

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

Bruno Luís Hennemann

**EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO
FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS *N*-ALQUIL-*N*-METIL-
IMIDAZOLÍNEOS**

Santa Maria, RS
2020

Bruno Luís Hennemann

**EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO
FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS *N*-ALQUIL-*N*-METIL-
IMIDAZOLÍNEOS**

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 Doutor em Ciências.

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

Santa Maria, RS
2020

Hennemann, Bruno Luís

Efeitos do Ultrassom na Preparação de Emulsões do
Fluconazol Usando Líquidos Iônicos N-Alquil-N-Metil
Imidazolíneos / Bruno Luís Hennemann.- 2020.

223 p.; 30 cm

Orientadora: Clarissa Piccinin Frizzo

Coorientador: Marcos Antonio Pinto Martins

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2020

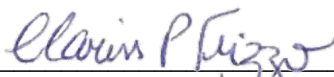
1. Líquidos Iônicos 2. Emulsões 3. Ultrassom 4.
Fluconazol 5. Interações Intermoleculares I. Frizzo,
Clarissa Piccinin II. Martins, Marcos Antonio Pinto III.
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Bruno Luís Hennemann

**EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO
FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS N-ALQUIL-N-METIL-
IMIDAZOLÍNEOS**

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 **Doutor em Ciências**.



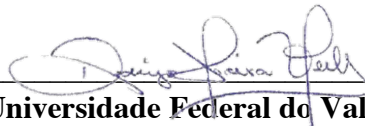
Clarissa Piccinin Frizzo, Dra. (UFSM)
Presidente/Orientadora



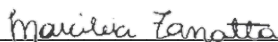
Marcos Antônio Villetti, Dr. (UFSM)
Examinador



Helio Gauze Bonacorso, Dr. (UFSM)
Examinador



Rodrigo Moreira Verly, Dr. (Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM)
Examinador



Marcileia Zanatta, Dra. (Universidade Nova de Lisboa - NOVA)
Examinador

Santa Maria, RS
2020

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por todo apoio durante o processo e por terem me ensinado valores que sempre carregarei durante minha vida.

Ao meu irmão Artur, pela convivência em Santa Maria durante o período do doutorado e por ter me auxiliado em tudo que foi necessário.

As minhas amigas Suelen e Andressa, pela amizade, ajuda e troca de conhecimento que foi fundamental para a realização dessa tese.

A minha orientadora Clarissa Frizzo, por ter me dado todo o suporte para a realização desse trabalho. Os ensinamentos foram importantes para que essa tese fosse gerada.

Ao professor Marcos Villetti, por sempre estar disposto a ajudar e contribuir da melhor forma possível para o trabalho.

Ao professor Nilo, por ter me ensinado muito sobre cromatografia líquida e gasosa e espectrometria de massas.

Ao professor Hélio, por ter contribuído na minha qualificação e na tese na discussão dos resultados. Além disso, agradeço por toda boa convivência que tivemos durante meu período no NAPO.

Ao professor Marcos e professor Manfredo, pela convivência e conversas sempre produtivas.

Aos professores Rodrigo Verly e Marcileia Zanatta, por terem contribuído na discussão dos resultados da qualificação e da tese.

Aos meus ICs Ana e Guilherme, por terem me ajudado e contribuído muito para que o trabalho fosse concluído. Vocês são exemplos de dedicação e profissionalismo.

Aos demais colegas de laboratório e funcionários do NAPO, pela convivência durante o mestrado e doutorado.

Aos professores e funcionários do departamento de Química e PPGQ da UFSM.

A Capes pela bolsa de doutorado.

E a todos que contribuíram para a realização desta tese.

RESUMO

EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS *N*-ALQUIL-*N*-METIL-IMIDAZOLÍNEOS

AUTOR: Bruno Luís Hennemann

ORIENTADOR: Clarissa Piccinin Frizzo

COORIENTADOR: Marcos Antônio Pinto Martins

O fluconazol é um fármaco ativo contra um amplo espectro de espécies de fungos, esse composto é usado para tratar infecções fúngicas superficiais e sistêmicas. No entanto, este medicamento apresenta problemas de dissolução, o que causa limitações na preparação e na liberação dessa droga. Essa limitação pode ser superada pela preparação de emulsões. O ultrassom (US) é considerado um dos métodos mais eficientes e eficazes para a preparação de emulsões. Devido às suas características anfífilas, os líquidos iônicos (LIs) à base de imidazolíneo têm potencial aplicação como surfactante. Assim, combinar US e LIs pode ser uma alternativa para preparar emulsões estáveis e mais simples de fluconazol. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do US nas propriedades da emulsão de fluconazol preparada utilizando LIs derivados do imidazol. Propriedades como tamanho de partícula, índice de polidispersão, morfologia, eficiência de encapsulamento, viscosidade, estabilidade e cinética de liberação foram avaliadas. O método de preparação (agitação mecânica - AM e US), a amplitude do US (20% e 40%), tamanho da cadeia lateral do LI ($C_{12}MIM[Br]$ ou $C_{16}MIM[Br]$) e concentração de LI (1,5, 2,4 e 3,6 mM para $C_{12}MIM[Br]$ e 1,3, 2,06 e 3,1 mM para $C_{16}MIM[Br]$) foram avaliados. Os resultados mostraram tamanho de partícula e um Índice de polidispersão menor para as emulsões preparadas no US do que nos sistemas preparados por AM. Isto mostra que o US foi eficiente para diminuir o tamanho das partículas e índice de polidispersão de emulsões com LIs. Imagens de TEM provaram que a morfologia das partículas e a estabilidade das emulsões contendo o $C_{16}MIM[Br]$ são dependentes do método de preparação e da concentração de LI. As emulsões preparadas no US apresentaram partículas esféricas e um aumento na estabilidade em comparação às emulsões preparadas por AM. Os fenômenos de *creaming* e floculação foram menos pronunciados nos sistemas com maior concentração de LI. Em todos os casos, o US com 40% de amplitude aumentou a eficiência do encapsulamento. O uso de US no preparo das emulsões demonstrou uma diminuição na viscosidade dos sistemas contendo o $C_{12}MIM[Br]$, embora em geral todas as emulsões apresentassem viscosidade próxima à da água e as emulsões contendo o LI $C_{16}MIM[Br]$ apresentassem as viscosidades mais baixas entre os sistemas estudados. Além disso, todas as emulsões apresentaram comportamento pseudo-plástico. A cinética de liberação do fármaco não mostrou dependência do método de preparação, mas do tipo de LI - as emulsões contendo LI $C_{16}MIM[Br]$ mostraram uma liberação mais controlada e uma liberação total menor de fármaco do que as emulsões contendo LI $C_{12}MIM[Br]$ na maioria dos casos. Os experimentos de DOSY demonstraram que a adição de triglicerídeos de cadeia média (TCM) diminui a difusão dos LIs na emulsão. Além disso, os experimentos de titulação do TCM sobre o LI realizado no RMN 1H mostraram variação no deslocamento químico e multiplicidade dos sinais do LI, o que indica interação entre o TCM e o LI. Por fim, os resultados de estabilidade das emulsões em 25 °C e 37 °C (temperatura corporal) demonstraram que o uso do US foi um dos fatores responsáveis pelo aumento da estabilidade dos sistemas contendo LI $C_{16}MIM[Br]$, uma vez que o índice de instabilidade foi menor para os sistemas preparados por alta energia. No entanto, para as emulsões contendo o $C_{12}MIM[Br]$, o índice de instabilidade das emulsões preparadas por US foi maior do que o índice para as emulsões preparadas por AM, indicando que a alta energia provoca desestabilização da emulsão. Em resumo, o US foi um método eficaz para preparar emulsões estáveis de fluconazol usando $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ sem surfactante adicional. A concentração de LIs para preparar essas emulsões foi menor que a concentração de surfactante convencional, exibindo os potenciais efeitos sinérgicos de LIs e US na preparação de emulsão de drogas insolúveis.

Palavras-chave: Líquidos Iônicos, emulsão, fluconazol, partículas, cinética de liberação, liberação do fármaco, estabilidade.

ABSTRACT

EFFECTS OF THE ULTRASOUND ON THE PREPARATION ON FLUCONAZOLE EMULSIONS USING *N*-ALKYL-*N*-METHYL IMIDAZOLINE IONIC LIQUIDS

AUTHOR: Bruno Luís Hennemann

ADVISOR: Clarissa Piccinin Frizzo

CO-ADVISOR: Marcos Antônio Pinto Martins

Fluconazole is an active drug against a wide spectrum of species of fungi, this compound is used to treat superficial and systemic fungal infections. However, this medicine has dissolution problems, which causes limitations in the preparation and release of this drug. This limitation can be overcome by preparing emulsions. Ultrasound (US) is considered one of the most efficient and effective methods for preparing emulsions. Due to their amphiphilic characteristics, ionic liquids (ILs) based on imidazoline have potential application as a surfactant. Thus, combining US and LIs can be an alternative to prepare stable and simpler emulsions of fluconazole. Therefore, the objective of this work was to evaluate the influence of US on the properties of the fluconazole emulsion prepared using ILs derived from imidazole. Properties such as particle size, polydispersity index, morphology, encapsulation efficiency, viscosity, stability and release kinetics were evaluated. The preparation method (mechanical stirring - MS and US), the amplitude of the US (20% and 40%), size of the IL side chain (C₁₂MIM[Br] or C₁₆MIM[Br]) and IL concentration (1.5, 2.4 and 3.6 mM for C₁₂MIM[Br] and 1.3, 2.06 and 3.1 mM for C₁₆MIM[Br]) were evaluated. The results showed particle size and a lower polydispersity index for emulsions prepared in the US than in systems prepared by AM. This shows that the US was efficient in decreasing the particle size and polydispersity index of emulsions with ILs. TEM images proved that the particle morphology and the stability of the emulsions containing C₁₆MIM[Br] are dependent on the preparation method and the concentration of IL. The emulsions prepared in the US showed spherical particles and an increase in stability compared to emulsions prepared by MS. The creaming and flocculation phenomena were less pronounced in systems with a higher concentration of IL. In all cases, the US with 40% amplitude increased the efficiency of the encapsulation. The use of US in the preparation of emulsions demonstrated a decrease in the viscosity of systems containing C₁₂MIM[Br], although in general all emulsions had viscosity close to that of water and emulsions containing IL C₁₆MIM[Br] had the lowest viscosities between the systems studied. In addition, all emulsions showed pseudo-plastic behavior. The drug release kinetics did not show any dependence on the preparation method, but on the type of IL - emulsions containing IL C₁₆MIM[Br] showed a more controlled release and a lower total drug release than emulsions containing IL C₁₂MIM[Br] in most cases. The DOSY experiments demonstrated that the addition of medium chain triglycerides (MCT) decreases the diffusion of ILs in the emulsion. In addition, the MCT titration experiments on the IL performed on the ¹H NMR showed variation in the chemical displacement and multiplicity of the IL signals, which indicates interaction between the MCT and the IL. Finally, the emulsion stability results at 25 °C and 37 °C (body temperature) demonstrated that the use of US was one of the factors responsible for increasing the stability of the systems containing IL C₁₆MIM[Br], since the instability index was lower for systems prepared by high energy. However, for emulsions containing C₁₂MIM[Br], the instability index of emulsions prepared by US was higher than the index for emulsions prepared by MS, indicating that high energy causes destabilization of the emulsion. In summary, US was an effective method for preparing stable emulsions of fluconazole using C₁₂MIM[Br] and C₁₆MIM[Br] without additional surfactant. The concentration of ILs to prepare these emulsions was lower than the concentration of conventional surfactant, exhibiting the potential synergistic effects of ILs and US in the emulsion preparation of insoluble drugs.

KEYWORDS: ionic liquid, ultrasound, emulsion, Fluconazole, particles, release kinetics, drug release, stability.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Cátions de líquido iônicos mais comumente citados na literatura..... | 1 |
| Figura 2- estrutura dos LIs e do fármaco investigados nesta tese | 6 |
| Figura 3– Representação esquemática do Objetivo 1..... | 7 |
| Figura 4 – Representação esquemática do Objetivo 2..... | 8 |
| Figura 5 – Representação esquemática do Objetivo 3..... | 9 |
| Figura 6 – Representação esquemática do Objetivo 4..... | 10 |
| Figura 7 – Número de citações por ano em função do ano dos termos “microemulsão” e “nanoemulsão”..... | 12 |
| Figura 8 – Estabilidade termodinâmica das nano e microemulsões..... | 13 |
| Figura 9 - Influência do raio de gotas na tensão interfacial para uma monocamada de surfactante que possui um raio de partícula ideal de 5 nm..... | 15 |
| Figura 10 – Gráfico do tamanho de partícula em função da concentração de óleo de limão em uma solução de surfactante não iônico a 1% em peso (Tween 80). | 15 |
| Figura 11 - Representação do aumento do tamanho das partículas com o aumento da concentração de óleo. | 16 |
| Figura 12 - Tipos de instabilidade de emulsão..... | 17 |
| Figura 13 – Representação do crescimento e implosão de uma bolha em um líquido irradiado com ultrassom (cavitação). | 27 |
| Figura 14 – Variação no diâmetro de partícula em função do tempo de exposição da emulsão ao método de agitação mecânica e ultrassom. | 29 |
| Figura 15 – Variação no diâmetro de partícula em função da concentração do surfactante. Emulsões preparadas pelo tamanho pelo método de agitação mecânica e ultrassom. | 29 |
| Figura 16 - Distribuição do tamanho da gota volumétrica de emulsões O/A em várias concentrações de surfactantes: (a) agitação mecânica, (b) ultrassom. | 30 |
| Figura 17 - Distribuição do tamanho da gota volumétrica: (a) baixa concentração de surfactante, (b) alta concentração de surfactante..... | 31 |
| Figura 18 - Variação do tamanho da gota em função da potência do agitador mecânico e do ultrassom..... | 32 |
| Figura 19 – Variação do tamanho da gota em função da fração de óleo. Emulsões preparadas pelo tamanho pelo método de agitação mecânica e ultrassom. | 32 |
| Figura 20 – Variação da condutividade em função da fração de peso do solvente, em diferentes frações de peso de Triton X-100 (<i>R</i>), para (a) tolueno; (b) ciclohexano; (c) benzeno; (d) <i>p</i> -xileno; | 34 |
| Figura 21 – Diagrama esquemático das soluções antes e depois da adição de solventes orgânicos na mistura de Triton X-100 e [BMIM][BF ₄]. À esquerda, solução molecular ou micelar. À direita, indução das emulsões óleo/líquido iônico..... | 35 |
| Figura 22 – Imagens de FF-TEM da emulsão de tolueno em [BMIM][BF ₄] com <i>R</i> = 0,5 e <i>F</i> = (a) 0,10, (b) 0,15, (c) 0,20, (d) 0,25, e) 0,30..... | 36 |
| Figura 23 – Imagens de FF-TEM da emulsão de <i>p</i> -xileno em [BMIM][BF ₄] com <i>R</i> = 0,6 e <i>F</i> = (a) 0,10, (b) 0,15, (c) 0,20, (d) 0,25, (e) 0,325..... | 37 |
| Figura 24 – (a) Estrutura do LI [HMIM][Cl]; (b) Estrutura do LI [BMIM][PF ₆]..... | 38 |
| Figura 25 – Mudanças ao longo do tempo nas Propriedades físico-químicas de emulsões O/A contendo triglicerídeos na fase orgânica e [HMIM][Cl] na fase aquosa..... | 39 |
| Figura 26 – Mudança na viscosidade ao longo do tempo de emulsões A/O contendo triglicerídeos na fase orgânica e [HMIM][Cl] na fase aquosa..... | 40 |
| Figura 27 – Microscopia das emulsões a) A/O sem LI; b) A/O com 5% de [HMIM][Cl]; c) A/O com 2,5% de [BMIM][PF ₆]. | 40 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 28 – Parâmetros físico-químicos das emulsões O/A contendo triglicerídeos e [BMIM][PF ₆] na fase oleosa..... | 41 |
| Figura 29 – Microscopia das emulsões a) O/A sem LI; b) O/A com 10% de [BMIM][PF ₆]; c) LI/água com 12% de [BMIM][PF ₆]..... | 41 |
| Figura 30 - Espectros de emissão de fluorescência de soluções de [C ₁₂ MIM][Br] contendo 1) vermelho do Nilo sem adição de sais; 2) vermelho do Nilo com adição de 1 equivalente de NaCl; 3) vermelho do Nilo com adição de 1 equivalente de NaBr; 4) vermelho do Nilo com adição de 1 equivalente de NaPF ₆ | 43 |
| Figura 31 - Espectros de RMN ¹ H de a) solução de 10 mm de [C ₁₂ MIM][Br] em D ₂ O; b) sobrenadante da solução após a adição de 1 equivalente de NaPF ₆ | 43 |
| Figura 32 – Espectro de XPS de fósforo, flúor e bromo para o precipitado gerado após a adição de 1 equivalente de NaPF ₆ na solução. | 44 |
| Figura 33 – Representação da Troca aniônica para PF ₆ ⁻ e colapso micelar resultante..... | 44 |
| Figura 34 – a) ciclohexano/água; b) com [C ₁₂ MIM][Br] agitando por 3 minutos; c) emulsão com [C ₁₂ MIM][Br] após uma hora; d) emulsão após 50 horas; e) aproximadamente após dois minutos da adição de NaPF ₆ | 45 |
| Figura 35 - Sistema ternário representando a fase hexagonal (H) e lamelar (L) e onde o sistema encontra-se em duas fases..... | 46 |
| Figura 36 - Imagem de POM a 25 °C de uma (a) amostra H e de uma (b) amostra L. | 46 |
| Figura 37 - espectro de SAXS da (a) fase líquida cristalina hexagonal e (b) fase lamelar. | 47 |
| Figura 38 - Viscosidade (η) em função da taxa de cisalhamento para (a) fase hexagonal e (b) fase lamelar..... | 48 |
| Figura 39 - sistema ternário representando a fase hexagonal (H), lamelar (L α), a fase de microemulsão e onde o sistema encontra-se em duas fases. | 49 |
| Figura 40 - Espectro de RMN ¹ H do (a) LI C ₁₄ MIM[Br] puro; (b) fração molar de p-xileno de 0,77; (c) fração molar de p-xileno de 1,68; (d) fração molar de p-xileno de 2,76. | 50 |
| Figura 41 - a) viscosidade (η) das microemulsões com diferentes concentrações de p-xileno (R) em função da taxa de cisalhamento; b) viscosidade da microemulsão na taxa de cisalhamento zero (η ₀) em função da fração mássica de p-xileno..... | 52 |
| Figura 42 - a) imagem de FF-TEM do sistema binário LI/água; b) imagem da microemulsão LI/água/p-xileno. | 53 |
| Figura 43 - Intensidade de espalhamento de luz das gotículas de microemulsão com fração de p-xileno de R = 0 (a); 0,1 (b); 0,2 (c); 0,3 (d); 0,4 (e); 0,8 (f); 1,6 (g); e 2.4 (h)..... | 53 |
| Figura 44 - Permeação cutânea in vitro de Fluconazol a partir de emulsões na pele de ratos. | 56 |
| Figura 45 - Permeação cutânea in vitro de Fluconazol a partir de emulsões na pele de porcos. | 57 |
| Figura 46- Liberação do fluconazol (após 6h) para todos os sistemas de liberação preparados por Salerno e col. (2010). | 59 |
| Figura 47- Quantidade de Fluconazol liberada por unidade de área para todos os sistemas de liberação estudados..... | 60 |
| Figura 48 - Cromatograma do ponto 3 da curva de fluconazol no modo MRM. | 65 |
| Figura 49 - Numeração dos átomos da estrutura dos LIs em estudo. | 73 |
| Figura 50 - Esquema de síntese dos LI exemplificado pelo LI 1 | 74 |
| Figura 51 - RMN ¹ H LI C ₁₂ MIM[Br]..... | 68 |
| Figura 52 - RMN ¹³ C LI C ₁₂ MIM[Br]..... | 68 |
| Figura 53 - RMN ¹ H LI C ₁₆ MIM[Br]..... | 69 |
| Figura 54 - RMN ¹³ C LI C ₁₆ MIM[Br]..... | 69 |
| Figura 55 – Imagens das emulsões estudadas após 6 meses de preparação. | 79 |
| Figura 56 - (a) A variação do diâmetro de partícula de emulsões preparadas por AM e US contendo (a) C ₁₂ MIM[Br] e (b) C ₁₆ MIM[Br]. | 83 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 57 - A polidispersão (Span) de emulsões preparadas por AM e US contendo (a) C ₁₂ MIM[Br] e (b) C ₁₆ MIM[Br]. | 85 |
| Figura 58 - Perfil de liberação do fluconazol nas emulsões com 1,5 mM de LI: a) C ₁₂ MIM[Br] em AM; b) C ₁₂ MIM[Br] em US 20%; emulsões com 1,3 mM de LI c) C ₁₆ MIM[Br] em AM; d) C ₁₆ MIM[Br] em US 20%. | 88 |
| Figura 59- Viscosidade versus taxa de cisalhamento (Sh) da emulsão com 3,6 mM de LI C ₁₂ MIM[Br] preparado por (a) AM, (b) US 20%; emulsão com 3,1 mM de LI C ₁₆ MIM[Br] preparado por (a) AM, (b) US 20%. | 93 |
| Figura 60 - Viscosidade aparente versus taxas de cisalhamento do método de preparação (2, 10, 100 e 100 s ⁻¹) para emulsões com LI C ₁₂ MIM[Br]: (a) 1,5 mM (b) 2,4 mM, (c) 3,6 mM; LI C ₁₆ MIM[Br]: (a) 1,3 mM (b) 2,06 mM, (c) 3,1 mM. | 95 |
| Figura 61 - Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 3,1 mM de LI C ₁₆ MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%; | 97 |
| Figura 62 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 3,6 mM de LI C ₁₂ MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%; | 98 |
| Figura 63 - Índice de instabilidade para as emulsões com (a) LI C ₁₂ MIM[Br] a 25 °C; (b) LI C ₁₆ MIM[Br] a 25 °C; (c) LI C ₁₂ MIM[Br] a 37 °C; (d) LI C ₁₆ MIM[Br] a 37 °C. | 99 |
| Figura 64 – Gráficos de índice de instabilidade para as emulsões com a) C ₁₂ MIM[Br] a 25°C; b) C ₁₆ MIM[Br] a 25°C; c) C ₁₂ MIM[Br] a 37°C; d) C ₁₆ MIM[Br] a 37°C. | 100 |
| Figura 65 – Aspecto visual das emulsões com C ₁₂ MIM[Br] e C ₁₆ MIM[Br] preparadas no US 20% (a) antes e (b) depois da centrifugação por LUMiSizer. | 101 |
| Figura 66 – Imagens de MET (a barra de escala é 500 µm) das emulsões contendo 1,5 mM, 2,4 mM e 3,6 mM de C ₁₂ MIM[Br] preparadas por AM (63d, 63g), US 20% (63b, 63e e 63h) e US 40% (63f e 63i). | 102 |
| Figura 67 – Imagens de MET (a barra de escala é 500 µm) das emulsões contendo 1,3 mM, 2,06 mM e 3,1 mM de C ₁₆ MIM[Br] preparadas por AM (64a, 64d, 64g), US 20% (64b, 64e e 64h) e US 40% (64c, 64f e 64i). | 104 |
| Figura 68 – Imagens de MET (a barra de escala é 100 µm) das emulsões contendo 8mg de C ₁₆ MIM[Br] preparadas por AM (d2) e US 40% (f2). A parte destacada em vermelho na imagem original foi ampliada e representada do lado direito. | 105 |
| Figura 69 – Imagens de MET (a barra de escala é 100 µm) das emulsões contendo 3,6 mM de C ₁₆ MIM[Br] preparadas por AM (g2), US 20% (h2) e US 40% (i2). A parte destacada em vermelho na imagem original foi ampliada e representada do lado direito. | 107 |
| Figura 70 – Gráfico de DOSY para a) C ₁₂ MIM[Br] – H22; b) C ₁₂ MIM[Br] + 0,05 mL de TCM – H22; c) C ₁₆ MIM[Br] – H26; d) C ₁₆ MIM[Br] + 0,05 mL de TCM – H26. | 109 |
| Figura 71– Relação entre a concentração de TCM e coeficiente de difusão (D) para os sistemas com os LIs C ₁₂ MIM[Br] (H31 e H22) e C ₁₆ MIM[Br] (H31 e H26). | 111 |
| Figura 72 – Gráfico de DOSY para a) C ₁₂ MIM[Br] – H22; b) C ₁₂ MIM[Br] + fluconazol – H22; c) C ₁₆ MIM[Br] – H26; d) C ₁₆ MIM[Br] + fluconazol – H26 | 114 |
| Figura 73 – Relação entre os hidrogênios monitorados e o coeficiente de difusão (D) para os sistemas com os LIs C ₁₂ MIM[Br] e C ₁₆ MIM[Br]. | 115 |
| Figura 74 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C ₁₂ MIM[Br] puro, LI C ₁₂ MIM[Br] com 0,05 mL de TCM, LI C ₁₂ MIM[Br] com 0,10 mL de TCM e LI C ₁₂ MIM[Br] com 0,15 mL de TCM. | 117 |
| Figura 75 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C ₁₆ MIM[Br] puro, LI C ₁₆ MIM[Br] + 0,05 mL de TCM, LI C ₁₆ MIM[Br] + 0,10 mL de TCM e LI C ₁₆ MIM[Br] + 0,15 mL de TCM. | 119 |
| Figura 76 – Imagens dos sistemas a) C ₁₂ MIM[Br] + 0,15 mL de TCM; e b) C ₁₆ MIM[Br] + 0,15 mL de TCM; em D ₂ O. | 121 |
| Figura 77 - Principais interações entre o LI C ₁₂ MIM[Br] (azul) e o TCM (preto). | 121 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 78 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C ₁₂ MIM[Br] puro e LI C ₁₂ MIM[Br] + fluconazol. | 123 |
| Figura 79 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C ₁₆ MIM[Br] puro e LI C ₁₆ MIM[Br] + fluconazol. | 124 |
| Figura 80 - Principais interações entre o LI C ₁₂ MIM[Br] (azul) e o fluconazol (preto). | 125 |
| Figura 81 – Espectros de massas sobrepostos no modo a) positivo e b) negativo da mistura LI C ₁₆ MIM[Br] + Fluconazol. LI C ₁₆ MIM[Br] puro (preto), Fluconazol (vermelho) e C ₁₆ MIM[Br] + Fluconazol (verde). | 127 |
| Figura 82 – Espectros de massas sobrepostos no modo a) positivo e b) negativo da mistura LI C ₁₆ MIM[Br] + TCM. LI C ₁₆ MIM[Br] puro (preto), TCM (vermelho) e C ₁₆ MIM[Br] + TCM (verde). | 129 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1 - Composição (em % massa/massa) de emulsões óleo/água contendo Fluconazol... | 55 |
| Tabela 2- Composição das microemulsões estudadas por Salerno e col. (2010) (massa/massa em %). | 58 |
| Tabela 3 - Composição das emulsões estudadas por Salerno e col. (2010) (massa/massa em %). | 58 |
| Tabela 4- Composição dos lipogéis estudados por Salerno e col. (2010) (massa/massa em %). | 59 |
| Tabela 5- Estrutura e nomenclatura dos compostos 1-3. | 73 |
| Tabela 6 - Fórmula molecular, massa molecular, massa monoisotópica e íon molecular obtido por espectroscopia de massa dos LIs 1-2 e fármaco fluconazol 3. ^a | 75 |
| Tabela 7 - EE (%) de emulsão de fluconazol para cada concentração de LI. | 86 |
| Tabela 8 - valores de k_1 e k_2 para as 18 emulsões estudadas. | 89 |
| Tabela 9 - Porcentagem total de fármaco (%) liberado para as 18 emulsões estudadas. | 91 |
| Tabela 10 - Viscosidade (mPa·s) a 25 °C na taxa de cisalhamento de 1000 s ⁻¹ para as 18 emulsões ^a | 91 |
| Tabela 11- Viscosidade (mPa·s) a 25 °C e taxa de cisalhamento de 2 s ⁻¹ para emulsões. | 94 |
| Tabela 12 - Valores de coeficiente de difusão (D em 10 ⁻¹³ m ² s ⁻¹) para os LIs C ₁₂ MIM[Br] e C ₁₆ MIM[Br] e suas misturas com diferentes volumes de TCM. | 110 |
| Tabela 13 - Valores de coeficiente de difusão (D em 10 ⁻¹³ m ² s ⁻¹) para a água na presença dos LIs C ₁₂ MIM[Br] e C ₁₆ MIM[Br] e em diferentes volumes de TCM | 112 |
| Tabela 14 - Valores de coeficiente de difusão (D em 10 ⁻¹³ m ² s ⁻¹) para os LIs C ₁₂ MIM[Br] e C ₁₆ MIM[Br] e suas misturas com diferentes volumes de TCM divididos pelos valores de difusão na água (D em 10 ⁻¹¹ m ² s ⁻¹) do respectivo sistema | 113 |
| Tabela 15 - Valores de coeficiente de difusão (D em 10 ⁻¹³ .m ² s ⁻¹) para os LIs C ₁₂ MIM[Br] e C ₁₆ MIM[Br] e suas misturas com fluconazol. | 115 |
| Tabela 16 – Energia das principais interações que ocorrem entre as moléculas nas fases líquida, gasosa e sólida.(HENNEMANN et al., 2018; MOLINA; ZAPATA; CABALLERO, 2017). | 130 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| LI | Líquido iônico |
| $^{\circ}\text{C}$ | Graus celsius |
| [Pro] ⁻ | Ânion prolinato |
| [Ala] ⁻ | Ânion alalinato |
| [Gly] ⁻ | Ânion glicinato |
| [NTf ₂] | Trifluorometilsulfonilamida |
| DLS | <i>Dynamic Light Scattering</i> |
| Triton X-100 | <i>t-Octylphenoxyethoxyethanol</i> |
| RMN 2D | Ressonância magnética nuclear de duas dimensões |
| TEM | <i>Transmission electron microscopy</i> |
| SAXS | <i>Small angle X-Ray Scattering</i> |
| POM | <i>Polarized Optical Microscopy</i> |
| 2D-ROESY | <i>Rotating frame Overhauser Effect Spectroscopy</i> |
| RMN ¹ H | Ressonância magnética nuclear de hidrogênio |
| PG | Propilenoglicol |
| TCL | Transcutol® |
| AM | Agitação mecânica |
| US | Ultrassom |
| US 20% | Ultrassom na amplitude de 20% |
| US 40% | Ultrassom na amplitude de 40% |
| TCM | Triglicerídeos de cadeia média |
| Br ⁻ | Ânion Brometo |
| (O/A) | Emulsão de óleo em água |
| ESI-MS-MS | Espectrometria de massas com ionização por <i>eletrospray</i> |
| CID | Colisão induzida por dissociação |
| ΔG_i | Energia livre interfacial |
| $-T\Delta S_{\text{config.}}$ | Entropia de configuração |
| ΔA | Área de contato |

| | |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| γ | Tensão interfacial |
| ΔG_{form} | Energia livre de formação |
| k | Constante de Boltzmann |
| n | Número de gotículas na dispersão coloidal |
| ϕ | Fração volumétrica da fase dispersa |
| ΔS | Varição de entropia |
| γ_{∞} | Tensão interfacial em uma interface óleo-água planar |
| γ_0 | Tensão interfacial (ultrabaixa) |
| R_0 | Raio da gotícula |
| TWEEN 80 [®] | Polisorbato 80 |
| C_{Sat} | Concentração de saturação |
| C_{tot} | Concentração total de surfactante |
| CMC | Concentração micelar crítica |
| CET | Cromatografia de exclusão de tamanho |
| CTI | cromatografia de troca iônica |
| FFC | Fracionamento de Fluxo de Campo |
| Tween 60 [®] | Polisorbato 60 |
| k | Varição da condutividade |
| F | Fração de peso do solvente |
| R | Rações de peso de Triton X-100 |
| FF-TEM | <i>Freeze fracture transmission electronic microscopy</i> |
| A/O | Emulsão de água em óleo |
| MgSO ₄ | Sulfato de magnésio |
| PEG-100 | <i>Glyceryl Stearate</i> |
| pH | Potencial Hidrogenionico |
| HLB | <i>Hidrofílic-lipophilic balance</i> |
| EHL | Equilíbrio hidrofílico-lipofílico |
| HaCat | Linha celular de queratinócitos |
| C ₂₀ H ₁₈ N ₂ O ₂ | Vermelho do Nilo |
| Cl ⁻ | Ânion Cloreto |

| | |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| D ₂ O | Água deuterada |
| XPS | <i>X-Ray Photoelectron Spectroscopy</i> |
| PF ₆ ⁻ | Hexafluorofosfato |
| Span TM 60 | Monoestearato de sorbitano 60 |
| H | Hexagonal |
| L | Lamelar |
| q ₁ :q ₂ :q ₃ | Razão dos picos de espalhamento SAXS |
| α ₀ | Rede de ligação |
| r _H | Raio da unidade do cilindro |
| d _w | Espessura do canal de água |
| α _s | Rede de área |
| CTAB | Brometo de cetil trimetil amônio |
| η | Viscosidade |
| δ | Deslocamento químico |
| η ₀ | Viscosidade na taxa de cisalhamento 0 |
| Q | Quantidade de fármaco acumulada liberada por área de superfície da membrana |
| SC | Células queratinizadas e cera |
| IUPAC | <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> |
| HPLC | <i>High performance liquid chromatography</i> |
| SPI | Índice de polidispersão |
| D ₃₂ | Diâmetro de Sauter |
| LC-ESI-MS/MS | Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com ionização por <i>electrospray</i> |
| r | Coefficiente de correlação |
| TCM | Triglicerídeos de cadeia média |
| LoD | Limite de detecção |
| LoQ | Limite de quantificação |
| MET | Microscopia eletrônica de transmissão |
| NaCl | Cloreto de Sódio |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |

| | |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Na_2HPO_4 | Hidrogenofosfato de sódio |
| NaH_2PO_4 | Dihidrogenofosfato de sódio |
| F | Fração (%) do medicamento liberado |
| $ F _0$ | Fração inicial (%) do medicamento |
| k_1 | Constante cinética da taxa de liberação |
| k_2 | Constante cinética da taxa de liberação |
| EE (%) | Eficiência do encapsulamento |
| AM_{tot} | Quantidade total do medicamento na emulsão |
| AM | Quantidade de medicamento passado pelo filtro Amicon TM |
| TMS | Tetrametil silano |
| CH_3CN | Acetonitrila |
| m/z | Razão massa/carga |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| Sh | Taxa de cisalhamento |
| D | Coefficiente de Difusão |

Nomenclatura dos cátions dos LIs abordados neste trabalho

| | |
|-------------------------------|------------------------------------|
| $[\text{BMIM}]^+$ | 1-butil-3-metilimidazolíneo |
| $[\text{C}_{12}\text{MIM}]^+$ | 1-dodecil-3-metilimidazolilíneo |
| $[\text{C}_{14}\text{MIM}]^+$ | 1-tetradecil-3-metilimidazolilíneo |
| $[\text{C}_{16}\text{MIM}]^+$ | 1-hexadecil-3-metilimidazolilíneo |
| $[\text{HMIM}]^+$ | 1-hexil-3-metilimidazolíneo |

SUMÁRIO

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| RESUMO..... | vi |
| ABSTRACT | vii |
| LISTA DE FIGURAS..... | viii |
| LISTA DE TABELAS | xii |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | xiii |
| 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS..... | 1 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 11 |
| 2.1 EMULSÕES | 11 |
| 2.1.1 Estabilidade das emulsões | 19 |
| 2.1.1.1 <i>Observação visual</i> | 19 |
| 2.1.1.2 <i>Observação por microscopia</i> | 20 |
| 2.1.1.3 <i>Análise de tamanho de partícula</i> | 20 |
| 2.1.1.3 <i>Reologia</i> | 22 |
| 2.1.2 Aspecto das emulsões e morfologia | 24 |
| 2.1.2.1 <i>Aparência</i> | 24 |
| 2.1.2.2 <i>Microscopia</i> | 24 |
| 2.1.2.3 <i>Espetros de absorvância e turbidez e refletância espectral</i> | 26 |
| 2.2. USO DE ULTRASSOM NO PREPARO DE EMULSÕES | 27 |
| 2.3 USO DE LIS NA FORMAÇÃO DE EMULSÕES | 33 |
| 2.4 EMULSÕES CONTENDO O FÁRMACO FLUCONAZOL..... | 54 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 62 |
| 3.1 REAGENTES | 62 |
| 3.2 SÍNTESE DOS LIS | 62 |
| 3.3 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES USANDO AGITAÇÃO MECÂNICA..... | 63 |
| 3.4 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES POR ULTRASSOM..... | 63 |
| 3.5 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO MÉDIO DAS PARTÍCULAS E POLIDISPERSÃO (SPAN)..... | 64 |
| 3.6 MEDIDAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA COM IONIZAÇÃO POR <i>ELECTROSPRAY</i> (LC-ESI-MS/MS) – QUANTIFICAÇÃO DO FLUCONAZOL..... | 64 |
| 3.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)..... | 66 |
| 3.8 VISCOSIDADE..... | 67 |
| 3.9 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO FLUCONAZOL..... | 67 |
| 3.10 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO DO FÁRMACO FLUCONAZOL:..... | 68 |
| 3.11 ENERGIA DISSIPADA DOS MÉTODOS DE PREPARO: | 68 |
| 3.12 DETERMINAÇÃO DAS INTERAÇÕES POR ESI-MS/MS: | 69 |
| 3.13 DETERMINAÇÃO DAS INTERAÇÕES POR RMN ¹ H | 69 |
| 3.14 DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIFUSÃO POR DOSY | 70 |
| 3.15 DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS EMULSÕES POR LUMISIZER..... | 70 |
| 3.16 ESTOCAGEM DAS EMULSÕES PREPARADAS | 71 |

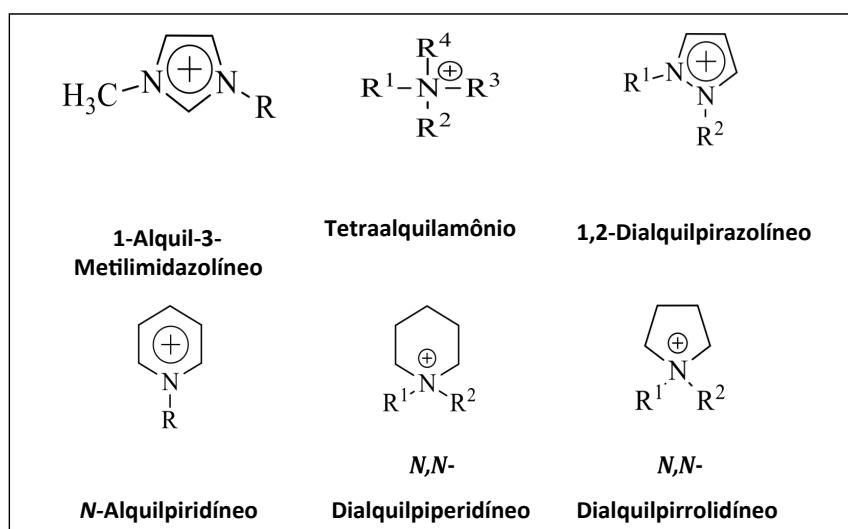
| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 72 |
| 4.1. CAPÍTULO 1: PREPARAÇÃO E PROPRIEDADES DAS EMULSÕES | 72 |
| 4.1.1 Nomenclatura dos LIs e fármaco..... | 72 |
| 4.1.2 Síntese e caracterização dos LI..... | 73 |
| 4.1.3 Espectroscopia de massa com ionização por electrospray | 74 |
| 4.1.4 Ressonância magnética nuclear | 75 |
| 4.1.5 Desrição das emulsões preparadas e características visuais das emulsões nos diferentes métodos de preparo e diferentes concentrações..... | 78 |
| 4.1.6 Influência da energia do ultrassom nas emulsões..... | 80 |
| 4.1.7 Dependência do diâmetro das partículas na preparação de emulsões usando AM e US | 80 |
| 4.1.8 Dependência da polidispersão (Span) de partículas na preparação de emulsões usando AM e US..... | 83 |
| 4.1.9 Dependência da eficiência do encapsulamento com a cadeia alquílica lateral do LI e o método de preparação das emulsões..... | 85 |
| 4.1.10 Cinética de Liberação do Fluconazol | 87 |
| 4.1.11 Viscosidade das emulsões | 91 |
| 4.1.12 Estabilidade das emulsões | 96 |
| 4.1.13 Microscopia de transmissão eletrônica das emulsões..... | 102 |
| 4.2 CAPÍTULO 2: INTERAÇÕES INTERMOLECULARES NA EMULSÃO | 108 |
| 4.2.1 Experimentos de DOSY para determinação dos coeficientes de difusão de LI puro, LI + TCM e LI + Fluconazol..... | 108 |
| 4.2.2 Experimentos de Titulação de TCM em LI monitorados por RMN de ¹ H..... | 116 |
| 4.2.3 Mistura de LI + fluconazol monitorada por RMN ¹ H. | 122 |
| 4.2.4 Interações entre os componentes das emulsões monitoradas por LC-ESI-MS/MS. | 126 |
| 5. CONCLUSÃO..... | 131 |
| 6. SUGESTÕES PARA A CONTINUIDADE DO TRABALHO..... | 133 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 134 |
| APÊNDICE A – RMN DE ¹H E DE ¹³C E ESPECTRO DE MASSAS DOS COMPOSTOS PUROS | 142 |
| APÊNDICE B – TAMANHO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO (SPAN) DAS EMULSÕES | 149 |
| APÊNDICE C –IMAGENS DE MET DAS EMULSÕES | 151 |
| APÊNDICE D –PERFIL DE LIBERAÇÃO DO FLUCONAZOL NAS EMULSÕES | 157 |
| APÊNDICE E – GRÁFICOS DE VISCOSIDADE DAS EMULSÕES | 166 |
| APÊNDICE F – GRÁFICOS DE DIFUSÃO DAS EMULSÕES | 172 |
| APÊNDICE G –ESPECTROS E CROMATOGRAMAS FLUCONAZOL | 181 |
| APÊNDICE H –ESPECTROS DE MASSAS DAS MISTURAS DOS COMPONENTES QUE COMPÕEM AS EMULSÕES | 182 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| APÊNDICE I – PERFIL DE TRANSMISSÃO E CINÉTICA DE ESTABILIDADE DAS EMULSÕES..... | 186 |
| APÊNDICE J – PERMISSÕES DAS IMAGENS ADAPTADAS NA TESE..... | 196 |

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Líquidos Iônicos (LIs) são sais formados por cátions orgânicos volumosos e ânions orgânicos ou inorgânicos. Os LIs são geralmente líquidos a temperatura ambiente ou fundem a uma temperatura próxima ou inferior a 100 °C, os quais são conhecidos como HMPIIL (*do inglês: high melting point ionic liquids*). (PLECHKOVA; SEDDON, 2008) As suas propriedades, tais como a densidade e a viscosidade são dependentes da estrutura de cátion e ânion. (ZHANG et al., 2006) Compostos heterocíclicos contendo o átomo de nitrogênio, tais como imidazol, piridina, pirrolidina, piperidina e seus derivados dão origem aos cátions mais comumente presentes na estrutura de LIs (Figura 1). Os ânions utilizados nos líquidos iônicos geralmente são a base de halogenetos ou ainda puramente orgânicos, dentre os quais se destacam o [Br]⁻, [BF₄]⁻, [PF₆]⁻, [NTf₂]⁻, [CH₃COO]⁻, prolinato [Pro]⁻, alalinato [Ala]⁻ e glicinato [Gly]⁻. Essa família de compostos exibe algumas propriedades tais como alta estabilidade térmica, pressão de vapor desprezível, alta condutividade iônica e boa estabilidade eletroquímica (ZHANG et al., 2006) que são consideradas únicas, quando comparado as solventes moleculares. Estas propriedades tornam os LIs promissores em diversas aplicações, tais como a catálise, separação de compostos, adsorção, eletrólitos na produção de baterias, solvente na quebra da celulose e solventes e/ou catalisadores na síntese orgânica e como emulsionantes. (MARTINS et al., 2008; ZHOU; ANTONIETTI, 2003)

Figura 1 - Cátions de líquido iônicos mais comumente citados na literatura.



Fonte: Adaptado de (NIEDERMEYER et al., 2012).

O uso dos LIs como emulsionante é uma das aplicações mais investigadas recentemente, devido ao desempenho superior de alguns LIs em relação a surfactantes convencionais.(DOBLER et al., 2013) A formação de emulsões estáveis entre dois líquidos imiscíveis (ex. óleo e água) requer a presença de surfactantes para reduzir a tensão interfacial entre as duas fases.(HEJAZIFAR; LANARIDI; BICA-SCHRÖDER, 2020) Os surfactantes podem ter natureza aniônica, catiônica, não iônica ou zwitteriônica. Apesar da variedade e ampla faixa de aplicação desses surfactantes, eles apresentam algumas desvantagens quando usados na formação de emulsões. A estabilização da emulsão requer concentrações elevadas de surfactante e co-surfactante. Além disso, muitos surfactantes possuem capacidade de solubilização limitada para compostos com alto ponto de fusão.(MADHAV; GUPTA, 2011) Uma alternativa para isso, é o uso de LIs derivados do imidazol com cadeias laterais longas (acima de 8 carbonos). Estes LIs apresentam algumas vantagens em relação os surfactantes tradicionais. A forte atração entre o anel imidazólico e os co-surfactantes poderia facilitar a imobilização deste último na interface líquido/líquido, o que evitaria seu vazamento para a fase aquosa. Além disso, o anel imidazólico possibilita diversos tipos de interações intermoleculares, tais como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e as interações π - π com compostos contendo anéis aromáticos. Portanto fornecem uma ampla plataforma de possibilidades para explorar o equilíbrio hidrofílico-lipofílico em emulsões contendo LIs, o que é uma alternativa para otimizar a emulsificação de compostos orgânicos.

Alguns autores já descreveram a interação de LIs em sistemas binário e ternários de líquidos imiscíveis. O efeito da adição sucessiva de solventes orgânicos em um sistema binário de Triton X-100/tetrafluorborato de 1-butil-3-metilimidazólico ([BMIM][BF₄]) foi investigado por Gao et al. (GAO et al., 2009) A adição de solventes orgânicos proporciona um ambiente fortemente hidrofóbico que induz a incorporação do Triton X-100 na interface desses solventes. O solvente orgânico e o LI são separados por um filme interfacial contendo o Triton X-100 e a emulsão solvente/LI é formada. Chen e Nozaki (2012) prepararam microemulsões contendo [BMIM][BF₄], Triton X-100 e benzeno e o comportamento deste sistema ternário foi investigado. Estudos de tamanho de agregado foram feitos por espalhamento de luz dinâmico (DLS – do inglês: *Dynamic Light Scattering*), a qual é uma técnica que pode ser usada para determinar o perfil de distribuição de tamanho de pequenas partículas em suspensão ou polímeros em solução. Estudos de DLS revelam que o aumento da concentração de [BMIM][BF₄] causa o aumento do tamanho dos agregados formados, o que sugere a formação da emulsão LI/benzeno.(CHEN; NOZAKI, 2012) O comportamento

de fase do sistema [BMIM][BF₄]/Triton X-100 + *n*-butanol/ciclohexano foi investigado por observação visual e condutividade elétrica por Cheng et al. (2008). Comparando com o comportamento de fase do sistema [BMIM][BF₄]/Triton X-100/ciclohexano, foi demonstrado que a adição de *n*-butanol favorece a estabilização da emulsão e amplia a região da fase única.(CHENG et al., 2007)

Microemulsões compostas por [BMIM][BF₄]/Triton X-100/Tolueno também foram investigadas.(GAO et al., 2008) Foram realizadas análises de efeito nuclear Overhauser bidimensional (2D ROESY), a qual é uma técnica amplamente aceita para medir interações dipolares entre prótons. A análise por RMN 2D confirmou a interação eletrostática entre a carga positiva do anel imidazólico do [BMIM][BF₄] e os oxigênios eletronegativos presentes em uma unidade do Triton X-100. Essas interações puderam ser observadas a partir do sinal do próton ligado ao anel imidazólico que tem seu ambiente químico influenciado pela presença do oxigênio do Triton X-100. Os autores constataram que o tamanho dos agregados aumenta com adições sucessivas de [BMIM][BF₄]. A microemulsão de [BMIM][BF₄] em ciclohexano com Triton X-100 mostrou um comportamento de intumescimento semelhante às microemulsões de água em óleo, ou seja, o volume das nanogotículas dispersas é diretamente proporcional à quantidade de LI adicionada. O processo de aumento de tamanho dos agregados foi detectado por DLS e microscopia de transmissão eletrônica (TEM, do inglês *Transmission electron microscopy*). Zhang et al. (2008) estudaram o comportamento de fase de misturas ternárias de C₁₆MIM[Br]/xileno/água por SAXS (do inglês *Small angle X-Ray Scattering*), POM (do inglês: *Polarized Optical Microscopy*) e medidas reológicas. (ZHANG et al., 2008) Foram encontradas duas fases cristalinas líquidas liotrópicas (hexagonal e lamelar). Os parâmetros da rede das fases cristalinas líquidas foram determinados pelo conteúdo de água e surfactante da mistura, enquanto as características reológicas da fase cristalina líquida forneceram informações sobre as estruturas da amostra. O comportamento de fase do sistema ternário que consiste de líquido iônico brometo de 1-tetradecil-3-metilimidazólio (C₁₄mim[Br])/p-xileno/água foi investigado por Li e col. (2009).(LI et al., 2009) Os resultados obtidos por RMN de ¹H, espectroscopia 2D-ROESY e medições reológicas das microemulsões indicaram que as moléculas de p-xileno são solubilizadas no interior da micela hidrofóbica, as quais interagem diretamente com a cadeia alquílica lateral do IL. Estes resultados demonstram que os LIs são incorporados e tem potencial de participar ativamente na formação de emulsões.

O transporte e a liberação de fármacos podem ser mencionados entre os fatores mais importantes da formulação farmacêutica e precisam ser compreendidos.(MODARRES-GHEISARI et al., 2019) Emulsões são utilizadas como nanocarreadores de fármacos com baixa solubilidade em água e que tratam uma variedade de doenças. Neste contexto, pode-se citar o fluconazol, o qual é um antifúngico usado para tratar infecções superficiais e sistêmicas.(LESHER JR, 1999) O fluconazol é ativo contra um amplo espectro de espécies de fungos que incluem *Blastomyces*, *Candida*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*, *Epidermophyton*, *Histoplasma*, *Microsporum* e *Trichophyton*.(NIRMALA et al., 2013) No entanto, esse medicamento apresenta problemas de dissolução, o que causa limitações no preparo das formas farmacêuticas e na liberação desse medicamento.(NIRMALA et al., 2013) Pesquisas mostram que essa limitação pode ser superada pelo preparo de emulsões de fluconazol. Ayub et al. (2007) investigaram a penetração e permeação cutânea in vitro de fluconazol a partir de emulsões contendo diferentes intensificadores de penetração. Os autores demonstraram que é possível administrar o fluconazol topicamente a partir de emulsões. Além disso, a penetração do medicamento na derme e epiderme foi considerável (AYUB et al., 2007) Salerno et al. (2010) avaliaram a administração tópica de Fluconazol a partir de formas de dosagem tópicas tradicionais, como emulsão, lipogéis e emulgel, e um hidrogel à base de microemulsão.(SALERNO; CARLUCCI; BREGNI, 2010) A influência de dois intensificadores de penetração na pele, propilenoglicol (PG) e Transcutol® (TCL) também foi investigada em cada uma das formas de dosagem selecionadas. Segundo os autores, o pequeno tamanho das partículas da microemulsão encontrado, torna esse tipo de formulação um excelente carreador para permeação percutânea e captação de fármacos.(SALERNO; CARLUCCI; BREGNI, 2010)

Poucos estudos fornecem uma abordagem para a emulsão de fluconazol, portanto, é necessário projetar um sistema carreador de emulsão simples para aumentar a solubilidade e reduzir as interações medicamentosas. Nesse contexto, a formulação de novos sistemas capazes de transportar fármacos hidrofóbicos como o fluconazol (NIRMALA et al., 2013) precisam ser constantemente melhoradas em termos de estabilidade, menor tamanho de partícula, maior teor de fármaco e menor quantidade de surfactante.

Além da composição da emulsão, o método como esta é preparada também influencia diretamente o tamanho, a uniformidade e a estabilidade dos agregados formados. Duas classes de métodos para o preparo de emulsão são relatadas na literatura: métodos de baixa energia e métodos de alta energia. As emulsões produzidas por meio de métodos de alta energia

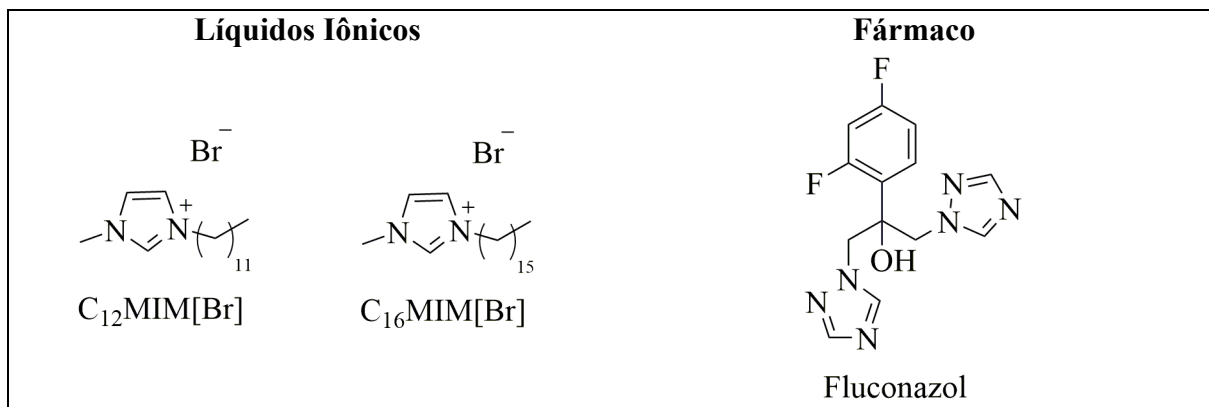
apresentam uma predisposição natural para preservar a formação de emulsões contra a modificação da formulação - por exemplo, adição de monômero, surfactante, co-surfactante, entre outros.(SILVA; CERQUEIRA; VICENTE, 2012) Dentre os métodos de alta energia, destaca-se o ultrassom. Quando dois líquidos imiscíveis são submetidos a ondas sonoras de alta frequência na presença de um surfactante, gotículas de emulsão são formadas por cavitação. Isto provoca intensas ondas de choque no líquido circundante e a formação de jatos de líquido a alta velocidade é responsável pela formação de gotículas de emulsão. O ultrassom promove a melhor uniformidade dos tamanhos de partícula, além disso, é relatado que o uso dessa técnica também resulta em diminuição no tamanho das partículas.(ABISMAÏL et al., 1999)

A partir da análise crítica dos trabalhos encontrados na literatura envolvendo a formação de emulsões com LIs, alguns questionamentos surgiram e motivaram os estudos que serão relatados nesse trabalho. Será possível que LIs aumentem a estabilidade das emulsões? O que ocorre com o tamanho das partículas emulsionadas quando LI é adicionado ao sistema? Como é o comportamento das emulsões contendo LI quando essas são preparadas utilizando ultrassom? É possível aumentar a eficiência de encapsulamento de algum composto de interesse quando esse é emulsionado na presença de LI? A partir dos dados de cinética de liberação, as emulsões preparadas com LIs são potenciais carreadores de fármacos? Quais são as interações que ocorrem entre as espécies que constituem a emulsão formada por LI?

Assim, o objetivo geral desta Tese foi:

Preparar emulsões do fluconazol contendo diferentes concentrações de LIs derivados do imidazol e estabelecer o seu efeito sobre a formação e estabilidade da emulsão, eficiência de encapsulamento, cinética de liberação, viscosidade, estabilidade, tamanho e morfologia da partícula em duas condições de agitação (*i*) mecânica e (*ii*) usando ultrassom. As interações intermoleculares entre LIs e demais componentes da formulação serão avaliadas com o objetivo de entender o efeito do LI sobre a emulsão. Os LIs utilizados serão monocatiônicos derivados do imidazol com cadeia espaçadora de $n= 12$ e 16 e o ânion brometo (Br^-) como contra íon. Os compostos que serão emulsionados serão o TCM (óleo) e o Fluconazol. A Figura 2 mostra a estrutura dos LIs e do fármaco que serão investigados nesta tese.

Figura 2- estrutura dos LIs e do fármaco investigados nesta tese



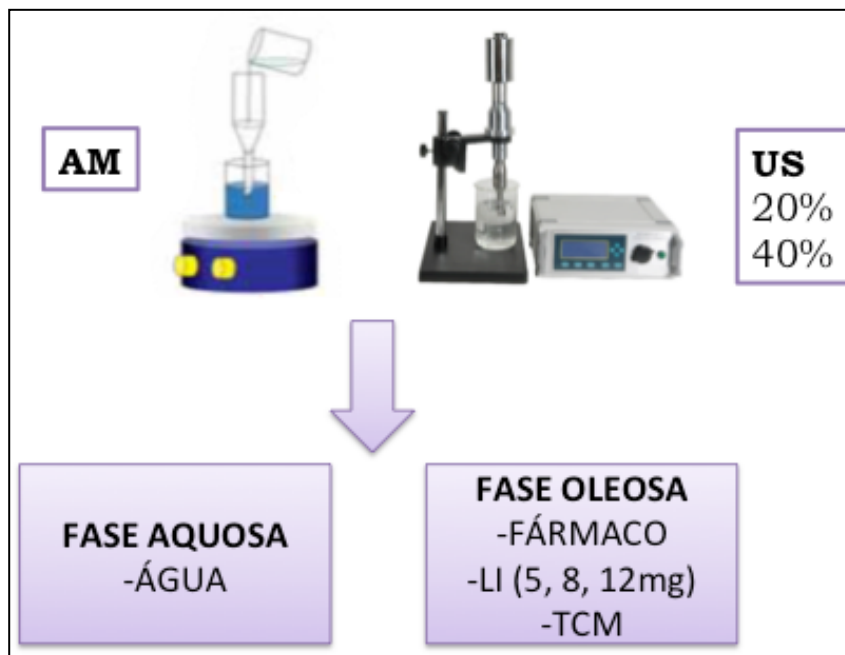
Fonte: autor.

