [RAN][IBU]. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®, modelo dupla exponencial. (b) FGS pH 1,2, modelo de Higuchi.

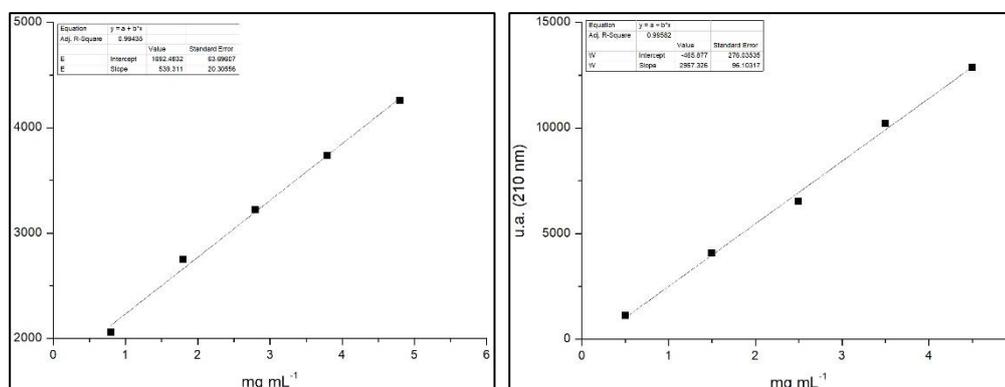


(a)



(b)

Figura A25 – Curvas de calibração do teste de solubilidade do [LID][IBU]. (a) H₂O/EtOH 5% (v/v); (b) PBS pH 7,2.



(a)

(b)

Figura A26 – Curvas de calibração do teste de liberação *in vitro* do [RAN][IBU]. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®; (b) FGS pH 1,2.

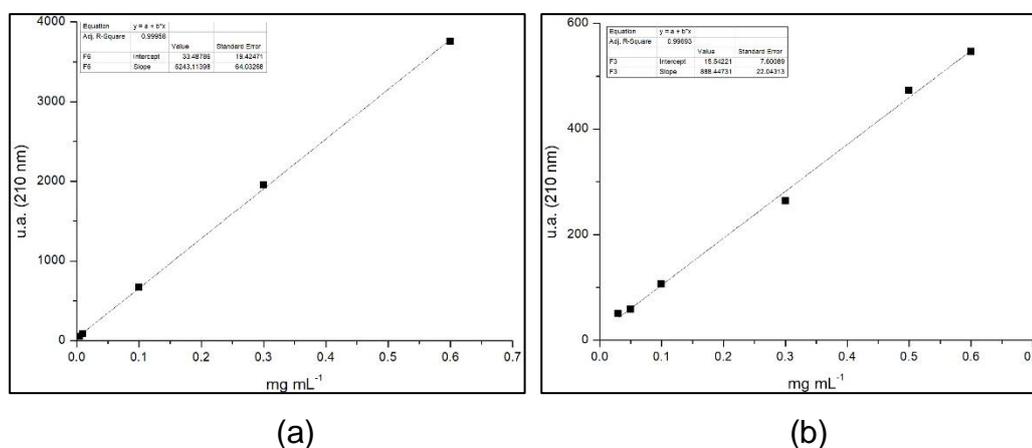


Tabela A6 – Equações das retas e coeficientes de correlação (R^2) do [LID][IBU], dos testes de solubilidade e liberação *in vitro*.

Meio de preparo	Equação da reta	R^2
H ₂ O/EtOH 5%	$y = 2967,326x - 465,877$	0,99582
PBS pH 7,2	$y = 539,311x + 1692,4832$	0,99435
PBS pH 7,2 1% Tween®	$y = 6243,11398x + 33,48786$	0,99958
FGS pH 1,2	$y = 888,44731x + 15,54221$	0,99693

Figura 27 – Perfil de liberação *in vitro* do [LID][IBU] suportado nas sílicas 60Å e 90Å. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®; (b) FGS pH 1,2.

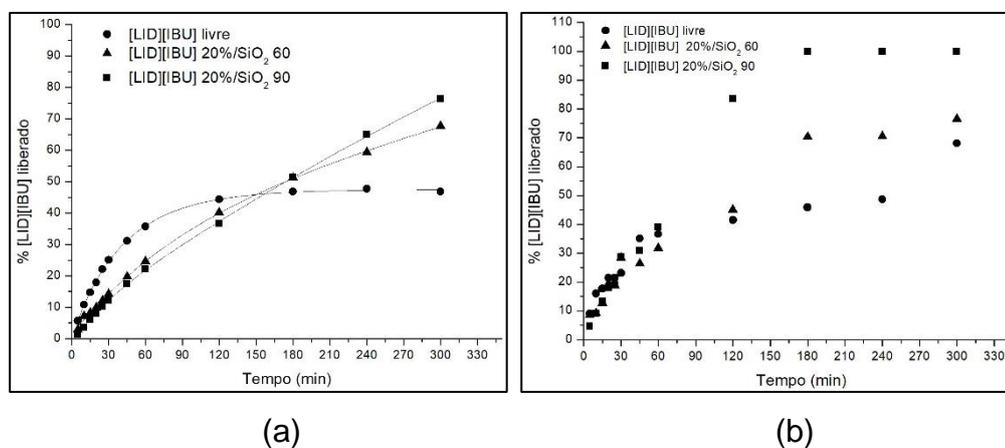
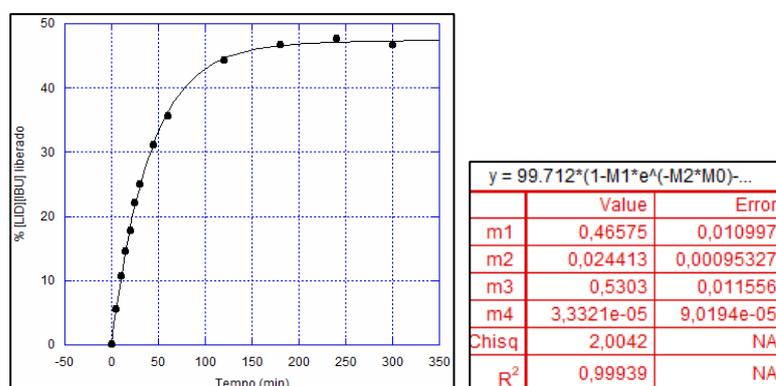
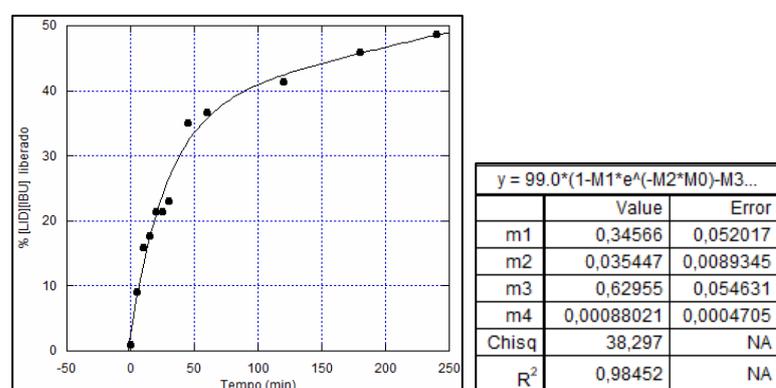


Figura 28 – Cinética de liberação para LI-IFAs [LID][IBU] segundo modelo dupla exponencial. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®.(b) FGS pH 1,2.

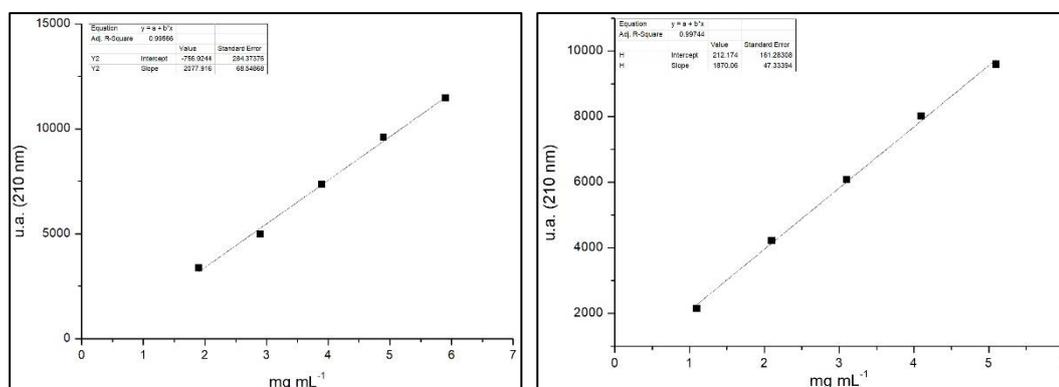


(a)



(b)

Figura A29 – Curvas de calibração do teste de solubilidade do [DIF][IBU]. (a) H₂O/EtOH 5% (v/v); (b) PBS pH 7,2.