O objetivo geral será alcançado a partir dos seguintes objetivos específicos:

Objetivo 1: Formular emulsões Óleo/Água (O/A) com LIs C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br] em diferentes concentrações, TCM (fase oleosa), água e o fármaco Fluconazol.

Hipótese: LIs com cadeia alquílicas laterais maiores que oito carbonos podem formar emulsões estáveis pois possuem propriedades anfífilas e devem estabilizar emulsões ou atuarem como surfactantes na emulsificação do fluconazol. Além disso, a participação do LI no processo de emulsificação pode acarretar mudanças no tamanho de partícula e na morfologia da emulsão formada. A presença do LI pode ainda promover interações intermoleculares com o fármaco e promover aumento ou perda de eficiência de encapsulamento do fármaco apolar quando o LI é adicionado na formulação da emulsão. A Figura 3 ilustra um esquema geral desse objetivo. Os LIs escolhidos foram LI com com cadeias alquílica laterais de 12 e 16 carbonos, pois são mais promissores como surfactantes por terem menor concentração crítica de agregação em água. (ZIEMBOWICZ et al., 2017) Por fim, a escolha pelo ânion ânion Br⁻ foi devido a disponibilidade de trabalhos na literatura com esse ânion, menor CAC em relação aos demais ânions inorgânicos e a facilidade desses em serem sintetizados com alto teor de pureza. (DONG et al., 2007)

Figura 3– Representação esquemática do Objetivo 1.

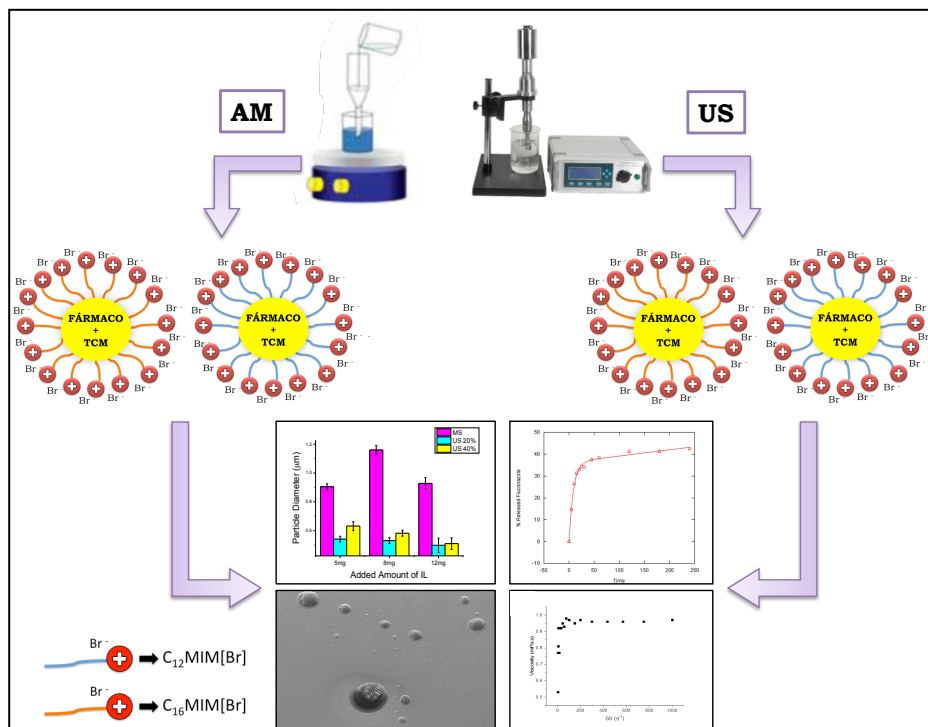


Fonte: autor.

Objetivo 2: Avaliar a influência dos métodos de preparo das emulsões (agitação mecânica e ultrassom nas amplitudes de 20% e 40%) nas propriedades desses sistemas, tais como tamanho de partícula, índice de polidispersão, eficiência de encapsulamento, viscosidade cinética de liberação do fármaco e estabilidade.

Hipótese: A preparação de emulsões contendo LIs por diferentes métodos de preparação (Ultrassom e método convencional) podem levar a alterações na formação, estabilidade, tamanho das partículas, cinética de liberação, viscosidade e eficiência de emulsificação. Quanto mais energia o método de preparação fornece ao sistema, menores são os tamanhos das partículas e mais uniforme é a distribuição de tamanho das partículas. Em emulsões com adição de LIs, estes efeitos não são conhecidos. A Figura 4 ilustra um esquema geral desse objetivo.

Figura 4 – Representação esquemática do Objetivo 2.



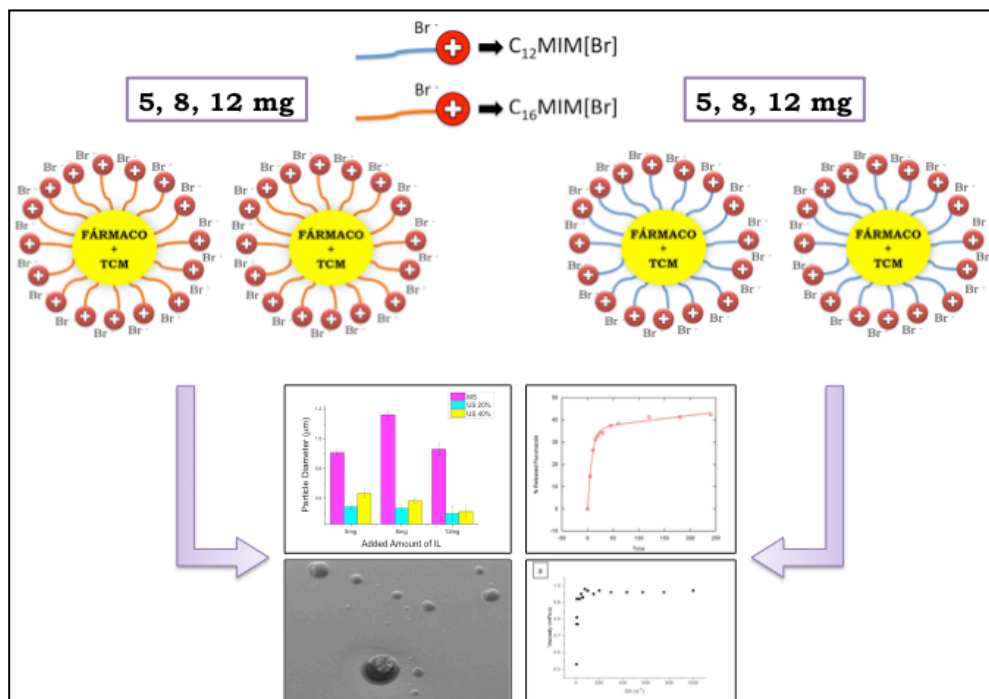
Fonte: autor.

Objetivo 3: Estudar a influência do tamanho da cadeia lateral do LI e da concentração dele nas propriedades das emulsões preparadas, tais como tamanho de partícula, índice de polidispersão, eficiência de encapsulamento, viscosidade cinética de liberação do fármaco e estabilidade.

Hipótese: Lis com cadeia alquílicas laterais maiores que oito carbonos levam a formação de emulsões estáveis pois possuem propriedades anfífilas e devem estabilizar emulsões ou atuarem como surfactante na emulsificação de compostos de interesse. Sendo assim, os Lis C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br] devem estabilizar as emulsões, no entanto, por possuírem cadeias laterais hidrofóbicas diferentes, as emulsões preparadas com o LI C₁₂MIM[Br] podem apresentar diferença nas propriedades estudadas comparado com as emulsões preparadas com o LI C₁₆MIM[Br]. Além disso, o que também pode alterar as propriedades das emulsões é a concentração de surfactante adicionado. Conforme descrito por Peshkovsky et al. (2013) a variação na concentração de surfactante influencia diretamente no tamanho das partículas formadas. Com o aumento da concentração de surfactante até certo ponto, há a diminuição no tamanho de partícula, porém com o aumento sucessivo de tensoativo pode ocorrer o aumento das partículas na emulsão. Portanto, uma concentração

ideal deve ser determinada.(PESHKOVSKY; PESHKOVSKY; BYSTRYAK, 2013) A Figura 5 ilustra um esquema geral desse objetivo.

Figura 5 – Representação esquemática do Objetivo 3.



Fonte: autor.

Objetivo 4: Estudar as interações que ocorrem nas emulsões por RMN e espectrometria de massas com ionização por *electrospray*.

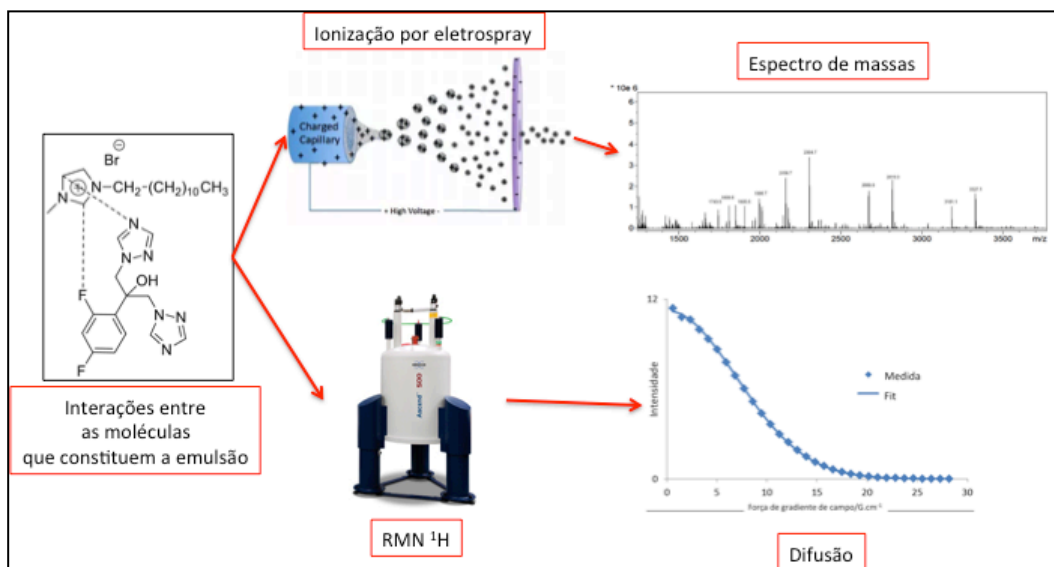
Hipótese: a técnica de ionização por *electrospray* é capaz de identificar agregados moleculares de compostos carregados, uma vez que as interações não covalentes (iônicas) podem ser detectadas por esta técnica.(FENN, 1993) Sendo assim, pode ser possível detectar a partir do espectro de massas no método de colisão induzida por dissociação (CID), as interações que possivelmente ocorrem entre o LI, TCM e fármaco.

A espectroscopia de RMN permite a determinação do coeficiente de difusão de moléculas orgânicas em solução. Assim, espera-se que os LIs puros possuam coeficiente de difusão diferente do que quando são parte de uma emulsão, uma vez que a disposição dessas moléculas irá mudar.(LI et al., 2009) A diminuição do coeficiente de difusão pode indicar que o LI está interagindo com a fase oleosa. Diversas interações podem ocorrer entre o líquido iônico e óleo, tais como: ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, interações eletrostáticas e entre outras. Por ser apolar o TCM interage, principalmente, com a cadeia

hidrofóbica do LI. No entanto, o óleo também possui sítios polares em sua estrutura que podem estabelecer interações intermoleculares polares com o anel derivado do imidazol presente no LI. O coeficiente de difusão de todos os componentes da partícula da emulsão deve ser semelhante, indicando que todos são parte de um mesmo sistema “supramolecular”. Caso contrário, se algum constituinte possuir uma difusão discrepante dos demais constituintes é provável que ele não esteja incorporado na emulsão. A Figura 6 ilustra um esquema geral desse objetivo.

A espectroscopia de RMN também permite que seja feita titulação de LI com outro composto e seja monitorada a variação do deslocamento químico das espécies. Essa variação do deslocamento químico pode indicar que as espécies estão interagindo. (LI et al., 2009) Dessa forma, espera-se que a titulação de LI com TCM e LI com fluconazol apresente variação no deslocamento químico dos hidrogênios das espécies, indicando que há interação entre os componentes.

Figura 6 – Representação esquemática do Objetivo 4.



Fonte: autor.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Nesta seção serão discutidas detalhadamente algumas referências encontradas na literatura que estão diretamente relacionadas com os estudos realizados neste trabalho. Essas referências representam apenas parte do material que é encontrado na literatura a respeito do tema em questão. Dessa forma, essa revisão contempla: (i) microemulsões e nanoemulsões, (ii) efeitos do ultrassom nas propriedades das emulsões, (iii) líquidos iônicos como emulsificantes e/ou auxiliares na solubilização de fármacos e (iv) emulsões contendo o fármaco Fluconazol.

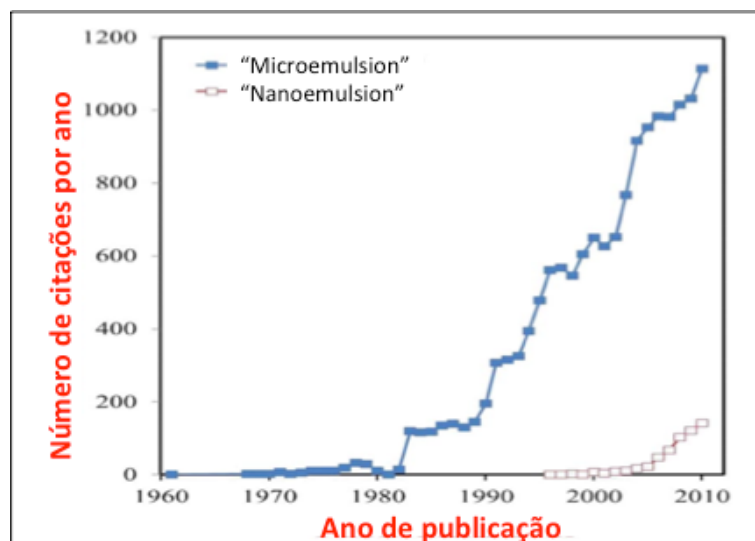
2.1 EMULSÕES

A mistura de água (A), óleo (O) e surfactante (S) pode formar diferentes sistemas dependendo da sua composição e das condições ambientais (temperatura principalmente). As misturas podem formar uma, duas, três ou mais fases separadas que estão em equilíbrio umas com as outras. Essas fases podem ser contínuas em água, contínuas em óleo ou bi contínuas, dependendo da concentração, da natureza e do arranjo das moléculas presentes. As estruturas dentro destas fases podem ser esféricas (por exemplo, micelas ou micelas inversas), semelhantes a cilindros (tais como micelas de bastão ou micelas inversas), semelhantes a um plano (por exemplo, estruturas lamelares) ou esponjosas (por exemplo, bi contínua) determinadas pelo fator de empacotamento.(MCCLEMENTS, 2012)

O termo microemulsão é usualmente utilizado para se referir a líquidos termodinamicamente estáveis formados por uma mistura de óleo, água e surfactante. Já o termo nanoemulsão é utilizado para se referir a líquidos termodinamicamente instáveis formados pelos mesmos produtos das microemulsões. Uma razão importante para a confusão entre microemulsões e nanoemulsões é devido aos prefixos usados para denotá-los. O termo “micro” refere-se geralmente a algo com tamanho 10^{-6} e “nano” algo com o tamanho 10^{-9} , o que implicaria que as nanoemulsões possuem um tamanho de partícula menor que as microemulsões. Na prática, o oposto é verdadeiro, com as microemulsões possuindo partículas menores que as nanoemulsões.(WENNERSTRÖM; BALOGH; OLSSON, 2006) A razão para essa confusão pode ser explicada pelo desenvolvimento histórico da ciência coloidal. Em outubro de 2011, uma pesquisa bibliográfica online que utilizou “*Web of Knowledge*” (Thomson Reuters) revelou que o primeiro artigo publicado na base de dados que utilizou o termo “microemulsão” foi publicado em 1961 o primeiro artigo usando o termo

"nanoemulsão" apareceu em 1996. Assim, o termo "microemulsão" tornou-se bem estabelecido entre pesquisadores no campo da ciência colóide bem antes que o termo "nanoemulsão" fosse introduzido. De fato, a utilização do termo "nanoemulsão" só se tornou popular nos últimos 10 anos (Figura 7).

Figura 7 – Número de citações por ano em função do ano dos termos “microemulsão” e “nanoemulsão”.

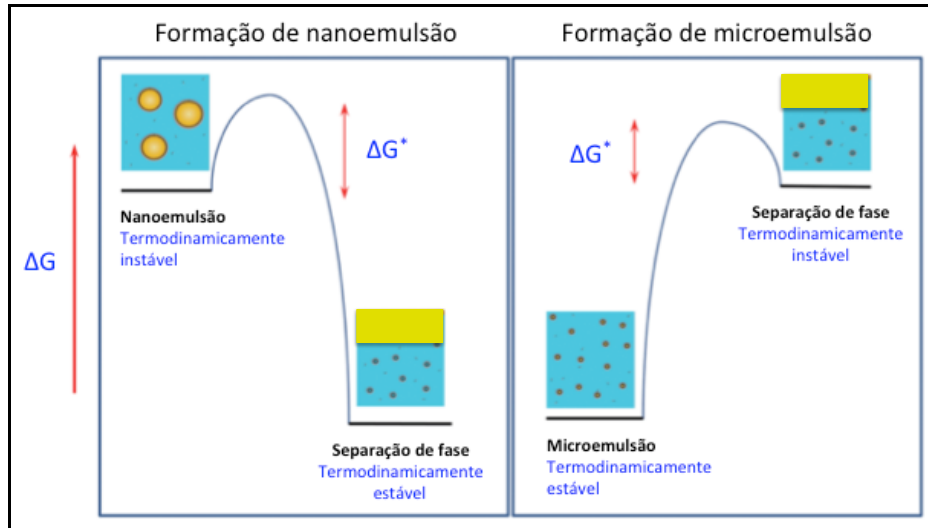


Fonte: Adaptado de (MCCLEMENTS, 2012).

Porém, há outras propriedades que distinguem nano e microssistemas além do tamanho, entre os quais estão as propriedades óticas e a estabilidade gravitacional. No âmbito das propriedades óticas, sugere-se que uma dispersão coloidal tende a tornar-se translúcida ou transparente quando o raio da partícula cai abaixo de cerca de 30 nm. Já a estabilidade de uma dispersão coloidal por separação gravitacional (*creaming* ou sedimentação) tende a aumentar apreciavelmente quando o raio da partícula cai abaixo de cerca de 90 nm, desde então o movimento browniano domina as forças gravitacionais.(MCCLEMENTS, 2012; MCCLEMENTS; RAO, 2011)

Além desses fatores citados, nano e microemulsões também diferem em suas estabilidades termodinâmicas. Para uma nanoemulsão, a energia livre da dispersão coloidal (gotículas na água) é maior que a energia livre das fases separadas (óleo e água), o que significa que uma nanoemulsão é termodinamicamente instável (Figura 8). O contrário é observado para as microemulsões, as quais são termodinamicamente estáveis, pois a energia livre da dispersão coloidal (gotículas na água) é menor que a energia livre das fases separadas (óleo e água) (Figura 3). (MCCLEMENTS, 2012).

Figura 8 – Estabilidade termodinâmica das nano e microemulsões.



Fonte: Adaptado de (MCCLEMENTS, 2012).

A diferença na estabilidade termodinâmica pode ser compreendida através do desenvolvimento de um modelo matemático que descreve os fenômenos envolvidos e que é usado para calcular a energia livre de formação a partir dos componentes separados. Considere um sistema que existe em equilíbrio entre uma dispersão coloidal (nanoemulsão ou microemulsão) e as fases separadas (óleo e uma solução aquosa de surfactante). Para uma primeira aproximação, a mudança de energia livre associada à formação de uma dispersão coloidal a partir das fases separadas consiste em um termo de energia livre interfacial (ΔG_i) e um termo de entropia de configuração ($-T\Delta S_{config.}$). Essa primeira aproximação está descrita na Equação 1. (HUNTER, 2001)

$$\Delta G_{form.} = \Delta G_i - T\Delta S_{config} \quad (1)$$

À temperatura e pressão constantes, o termo de energia livre interfacial (ΔG_i) é igual ao aumento da área de contato entre as fases oleosa e aquosa (ΔA) multiplicada pela tensão interfacial (γ) na interface óleo-água. Essa relação está representada na Equação 2. (HUNTER, 2001)

$$\Delta G_i = \gamma \Delta A \quad (2)$$

O termo de energia livre interfacial é sempre positivo porque o aumento na área de contato e a tensão interfacial são positivos. Por isso, este termo sempre se opõe à formação de

dispersões coloidais, uma vez que para que o processo seja espontâneo, o ΔG_{form} deve apresentar um valor negativo.

O termo de entropia de configuração ΔS_{config} refere-se ao número de maneiras diferentes que a fase oleosa pode ser organizada dentro do sistema. Esse termo sempre é positivo, uma vez que o número de arranjos acessíveis a fase oleosa é sempre maior no estado emulsionado do que no estado não emulsionado e, por conseguinte, esse termo sempre favorece a formação de dispersões coloidais. A expressão que descreve a entropia de configuração deriva de uma análise estatística do número de arranjos que as gotículas de óleo podem possuir na dispersão coloidal e estados separados (Equação 3). (HUNTER, 2001)

$$\Delta S = -\frac{nk}{\phi} (\phi \ln \phi + (1 - \phi) \ln(1 - \phi)) \quad (3)$$

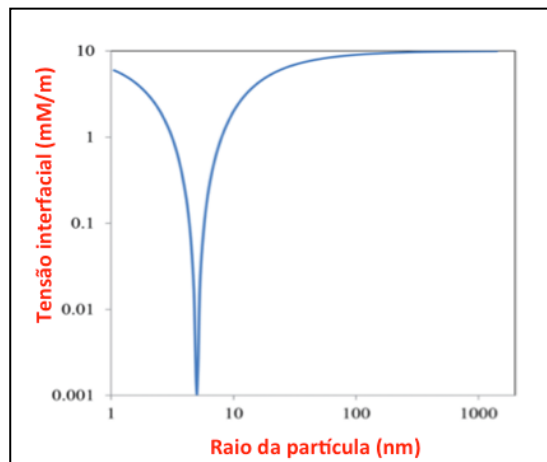
Onde, k é a constante de Boltzmann, n é o número de gotículas na dispersão coloidal e ϕ é a fração volumétrica da fase dispersa. A partir da análise da equação acima é possível observar que quanto maior for o número de gotículas na dispersão coloidal (n), maior será o valor de ΔS e conseqüentemente mais negativo será o valor de ΔG_{form} (processo espontâneo).

As discussões relatadas acima consideram que a tensão interfacial de uma monocamada de surfactante em torno de uma gota de óleo é a mesma que a de uma interface óleo-água planar. Porém, sabe-se que a tensão interfacial de uma micela em contato com o meio depende do raio de curvatura da monocamada de surfactante. A tensão interfacial de uma micela diminui na medida em que a monocamada se aproxima de sua curvatura ideal. A dependência da tensão interfacial na curvatura da gota está representada na Equação 4. (HUNTER, 2001)

$$\gamma = \gamma_0 + (\gamma_\infty - \gamma_0) \frac{(R_0 - R)^2}{R_0^2 + R^2} \quad (4)$$

Na equação acima, γ_∞ é a tensão interfacial em uma interface óleo-água planar, γ_0 é a tensão interfacial (ultrabaixa) quando a monocamada de surfactante está em sua curvatura ideal e R_0 é o raio da gotícula quando a monocamada de surfactante está em sua curvatura ideal. Existe um valor mínimo de tensão interfacial em que o raio de curvatura é ótimo (Figura 9). Quando o raio de curvatura ótimo é atingido, a energia livre interfacial (ΔG_i) é mínima, uma vez que esse termo é diretamente proporcional a tensão interfacial (Equação 2) e, portanto, menor é a energia livre de formação ($\Delta G_{form.}$) (Equação 1).

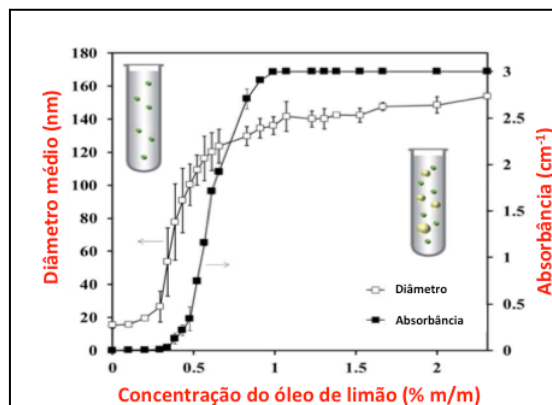
Figura 9 - Influência do raio de gotas na tensão interfacial para uma monocamada de surfactante que possui um raio de partícula ideal de 5 nm.



Fonte: Adaptado de (McClements, 2012).

Basicamente as nano e microemulsões requerem os mesmos componentes para serem formadas: uma fase oleosa, uma fase aquosa, um agente tensoativo e, possivelmente, um co-surfactante. No entanto, pode-se direcionar a formação de um micro ou nano utilizando diferentes proporções desses componentes. Normalmente, quando a quantidade de óleo (fase oleosa) é aumentada gradativamente, há o aumento concomitante do tamanho das partículas. (KABALNOV; WENNERSTRÖM, 1996) Esse fato é demonstrado na Figura 10, em que óleo de limão é titulado em uma solução contendo surfactante. (HUNTER, 2001)

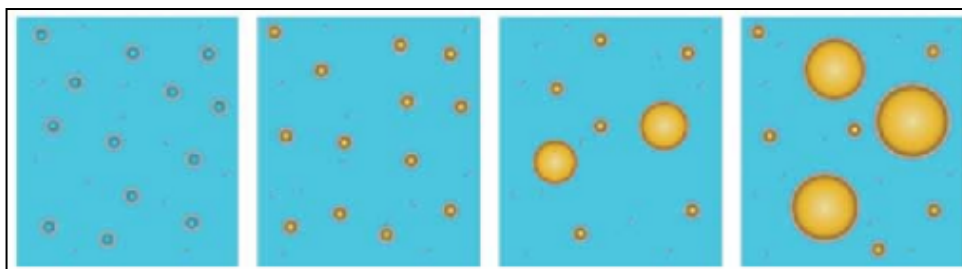
Figura 10 – Gráfico do tamanho de partícula em função da concentração de óleo de limão em uma solução de surfactante não iônico a 1% em peso (Tween 80).



Fonte: Adaptado de (McClements, 2012)

Abaixo, é demonstrado como ocorre o aumento dessas partículas em solução conforme aumenta a quantidade de óleo adicionada (Figura 11). É importante destacar que o aumento contínuo da quantidade de óleo no sistema, poderá acarretar em mudanças na estrutura das partículas do sistema.

Figura 11 - Representação do aumento do tamanho das partículas com o aumento da concentração de óleo.



Fonte: Adaptado de (McClements, 2012)

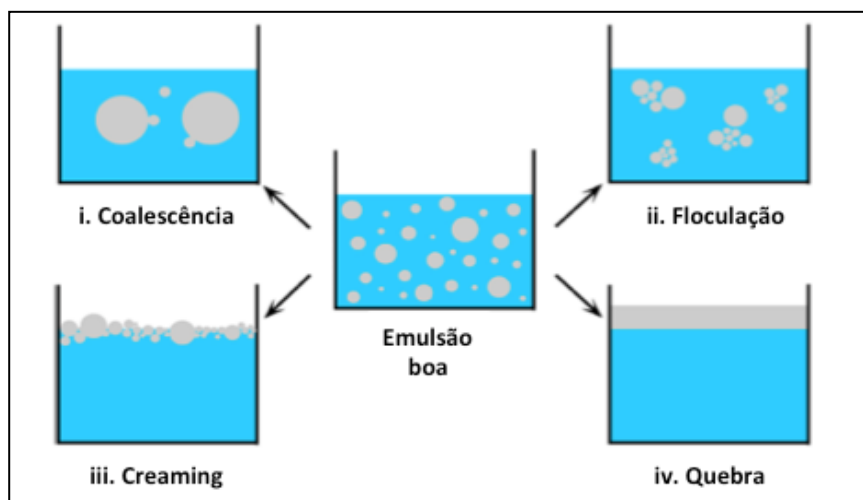
Há uma concentração máxima de óleo que pode ser incorporada em um surfactante, essa concentração é conhecida como concentração de saturação C_{sat} . A quantidade máxima de óleo que pode ser incorporada nas micelas (C_{sat}) é relacionada linearmente com a concentração total de surfactante (C_{tot}) (KOMURA, 2007):

$$C_{sat} = C_{sat}^* \times (C_{tot} - CMC) \quad (5)$$

Nessa expressão, C_{sat}^* é número de gramas de óleo solubilizado por grama de surfactante e CMC é a concentração micelar crítica do surfactante. Se a quantidade total de óleo presente no sistema estiver abaixo do valor de C_{sat} , então todas as moléculas de óleo serão solubilizadas e uma microemulsão será formada. Por outro lado, se a quantidade total de óleo presente no sistema estiver acima do valor de C_{sat} , então quaisquer quantidades de óleo adicionadas permanecerá intacta no sistema e não será emulsionada por quaisquer moléculas de surfactante.

Um parâmetro muito importante que deve ser avaliado na produção de emulsão é a sua estabilidade; entretanto, a avaliação da estabilidade da emulsão não é fácil. (SONG et al., 2002) A perda da estabilidade da emulsão pode ser classificada em quatro fenômenos: Floculação, *creaming*, coalescência e quebra, como mostrado na Figura 12. (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993)

Figura 12 - Processos químicos e físicos decorrentes da instabilidade da emulsão.



Fonte: Adaptado de (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993).

A floculação é a associação de pequenas partículas de emulsão para formar um agregado grande que é redispersável por agitação. É um processo reversível no qual as gotículas permanecem intactas. A floculação é considerada o precursor da coalescência.(BANKER; SIEPMANN; RHODES, 2002) Isso ocorre porque a presença de excesso de surfactante na fase contínua de uma emulsão pode levar à floculação de gotículas de emulsão.

Creaming é o fenômeno no qual a fase dispersa se separa, formando uma camada no topo da fase contínua. É notável que, na formação de creme, a fase dispersa permaneça no estado de glóbulos, de modo que possa ser redispersa na agitação. O fenômeno de *creaming* pode ser minimizado se a viscosidade da fase contínua for aumentada.(MARRIOTT et al., 2006)

Um tipo mais sutil de instabilidade de emulsão, a coalescência, ocorre quando a barreira mecânica ou elétrica é insuficiente para evitar a formação de gotículas progressivamente maiores.(BANKER; SIEPMANN; RHODES, 2002) A estabilização contra a coalescência pode ser obtida pela adição de componentes de alto ponto de ebulição ou de alto peso molecular à fase contínua.

Métodos analíticos apropriados são usados para a detecção, identificação e caracterização de sistemas emulsionados e esses métodos são essenciais para a compreensão dos benefícios, bem como a potencial toxicidade destes sistemas.(LUYKX et al., 2005, 2008) Nesse sentido, já foi demonstrado que LIs com cadeia alquílica longa e ânions brometo são

tóxicos em concentrações mais baixas para os vermes da espécie *C. elegans*.(WU et al., 2013) Algumas técnicas analíticas podem ser usadas para identificação *in situ* de nanoemulsões. Porém, algumas vezes é necessário que os constituintes da emulsão sejam identificados e para que isso seja possível, é necessário que esses constituintes sejam separados.

O tamanho e/ou carga são características típicas de emulsões, portanto o uso de cromatografia de exclusão de tamanho (CET) e/ou cromatografia de troca iônica (CTI) são os tipos mais adequados de cromatografia líquida para a separação de emulsões. No caso da CET, os compostos são separados com base no tamanho; as moléculas maiores eluem mais rápido que as menores. No entanto, a eluição pode ser afetada pelo tamanho do composto. No caso do CTI, os compostos são separados com base na carga; compostos de baixa carga eluem mais rápido que os altamente carregados.(LUYKX et al., 2005, 2008) O Fracionamento de Fluxo de Campo (FFC) é uma técnica para a separação onde um campo é aplicado a uma suspensão ou solução fluida bombeada através de um canal longo e estreito, perpendicular à direção do fluxo. As partículas são submetidas a uma força exercida por um campo e são separadas de acordo com suas diferentes mobilidades. Essa técnica é usada na separação de analitos de macromoléculas e de partículas de tamanho micrométrico. A FFC tem vantagens sobre outras técnicas de separação, como maior biocompatibilidade, redução do transporte de amostras e problemas simples de esterilidade. Os tempos de separação variam tipicamente de alguns minutos a 30 minutos. Apesar destas vantagens, a FFC tem a desvantagem de ser facilmente saturado por concentrações mais elevadas dos compostos. Para superar isso, as diluições devem ser feitas. No entanto, a detecção de quantidades vestigiais de compostos é limitada pela sensibilidade apropriada do sistema detector.(LUYKX et al., 2005, 2008)

As emulsões podem ser preparadas por duas classes de métodos: os de baixa e alta energia. Dentre os métodos de baixa energia, pode-se citar: *i*) a emulsificação de membrana, a qual envolve a formação de uma fase dispersa (gotículas) através de uma membrana em uma fase contínua; *ii*) emulsificação espontânea, a qual ocorre quando uma fase orgânica e uma fase aquosa são misturadas, com a fase orgânica sendo uma solução homogênea de óleo, surfactante lipofílico e solvente miscível em água, e a fase aquosa consistindo de água e surfactante hidrofílico; *iii*) emulsificação com inversão de fase, a qual usa a capacidade específica dos surfactantes (não iônicos) de alterar suas afinidades com a água e o óleo em função da temperatura em uma composição fixa. Consiste em quebrar repentinamente as microemulsões mantidas no ponto de inversão de fase por um resfriamento rápido ou por uma diluição em água ou óleo. Dentre os métodos de alta energia, pode-se citar: *i*)

Homogeneização de alta pressão, em que a mistura está sujeita a pressões muito altas e é bombeada através de uma válvula restritiva; *ii*) Ultrassom, processo em que dois líquidos imiscíveis são submetidos a ondas sonoras de alta frequência na presença de um surfactante, gotículas de emulsão são formadas por cavitação; *iii*) Dispositivos de alta velocidade (como Ultra-Turrax), nesse método a maior parte da energia fornecida sendo dissipada, gerando calor. Quando comparados com outras abordagens de alta energia, não fornecem uma boa dispersão em termos de tamanhos de gotas.(SILVA; CERQUEIRA; VICENTE, 2012)

2.1.1 Estabilidade das emulsões

2.1.1.1 Observação visual

A estabilidade da emulsão afeta a aparência dos produtos e, na maioria das vezes, a instabilidade da emulsão pode ser observada diretamente a olho nu. Nesse sentido, a observação visual é provavelmente o método mais simples, barato e rápido para avaliar a separação gravitacional da emulsão sem instrumentos analíticos caros (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006). A separação gravitacional pode ser classificada em dois mecanismos: cremosidade e sedimentação (MCCLEMENTS, 2015). A cremosidade ocorre quando a fase dispersa que possui uma densidade menor do que a fase contínua se move para cima e resulta em uma camada espessa separada. Por outro lado, a sedimentação ocorre se a fase dispersa tem uma densidade maior do que a fase contínua, fazendo com que as gotas se movam para baixo. A extensão da formação de creme ou sedimentação pode ser avaliada observando-se a espessura da camada de creme ou sedimentação a olho nu e, em seguida, sendo medida e registrada por instrumentos. No entanto, a observação visual, apesar de sua conveniência, não é adequada para estudar outros fenômenos de instabilidade, como floculação, coalescência e amadurecimento de Ostwald. Mais frequentemente, a camada de creme só é observada quando a extensão da creme é considerável. Assim, o estágio inicial de estabilidade da emulsão geralmente requer o auxílio de outros instrumentos analíticos para fazer uma observação precisa.(HU et al., 2016)

2.1.1.2 Observação por microscopia

Como a observação visual não é suficientemente capaz de estudar a maioria dos mecanismos de instabilidade, bem como as gotículas menores que 100 nm, (RUSS, 2004) a microscopia é usada para observar as gotículas que não podem ser vistas a olho nu e para examinar os fatores que influenciam a estabilidade da emulsão sistema. Por exemplo, usando microscopia, pode-se facilmente observar a distribuição e as dimensões das gotículas e, assim, obter informações sobre a causa da instabilidade do sistema de emulsão.

Ou seja, a emulsão não é floculada se as gotículas estiverem homogeneamente distribuídas na imagem com um tamanho relativamente pequeno. Em contraste, uma emulsão floculada pode ser identificada quando as gotas de tamanho igualmente maior se juntam próximas umas das outras, sem se fundir em gotas maiores. No entanto, a emulsão pode passar por coalescência ou maturação de Ostwald se houver gotas pequenas e grandes presentes ao mesmo tempo.

Para atender à necessidade de diferentes exames, vários tipos de microscopias, incluindo microscopia óptica, eletrônica, força atômica e fluorescente confocal, foram desenvolvidos para caracterizar a estabilidade da emulsão. No entanto, a microscopia apresenta várias desvantagens (AGUILERA; STANLEY, 1999): (1) a amostra para observação microscópica geralmente requer procedimentos de preparação, como diluição e espalhamento em lâmina, que podem alterar a estrutura das emulsões originais; (2) as medições de microscopia são frequentemente demoradas; (3) os resultados são subjetivos e difíceis de padronizar entre diferentes laboratórios; e (4) análises múltiplas em diferentes regiões em um único slide de amostra são frequentemente necessárias para dados confiáveis. Conseqüentemente, é ideal combinar informações de outras fontes analíticas, como tamanho de partícula e carga superficial, com a observação de microscopia para perceber os mecanismos de instabilidade corretos.

2.1.1.3 Análise de tamanho de partícula

De acordo com a lei de Stoke (Equação 6), (HUNTER, 2001) o tamanho de partícula da fase dispersa é influente para a estabilidade de um sistema de emulsão, que é composto por dois líquidos imiscíveis com densidade distinta. Nesse sentido, a emulsão com maior

resistência e controle à cremosidade não deve conter apenas partículas de tamanho pequeno, mas também deve ser distribuído homogeneamente com um número relativamente baixo de variações, que é a chamada distribuição de tamanho de partícula (PSD).

$$v_{Stokes} = -2gr^2(\rho_2 - \rho_1)/9\eta_1 \quad (6)$$

Na equação, v_{Stokes} representa a velocidade de formação de creme, r é o raio da partícula, g é a aceleração da gravidade, ρ_1 e ρ_2 são a densidade de duas fases e η é a viscosidade de cisalhamento do sistema alvo. Seguindo a lei de Stoke, a estabilidade da emulsão aumentaria conforme o tamanho da gota diminui. Portanto, a estabilidade das emulsões originais e a extensão da separação por gravitação após um certo intervalo de tempo podem ser estudadas pela determinação do tamanho da gota e sua concentração em diferentes regiões da altura da amostra sob condições especificadas de temperatura e tempo (Figura 2). Nesse sentido, a formação de creme ocorre quando a concentração de gotículas aumenta na região superior da amostra, enquanto a sedimentação ocorre quando as partículas se acumulam na região inferior. Além disso, ao monitorar a mudança no sistema PSD, pode-se também identificar a incidência de interação indesejável de gotículas, que ocasiona o aumento do número de partículas maiores ao longo do tempo. No entanto, ainda é difícil distinguir floculação, coalescência ou amadurecimento de Ostwald simplesmente usando a análise de tamanho de partícula. Assim, outros métodos analíticos são geralmente realizados em combinação ao determinar a mudança na qualidade da amostra durante o armazenamento. (HU et al., 2016)

Existem muitas técnicas instrumentais de dimensionamento de partículas (Figura 3), incluindo espalhamento de luz (espalhamento de luz estático ou dinâmico), contagem de pulsos elétricos e espectrometria ultrassônica, que são comumente usados [1]. Esses instrumentos têm várias vantagens: (1) são fáceis de usar; (2) são totalmente automatizados; e (3) fornecem informações substanciais sobre o tamanho da gota em um curto período. Mesmo assim, os fatores usados para converter os dados experimentais para PSD devem ser escolhidos com cuidado porque diferentes instrumentos são operados sob princípios físicos distintos. (HU et al., 2016)

O método de espalhamento de luz mede a concentração e o tamanho das gotas detectando a porcentagem e o ângulo da luz retroespalhada quando um feixe monocromático

de luz infravermelha próxima é direcionado através da amostra. (CHU, 1974) Como uma porcentagem maior de luz retroespalhada indica maior concentração, o tamanho da partícula é geralmente angular dependente de onde seu padrão de espalhamento (número de ângulos de espalhamento vs. intensidade correspondente) pode fornecer informações sobre sua distribuição de tamanho. Com base nas diferenças no princípio de operação, dois tipos de instrumentos de espalhamento de luz estão disponíveis comercialmente para medir o tamanho das partículas: instrumento de espalhamento de luz estático e dinâmico.

2.1.1.3 Reologia

De acordo com a lei de Stoke, (HUNTER, 2001) a resistência do sistema de emulsão às instabilidades causadas pela floculação de partículas é maior quando a viscosidade aumenta. Assim, as propriedades de fluxo das emulsões, também conhecidas como comportamentos reológicos, são atributos físicos necessários que afetam significativamente a qualidade desses produtos. Para um melhor controle do produto, muitos instrumentos analíticos, incluindo dispositivos de cisalhamento e compressão, são desenvolvidos para monitorar e caracterizar o comportamento reológico de um sistema de emulsão.(TADROS, 2004) Além de desempenhar um papel importante na estabilidade do produto, as características reológicas também são fatores importantes ao avaliar a eficiência da mistura, consumo de energia, classificações da bomba, etc. e, portanto, fornecem soluções para alguns problemas técnicos encontrados durante a fabricação.

Fatores que podem afetar as propriedades reológicas das emulsões incluem viscosidade e composição química (pH, concentração de eletrólito, etc.) da fase contínua, fração de volume da fase dispersa, características das gotas (distribuição de tamanho, deformabilidade, viscosidade interna, concentração e interação partícula-partícula) e elasticidade do filme emulsificante, que depende da concentração e do tipo de emulsificante usado. As propriedades de fluxo das emulsões podem ser descritas e especificadas por muitos módulos.(TADROS, 2004) Por exemplo, propriedades viscoelásticas lineares são comumente caracterizadas por armazenamento dependente da frequência e módulos de perda, bem como módulos de fluência dependentes do tempo. A viscosidade de cisalhamento, uma propriedade não linear de estado estacionário, é considerada um efeito de Weissenberg. Além disso, os efeitos de diferentes parâmetros na reologia das emulsões podem ser investigados e previstos com base na equação microestrutura / viscosidade de Krieger-Dougherty.

Um reômetro, ou viscosímetro, é um instrumento importante para medir as propriedades reológicas das emulsões. Dependendo dos conceitos e aplicações, reômetros aplicando força de deformação de cisalhamento ou compressão podem ser projetados para estudar líquidos, sólidos ou outras amostras viscoelásticas, fornecendo informações sobre viscosidade, tensão de escoamento, módulo de elasticidade e comportamento de fratura. Dispositivos de cisalhamento, como viscosímetros de cisalhamento e reômetros de cisalhamento dinâmico, são mais adequados para amostras que são fluidas e emulsões viscoelásticas fluidas, enquanto dispositivos de compressão são melhores para testar emulsões viscoelásticas, de plástico ou sólidas. (HU et al., 2016)

Como o comportamento reológico depende altamente da temperatura do produto, o dispositivo de cisalhamento que fornece informações sobre a relação entre tensão e deformação geralmente inclui uma célula de medição com temperatura controlada [28], na qual a amostra é colocada e então sujeita à tensão de cisalhamento controlada sendo aplicada em um taxa predeterminada. De acordo com as necessidades da aplicação, as células de medição podem ser divididas em diferentes tipos: cilindro concêntrico, placa paralela, cone e palheta. Para as aplicações atuais, os dispositivos de cisalhamento são mais frequentemente usados para estudar o módulo de elasticidade, tensão de escoamento, tensão de fratura e deformação de fratura de amostras sólidas; a viscosidade aparente de um fluido em tensão constante; e o módulo de cisalhamento dinâmico complexo de uma amostra sólida, fluida ou viscoelástica sob tensão sinusoidal. (HU et al., 2016)

Dispositivos de compressão são comumente usados para analisar alimentos sólidos ou semissólidos, como géis alimentares, manteiga, margarina e sorvete. Dispositivos incluindo reômetros capilares, reômetros rotacionais, reômetros de bola caindo, reômetros oscilatórios, reômetros de torque e reômetros interfaciais, são os tipos comercialmente disponíveis de reômetros que utilizam força de compressão para análise de amostras. Dispositivos de compressão incluem uma placa fixa onde as amostras podem ser colocadas e uma sonda verticalmente móvel, que pode ser uma placa plana, espigão, lâmina ou um conjunto de dentes. De acordo com as dimensões das amostras e a força aplicada pelos instrumentos, os dispositivos de compressão analisam a tensão e a deformação que as amostras recebem e depois as convertem em informações numéricas, como módulo de elasticidade, tensão de fratura, deformação de fratura e tensão de escoamento. No entanto, deve-se notar que erros podem ocorrer durante a mineração de dados porque o atrito entre as placas fixas e a amostra analisada também pode gerar forças de cisalhamento e compressão. (FISCHER; WINDHAB,

2011) Portanto, o controle da condição de medição e o procedimento de calibração devem ser realizados com cuidado.

2.1.2 Aspecto das emulsões e morfologia

A emulsificação dá aos produtos alimentícios a aparência característica e as propriedades sensoriais que influenciam significativamente a percepção do consumidor de tais produtos. Como a sensação humana é complexa, os processadores de alimentos geralmente requerem padrões numéricos para um melhor controle de qualidade. Além disso, os padrões de qualidade tornam-se ainda mais importantes quando os fabricantes desenvolvem novas formulações de produtos ou adaptam procedimentos de processamento inovadores.(HU et al., 2016)

2.1.2.1 Aparência

O surgimento da emulsão alimentar depende de suas interações, como espalhar, absorver, refletir e transmitir, com as ondas de luz na região visível do espectro eletromagnético. Quando um feixe de luz irradia na superfície da emulsão, a maior parte da luz é transmitida para o sistema de emulsão com uma parte dela sendo espalhada por partículas de emulsão e uma parte sendo absorvida por cromóforos na fase contínua ou na fase dispersa. A quantidade de luz sendo espalhada determina principalmente a leveza da emulsão, que pode ser percebida como turbidez, nebulosidade e opacidade. Em contraste, a fração e o comprimento de onda da luz sendo absorvida pelo sistema decidem a cor da emulsão, como azul, verde, vermelho ou amarelo.(WYSZECKI G, STILES, 1982) De acordo com os aspectos acima mencionados, a combinação de leveza, turbidez e cor juntas constituem a maior parte da aparência do produto de emulsão. Assim, há métodos usados para avaliar a turbidez, leveza e cor da emulsão.

2.1.2.2 Microscopia

A morfologia, microestrutura da emulsão, não pode ser observada a olho nu, uma vez que é menor que 100 μm .(RUSS, 2004) Portanto, vários tipos de microscópios são usados para observar e obter informações estruturais na superfície e no interior da emulsão. Mesmo

que a emulsão simples seja uma mistura de dois líquidos imiscíveis, tais sistemas são comumente alterados para conter vários recursos que servem funções específicas, incluindo estabilizar, encapsular, proteger e controlar a cinética de liberação e aumentar a absorção de componentes alimentares. Nesse sentido, vários tipos de sistemas de emulsão, tais como emulsão nanométrica, emulsão sólida de lipídios, emulsão autoemulsionante, emulsão camada por camada, emulsão resistente ao inchaço, emulsão em gel e emulsão responsiva ao pH, são desenvolvidos para várias aplicações. O estudo da estrutura da emulsão usando técnicas microscópicas é especialmente usado para obter informações diretas e confiáveis. Além disso, a observação microscópica também pode fornecer informações úteis sobre a distribuição do tamanho das partículas da emulsão e a progressão da instabilidade.(HU et al., 2016)

A microscopia óptica é o tipo de microscopia mais amplamente usado para caracterizar microestruturas de emulsão porque é relativamente barato, fácil de operar e está disponível na maioria das instalações de pesquisa. Na maioria das vezes, o microscópio óptico é ligado a uma câmera digital para captar imagens da microestrutura da emulsão, que posteriormente são armazenadas e posteriormente analisadas por um computador. O microscópio óptico pode ser a primeira ferramenta de triagem a obter informações sobre as formas e o tamanho das gotículas de emulsão. No entanto, os microscópios ópticos têm muitas limitações quando usados na ciência da emulsão. Por exemplo, a maioria das imagens ópticas da microestrutura da emulsão requerem a preparação de amostras planas e, na maioria das vezes, mostram apenas as gotas esféricas e, portanto, faltam muitas informações úteis. Com o nível de resolução, é difícil distinguir as composições do sistema de emulsão - se ele é feito de proteínas, polissacarídeos ou outras pequenas moléculas anfifílicas. Informações detalhadas sobre o estado físico da fase dispersa e suas microestruturas tridimensionais, como cristais de gordura, bolhas de ar e cristais de gelo, também são limitadas quando apenas o microscópio óptico é usado para análise. Além disso, o contraste entre os diferentes componentes das emulsões costuma ser pobre, porque eles têm índices de refração semelhantes, o que torna difícil distinguir um do outro.(MURPHY, 2002)

Para superar esses problemas, o microscópio óptico é geralmente combinado com técnicas adicionais de preparação de amostras. Muitas manchas e corantes que absorvem luz na região visível do espectro eletromagnético são geralmente adicionados a componentes específicos ou dissolvidos na fase oleosa ou na fase aquosa da emulsão antes que as amostras sejam submetidas à observação do microscópio óptico. A inclusão de um procedimento de coloração antes da observação permite que os componentes de interesse se destaquem do

resto do sistema de emulsão sendo destacados e estudados de forma eficiente. No entanto, atenção especial deve ser dada na seleção do corante, pois alguns corantes podem interagir com o material de composição e alterar a microestrutura da emulsão.(MURPHY, 2002)

A microscopia eletrônica (EM) é uma das ferramentas mais poderosas usadas para investigar a morfologia e a microestrutura das emulsões. Existem dois tipos de microscópio eletrônico: microscópio eletrônico de transmissão (TEM) e microscópio eletrônico de varredura (MEV). TEM resultados imagens de alta resolução ao direcionar um feixe de elétrons para o espécime, no qual o elétron é transmitido e interação com uma molécula contida [41]. Com o TEM, o investigador pode examinar os detalhes finos da microestrutura, estado cristalino e projeção da amostra. Para uma transmitância de elétrons mais eficiente, a espessura da usada para TEM deve ser ultrafina, geralmente <200 nm. Ao contrário do TEM, que depende da transmissão de elétrons através do espécime, o SEM é usado para escanear o específica com um feixe de elétrons focado que interage com os átomos na amostra e então produz imagens da amostra, obtendo informações sobre a topografia e composição de sua superfície.(WILLIAMS; CARTER, 1996) Como os elétrons não precisam ser transmitidos fisicamente através da amostra, a espessura da amostra geralmente não é estritamente comum e a tensão de aceleração dos elétrons também pode ser muito menor do que no TEM. Embora o EM possa fornecer uma estrutura tridimensional da superfície e uma microestrutura detalhada (<5 nm) da amostra, uma preparação da amostra é demorada e pode alterar a estrutura se o procedimento pré-experimento adequado não para seguido.(WILLIAMS; CARTER, 1996)

2.1.2.3 Espectros de absorvância e turbidez e refletância espectral

A capacidade de absorver e espalhar a luz são os dois fatores mais críticos que determinam a turbidez da emulsão, que influencia diretamente a aparência da emulsão. Portanto, os pesquisadores geralmente estudam os espectros de absorvância e turbidez de sistemas de emulação e relacionam os dados com sua aparência perceptível. O espectrofotômetro UV visível é mais frequentemente usado para detectar o nível de absorvância e turbidez da emulsão. Para conduzir a análise, uma amostra é colocada em uma cubeta de quartzo de 1 cm de largura, onde a onda eletromagnética na região visível (380e780 nm) faria uma varredura completa da amostra de emulsão. Uma vez que a varredura é concluída, os espectros de absorvância e turbidez dos valores medidos são corrigidos usando

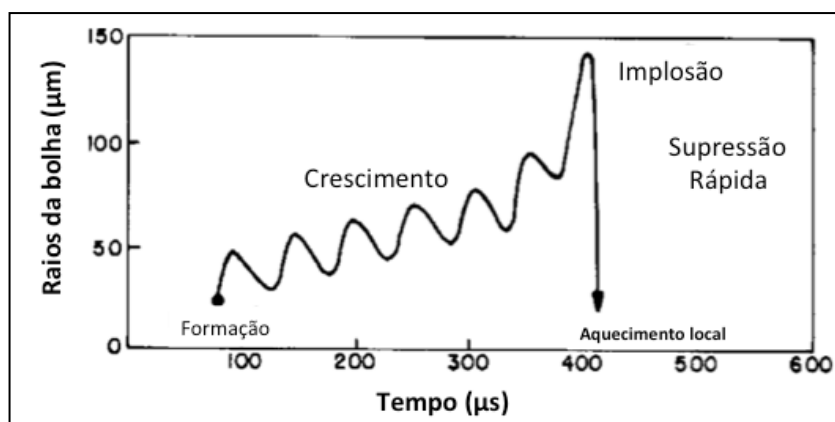
o valor para água destilada, que é definida como o líquido mais transmissível. Quanto à refletância espectral, a amostra é medida usando o espectrofotômetro UV-visível com uma esfera integradora anexada, e o valor é corrigido em relação a uma placa branca padrão feita de sulfato de bário (BaSO_4). (CHANTRAPORNCHAI; CLYDESDALE; MCCLEMENTS, 2001) Este método é popular e padronizado entre os pesquisadores da área. Assim, os dados obtidos a partir de tal análise são comparáveis em diferentes instalações de pesquisa.

2.2. USO DE ULTRASSOM NO PREPARO DE EMULSÕES

Quando ondas ultrassônicas interagem com a matéria, podem ocorrer transformações físicas e químicas. Por conseguinte, é importante conhecer o fenômeno do ultrassom nessas transformações.

Ondas de ultrassom com frequência na faixa de 16 kHz a 1 MHz provocam o fenômeno de cavitação acústica no meio, o qual é um processo baseado na criação, aumento e implosão de bolhas de vapor ou gases, gerando energia e ativando processos químicos e físicos. (MARTINES et al., 2000) Para que haja propagação das ondas ultrassônicas é necessário que o meio de propagação tenha propriedades elásticas. Então, o movimento de um corpo vibrando é transmitido às moléculas adjacentes, as quais, antes de retornarem à posição de equilíbrio, transmitem esse movimento para as moléculas que estão ao redor. (SUSLICK, 1989) O processo de cavitação está demonstrado na Figura 13.

Figura 13 – Representação do crescimento e implosão de uma bolha em um líquido irradiado com ultrassom (cavitação).



Fonte: Adaptado de (Suslick, 1989).

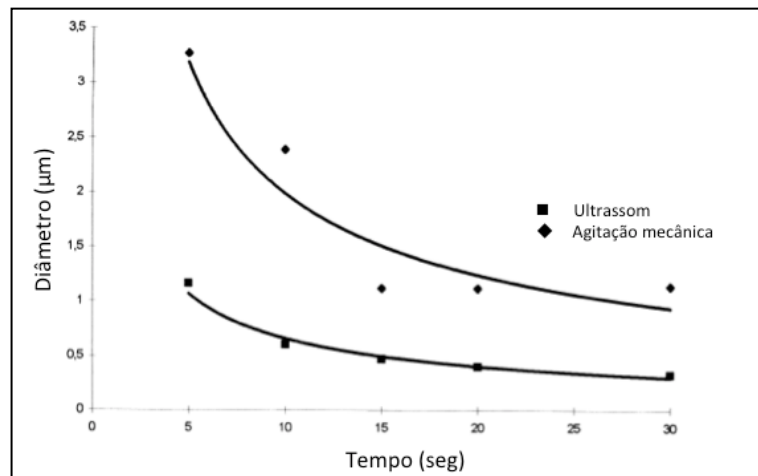
Por ser um mecanismo que produz muita energia, o ultrassom é usado para diferentes aplicações, dentre as quais pode-se citar: limpeza de materiais, solda de plásticos, processos químicos (síntese), preparação de emulsão e suspensão e degaseificação de solventes. (SUSLICK, 1989)

O processo de emulsificação por ultrassom foi relatado pela primeira vez por Wood e Loomis (1927).(WOOD; LOOMIS, 1927) A primeira patente foi concedida em 1944 na Suíça. Desde então, muitos cientistas e indústrias usaram diferentes tipos de dispositivos de ultrassom para formar emulsões. Beal e Skauen (1955) estudaram a influência do tempo de exposição da amostra ao ultrassom e verificaram a qualidade da emulsão.(BEAL; SKAUEN, 1955) Higgins e Skauen (1972) observaram que, em geral, para tempos de exposição curtos, o uso de potência mais alta produz uma área superficial específica mais alta, mas parece existir uma quantidade ótima de energia para produzir uma área interfacial máxima.(HIGGINS; SKAUEN, 1972) Descobriu-se que o ultrassom produz uma emulsão de óleo em água com tamanhos de partícula muito pequenos, mais estáveis do que os preparados, por exemplo por métodos de baixa energia ou outros dispositivos mecânicos. As emulsões mais estáveis possuíam níveis de concentração ótimos de surfactante, ótimo balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) e foram preparadas em métodos de alta energia (como ultrassom, por exemplo).(HIGGINS; SKAUEN, 1972)

Abismaïl e col. (1999) realizaram um estudo sistemático comparando o desempenho da energia ultrassônica com o da agitação mecânica clássica, mantendo todos os outros parâmetros inalterados. Os autores avaliaram as alterações no tamanho médio das gotículas, bem como a distribuição de tamanho e a estabilidade da emulsão. Neste trabalho foram preparadas emulsões no ultrassom e no método de agitação mecânica e os parâmetros estudados foram o tempo de emulsificação, a concentração de surfactante, a potência fornecida e a fração volumétrica de óleo. As emulsões preparadas pelos autores eram constituídas de querosene e Tween 60 na fase oleosa e a fase aquosa, apenas água.(ABISMAÏL et al., 1999)

Os autores observaram que o tamanho das partículas da emulsão diminui com o tempo de exposição da emulsão ao ultrassom, mas a influência mais severa é observada durante os primeiros 15 s. Após 30 s, as inclinações das curvas presentes na Figura 14 aproximam-se de zero. De qualquer forma, a técnica de ultrassom sempre fornece tamanhos de gotas menores e, após 30 s, o diâmetro é três vezes menor com ultrassom do que com agitação mecânica.