(a)

(b)

Figura A30 – Curvas de calibração do teste de liberação *in vitro* do [DIF][IBU]. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®; (b) FGS pH 1,2.

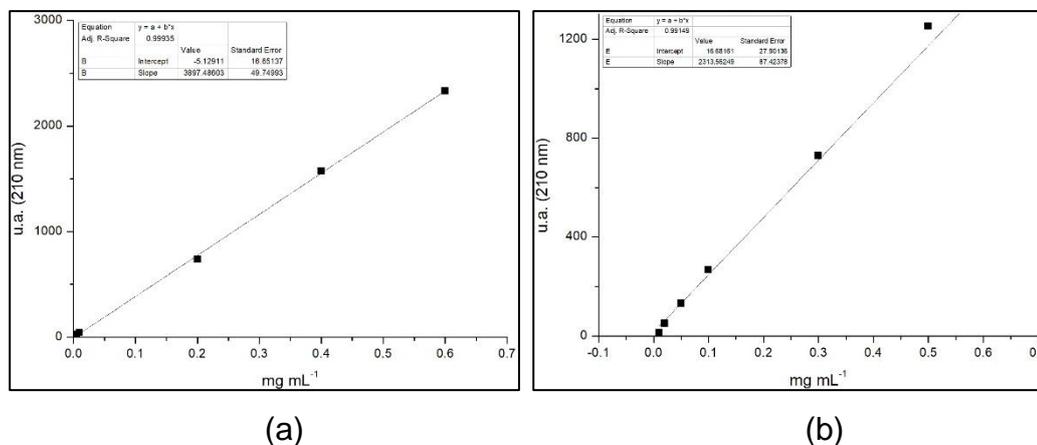


Tabela A7 – Equações das retas e coeficientes de correlação (R^2) do [DIF][IBU], dos testes de solubilidade e liberação *in vitro*.

Meio de preparo	Equação da reta	R^2
H ₂ O/EtOH 5%	$y=2077,916x-756,9244$	0,99566
PBS pH 7,2	$y=1870,06x+212,174$	0,99744
PBS pH 7,2 1% Tween®	$y=3897,48603x-5,12911$	0,99935
FGS pH 1,2	$y=2313,56249x+16,68161$	0,99149

Figura A31 - Perfil de liberação *in vitro* do [DIF][IBU] suportado nas sílicas 60Å, 90Å em FGS pH 1,2. As linhas servem de guia para os olhos.

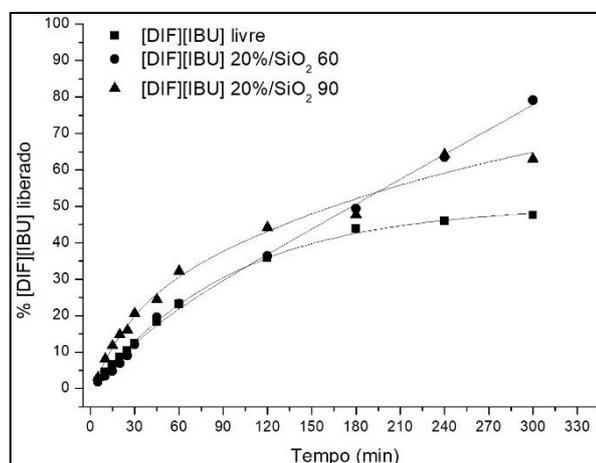
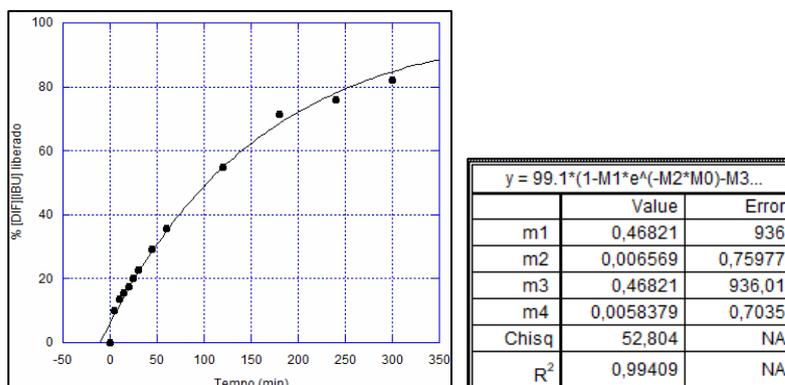
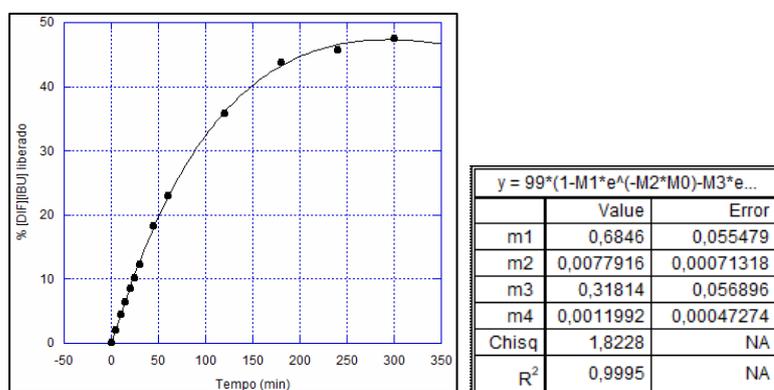


Figura A32 – Cinética de liberação para LI-IFAs [DIF][IBU] segundo modelo dupla exponencial. (a) PBS pH 7,2 1% Tween®.(b) FGS pH 1,2.



(a)

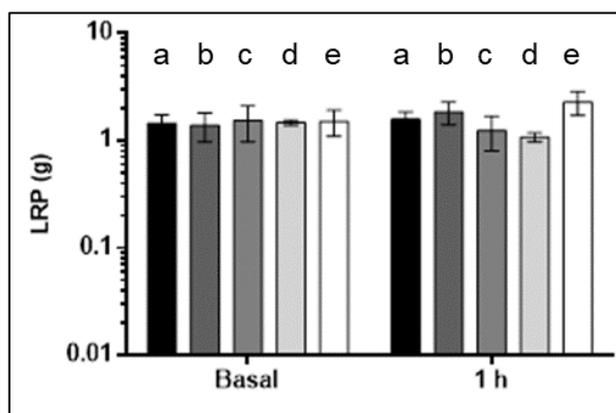


(b)

APÊNDICE IX - Atividade anti-inflamatória

Avaliação do limiar mecânico dos animais

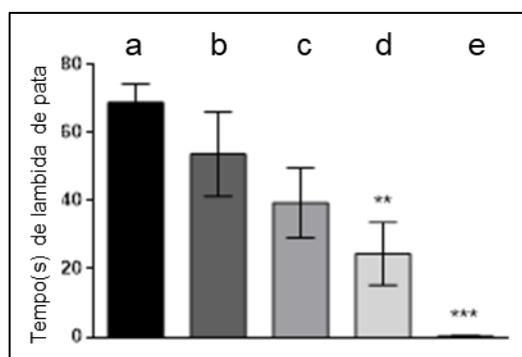
Figura A33 - Limiar mecânico de retirada de pata dos animais^a. (a) Veículo^b; (b) [RAN][IBU]^c; (c) [BUP][IBU]^c; (d) [LID][BU]^c; (e) [DIF][IBU]^c.



^aBasal refere-se à avaliação do limiar mecânico de retirada de pata dos animais antes do tratamento com os compostos. O tempo de 1h refere-se à avaliação do limiar mecânico de retirada de pata dos animais em 1h após a administração dos compostos. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. ^bdose 10 mL kg⁻¹, via oral. ^cdose 100 mg kg⁻¹, via oral

Efeito dos compostos sobre a nocicepção espontânea induzida por capsaicina

Figura A34 - Efeito dos compostos sobre a nocicepção^a espontânea induzida por capsaicina administrada intraplantar. (a) Veículo^b; (b) [RAN][IBU]^c; (c) [BUP][IBU]^c; (d) [LID][BU]^c; (e) [DIF][IBU]^c.