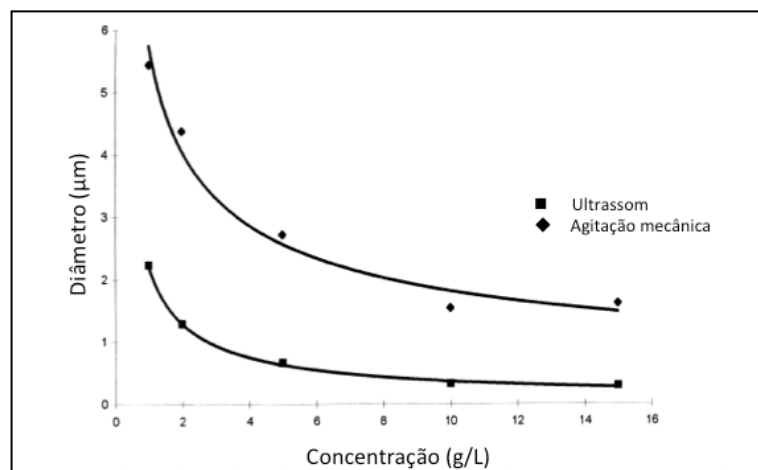
Figura 14 – Variação no diâmetro de partícula em função do tempo de exposição da emulsão ao método de agitação mecânica e ultrassom.



Fonte: Adaptado de Abismail et. al. (1999).

A influência da concentração de surfactante no tamanho das partículas também foi avaliada. Para esse experimento, houve a variação na concentração de surfactante enquanto os demais parâmetros foram mantidos fixos. Foi observado que o tamanho das partículas diminuiu com o aumento da concentração de surfactante. Esse resultado é esperado, uma vez que a quantidade de surfactante disponível para formar uma monocamada adsorvida sobre as gotículas de emulsão controla a área de superfície interfacial produzida. Na baixa concentração de surfactante, a interface temporária não é completamente coberta, portanto, as gotas se aglutinam e dão origem a valores mais altos de diâmetro de partícula (Fig. 15).

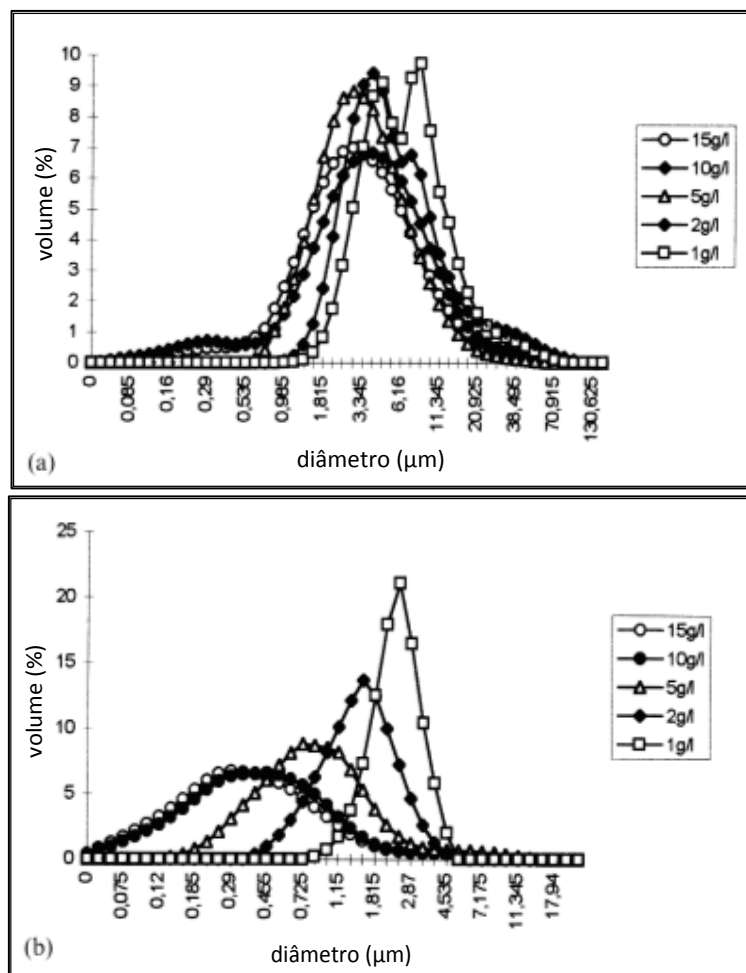
Figura 15 – Variação no diâmetro de partícula em função da concentração do surfactante. Emulsões preparadas pelo tamanho pelo método de agitação mecânica e ultrassom.



Fonte: Adaptado de Abismail et. al. (1999).

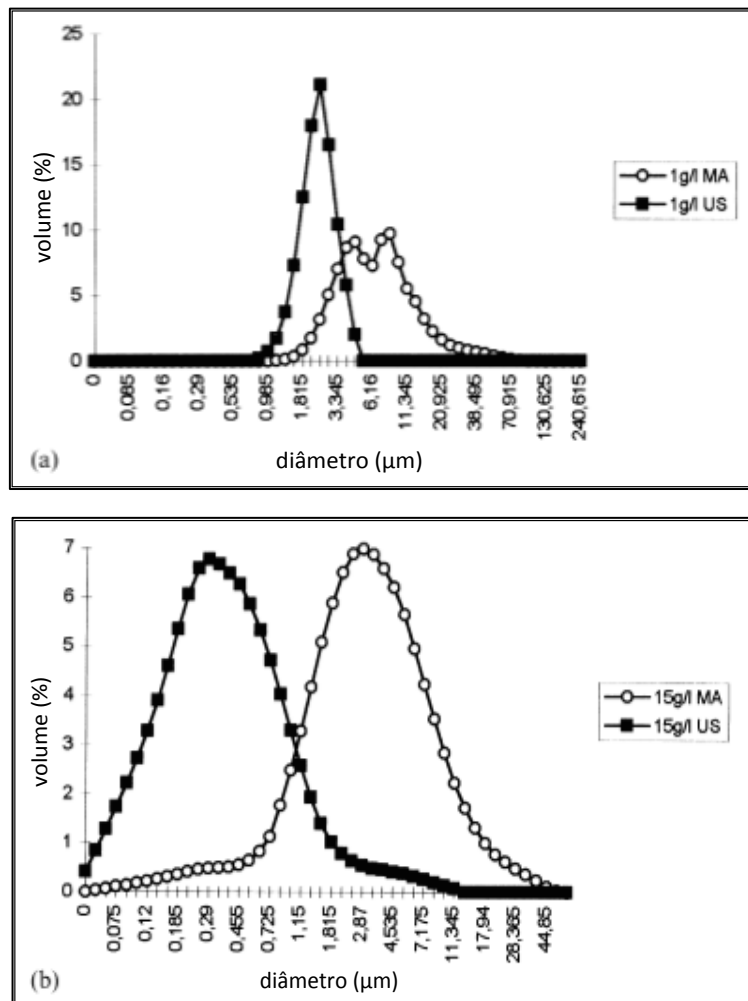
Considera-se agora a possível relação entre a concentração do surfactante, o modo de emulsificação e a distribuição do tamanho da partícula da emulsão. Os resultados são apresentados nas Figuras 16 e 17. Duas comparações podem ser feitas. Primeiramente, se o efeito da concentração de surfactante é considerado, em ambos os métodos de emulsificação (ultrassom e agitação), as distribuições de tamanho de partícula aumentam com concentrações mais altas de surfactante. Quando se comparam as duas técnicas, observa-se que os valores de diâmetro de partícula são sempre muito menores com a técnica de ultrassom.

Figura 16 - Distribuição do tamanho da gota volumétrica de emulsões O/A em várias concentrações de surfactantes: (a) agitação mecânica, (b) ultrassom.



Fonte: Adaptado de Abismail et. al. (1999).

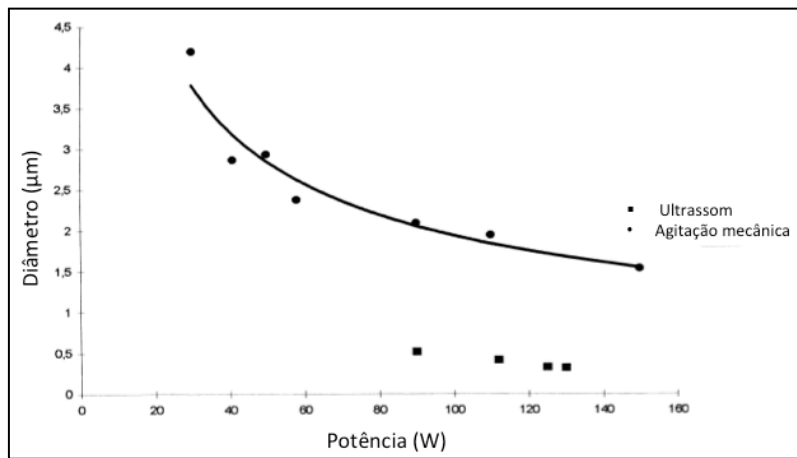
Figura 17 - Distribuição do tamanho da gota volumétrica: (a) baixa concentração de surfactante, (b) alta concentração de surfactante.



Fonte: Adaptado de Abismail et. al. (1999).

A variação do tamanho de partícula das emulsões em função da potência do ultrassom e do método de agitação mecânica também foi estudada por Abismail e col. (1999). Os autores observaram que a agitação mecânica sempre dá emulsificação completa em 30 s, qualquer que seja a potência envolvida. Em contrapartida, quando o ultrassom é usado, é necessária uma potência mínima de 90 W para emulsionar completamente a mistura. Foi constatado que o diâmetro das partículas diminui com o aumento da potência do equipamento de agitação mecânica.(ABISMAÏL et al., 1999) De qualquer forma, entre 90 e 130 W, os valores do diâmetro de partícula são cerca de quatro vezes menores quando o ultrassom é usado para emulsionar o sistema (Figura 18).

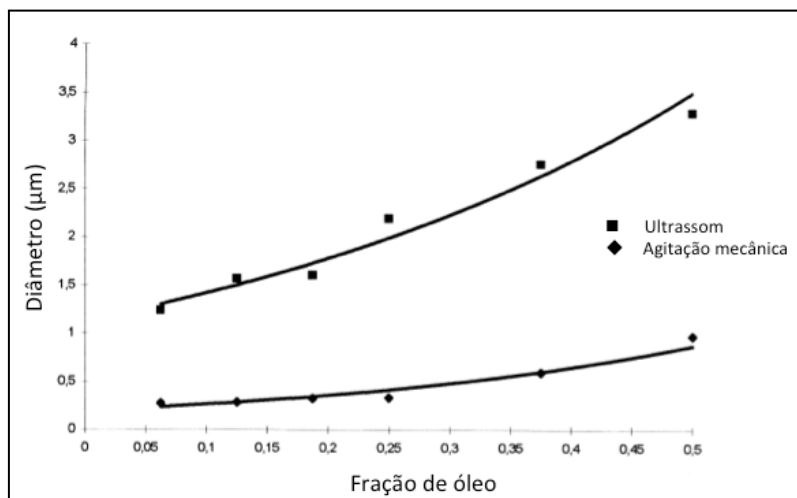
Figura 18 - Variação do tamanho da gota em função da potência do agitador mecânico e do ultrassom.



Fonte: Adaptado de Abismail et. al. (1999).

Por fim, os autores avaliaram a influência da concentração de óleo no tamanho das partículas que constituem a emulsão. Como esperado, foi obtida a tendência inversa: em ambos os casos (ultrassom e agitação mecânica), o diâmetro de partícula aumenta com o aumento da concentração de óleo (Fig. 19).

Figura 19 – Variação do tamanho da gota em função da fração de óleo. Emulsões preparadas pelo tamanho pelo método de agitação mecânica e ultrassom.



Fonte: Adaptado de Abismail et. al. (1999).

A inspeção visual simples mostra uma maior estabilidade das emulsões feitas por ultrassom. Por exemplo, o fenômeno de *creaming* apareceu após seis dias de preparo das

emulsões no ultrassom, ao passo que esse fenômeno apareceu um dia após o preparo dessas emulsões por agitação mecânica.

Pela semelhança do trabalho de Abismail e col. (1999) com os experimentos realizados nessa tese, apenas esse trabalho foi revisado como exemplo de emulsões preparadas no ultrassom.

A estabilidade das emulsões pode ser afetada por diversos fatores físicos. Portanto, é necessário estabilizar esses sistemas cineticamente e termodinamicamente para evitar ou dificultar a desestabilização. Além disso, a estabilidade dos sistemas também é fundamental para uma encapsulação mais eficiente de compostos funcionais. (SILVA; CERQUEIRA; VICENTE, 2012)

A forma mais comumente utilizada para estabilizar emulsões é a partir do uso de surfactantes, os quais permeiam a interface entre as gotículas e o meio de dispersão, reduzindo a tensão interfacial. Os surfactantes podem ser iônicos ou neutros. Os surfactantes iônicos podem fornecer uma carga elétrica às gotículas da emulsão, já os surfactantes não iônicos podem criar uma barreira estérica por meio de grupos moleculares volumosos direcionados ao meio de dispersão. (SILVA; CERQUEIRA; VICENTE, 2012)

2.3 USO DE LIS NA FORMAÇÃO DE EMULSÕES

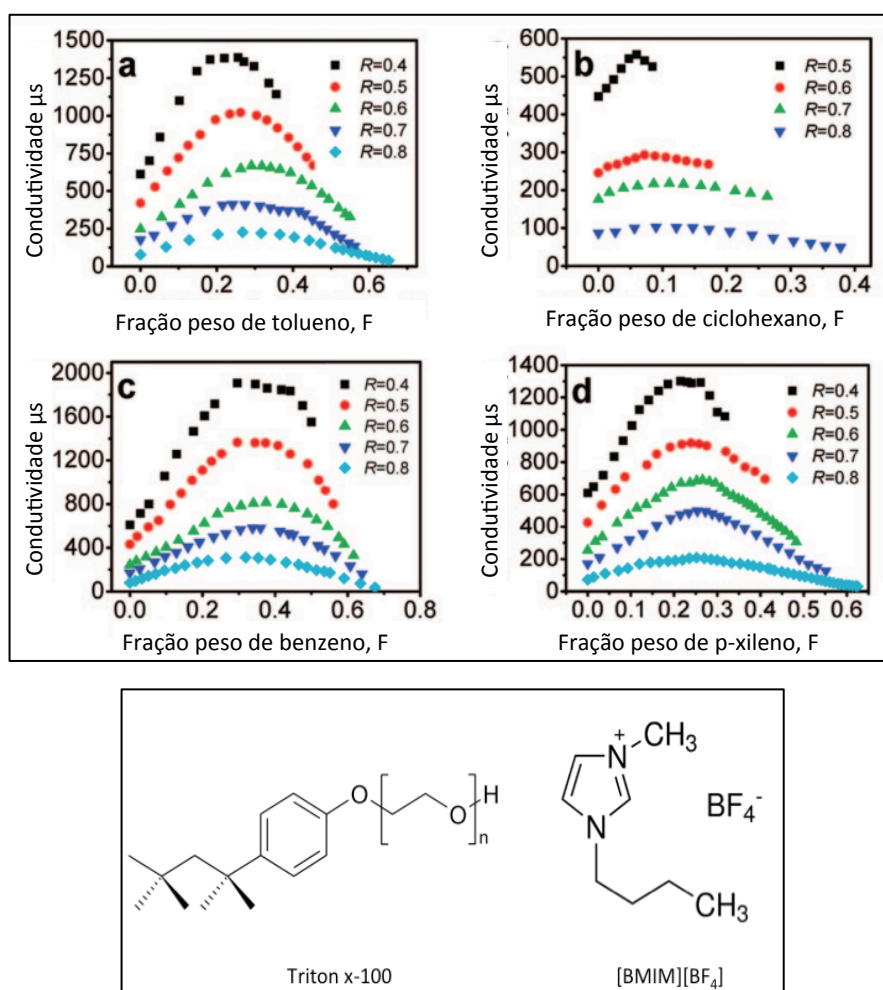
LIs com cadeia alquílicas longas possuem propriedades anfífilas e podem ser utilizados como surfactantes em processos de emulsificação. Nessa seção, serão apresentados alguns trabalhos da literatura que demonstram o uso de LIs na preparação de misturas binárias e ternária e em emulsões. Há diversos artigos na literatura relacionados ao tema, no entanto nesse tópico do referencial serão discutidos apenas trabalhos que apresentam similaridade nos experimentos realizados nessa tese.

Gao e col. (2009) investigaram o papel de quatro solventes orgânicos no processo de formação de microemulsões contendo o líquido iônico tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazólio ([BMIM][BF₄]). Os solventes usados foram: ciclohexano, tolueno, *p*-xileno e benzeno. Inicialmente, os autores realizaram estudos de condutividade dos componentes que foram utilizadas no preparo das emulsões. A condutividade tem provado ser uma poderosa ferramenta para estimar a estrutura e as mudanças estruturais em microemulsões com base na teoria da percolação. (GAO et al., 2009)

Os LIs possuem uma condutividade relativamente alta devido ao seu caráter iônico. A condutividade para o [BMIM][BF₄] puro é cerca de 3393 $\mu\text{s}/\text{cm}$ a 25,0 °C. No entanto, a

condutividade (k) do LI varia com a fração de peso do solvente (F) e com a fração de peso de surfactante Triton X-100. A adição do surfactante não-iônico Triton X-100 diminuiu a condutividade do $[\text{BMIM}][\text{BF}_4]$ na ordem de 20-600 $\mu\text{s}/\text{cm}$ porque Triton X-100 é não condutor. A diminuição da condutividade é principalmente atribuída a diluição de $[\text{BMIM}][\text{BF}_4]$ altamente condutivo por Triton X-100. Essas constatações podem ser averiguadas na Figura 20.

Figura 20 – Variação da condutividade em função da fração de peso do solvente, em diferentes frações de peso de Triton X-100 (R), para (a) tolueno; (b) ciclohexano; (c) benzeno; (d) p -xileno; Estrutura do $[\text{BMIM}][\text{BF}_4]$ e Triton x-100.

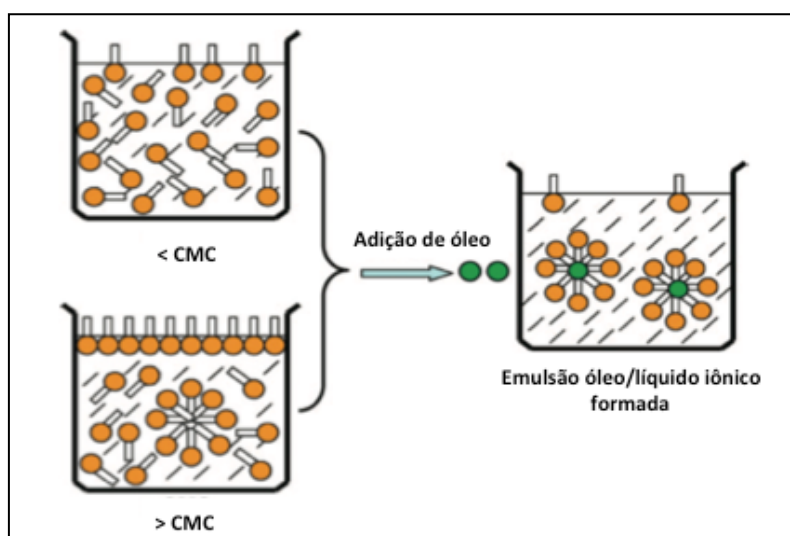


Fonte: Adaptado de Gao e col. (2009)

Quando o solvente orgânico foi adicionado às misturas, a condutividade aumentou consideravelmente (Figura 20), o que é um pouco inesperado porque os solventes orgânicos são altamente não condutores e a adição destes diminui a condutividade das soluções. Para

explicar esse fato, os autores realizaram experimento de 2D ROESY. A espectroscopia 2D ROESY provou ser uma ferramenta poderosa para medir interações dipolo-dipolo entre hidrogênios. Os resultados indicaram que há uma interação entre o Triton X-100 e o [BMIM][BF₄], na medida que os átomos de oxigênio de Triton X-100 atraíram eletrostaticamente o cátion imidazólico do [BMIM][BF₄]. Quando solvente orgânico é adicionado na mistura de Triton X-100 e [BMIM][BF₄], um novo conjunto de micelas pode ser formado. As moléculas de Triton X-100 são difíceis de agregar em micelas devido à sua fraca solvofobicidade, no entanto depois de adicionar solventes orgânicos, as moléculas orgânicas proporcionam um ambiente apolar mais forte e fazem com que as caudas hidrofóbicas do Triton X-100 se aproximem. Nestes agregados, os solventes orgânicos foram dispersos como núcleos apolares e as moléculas de Triton X-100 separaram o óleo e o [BMIM][BF₄] (Figura 21). Sendo assim, o [BMIM][BF₄] permanece na fase contínua enquanto o Triton X-100 está comprometido com as interações com o solvente. Esse fato, explica o aumento da condutividade do sistema quando solventes orgânicos são adicionados. Há um momento em que a condutividade do sistema começa a decrescer, pois o solvente começa a diluir o sistema. É importante ressaltar que na adição de solvente, além de alterar a condutividade do meio, também há a formação das microemulsões (óleo-líquido iônico).

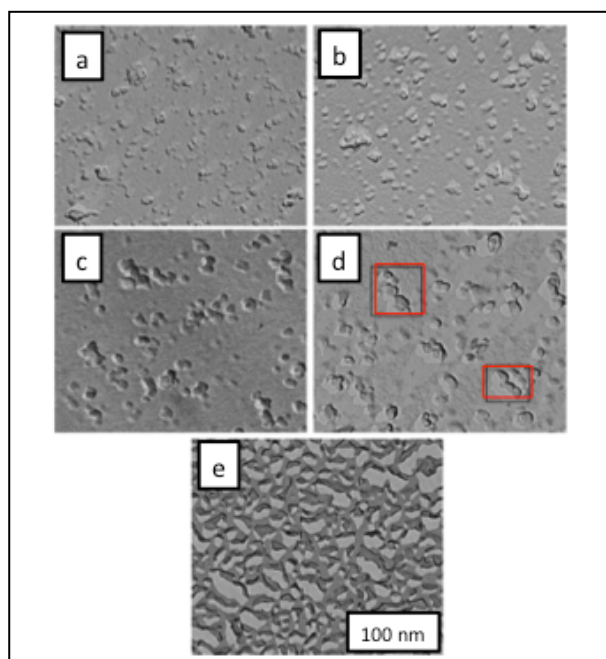
Figura 21 – Diagrama esquemático das soluções antes e depois da adição de solventes orgânicos na mistura de Triton X-100 e [BMIM][BF₄]. À esquerda, solução molecular ou micelar. À direita, indução das emulsões óleo/líquido iônico.



Fonte: Adaptado de Gao e col. (2009)

Utilizou-se a microscopia eletrônica de transmissão de fratura por congelamento (FF-TEM, do inglês *freeze fracture transmission electronic microscopy*) para detectar o processo de intumescimento de microemulsões de óleo em [BMIM][BF₄] com o aumento sucessivo do teor de solvente orgânico. A Figura 22 mostra as imagens de FF-TEM do sistema tolueno/Triton X-100/ [BMIM][BF₄] com $R = 0,5$, em que R é a fração mássica de surfactante Triton X-100 e $F = 0,10, 0,15, 0,20, 0,25$ e $0,30$, em que F é a fração mássica de solvente orgânico. Uma estrutura de partícula quase esférica foi observada quando F é menor que $0,25$, e seu diâmetro médio aumentou com o aumento do teor de tolueno, indicando que as microgotas foram inchando gradualmente. Uma tendência para a agregação das gotículas de microemulsão pode ser observada com o aumento do teor de tolueno para $F = 0,25$ (Figura 22d). Os agregados consistem em duas ou três micropartículas simples, que são marcadas por um quadrado na Figura 22d. Com o aumento adicional do teor de tolueno $F = 0,30$, formou-se uma microemulsão bi-contínua irregular em que o [BMIM][BF₄] e o solvente formam a fase contínua (Figura 22e).

Figura 22 – Imagens de FF-TEM da emulsão de tolueno em [BMIM][BF₄] com $R = 0,5$ e $F =$ (a) $0,10$, (b) $0,15$, (c) $0,20$, (d) $0,25$, e) $0,30$.

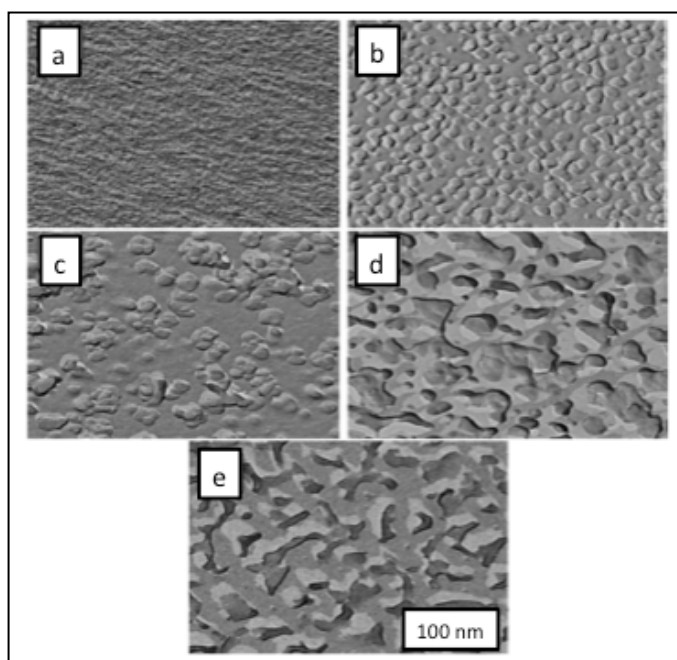


Fonte: Adaptado de Gao e col. (2009)

Para sustentar as observações feitas pelos autores, o comportamento dos agregados de microemulsão contendo o solvente orgânico do p-xileno também foi investigado por FF-

TEM. As imagens FF-TEM da microemulsão com aumento da quantidade *p*-xileno são mostradas na Figura 23. Da mesma forma, o tamanho do agregado aumenta gradualmente com o aumento da quantidade de solvente orgânico. Além disso, a tendência de agregação de micropartículas para formar uma partícula maior, é mais evidente nesse caso ($F = 0,30$); Figura 23c. Esta tendência de agregação é, na verdade, um estágio anterior a formação da microemulsão bi-contínua. A imagem na Figura 23d pode ser considerada como o estado intermediário da microemulsão de gotículas e microemulsão bi-contínua e a Figura 23e já demonstra a emulsão bi-contínua formada.

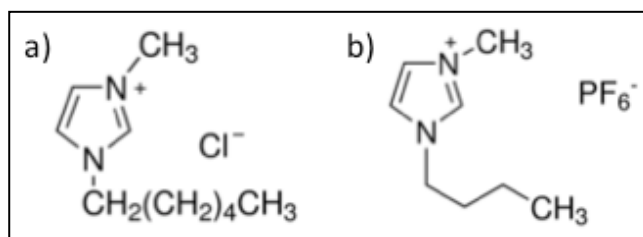
Figura 23 – Imagens de FF-TEM da emulsão de *p*-xileno em [BMIM][BF₄] com $R = 0,6$ e $F = (a) 0,10, (b) 0,15, (c) 0,20, (d) 0,25, (e) 0,325$.



Fonte Adaptado de Gao e col. (2009)

Dobler e col. (2013) estudaram, a influência de LIs hidrofóbicos e hidrofílicos baseados no anel de imidazol (Figura 24) nas propriedades e estabilidade de sistemas clássicos de entrega de fármacos, tais como as emulsões A/O e O/A. O LI [HMIM][Cl] foi usado para substituir a fase aquosa e [BMIM][PF₆] para substituir a fase oleosa. Além disso, estudou-se a influência na eficiência de penetração e preservação de drogas contra contaminações microbiológicas (degradação). (DOBLER et al., 2013)

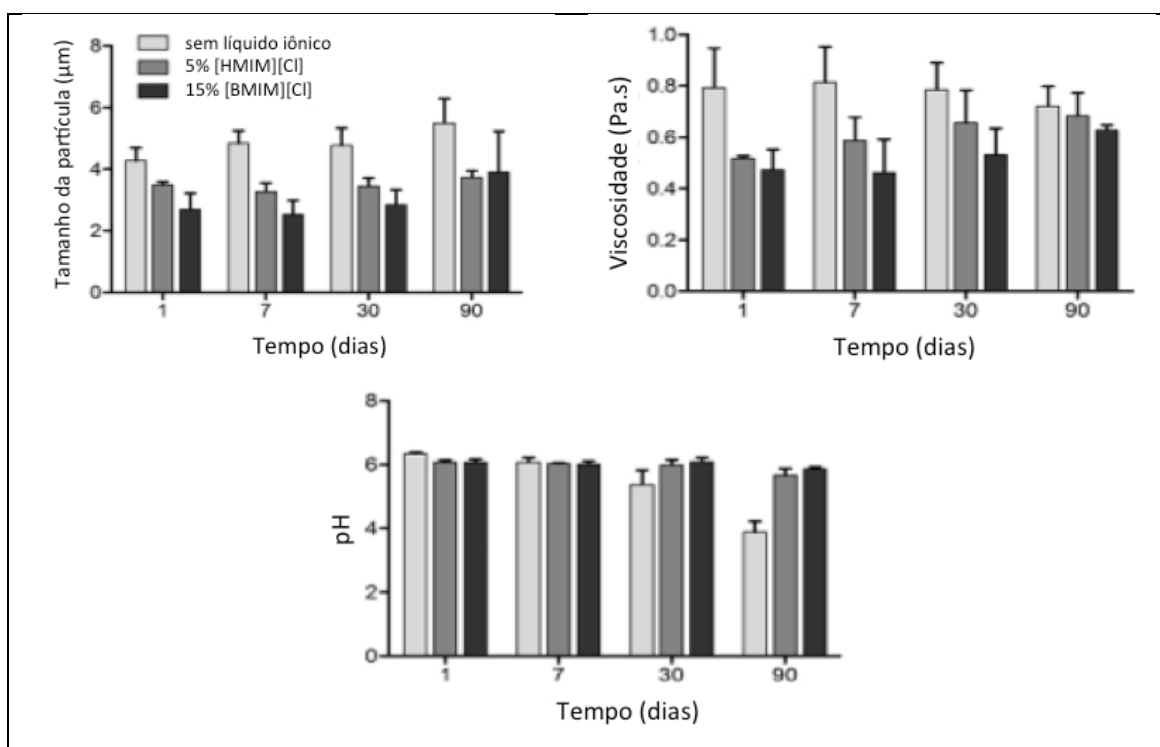
Figura 24 – (a) Estrutura do LI [HMIM][Cl]; (b) Estrutura do LI [BMIM][PF₆].



Fonte: Adptado de Dobler e col. (2013).

Os óleos usados para preparar os sistemas de entrega foram isononanoato de cetostearil, triglicerídeos de cadeia média e óleo de parafina. O diisostearato de triglicerol foi usado como emulsionante hidrofóbico na emulsão A/O e uma mistura de estearato de PEG-100 e estearato de glicerol foi usada como emulsionante hidrofílico na emulsão O/A. Os outros componentes da emulsão na fase oleosa foram gel hidrofóbico e álcool cetostearílico. A fase aquosa continha glicerol e MgSO₄·7H₂O. Os LIs utilizados foram hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio hidrofóbico ([BMIM][PF₆]) e cloreto de 1-hexil-3-metilimidazólio hidrofílico. A Fig. 25 mostra os parâmetros físicos da emulsão O/A contendo triglicerídeos de cadeia média como a fase oleosa e o LI hidrofílico [HMIM][Cl] como um componente da fase aquosa. Foi observado que o tamanho da gota e viscosidade das emulsões diminui com o acréscimo de LI, ao passo que os valores de pH se mantêm constantes com a adição dele. A formulação sem LIs mostra a estabilidade ao longo do tempo com base no tamanho da gota e viscosidade. No entanto, o pH diminui significativamente durante o mesmo período. A incorporação do LI leva a uma diminuição no tamanho da gota e viscosidade da formulação.

Figura 25 – Mudanças ao longo do tempo nas Propriedades físico-químicas de emulsões O/A contendo triglicerídeos na fase orgânica e [HMIM][Cl] na fase aquosa.

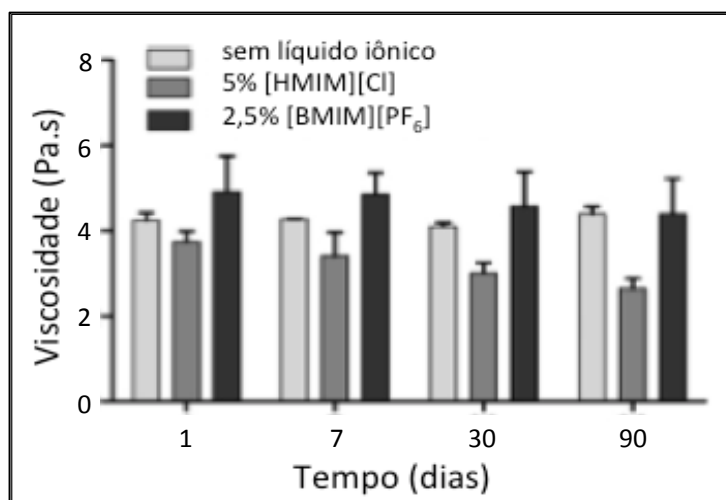


Fonte: Adaptado de Dobler e col. (2013)

A diminuição nos valores de pH ao longo do tempo para as formulações sem LIs está provavelmente ligada à contaminação microbiana. As formulações não são preservadas e, portanto, o crescimento de diferentes bactérias ou fungos na fase aquosa é plausível. Em contraste, o crescimento dessas espécies em formulações com LIs é inibido como resultado de suas propriedades antimicrobianas. Assim, os valores de pH nas formulações com LIs permanecem constantes ao longo do tempo.

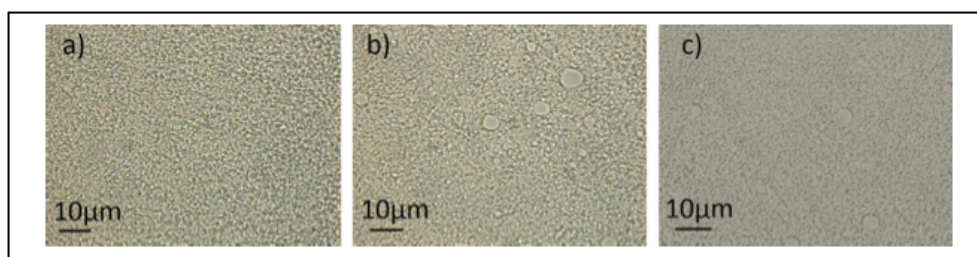
Considerando agora as emulsões A/O, constatou-se que a adição de 5% de [HMIM][Cl] provoca uma diminuição na viscosidade da solução (Figura 26). Adicionalmente, como mostrado na Figura 27, há o surgimento de uma fração de partículas com um tamanho maior (Figura 27b). Ao longo do tempo, a emulsão sem LI é estável, uma vez que a viscosidade se mantém constante. Em contrapartida, uma diminuição na viscosidade para as emulsões contendo [HMIM][Cl] é observada ao longo do tempo. Uma das possibilidades para a perda de estabilidade das emulsões com o acréscimo de [HMIM][Cl] está baseada na perda do balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) ótimo que a emulsão possuía antes da adição do LI mencionado.

Figura 26 – Mudança na viscosidade ao longo do tempo de emulsões A/O contendo triglicerídeos na fase orgânica e [HMIM][Cl] na fase aquosa.



Fonte: Adaptado de Dobler e col. (2013)

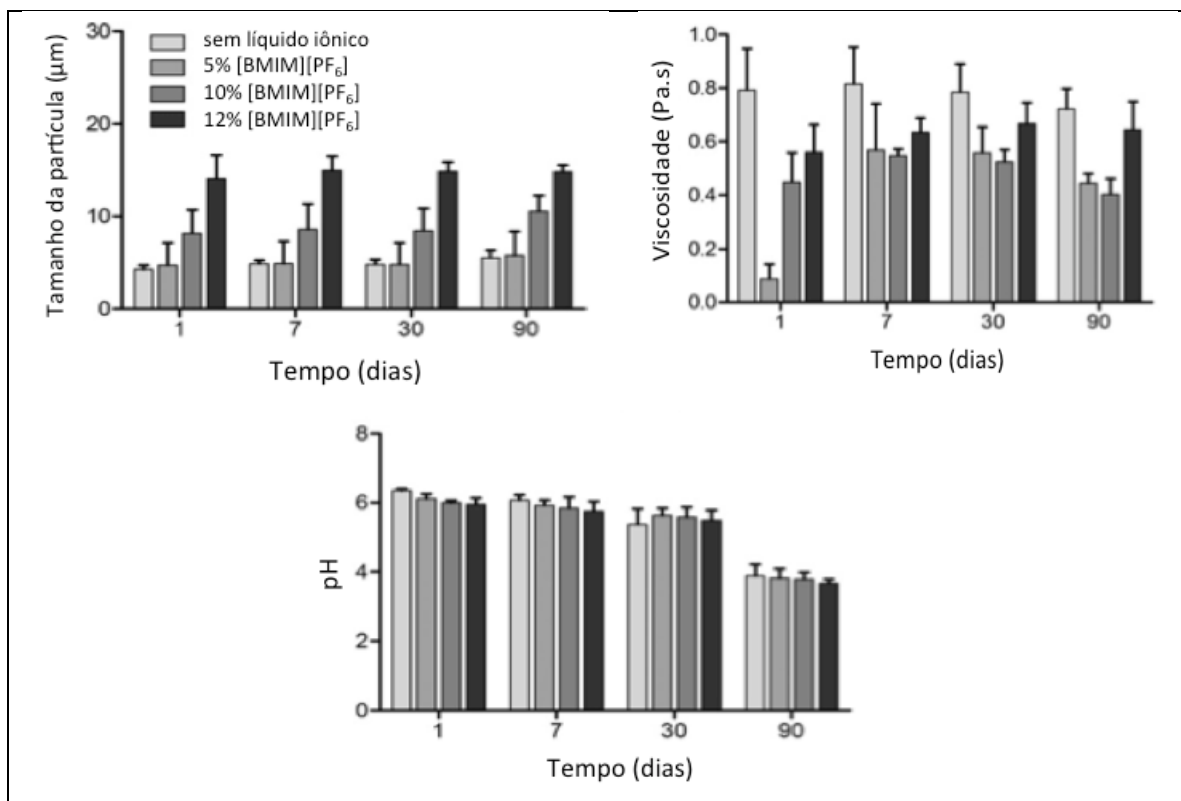
Figura 27 – Microscopia das emulsões a) A/O sem LI; b) A/O com 5% de [HMIM][Cl]; c) A/O com 2,5% de [BMIM][PF₆].



Fonte: Adaptado de Dobler e col. (2013)

As mudanças nas propriedades físico-químicas das emulsões O/A contendo o LI hidrofóbico [BMIM][PF₆] são mostradas na Figura 28. Nessas emulsões, a fase oleosa foi parcialmente ou completamente substituída por um LI. A adição de [BMIM][PF₆] à emulsão leva a um aumento no tamanho das gotículas. Quando a fase oleosa é completamente substituída por LI, a emulsão contém partículas muito grandes em comparação com a emulsão feita com óleo puro. A forte diminuição na viscosidade das formulações contendo [BMIM][PF₆] é observada diretamente após a homogeneização. No entanto, dentro de alguns dias a viscosidade aumenta significativamente. Este processo ocorre mais rapidamente para emulsões contendo maior quantidade de LI.

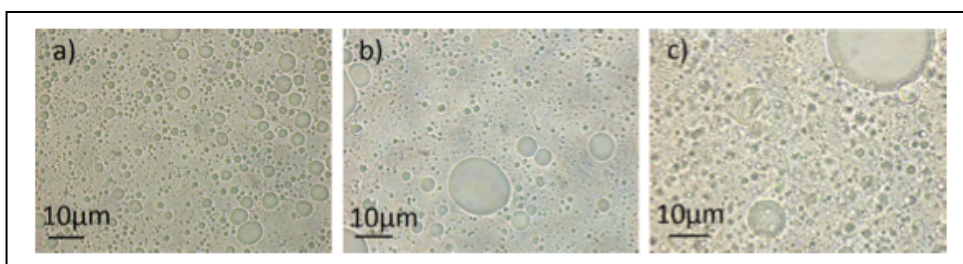
Figura 28 – Parâmetros físico-químicos das emulsões O/A contendo triglicerídeos e [BMIM][PF₆] na fase oleosa.



Fonte: Adaptado de Dobler e col. (2013)

Quando as emulsões são submetidas a análise por microscopia, estruturas contendo partículas grandes podem ser encontradas nas imagens das emulsões contendo [BMIM][PF₆]. Estas estruturas não ocorrem em formulações sem [BMIM][PF₆] ou em formulações com uma fase oleosa parcialmente substituída (Figura 29).

Figura 29 – Microscopia das emulsões a) O/A sem LI; b) O/A com 10% de [BMIM][PF₆]; c) LI/água com 12% de [BMIM][PF₆].



Fonte: Adaptado de Dobler e col. (2013)

Após a preparação, a viscosidade da amostra contendo 5% de [BMIM][PF₆] é muito baixa, porém essa viscosidade aumenta com o passar do tempo. Da mesma forma, os tamanhos das gotas das amostras contendo 5% [BMIM][PF₆] são aproximadamente os mesmos que para as emulsões O/A sem LI, enquanto os tamanhos das gotículas das amostras contendo 10% [BMIM][PF₆] são cerca de duas vezes maiores. Considerando o fato de que [BMIM][PF₆] não é miscível com o óleo, a existência simultânea de gotículas de óleo e [BMIM][PF₆] pode ser esperada na formulação. Assim, devido às grandes diferenças entre as gotículas de óleo e [BMIM][PF₆], o tamanho médio das gotículas deve aumentar proporcionalmente à quantidade de LI.

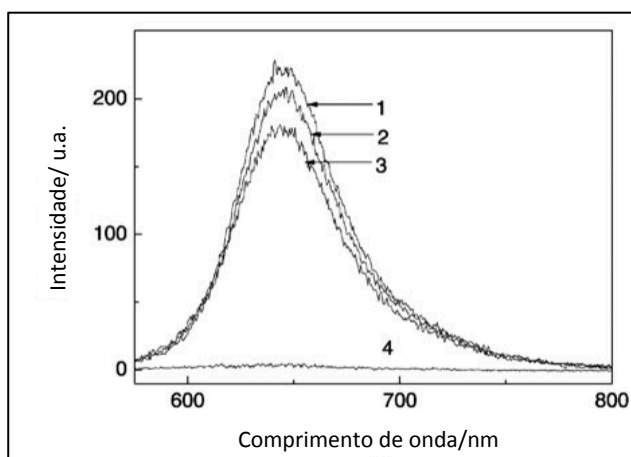
O comportamento das emulsões A/O na presença de LI é apresentado na Fig. 25. Em contraste com [HMIM][Cl], a adição de [BMIM][PF₆] leva a um aumento na viscosidade. Com o tempo, uma pequena diminuição na viscosidade é observada. Como mostrado na Fig. 29c, o [BMIM][PF₆] forma grandes gotas na formulação algo similar ao que ocorre nas emulsões contendo o líquido iônico [HMIM][Cl].

A atividade antimicrobiana foi testada para cinco microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*. Ambas as formulações contendo 5% de [HMIM][Cl] ou 5% [BMIM][PF₆] apresentaram inibição de crescimento de todos os microrganismos bacterianos (>99,9% após 7 dias) e todos os microrganismos fúngicos (>99% após 7 dias). Estes resultados indicam que os LIs nas concentrações acima mencionadas são adequados para uso como conservantes na formulação. Os efeitos citotóxicos das emulsões O/A com ou sem LI em uma monocamada de células HaCaT foram testados após o tratamento por 24h. O LI hidrofílico [HMIM][Cl] apresenta atividade citotóxica em concentrações acima de 2 mmol/L. Em comparação, o efeito citotóxico para o LI hidrofóbico [BMIM][PF₆] é observado quando se utilizam concentrações acima de 3 mmol/L.

Shen e col. (2008) investigaram a capacidade emulsionante do LI anfifílico [C₁₂MIM][Br] e como é o comportamento da emulsão formada com a adição do sal NaPF₆. Para a realização do referido estudo, o composto emulsionado foi o corante hidrofóbico vermelho do Nilo (C₂₀H₁₈N₂O₂). Quando o sal NaPF₆ é adicionado na emulsão contendo LI e o corante vermelho do Nilo, observou-se a perda total da fluorescência no sobrenadante, o que indica que o vermelho do Nilo não está mais em um ambiente hidrofóbico. Nos experimentos de controle, em que 1 equivalente de Br⁻ e Cl⁻ foram adicionados na emulsão, foi observada apenas uma pequena perda na fluorescência do sobrenadante (Figura 30). Na análise visual

das emulsões, foi constatado que após a adição do sal NaPF₆, a solução instantaneamente torna-se turva. Quando Br⁻ e Cl⁻ foram adicionados, não houve evidência do surgimento de precipitado, dessa forma a solução permanece translúcida.(SHEN et al., 2008)

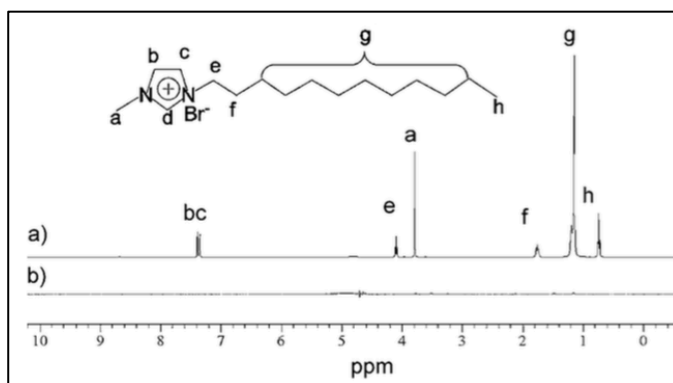
Figura 30 - Espectros de emissão de fluorescência de soluções de [C₁₂MIM][Br] contendo 1) vermelho do Nilo sem adição de sais; 2) vermelho do Nilo com adição de 1 equivalente de NaCl; 3) vermelho do Nilo com adição de 1 equivalente de NaBr; 4) vermelho do Nilo com adição de 1 equivalente de NaPF₆.



Fonte: Adaptado de Shen e col. (2008)

Os espectros de RMN ¹H de uma solução de [C₁₂MIM][Br] em D₂O (sem Vermelho do Nilo) antes e depois de adicionar 1 equivalente de NaPF₆ são mostrados na Figura 31a e 31b, respectivamente. O desaparecimento de todos os picos após a adição de NaPF₆ indica a ausência dos sais de alquilimidazolíneo da solução.

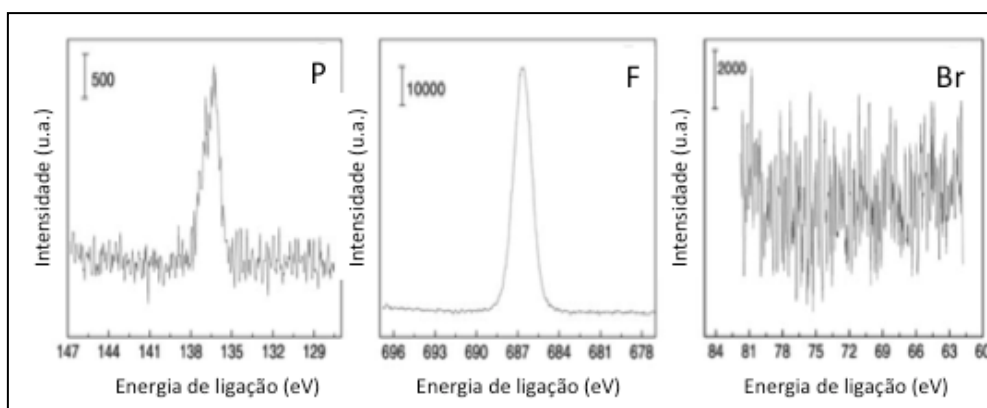
Figura 31 - Espectros de RMN ¹H de a) solução de 10 mm de [C₁₂MIM][Br] em D₂O; b) sobrenadante da solução após a adição de 1 equivalente de NaPF₆.



Fonte: Adaptado de Shen e col. (2008)

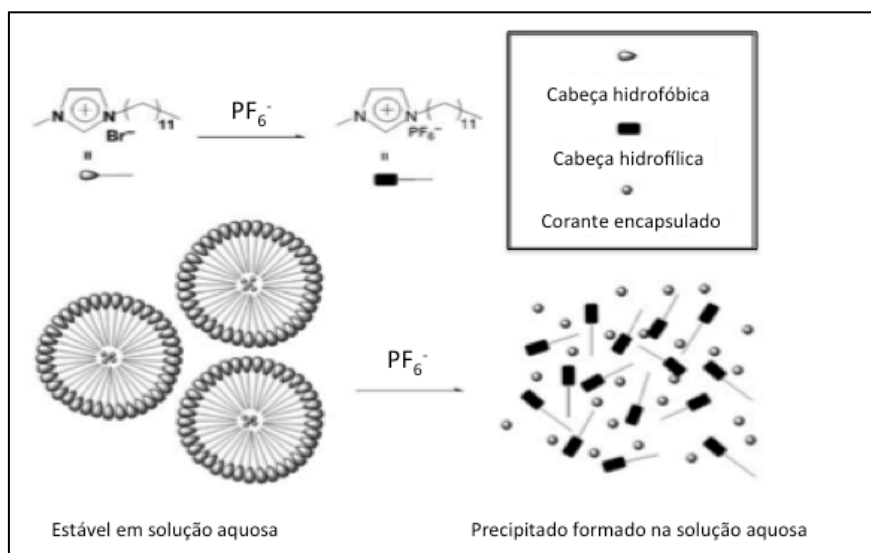
O precipitado branco contido nas amostras de RMN foi isolado por filtração, seco e analisado por espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS – do inglês *X-Ray Photoelectron Spectroscopy*). A Figura 32 mostra que os elementos fósforo e flúor estavam presentes no precipitado, enquanto o bromo estava ausente. Estes resultados indicam que a adição de NaPF₆ provoca a remoção completa de [C₁₂MIM][Br] da solução aquosa e consequentemente a precipitação de vermelho de Nilo (Figura 33).

Figura 32 – Espectro de XPS de fósforo, flúor e bromo para o precipitado gerado após a adição de 1 equivalente de NaPF₆ na solução.



Fonte: Adaptado de Shen e col. (2008)

Figura 33 – Representação da Troca aniônica para PF₆⁻ e colapso micelar resultante.

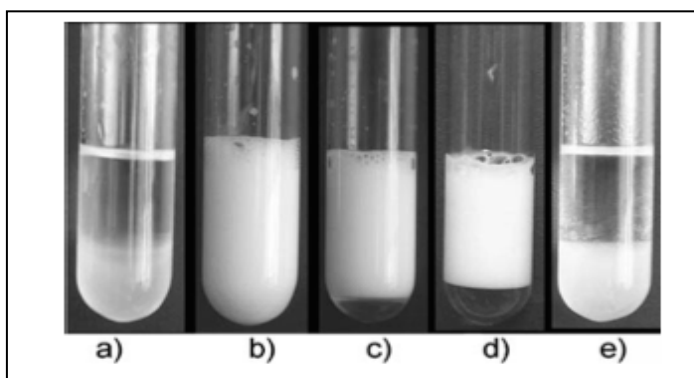


Fonte: Adaptado de Shen e col. (2008)

O transporte de óleos viscosos em um estado emulsionado pode ser útil quando a emulsão é menos viscosa do que o próprio óleo, embora no término do processo a emulsão

deve ser quebrada para ocorrer a recuperação do óleo. Então, neste mesmo trabalho, Shen e col. (2008) investigaram a aplicabilidade de $[C_{12}MIM][Br]$ para estabilização subsequente quebra de emulsões óleo-água. Para tanto, 95mg de $[C_{12}MIM][Br]$ foram adicionados a um frasco contendo 6mL de ciclohexano: água 2:1 (v/v) e a mistura foi agitada completamente, produzindo uma emulsão branca leitosa (Figura 34b). A emulsão resultante mostrou pouca evidência de segregação até 1 hora após a preparação, até que começou a aparecer a separação do líquido mais denso (Figura 34c). No entanto, após 50h, a emulsão ainda ocupava 80% do volume de líquido (Figura 34d). (SHEN et al., 2008)

Figura 34 – a) ciclohexano/água; b) com $[C_{12}MIM][Br]$ agitando por 3 minutos; c) emulsão com $[C_{12}MIM][Br]$ após uma hora; d) emulsão após 50 horas; e) aproximadamente após dois minutos da adição de $NaPF_6$.

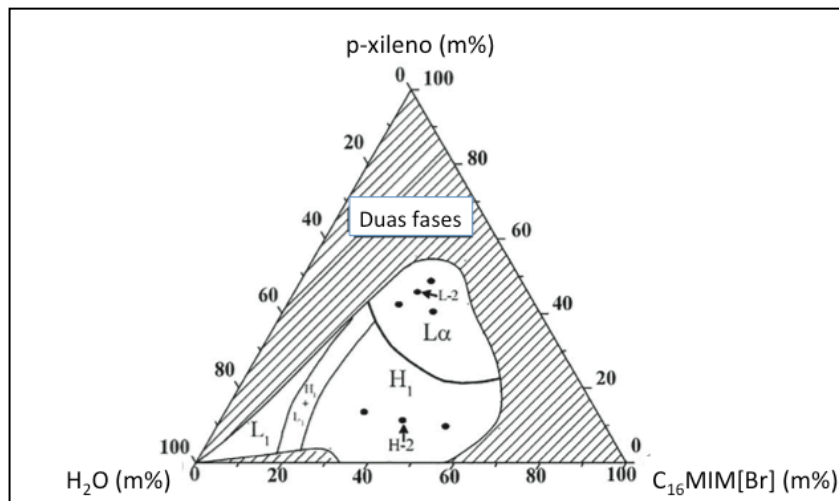


Fonte: Adaptado de Shen e col. (2008)

Em contraste, a adição de 1 equivalente de $NaPF_6$ a uma emulsão recentemente agitada resultou na separação completa em duas fases líquidas dentro de 2 minutos, com precipitação de $[C_{12}MIM][Br]$ (Figura 34e). Estas observações indicam que a formação de emulsões com LIs e posterior desestabilização dessas com sais inorgânicos é uma estratégia promissora para o uso industrial. Porém, investigações adicionais para melhorar o tempo de estabilidade das emulsões, tal como a seleção dos LIs adequados, ainda são necessárias para as aplicações práticas.

Zhang e col. (2008) estudaram o comportamento de fase de misturas ternárias de $C_{16}MIM[Br]$ /xileno/água por SAXS (*do inglês: Small angle X-Ray Scattering*), POM e medidas reológicas. As características estruturais da mistura foram elucidadas e foram encontradas duas fases cristalinas líquidas liotrópicas: hexagonal (H) e lamelar (L), as quais estão destacadas na Figura 35. Sete amostras marcadas no diagrama de fases foram selecionadas para estudar as duas fases líquidas cristalinas. (ZHANG et al., 2008)

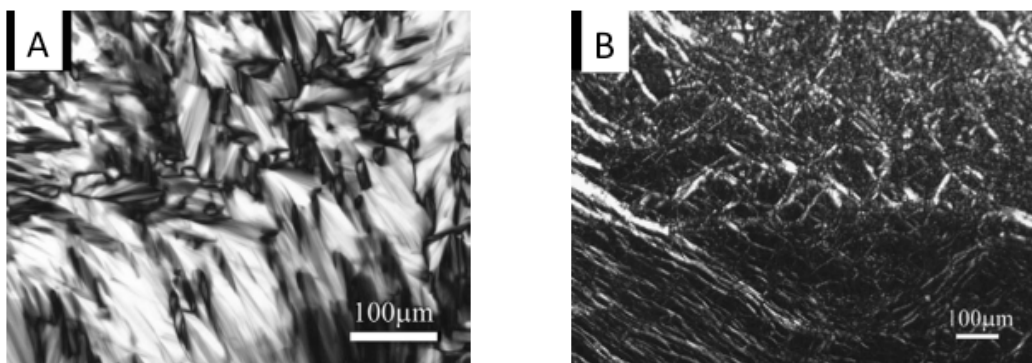
Figura 35 - Sistema ternário representando a fase hexagonal (H) e lamelar (L) e onde o sistema encontra-se em duas fases.



Fonte: Adaptado de Zhang e col. (2008).

Para visualizar as estruturas das emulsões, foi utilizada a técnica de imagem POM. A Figura 36 mostra as imagens do POM de uma amostra, na qual as regiões H (região hexagonal no sistema ternário) e L (região lamelar no sistema ternário) são mostradas. As texturas observadas para H exibem uma estrutura em leque, indicando a formação de uma fase cristalina líquida hexagonal. As observações do POM no L exibem a coexistência de texturas cruzadas e veias oleosas, portanto são observadas as fases lamelares.

Figura 36 - Imagem de POM a 25 °C de uma (a) amostra H e de uma (b) amostra L.

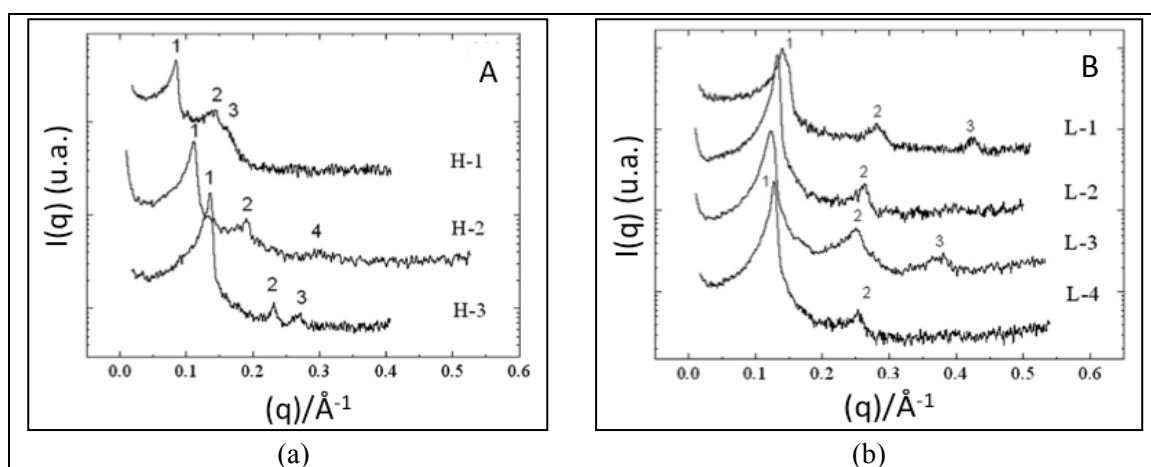


Fonte: Adaptado de Zhang e col. (2008).

Nesse estudo, também foram realizados experimentos de SAXS, os quais foram realizados para investigar a estrutura interna das fases cristalinas líquidas. A partir da análise dos espectros correspondentes a 3 emulsões com estrutura hexagonal, é possível observar que

os picos aparecem na razão $q_1:q_2:q_3:q_4=1:\sqrt{3}:\sqrt{4}:\sqrt{7}$. É sabido que a razão do vetor de dispersão é uma característica da periodicidade hexagonal, indicando que as amostras são cristalinas líquidas hexagonais. Na Figura 37b, os picos de espalhamento correspondente a duas emulsões (L-1 e L-3) ocorrem na razão $q_1:q_2:q_3=1:2:3$, já outras duas emulsões com proporções diferentes dos constituintes (L-2 e L-4) mostraram a razão $q_1:q_2=1:2$. Sendo assim, essas amostras exibem fases cristalinas líquidas lamelares.

Figura 37 - espectro de SAXS da (a) fase líquida cristalina hexagonal e (b) fase lamelar.



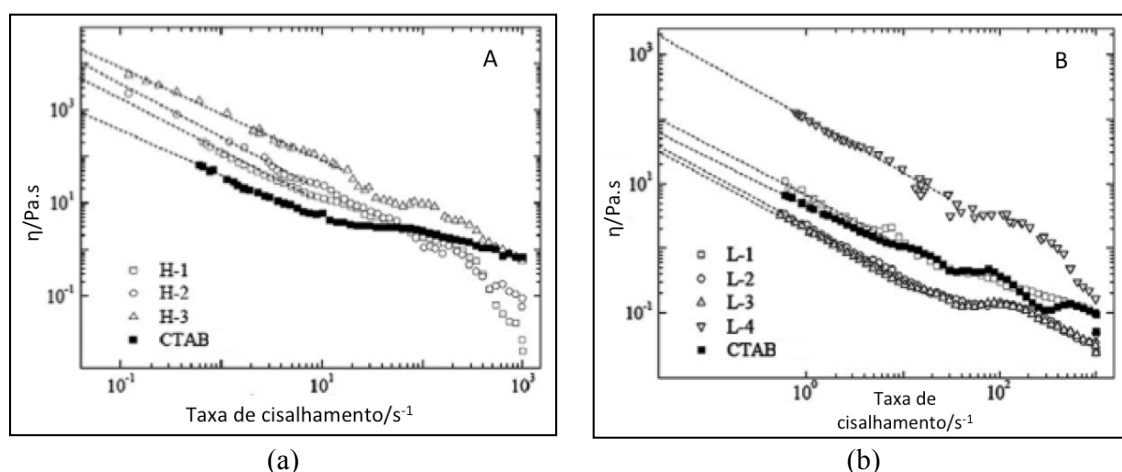
Fonte: Adaptado de Zhang e col. (2008).

A partir do SAXS, os autores obtiveram os valores de parâmetro de rede de ligação (α_0), o raio da unidade do cilindro (r_H) e a espessura do canal de água (d_w) para as emulsões estudadas. Com esses dados, para a fase hexagonal, quando é fixada a razão da fração mássica de p-xileno: água, os autores puderam observar que com teores mais elevados de surfactante, as moléculas de surfactante se agregam mais densamente no cilindro da fase hexagonal e as unidades do cilindro se agregam mais densamente na fase hexagonal. Considerando a fase lamelar e fixando a fração em massa de p-xileno: $C_{16}MIM[Br]$, os autores concluíram que à medida que o conteúdo de água na fase lamelar aumenta, o canal da água aumenta, mas a bicamada de surfactante é comprimida, diminuindo a espessura. Por fim, os autores observaram que o valor de parâmetro de rede de área (α_s) para a fase cristalina líquida hexagonal é muito menor que o da fase lamelar, o que significa que há maior hidratação do grupo imidazolíneo na fase lamelar do que na fase hexagonal.

Por fim, os autores discutiram os parâmetros reológicos das emulsões. Para isso, eles preparam emulsões com o LI $C_{16}MIM[Br]$ e brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) como

surfactantes, a fim de comparar a diferença que os dois compostos causam na reologia das emulsões. Os gráficos de viscosidade em função da taxa de cisalhamento são mostrados na Figura 38. Todas as amostras se comportam como fluidos cisalhantes, e as viscosidades das fases hexagonais são cerca de duas ordens de grandeza mais altas que as viscosidades das fases lamelares. Na fase hexagonal, a amostra com maior teor de surfactante tem uma viscosidade (η) maior e isso se deve à agregação mais densa de moléculas de surfactante nas membranas. Além disso, a viscosidade da emulsão preparada com CTAB é menor do que as amostras preparadas com $C_{16}MIM[Br]$ na taxa de cisalhamento até 10 s^{-1} . Nas taxas de cisalhamento maiores, o valor de viscosidade da emulsão preparada com CTAB se aproxima da viscosidade da emulsão H-3, a qual possui maior quantidade de LI comparado com as amostras H-1 e H-2. Com a adição contínua de água nas amostras cristalinas líquidas lamelares, observa-se uma diminuição de η_0 . Isso também pode ser explicado pelas mudanças dos parâmetros estruturais na fase lamelar. Vale ressaltar que a viscosidade da amostra L-4 é a mais alta em toda a faixa de taxa de cisalhamento, indicando que a viscosidade da fase lamelar é dependente do conteúdo do surfactante, e as amostras com maior conteúdo de surfactante têm viscosidades mais altas. Além disso, com a menor agregação de surfactante na fase lamelar, a viscosidade da emulsão contendo o surfactante CTAB é menor que a da amostra L-4, o que é semelhante ao resultado encontrado na fase hexagonal.

Figura 38 - Viscosidade (η) em função da taxa de cisalhamento para (a) fase hexagonal e (b) fase lamelar.

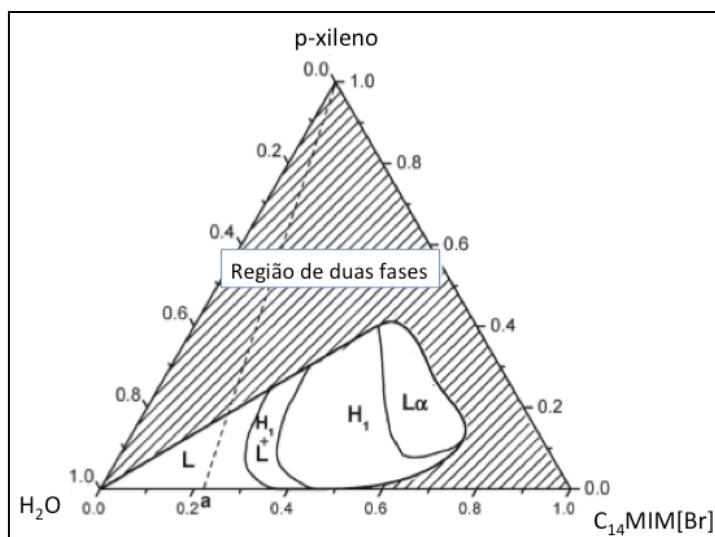


Fonte: Adaptado de Zhang e col. (2008).

O comportamento de fase do sistema ternário que consiste de líquido iônico brometo de 1-tetradecil-3-metilimidazólio ($C_{14}MIM[Br]$)/p-xileno/água foi investigado por Li e col

(2009). Dependendo da composição do sistema ternário, foi observada a formação de cristais líquidos hexagonais e lamelares, bem como microemulsões. O diagrama de fases ternário para o sistema está apresentado na Figura 39. SAXS, POM e medidas de reologia foram técnicas utilizadas para caracterizar e elucidar a fase líquida cristalina lamelar (L) e hexagonal (H_1). Em altos níveis de água, o diagrama mostra uma fase de microemulsão (L) no canto da água. A região tracejada com linhas paralelas é de duas fases em equilíbrio. Nesse trabalho, os autores focaram os estudos na fase de microemulsão. (LI et al., 2009)

Figura 39 - Sistema ternário representando a fase hexagonal (H), lamelar ($L\alpha$), a fase de microemulsão e onde o sistema encontra-se em duas fases.

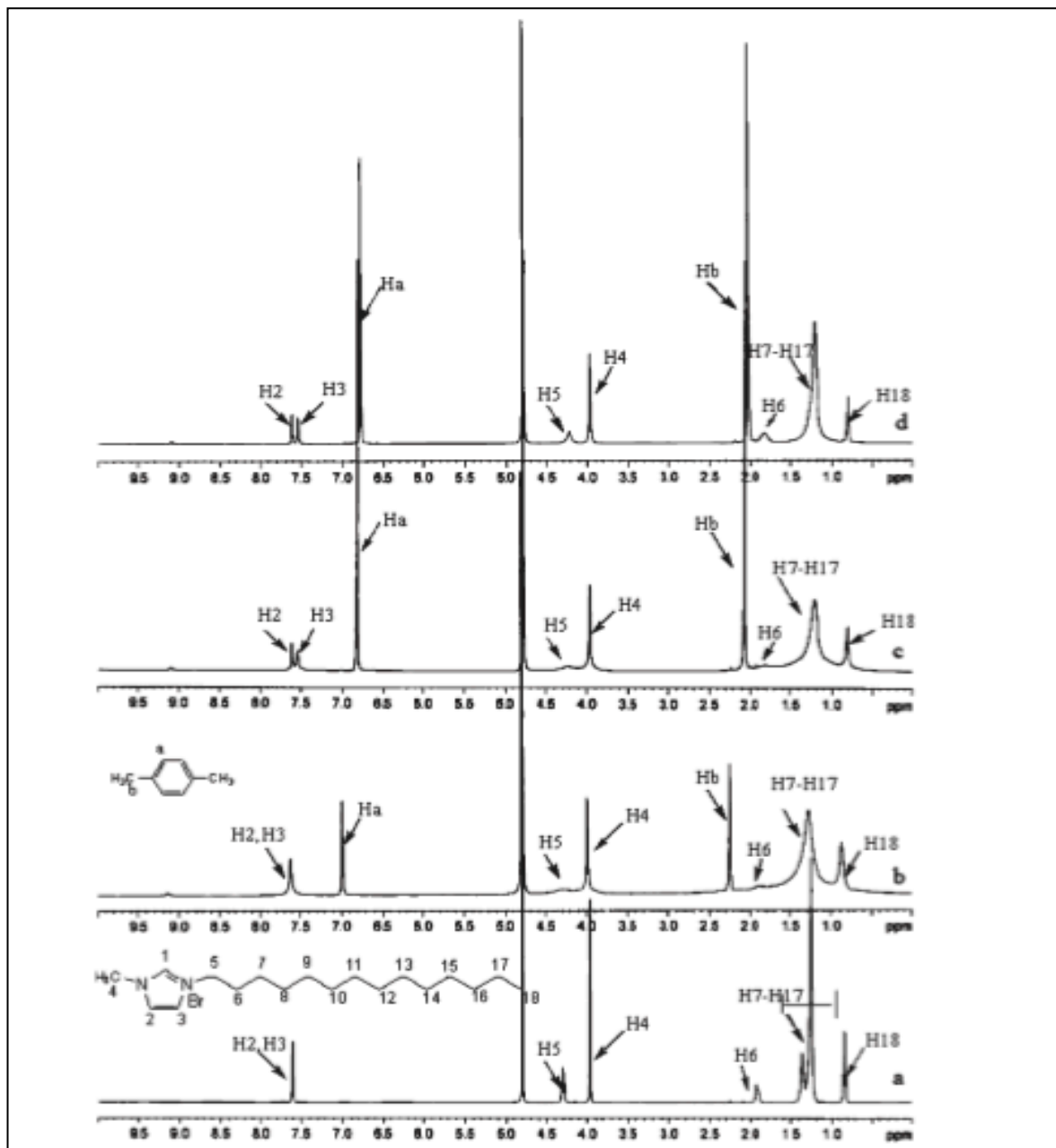


Fonte: Adaptado de Li e col (2009).

Os autores realizaram RMN 1H dos sistemas estudados a fim de elucidar as interações intermoleculares entre os componentes e a partir disso, obter informações sobre a estrutura das microemulsões. Para isso, os autores obtiveram o espectro do LI $C_{14}MIM[Br]$ em D_2O (Figura 40a) e então foram adicionando a fase oleosa (p-xileno) ao sistema (Figura 40b-40d). Na ausência de p-xileno, o LI forma micelas em água e o espectro de RMN 1H é mostrado na Figura 40a. Com a adição de p-xileno ao sistema, foi observada uma variação na amplitude dos sinais dos hidrogênios H_5-H_{18} , os quais correspondem a cadeia alquílica lateral do LI, indicando que o movimento desses hidrogênios é restrito. No entanto, o sinal do H_4 , o qual está presente no grupo alquila diretamente ligado ao anel imadazolíneo, permanece inalterado. Esse fato evidencia que as moléculas de p-xileno são solubilizadas no interior da micela

hidrofóbica, as quais interagem diretamente com a cadeia alquílica lateral do LI, por isso o movimento dos hidrogênios da cadeia alquílica lateral do LI é restrito.

Figura 40 - Espectro de RMN ^1H do (a) LI $\text{C}_{14}\text{MIM}[\text{Br}]$ puro; (b) fração molar de p-xileno de 0,77; (c) fração molar de p-xileno de 1,68; (d) fração molar de p-xileno de 2,76.



Fonte: Adaptado de Li e col (2009).

Conforme p-xileno foi adicionado no sistema, observaram-se alterações no deslocamento químico dos hidrogênios H_a (anel aromático) e H_b (metila) do óleo, os quais se deslocam para campo alto conforme aumenta a concentração de p-xileno (Figura 40b-40d).

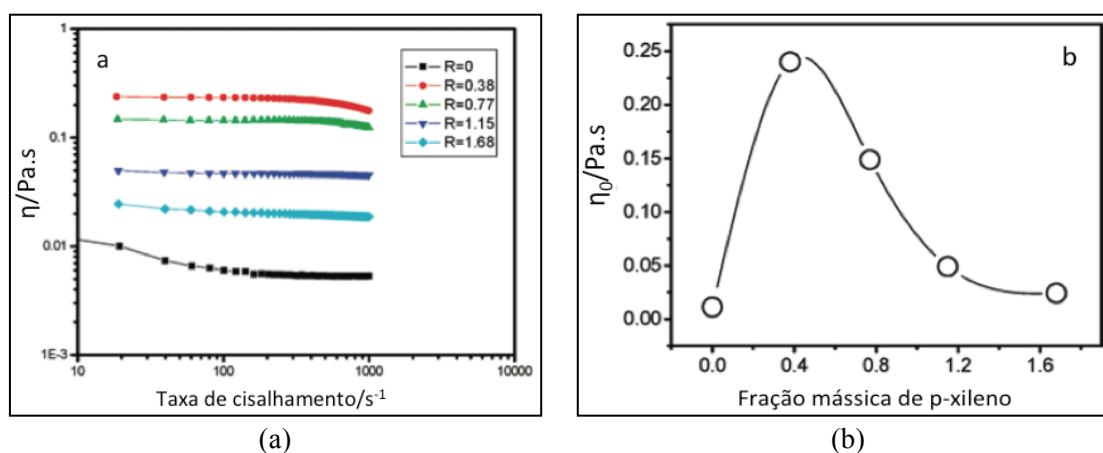
Além disso, também foram observadas alterações no deslocamento químico dos hidrogênios H₂ e H₃ do anel imidazólico, os quais estão sobrepostos em δ 7,60 ppm na ausência de p-xileno. Na medida em que o solvente orgânico foi adicionado, observa-se dois sinais em 7,61 e 7,54 ppm e depois muda para 7,60 e 7,53 ppm para as microemulsões com maior quantidade de p-xileno. Essas observações sugerem que o anel aromático do xileno e o cátion do imidazólio interagem entre si. Quando há a saturação da micela com p-xileno, o excesso de solvente orgânico é distribuído nas proximidades dos anéis imidazólicos devido a interação cátion- π .

Para ratificar as informações estruturais das microemulsões, os autores também fizeram espectros 2D ROESY. Ficou evidente que os hidrogênios H_a e H_b presentes no p-xileno interagem com a cadeia hidrofóbica do cátion do LI, uma vez que há o aparecimento de sinais correspondente as interações H_a/H₆, H_a/H₇₋₁₇, H_b/H₇₋₁₇ e H_b/H₁₈, as quais se fortalecem com o aumento do teor de p-xileno. Isso demonstra que o solvente orgânico está no seio da micela, circundado pelas cadeias alquílicas hidrofóbicas do LI. Quando se considera apenas a mistura binária de LI e água, sem p-xileno, observou-se que H₂ e H₃ no anel imidazólico interagem com os hidrogênios da cadeia hidrofobia. Diante disso, os autores sugerem que a cadeia alquílica torce até certo ponto ou os anéis imidazólicos presentes na estrutura de determinada micela, interagem com outras moléculas de LI presentes na solução. Quando p-xileno é adicionado, observou-se o desaparecimento dos sinais correspondente a interação entre o anel imidazólico e a cadeia hidrofóbica, sugere-se então que o LI perde a torção e adota uma conformação mais extensa.

Para suportar as investigações feitas por RMN, os autores realizaram medidas de viscosidade (η) das amostras. A Figura 41a mostra a variação da viscosidade (η) em função da taxa de cisalhamento para as amostras com diferentes quantidades de p-xileno e quantidade fixa de água e LI. Observou-se que a viscosidade não depende da taxa de cisalhamento. Esse comportamento é semelhante ao das micelas convencionais e é consistente com a presença de micelas esféricas. Além disso, a viscosidade é dependente do conteúdo de p-xileno adicionado. A Figura 41b mostra a variação da viscosidade das microemulsões na taxa de cisalhamento 0 (η_0) em função da quantidade de p-xileno adicionado. Conforme p-xileno é adicionado, o solvente orgânico é solubilizado no seio da micela, fazendo com que haja um aumento no tamanho da gotícula e um conseqüente aumento na viscosidade do sistema. Essas observações corroboram com a estrutura das microemulsões proposta a partir da análise de RMN ¹H e 2D ROESY. Com a adição de um excesso de p-xileno, as moléculas do solvente

orgânico não possuem mais espaço para serem solubilizadas no interior da micela e, portanto, as moléculas adicionais de solvente estariam localizadas na proximidade do cátion imidazolíneo. A interação cátion- π entre o xileno e o imidazolíneo liberaria as moléculas de água ordenadas que interagem com o anel do LI. Portanto, a viscosidade da solução diminui nessa etapa.

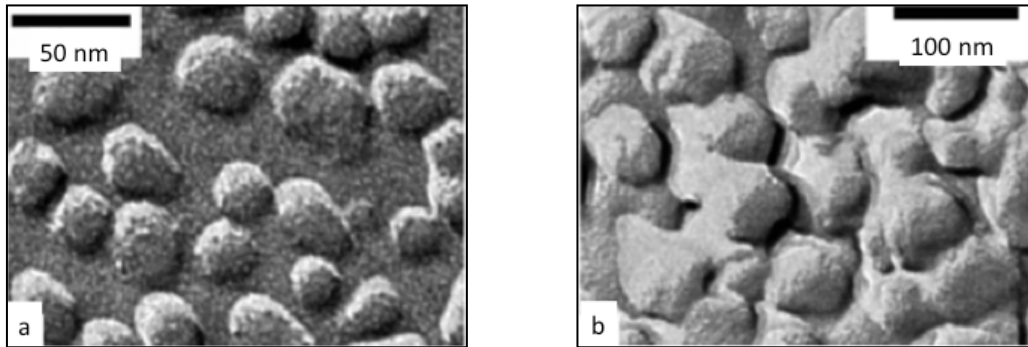
Figura 41 - a) viscosidade (η) das microemulsões com diferentes concentrações de p-xileno (R) em função da taxa de cisalhamento; b) viscosidade da microemulsão na taxa de cisalhamento zero (η_0) em função da fração mássica de p-xileno.



Fonte: Adaptado de Li e col (2009).

O tamanho e a forma das microemulsões foram caracterizados por microscopia eletrônica de transmissão com técnica de congelamento e fratura FF-TEM. A Figura 42 apresenta as imagens do sistema binário LI/H₂O (42a) e do sistema ternário p-xileno/LI/H₂O (42b). Tanto as micelas quanto as microemulsões são sistemas que possuem partículas esféricas. Na Figura 42a, as micelas possuem tamanho em torno de 20 a 30 nm. Essas micelas são relativamente grande comparado com outras micelas típicas formadas por surfactantes em água. Esse fato pode ser explicado pelo tamanho elevado da cadeia carbônica lateral presente no IL, pela repulsão eletrostática entre os anéis imidazolíneos e pela falta de ordenação do sistema. A adição de xileno às micelas resulta em um aumento no tamanho das micelas e na conseqüente formação de microemulsões. Os diâmetros para as gotículas de microemulsão estão em torno de 70-80 nm (Figura 42b).

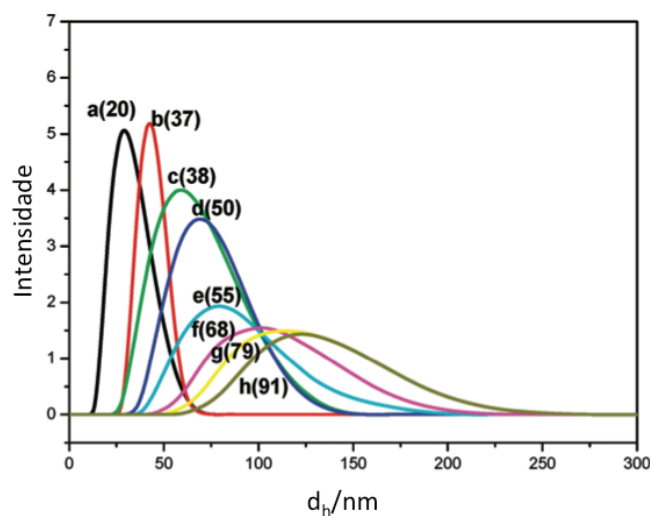
Figura 42 - a) imagem de FF-TEM do sistema binário LI/água; b) imagem da microemulsão LI/água/p-xileno.



Fonte: Adaptado de Li e col (2009).

Além da técnica de FF-TEM, o espalhamento de luz dinâmico também foi usado para medir o tamanho de partícula das microemulsões. Conforme aumenta a quantidade de p-xileno adicionado na amostra, o tamanho de partícula e a distribuição também aumentam. A análise das curvas DLS na Figura 43 fornece os diâmetros hidrodinâmicos médios das gotas de microemulsão para todas as amostras. Na medida em que a razão molar de xileno para o LI (R) aumenta de 0 a 2,4, o diâmetro médio das gotículas de microemulsão aumenta de 20 a 90 nm. Estes tamanhos das gotículas de microemulsão são consistentes com os obtidos pela técnica FF-TEM.

Figura 43 - Intensidade de espalhamento de luz das gotículas de microemulsão com fração de p-xileno de R = 0 (a); 0,1 (b); 0,2 (c); 0,3 (d); 0,4 (e); 0,8 (f); 1,6 (g); e 2.4 (h).



Fonte: Adaptado de Li e col (2009). O número entre parênteses representa o diâmetro médio em nm das gotículas para a amostra.

Percebe-se que os LIs possuem diferentes papéis nas misturas binárias e emulsões descritas na literatura. Emulsões de LIs com Tween 80 e Span 60 ainda não foram relatadas. Portanto, a formulação de sistemas contendo esses sais orgânicos e os surfactantes descritos ainda permanece em aberto. Para emulsões sem o LI, observou-se que o uso de ultrassom promove a estabilização, diminuição do tamanho e aumento da uniformidade das partículas. Porém o uso do US como método de alta energia nunca foi investigado no preparo de emulsões contendo LIs.

2.4 EMULSÕES CONTENDO O FÁRMACO FLUCONAZOL

O Fluconazol é um derivado do triazol usado para tratar infecções fúngicas superficiais e sistêmicas por administração oral.(LESHER JR, 1999) É absorvido de forma apreciável após administração oral com biodisponibilidade sistêmica acima de 90%. Após a administração oral (50 mg por dia, durante 12 dias ou 150 mg, uma vez por semana, durante 2 semanas). A concentração de Fluconazol na pele (Sub-cutânea (SC) e epiderme + derme) é maior que no soro e sua eliminação da SC é consideravelmente mais lenta que no soro ou plasma.(FAERGEMANN; LAUFEN, 1993; WILDFEUER et al., 1994) Embora os fungos e as células humanas sejam eucarióticas e sejam semelhantes em nível biológico, essa droga diferencia habilmente os dois. Este medicamento atua inibindo a enzima 14 α -desmetilase do citocromo P450 fúngico e, assim, impedindo a formação do componente essencial da membrana citoplasmática dos fungos, o ergosterol. O Fluconazol é ativo contra um amplo espectro de espécies de fungos que incluem *Blastomyces*, *Candida*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*, *Epidermophyton*, *Histoplasma*, *Microsporum* e *Trichophyton*. O medicamento é majoritariamente eliminado pela urina e, portanto, pacientes com insuficiência renal estão em risco de sobredosagem.(LIEW et al., 2012) Este medicamento não está protegido possui alta potência de interações medicamentosas. Por isso, é necessário formas de administração de que aumente a sua solubilidade e reduza as interações medicamentosas, a fim de melhorar a eficácia desse medicamento.(NIRMALA et al., 2013)

Uma das formas de melhorar a solubilidade e a eficácia do fluconazol é pela sua emulsificação. Alguns trabalhos relatam emulsões preparadas a partir do Fluconazol. Yadav e col. (2010) realizaram um trabalho em que o objetivo foi e preparar uma emulsão com nanopartículas com goma de cordia (polímero) e avaliar a liberação oftálmica de fluconazol. Uma emulsão A/O/A contendo fluconazol e goma de cordia em fase aquosa, cloreto de

metileno como fase oleosa, e dioctil sulfossuccinato de sódio e álcool polivinílico como emulsionantes primário e secundário, respectivamente, foi reticulada por técnica de gelificação iônica para produzir o fluconazol emulsionado.(YADAV; AHUJA, 2010) Maiti e col. (2009) prepararam microesferas de etilcelulose carregadas com fluconazol por tecnologia de emulsão facilitada por alginato (água-em-óleo)-em-água e os efeitos de várias variáveis de processamento nas propriedades das microesferas foram investigados. A microscopia eletrônica de varredura revelou a natureza esférica e a morfologia superficial suave das microesferas, exceto para aquelas preparadas em concentrações mais altas de emulsificantes e maiores velocidades de agitação. (MAITI et al., 2009)

Ayub e col. (2007) investigaram a penetração e permeação cutânea *in vitro* de Fluconazol a partir de emulsões contendo diferentes intensificadores de penetração. Nesse estudo, quatro emulsões de óleo em água foram preparadas utilizando agitação magnética.(AYUB et al., 2007) No preparo dessas emulsões, uma fase contendo Fluconazol dissolvido em Propilenoglicol ou Trancutol[®] foi vertida sobre uma fase de Carbomer 940, hidróxido de sódio, Laureth-3, miristato de isopropil ou óleo de parafina. A composição das quatro emulsões (A, B, C, D) é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição (em % massa/massa) de emulsões óleo/água contendo Fluconazol.

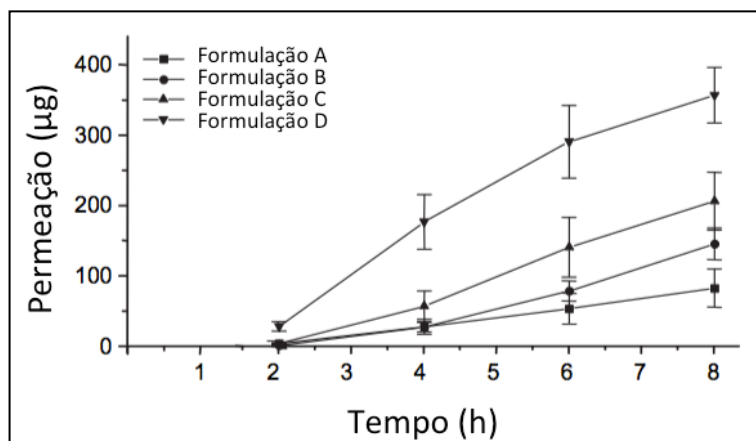
| Componentes | A | B | C | D |
|------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Óleo de parafina | 10 | 10 | - | - |
| Miristato de isopropil | - | - | 10 | 10 |
| Laureth-3 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Carbomer 940 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| NaOH | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,08 |
| Fluconazol | 1 | 1 | 1 | 1 |
| (PG) ^a | - | 10 | - | 10 |
| TCL ^b | 10 | - | 10 | - |
| Água | 100 | 100 | 100 | 100 |

^aPropilenoglicol, ^bTrancutol[®]

Inicialmente, os autores verificaram a solubilidade de Fluconazol em diversos solventes/veículos. Foi observado que a solubilidade do fármaco em água (5,5 mg·mL⁻¹) é baixa comparado com o PG (147 ± 1,0 mg·mL⁻¹) e TCL (146 ± 5,9 mg·mL⁻¹). Portanto, os dois álcoois foram selecionadas para dissolução e incorporação de fluconazol nas emulsões. Na ausência de PG ou TCL, o Fluconazol foi insolúvel nas emulsões (excesso sólido visível e presença de cristais), enquanto na presença desses solventes, o Fluconazol foi completamente

dissolvido (ausência de cristais). A partir desses resultados, os autores formularam as emulsões e verificaram a permeação dos sistemas na pele de camundongo. A permeação de Fluconazol na pele de camundongo é mostrada na Figura 44. A permeação de Fluconazol foi alta e variou de 15 a 65% da dose aplicada. A permeação após 8 horas de uma emulsão contendo miristato de isopropil e propilenoglicol (Formulação D) foi significativamente maior do que a observada nas outras formulações. Portanto, a permeação de Fluconazol das formulações C e D, ambas contendo miristato de isopropil como fase oleosa foi maior que a observada nas formulações A e B, nas quais o óleo de parafina foi utilizado. Além disso, as formulações contendo PG (B e D) apresentaram uma permeação maior, comparado com as formulações contendo TCL. A permeação da formulação B (PG) foi maior que a observada na formulação A (TCL), ambas contendo óleo de parafina na fase oleosa. Um fenômeno semelhante foi observado quando a formulação D foi comparada com a formulação C (ambas contendo miristato de isopropil como fase oleosa).

Figura 44 - Permeação cutânea in vitro de Fluconazol a partir de emulsões na pele de ratos.

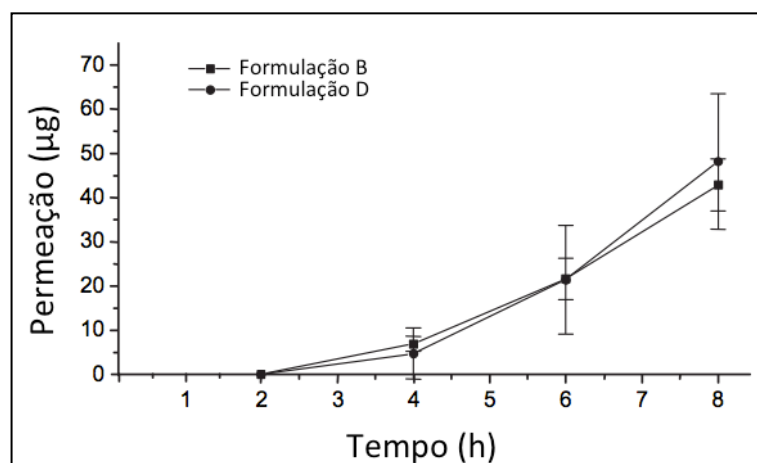


Fonte: Adaptado de Ayub e col.(2007).

Os resultados de penetração epidérmica mostraram que a formulação B (67 µg) apresentou resultados superiores comparados com as demais formulações, as quais apresentaram penetração na faixa de 30 µg. A penetração dérmica do Fluconazol das formulações B (19 ± 2 µg) e C (24 ± 11 µg) foi significativamente maior do que a observada nas formulações A (11 ± 3 µg) e D (13 ± 3 µg). Assim, a captação de Fluconazol na pele (epiderme e derme) foi maior na formulação B (óleo de parafina + PG), enquanto a permeação na pele foi maior na formulação D (miristato de isopropil + PG) em comparação com as das outras formulações. Portanto, as emulsões B e D foram selecionadas para os

experimentos com pele de porco, um modelo semelhante ao da pele humana. A permeação de Fluconazol das formulações B e D na pele de porco é mostrada na Figura 45. Foi demonstrado que a pele de camundongos é mais permeável que a de humanos ou de porcos. A permeação de Fluconazol após 8 horas da formulação D ($48 \pm 15 \mu\text{g}$) foi semelhante à observada na formulação B ($43 \pm 6 \mu\text{g}$). A penetração epidérmica ($59 \pm 6 \mu\text{g}$) e dérmica ($58 \pm 29 \mu\text{g}$) de Fluconazol da formulação D na pele de porco foi superior à observada na pele de camundongo ($28 \pm 6 \mu\text{g}$ e $13 \pm 3 \mu\text{g}$, respectivamente). Isso pode ser explicado pelo fato de que a permeação de Fluconazol da fórmula D na pele do camundongo foi de cerca de 60% da dose aplicada, enquanto a permeação na pele de porco foi de apenas 9%. Assim, foi observada uma diminuição significativa da concentração da droga no compartimento doador nos experimentos com pele de camundongo.

Figura 45 - Permeação cutânea in vitro de Fluconazol a partir de emulsões na pele de porcos.



Fonte: Adaptado de Ayub e col.(2007).

Portanto, os autores demonstraram que é possível a administração de Fluconazol por via tópica a partir de emulsões. Além disso, a penetração do fármaco na derme e epiderme obteve valores consideráveis comparado com a literatura.(FAERGEMANN, 1999)

Salerno e col. (2010) avaliaram a administração tópica de Fluconazol a partir de formas de dosagem tópicos tradicionais, como emulsão, lipogéis e emulgel, e um hidrogel à base de microemulsão. As influências de dois intensificadores de penetração na pele, propilenoglicol (PG) e Transcutol® (TCL) também foram investigadas em cada uma das formas de dosagem selecionadas. O principal objetivo desse trabalho foi determinar uma formulação com a capacidade de administrar todo o fármaco ativo e mantê-lo na pele. Nessa

revisão, serão discutidos apenas os resultados de microemulsão, emulsão e lipogel, uma vez que esses três sistemas estão relacionados com essa tese e mostraram os resultados mais promissores. (SALERNO; CARLUCCI; BREGNI, 2010)

As microemulsões foram preparadas a partir da técnica de agitação magnética. O Fluconazol, previamente dissolvido em TCL ou PG, foi adicionado à mistura surfactante-óleo de rícino e a agitação continuou até a homogeneização. Finalmente, um hidrogel à base de carboximetil celulose (CMC) foi pesado e adicionado à preparação. Composição das microemulsões é mostrada na Tabela 2.

Tabela 2- Composição das microemulsões estudadas por Salerno e col. (2010) (massa/massa em %).

| Componente | Microemulsão 1 (M1) | Microemulsão 2 (M2) |
|-------------------|----------------------------|----------------------------|
| CRH 40 | 15 | 15 |
| Óleo de ricino | 5 | 5 |
| PG | 10 | - |
| TCL® | - | 10 |
| CMC | 3 | 3 |
| FLuconazol | 1 | 1 |
| Água destilada | 100 | 100 |

Fonte: adaptado de Salerno e col. (2010)

As emulsões foram preparadas misturando a fase aquosa com a fase oleosa em um agitador de pá. Subsequentemente, foi adicionado Fluconazol, que foi previamente dissolvido em PG ou TCL. A constituição desse sistema é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição das emulsões estudadas por Salerno e col. (2010) (massa/massa em %).

| Componente | Emulsão 1 (E1) | Emulsão 2 (E2) |
|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Álcool cetostearílico | 5 | 5 |
| IPM | 10 | 10 |
| PG | 10 | - |
| TCL® | - | 10 |
| Parafina líquida | 10 | 10 |
| Cera auto-emulsificante não iônica | 10 | 10 |
| Fluconazol | 1 | 1 |
| Água destilada | 100 | 100 |

Fonte: adaptado de Salerno e col. (2010)

Os lipogéis foram preparados misturando-se inicialmente Cutina MD e óleo de jojoba. Após, foi adicionado Fluconazol que foi previamente dissolvido em PG ou TCL. A constituição desse sistema é mostrada na Tabela 4.

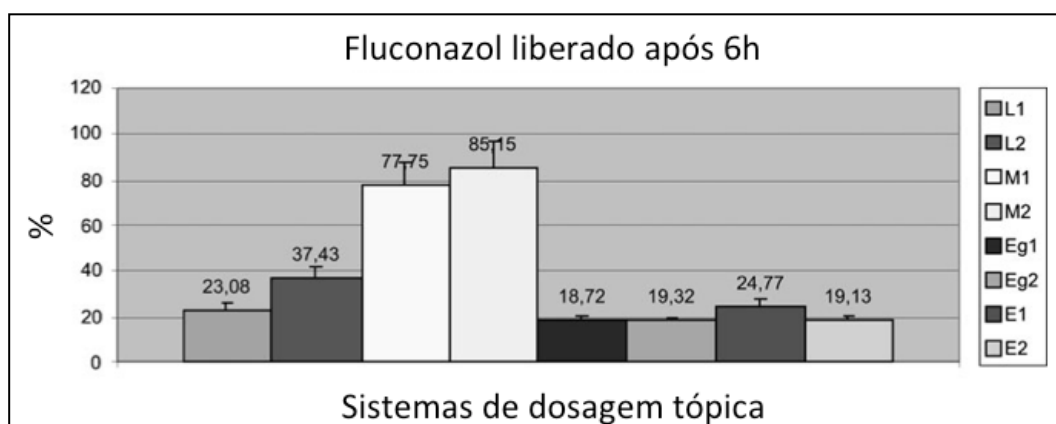
Tabela 4- Composição dos lipogéis estudados por Salerno e col. (2010) (massa/massa em %).

| Componente | Lipogel 1 (L1) | lipogel 2 (L2) |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| Cutina MD® | 20 | 20 |
| PG | 10 | - |
| TCL® | - | 10 |
| Óleo de Jojoba | 69 | 69 |
| Fluconazol | 1 | 1 |

Fonte: adaptado de Salerno e col. (2010)

Após o preparo dos sistemas, os autores averiguaram a viscosidade desses, uma medida fundamental para averiguar a possível aplicação dérmica. A viscosidade das formulações foi a seguinte: emulsão > lipogel > emulgel > microemulsão. Portanto, o sistema menos viscoso foi a microemulsão (17,5 e 18,5 mPa.s). Os autores avaliaram a liberação do fármaco após 6h. Foi observado que as microemulsões (M1 e M2) liberam a maior quantidade de fármaco comparado com os outros sistemas, os quais não tiveram diferenças significativas entre si. Os resultados da liberação total de fármaco são mostrados na Figura 46.

Figura 46- Liberação do fluconazol (após 6h) para todos os sistemas de liberação preparados por Salerno e col. (2010).

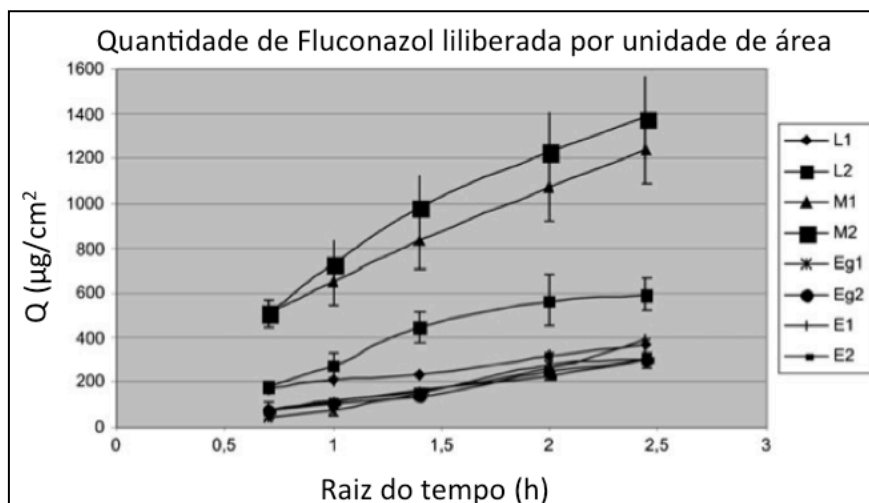


Fonte: adaptado de Salerno e col. (2010)

O perfil de liberação do fármaco, o qual é demonstrado pela relação de Q (quantidade acumulada liberada por área de superfície da membrana em $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) em função da raiz

quadrada do tempo, mostrada na Figura 47, segue o modelo linear de Higuchi.(SALERNO; CARLUCCI; BREGNI, 2010)

Figura 47- Quantidade de Fluconazol liberada por unidade de área para todos os sistemas de liberação estudados.



Fonte: adaptado de Salerno e col. (2010)

Após estes resultados de liberação *in vitro*, microemulsões e lipogéis foram considerados para avaliação posterior da absorção percutânea através da pele de porco. Os autores observaram que a permeação das microemulsões (13,91% para M1 e 2,9% para M2) foi inferior que a permeação dos lipogéis (42,65 para L1 e 44,49 para L2), os quais ainda tiveram menos da metade da dose aplicada permeada. Por outro lado, as microemulsões resultaram na forma de dosagem com maior capacidade de penetrar na pele de porco (86,09% para M1 e 97,09% para M2). Esta forma de dosagem também mostrou uma capacidade importante para manter o medicamento dentro das camadas da pele. As quantidades totais de fármaco que penetram na pele a partir de microemulsões foram dez e quatro vezes maiores que as encontradas com lipogéis. Os autores também realizaram a medida de tamanho de partícula e índice de polidispersão para as microemulsões. O tamanho médio das gotículas foi de 131 nm (índice de polidispersividade 0,564) e 238 nm (índice de polidispersividade 0,558) para M1 e M2, respectivamente.

Por fim, foi realizada a medida a atividade antifúngica dos sistemas ($\text{ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$). A microemulsão contendo TCL resultou ser a mais eficaz. Por outro lado, a microemulsão contendo PG só foi capaz de reduzir em um \log_{10} o número de ufc/mL no final do ensaio.

Portanto, a microemulsão com propilenoglicol demonstrou ter menos atividade antifúngica in vitro do que a do Transcutol®.

Foi observado pelos trabalhos aqui relatados, a importância em emulsionar o Fluconazol a fim de melhorar suas propriedades e otimizar as suas ações. Sendo assim, constatou-se que não há trabalhos na literatura contendo o fluconazol emulsionado apenas com LIs e nem o estudo de estabilidade dessas emulsões em diferentes técnicas de preparação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES

1-bromo-hexadecano, 1-bromododecano, 1-metilimidazol e fluconazol foram comprados na Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). A acetona (HPLC) foi adquirida da Vetec (Brasil) e usada sem purificação prévia. Água ultrapura (Milli-Q) foi usada em todas as soluções preparadas. Os triglicerídeos de cadeia média (TCM) foram adquiridos pelo óleo Ceres[®] MCT (Oberpfaffenhofen, Alemanha), o qual é derivado do óleo de côco. O PBS, adquirido pronto da Sigma-Aldrich, é uma mistura de NaCl (82 g), Na₂HPO₄ (10,5 g) e NaH₂PO₄ (3,55 g).

3.2 SÍNTESE DOS LIS

Os LIS foram sintetizadas a partir de metodologia descrita anteriormente na literatura e adaptadas em nosso laboratório.(FRIZZO et al., 2015; SHIROTA et al., 2011) Os LIS foram obtidos em uma única etapa a partir de uma reação de substituição nucleofílica (S_N2) entre o 1-metilimidazol e o respectivo brometo de alquila na proporção de 1:1 e sob aquecimento em acetonitrila (70 °C) por 24 horas. O solvente orgânico (acetonitrila), foi rotaevaporado sob pressão reduzida em um evaporador rotativo (banho termostático a 70 rpm e 65 °C). Os LIS foram então lavado com éter etílico em um Kitasato a fim de remover o possível excesso de reagente. Por fim, os LIS foram colocados na bomba sob vácuo (1x10⁻³ mbar) por 30 minutos à 25 °C a fim de remover a água adsorvida nos compostos sintetizados. O rendimento reacional para a síntese do C₁₂MIM[Br] foi de 78% e do C₁₆MIM[Br] foi de 85%. Todos os LIS foram caracterizados por espectrometria de massa com ionização por *electrospray* (ESI-MS), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C. O cálculo do EHL é feito a partir da divisão da massa molecular da porção hidrofílica do LI (numerador) com a massa molecular total do LI (denominador), o valor obtido é então multiplicado por 100 e dividido por 5, o qual é o valor corresponde ao composto orgânico de referência. (HOUGEIR; KIRCIK, 2012) Portanto, o EHL do C₁₂MIM[Br] é 5,34 e o EHL do C₁₆MIM[Br] é 4,36.

3.3 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES USANDO AGITAÇÃO MECÂNICA

As emulsões foram preparadas pelo método convencional por agitação mecânica, conforme a metodologia descrita na literatura. (DE SOUZA et al., 2016). Em um béquer de 50 mL foram dissolvidos 6,7 mL de acetona medidos em proveta de 20 mL, LI (5, 8 ou 12 mg), fluconazol (8 mg) e TCM (30 µL). A mistura foi submetida a agitação magnética a 40 °C durante uma hora. Separadamente, 13,3 mL de água medidos em proveta de 20 mL foram colocados em um béquer sob agitação magnética a 25 °C. Em seguida, a fase orgânica totalmente solubilizada foi vertida lentamente usando um funil e sob agitação moderada sobre a fase aquosa, a 25 °C. As suspensões foram mantidas sob agitação moderada durante 15 minutos a 25 °C. Em seguida, o solvente orgânico (acetona) foi evaporado da emulsão sob pressão reduzida em um evaporador rotativo (banho termostático a 60 rpm e 40 °C), atingindo um volume menor que 10 mL. Essa solução foi passada para um balão volumétrico de 10 mL e avolumou-se com água até atingir o volume final de 10 mL. Foram preparadas três emulsões contendo C₁₂MIM[Br] nas concentrações de 1,5 mM, 2,4 mM ou 3,6 mM e três emulsões contendo C₁₆MIM[Br] nas concentrações de 1,3 mM, 2,06 mM ou 3,1 mM. A água usada para preparar as soluções foi duplamente destilada e desionizada com água de qualidade Millipore (Elix-03, Barueri, Brasil; e Milli-Q, Molsheim, França).

3.4 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES POR ULTRASSOM

As emulsões foram preparadas em um ultrassom modelo SONICS VIBRA-CELL VCX 750 W, potência de 20 KHz e com cristais piezoelétricos de zircônio e titânio. Os reagentes utilizados e a quantidade deles foram os mesmos para a preparação das emulsões usando agitação mecânica. A temperatura dos experimentos foi controlada por um termopar e não excedeu 25 °C. A sonda utilizada nos experimentos continha um microtip de 6 mm e amplitude máxima de 75%. As amostras foram submetidas a amplitudes de 20% e 40%. O tempo em que as amostras foram submetidas ao ultrassom foi de 10 minutos. Depois disso, o solvente orgânico (acetona) foi removido sob pressão reduzida em um evaporador rotativo (banho termostático a 60 rpm e 40 °C), atingindo um volume final de 10 mL. Foram preparadas seis emulsões contendo C₁₂MIM[Br] nas concentrações de 1,5 mM, 2,4 mM ou 3,6 mM e seis emulsões contendo C₁₆MIM[Br] nas concentrações de 1,3 mM, 2,06 mM ou 3,1 mM, as quais foram submetidas em diferentes amplitudes do ultrassom (20% e 40%). O

equipamento de US utilizado está localizado no Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO) na UFSM, Santa Maria-RS.

3.5 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO MÉDIO DAS PARTÍCULAS E POLIDISPERSÃO (SPAN)

A determinação do tamanho das partículas e do Polidispersão (Span) (corresponde ao índice de polidispersão) foi realizada em um equipamento Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). Foram utilizados o índice de refração de partículas de 1,46 para o TCM e seu índice de absorção de partículas de 0,1. As análises foram realizadas em duplicata e 24 horas após a preparação das emulsões. As emulsões foram colocadas progressivamente em 200 mL de água ultra pura até atingir um índice de obscuração acima de 6%.

Span é uma medida de polidispersividade de gotículas de óleo e é definida como (Equação 7):

$$SPI = \frac{d_{09} - d_{01}}{d_{05}} \quad (7)$$

Onde: d_{01} , d_{05} e d_{09} as frações de gotículas com diâmetros menores que 0,1, 0,5 e 0,9, respectivamente. (CORNEC et al., 1998; SÁNCHEZ; PATINO, 2005) O tamanho das partículas é expresso pelo diâmetro de Sauter (D_{32}). Os resultados expressos neste trabalho são a média das medidas e os desvios padrão são mostrados pelas barras de erro presentes nos gráficos. As medidas foram realizadas no departamento de farmácia da UFSM

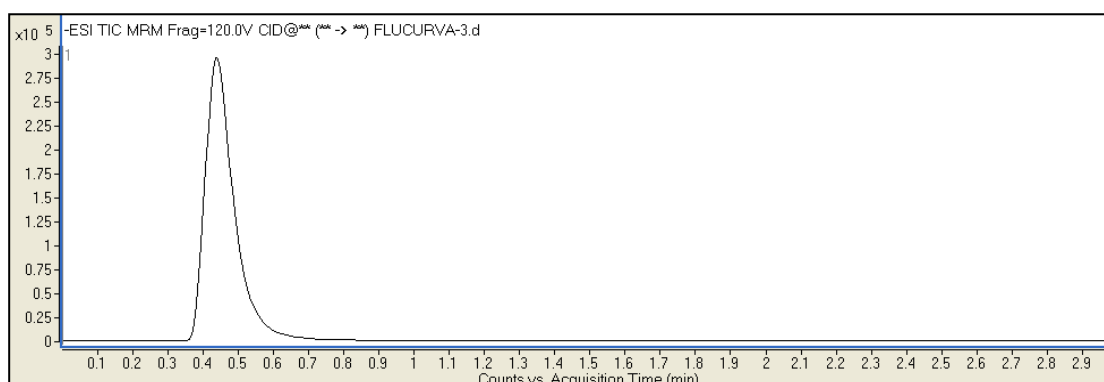
3.6 MEDIDAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA COM IONIZAÇÃO POR ELECTROSPRAY (LC-ESI-MS/MS) – QUANTIFICAÇÃO DO FLUCONAZOL

O LC-ESI-MS/MS foi adquirido com um espectrômetro de massas Agilent Technologies 6460 Triplo Quádruplo (LC-MS-MS) (Santa Clara, CA, EUA), operando no modo de íons positivo e negativo. A temperatura do gás foi de 300 °C, o fluxo do gás de secagem foi de 5 L·min⁻¹ e o nebulizador foi ajustado para 45 psi. A voltagem do capilar foi de 3500 V, enquanto a voltagem do fragmentador foi de 0 a 20V. O volume de injeção das soluções de LI de 5 µL e o fluxo da fase móvel foi de 0,6 mL·min⁻¹. O nitrogênio foi usado

como gás de nebulização e de colisão. A coluna cromatográfica utilizada foi Zorbax Extended-C18 com diâmetro de partícula de 1,8 micron e comprimento de 2,1x100 mm. A fase móvel foi composta de acetonitrila com 0,5% de $\text{NH}_4\text{CO}_2\text{H}$ /ácido fórmico e 5% de água e a corrida cromatográfica foi realizada com 100% desta solução em método isocrático. Os íons moleculares do fluconazol foram detectados usando os modos positivo e negativo. A polaridade negativa foi selecionada e o íon precursor monitorado foi m/z 305. Após a seleção do íon precursor, os íons produto foram monitorados com energia de 120V do fragmentador e energia de colisão de 0 e 10 eV. Os íons produto selecionados foram m/z 190,9 e m/z 68,2. A partir das energias otimizadas e dos íons selecionados, uma solução padrão de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fluconazol em acetona foi colocada e o tempo de retenção em que o medicamento apareceu foi monitorado. Depois disso, diferentes concentrações de uma solução padrão de acetona foram colocadas no equipamento para obter a linearidade do sistema. A validação do método de quantificação foi realizado de acordo com o documento de orientação do INMETRO.(INMETRO, 2016) Os parâmetros avaliados foram: exatidão, precisão, especificidade, linearidade, limites de detecção e quantificação e robustez.

Especificidade: Para confirmar a especificidade do método e a ausência de interferências no cromatograma, foi realizada a introdução de uma alíquota das emulsões no equipamento LC-ESI-MS/MS. Amostras sem a presença do fármaco também foram analisadas para confirmar a ausência de co-eluição de compostos. O cromatograma do ponto 3 da curva de fluconazol é mostrado na Figura 48.

Figura 48 - Cromatograma do ponto 3 da curva de fluconazol no modo MRM.



Linearidade: A linearidade foi determinada a partir da curva de calibração do fluconazol. Para esse fim, inicialmente foi preparada uma solução padrão do fármaco em acetonitrila na concentração de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e, em seguida, as soluções das curvas foram

preparadas em cinco concentrações. (3200, 1600, 800, 400 e 160 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). O desvio da linearidade não foi significativo ($P < 0,01$). A equação da curva (Equação 8) é mostrada abaixo e apresentou um coeficiente de correlação $r = 0,9945$.

$$y = 756,000020x + 838344,930395 \quad (8)$$

Limite de detecção (LoD) e limite de quantificação (LoQ): esses parâmetros foram calculados a partir da inclinação e do desvio padrão da interceptação de três curvas. Os valores calculados de LoD e LoQ foram: 40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e 130 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente.

Precisão intermediária: foi determinada por repetibilidade e precisão intermediária. Para verificar a repetibilidade, 6 injeções foram realizadas no mesmo dia e o desvio padrão foi calculado. Os desvios padrão encontrados estavam dentro do critério de aceitação de 5%. Para verificar a precisão intermediária, seis injeções foram realizadas em dois dias e o desvio padrão foi calculado. Os desvios padrão encontrados estavam dentro do critério de aceitação de 5%.

Precisão: a precisão do método foi calculada medindo-se uma solução padrão de concentração conhecida de fluconazol (1600 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). A amostra foi injetada seis vezes e as amostras foram quantificadas. A recuperação foi definida como a diferença entre a concentração experimental média encontrada e a concentração teórica. A recuperação estava dentro da faixa aceitável (70 - 120%).

Robustez do método: a robustez do método foi avaliada a partir da variação de dois parâmetros - fluxo da fase móvel e constituição da fase móvel. O fluxo foi alterado de 0,6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e a fase móvel alterou a composição da água, que passou de 0% a 20%. Ambas as alterações não alteraram significativamente o método.

3.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO (MET)

A morfologia das emulsões foi investigada com um microscópio eletrônico FEI-Morgagni 268D, operando a uma tensão de 80 kV. As amostras foram medidas a 25 °C em uma grade de cobre com revestimento de carbono holey. O equipamento está localizado na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS, Porto Alegre-RS).

3.8 VISCOSIDADE

Um reômetro Brookfield DV3T foi usado para realizar as medições de viscosidade das emulsões. As amostras foram colocadas em um copo de amostra e um eixo CPA-40Z acoplado ao sistema. A viscosidade foi medida a 25 °C controlada usando um banho termostático Brookfield TC-650. As medidas de viscosidade foram realizadas em 23 etapas, nas quais a viscosidade foi medida a cada 2 minutos, durante um tempo total de 46 minutos por medida. A taxa de cisalhamento aumentou com o tempo até atingir um valor final de 1000 s⁻¹. O copo de amostra e o *Spindle* foram lavados com água quente (80 °C) e acetona P.A. entre cada medição. As medidas foram realizadas no laboratório LEPOL da UFSM.

3.9 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO FLUCONAZOL

Inicialmente, uma solução estoque de PBS foi dissolvida em 1L de água ultrapura (Mili-Q). O pH foi monitorado usando um peagâmetro e ajustado para 7,2 com uma solução de NaOH 0,1M. O perfil de liberação da emulsão foi avaliado pela técnica de difusão do saco de diálise.(WUST et al., 2020) Inicialmente, 2 mL das emulsões foram transferidos para a membrana de diálise (membrana celulósica de largura plana 33 mm, St. Louis, MO, EUA), que após seu fechamento foi colocada em um béquer contendo 60 mL de solução ambiente (PBS pH 7,2 e 1% de Tween 80[®] em água ultra pura). Este sistema foi mantido em banho termostático (37 °C) 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 LC-ESI-MS/MS, de acordo com as condições cromatográficas previamente estabelecidas no estudo e descritas anteriormente. O volume retirado foi imediatamente substituído pelo meio de liberação para manter a condição sink, isto é, manter o fluconazol no meio de dissolução com uma concentração equivalente a até 10% da saturação.(WUST et al., 2020) O teste foi realizado para todas as emulsões estudadas. Para estudar o mecanismo de liberação de fluconazol a partir de emulsões, os dados foram ajustados usando o modelo biexponencial, de acordo com a Equação (9):

$$F=|F|_0(1 - ae^{-k_1t} - be^{-k_2t}) \quad (9)$$

Onde F denota a fração (%) do medicamento liberado, $|F|_0$ indica a fração inicial (%) do medicamento dentro dos sacos de diálise, k_1 e k_2 representam as constantes da taxa de liberação do modelo biexponencial. O experimento foi realizado no Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO) na UFSM, Santa Maria-RS.

3.10 EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAMENTO DO FÁRMACO FLUCONAZOL:

400 μL das emulsões foram colocados em Filtros de ultra centrifugação Amicon™ adquiridos da Merck™. Estes dispositivos contendo emulsão foram centrifugados a 5000 rpm por 10 min em uma microcentrífuga Sigma 1-14. Em seguida, 100 μL da solução passada através do filtro foram coletados e colocados em um frasco. O filtrado foi diluído com acetonitrila até o volume final de 1 mL. Finalmente, o fármaco fluconazol presente no filtrado foi quantificado por LC-ESI-MS/MS usando o método acima mencionado. Para determinar a quantidade total de fluconazol na emulsão, 100 μL da emulsão foram colocados em um frasco e diluídos com acetonitrila até um volume de 1 mL. A quantidade total de fármaco foi determinada por LC-ESI-MS/MS usando o método acima mencionado. A eficiência de encapsulação do medicamento Fluconazol foi calculada a partir da Equação 10.

$$EE(\%) = \frac{AM}{AM_{tot}} \cdot 100 \quad (10)$$

Onde: $EE(\%)$ = eficiência do encapsulamento; AM_{tot} = Quantidade total do fármaco na emulsão; $AM = AM_{tot} - AM_{na}$; AM_{na} = Quantidade de fármaco passado pelo filtro Amicon™ (fármaco não encapsulado). As análises foram realizadas em triplicata. As medidas foram realizadas no laboratório LEPOL da UFSM. O experimento foi realizado no laboratório de espectroscopia e polímeros (LEPOL) da UFSM, Santa Maria-RS.

3.11 ENERGIA DISSIPADA DOS MÉTODOS DE PREPARO:

A energia fornecida ao sistema foi determinada por método calorimétrico, conforme trabalho anterior. (KODA et al., 2003; KIMURA et al., 1996) A avaliação foi realizada em 20 mL de água, aplicando amplitude de 20% e 40% no US e AM por 10 minutos. A temperatura foi monitorada por um termômetro digital posicionado no meio da solução. A potência fornecida pelo US foi calculada pela Equação 11.

$$\text{Densidade de potência (W/dm}^3\text{)} = \left(\frac{dT}{dt} C_p M\right) / V \quad (11)$$

onde C_p é a capacidade calorífica da água ($4,2 \text{ J.g}^{-1}$), M a massa de água (g), dT/dt é o aumento de temperatura por segundo e V é o volume da solução (dm^3). A densidade de potência está relacionada ao meio de propagação e é considerada a quantidade de potência por unidade de volume.

3.12 DETERMINAÇÃO DAS INTERAÇÕES POR ESI-MS/MS:

Espectros de massa por ionização por *electrospray* (ESI-MS) foram adquiridos em um equipamento Agilent Technologies 6460 Triplo quadrupolo 6460 (LC/MS-MS) (Agilent Technologies, USA). A temperatura do gás foi de $300 \text{ }^\circ\text{C}$ e o fluxo de gás seco foi de 5 L min^{-1} . O nebulizador permaneceu em 45 psi. A voltagem do capilar foi de 3500 eV e do fragmentador 3 eV. Soluções de Fluconzol + TCM, Fluconazol + LI e LI + TCM na proporção 1:1 em acetona foram introduzidas a uma taxa de fluxo de $5 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$. Nitrogênio foi usado como gás de nebulização e como gás de colisão. Íons moleculares foram detectados usando o modo positivo e negativo, onde a razão m/z é dada para um dicátion e um ânion e, somente para um ânion. Os agregados aniônicos foram detectados no modo negativo e os agregados catiônicos foram detectados no modo positivo. O equipamento de LC/MS-MS utilizado está localizado no Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO) na UFSM, Santa Maria-RS.

3.13 DETERMINAÇÃO DAS INTERAÇÕES POR RMN ^1H

Os espectros de RMN ^1H foram registrados em um espectrômetro BRUKER AVANCE III 600 (^1H a 600,13 MHz) equipado com uma unidade BCU II para aquecimento/resfriamento da sonda (faixa de temperatura: 193,15-333,15K). Cada amostra de emulsão e dos componentes separados (1 mL) foi colocada em tubos de 5 mm e o respectivo solvente deuterado não precisou ser adicionado, uma vez que a emulsão foi preparada em D_2O . Os desvios químicos (δ) foram relacionados em parte por milhão (ppm) ao tetrametil silano (TMS). A temperatura da amostra foi de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e a resolução digital espectral será de $\pm 0,18 \text{ Hz/ponto}$. O número de scans foi 16 e não foi necessário realizar a supressão da água. O software utilizado para o tratamento dos dados foi o TopSpin® 4.0.

O equipamento de RMN utilizado está localizado no Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO) na UFSM, Santa Maria-RS.

3.14 DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIFUSÃO POR DOSY

Para confirmar as informações que foram obtidas no RMN ^1H , foram realizados experimentos de DOSY, os quais forneceram informações mais detalhadas a respeito das interações que ocorrem entre os componentes da emulsão. Os espectros de DOSY foram registrados em um espectrômetro BRUKER AVANCE III 600 (1H a 600,13 MHz) equipado com uma unidade BCU II para aquecimento/resfriamento da sonda (faixa de temperatura: 193,15-333,15K). Os LIs pesados (28 mg para o $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e 12 mg para o $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$) e foram colocados em tubos de 5 mm e o respectivo solvente deuterado (D_2O) foi adicionado. Foram obtidos espectros dos LIs puros e dos LIs com TCM. Sucessivas adições de óleo ocorreram nos seguintes volumes: 0,05 mL, 0,10 mL e 0,15 mL. Também foram realizadas misturas de LI + Fluconazol, em que foi adicionado 8 mg de Fluconazol ao LI puro. Os desvios químicos (δ) foram relacionados em parte por milhão (ppm) ao tetrametil silano (TMS) ou ao solvente e as correlações 2D foram realizadas e comparadas com os padrões isolados. A temperatura da amostra foi de 25 °C e a resolução digital espectral foi de $\pm 0,01$ ppm. O p30, que corresponde ao comprimento do gradiente de difusão, foi de 1800 μs e o d20, que corresponde ao tempo de difusão, foi de 0,05 s. A amplitude do gradiente foi de 2% a 98% e a sequência de pulso foi: *stebpgp1s*. O número de scans foi 16 e não foi necessário realizar a supressão da água. O software utilizado para o tratamento dos dados foi o TopSpin® 4.0. O equipamento de RMN utilizado está localizado no Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas (NAPO) na UFSM, Santa Maria-RS.

3.15 DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS EMULSÕES POR LUMiSizer

Para determinar a estabilidade das emulsões, inicialmente 200 μL das emulsões foram colocadas em um tubo de policarbonato com uma seringa. Após isso, os tubos de policarbonato foram colocados no equipamento *The High-End Dispersion Analyser* (LUMiSizer®) e foram centrifugados a 2000 rpm por 10 horas. As análises foram realizadas em duas temperaturas distintas (25 °C e 37 °C). A temperatura de 37 °C foi selecionada a fim de simular a temperatura do corpo humano. A partir da passagem de um laser com

comprimento de onda múltipla pelas amostras, foi medida a transmitância nas emulsões ao longo das 10 horas. Ao fim do experimento, observou-se a separação de fase das emulsões. Com essa técnica, além da estabilidade das emulsões, foi possível compreender a cinética de desestabilização dessas. As medidas foram realizadas no departamento de química da UNICAMP-SP.

3.16 ESTOCAGEM DAS EMULSÕES PREPARADAS

Uma alíquota de 5 mL de todas as emulsões estudadas foram guardadas em frascos âmbar, devidamente identificadas, vedadas com tampa e papel filme e colocadas em geleira na temperatura de $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Essas emulsões foram mantidas nessas condições durante o período de 6 meses. Após esse período, as emulsões foram colocadas em tubos de ensaio e os aspectos visuais foram avaliados, tais como: cor, opacidade, formação de precipitados e separação de fases.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Esta seção está subdividida em dois capítulos de acordo com os objetivos e resultados desta Tese. O primeiro capítulo trata dos resultados referente a obtenção dos LIs e sua caracterização, desenvolvimento da formulação das emulsões incluindo o uso de métodos de alta e baixa energia (agitação mecânica-AM e US) e a caracterização das emulsões quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão, eficiência de encapsulamento, viscosidade, cinética de liberação do fármaco e estabilidade da emulsão. O segundo capítulo trata dos resultados obtidos referente ao estudo e a elucidação das interações intermoleculares entre os componentes da emulsão.

4.1. CAPÍTULO 1: PREPARAÇÃO E PROPRIEDADES DAS EMULSÕES

4.1.1 Nomenclatura dos LIs e fármaco

Os líquidos iônicos utilizados neste estudo são constituídos por uma cabeça catiônica derivada do anel imidazólico, uma cadeia alquílica lateral e um ânion como contra-íon. O ânion estudado é o brometo. A cadeia lateral contém 12 e 16 carbonos. A nomenclatura adotada para estes compostos segue os critérios da IUPAC para hidrocarbonetos, de forma que a cadeia principal é a cadeia maior ligada ao anel imidazólico. A Figura 49 exemplifica a numeração dada à estrutura dos LI 1 e 2. As estruturas correspondentes de cada LI em particular foi mostrada na figura 2 e, a nomenclatura de acordo com a IUPAC está disposta na Tabela 5. Os LIs $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ foram escolhidos para este estudo devido a sua natureza anfífilica e suas propriedades emulsificantes. (ZIEMBOWICZ et al., 2017)

Figura 49 - Numeração dos átomos da estrutura dos LIs em estudo.

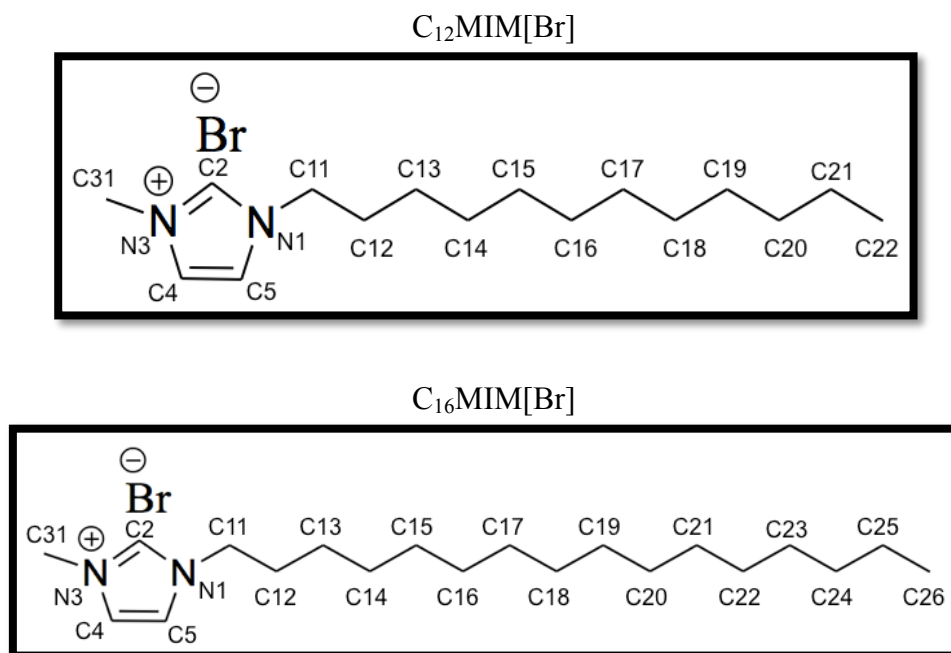


Tabela 5- Estrutura e nomenclatura dos LIs e fármaco.

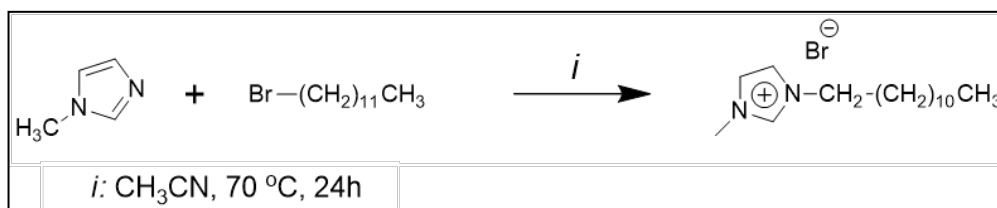
| Abreviatura | Nomenclatura |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| $C_{12}MIM[Br]$ | Brometo de 1-dodecil-3-metilimidazolilíneo |
| $C_{16}MIM[Br]$ | Brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazolilíneo |
| Fluconazol ^a | 2-(2,4-difluorofenil)-1,3-bis(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)propano-2-ol |

^aNão será abreviado.

4.1.2 Síntese e caracterização dos LI

Os LIs abordados neste trabalho foram sintetizados a partir de metodologias previamente descritas na literatura.(SHIROTA et al., 2011) Os LIs $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ foram obtidos em uma única etapa, através de uma reação de substituição nucleofílica entre o anel imidazolíneo e o haleto de alquila em uma proporção 1:1 para os monocatiônicos. Estes LI foram obtidos em aquecimento de acetonitrila por 24 horas sob refluxo (Figura 50).

Figura 50 - Esquema de síntese dos LI exemplificado pelo LI C₁₂MIM[Br].



Todos os LIs foram caracterizados por espectrometria de massa com ionização por *electrospray* (ESI-MS), ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C.

4.1.3 Espectroscopia de massa com ionização por *electrospray*

A espectrometria de massas também desempenha um papel significativo na caracterização e determinação das estruturas dos LI. (KOEL, 2005) Sendo um método de ionização suave, a ionização por *electrospray* é uma técnica aplicada à análise de moléculas não voláteis a partir da fase líquida e permite que moléculas ligadas através de interações não covalentes sejam detectadas através desse método. (NOHARA; OHKOSHI; SAKAI, 1998) Assim, torna-se uma ferramenta essencial na caracterização das estruturas dos LI em estudo, uma vez que o cátion e o ânion dessas estruturas estão interagindo eletrostaticamente. As interações dos cátions derivados do imidazolíneo com o ânion Br⁻ já foram demonstradas previamente, onde foi observado a formação de agregados aniônicos e catiônicos na fase gasosa. (HENNEMANN et al., 2018) A Tabela 6 demonstra os dados de fórmula molecular, massa molecular, massa monoisotópica e dados de espectrometria de massa obtidos para os LI. Na técnica de espectrometria de massas, a análise foi feita nos modos positivo e negativo no método SCAN, sem monitoramento de íons. No modo positivo, a massa monitorada foi correspondente a um cátion sem ânion. No modo negativo, a massa de dois ânions e um cátion foi monitorada. As interações intermoleculares que ocorrem entre os LIs e do LI com o fármaco serão mostradas na seção 4.2.

Tabela 6 - Fórmula molecular, massa molecular, massa monoisotópica e íon molecular obtido por espectroscopia de massa dos LIs 1-2 e fármaco fluconazol 3.^a

| Composto | Fórmula Molecular | Massa Molecular (g/Mol) | Massa Monoisotópica (g/Mol) | Íon Molecular (m/z) ^b | Íon Molecular (m/z) ^c |
|------------|---------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| LI 1 | C ₁₆ H ₃₂ BrN ₂ | 331,33 | 332,17 | 251,4 | 411,6 |
| LI 2 | C ₂₀ H ₄₂ BrN ₂ | 387,44 | 388,23 | 307,3 | 467,8 |
| Fluconazol | C ₁₃ H ₁₂ FN ₆ O | 306,27 | 306,10 | 307,4 | 305,0 |

^aOs dados espectroscópicos de massa foram adquiridos em um Espectrômetro de Massas Agilent Technologies 6460 Triplo Quadrupolo 6460 (LC/MS). ^bModo Positivo. ^cModo Negativo.

4.1.4 Ressonância magnética nuclear

Os dados de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C foram descritos para todos os LIs. Os deslocamentos químicos dos núcleos de ¹H e ¹³C estão de acordo com dados presentes na literatura, sofrendo pequenas variações em função da mudança do solvente, isso porque os experimentos de RMN de ¹H dos LIs apresentados na literatura, geralmente, são realizados em DMSO, no entanto, os dados de deslocamento químico apresentados nesse trabalho foram realizados em D₂O. (SHIROTA et al., 2011) Os dados de RMN de ¹H e ¹³C para os LIs são apresentados nas tabelas presentes no Apêndice A e os espectros podem ser visualizados nas Figuras 51, 52, 53 e 54. A partir das Figuras 51 e 53, foi possível observar que os hidrogênios do anel imidazolínico, aqueles ligados aos carbonos ligados ao anel e os hidrogênios ligados ao carbono da ponta da cadeia lateral foram prontamente identificados, sem qualquer sobreposição. Assim, para o LI C₁₂MIM[Br], os hidrogênios do CH₃ (H22) da ponta da cadeia alquílica geram um tripleto em δ 0,80, os hidrogênios do CH₂ (H11) ligado a cadeia alquílica e ao anel imidazolínico também geraram um tripleto em δ 4,26, já os hidrogênios ligados ao anel (H4 e H5) geram dupletos em δ 7,55 e δ 7,57, os hidrogênios ligados ao CH₃ (H31) que está diretamente ligado ao anel geraram um singlete em δ 3,93, já os hidrogênios metilênicos (H12-H21) presentes na cadeia principal estão sobrepostos no deslocamento químico próximo a δ 1,22. Agora, considerando o LI C₁₆MIM[Br], os hidrogênios do CH₃ (H26) da ponta da cadeia alquílica geraram um tripleto em δ 0,83, os hidrogênios do CH₂ (H11) ligado a cadeia alquílica e ao anel imidazolínico também geraram um tripleto em δ 4,26, já os hidrogênios ligados ao anel (H4 e H5) geraram singlete em δ 7,55, os hidrogênios ligados ao CH₃ (H31) que está diretamente ligado ao anel geraram um singlete em δ 3,93, por fim, os hidrogênios metilênicos (H12-H25) presentes na cadeia principal estão sobrepostos no deslocamento

químico próximo a δ 1,24. Por outro lado, no RMN de ^{13}C dos LIs foi possível a atribuição completa dos núcleos incluindo a cadeia alquílica. Dessa forma, para o LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$, o carbono (C22) da ponta da cadeia alquílica gerou sinal em δ 14,13, o carbono (C11) ligado a cadeia alquílica e ao anel imidazolíneo gerou sinal em 50,13, já os carbonos do anel imidazolíneo geraram sinal em δ 122,11 (C4), δ 123,94 (C5) e δ 137,02 (C2), o carbono da metila (C31) que está diretamente ligada ao anel gerou um sinal em δ 35,32, já os carbonos metilênicos (C12-C21) presentes na cadeia principal estão na região entre δ 29,32 e δ 14,13. Já para o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$, o carbono (C26) da ponta da cadeia alquílica gerou sinal em δ 14,29, o carbono (C11) ligado a cadeia alquílica e ao anel imidazolíneo gerou sinal em 50,33, já os carbonos do anel imidazolíneo geraram sinal em δ 122,14 (C4), δ 123,95 (C5) e 137,43 (C2), o carbono da metila (C31) que está diretamente ligada ao anel gerou um sinal em δ 31,30, por fim, os carbonos metilênicos (C12-C25) presentes na cadeia principal estão na região entre δ 14,29 e 30,50.

Figura 51 - RMN ^1H LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$.

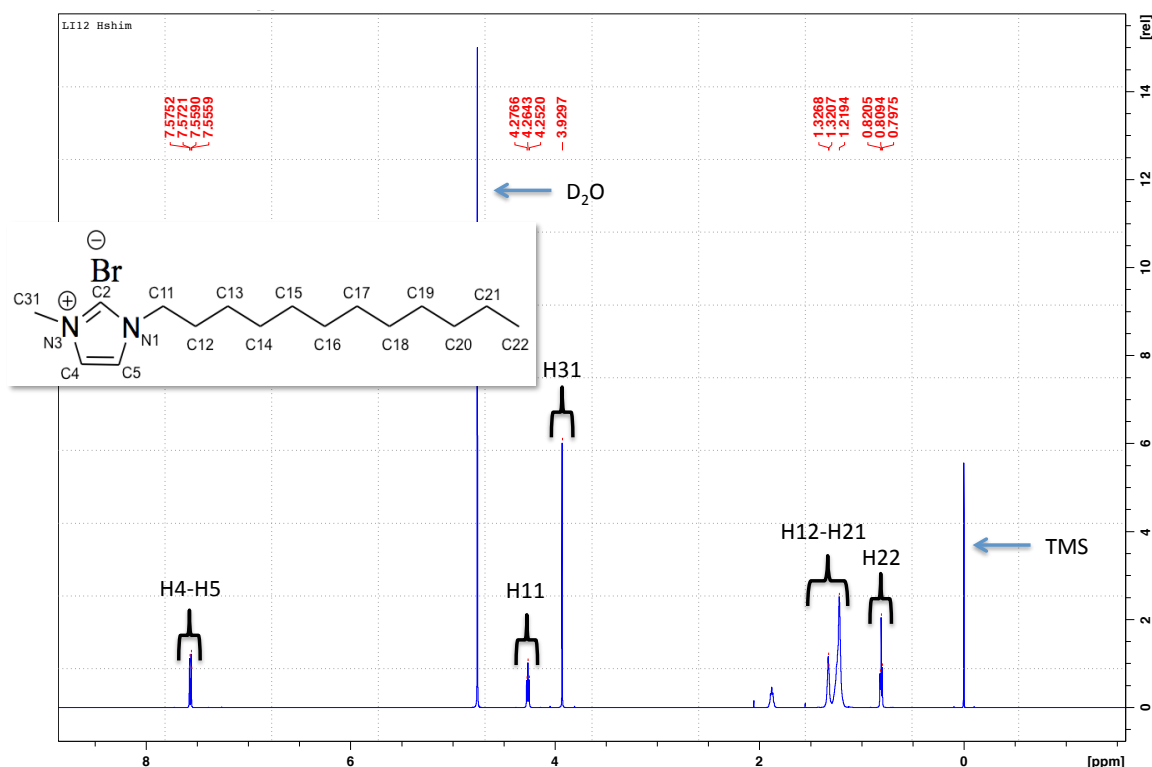


Figura 52 - RMN ^{13}C LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$.

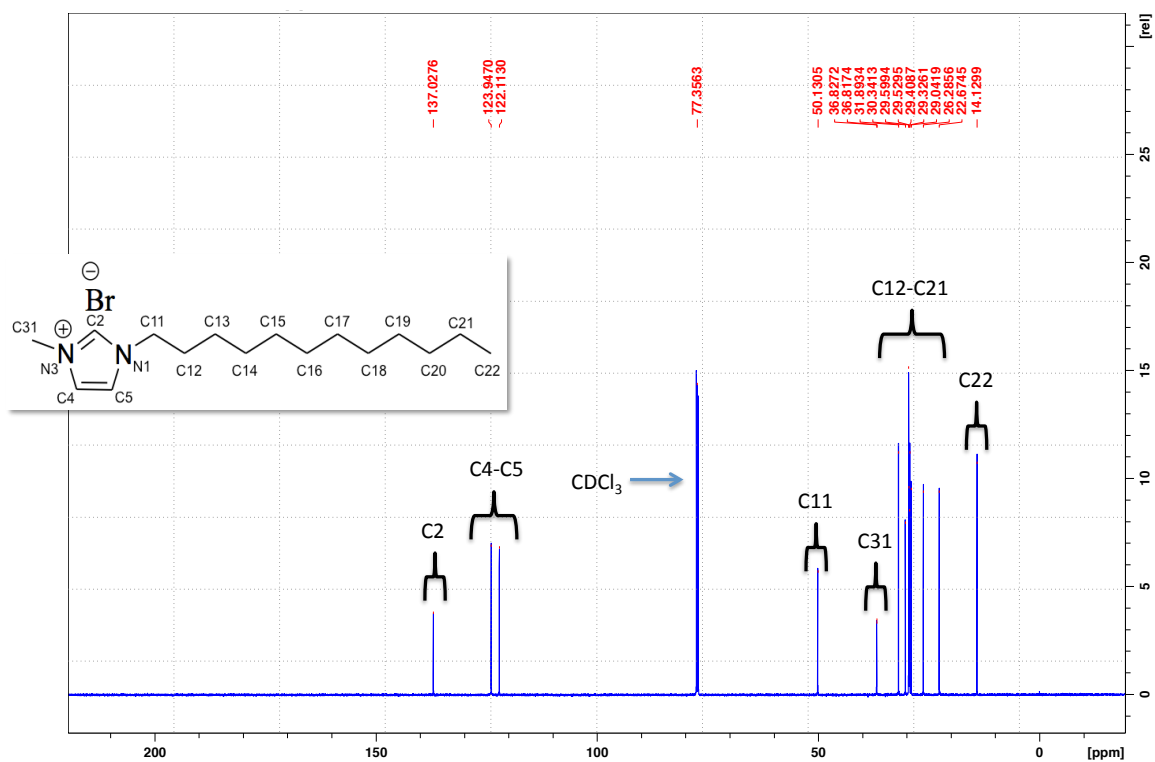


Figura 53 - RMN ^1H LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$.

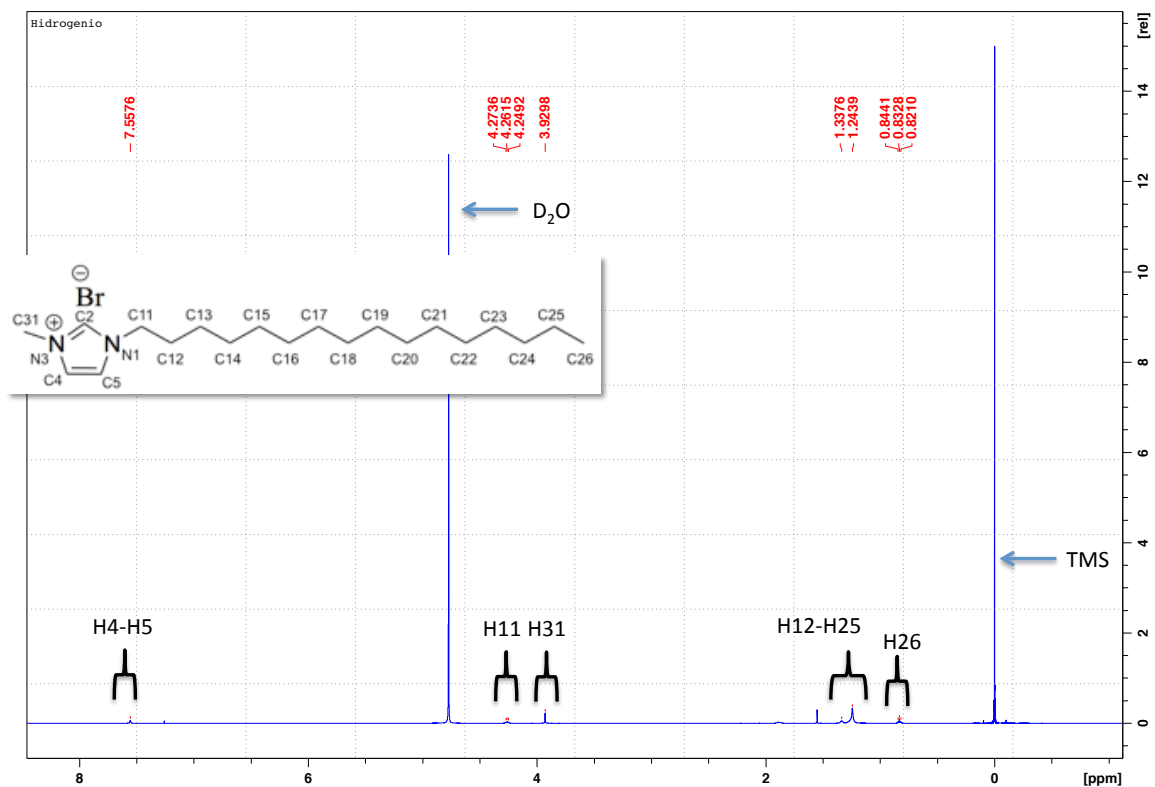
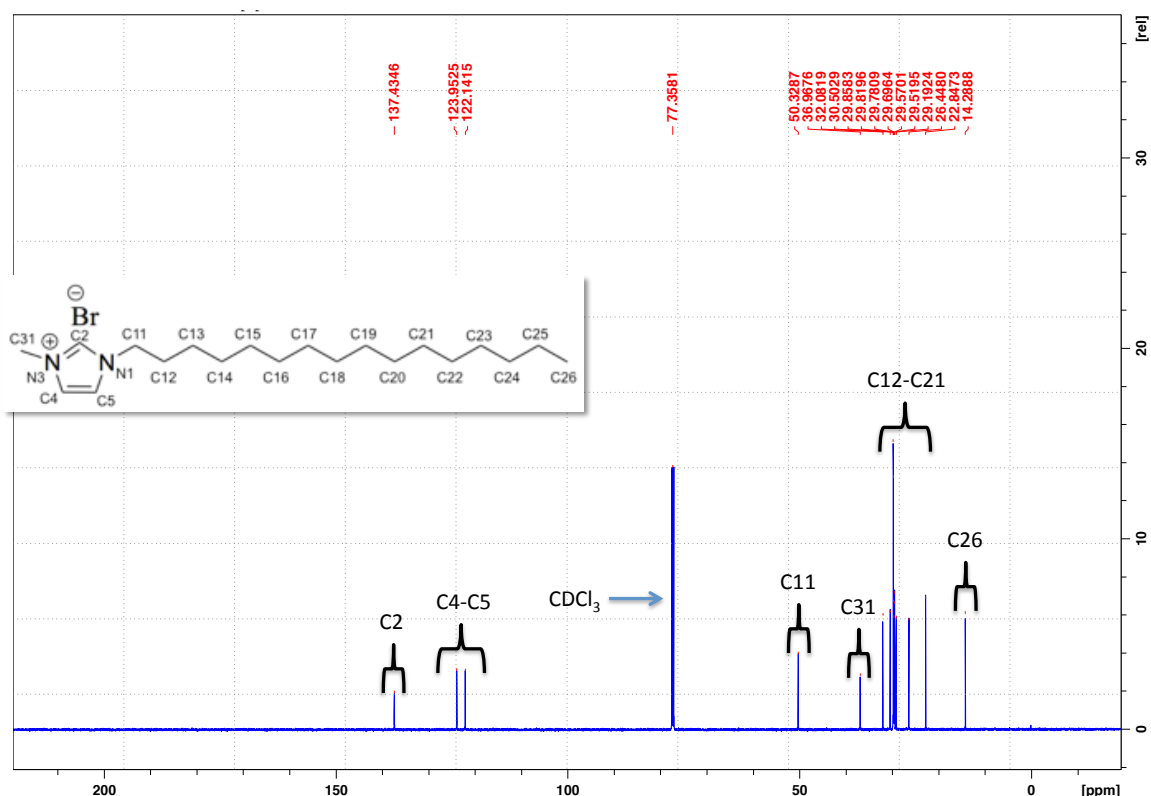


Figura 54 - RMN ^{13}C LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$.



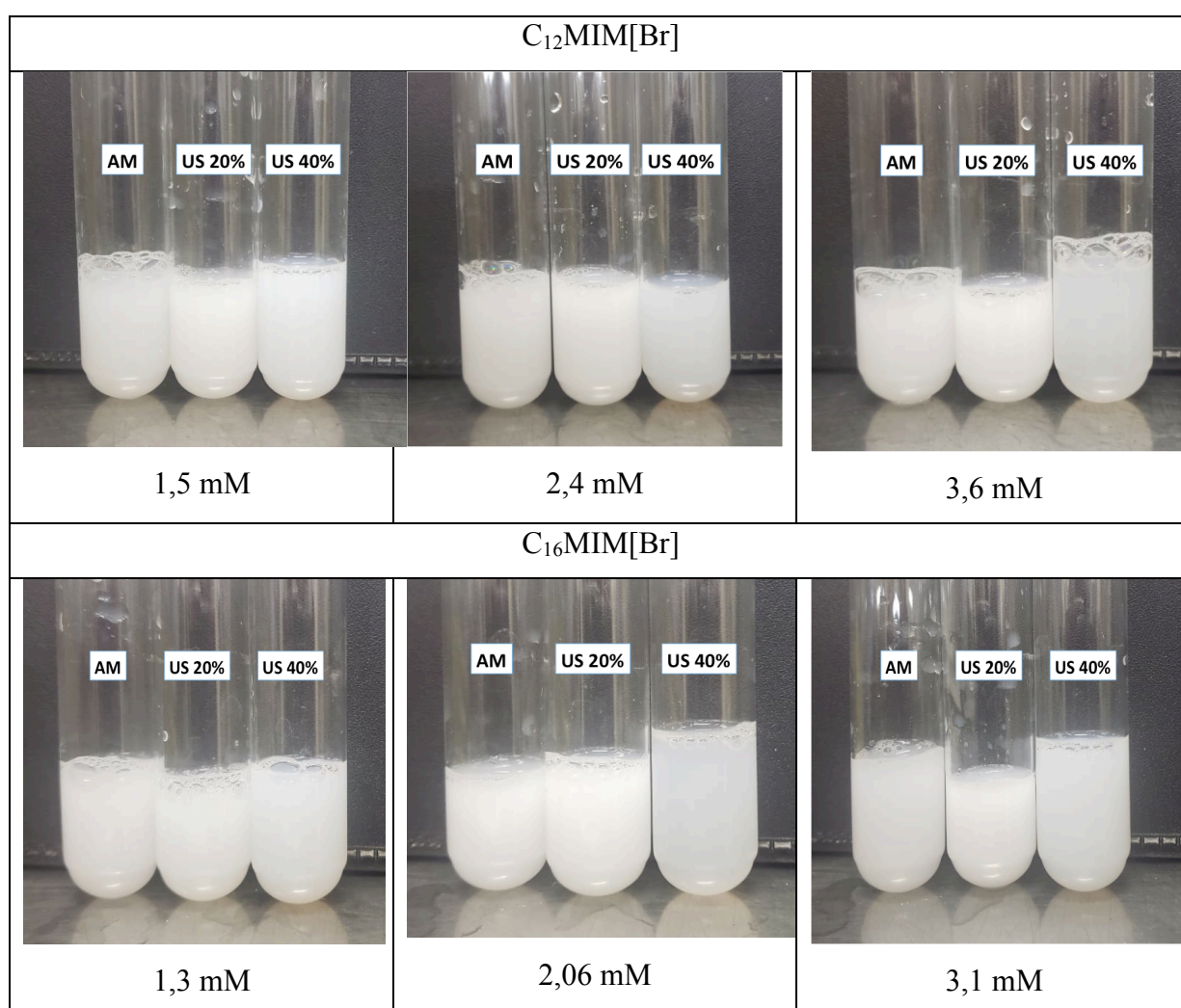
4.1.5 Descrição das emulsões preparadas e características visuais das emulsões nos diferentes métodos de preparo e diferentes concentrações

As 18 emulsões preparadas por AM, US 20% e US 40% contém o LI, água, fluconazol e TCM. Todos os sistemas possuíam volume final de 10 mL e a concentração de TCM e fluconazol foram de 14,38 mM e 26,12 mM respectivamente. Foram preparados sistemas com 1,5, 2,4 e 3,6 mM de $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e 1,3, 2,06 e 3,1 mM de $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ em AM, US 20% e US 40%, totalizando 18 sistemas. A escolha pelas concentrações dos LIs nas emulsões foi baseada na CMC do LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ em água. Dessa forma, o LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ possui CMC de 8,5 mM (DONG et al., 2007) e LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ tem CMC de 0,6 mM, (VANYÚR et al., 2007) portanto nas emulsões preparadas foi adicionado o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ acima da CMC e do LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ abaixo da CMC. Assim os dados das emulsões também podem ser interpretados considerando a CMC dos LIs.

As 18 emulsões preparadas apresentaram as mesmas características quando visualizadas a olho nu (cor, homogeneidade e estabilidade). Todas elas obtiveram a coloração branca após o preparo e a homogeneidade do sistema foi percebida durante todo o período de

estocagem (6 meses). A Figura 55 demonstra as emulsões contendo os LIs $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ preparadas por agitação mecânica e ultrassom com 20% e 40% de amplitude. Nas emulsões com 1,5 e 3,6 mM do LI $C_{12}MIM[Br]$, foi visível a diminuição da opacidade do sistema quando o preparo dessas ocorre no US com 40% de amplitude. O mesmo fenômeno é observado para a emulsão contendo 2,06mM do LI $C_{16}MIM[Br]$. A diminuição da opacidade pode ser atribuído a diminuição da tamanho de partícula das emulsões preparadas no US.

Figura 55 – Imagens das emulsões com LI $C_{12}MIM[Br]$ (1,5, 2,4, 3,6 mM) e LI $C_{16}MIM[Br]$ (1,3, 2,06, 3,1 mM) preparadas por AM, US 20% e US 40% estudadas após 6 meses de preparação.



4.1.6 Influência da energia do ultrassom nas emulsões

Para avaliar a influência da sonicação na emulsificação, a potência fornecida foi estimada por calorimetria seguindo um trabalho anterior.(KODA et al., 2003; KIMURA et al., 1996) Quando a calorimetria foi aplicada à sonda ultrassônica na amplitude de 20%, a densidade de potência foi 265 W/dm^3 , enquanto a densidade de potência encontrada para a sonda ultrassônica na amplitude de 40% foi 307 W/dm^3 . Esse resultado está de acordo com o trabalho de Prasad e col., que mostra que a potência aumenta com o aumento da amplitude. (PRASED et al., 2010) Esses valores altos são comuns para sondas US, que podem ser úteis para fornecer intensidades mais altas.(CRAVOTTO; CINTAS, 2006) A densidade de potência encontrada para AM foi de apenas 21 W/dm^3 , um valor bem abaixo da potência encontrada para US 20% e 40%. Esta grande diferença na potência entregue ao sistema para os diferentes métodos está de acordo com trabalhos anteriores.(SANTOS et al.,2018) As diferenças na energia entregue ao sistema encontradas para os diferentes métodos de preparação podem explicar as diferenças encontradas para as propriedades que serão discutidas abaixo.

4.1.7 Dependência do diâmetro das partículas na preparação de emulsões usando AM e US

A dependência do tamanho de gota com método de preparação de emulsões contendo $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ é mostrada na Figura 56. O tamanho de gota de emulsões preparadas usando US, independentemente da amplitude usada, é sempre menor do que aqueles de emulsões preparadas por AM para emulsões na mesma concentração de LI. Além disso, há mudanças significativas no tamanho da gota quando a amplitude do US aumenta de 20% para 40% para as emulsões com o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$, já para os sistemas com $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ o desvio padrão coloca todos os sistemas dentro da mesma faixa. Essa observação está de acordo com a pesquisa de Abismaïl et al (1999), onde os autores compararam as emulsões de óleo em água produzidas por AM e US usando o sistema modelo: água/querosene/monoestearato de sorbitano polietoxilado.(ABISMAÏL et al., 1999) Em contraste, quando se considera as emulsões preparadas com $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$, um aumento no tamanho das gotas foi observado com o aumento da amplitude do US. Esse resultado sugere que o US permite que as gotículas tenham maior quantidade de LI ao redor da fase lipídica. O

US fornece energia para que se vença as barreiras estéricas, talvez por mudanças conformacionais forçadas, que faz com que se acomode maior número de moléculas de LIs ao redor das gotículas, logo o sistema apresenta maior estabilidade após formado. Contudo, em valores elevados de amplitude de US, pode estar ocorrendo o equilíbrio entre a fase emulsificada e livre das espécies presentes, pois a energia de US neste caso seria muito maior do que a necessária para a formação das estruturas coloidais estáveis. No entanto, essa constatação só é válida para a menor concentração de LI (1,5 mM), pois para os demais sistemas os valores são matematicamente os mesmos. Outra possibilidade para explicar esse resultado, está baseada no fato do US (40%) desestabilizar o sistema. Esse fato está de acordo com o que foi demonstrado anteriormente na literatura por Wu (2007), em que um excesso de energia na emulsificação de US que pode causar instabilidade, pois as gotículas na nanoemulsão podem colidir e formar uma gota maior.(WU, 2007) Ainda considerando as emulsões com C₁₂MIM[Br], quando considera-se o método US (a 20% e 40%) e se analisa a dependência do tamanho da gota com a concentração de LI, observa-se na Figura 53 (a) que conforme a concentração de LI aumenta, a o diâmetro da partícula diminui.

Esses resultados concordam com os encontrados para sistemas preparados por Kobayashi e col. (2015), em que a irradiação ultrassônica sequencial de baixa e alta frequência foi utilizada para preparar emulsões de tolueno/água.(KOBAYASHI et al., 2015) Os autores observaram que o aumento da concentração de surfactante diminui o tamanho da gota. Um aumento na quantidade de surfactante permite um aumento na área de superfície do sistema e, portanto, uma redução no tamanho da gota. Nessa tese, essa tendência não foi observada para emulsões preparadas pelo método de AM, onde o aumento na quantidade de surfactante não necessariamente diminui o tamanho da partícula. Por exemplo, a emulsão de 2,4 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparada por AM, apresenta tamanho de partícula maior que a emulsão com 1,5 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparada por AM. Peshkovsky et al. (2013) otimizaram o valor de equilíbrio lipofílico hidrofílico (EHL) de dois emulsificantes (Tween 80 e Span 80), concluindo que o EHL é um fator importante para preparar o tamanho mínimo de gota.(PESHKOVSKY; PESHKOVSKY; BYSTRYAK, 2013) Os autores demonstraram que dependendo da proporção de surfactante, o tamanho da gota pode aumentar ou diminuir. Portanto, este é um dos fatores que devem ser considerados para explicar os resultados obtidos nesta parte do trabalho.

O tamanho de gotícula das emulsões contendo LI C₁₆MIM[Br] preparadas no US apresentou diâmetro de partícula menor do que as emulsões preparadas em AM, na mesma

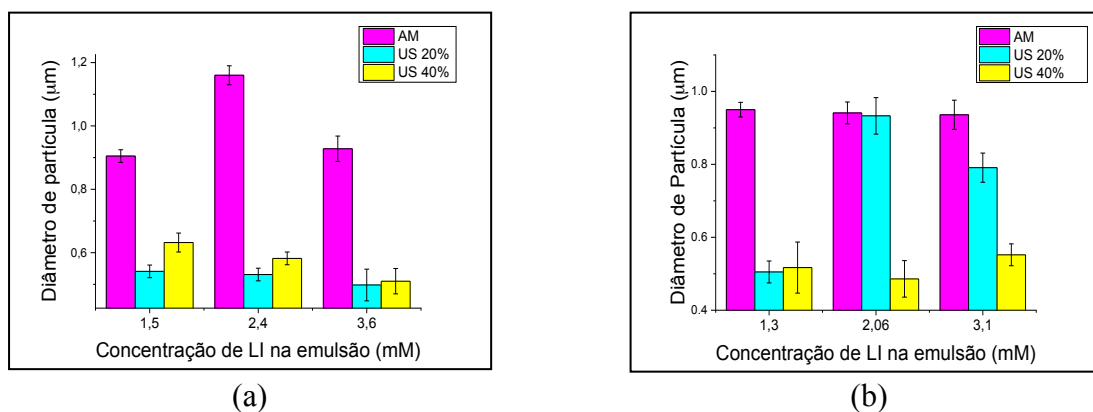
concentração de LI. Ao contrário das emulsões contendo C₁₂MIM[Br], uma diminuição significativa ($p > 0,05$) no tamanho das gotas foi observada quando a amplitude aumenta de 20% para 40% nas emulsões preparadas por C₁₆MIM[Br], o que pode estar correlacionado com a capacidade de vencer a barreira estérica devido ao aumento da cadeia alquílica. Neste caso, mesmo aumentando a amplitude do US é difícil reestabelecer o equilíbrio da forma livre o que sugere que é necessário 40% de amplitude para alcançar a forma coloidal nos sistemas em questão. Apenas para emulsões preparadas com 1,3 mM de LI C₁₆MIM[Br] um ligeiro aumento no tamanho de gota foi observado com amplitude crescente de 20% a 40%, porém esse aumento está dentro do desvio calculado. Esses resultados sugerem que um aumento na amplitude não desestabiliza a emulsão contendo C₁₆MIM[Br]. Quando se analisa o tamanho das gotas da emulsão preparada por AM com C₁₆MIM[Br], observou-se que o tamanho das gotas é praticamente constante quando a concentração de LI aumenta e pequenas variações não podem ser consideradas ($p < 0,05$). Assim, esses últimos resultados não corroboram os encontrados por Peshkovsky et al. (2013), em que foi demonstrado variação no tamanho de gota com o aumento de surfactante. (PESHKOVSKY; PESHKOVSKY; BYSTRYAK, 2013)

Pelos gráficos também foi possível observar que as partículas formadas com C₁₂MIM[Br] possuem tamanho menor comparado com as partículas formadas por C₁₆MIM[Br] nas maiores concentrações formuladas. Esse fato pode estar associado ao fator de empacotamento p , o qual depende da geometria da molécula de surfactante. Esse fator de empacotamento é calculado pela Equação 12. (VAN OSS, 1992)

$$p = \frac{V_h}{A.l} \quad (12)$$

Onde V_h é o volume da parte hidrofóbica, A é área da cabeça polar e l é comprimento da cauda.

Figura 56 - (a) A variação do diâmetro de partícula de emulsões preparadas por AM e US contendo (a) $C_{12}MIM[Br]$ e (b) $C_{16}MIM[Br]$.



4.1.8 Dependência da polidispersão (Span) de partículas na preparação de emulsões usando AM e US

A polidispersão (Span) refere-se à uniformidade das partículas, portanto, considera-se que quanto menor a polidispersão (Span), mais partículas do mesmo tamanho estão presentes no sistema e mais estável é o sistema. (MIRHOSSEINI et al., 2008) A polidispersão (Span) das emulsões preparadas por AM e US contendo $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ é mostrado na Figura 57. A polidispersão (Span) dos experimentos relatados aqui é representada pelo parâmetro Span, usado no software Mastersizer. (INSTRUMENTS, 2000) Resultados para emulsão preparada com $C_{12}MIM[Br]$ mostraram que o índice de Span é menor para emulsões preparadas por US do que para AM, em todas as concentrações de LI. No entanto, a polidispersão (Span) aumenta ligeiramente e não significativamente ($p < 0,05$) quando a amplitude do US aumentou de 20% para 40%, sugerindo que um aumento na amplitude não afeta o sistema. Conforme explicado anteriormente, o aumento de energia no sistema pode levar as partículas a colidirem, podendo aumentar de tamanho e, conseqüentemente, aumentar a polidispersão (Span), mas esses fenômenos (polidispersão (Span) e tamanho da gota) nem sempre estão relacionados. (WU, 2007) Além disso, o aumento da energia faz com que seja vencida a barreira estérica e haja a formação da micela. Esses resultados corroboram com a tendência do tamanho das gotas observada para o $C_{12}MIM[Br]$, em que o tamanho das gotas aumenta com o aumento da amplitude do US. Quando a emulsão foi preparada usando US, observa-se que a polidispersão (Span) permanece constante à medida que a concentração de LI $C_{12}MIM[Br]$ aumenta. Isso sugere que o aumento na concentração de LI não influencia o

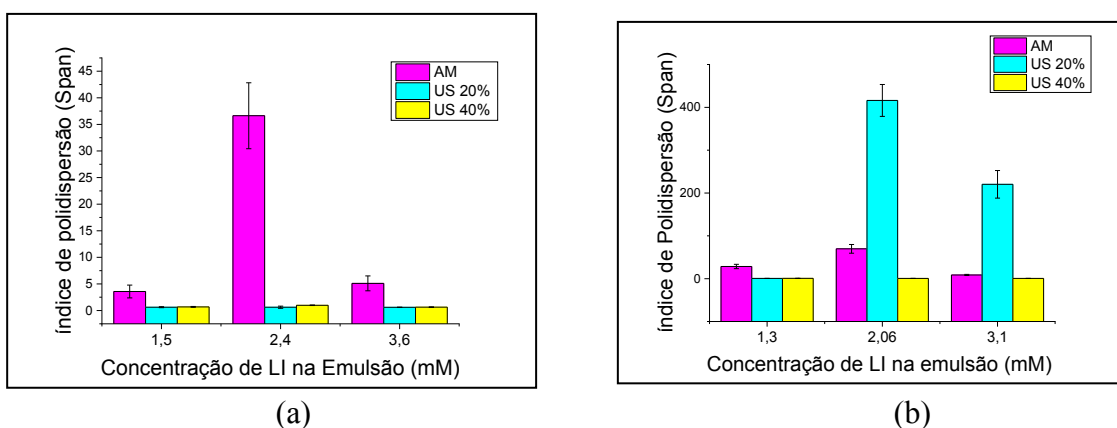
tamanho das gotas de emulsões com $C_{12}MIM[Br]$. A mesma tendência não foi observada para emulsões preparadas por AM, em que a polidispersão (Span) aumenta (na concentração de 2,4 mM) e depois diminui (na concentração de 3,6 mM) para as emulsões com LI $C_{12}MIM[Br]$, já para os sistemas preparados com US 40%, a polidispersão (Span) é constante. Esses resultados também corroboram com os resultados do diâmetro de partícula para essas emulsões.

A variação na polidispersão (Span) de emulsões contendo $C_{16}MIM[Br]$ na concentração de 2,06 e 3,1 mM preparadas usando US em 20% de amplitude apresentaram maior polidispersão (Span) do que os análogos na mesma concentração preparados usando AM. Esse resultado foi surpreendente e não esperado, uma vez que não corrobora com os dados já disponíveis na literatura. (TAN et al., 2016) Esse resultado pode estar relacionado ao fato de que não se consegue vencer a barreira estérica para se alcançar um máximo de moléculas de LI envolvendo a gotícula de TCM, portanto a micela fica instável e pode de associar a outras, elevando o índice Span. Além disso, pode ter mais LI livre em baixa amplitude 20%, formado micelas de LI de tamanhos variados. No entanto, a polidispersão (Span) para emulsões preparadas em US com amplitude de 40% são sempre menores do que a polidispersão em emulsões preparadas em US 20% e AM. A redução do tamanho de gota foi observada para essas mesmas emulsões, mostrando que a emulsão contendo $C_{16}MIM[Br]$ preparada em alta amplitude de US (40%) resulta em melhores propriedades para a emulsão. A redução do tamanho da partícula com o aumento da amplitude (de 20 para 40%) para o $C_{16}MIM[Br]$ está associada ao fato de se ter trabalhado acima da CMC e por isso pode-se ver claramente o efeito do US. O controle do tamanho da gota e da uniformidade para projetar as propriedades dos produtos é essencial para produzir uma emulsão mais estável com tamanho de partícula menor, uma vez que as emulsões são usadas em muitos campos industriais, como nas reações de polimerização, cosméticos, tinta, alimentos e entre outros. (KOBAYASHI et al., 2015) Na área cosmética, por exemplo, emulsões com tamanho de gotícula muito pequeno e alta área de superfície, tem um efeito bioativo considerável, permitindo uma penetração rápida e eficiente na pele. (HOUGEIR; KIRCIK, 2012)

A alta polidispersão (Span) encontrada para emulsões contendo LI $C_{16}MIM[Br]$ preparadas por US 20%, pode ser explicada pelo fato de que este LI tem um CMC menor do que LI $C_{12}MIM[Br]$. (LIU et al., 2011) Sendo assim, o $C_{16}MIM[Br]$ forma agregados em concentrações menores que o $C_{12}MIM[Br]$ e a auto-agregação do $C_{16}MIM[Br]$ pode estar ocorrendo simultaneamente à formação da emulsão, o que aumenta a polidispersão (Span).

Em outras palavras, partículas de auto agregação de LI e partículas da emulsão (LI/TCM/Fármaco) podem estar presentes no sistema aquoso. Por fim, verifica-se que 20% de amplitude não é necessário para vencer a barreira estérica do LI C₁₆MIM[Br] em altas concentrações, assim muito LI pode estar livre a seus agregados levando a índices Span elevados.

Figura 57 - A polidispersão (Span) de emulsões preparadas por AM e US contendo (a) C₁₂MIM[Br] e (b) C₁₆MIM[Br].



4.1.9 Dependência da eficiência do encapsulamento com a cadeia alquílica lateral do LI e o método de preparação das emulsões.

A eficiência de encapsulamento (EE%) é definida como a razão entre a concentração de fármaco encapsulado e a concentração total de fármaco adicionada (encapsulado + livre). EE% das emulsões com fluconazol foi calculada para todas as formulações usando LC-ESI-MS/MS de acordo com o método descrito na Seção Experimental. Os resultados estão resumidos na Tabela 7 e Apêndice G. Considerando as emulsões contendo C₁₂MIM[Br], a emulsão com 3,6 mM de LI e preparada usando US (20%), apresentou eficiência de encapsulação semelhante à mesma emulsão preparada usando AM. Emulsões contendo 2,4 mM de LI, o uso de US melhorou em cerca de 20% a eficiência de encapsulação em relação à emulsão preparada por AM. Por outro lado, emulsões contendo 1,5 mM de LI com o uso de US diminuem a eficiência de encapsulamento. Para todas as emulsões contendo LI C₁₂MIM[Br] preparadas em US 40%, uma maior eficiência de encapsulamento foi sempre percebida em comparação com as emulsões preparadas por AM, considerando a mesma concentração. De maneira geral, pode-se inferir que as emulsões contendo 3,6 mM de LI

C₁₂MIM[Br] apresentaram as melhores eficiências em comparação às demais concentrações adicionadas. Portanto, um aumento da concentração de surfactante melhorou a eficiência d encapsulamento nesse caso.

Tabela 7 - EE (%) de emulsão de fluconazol para cada concentração de LI.

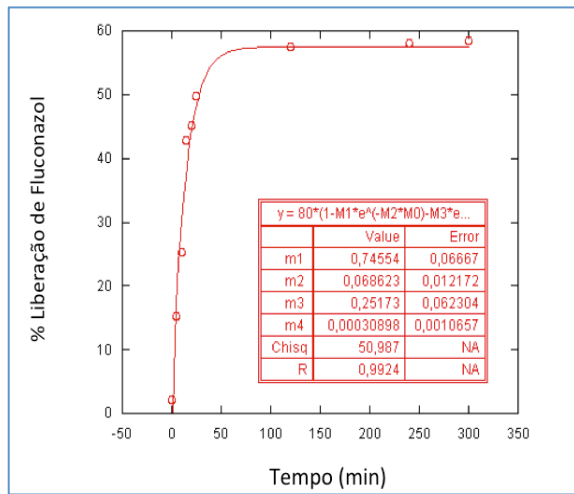
| | 1,5 mM | 1,3 mM | 2,4 mM | 2,06 mM | 3,6 mM | 3,1 mM |
|------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] |
| AM | 54 ± 8,75 | 93 ± 3,80 | 51 ± 2,66 | 51 ± 7,57 | 74 ± 2,04 | 10 ± 2,05 |
| US20 | 32 ± 7,60 | 67 ± 1,99 | 71 ± 3,12 | 40 ± 15,29 | 64 ± 8,15 | 68 ± 10,27 |
| US40 | 59 ± 2,14 | 88 ± 2,65 | 58 ± 2,84 | 65 ± 6,01 | 77 ± 0,94 | 81 ± 4,42 |

Considerando agora as emulsões contendo o LI C₁₆MIM[Br], observou-se que a emulsão com 1,3 mM de LI preparada sob AM apresentou a melhor eficiência dentre todas as emulsões consideradas (93%). Por outro lado, a emulsão preparada por AM com C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM apresentou a menor eficiência. Assim, os resultados mostram que o aumento na concentração de LI não melhorou a eficiência de encapsulamento. Além disso, o US aumentou a eficiência de encapsulamento de emulsões contendo 3,1 mM de C₁₆MIM[Br]. Esses dados podem estar relacionados com o fato de que em alta energia de US (40%) a barreira estérica é vencida e mais LI está circundando a micela, logo a eficiência de encapsulamento desses sistemas será maior. Por outro lado, as emulsões contendo 1,3 e 2,06 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por US (20%) apresentaram menor eficiência de encapsulamento em comparação com as respectivas emulsões preparadas por AM. Em todos os casos, as emulsões contendo C₁₆MIM[Br] preparadas no US 40% apresentaram melhor eficiência do que as respectivas emulsões preparadas a 20% US. Esses resultados mostram uma tendência semelhante à dos resultados de tamanho de partícula e polidispersão, onde as emulsões contendo LI C₁₆MIM[Br] tiveram um tamanho de gotícula e polidispersão menor quando preparadas a 40% no US 40%. Os valores de eficiência corroboram com os resultados da avaliação da eficiência de encapsulamento de outros sistemas emulsificados encontrados na literatura.(SU; FLANAGAN; SINGH, 2008) Ainda não é possível encontrar, a título de comparação, outros estudos contendo LIs como surfactantes e a avaliação desses sistemas quanto à eficiência de encapsulação do fármaco. Assim, este trabalho é inédito nesta área.

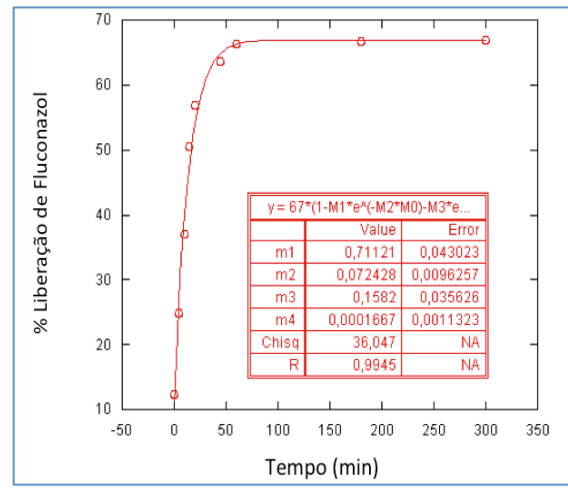
4.1.10 Cinética de Liberação do Fluconazol

O método de cinética de liberação pode ser definido como um controle na liberação de fármacos, nutrientes e outros compostos ativos são disponibilizados a partir da matriz carregada (por exemplo, emulsão) em um local e tempo específicos, com uma taxa de liberação controlada. Neste trabalho, os perfis de liberação de fluconazol emulsionado com diferentes concentrações de LIs foram avaliados pelo método do saco de diálise a 37 °C. O meio de liberação foi tampão fosfato (PBS) PH 7,2 com 1% de Tween® 80. A concentração de saturação de cada emulsão com fluconazol foi de 10% (condição sink). Os perfis de liberação do fármaco fluconazol nas emulsões que contém 1,5 mM de LI C₁₂MIM[Br] e 1,3mM de C₁₆MIM[Br], preparadas por AM e US 20%, durante um período de 5 horas é mostrado na Figura 58. Os gráficos para outras emulsões são fornecidos no Apêndice D dessa tese.

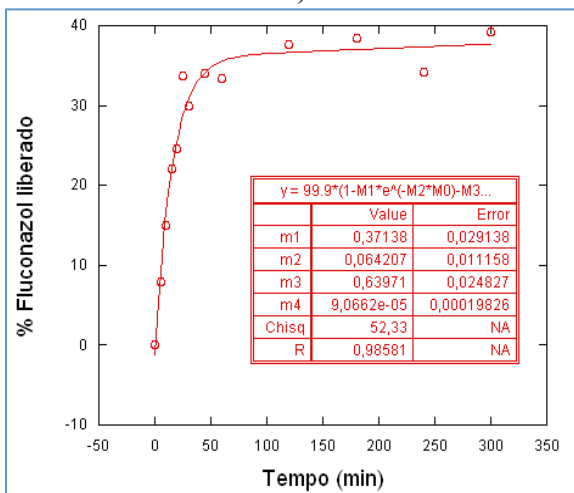
Figura 58 - Perfil de liberação do fluconazol nas emulsões com 1,5 mM de LI: a) C₁₂MIM[Br] em AM; b) C₁₂MIM[Br] em US 20%; emulsões com 1,3 mM de LI c) C₁₆MIM[Br] em AM; d) C₁₆MIM[Br] em US 20%.



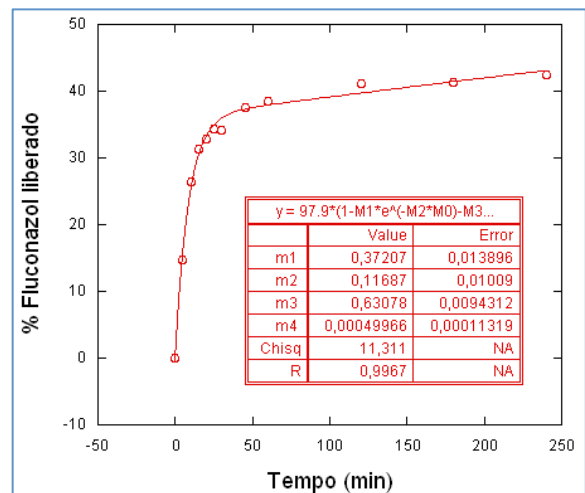
a)



b)



c)



d)

Como pode ser visto, há um efeito burst na liberação do Fluconazol, ou seja, ocorre uma liberação mais rápida em um curto período. Considerando a emulsão com 1,3 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparada em US 20%, na fase inicial, 35% do Fluconazol é liberado e isso pode ser explicado considerando a liberação do fármaco livre na formulação (não encapsulado), pois nesse sistema o EE% é de apenas 32%. Em seguida, observa-se liberação moderada na última etapa. Nesses sistemas, o modelo cinético exponencial duplo (Equação 9) foi aplicado para descrever o perfil de liberação do Fluconazol emulsionado, mostrando uma constante cinética de liberação no estágio inicial (k_1) e outra no estágio final (k_2). O mesmo comportamento foi observado para todas as emulsões. Os valores de k_1 e k_2 são fornecidos na Tabela 8.

Tabela 8 - valores de k_1 e k_2 para as 18 emulsões estudadas.

| | k_1 (min^{-1}) | | | | | |
|------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | 1.5 mM | 1.3 mM | 2.4 mM | 2.0 6mM | 3.6mM | 3.1 mM |
| | $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ |
| AM | $6,914 \cdot 10^{-2}$ | $6,42 \cdot 10^{-2}$ | $8,1 \cdot 10^{-2}$ | $7,69 \cdot 10^{-2}$ | $2,36 \cdot 10^{-1}$ | $6,79 \cdot 10^{-2}$ |
| US20 | $7,24 \cdot 10^{-2}$ | $1,17 \cdot 10^{-1}$ | $2,4 \cdot 10^{-1}$ | $7,60 \cdot 10^{-2}$ | $2,60 \cdot 10^{-1}$ | $7,89 \cdot 10^{-2}$ |
| US40 | $7,77 \cdot 10^{-2}$ | $9,5 \cdot 10^{-2}$ | $5,5 \cdot 10^{-2}$ | $1,12 \cdot 10^{-1}$ | $1,9 \cdot 10^{-1}$ | $1,46 \cdot 10^{-1}$ |
| | k_2 (min^{-1}) | | | | | |
| AM | $3,31 \cdot 10^{-4}$ | $9,10 \cdot 10^{-5}$ | $8,4 \cdot 10^{-4}$ | $5,20 \cdot 10^{-4}$ | $3,70 \cdot 10^{-4}$ | $1,70 \cdot 10^{-4}$ |
| US20 | $1,67 \cdot 10^{-4}$ | $5,00 \cdot 10^{-4}$ | $6,89 \cdot 10^{-5}$ | $8,50 \cdot 10^{-5}$ | $1,6 \cdot 10^{-3}$ | $3,00 \cdot 10^{-4}$ |
| US40 | $2,9 \cdot 10^{-4}$ | $4,2 \cdot 10^{-4}$ | $4,0 \cdot 10^{-4}$ | $1,11 \cdot 10^{-4}$ | $5,1 \cdot 10^{-4}$ | $1,87 \cdot 10^{-2}$ |

Nos primeiros minutos, a liberação do Fluconazol é sempre mais rápida, este fato é confirmado pelos valores de k_1 maiores que os valores de k_2 . No entanto, a primeira etapa de liberação (k_1) das emulsões preparadas com $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ no método AM ou US em todas as concentrações de LI apresentaram k_1 semelhantes. Quando a emulsão foi preparada com $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$, k_1 foi maior que a emulsão preparada sob US a 40% do que AM, a exceção é a emulsão com 1,3 mM deste LI. O efeito da estrutura de LI foi observado na liberação de fluconazol da emulsão em concentrações mais elevadas (2,06 e 3,1 mM). Nessas concentrações, as emulsões com $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ apresentaram liberação mais lenta do que $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$, mas no caso em que a emulsão foi preparada em US 40% com 2,06 mM, esta tendência não foi observada. O aumento na concentração de LI resulta no aumento da liberação de Fluconazol para emulsões preparadas com $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ sob AM ou US. A exceção desta tendência, é uma emulsão preparada por US 40% com 2,4 mM de LI $C_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e a emulsão preparada por US 20% com LI $C_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$. Não há diferença significativa entre os valores de k_1 dos sistemas em questão, podendo-se considerar que todas as emulsões liberam o fármaco pelo mesmo mecanismo de difusão. Uma das razões para o perfil cinético das emulsões ter um comportamento duplo exponencial é a falta da barreira polimérica.(DE SOUZA et al., 2016) Quando um polímero encapsula a emulsão, esse é responsável por evitar o *efeito burst* e um perfil de liberação linear seria o mais esperado. O papel do polímero na liberação do medicamento pode ser entendido considerando que o processo de liberação do medicamento a partir das nanocápsulas depende da difusão através da parede do polímero e da erosão da matriz polimérica.(SOPPIMATH et al., 2001) Visto que não há barreira polimérica na emulsão preparada no presente trabalho, a difusão do fármaco ocorre mais rapidamente. A taxa de liberação, em resumo, também depende da quantidade de medicamento que é carregada no núcleo lipídico encapsulado ou emulsionado. (DE SOUZA et al., 2016) De acordo com Jager et al. (2009) a taxa de liberação da droga nas nanocápsulas

do núcleo lipídico pode ser modulada pela variação da concentração de surfactante.(JÄGER et al., 2009) Os autores mostraram que o aumento da concentração do monoestearato de sorbitano é mais eficaz do que o aumento da concentração do óleo para controlar a liberação do fármaco, pois o surfactante aumenta a viscosidade do núcleo. No entanto, a tendência observada por Jager et al. (2009) não contempla as emulsões contendo LIs como surfactante, as quais são apresentadas nessa tese. É importante notar que o sistema preparado por Jaeger et al. contém polímero e o surfactante monoestearato de sorbitano, enquanto as emulsões preparadas em nosso laboratório contêm um surfactante diferente (LI) e não contêm o polímero. Os valores de k_2 são menores que k_1 e correspondem à região do gráfico onde a inclinação é mais tênue. Nesse estágio, houve a saturação do meio externo com o fármaco e a taxa de liberação do fluconazol é menor do que no primeiro estágio.

Em relação ao percentual total do fármaco liberado, houve mudanças notáveis na quantidade de fármaco liberado, porém não foi observada uma tendência aparente ao se considerar diferentes concentrações e estruturas de LI (por exemplo: aumento da liberação do fármaco com diminuição da quantidade de LI). As variações foram aleatórias. As emulsões com LI C₁₆MIM[Br] preparadas nos US na amplitude de 40% liberaram quantidade maior do que as emulsões preparadas no US 20% ou por AM. Por outro lado, as emulsões com 1,5 mM e 2,4 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas no US 40% liberaram uma quantidade menor de fármaco do que as emulsões preparadas por US 20% ou AM. Por outro lado, as emulsões com 1,5 mM e 2,4 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por US 40% liberaram uma quantidade menor de fármaco do que as emulsões preparadas por US 20% ou AM. Abismaïl et al. (1999) já demonstraram que um aumento na potência do US é responsável por diminuir o tamanho das partículas das emulsões, então pode-se dizer que um aumento na energia do sistema promove uma diminuição no tamanho das partículas e também favorece a saída do fármaco da fase dispersa e solubilização na fase dispersante para o LI C₁₆MIM[Br], uma vez que nessa tese os resultados mostraram que um aumento na amplitude do US foi responsável pelo aumento da quantidade total da droga liberada na maioria dos casos. As porcentagens totais de fármaco liberada para todas as emulsões, então descritas na Tabela 9. As melhores formulações encontradas foram os sistemas com LI C₁₆MIM[Br] preparados por US 40%.

Tabela 9 - Porcentagem total de fármaco (%) liberado para as 18 emulsões estudadas.

| | 1,5 mM | 1,3 mM | 2,4 mM | 2,0 6mM | 3,6 mM | 3,1 mM |
|------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] |
| AM | 57 | 39 | 77 | 44 | 51 | 63 |
| US20 | 66 | 43 | 54 | 57 | 46 | 42 |
| US40 | 50 | 51 | 40 | 87 | 63 | 97 |

4.1.11 Viscosidade das emulsões

Viscosidade é a propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento. Em outras palavras, é a propriedade associada à resistência que um fluido oferece à deformação por cisalhamento, tipo de tensão gerado por forças aplicadas em sentidos opostos, porém, em direções semelhantes no material analisado. (VISCOSITY – THE PHYSICS HYPERTEXTBOOK) A viscosidade das emulsões estudadas aqui, foram medidas com base na taxa de cisalhamento, ou seja, uma força contrária que foi aplicada ao sistema. Foi observado que conforme a taxa de cisalhamento foi aumentando, a viscosidade do sistema diminuiu. As viscosidades das emulsões são apresentadas na Tabela 10. Os resultados mostraram que a viscosidade de todas as emulsões era próxima ou igual à viscosidade da água (1,05 mPa·s) a 25 °C. Esse fato pode ser explicado considerando que a água é a fase de dispersão da emulsão, sendo, portanto, o componente que está em maior quantidade (10 mL) no sistema. Quando a estrutura dos LIs é considerada, as emulsões contendo C₁₆MIM[Br] apresentaram viscosidade mais baixa em comparação com as emulsões contendo C₁₂MIM[Br]. No entanto, considerando que a velocidade de cisalhamento é muito elevada (1000 s⁻¹), pode-se dizer então que um aumento na cadeia alquílica do LI não altera significativamente a viscosidade do sistema nessa taxa de cisalhamento. (ZIEMBOWICZ et al., 2017)

Tabela 10 - Viscosidade (mPa·s) a 25 °C na taxa de cisalhamento de 1000 s⁻¹ para as 18 emulsões^a

| | 1,5 mM | 1,3 mM | 2,4 mM | 2,06 mM | 3,6 mM | 3,1 mM |
|------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] |
| AM | 1,11 | 0,97 | 1,07 | 0,98 | 1,16 | 0,99 |
| US20 | 1,04 | 0,99 | 1,03 | 0,97 | 1,05 | 1,01 |
| US40 | 1,03 | 0,97 | 1,05 | 0,93 | 1,05 | 0,98 |

^a As medições foram realizadas uma vez.

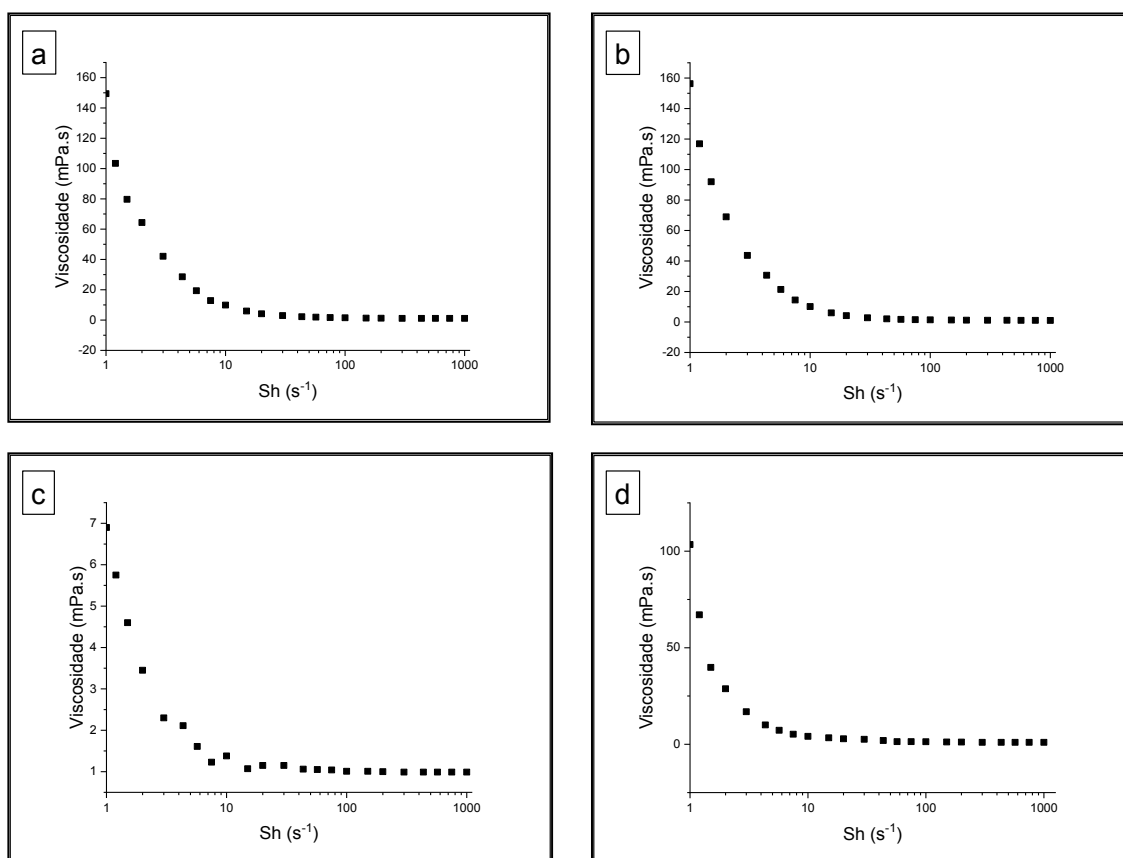
Ao analisar o método de preparação, as emulsões contendo $C_{12}MIM[Br]$ preparadas em US apresentam uma viscosidade menor que os sistemas preparados por AM, porém a diferença é muito pequena devido à alta taxa de cisalhamento. Este fato pode ser explicado com base na redução do tamanho de partícula observada quando a emulsão foi preparada sob US. Já é relatado na literatura que uma redução no tamanho da partícula causa uma redução na viscosidade do sistema.(PAL, 2001) Por outro lado, em emulsão contendo $C_{16}MIM[Br]$, essa tendência não foi observada, uma vez que o US auxiliou na diminuição das partículas com esse LI, mas uma diminuição significativa na viscosidade não foi observada. É importante destacar que as imagens de MET para $C_{16}MIM[Br]$ mostraram estruturas na forma de filamentos para os sistemas preparados por AM e esferas por US (20%), portanto a viscosidade deveria ser maior para as emulsões elaboradas por AM, porém não é o que se vê na Tabela 10.

Por outro lado, Li et al. (2009) demonstraram que a viscosidade das emulsões contendo $C_{14}MIM[Br]$ diminuiu quando a quantidade de óleo no sistema aumentou. Assim, eles sugeriram que as mudanças na viscosidade são devidas exclusivamente à natureza e concentração do óleo.(LI et al., 2009) No presente trabalho, a quantidade de TCM foi mantida constante e, portanto, a influência deste constituinte não pode ser considerada para explicar as mudanças de viscosidade.

Comparando a viscosidade da emulsão nesta tese com as emulsões preparadas por Li et al. (2009) usando $C_{14}MIM[Br]$, os sistemas preparados aqui são cerca de 10-100 vezes menos viscosos do que os sistemas preparados por Li et al. na mesma taxa de cisalhamento. (LI et al., 2009) A diferença pode ser explicada pela maior quantidade de óleo utilizada por Li et al. (2009), o que é cerca de 10 vezes a concentração utilizada nesta tese. A mesma relação foi observada comparando a emulsão preparada neste trabalho com as preparadas por Zhang et al. (2008) usando maior concentração de $C_{16}MIM[Br]$ e maior quantidade de óleo na emulsão (34,5% de $C_{16}MIM[Br]$ e 13,1% de óleo).(ZHANG et al., 2008) É importante notar que nos trabalhos citados o p-xileno foi a fase oleosa, enquanto neste trabalho foi o TCM.(LI et al., 2009; ZHANG et al., 2008) Por fim, deve-se considerar que não é apenas o óleo ou o LI individualmente que confere a viscosidade final à emulsão. As interações entre os componentes, as micelas formadas e seu tamanho podem ser a razão da viscosidade da emulsão. A variação da viscosidade em função da taxa de cisalhamento (Sh) da emulsão preparada com 3,6 mM de $C_{12}MIM[Br]$ e 3,1 mM $C_{16}MIM[Br]$ usando AM e US 20% são dados na Figura 59. O perfil das curvas segue um modelo exponencial negativo. Esse fato

comprova que a quantidade de água nesses sistemas é o principal fator que determina a viscosidade dessas emulsões. Em baixas taxas de cisalhamento, todos os sistemas mostraram um comportamento pseudo-plástico (a viscosidade diminui com um aumento na taxa de cisalhamento).

Figura 59 - Viscosidade versus taxa de cisalhamento (Sh) da emulsão com 3,6 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparado por (a) AM, (b) US 20%; emulsão com 3,1 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparado por (a) AM, (b) US 20%.



Todas as formulações contendo LI C₁₆MIM[Br] e C₁₂MIM[Br] apresentaram comportamento pseudo-plástico no perfil da viscosidade em função da taxa de cisalhamento. Isso demonstra que a viscosidade dessa emulsão é governada pela viscosidade da água, mas a forma das partículas também pode influenciar na viscosidade. Os gráficos das outras emulsões são descritos no Apêndice E.

Para melhor observar os efeitos do método de preparação na viscosidade, a tabela abaixo mostra os valores de viscosidade das emulsões na taxa de cisalhamento de 2 s⁻¹.

Tabela 11 - Viscosidade (mPa·s) a 25 °C e taxa de cisalhamento de 2 s⁻¹ para emulsões.

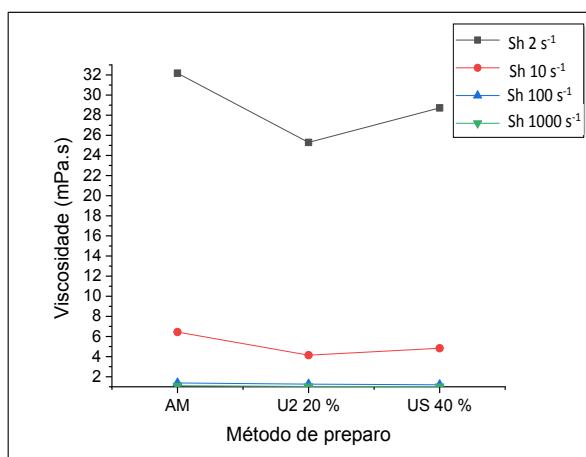
| | 1,5 mM | 1,3 mM | 2,4 mM | 2,06 mM | 3,6 mM | 3,1 mM |
|------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] |
| AM | 32 | 60 | 48 | 1,7 | 63 | 2,7 |
| US20 | 26 | - ^a | 27 | 3.4 | 67 | 27 |
| US40 | 28 | 4 | 5 | 5.5 | 40 | 1,2 |

^aO valor não foi obtido pois não seguiu a tendência observada.

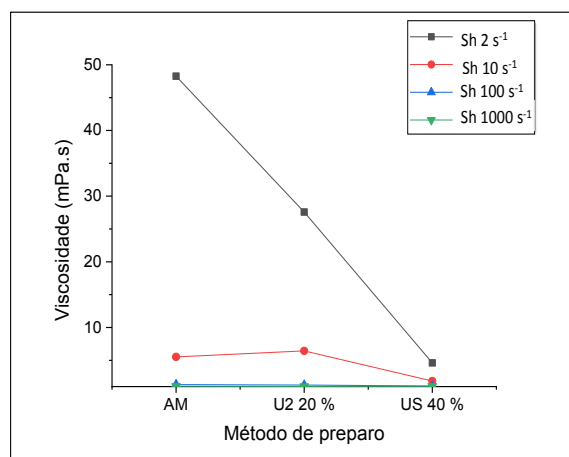
Pode-se observar que todas as emulsões com LI C₁₂MIM[Br] preparadas por US 40% apresentaram menor viscosidade na taxa de cisalhamento 2 s⁻¹ do que as respectivas emulsões preparadas por AM. Esse fato pode ser explicado com base no tamanho das gotas das emulsões, que são menores nos sistemas preparados em US 40%. Por outro lado, as emulsões com C₁₆MIM[Br] não apresentaram a mesma tendência para todo o conjunto em análise. Por exemplo, para emulsões preparadas com 2,06 mM de LI C₁₆MIM[Br], um aumento na viscosidade foi observado com um aumento na energia do método de preparação, porém para as emulsões preparadas com 1,3 e 3,1 mM de LI C₁₆MIM[Br], as viscosidades mais baixas foram encontradas para sistemas preparados por US 40%. Exceto para as emulsões preparadas com 1,5 mM de LI C₁₂MIM[Br] e 2,06 mM de LI C₁₆MIM[Br], o US 40% se mostrou um método mais efetivo para diminuir a viscosidade das emulsões comparando com os métodos US 20% e AM.

Para melhor visualizar essa tendência, gráficos de viscosidade aparente versus método de preparação foram feitos para diferentes taxas de cisalhamento (2, 10, 100 e 1000 s⁻¹). Os gráficos para as emulsões são mostrados na Figura 60.

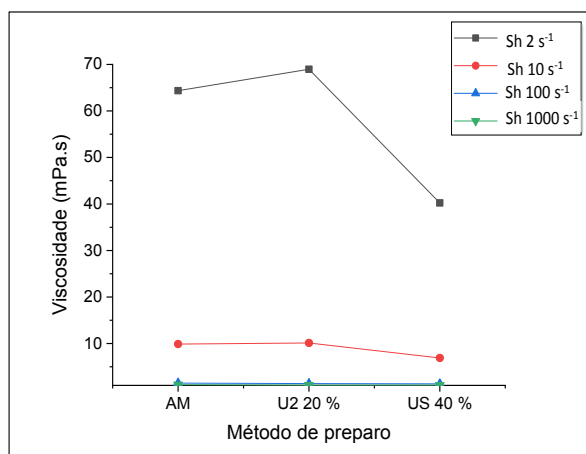
Figura 60 - Viscosidade aparente versus taxas de cisalhamento do método de preparação (2, 10, 100 e 1000 s⁻¹) para emulsões com LI C₁₂MIM[Br]: (a) 1,5 mM (b) 2,4 mM, (c) 3,6 mM; LI C₁₆MIM[Br]: (a) 1,3 mM (b) 2,06 mM, (c) 3,1 mM.



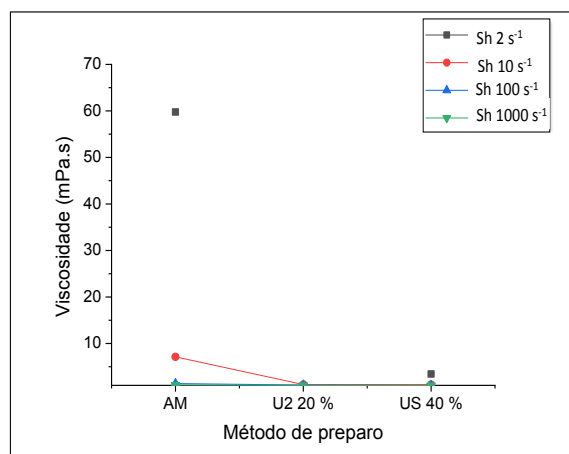
a) 1,5 mM C₁₂MIM[Br]



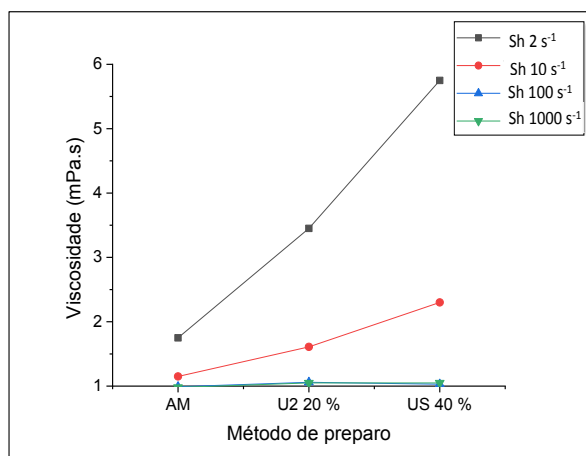
b) 2,4 mM C₁₂MIM[Br]



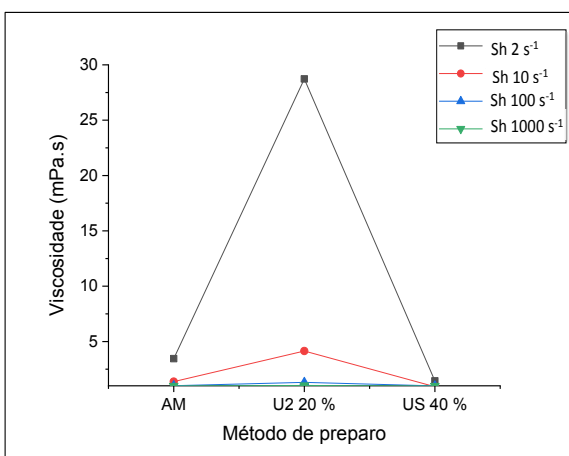
c) 3,6 mM C₁₂MIM[Br]



d) 1,3 mM C₁₆MIM[Br]



e) 2,06 mM C₁₆MIM[Br]



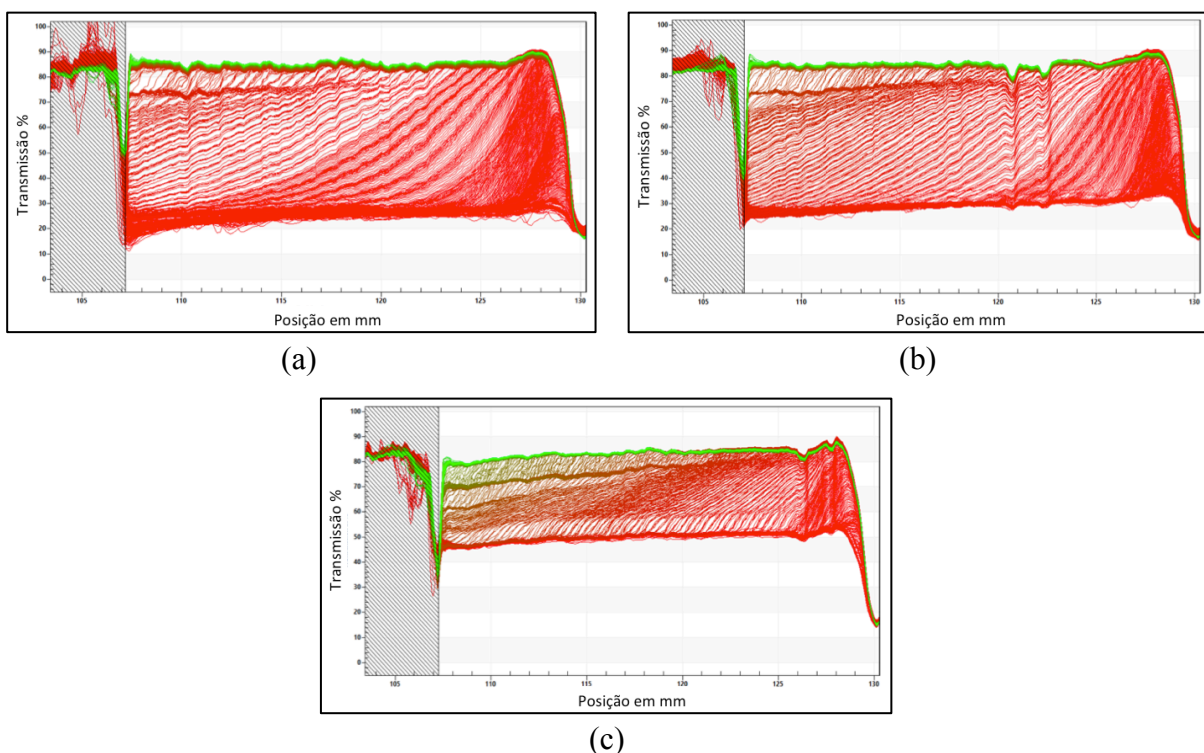
f) 3,1 mM C₁₆MIM[Br]

4.1.12 Estabilidade das emulsões

Quando uma emulsão é capaz de resistir as mudanças nas propriedades físico-químicas ao longo do tempo, diz-se que esse sistema é estável. É importante salientar que todas as emulsões possuem um tempo de prateleira e em algum momento haverá a desestabilização, uma vez que esses sistemas são termodinamicamente instáveis, porém estabilizadas cineticamente. Sendo assim a estabilidade é maior para os sistemas que possuem mudanças mais lentas em suas propriedades. Uma emulsão torna-se instável devido a diversos mecanismos físico-químicos. A instabilidade química, menos comum, dá-se por alterações nas ligações das moléculas dos constituintes das emulsões, por exemplo os fenômenos de oxidação e hidrólise podem ocorrer. Por outro lado, a instabilidade física ocorre por rearranjos espaciais das moléculas das emulsões, o que pode resultar nos fenômenos de cremeação, sedimentação, floculação, coalescência, amadurecimento de Ostwald e inversão de fase. (KHAN et al., 2011; MCCLEMENTS, 2007) A estabilidade física das amostras a 25 °C e 37 °C (temperatura corporal) das emulsões foi medida pelo LUMiSizer. O LUMiSizer é um instrumento analítico multiamostra que emprega sedimentação centrífuga para acelerar a ocorrência de fenômenos de instabilidade como sedimentação, floculação ou cremosidade. (LERCHE, 2002; SOBISCH; LERCHE, 2008) O equipamento permite medir a intensidade da transmitância da luz em função do tempo e posição sobre toda a amostra, a "taxa de creme". Esta taxa está relacionada com a estabilidade física da emulsão, na qual quanto menor a taxa de creme, maior a estabilidade. (LIU et al., 2016)

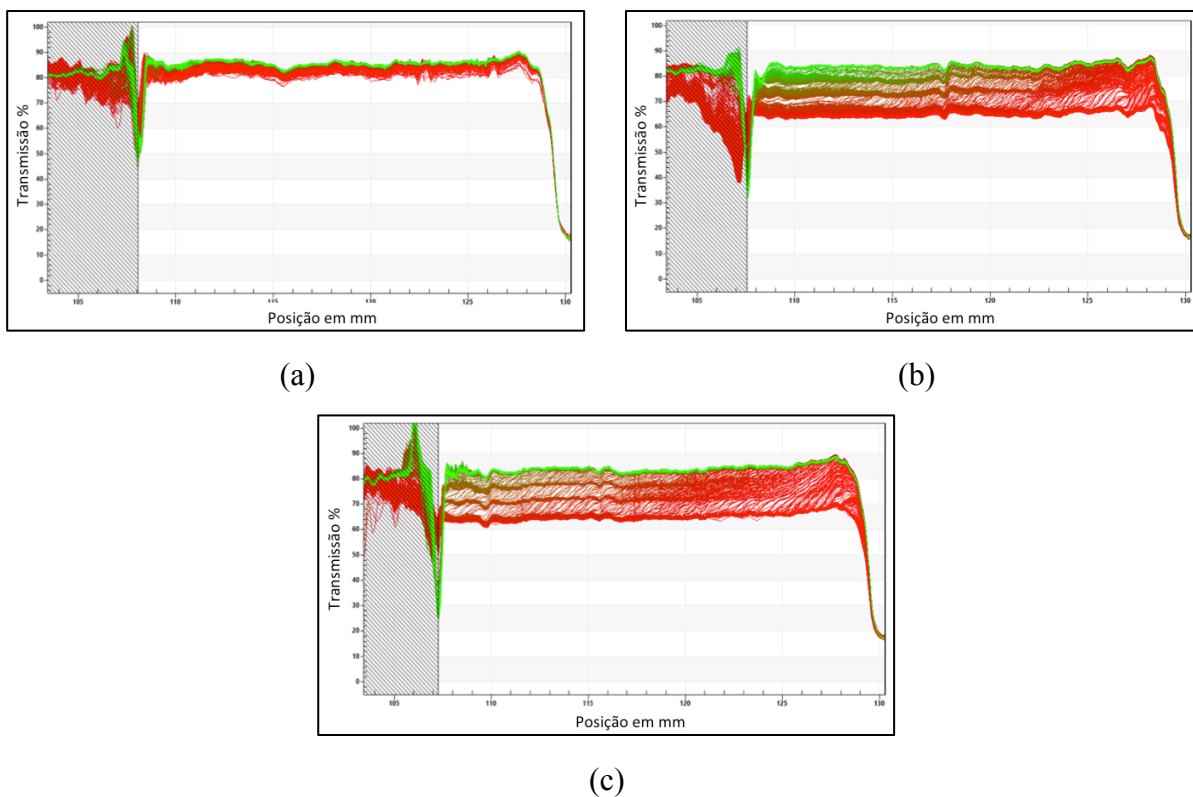
A Figura 61 mostra os perfis de transmissão das emulsões a 25 °C com 3,1 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por AM, US 20% e US 40%.

Figura 61 - Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 3,1 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;



Os resultados mostram que a amostra preparada por AM Figura 61(a) é a que apresenta menor estabilidade comparada com as outras duas emulsões, uma vez que a diferença entre o primeiro perfil (vermelho) e o último perfil (verde) de transmissão é grande, indicando instabilidade desse sistema. Além disso, pela análise dos perfis de transmissão das curvas, constatou-se que em valores próximos a 125 mm (parte inferior da cubeta) a transmissão é maior, o que indica que o fenômeno de desestabilização que ocorre é o de cremação. Esse fenômeno, ocorreu para todas as emulsões com C₁₆MIM[Br], independente do modo de preparação. Esse fenômeno caracteriza-se pela separação gravitacional em que as gotas se movem para cima, pois possuem menor densidade que a fase contínua.(BERTAN, 2018) A tendência observada na Figura 61, também foi verificada para as emulsões contendo 1,3 e 2,06 mM do LI C₁₆MIM[Br] a 25 °C, o que indica que a estabilidade desses sistemas aumenta quando as emulsões são preparadas no método mais energético (US 40%). A tendência também foi observada para as emulsões com LI C₁₆MIM[Br] a 37 °C. Todos os gráficos com o perfil de transmissão para as emulsões a 25 °C e 37°C são encontrados no Apêndice I desta tese. A Figura 62 mostra os perfis de transmissão das emulsões a 25 °C com 3,6 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por AM, US 20% e US 40%.

Figura 62 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 3,6 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

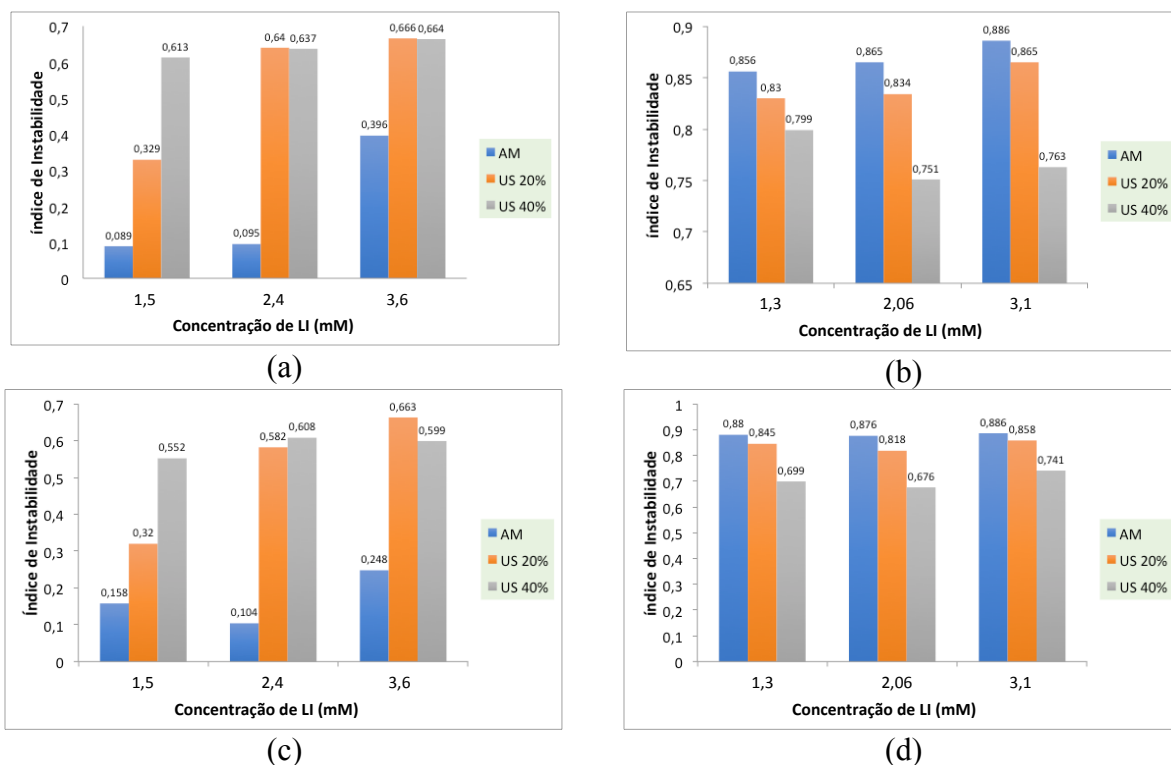


Nas emulsões com 3,6 mM de LI C₁₂MIM[Br] observou-se uma tendência diferente comparado com os resultados obtidos para os sistemas com LI C₁₆MIM[Br]. Destaca-se na Figura 62, a pequena variação na transmitância para as emulsões preparadas por AM comparado com as emulsões preparadas no US 20% e US 40%. Isso indica que o método de alta energia torna as emulsões com LI C₁₂MIM[Br] menos estáveis. Pela análise dos perfis de transmissão das curvas, constatou-se que em valores próximos a 127 mm (parte inferior da cubeta) a transmissão é maior, o que indica que o fenômeno de desestabilização que ocorre é o de creaming. Esse fenômeno, ocorreu para todas as emulsões com C₁₂MIM[Br]. Essa tendência é observada para as emulsões com 1,5 e 2,4 mM de LI C₁₂MIM[Br] a 25 °C e a 37 °C.

De forma geral, comparando os gráficos de transmissão das emulsões com LI C₁₂MIM[Br] e as emulsões com LI C₁₆MIM[Br], ficou evidente que a diferença entre o primeiro perfil (vermelho) e o último perfil (verde) de transmissão das emulsões com C₁₂MIM[Br] é menor do que esta diferença nas emulsões com o C₁₆MIM[Br].

Além dos gráficos de transmissão em função da posição da emulsão na cubeta, o LUMiSizer também fornece um índice de instabilidade para todos os sistemas. O índice de instabilidade para as emulsões estudadas são apresentados nos gráficos dados na Figura 63.

Figura 63 - Índice de instabilidade para as emulsões com (a) LI C₁₂MIM[Br] a 25 °C; (b) LI C₁₆MIM[Br] a 25 °C; (c) LI C₁₂MIM[Br] a 37 °C; (d) LI C₁₆MIM[Br] a 37 °C.



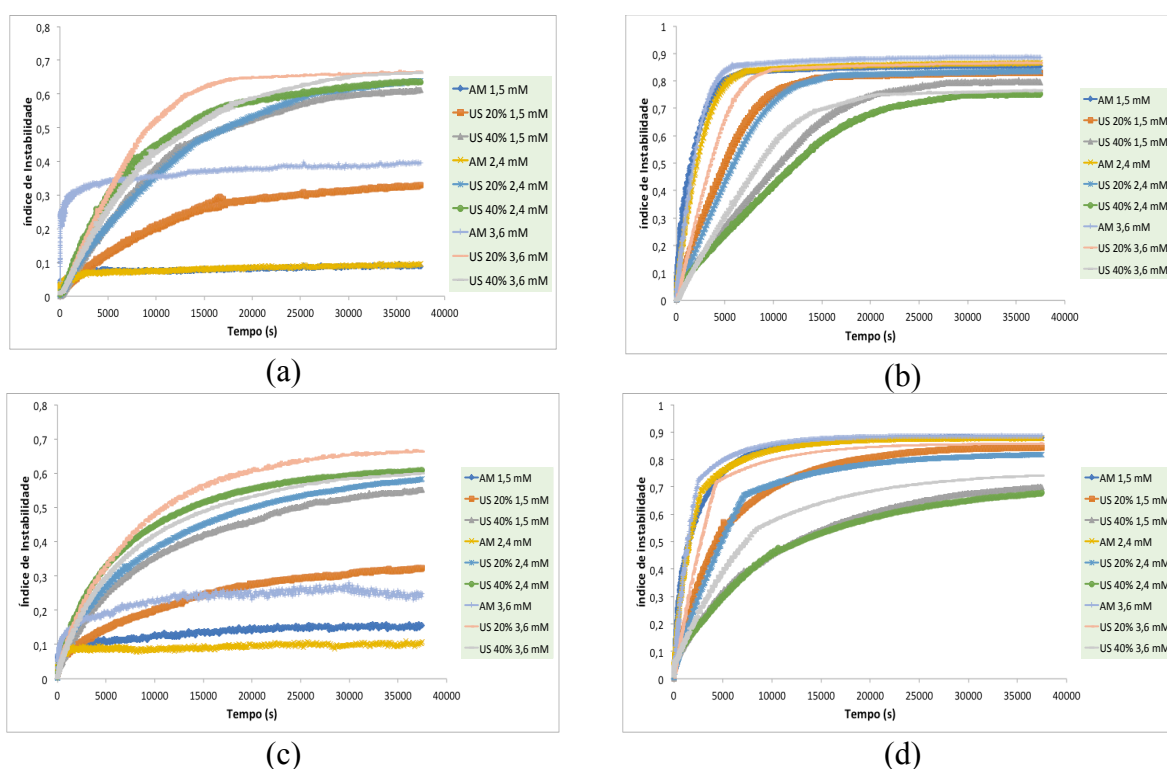
Quando as emulsões são preparadas usando o LI C₁₆MIM[Br], o aumento de energia no sistema contribui para o aumento de estabilidade das emulsões com nas temperaturas de 25 °C e 37 °C (gráficos 63b e 63d). Para as emulsões com este LI, o índice de instabilidade cresceu na seguinte ordem para os métodos de preparação US 40% < US 20% < AM. Para estas mesmas emulsões não foi observada uma dependência da estabilidade com a concentração do LI. Além disso, não houve aumento na instabilidade quando a temperatura aumentou de 25 °C para 37 °C, o que indica que essa emulsão é favorável para uma potencial aplicação na temperatura corporal.

Para as emulsões preparadas com o LI C₁₂MIM[Br] (gráficos 63a e 63c) observa-se uma tendência oposta, uma vez que um aumento na energia de preparação dos sistemas causou um aumento no índice de instabilidade. Esta observação está de acordo com o que será discutido nas imagens de MET, quando se concluiu que aumento de energia na preparação

causou desestabilização da emulsão. Considerando a concentração do LI $C_{12}MIM[Br]$, observou-se que as emulsões com 1,5 mM de LI preparadas por AM e por US 20%, apresentaram menor índice de instabilidade comparada com seus análogos preparadas com 2,4 e 3,6 mM de LI. Portanto, uma menor quantidade de LI é suficiente para estabilizar de forma mais eficiente as emulsões. Além disso, não houve aumento na instabilidade quando a temperatura aumentou de 25 °C para 37 °C, o que indica que, considerando os dados de instabilidade, essa emulsão é favorável para uma potencial aplicação na temperatura corporal.

Além dos valores de instabilidade e gráficos de transmissão, também foram gerados gráficos de índice de instabilidade em função do tempo, o que indicou a cinética de desestabilização. A velocidade de sedimentação é dada pela inclinação das curvas. (SOBISCH; LERCHE, 2008) A Figura 64 demonstra os gráficos de índice de instabilidade em função do tempo de centrifugação para todas as emulsões estudadas. Novamente, os experimentos foram realizados a 25 °C e a 37 °C.

Figura 64 – Gráficos de índice de instabilidade para as emulsões com a) $C_{12}MIM[Br]$ a 25°C; b) $C_{16}MIM[Br]$ a 25°C; c) $C_{12}MIM[Br]$ a 37°C; d) $C_{16}MIM[Br]$ a 37°C.



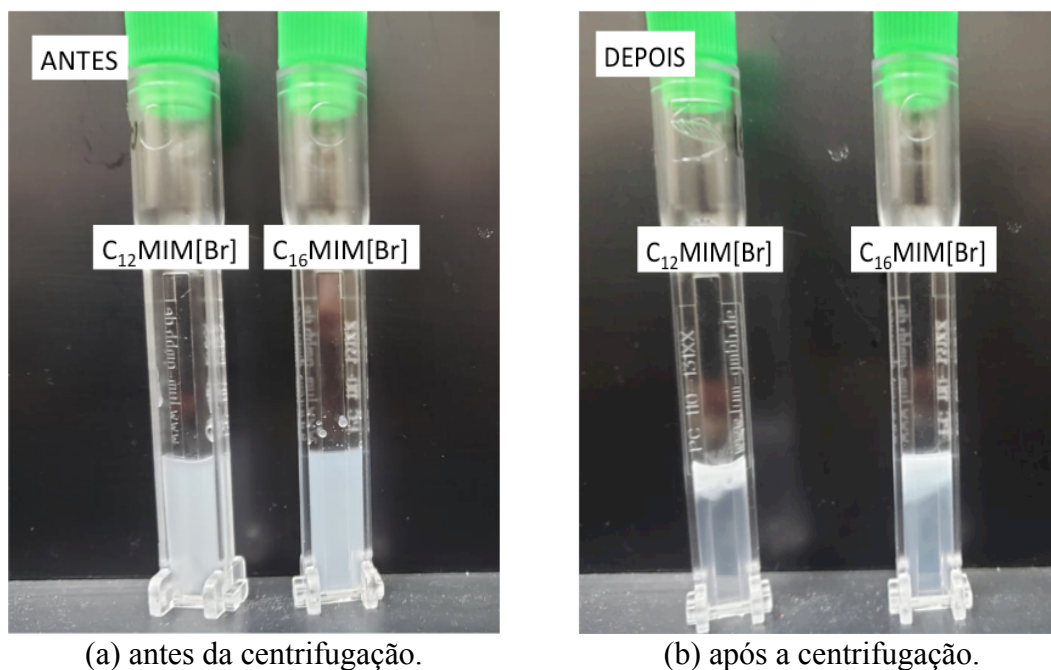
Os gráficos de instabilidade em função do tempo (Figura 64), mostram que as emulsões com LI $C_{12}MIM[Br]$ preparadas por AM e a emulsão preparada com 1,5 mM desse LI no US 20% a 25 °C e 37 °C são desestabilizadas de forma mais lenta que as demais

emulsões preparadas com esse LI. As preparadas com LI $C_{16}MIM[Br]$ usando US 40%, (linhas cinza claro, cinza e verde gráficos b e d) desestabilizaram de forma mais lenta que as demais emulsões preparadas com esse LI. Também fica evidente que a inclinação das curvas das emulsões com LI $C_{16}MIM[Br]$ preparadas no US é menor do que a inclinação para as demais emulsões.

Portanto, as partículas coloidais em altas concentrações e elevada amplitude de US podem ser mais estáveis e difíceis de serem rompidas, pois nelas há maior quantidade de $C_{16}MIM[Br]$ por gotícula e muito mais interações hidrofóbicas (Dispersão de London). Novamente, a barreira estérica das cadeias de $C_{16}MIM[Br]$ é vencida em elevada amplitude de US (40%) para atingir uma CMC de $C_{16}MIM[Br]$ máxima nas partículas coloidais.

A análise visual das emulsões após a aquisição dos dados no LUMiSizer também comprovam que a desestabilização das emulsões ocorreu simultaneamente ao fenômeno de creaming. A Figura 65 mostra as emulsões com LIs $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ preparadas no US 20% antes e depois dos experimentos de LUMiSizer. Claramente, a centrifugação das amostras durante a análise acelerou o processo de desestabilização.

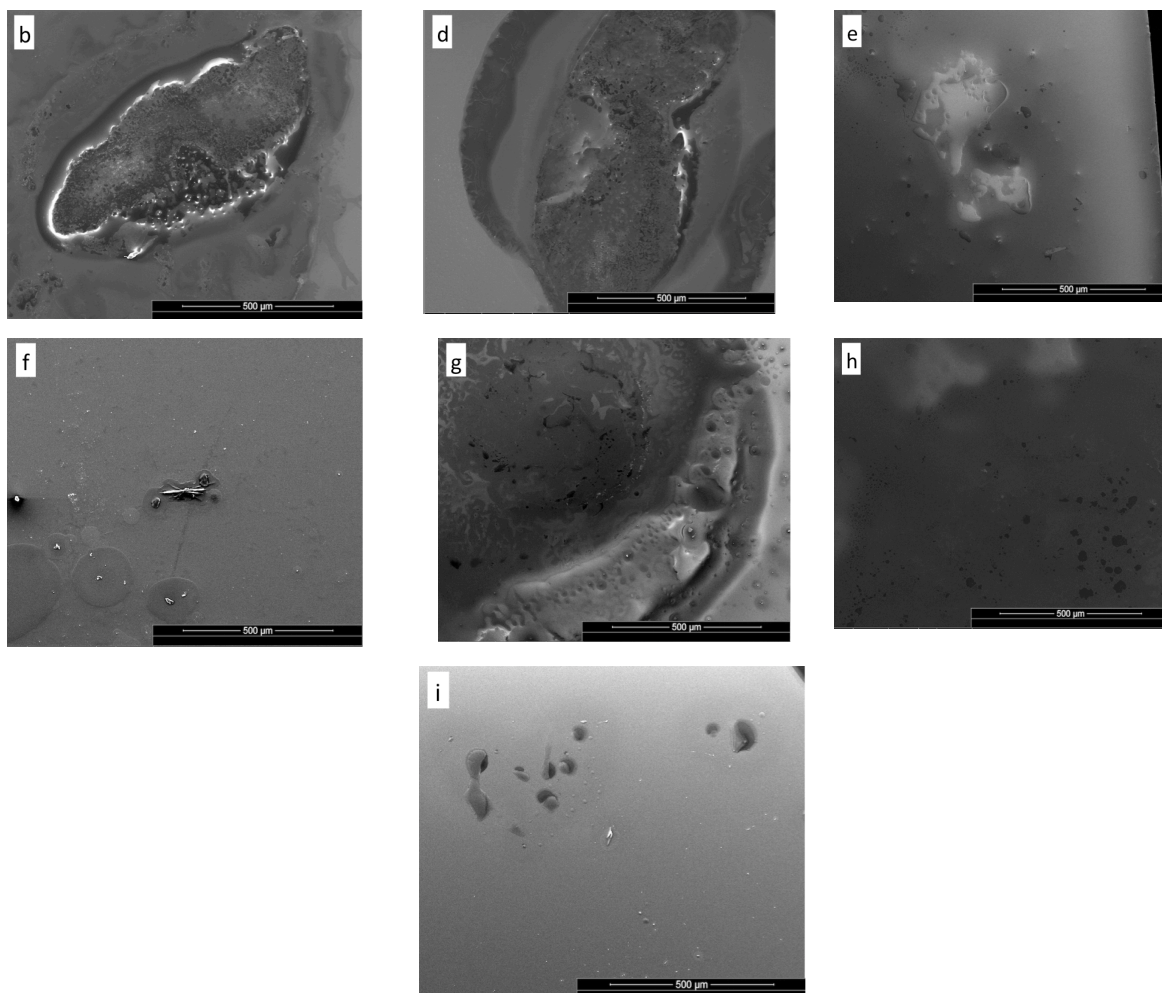
Figura 65 – Aspecto visual das emulsões com $C_{12}MIM[Br]$ e $C_{16}MIM[Br]$ preparadas no US 20% (a) antes e (b) depois da centrifugação por LUMiSizer.



4.1.13 Microscopia de transmissão eletrônica das emulsões

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi usada para verificar o comportamento das nove emulsões contendo o LI $C_{12}MIM[Br]$. A Figura 66 mostra as imagens de MET de sistemas preparados por AM e US com diferentes concentrações de $C_{12}MIM[Br]$ (1,5 mM, 2,4 mM e 3,6 mM).

Figura 66 – Imagens de MET (a barra de escala é 500 μm) das emulsões contendo 1,5 mM, 2,4 mM e 3,6 mM de $C_{12}MIM[Br]$ preparadas por AM (63d, 63g), US 20% (63b, 63e e 63h) e US 40% (63f e 63i).



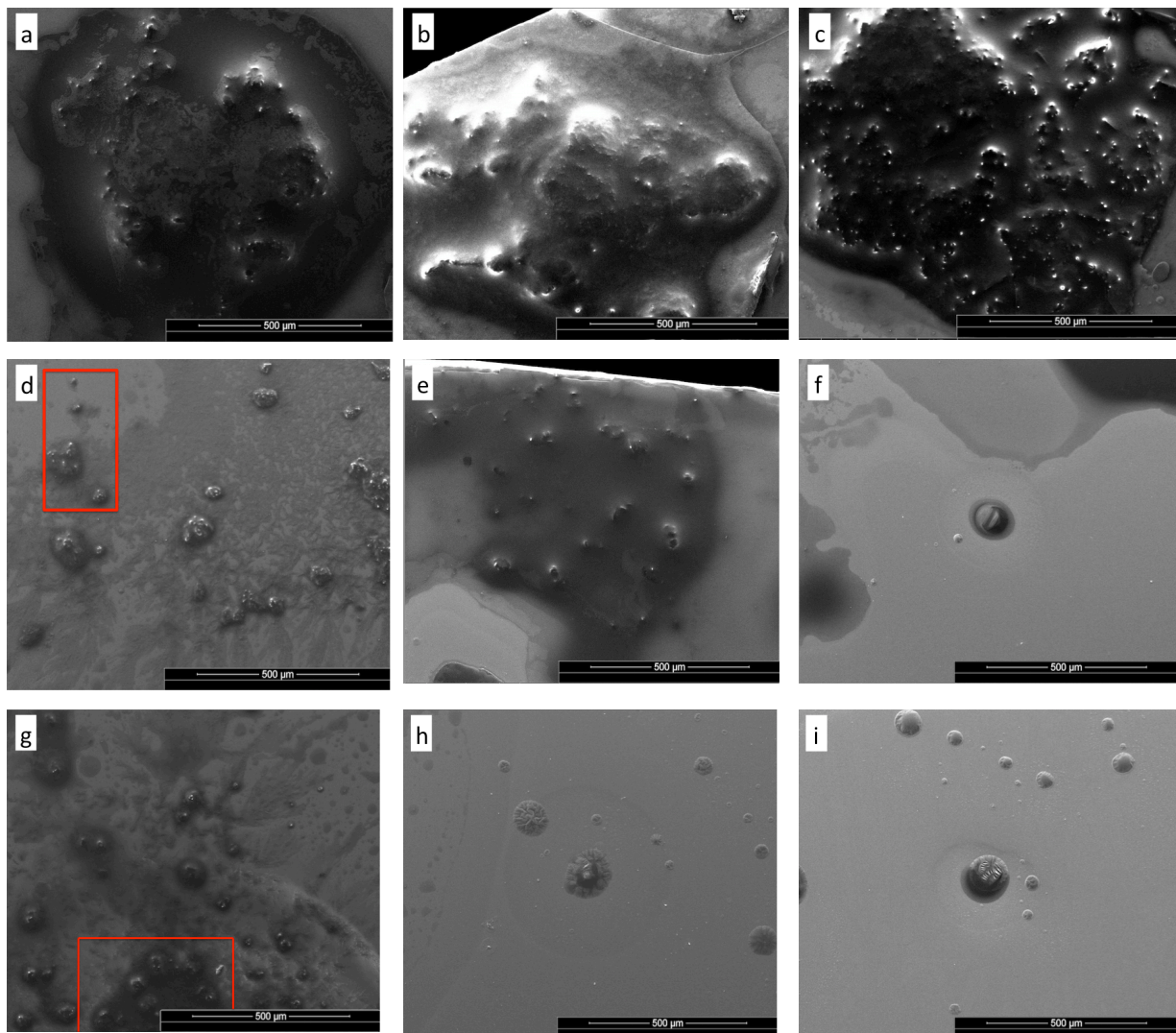
É possível observar a presença de cristais na emulsão contendo 2,4 mM do LI preparada no US 40% (Fig. 66f). Provavelmente isso indica a presença de uma fase cristalina ou a cristalização do Fluconazol, uma vez que a cristalização desse fármaco já está descrita na literatura. (ALKHAMIS; OBAIDAT; NUSEIRAT, 2002)A ocorrência da fase cristalina do LI

é pouco provável, uma vez que a concentração de LI é baixa comparada com sistema em que há a ocorrência dessa fase.(GAO et al., 2009)

Nas emulsões com 2,4 e 3,6 mM de LI preparadas por AM (Fig. 66d e 66g) e na emulsão com 2,4 mM de LI preparada no US 20% (Fig. 66e) não é possível observar a presença de gotículas esféricas e uniformemente distribuídas, sugerindo que esses sistemas possam estar sofrendo uma desestabilização por *creaming*, uma vez que essa desestabilização foi observada no LUMiSizer. Esses dados corroboram os valores de tamanho de partícula encontrados, pois esses três sistemas apresentaram os maiores tamanhos de partícula. Além disso, a emulsão com 2,4 mM de LI preparada por AM apresentou a maior polidispersão (Span) entre as emulsões com LI C₁₂MIM[Br] estudadas, portanto, não se esperava que a imagem da emulsão tivesse esferas definidas. Nas imagens das emulsões com 3,6 mM de LI preparadas no US 20% e 40% (Fig. 66h e 66i), é possível notar a presença de partículas esféricas em ambas as emulsões, demonstrando que o US influencia a topologia que o sistema irá adquirir. Na Figura 66b, que pertence à emulsão com 1,5 mM de LI preparada no US 20%, não é possível definir o formato das partículas por essa técnica, no entanto, pelo brilho da imagem, pode-se inferir que o sistema adquiriu uma fase cristalina ou cristalização de alguma espécie do sistema. A técnica de SAXS é uma alternativa para elucidar essa questão.

MET também foi usada para verificar o comportamento das nove emulsões contendo LI C₁₆MIM[Br]. A Figura 67 mostra as imagens TEM dos sistemas preparados por AM e US com concentrações de 1,3 mM, 2,06 mM e 3,1 mM de LI C₁₆MIM[Br]. Emulsões com 1,3 mM de LI (Figura-67a, 67b e 67c) demonstraram o fenômeno de *creaming* ou floculação.(KHAN et al., 2011) Visto que é possível observar a agregação de pequenas partículas, semelhante ao artigo de Gao et. al. 2009. O fenômeno de *creaming* foi observado no LUMiSizer para as emulsões em estudo. Este fenômeno é menos acentuado na emulsão da Figura-67c, o que sugere que o US na amplitude de 40% melhora a estabilização desse sistema. Na emulsão com 1,3 mM de LI em AM (Figura-67a), o fenômeno que também pode estar ocorrendo é a coalescência, devido ao alto tamanho de gotícula em relação às emulsões preparadas por US, portanto o uso do US foi promissor para uma melhor estabilidade desses sistemas. Além disso, devido ao brilho das imagens, as emulsões com 1,3 mM de LI podem estar na forma líquido-cristalina, mas isso só pode ser afirmado por meio de outras análises tais como SAXS.

Figura 67 – Imagens de MET (a barra de escala é 500 μm) das emulsões contendo 1,3 mM, 2,06 mM e 3,1 mM de $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ preparadas por AM (64a, 64d, 64g), US 20% (64b, 64e e 64h) e US 40% (64c, 64f e 64i).

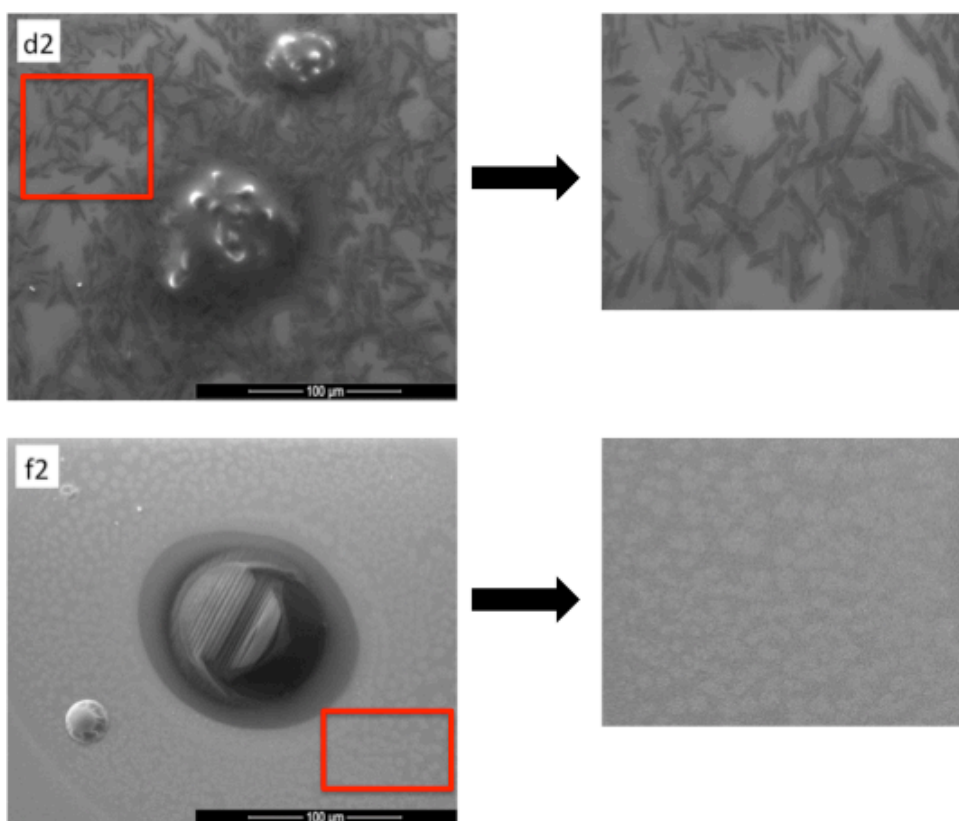


As emulsões com 2,06 mM de LI preparados por AM ou US (Figura-67d, 67e e 67f) não apresentaram o fenômeno de floculação ou creaming, isso pode ser explicado com base na quantidade maior de LI adicionada o sistema. Um número maior de gotículas de tamanho maior é perceptível nas Figuras 67d e 67e (emulsão preparada usando AM e US 20% com 2,06 mM de LI). Na Figura 67d há destaque em vermelho para as partículas com diferentes tamanhos. Isso está de acordo com os resultados de polidispersão (Span), os quais mostraram uma maior distribuição de tamanho de partícula nas emulsões preparadas em AM e US 20% comparado com o US 40% nessa concentração. Essas imagens são semelhantes as imagens de Dobler e col. (2013), em que a adição de LI ao sistema provocou o aparecimento de partículas com tamanhos diferentes. Para uma melhor compreensão do comportamento das emulsões

com 2,06 mM de LI preparadas por AM e US 40%, imagens dessas emulsões foram feitas com uma aproximação maior.

As imagens com uma maior aproximação dessas emulsões são mostradas nas Figuras 68d2 e 68f2. A diferença nas estruturas das partículas é perceptível. A emulsão preparada por AM (Figura 68d2) possui estruturas cilíndricas semelhantes a um filamento cristalino. A emulsão preparada em US 40% (Figura 68f2) tem as partículas em forma esférica. O surgimento de estruturas cristalinas já é relatado na literatura, nesse sentido as estruturas cristalinas deste trabalho são semelhantes ao demonstrado por Zhang et al. (2008), em que os autores mostraram o surgimento de uma fase cristalina para a emulsão preparada com LI $C_{16}MIM[Br]$.(ZHANG et al., 2008) Com isso, podemos observar a influência do uso do US na forma das partículas da emulsão.

Figura 68 – Imagens de MET (a barra de escala é 100 μm) das emulsões contendo 8mg de $C_{16}MIM[Br]$ preparadas por AM (d2) e US 40% (f2). A parte destacada em vermelho na imagem original foi ampliada e representada do lado direito.

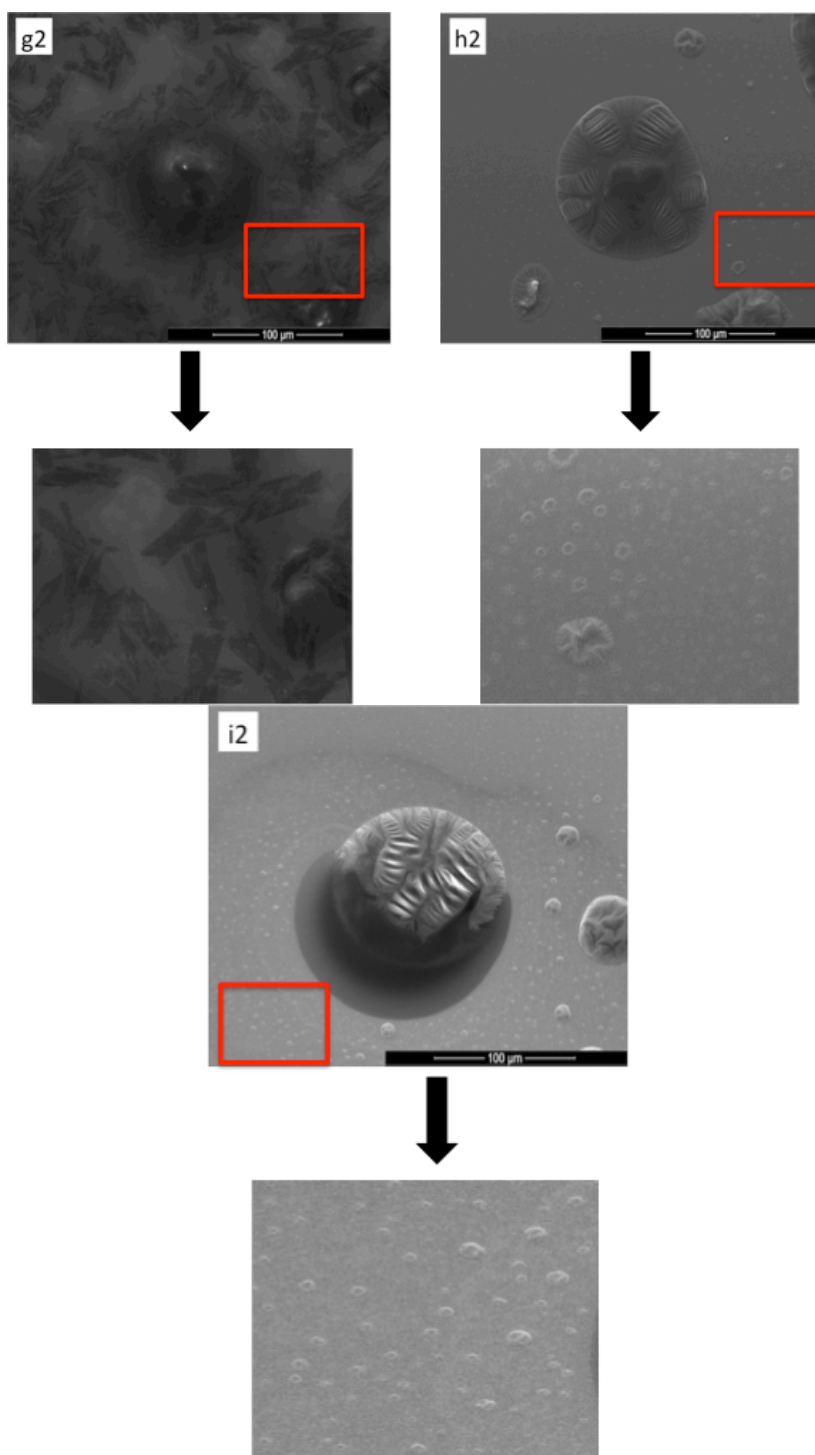


As imagens de emulsões de LI 3,1 mM preparadas por AM e US 20% e 40% são mostradas na Figura 67g, 67h2 e 67i, respectivamente. Analisando as imagens presentes na

Figura 67, pode-se observar que, nesta resolução, aparentemente todas as partículas são esféricas. Também é possível observar diferentes tamanhos de partículas. Novamente, as imagens relatadas aqui são semelhantes às imagens de Dobler et al. (2013), em que a adição de LI ao sistema ocasionou o aparecimento de partículas esféricas de tamanhos diferentes. Na figura 69g2, aparentemente um processo de desestabilização por creaming, que está destacado em vermelho, está ocorrendo. Este processo de desestabilização não é perceptível em emulsões 3,1 mM preparadas em US 20% e 40%.

Para um melhor entendimento da forma das partículas das emulsões com 3,1 mM de LI preparadas por AM e US 20% e 40%, imagens aproximadas desses sistemas foram obtidas. Pelas imagens, é possível observar que as emulsões preparadas no US 20% e 40% possuem as partículas em formato esférico (Figura 69h2 e 69i2), enquanto a emulsão preparada por AM (Figura 69g2) possui estruturas semelhantes a um filamento cristalino (ZHANG et al., 2008). Assim, mais uma vez fica comprovada a influência do US na mudança da forma das partículas para os sistemas estudados. Comparando agora as emulsões com 3,1 mM de LI preparadas no US 20% e US 40%, nota-se que, embora ambas as emulsões tenham suas partículas em forma esférica, aparentemente as partículas da emulsão preparada no US 20% passaram por um processo de quebra das partículas, uma vez que essas esferas têm aspecto seco ou atrofiado, além disso, partículas com tamanhos diferentes são observadas na imagem da emulsão preparada no US 20%. Este fato pode explicar a alta polidispersão (Span) da emulsão preparada no US 20% em comparação com as emulsões preparadas por AM e US 40%.

Figura 69 – Imagens de MET (a barra de escala é 100 μm) das emulsões contendo 3,6 mM de $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ preparadas por AM (g2), US 20% (h2) e US 40% (i2). A parte destacada em vermelho na imagem original foi ampliada e representada do lado direito.



4.2 CAPÍTULO 2: INTERAÇÕES INTERMOLECULARES NA EMULSÃO

Neste capítulo serão abordados os resultados obtidos referentes ao quarto objetivo da tese que envolve o estudo e a elucidação das interações intermoleculares entre os componentes da emulsão. Inicialmente serão abordados os experimentos de RMN (Titulação entre dois componentes e determinação de coeficiente de difusão) e as seguir os dados de ESI-MS/MS.

4.2.1 Experimentos de DOSY para determinação dos coeficientes de difusão de LI puro, LI + TCM e LI + Fluconazol

A compreensão da estrutura e dinâmica é um fator importante na caracterização das emulsões. A espectroscopia de RMN é uma ferramenta fundamental para caracterização e entendimento das relações estrutura-dinâmica dos sistemas em questão.(WEINGÄRTNER, 2013) Portanto, o objetivo desses experimentos foi determinar o coeficiente de difusão dos LIs puros em D₂O e os coeficientes dos sistemas com sucessivas adições de TCM. Além disso, foi feita a adição de fluconazol ao li puro e monitorada a difusão. A concentração de LI utilizada foi análoga à concentração dos experimentos de titulação monitorada por RMN ¹H.

Os dados de difusão foram obtidos a partir do experimento de DOSY (do inglês: Diffusion Ordered Spectroscopy). Nesse experimento, o movimento das moléculas em uma amostra pode ser espacialmente monitorado. Se as moléculas se movem após um tempo de difusão (Δ), sua nova posição pode ser encontrada após a aplicação de um segundo gradiente. A intensidade do sinal mensurado é atenuada dependendo do tempo de difusão (Δ) e dos parâmetros do gradiente, como força do gradiente (g) e comprimento do gradiente (δ'). A mudança de intensidade do sinal é descrito pela Equação (13).(KERSSEBAUM; SALNIKOV, 2006)

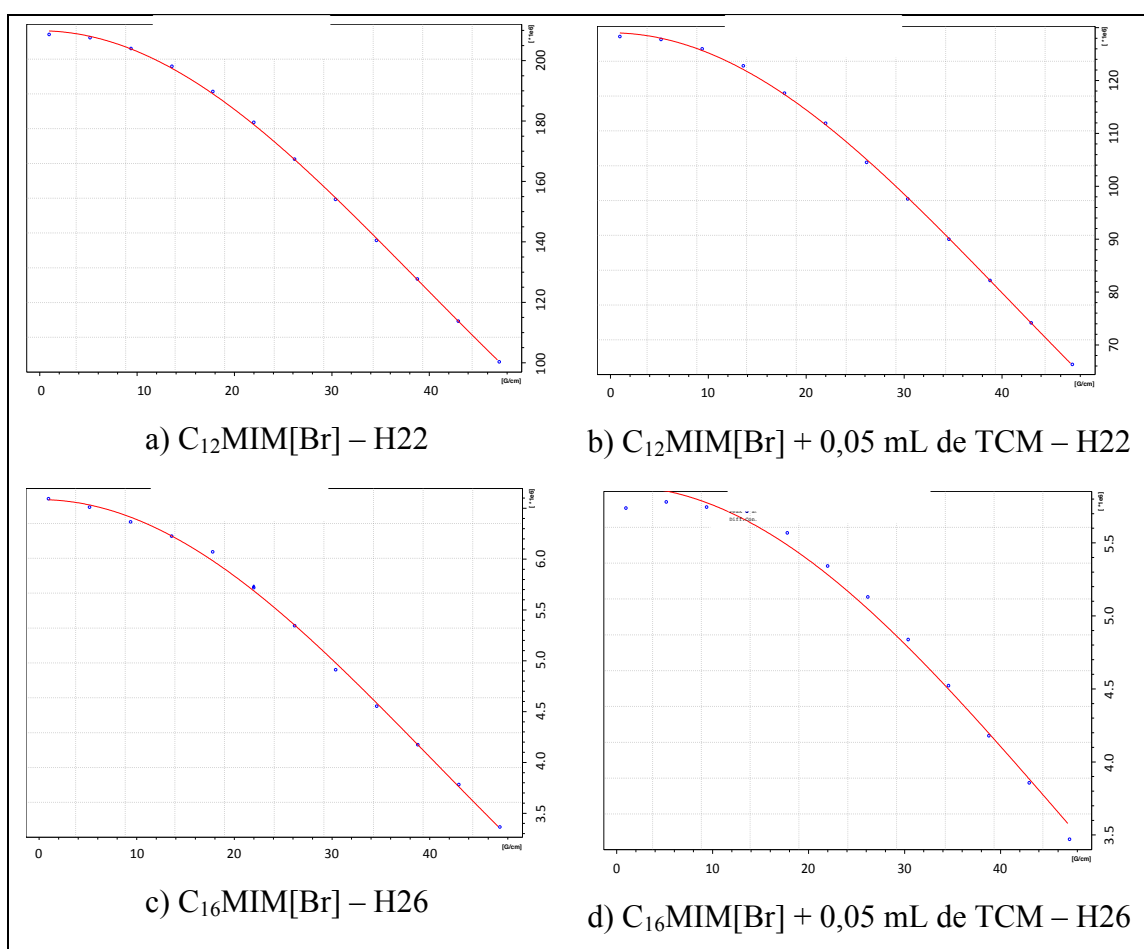
$$I = I_0 e^{-D \gamma^2 g^2 \delta'^2 (\Delta - \frac{\delta'}{3})} \quad (13)$$

Na Equação (13), I é a intensidade observada, I_0 é a intensidade de referência (intensidade do sinal sem atenuação), D é o coeficiente de difusão, γ é a razão magnetogirica

do núcleo observado, g é à força do gradiente, δ' é o comprimento do gradiente (p30) e Δ é o tempo de difusão (d20).

Após a visualização dos dados de DOSY do LI puro, adicionou-se uma alíquota de TCM (0,05 mL) ao LI dissolvido em D_2O e gerou-se um novo espectro 2D de DOSY e avaliou-se a difusão. Esse procedimento foi repetido quatro vezes, em que foram feitas adições sucessivas de 0,05 mL de TCM no tubo de análise. Portanto, foi realizada uma titulação TCM em LI. Na Figura 70 são mostrados os gráficos de DOSY gerados para o H22 do $C_{12}MIM[Br]$ puro e com 0,05 mL de TCM e o H26 do $C_{16}MIM[Br]$ puro com 0,05 mL de TCM. Os núcleos selecionados para o experimento foram os que não apresentavam sobreposição de sinais.

Figura 70 – Gráfico de DOSY para a) $C_{12}MIM[Br]$ – H22; b) $C_{12}MIM[Br]$ + 0,05 mL de TCM – H22; c) $C_{16}MIM[Br]$ – H26; d) $C_{16}MIM[Br]$ + 0,05 mL de TCM – H26.



Os hidrogênios monitorados no experimento de DOSY foram H11, e H31 para os dois LIs, além do H22 para o LI $C_{12}MIM[Br]$ e H26 para o LI $C_{16}MIM[Br]$. As curvas de difusão

apresentaram comportamento de decaimento sigmoidal, o que é o esperado para este experimento. Na Tabela 12, estão os valores de coeficiente de difusão obtidos para os LI C₁₂MIM[Br] puro, com 0,05 mL, 0,10 mL, 0,15 mL de TCM e a média desses valores. Também, estão apresentados os valores de coeficiente de difusão obtidos para o C₁₆MIM[Br] puro e com 0,05 mL, 0,10 mL, 0,15 mL de TCM e a média desses valores.

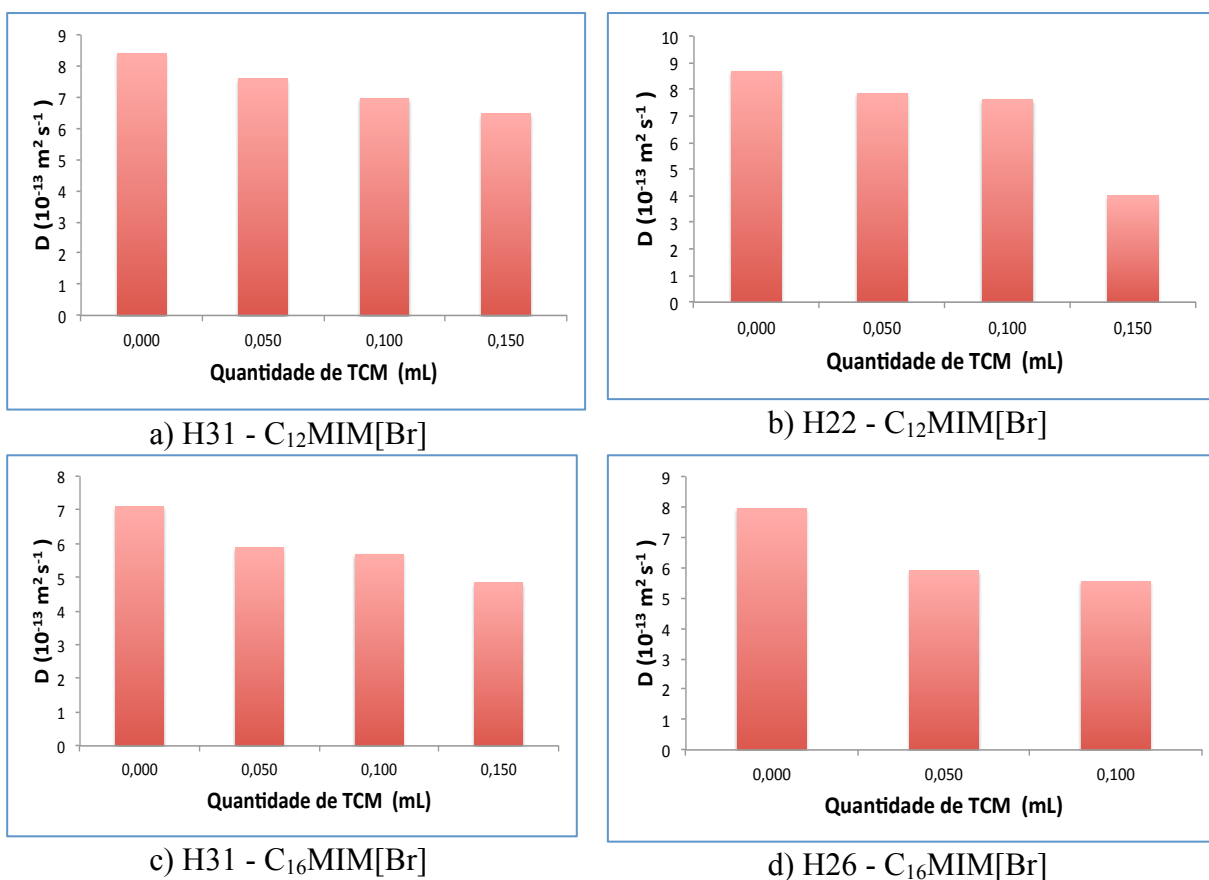
Tabela 12 - Valores de coeficiente de difusão (D em 10⁻¹³m²s⁻¹) para os LIs C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br] e suas misturas com diferentes volumes de TCM.

| C ₁₂ MIM[Br] | D _{H11} | D _{H22} | D _{H31} | Média |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| Puro | 8,47 | 8,68 | 8,39 | 8,51 |
| + 0,05 mL TCM | 7,86 | 7,85 | 7,59 | 7,77 |
| + 0,10 mL TCM | 7,78 | 7,63 | 6,96 | 7,46 |
| + 0,15 mL TCM | 6,86 | 4,00 | 6,46 | 5,77 |
| C ₁₆ MIM[Br] | D _{H11} | D _{H26} | D _{H31} | Média |
| Puro | 4,01 | 7,94 | 7,10 | 6,35 |
| + 0,05 mL TCM | 6,46 | 5,91 | 5,88 | 6,08 |
| + 0,10 mL TCM | 5,25 | 5,55 | 5,69 | 5,50 |
| + 0,15 mL TCM | - ^a | - ^a | 4,84 | 4,84 |

^a Não foi possível determinar o coeficiente de difusão devido a falta de correlação dos pontos.

Os dados reportados na Tabela 12 mostram que o coeficiente de difusão diminui conforme a concentração de TCM aumenta para a maioria dos sistemas contendo os LIs C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br], exceto para a difusão do H11 do C₁₆MIM[Br] puro essa tendência não é seguida. A média da difusão para os hidrogênios da mesma molécula segue a mesma tendência que os valores individuais, o que é esperado, uma vez que os hidrogênios de uma mesma molécula difundem de forma análoga para um determinado sistema. É evidente que quando o sistema muda, há a mudança na difusão e média dos valores de difusão dos hidrogênios. A relação entre a difusão dos LIs C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br] e a concentração de TCM torna-se evidente quando visualizada na Figura 71.

Figura 71– Relação entre a concentração de TCM e coeficiente de difusão (D) para os sistemas com os LIs C₁₂MIM[Br] (H31 e H22) e C₁₆MIM[Br] (H31 e H26).



Esses resultados demonstram que o TCM está na mesma fase que o LI e que há interação entre o LI e o TCM, uma vez que a presença de TCM altera a difusão do LI. Como o TCM é mais viscoso que o sistema água/LI, é esperado que o coeficiente de difusão do LI diminua quando o TCM é adicionado, pois a viscosidade é inversamente proporcional a difusão de acordo com a equação de Stokes-Einstein. Caso o TCM não interagisse com o LI, haveria a presença de duas fases no sistema, uma vez que o TCM não é solúvel em água. Se essa situação hipotética se concretizasse, não haveria uma alteração no coeficiente de difusão proporcional a concentração de TCM, uma vez que o ambiente químico do LI não seria alterado, pois o TCM não penetraria na fase aquosa.

Como o intuito de verificar se houve mudança na viscosidade da água quando o TCM é adicionado, foram obtidas as difusões do solvente na presença do LI e na presença das diferentes concentrações de TCM adicionadas. Os resultados para a difusão da água nos sistemas estudados estão descritos na Tabela 13.

Tabela 13 - Valores de coeficiente de difusão (D em $10^{-11} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$) para a água na presença dos LIs $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ e em diferentes volumes de TCM.

| $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $D_{\text{Água}}$ |
|--------------------------------------|--------------------------|
| Puro | 1,96 |
| + 0,05 mL TCM | 1,79 |
| + 0,10 mL TCM | 1,76 |
| + 0,15 mL TCM | 1,85 |
| $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $D_{\text{H}_2\text{O}}$ |
| Puro | 1,87 |
| + 0,05 mL TCM | 1,91 |
| + 0,10 mL TCM | 1,97 |
| + 0,15 mL TCM | 1,93 |

A partir da Tabela 13 pode-se perceber que os valores de difusão da água são maiores que os valores de difusão para os LIs, o que indica que a água difunde aproximadamente 100x mais rapidamente que os LIs, algo já esperado, considerando o menor tamanho molecular da água em relação ao LI. Pode-se observar também que o valor de difusão para a água praticamente não se altera quando o TCM é adicionado no sistema contendo o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$, o que sugere que o TCM interage com o LI e não com a água. Sendo assim, a viscosidade do meio não é alterada significativamente. Diferentemente do sistema contendo o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$, a difusão da água presente no sistema com o LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ diminui quando o TCM é adicionado, o que indica que o TCM interage com o solvente e não apenas com o LI. Sendo assim, a viscosidade do meio dos sistemas com o LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ aumenta na presença do TCM.

Para corroborar com os dados de difusão para a água, os valores de difusão dos hidrogênios dos LIs foram divididos pelos valores de difusão da água (referência) dos sistemas correspondentes, uma vez que a variação da difusão em função da concentração pode estar relacionada com a maior viscosidade. À vista disso, esse tratamento de dados tem como objetivo excluir o efeito da viscosidade. Os valores da divisão da difusão dos LIs com os valores de difusão da água são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Valores de coeficiente de difusão (D em $10^{-13} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$) para os LIs $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ e suas misturas com diferentes volumes de TCM divididos pelos valores de difusão da água (D em $10^{-11} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$) do respectivo sistema.

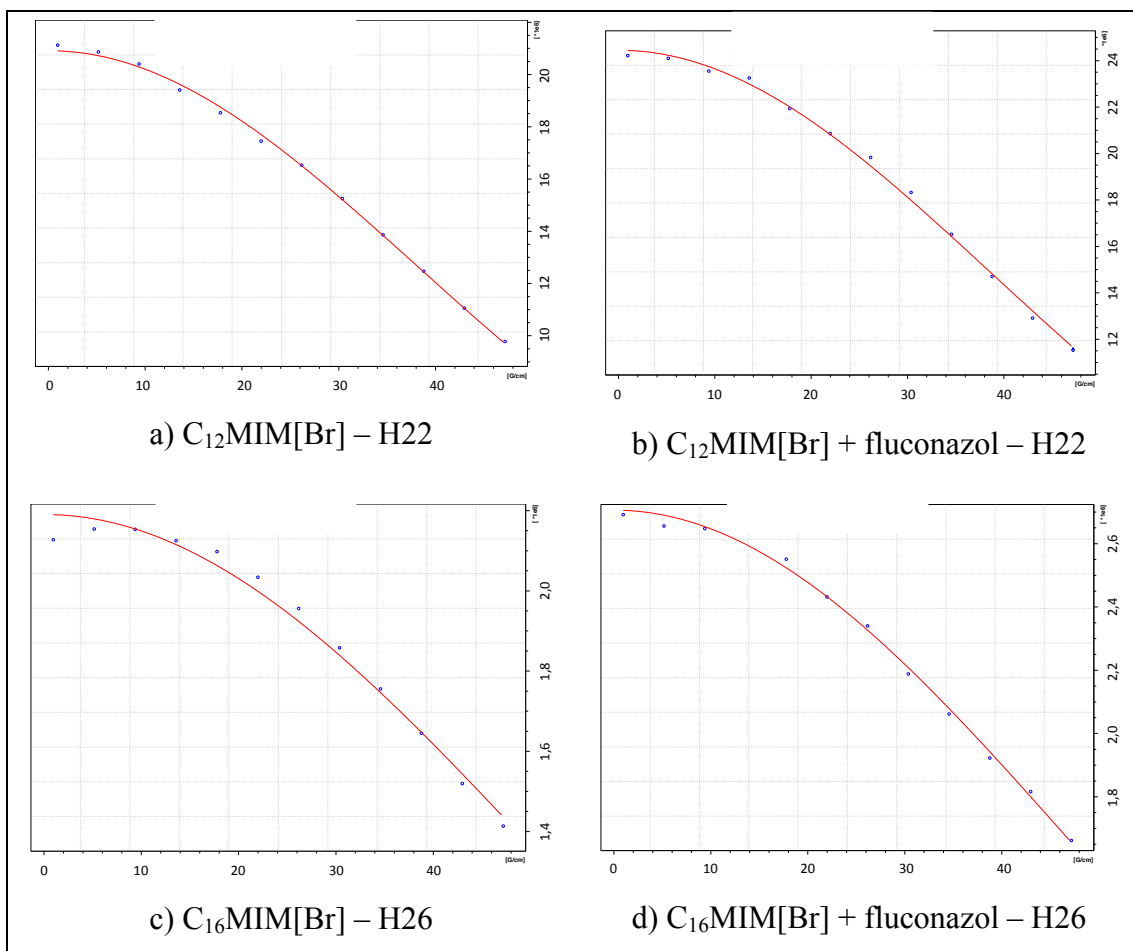
| $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $D_{\text{H11}}/D_{\text{H2O}}$ | $D_{\text{H22}}/D_{\text{H2O}}$ | $D_{\text{H31}}/D_{\text{H2O}}$ | Média |
|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------|
| Puro | 0,043 | 0,044 | 0,043 | 0,043 |
| + 0,05 mL TCM | 0,044 | 0,044 | 0,042 | 0,043 |
| + 0,10 mL TCM | 0,044 | 0,043 | 0,040 | 0,042 |
| + 0,15 mL TCM | 0,037 | 0,022 | 0,035 | 0,031 |
| $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ | $D_{\text{H11}}/D_{\text{H2O}}$ | $D_{\text{H26}}/D_{\text{H2O}}$ | $D_{\text{H31}}/D_{\text{H2O}}$ | Média |
| Puro | 0,021 | 0,042 | 0,038 | 0,034 |
| + 0,05 mL TCM | 0,033 | 0,031 | 0,03 | 0,031 |
| + 0,10 mL TCM | 0,027 | 0,028 | 0,029 | 0,028 |
| + 0,15 mL TCM | - ^a | - ^a | 0,025 | 0,025 |

^a Não foi possível determinar o coeficiente de difusão devido a falta de correlação dos pontos.

Pela Tabela 14 pode-se constatar que os valores da divisão não mudam para os sistemas com LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ até a adição de 0,10 mL de TCM, apenas na concentração mais alta de óleo pode-se perceber variação significativa nos valores de divisão. Esses dados sugerem que a viscosidade do meio está sendo alterada com a adição de TCM e é possível que a mudança nos valores de difusão para o LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ encontrados na Tabela 12 sejam referentes a essa mudança de viscosidade do meio e não necessariamente uma interação que esteja ocorrendo entre o LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e o TCM. Em contrapartida, há uma diminuição dos valores de divisão das difusões quando aumenta a concentração de TCM nos sistemas com o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$. Esses dados sugerem que a água não é afetada pela adição de TCM, apenas o LI e, portanto, o LI interage com o TCM em um ambiente químico distinto do ambiente químico da água. Em outras palavras, a mudança na difusão do LI não é devido a um aumento da viscosidade do meio provocada pela adição de TCM e sim pela interação do óleo com o LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$.

Os dados de difusão para os experimentos de mistura de LI + fluconazol foram obtidos a partir do experimento de DOSY. Inicialmente foram obtidos os dados de difusão para o LI puro e, na sequência, foram obtidos os dados de difusão para o LI + fluconazol. Na Figura 72 são mostrados os gráficos de DOSY gerados para o H22 do $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ puro e $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ + fluconazol e o H26 do $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ puro e $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ + fluconazol.

Figura 72 – Gráfico de DOSY para a) $C_{12}MIM[Br]$ – H22; b) $C_{12}MIM[Br]$ + fluconazol – H22; c) $C_{16}MIM[Br]$ – H26; d) $C_{16}MIM[Br]$ + fluconazol – H26.



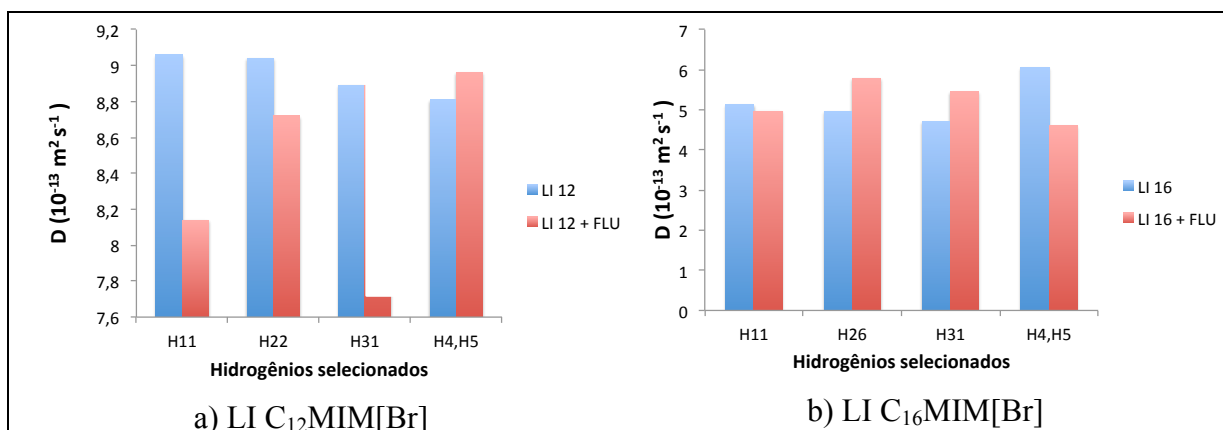
Os hidrogênios monitorados no experimento de DOSY foram H11, H31, H4 e H5 (juntos) para os dois LIs, além do H22 para o LI $C_{12}MIM[Br]$ e H26 para o LI $C_{16}MIM[Br]$. As curvas de difusão apresentaram comportamento de decaimento sigmoidal, o que é o esperado para este experimento. Na Tabela 15, estão os valores de coeficiente de difusão obtidos para os LI $C_{12}MIM[Br]$ puro, LI $C_{12}MIM[Br]$ + fluconazol e a média desses valores. Também, estão apresentados os valores de coeficiente de difusão obtidos para o $C_{16}MIM[Br]$ puro, LI $C_{16}MIM[Br]$ + fluconazol e a média desses valores.

Tabela 15 - Valores de coeficiente de difusão (D em $10^{-13} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) para os LIs $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$ e suas misturas com fluconazol.

| Difusão ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) | $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | | $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ | |
|----------------------------------------------|--------------------------------------|--------------|--------------------------------------|--------------|
| | Puro | + fluconazol | Puro | + fluconazol |
| $D_{\text{H11}} (.10^{-13})$ | 9,06 | 8,14 | 5,13 | 4,97 |
| $D_{\text{H22}} (.10^{-13})$ | 9,04 | 8,72 | 4,96 | 5,78 |
| $D_{\text{H31}} (.10^{-13})$ | 8,89 | 7,67 | 4,72 | 5,45 |
| $D_{\text{H4,H5}} (.10^{-13})$ | 8,81 | 8,96 | 6,06 | 4,62 |
| Média ($.10^{-13}$) | 8,95 | 8,37 | 5,22 | 5,20 |

A partir da análise da Tabela 15, é possível visualizar mudanças na difusão quando o fluconazol é adicionado no sistema, mostrando que a presença do fármaco faz com que as moléculas apresentem mudança no movimento, o que se deve, provavelmente, as interações que ocorrem entre LI + fluconazol. A média dos valores de difusão dos diferentes hidrogênios monitorados na molécula, demonstrou a mesma tendência que os valores individuais. Essa tendência era esperada, uma vez que a difusão dos diferentes hidrogênios da mesma molécula deve ser semelhante, pois estão difundindo juntos. A mudança de comportamento dos hidrogênios nos diferentes sistemas é melhor visualizada na Figura 73.

Figura 73 – Relação entre os hidrogênios monitorados e o coeficiente de difusão (D) para os sistemas com os LIs $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ e $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$.



Pela análise da Figura 73, observa-se que os hidrogênios H11 e H22 tem sua difusão diminuída quando o fármaco é adicionado na solução de LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$. Isso indica que esses hidrogênios interagem com o fármaco fluconazol por interações hidrofóbicas, uma vez que o H11 e H22 correspondem aos hidrogênios da cadeia hidrofóbica do LI. Já os hidrogênios H4 e H5 apresentam aumento na difusão quando o fármaco é adicionado ao sistema, indicando que esses hidrogênios ficam mais “livres” à medida que um novo

composto é adicionado ao sistema. Isso indica que provavelmente a adição do fármaco faz com que o LI se rearranje em solução e desfça as interações LI-LI que ocorriam antes da adição do fluconazol.

Já o sistema contendo o LI C₁₆MIM[Br] demonstra, pelos experimentos de DOSY, que o H26 e H31 adquirem um valor de difusão maior quando o fluconazol é adicionado no sistema. Por outro lado, os hidrogênios H11 e H4, H5 diminuem sua difusão quando o fármaco é adicionado no sistema. Portanto, pode-se perceber que, apesar da similaridade das estruturas dos LIs, ambos apresenta comportamento distinto em solução na presença do fármaco fluconazol. Mesmo assim, conclui-se que ocorrem as interações entre LI + fluconazol devido as mudanças observadas nos espectros de RMN ¹H e DOSY.

4.2.2 Experimentos de Titulação de TCM em LI monitorados por RMN de ¹H

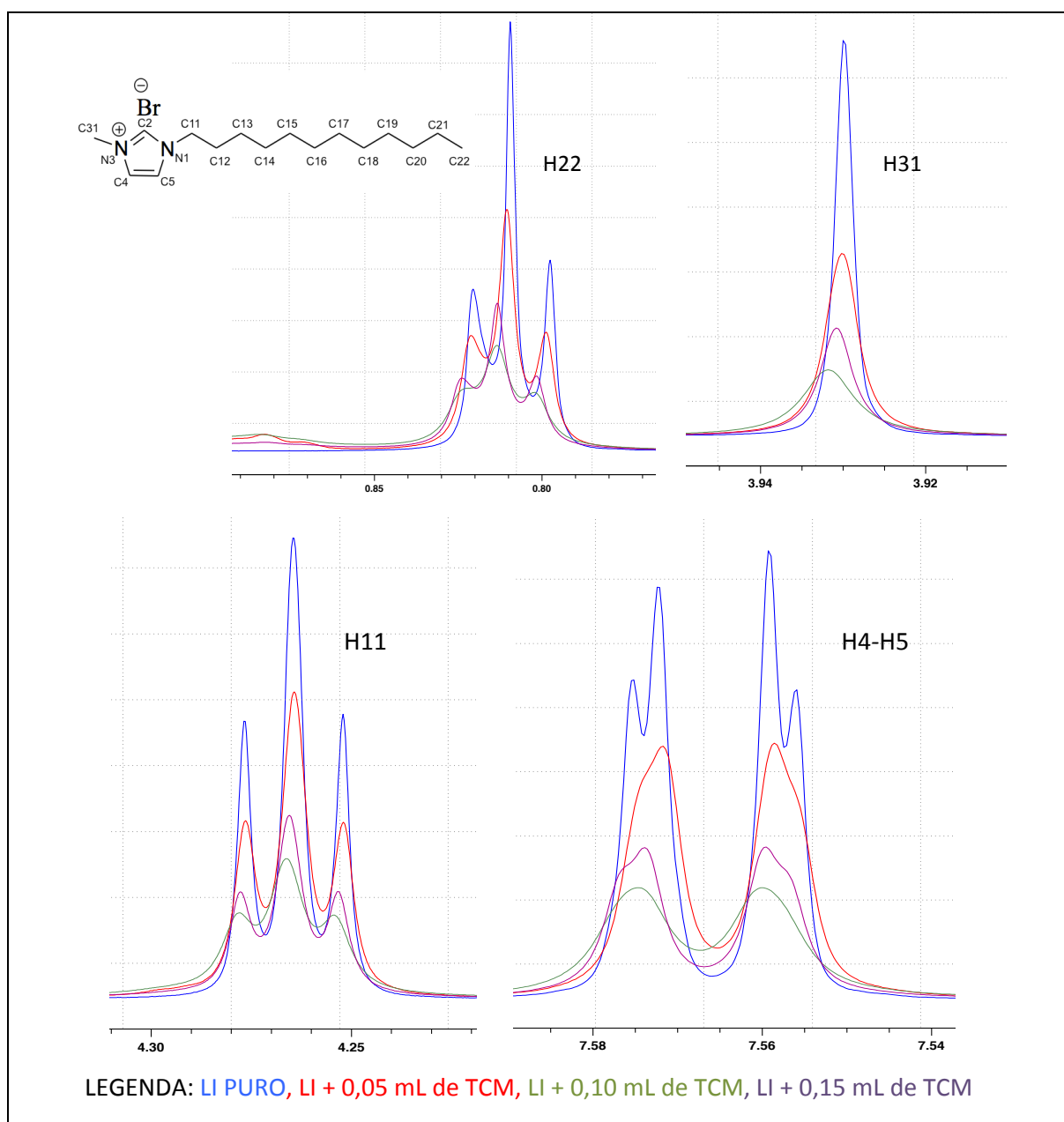
Com o objetivo de obter evidências de que os componentes das emulsões interagem entre si, e de elucidar quais são estas interações foram realizados espectros de RMN ¹H de amostras de LIs puros e espectros de LIs na presença do TCM. Os espectros de TCM + fármaco não foram feitos, uma vez que a baixa solubilidade do fluconazol em água e a necessidade de ser colocado uma quantidade de no mínimo 10 mg do composto em 0,5 mL de D₂O impossibilitaram a realização desses experimentos.

Inicialmente, foram realizados espectros de RMN ¹H dos LIs puros (C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br]) na concentração acima da CAC. A concentração acima da CAC foi escolhida devido ao fato dos LIs na concentração abaixo da CAC em D₂O não possuem detecção no RMN ¹H, fato que se deve ao limite de detecção ou algum componente específico dessas moléculas.. Também é necessário destacar que a concentração de LI C₁₂MIM[Br] adicionada (25 mg em 500 uL de D₂O) foi maior que a quantidade de LI C₁₆MIM[Br] adicionada (15 mg em 500 uL de D₂O), uma vez que a solubilidade do LI C₁₆MIM[Br] é menor que a do LI C₁₂MIM[Br] e a CAC do LI C₁₆MIM[Br] (0,6 mM) (VANYÚR et al., 2007) também é menor que a CAC do LI C₁₂MIM[Br] (8,5 mM).(DONG et al., 2007) Os espectros de RMN ¹H das espécies puras estão no Apêndice A e os valores de deslocamento químico encontram-se nas Tabelas 7 e 8 dessa tese.

Após a visualização dos dados do espectro puro adicionou-se uma alíquota de TCM (0,05 mL) ao LI dissolvido em D₂O e gerou-se um novo espectro de RMN ¹H. Esse procedimento foi repetido quatro vezes, em que foram feitas adições sucessivas de 0,05 mL

de TCM no tubo de análise. Portanto, foi realizada uma titulação de óleo em LI. Na Figura 74, são mostrados os espectros de RMN ^1H sobrepostos do LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ puro, do LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ com 0,5 mL de TCM puro, do LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ com 0,10 mL de TCM puro e do LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ com 0,15 mL de TCM puro.

Figura 74 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ puro, LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ com 0,05 mL de TCM, LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ com 0,10 mL de TCM e LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$ com 0,15 mL de TCM.

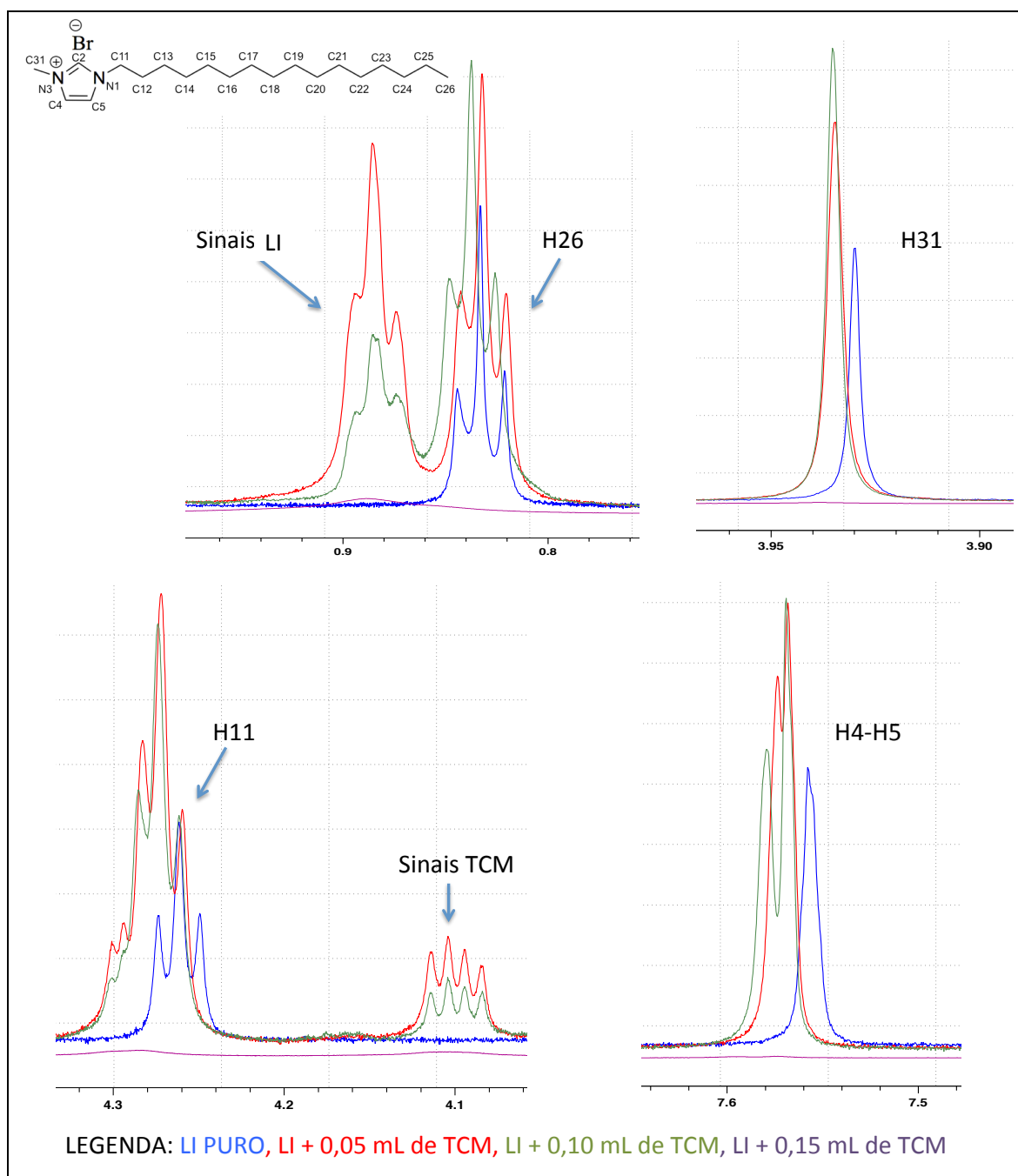


A partir da análise da Figura 74, é possível observar a diminuição da intensidade dos sinais dos prótons H11, H4, H5, H22 e H31 quando ocorre a adição do óleo TCM, o que

sugere que o movimento desses hidrogênios torna-se restrito o que evidencia a ocorrência de interação entre o LI e o óleo. Além disso, a multiplicidade dos sinais dos hidrogênios H4 e H5 quando o óleo é adicionado é atenuada. Essa variação na multiplicidade de sinais quando se adiciona TCM, já foi relatada por Li e col. (2009) para emulsões com o LI C₁₂MIM[Br] e p-xileno como fase oleosa os autores atribuíram essa mudança na multiplicidade às interações cátion- π , ou seja, entre o cátion imidazolíneo e p-xileno. No caso do sistema apresentado nessa tese, é possível que esteja ocorrendo interações entre o anel imidazolíneo (receptor de elétrons) e os oxigênios presentes nos ésteres do TCM (doador de elétrons). Essas interações podem ser evidenciadas pelas alterações na multiplicidade de sinais do espectro de RMN. Outra mudança observada nos espectros da Figura 74 está relacionada com o deslocamento químico dos hidrogênios do LI C₁₂MIM[Br] quando o TCM é adicionado no sistema. Observou-se que a variação de deslocamento químico é mais pronunciada para o próton H22, o qual apresenta maior deslocamento químico conforme TCM é adicionado. Isso sugere que as moléculas de TCM são solubilizadas no interior da micela hidrofóbica, as quais interagem diretamente com a cadeia alquílica lateral do LI C₁₂MIM[Br]. Portanto, os hidrogênios presentes na ponta da cadeia lateral hidrofóbica sentem mais as alterações que ocorrem no ambiente químico, o que leva a maior deslocamento químico desses hidrogênios. O H22 desloca-se 0,005 ppm quando compara-se o LI puro com o LI + 0,15 TCM, já o H11 desloca-se 0,002 ppm quando compara-se o LI puro com o LI + 0,15 TCM. O LI C₁₂MIM[Br] possui pouca interação com o TCM, uma vez o sinal do LI diminui conforme aumenta a quantidade de TCM adicionada. Isso pode indicar a falta de homogeneidade do sistema quando o TCM é adicionado.

O mesmo experimento foi realizado para o LI C₁₆MIM[Br]. A Figura 75 ilustra os espectros de RMN ¹H sobrepostos do LI C₁₆MIM[Br] puro, do LI C₁₆MIM[Br] com 0,05 mL de TCM puro, do LI C₁₆MIM[Br] com 0,010 mL de TCM puro e do LI C₁₆MIM[Br] com 0,15 mL de TCM puro.

Figura 75 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C₁₆MIM[Br] puro, LI C₁₆MIM[Br] + 0,05 mL de TCM, LI C₁₆MIM[Br] + 0,10 mL de TCM e LI C₁₆MIM[Br] + 0,15 mL de TCM.



Os dados mostram que o aumento do deslocamento químico ocorre para os núcleos H11, H4, H5, H26 e H31 quando TCM foi adicionado. Esse resultado demonstra que houve mudança no ambiente químico desses hidrogênios, o que acarreta a variação do deslocamento químico. A mudança de deslocamento químico foi pronunciada para todos os hidrogênios monitorados, o que evidencia a interação entre o TCM e o C₁₆MIM[Br] em porções diferentes das moléculas. Diferentemente dos sistemas contendo o LI C₁₂MIM[Br], nos sistemas com o

LI C₁₆MIM[Br] observou-se diferentes deslocamentos químicos para o H26 quando o TCM é adicionado. Portanto, quando o TCM é adicionado ao sistema há um conjunto de sinais correspondente a micela LI-LI interagindo entre si e um conjunto de sinais corresponde a micela LI-TCM que é formada com a adição do óleo. Além disso, verificou-se o desdobramento dos sinais de H4 e H5 quando foi adicionado o TCM. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por LI e col. (2009) e esse fenômeno pode estar relacionado com as interações cátion- π ou π - π que ocorrem entre os anéis imidazolíneos. Outro ponto interessante observado nos espectros da Figura 75 foi a variação na intensidade dos sinais de LI quando o TCM foi adicionado. A intensidade é quase completamente atenuada e quase não se observa sinais na concentração mais elevada de TCM. Além disso, nessa concentração também foi observada variação na amplitude do sinal. Esses fatos evidenciam que na maior concentração de TCM o ambiente químico sofreu alterações significativas e o movimento dos hidrogênios do LI tornou-se restrita. Nesse ponto, ocorreu a formação das gotículas e houve um aumento muito grande no tempo de correlação dos sinais de hidrogênio, pois o tempo de rotação da gotícula seria muito superior ao do agregado de LI. Neste ponto a razão LI/TCM é por volta de 250. Sendo assim, para o H26 é possível observar os valores do LI que interagem com o TCM (menor deslocamento químico) e sinais do LI livre (maior deslocamento químico).

Por fim, como houve a variação no deslocamento químico e variação na amplitude e intensidade do sinal para os hidrogênios ligados as porções hidrofóbicas e hidrofílicas, pode-se concluir que além das interações hidrofóbicas (van der Waals, π - π) também podem estar ocorrendo interações entre os hidrogênios ligados a porções hidrofílicas do LI com as porções hidrofílicas do TCM (oxigênio do éster) formando ligações de hidrogênio entre os componentes. A Figura 76, mostra o aspecto que o sistema adquire após a adição de TCM ao LI puro em D₂O. A coloração branca e o aspecto opaco observado como uma fase homogênea compra que o TCM foi incorporado no sistema e não permaneceu em uma fase separada.

Figura 76 – Imagens dos sistemas a) $C_{12}MIM[Br]$ + 0,15 mL de TCM; e b) $C_{16}MIM[Br]$ + 0,15 mL de TCM; em D_2O .



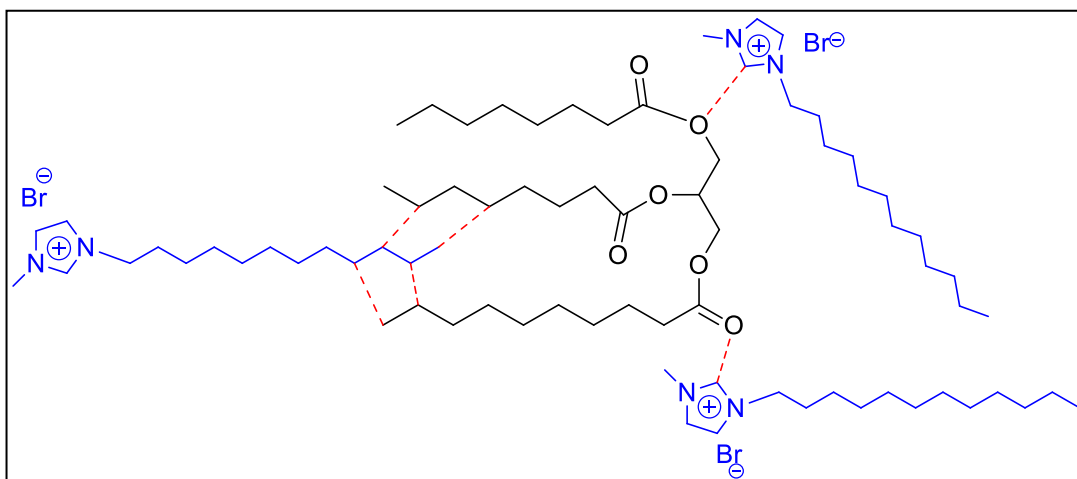
a) $C_{12}MIM[Br]$ + 0,15 mL de TCM



b) $C_{16}MIM[Br]$ + 0,15 mL de TCM

Como já descrito, os LIs podem estar interagindo com o TCM a partir de interações hidrofóbicas entre as cadeias dos componentes e podem estar ocorrendo interações entre o anel imidazólico do LI e os oxigênios do TCM. A Figura 77 apresenta as principais interações que podem estar ocorrendo entre o LI e o TCM. Para exemplificação, utilizou-se o LI $C_{12}MIM[Br]$.

Figura 77 - Principais interações entre o LI $C_{12}MIM[Br]$ (azul) e o TCM (preto).



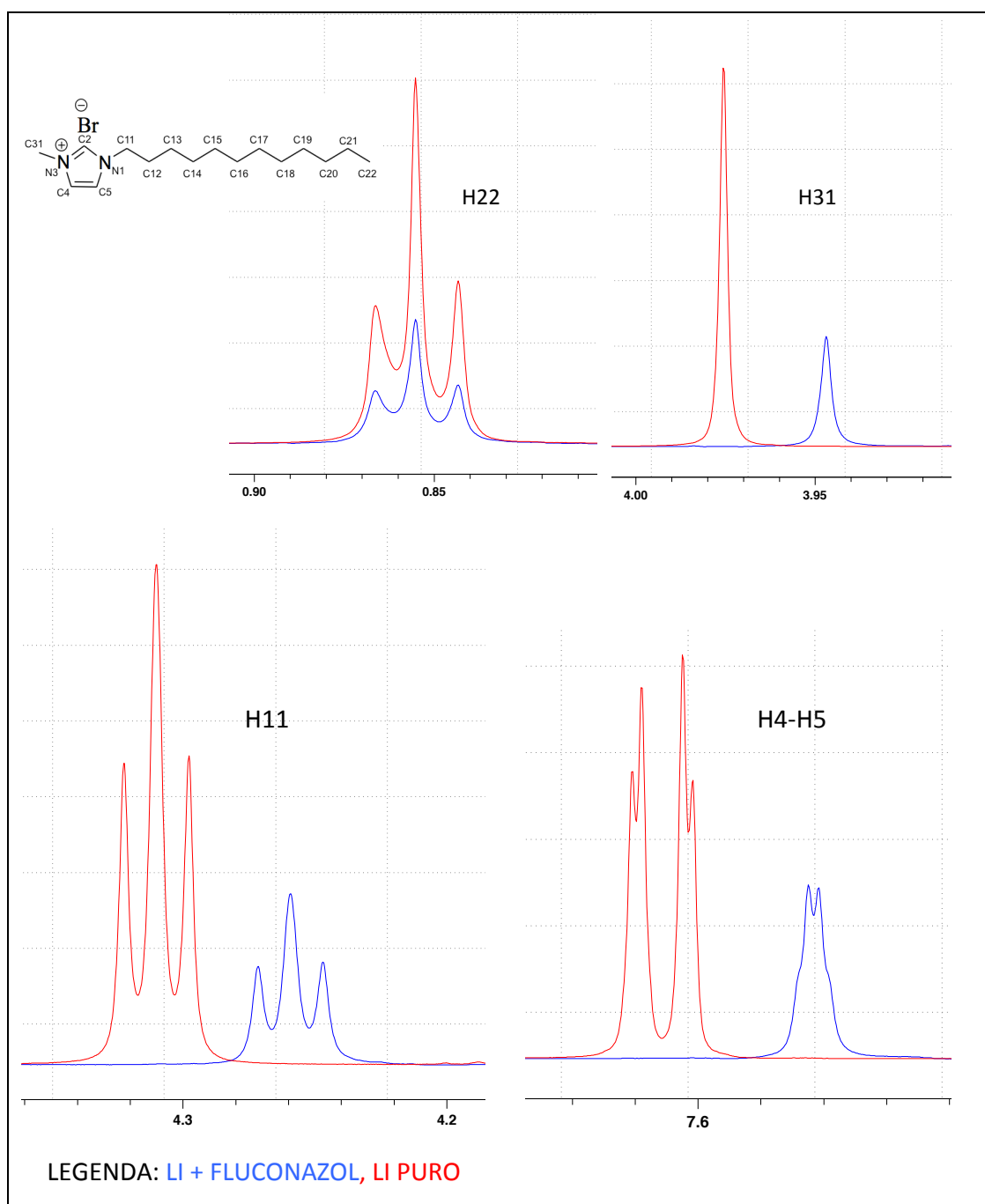
Por fim, pode-se inferir que o LI C₁₆MIM[Br] interage mais fortemente com o TCM que o LI C₁₂MIM[Br], uma vez que há o aparecimento de um conjunto de sinais correspondentes a interação LI-TCM quando considera-se a emulsão contendo o composto iônico de cadeia maior. Esses resultados são concordantes com a maior estabilidade, maior eficiência de encapsulamento e maior liberação de fármaco dos sistemas com o LI C₁₆MIM[Br] comparado com as emulsões com o LI C₁₂MIM[Br]. Como já discutido anteriormente, é necessário uma maior energia (US 40%) para romper as micelas formadas com óleo, fluconazol e LI C₁₆MIM[Br] e isso está diretamente relacionado com a maior interação entre TCM e LI C₁₆MIM[Br] mostrada no RMN ¹H.

4.2.3 Mistura de LI + fluconazol monitorada por RMN ¹H.

Com o objetivo de obter evidências de que os componentes das emulsões interagem entre si, e de elucidar quais são estas interações foram realizados espectros de RMN ¹H de amostras de LIs puros em D₂O e espectros de LIs na presença do Fluconazol.

Após a visualização dos dados do espectro puro, adicionou-se uma alíquota de Fluconazol (8 mg) ao LI dissolvido em D₂O e gerou-se um novo espectro de RMN ¹H. Na Figura 78, são mostrados os espectros de RMN ¹H sobrepostos do LI C₁₂MIM[Br] puro e do LI C₁₂MIM[Br] com fluconazol.

Figura 78 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C₁₂MIM[Br] puro e LI C₁₂MIM[Br] + fluconazol.

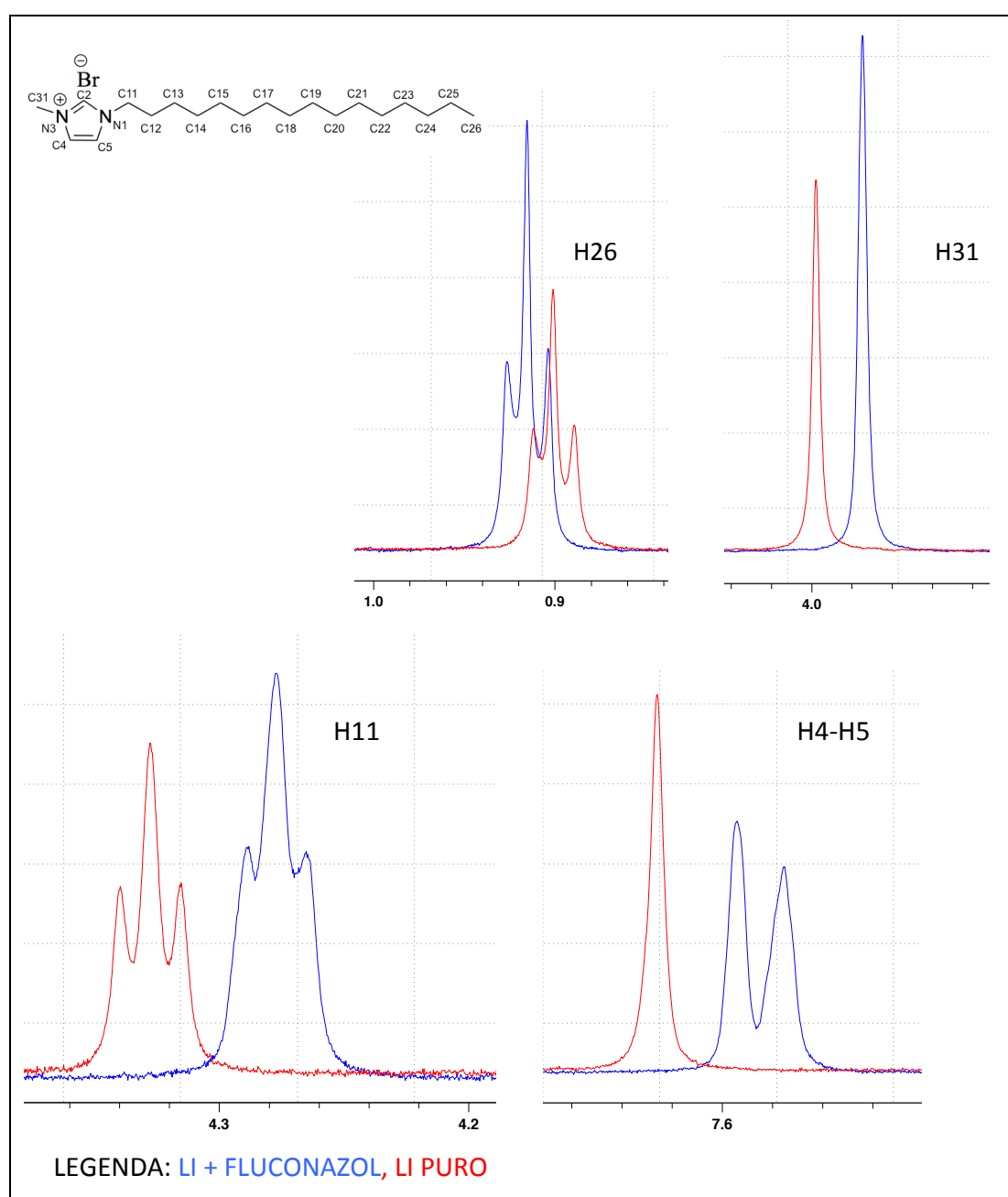


A partir da análise da Figura 78, é possível observar que o H22, presente na extremidade da cadeia hidrofóbica, não sofre alteração no deslocamento químico e, portanto, essa porção do LI não sofre influência do fármaco. O H31 e H11 sofrem blindagem quando o fármaco fluconazol é adicionado. Sendo assim, pode-se inferir que o fármaco doa densidade eletrônica para o LI nestes núcleos. Já o H4 e H5 sofrem blindagem quando o fluconazol é adicionado. Esses hidrogênios apresentam caráter relativamente mais ácido, uma vez que

estão conectados no anel deficiente de elétrons e assim podem formar ligações de hidrogênio com o flúor presente no anel aromático do fluconazol ou podem formar ligações de hidrogênio com os nitrogênios presentes no anel triazol do fármaco. Esse fato explica a blindagem dos hidrogênios ligados ao anel do LI.

O mesmo experimento foi realizado para o LI C₁₆MIM[Br]. Na Figura 79, são mostrados os espectros de RMN ¹H sobrepostos do LI C₁₆MIM[Br] puro e do LI C₁₆MIM[Br] com fluconazol.

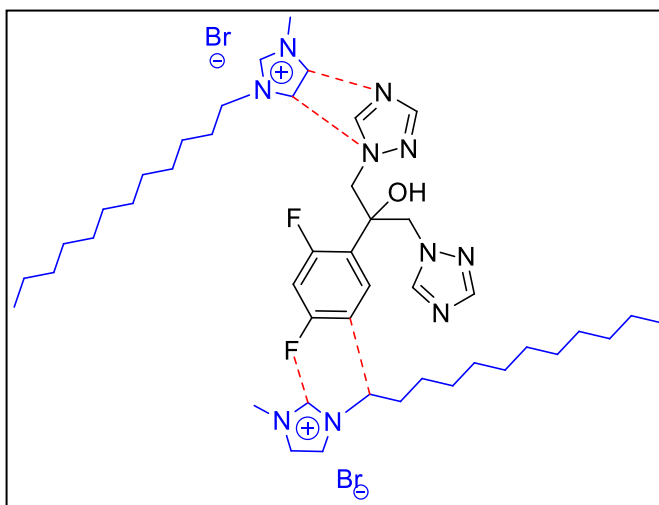
Figura 79 – Espectros sobrepostos das regiões de interesse ampliadas dos sistemas: LI C₁₆MIM[Br] puro e LI C₁₆MIM[Br] + fluconazol.



Diferentemente dos experimentos com o C₁₂MIM[Br], o espectro de ¹H RMN do C₁₆MIM[Br] (Figura 79) apresenta o hidrogênio da extremidade da cadeia hidrofóbica sofrendo desblindagem quando o fármaco é adicionado. Antes da adição do fármaco, as moléculas de LI estão interagindo entre si e dispostas na forma de micelas, as quais, em seu interior, estão as cadeias hidrofóbicas do LI interagindo entre si, o que acarreta a blindagem dos hidrogênios da cadeia hidrofóbica do LI. A partir do momento em que o fluconazol é adicionado, as interações hidrofóbicas entre o LI são afetadas e conseqüentemente ocorre a desblindagem do H26. Os hidrogênios H31, H11, H4 e H5 sofrem blindagem quando o fluconazol é adicionado, evidenciando que o fármaco fornece densidade eletrônica para determinadas porções do LI.

A Figura 80 apresenta as principais interações que podem estar ocorrendo entre o LI e o fluconazol. Para exemplificação, utilizou-se o LI C₁₂MIM[Br].

Figura 80 - Principais interações entre o LI C₁₂MIM[Br] (azul) e o fluconazol (preto).



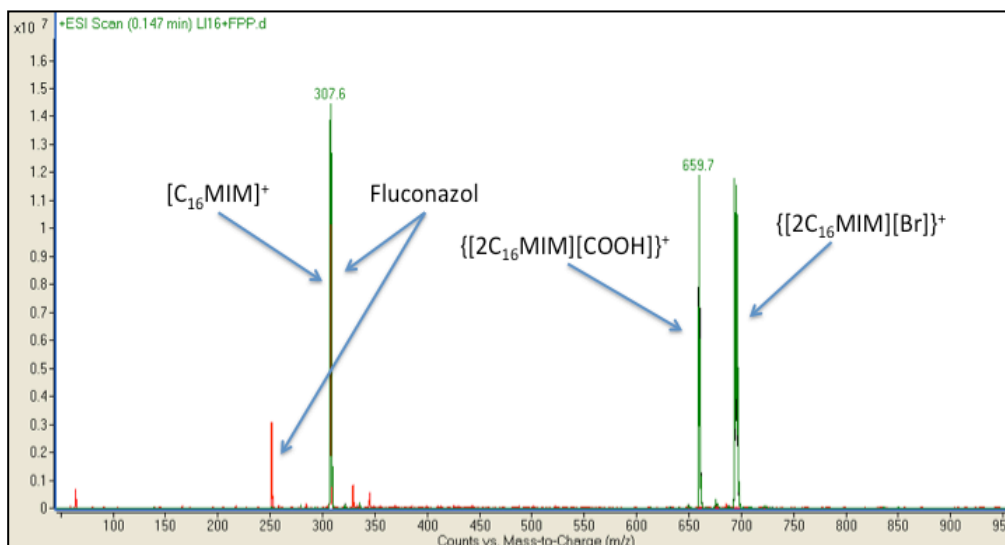
Portanto, observou-se que ambos os LIs interagem com o fluconazol e não é possível, por esse experimento, elencar qual dos LIs interage de forma mais efetiva com o fármaco. Todavia, como discutido anteriormente, o LI C₁₆MIM[Br] interage mais fortemente com o TCM e isso pode explicar os resultados mais promissores de estabilidade, eficiência de encapsulamento e liberação de fluconazol das emulsões preparadas com o LI de cadeia maior.

4.2.4 Interações entre os componentes das emulsões monitoradas por LC-ESI-MS/MS.

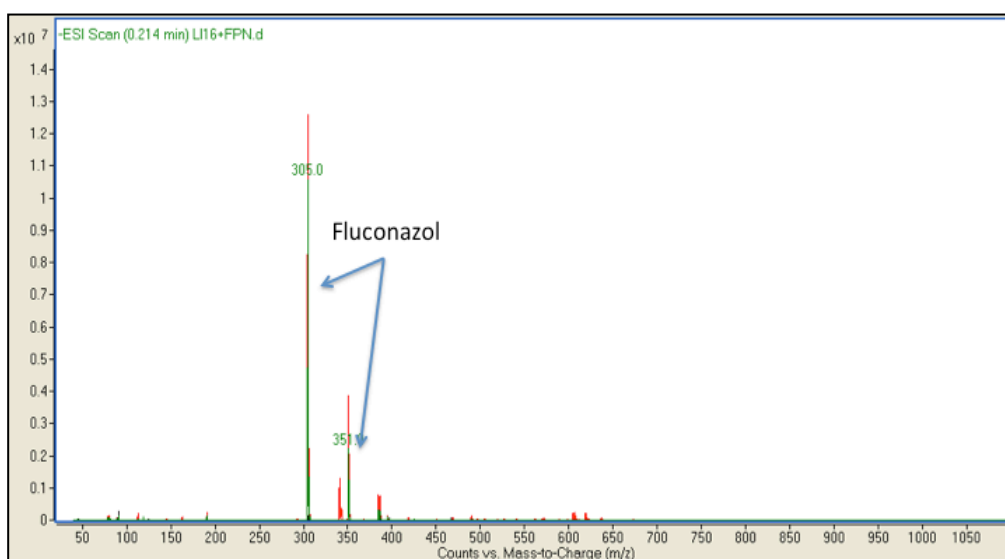
A espectrometria de massa, mais comumente associada com uma fonte de *electrospray* (ESI-MS), com energia de colisão induzida (ECI) (do inglês - *colision induced dissociation* CID), é uma técnica tipicamente utilizada na determinação das energias envolvidas na interação entre moléculas iônicas na fase gasosa de uma forma semi-quantitativa. A produção de íons em fase gasosa, no processo de ionização por *electrospray*, envolve duas etapas principais: (a) produção de gotículas carregadas na ponta do capilar e (b) a diminuição do tamanho da gota devido a evaporação do solvente, até que, em determinado ponto, a repulsão entre os íons é tão elevada que ocorre a fissão da gota, e os íons livres de solvente, são acelerados através de um capilar e analisados no espectrômetro de massa. (CECH; ENKE, 2001; FERNANDES et al., 2011)

As interações inter- e intramoleculares não covalentes de agregados, por exemplo, são mantidas em fase gasosa e podem ser detectadas no espectrômetro de massas.(JECKLIN et al., 2008) Portanto, a técnica de ESI-MS, a qual fornece informações detalhadas sobre as interações entre as moléculas que ocorrem em solução, representa uma estratégia promissora para o estudo das propriedades intrínsecas de agregados em um ambiente livre de solvente. Diante dessas informações, soluções contendo os componentes presentes nas emulsões feitas nessa tese foram preparadas e analisadas por LC-ESI-MS/MS no método SCAN modo positivo e negativo. Foram preparados as seguintes misturas em água ultra pura na relação estequiométrica 1:1 (massa/massa): LI C₁₂MIM[Br] puro, LI C₁₂MIM[Br] + Fluconazol, LI C₁₂MIM[Br] + TCM, LI C₁₆MIM[Br] puro, LI C₁₆MIM[Br] + Fluconazol e LI C₁₆MIM[Br] + TCM. A mistura TCM + Fluconazol foi preparada em acetonitrila grau HPLC. Os espectros de massas sobrepostos do LI C₁₆MIM[Br] puro (preto), Fluconazol puro (vermelho) e mistura LI C₁₆MIM[Br] + Fluconazol (verde) no modo positivo e negativo são dados na Figura 81.

Figura 81 – Espectros de massas sobrepostos no modo a) positivo e b) negativo da mistura LI C₁₆MIM[Br] + Fluconazol. LI C₁₆MIM[Br] puro (preto), Fluconazol (vermelho) e C₁₆MIM[Br] + Fluconazol (verde).



a) Espectro de massas LI C₁₆MIM[Br] + Fluconazol no modo positivo.



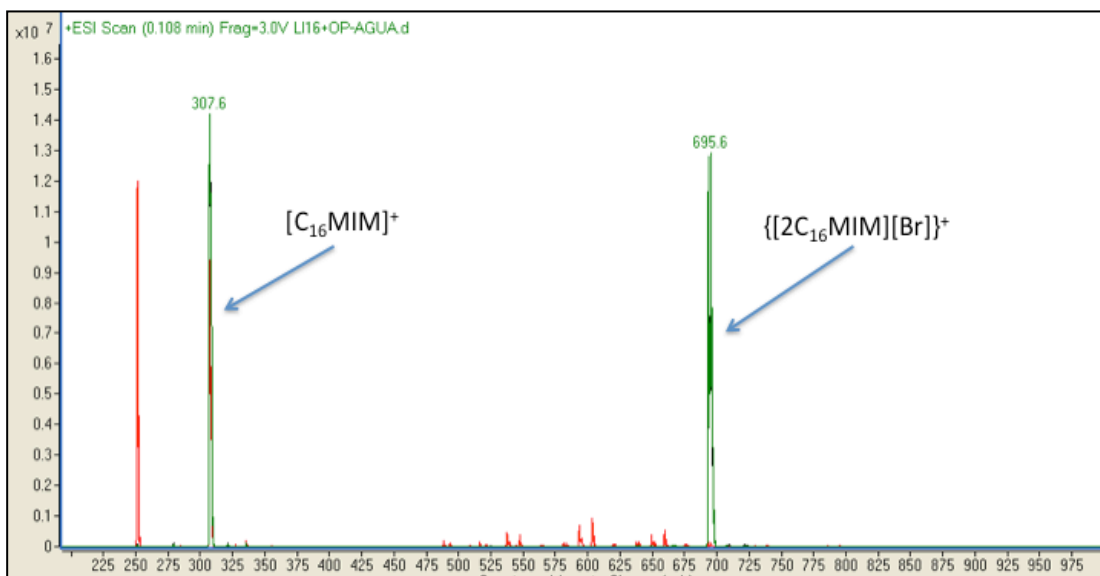
b) Espectro de massas LI C₁₆MIM[Br] + Fluconazol no modo negativo.

A partir da análise desses espectros, é possível observar a agregação entre dois cátions do LI e um ânion Br⁻ (m/z 695,6) no modo positivo. Além disso, observa-se um pico em m/z 659,7 relativo à interação entre 2 cátions do LI e o ânion formiato, o qual é proveniente da fase móvel utilizada. No espectro no modo negativo, destaca-se as massas relativas ao Fluconazol, com o pico massa de (m/z 305), o que corresponde ao íon molecular do fármaco. Interações entre o fármaco e o LI não foram observadas. A possível explicação para não ser observada a interação por massas dessas espécies pode estar baseada na interação fraca que ocorre entre o LI e o fármaco que não possui estabilidade suficiente para gerar um pico no

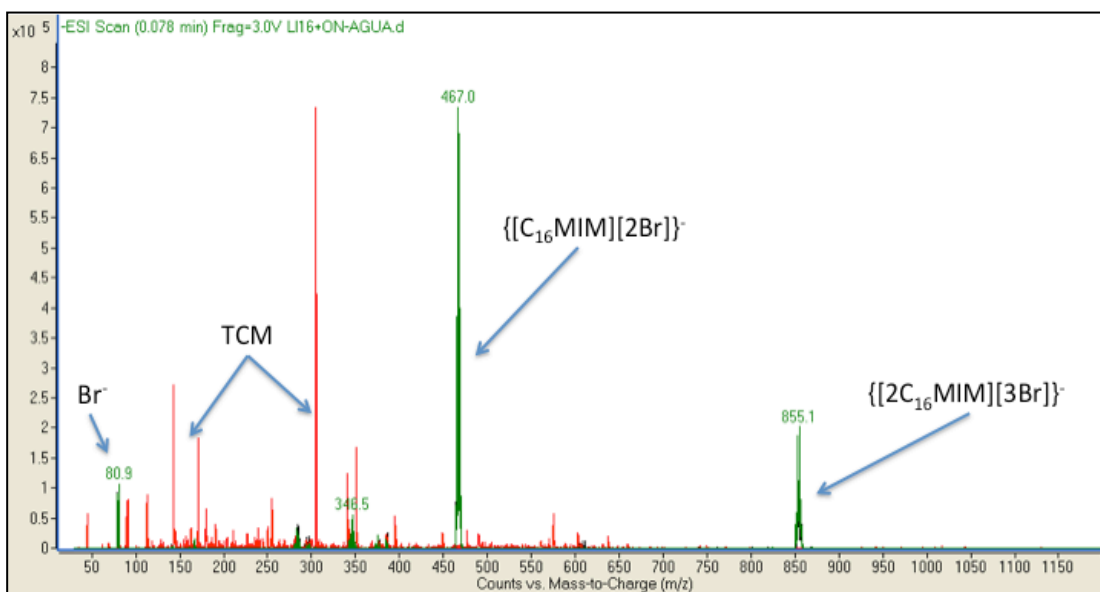
espectro de massas. De fato, é possível observar agregados que interagem por interações eletrostáticas envolvendo espécies carregadas (cátion do LI + Br⁻ e cátion do LI + formiato) as quais são interações mais fortes que interações hidrofóbicas ou mesmo eletrostáticas fracas (ligações de H ou dipolo-dipolo) que eventualmente estariam ocorrendo entre fluconazol e os LI.

A Figura 82 mostra os espectros de massas sobrepostos do LI C₁₆MIM[Br] puro (preto), TCM puro (vermelho) e mistura LI C₁₆MIM[Br] + TCM (verde) no modo positivo e negativo. Assim como no caso das misturas entre LI e Fluconazol, nas misturas entre LI e TCM também não é possível observar interações entre o TCM e os LIs. Observa-se agregados do LI, no qual 2 cátions interagem com um ânion Br⁻ (m/z 695,6 no modo positivo). Nesse modo também observa-se um pico relativo ao cátion [C₁₆MIM]⁺ (m/z 307,6). Já no modo negativo, observa-se um pico em m/z 855,1 relativo à interação entre dois cátions do LI e três ânions Br⁻. Também se observa um pico em m/z 467 relativo à interação entre o cátion do LI e dois ânions Br⁻. Por fim, picos atribuídos ao TCM também são observados nos espectros sobrepostos.

Figura 82 – Espectros de massas sobrepostos no modo a) positivo e b) negativo da mistura LI C₁₆MIM[Br] + TCM. LI C₁₆MIM[Br] puro (preto), TCM (vermelho) e C₁₆MIM[Br] + TCM (verde).



a) Espectro de massas modo positivo LI C₁₆MIM[Br] + TCM.



b) Espectro de massas modo negativo LI C₁₆MIM[Br] + TCM.

Os espectros sobrepostos das misturas contendo o LI C₁₂MIM[Br] mostram resultados semelhantes aos resultados apresentados acima par as misturas com o LI C₁₆MIM[Br]. Sendo assim, os espectros sobrepostos das misturas com o LI C₁₂MIM[Br] são mostrados no Apêndice H desse trabalho. Como descrito acima, a possível explicação para a não visualização das interações entre os componentes das emulsões por essa técnica, está baseada

no fato das interações eletrostáticas ocorrerem entre as porções hidrofóbicas (van der Waals, dipolo-induzido) e, portanto, muito fracas para serem detectadas por essa técnica.

Frizzo e col. (2018) observaram interações entre LIs dicatiônicos derivados do imidazol com fármacos por ESI-MS/MS. No trabalho em questão, foram utilizados os fármacos hibuprofeno, paracetamol e ácido salicílico. Devido os grupos carboxilatos, hidroxilas e amidas presentes nessas estruturas, os quais são grupos com caráter eletrostático mais forte que os grupos presentes no fluconazol e no TCM, os espectros de massas gerados apresentaram picos referente a agregação fármaco + LI. Neste trabalho, as interações que possivelmente estejam ocorrendo entre LI + fármaco, são interações eletrostáticas (dipolo-dipolo e ligações de H), as quais são consideradas interações fortes.(FRIZZO et al., 2018) Para corroborar com a explicação acima, a Tabela 16 apresenta os valores de energia aproximada entre as principais interações químicas.

Tabela 16 – Energia das principais interações que ocorrem entre as moléculas nas fases líquida, gasosa e sólida.(HENNEMANN et al., 2018; MOLINA; ZAPATA; CABALLERO, 2017)

| Tipo de Interação | Energia aproximada (KJ/mol) |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Eletrostática | 1000-1200 |
| Íon-dipolo | 400-600 |
| Dipolo-dipolo | 20-30 |
| Ligação de Hidrogênio | 5-30 |
| Dipolo-dipolo induzido | 2-5 |
| Forças de London (dipolo induzido) | 0,05-40 |

5. CONCLUSÃO

- ✓ O US é um método eficiente para reduzir o tamanho de partícula de emulsões preparadas com LIs. Além disso, esse método energético também auxiliou na redução da polidispersão (Span) da maioria das emulsões.
- ✓ O aumento da amplitude no US melhorou a eficiência de encapsulamento da maioria dos sistemas, quando comparados na mesma concentração de LI. Assim, pode-se considerar que um aumento de energia foi favorável no processo de encapsulamento.
- ✓ O uso do US não eliminou o “efeito burst” na liberação do fluconazol e tornou a liberação mais rápida. Assim, a adição de um polímero pode ser necessária para evitar esse efeito. Além disso, percebeu-se que os sistemas preparados por US 40% e LI C₁₆MIM[Br] liberam uma quantidade maior de fármaco e, mostrando que o uso de US nessa amplitude é uma potencial alternativa para a preparação de sistemas de liberação de medicamentos.
- ✓ O uso de US na preparação das emulsões com LIs diminui a viscosidade em baixas taxas de cisalhamento (2 s⁻¹ e 10 s⁻¹).
- ✓ A estabilidade das emulsões (obtida por LUMiSizer) com C₁₆MIM[Br] claramente aumentou com o aumento de energia do US.
- ✓ As imagens de MET provam que o uso do US melhora a estabilidade da emulsão (efeito de creaming e floculação foram observados com menos intensidade nas emulsões preparados usando US). Portanto, o US é um método superior a AM para melhorar a estabilidade de emulsões com C₁₆MIM[Br].
- ✓ Assim, pode-se dizer que o método de preparação influencia significativamente nas propriedades da emulsão contendo LIs e a escolha do método dependerá das características da emulsão a ser obtida.
- ✓ LI C₁₆MIM[Br] interage mais fortemente com o TCM do que o LI C₁₂MIM[Br], devido a dois motivos: (i) o aparecimento de um conjunto de sinais correspondente a interação LI C₁₆MIM[Br]-TCM. (ii) deslocamento maior dos hidrogênios do LI C₁₆MIM[Br] quando TCM é adicionado. Interações de van der Waals e π - π entre as moléculas de LIs e também podem estar ocorrendo interações entre os hidrogênios ligados a porções hidrofílicas do LI com as porções hidrofílicas do TCM.
- ✓ LI C₁₆MIM[Br] e LI C₁₂MIM[Br] interagem com o fluconazol devido a mudança no deslocamento químico dos prótons dos LIs no RMN ¹H quando fluconazol é adicionado ao

sistema. Interação entre o cátion do LI e o anel de triazol presente no fármaco podem estar ocorrendo devido a blindagem dos hidrogênios presentes no anel do LI.

✓ A difusão do sistemas sistemas LI C₁₆MIM[Br] + TCM aumenta conforme aumenta a quantidade de óleo no sistema, o que evidencia que as espécies (LI C₁₆MIM[Br] + TCM) interagem. A difusão dos hidrogênios do LI varia quando fluconazol é adicionado no sistema, o que indica interações entre as espécies distintas.

✓ Por outro lado, o ESI-MS/MS não foi uma técnica capaz de fornecer informações sobre as interações entre os componentes da emulsão. Uma possível explicação para esse fato, está baseada nas fracas interações intermoleculares entre os componentes da emulsão que não são sensíveis à técnica.

✓ Os LIs C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br] podem ser usados como surfactante preparar emulsão de Fluconazol sem a necessidade de uso de um surfactante adicional. A concentração de LIs para preparar essas emulsões foi menor do que a concentração de surfactantes convencionais,(ABISMAÏL et al., 1999; MONIRUZZAMAN et al., 2010) exibindo o potencial desses LIs como agentes emulsificantes.

6. SUGESTÕES PARA A CONTINUIDADE DO TRABALHO

1) Tendo em vista que foi possível formular emulsões com os LI C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br], sugere-se:

a) fazer as análises de SAXS desses sistemas, a fim de observar possíveis fases cristalinas no sistema.

b) realizar análises de estabilidade por LUMiSizer em uma temperatura abaixo de 25 °C, a fim de estabelecer um comparativo de estabilidade de emulsões em três faixas distintas.

c) preparar as emulsões no ultra-turrax, medir as propriedades desses sistemas (tamanho de gota, estabilidade, cinética de liberação) e comparar os resultados com os sistemas preparados por US, com o intuito de mostrar as diferenças das emulsões preparadas por dois métodos de alta energia.

d) preparar emulsões com concentração de LI C₁₂MIM[Br] acima da CMC, com a finalidade de se observar mudança das propriedades do sistema nessa concentração.

e) Realizar experimentos de 2D ROESY para avaliar as interações espaciais entre os hidrogênios do LI e do TCM.

2) Sabendo que os LIs com o ânion Br⁻ apresentam relativa toxicidade (ZHAO; LIAO; ZHANG, 2007), sugere-se:

a) realizar experimentos para avaliar a atividade antifúngica e a toxicidade das emulsões, uma vez que é algo fundamental para o sistema ser aplicado como um carreador de fármaco.

b) Caso a toxicidade da emulsão seja tão alta quanto o LI puro, trocar o ânion do LI por uma estrutura menos tóxica, como: NO₃⁻ e ânion sacarídeo. (ZHAO; LIAO; ZHANG, 2007)

c) avaliar a estabilidade, cinética de liberação, eficiência de encapsulamento, tamanho de gota e polidispersão dos sistemas preparados com ânions com baixa toxicidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABISMAÏL, B. et al. Emulsification by ultrasound: Drop size distribution and stability. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 6, n. 1–2, p. 75–83, 1999.

AGUILERA, J. M.; STANLEY, D. W.; **Microstructural principles of food processing and engineering**. Springer Science & Business Media, 1999.

ALKHAMIS, K. A.; OBAIDAT, A. A.; NUSEIRAT, A. F. Solid-state characterization of fluconazole. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 7, n. 4, p. 491–503, 2002.

AYUB, A. C. et al. Topical delivery of fluconazole: In vitro skin penetration and permeation using emulsions as dosage forms. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 3, p. 273–280, 2007.

BANKER, G. S.; SIEPMANN, J.; RHODES, C. **Modern Pharmaceutics**. 4ed. ed. Boca Raton: CRC Press, 2002.

BEAL, H. M.; SKAUEN, D. M. A study of emulsification with ultrasonic waves. II. **Journal of the American Pharmaceutical Association. American Pharmaceutical Association**, v. 44, n. 8, p. 490–493, 1955.

BERTAN, D. W. **Produção e caracterização de celulose cristalina e amorfa e de partículas de quitosana para aplicação como estabilizantes de emulsões óleo-em-água**. 2018. Universidade de São Paulo.

CHANTRAPORNCHAI, W.; CLYDESDALE, F. M.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of flocculation on optical properties of emulsions. **Journal of food science**, v. 66, n. 3, p. 464–469, 2001.

CECH, N. B.; ENKE, C. G. Practical implications of some recent studies in electrospray ionization fundamentals. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 20, n. 6, p. 362–387, 2001.

CHEN, Z.; NOZAKI, R. Dielectric spectroscopy study on ionic liquid microemulsion composed of water, TX-100, and BmimPF₆. **Journal of Chemical Physics**, v. 136, n. 24, 2012.

CHENG, S. et al. Study of ethylene glycol/TX-100/ionic liquid microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 302, n. 1–3, p. 211–215, 2007.

CHU, B; **Laser light scattering**. New York: Academic Press; 1974.

CORNEC, M. et al. Emulsion Stability as Affected by Competitive Adsorption Between an Oil-Soluble Emulsifier and Milk Proteins at the Interface. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 1, p. 39–43, 1998.

CRAVOTTO, G.; CINTAS, P. Power ultrasound in organic synthesis: Moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications, **Chem. Soc. Rev.** v.35 p. 180–196, 2006.

DE SOUZA, T. D. et al. Evaluation of photodynamic activity, photostability and in vitro drug release of zinc phthalocyanine-loaded nanocapsules. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 83, p. 88–98, 2016.

DOBLER, D. et al. Ionic liquids as ingredients in topical drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 441, n. 1–2, p. 620–627, 2013.

Dong, B. et al. Surface Adsorption and Micelle Formation of Surface Active Ionic Liquids in Aqueous Solution, **Langmuir**. v. 23, p. 4178–4182 (2007).

FAERGEMANN, J. Pharmacokinetics of fluconazole in skin and nails. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 40, n. 6 II, p. 14–20, 1999.

FAERGEMANN, J.; LAUFEN, H. Levels of fluconazole in serum, stratum corneum, epidermis□dermis (without stratum corneum) and eccrine sweat. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 18, n. 2, p. 102–106, 1993.

FENN, J. B. Ion formation from charged droplets: Roles of geometry, energy, and time. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 4, n. 7, p. 524–535, 1993.

FERNANDES, A. M. et al. Evaluation of cation-anion interaction strength in ionic liquids. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 14, p. 4033–4041, 2011.

FISCHER, Peter; WINDHAB, Erich J. Rheology of food materials. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 16, n. 1, p. 36-40, 2011.

FRIZZO, C. P. et al. Anion effect on the aggregation behavior of the long-chain spacers dicationic imidazolium-based ionic liquids. **Colloid and Polymer Science**, v. 293, n. 10, p. 2901–2910, 2015.

FRIZZO, C. P. et al. Heteroassembly Ability of Dicationic Ionic Liquids and Neutral Active Pharmaceutical Ingredients. **ACS Omega**, v. 3, n. 2, p. 2282–2291, 2018.

GAO, Y. et al. Decrease of droplet size of the reverse microemulsion 1-butyl-3-niethylimidazolium tetrafluoroborate/triton X-100/cyclohexane by addition of water. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 12, p. 3711–3719, 2008.

GAO, Y. et al. Organic solvents induce the formation of oil-in-ionic liquid microemulsion aggregations. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 5, p. 1389–1395, 2009.

GÜZEY, Demet; MCCLEMENTS, David J. Influence of environmental stresses on O/W emulsions stabilized by β -lactoglobulin–pectin and β -lactoglobulin–pectin–chitosan membranes produced by the electrostatic layer-by-layer deposition technique. **Food Biophysics**, v. 1, n. 1, p. 30-40, 2006.

HEJAZIFAR, M.; LANARIDI, O.; BICA-SCHRÖDER, K. Ionic liquid based microemulsions: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 303, p. 112264, 2020.

HENNEMANN, B. L. et al. Models for understanding the structural effects on the cation-anion interaction strength of dicationic ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, v. 252, p. 184–193, 2018.

HIGGINS, D. M.; SKAUEN, D. M. Influence of power on quality of emulsions prepared by ultrasound. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 61, n. 10, p. 1567–1570, 1972.

HOUGEIR, F. G.; KIRCIK, L. A review of delivery systems in cosmetics. **Dermatologic Therapy**, v. 25, n. 3, p. 234–237, 2012.

HU, Yin-Ting et al. Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. **Journal of food and drug analysis**, v. 25, n. 1, p. 16-26, 2017.

HUNTER, R. J. **Foundations of Colloid Science**. 2ed.: Oxford University Press Inc., New York, 2001.

INMETRO. Doq-Cgcre-008 - Orientação Sobre Validação De Métodos Analíticos. **Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia**, p. 31, 2016.

INSTRUMENTS, M. **Mastersizer 2000: Integrated systems for particle sizing**, 2000.

JÄGER, E. et al. Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 5, n. 1, p. 130–140, 2009.

JECKLIN, M. C. et al. Which Electrospray-Based Ionization Method Best Reflects Protein-Ligand Interactions Found in Solution? A Comparison of ESI, nanoESI, and ESSI for the Determination of Dissociation Constants with Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 19, n. 3, p. 332–343, 2008.

KABALNOV, A.; WENNERSTRÖM, H. Macroemulsion Stability: The Oriented Wedge Theory Revisited. **Langmuir**, v. 12, n. 2, p. 276–292, 1996.

KERSSEBAUM, R.; SALNIKOV, G. DOSY and Diffusion by NMR. **Topspin - Bruker**, p. 1–32, 2006.

KHAN, B. A. et al. Basics of pharmaceutical emulsions: A review. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 25, p. 2715–2725, 2011.

KIMURA, T. et al. Standardization of ultrasonic power for sonochemical reaction, **Ultrason. Sonochem**, v.3, p. 0–4, 1996.

KOBAYASHI, D. et al. Effects of operational conditions on preparation of oil in water emulsion using ultrasound. **Physics Procedia**, v. 70, p. 1043–1047, 2015.

KODA, S. et al. A standard method to calibrate sonochemical efficiency of an individual reaction system. **Ultrason. Sonochem**, v. 10, n.3, p. 149–156, 2003.

KOEL, M. Ionic liquids in chemical analysis. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 177–192, 2005.

KOMURA, S. Mesoscale structures in microemulsions. **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 19, n. 46, 2007.

LERCHE, D. Dispersion stability and particle characterization by sedimentation kinetics in a centrifugal field. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 23, n. 5, p. 699–709, 2002.

LESHER JR, J. L. Oral therapy of common superficial fungal infections of the skin. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 40, n. 6, p. 31–34, 1999.

LI, X. W. et al. Microemulsions of N-alkylimidazolium ionic liquid and their performance as microreactors for the photocycloaddition of 9-substituted anthracenes. **Langmuir**, v. 25, n. 10, p. 5484–5490, 2009.

LIEW, K. Bin et al. Development and application of simple HPLC-UV method for fluconazole quantification in human plasma. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. SUPPL. 4, p. 107–111, 2012.

LIU, J. et al. Interaction between two homologues of cationic surface active ionic liquids and the PEO-PPO-PEO triblock copolymers in aqueous solutions. **Colloid and Polymer Science**, v. 289, n. 15–16, p. 1711–1718, 2011.

LIU, S. et al. Impact of pH, freeze-thaw and thermal sterilization on physicochemical stability of walnut beverage emulsion. **Food Chemistry**, v. 196, p. 475–485, 2016.

LUYKX, D. M. A. M. et al. HPLC and tandem detection to monitor conformational properties of biopharmaceuticals. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 821, n. 1, p. 45–52, 2005.

LUYKX, D. M. A. M. et al. A Review of Analytical Methods for the Identification and Characterization of Nano Delivery Systems in Food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 18, p. 8231–8247, 2008.

MADHAV, S.; GUPTA, D. A Review on Microemulsion Based System. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 8, p. 1888–1899, 2011.

MAITI, S. et al. Investigation on processing variables for the preparation of fluconazole-loaded ethyl cellulose microspheres by modified multiple emulsion technique. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 703–15, 2009.

MARRIOTT, J. F. et al. **Pharmceutical Compounding and Dispensing**. 2ed.: Pharmaceutical Press, 2006.

MARTIN, A. N.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. **Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles In the Pharmaceutical Sciences**. 4ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

MARTINES, M. A. U. et al. O Efeito Do Ultra-Som Em Reações Químicas. **Quimica Nova**, v. 23, n. 2, p. 251–256, 2000.

MARTINS, M. A. P. et al. Ionic liquids in heterocyclic synthesis. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 6, p. 2015–2050, 2008.

MCCLEMENTS, D. J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 7, p. 611–649, 2007.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719–1729, 2012.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-Grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, Biological fate, and Potential Toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 4, p. 285–330, 2011.

MCCLEMENTS, David Julian. **Food emulsions: principles, practices, and techniques**. CRC press, 2015.

MIRHOSSEINI, H. et al. Optimization of the contents of Arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, polydispersity index and density in orange beverage emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 7, p. 1212–1223, 2008.

MODARRES-GHEISARI, S. M. M. et al. Ultrasonic nano-emulsification – A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 52, p. 88–105, 2019.

MOLINA, P.; ZAPATA, F.; CABALLERO, A. Anion Recognition Strategies Based on Combined Noncovalent Interactions. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 15, p. 9907–9972, 2017.

MONIRUZZAMAN, M. et al. Ionic liquid-assisted transdermal delivery of sparingly soluble drugs. **Chemical Communications**, v. 46, n. 9, p. 1452–1454, 2010.

MURPHY, Douglas B. **Fundamentals of light microscopy and electronic imaging**. John Wiley & Sons, 2002.

NIEDERMEYER, H. et al. Mixtures of ionic liquids. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 23, p. 7780–7802, 2012.

NIRMALA, M. J. et al. Fluconazole: A simple nanoemulsion drug delivery system. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. SUPPL 3, p. 716–717, 2013.

NOHARA, D.; OHKOSHI, T.; SAKAI, T. The possibility of the direct measurement of micelle weight by electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 12, n. 23, p. 1933–1935, 1998.

PAL, R. Novel viscosity equations for emulsions of two immiscible liquids. **Journal of Rheology**, v. 45, n. 2, p. 509–520, 2001.

PESHKOVSKY, A. S.; PESHKOVSKY, S. L.; BYSTRYAK, S. Scalable high-power ultrasonic technology for the production of translucent nanoemulsions. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 69, p. 77–82, 2013.

PLECHKOVA, N. V.; SEDDON, K. R. Applications of ionic liquids in the chemical industry. **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 1, p. 123–150, 2008.

SALERNO, C.; CARLUCCI, A. M.; BREGNI, C. Study of in vitro drug release and percutaneous absorption of fluconazole from topical dosage forms. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 2, p. 986–993, 2010.

PRASAD, K. et al. Synthesis of titanium dioxide by ultrasound assisted sol-gel technique: Effect of amplitude (power density) variation, **Ultrason. Sonochem.**, v.17, n. 1, p. 697–703, 2010.

RUSS, John C. **Image analysis of food microstructure**. CRC press, 2004.

SÁNCHEZ, C. C.; PATINO, J. M. R. Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 3, p. 407–416, 2005.

SANTOS, D. et al. Ultrasound-assisted acid hydrolysis of cellulose to chemical building blocks: Application to furfural synthesis. **Ultrason. Sonochem.** v. 40, n. 4, p. 81–88, 2018.

SHEN, Y. et al. Ion-responsive behavior of ionic-liquid surfactant aggregates with applications in controlled release and emulsification. **ChemPhysChem**, v. 9, n. 15, p. 2198–2202, 2008.

SHIROTA, H. et al. Comparison between dicationic and monocationic ionic liquids: Liquid density, thermal properties, surface tension, and shear viscosity. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 56, n. 5, p. 2453–2459, 2011.

SILVA, H. D.; CERQUEIRA, M. Â.; VICENTE, A. A. Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 3, p. 854–867, 2012.

SOBISCH, T.; LERCHE, D. Thickener performance traced by multisample analytical centrifugation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 331, n. 1–2, p. 114–118, 2008.

SONG, M. G. et al. Novel Evaluation Method for the Water-in-Oil (W/O) Emulsion Stability by Turbidity Ratio Measurements. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 19, n. 3, p. 425–430, 2002.

SOPPIMATH, K. S. et al. Biodegradable polymeric microparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, v. 70, p. 1–20, 2001.

SU, J.; FLANAGAN, J.; SINGH, H. Improving encapsulation efficiency and stability of water-in-oil-in-water emulsions using a modified gum arabic (Acacia (sen) SUPER GUMTM). **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 1, p. 112–120, 2008.

SUSLICK, K. S. The Chemical Effects of Ultrasound. **Scientific American**, v. 260, n. 2, p. 80–86, 1989.

TADROS, Tharwat. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advances in colloid and interface science**, v. 108, p. 227–258, 2004.

TAN, S. F. et al. Ultrasonic emulsification of parenteral valproic acid-loaded nanoemulsion with response surface methodology and evaluation of its stability. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 29, p. 299–308, 2016.

VAN OSS, C. J.. A review of “ Intermolecular and Surface Forces.” **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 13, n. 6, p. 718–719, 1992.

VANYÚR, L. et al. Micelle formation of 1-alkyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquids in aqueous solution, **Colloids Surfaces A Physicochem**, v. 299, p. 256–261, 2007.

Viscosity – The Physics Hypertextbook. Disponível em: <<https://physics.info/viscosity/>>. Acesso em: 26 set. 2020.

WEINGÄRTNER, H. NMR studies of ionic liquids: Structure and dynamics. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 18, n. 3, p. 183–189, 2013.

WENNERSTRÖM, H.; BALOGH, J.; OLSSON, U. Interfacial tensions in microemulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 291, n. 1–3, p. 69–77, 2006.

WILLIAMS, David B.; CARTER, C. Barry. The transmission electron microscope. In: **Transmission electron microscopy**. Springer, Boston, MA, 1996. p. 3-17.

WILDFEUER, A. et al. Bioavailability of fluconazole in the skin after oral medication. **Mycoses**, v. 37, n. 3–4, p. 127–130, 1994.

WOOD, E. W.; LOOMIS, A. L. Philosophical Magazine Series 7 XXXVIII . The physical and biological effects of high- frequency sound-waves of great intensity. **Philosophical Magazine Series**, v. 7, n. 4:22, p. 417–436, 1927.

WU, X. et al., Toxic effects of imidazolium-based ionic liquids on *Caenorhabditis elegans*: The role of reactive oxygen species, **Chemosphere**, v. 93, p. 2399–2404, 2013

WU, W. H. **Parenteral nanoemulsions-composition, preparation and cellular uptake**. 2007. PhD Thesis, Freiburg (Germany).

WUST, K. M. et al. Physicochemical characterization, released profile, and antinociceptive activity of diphenhydraminium ibuprofenate supported on mesoporous silica. **Materials Science and Engineering C**, v. 108, p. 110194, 2020.

WYSZECKI, Günter; STILES, Walter Stanley. Color science: concepts and methods, quantitative data and formulas. 1982.

YADAV, M.; AHUJA, M. Preparation and evaluation of nanoparticles of gum cordia, an anionic polysaccharide for ophthalmic delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 4, p. 871–877, 2010.

ZHANG, J. et al. Lyotropic liquid crystalline phases formed in ternary mixtures of 1-cetyl-3-methylimidazolium bromide/p-xylene/water: A SAXS, POM, and rheology study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 321, n. 1, p. 159–165, 2008.

ZHANG, S. et al. Physical properties of ionic liquids: Database and evaluation. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 35, n. 4, p. 1475–1517, 2006.

ZHAO, D.; LIAO, Y.; ZHANG, Z. D. Toxicity of ionic liquids. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 35, n. 1, p. 42–48, 2007.

ZHOU, Y.; ANTONIETTI, M. Preparation of highly ordered monolithic super-microporous lamellar silica with a room-temperature ionic liquid as template via the nanocasting technique. **Advanced Materials**, v. 15, n. 17, p. 1452–1455, 2003.

ZIEMBOWICZ, F. I. et al. Thermodynamic Insights into the Binding of Mono- and Dicationic Imidazolium Surfactant Ionic Liquids with Methylcellulose in the Diluted Regime. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 121, n. 35, p. 8385–8398, 2017.

APÊNDICE A – RMN DE ^1H E DE ^{13}C E ESPECTRO DE MASSAS DOS COMPOSTOS PUROS

Figura A1 – RMN ^1H LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$.

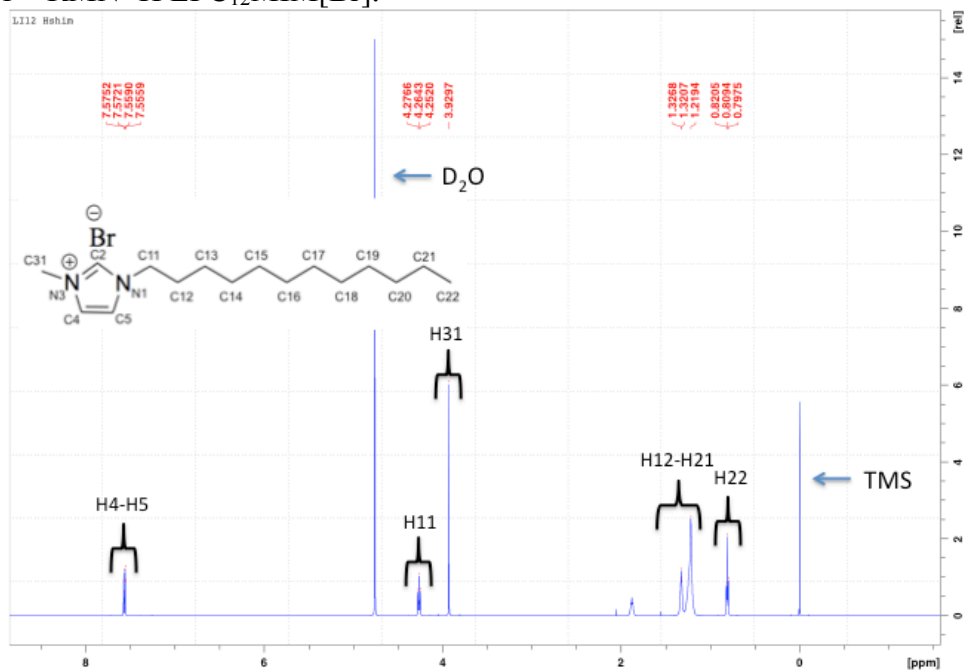


Figura A2 – RMN ^{13}C LI $\text{C}_{12}\text{MIM}[\text{Br}]$.

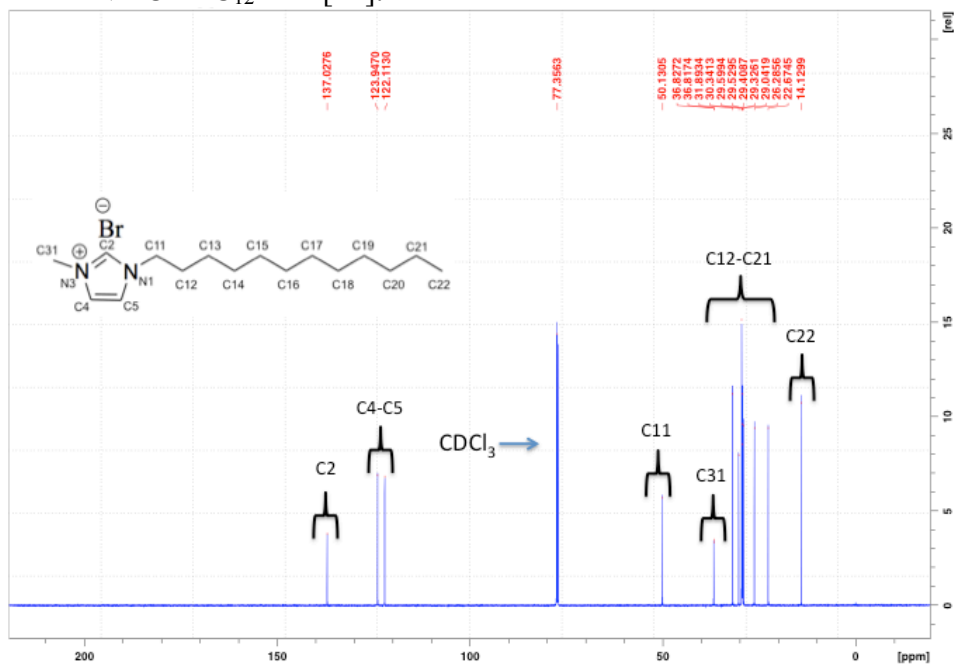


Figura A3 – RMN ^1H LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$.