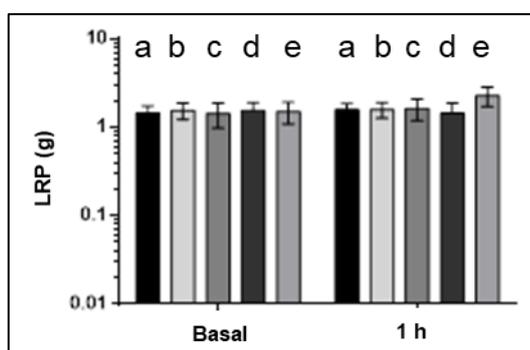
^aIbuprofeno de lidocaína e de difenidramina foram capazes de reduzir o tempo de lambida de pata dos animais causado pela administração de capsaicina quando comparado aos animais tratados com veículo. **P<0.01; ***P<0.001 quando comprado ao grupo veículo. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. ^bdose 10 mL kg⁻¹, via oral. ^cdose 100 mg kg⁻¹, via oral.

Tabela A7- A tabela mostra o número de quedas dos animais no teste do cilindro giratório.

Composto	Número de quedas no teste do cilindro giratório
Veículo (10 ml kg ⁻¹ , v.o.)	0,5 ± 0,2
[RAN][IBU] (100 mg kg ⁻¹ , v.o.)	0,6 ± 0,4
[BUP][IBU] (100 mg kg ⁻¹ , v.o.)	0,6 ± 0,3
[LID][IBU] (100 mg kg ⁻¹ , v.o.)	3,5 ± 1,0**
[DIF][IBU] (100 mg kg ⁻¹ , v.o.)	0,8 ± 0,4

**P<0.01 quando comparado ao grupo veículo. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. v.o. (via oral).

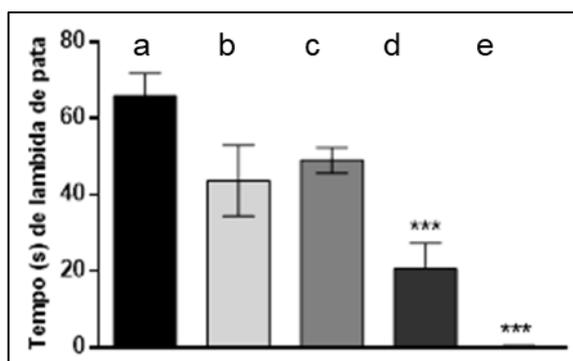
Figura A35 - Limiar mecânico de retirada de pata dos animais quando tratado com [DIF][IBU]^a. (a) Veículo (10 mL kg⁻¹); (b) (10 mg kg⁻¹); (c) (30 mg kg⁻¹); (d) (60 mg kg⁻¹); (e) (100 mg kg⁻¹).



^aBasal refere-se à avaliação do limiar mecânico de retirada de pata dos animais antes do tratamento com os compostos. O tempo de 1h refere-se à avaliação do limiar mecânico de retirada de pata dos animais em 1h após a administração dos compostos. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. Via de administração oral.

Efeito do ibuprofenato de difenidramina sobre a nociceção espontânea induzida por capsaicina

Figura A36 - Efeito do ibuprofenato de difenidramina sobre a nociceção espontânea induzida por capsaicina administrada intraplantar ^a. (a) Veículo (10 mL kg⁻¹); (b) (10 mg kg⁻¹); (c) (30 mg kg⁻¹); (d) (60 mg kg⁻¹); (e) (100 mg kg⁻¹).



^aIbuprofenato de difenidramina nas doses de 60 e 100 mg/kg foram capazes de reduzir o tempo de lambida de pata dos animais causado pela administração de capsaicina quando comparado aos animais tratados com veículo. ***P<0.001 quando comparado com o grupo veículo. ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey. Via de administração oral.

Avaliação da atividade locomotora dos animais

Tabela A8 - Número de quedas dos animais no teste do cilindro giratório.

Composto	Número de quedas no teste do cilindro giratório
Veículo (10 mL kg ⁻¹ , v.o.)	0,5 ± 0,2
[DIF][IBU] (10 mg kg ⁻¹ , v.o)	0 ± 0
[DIF][IBU] (30 mg kg ⁻¹ , v.o)	1,1 ± 0,6
[DIF][IBU] (60 mg kg ⁻¹ , v.o)	0,6 ± 0,2
[DIF][IBU] (100 mg kg ⁻¹ , v.o)	0,8 ± 0,4

ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey.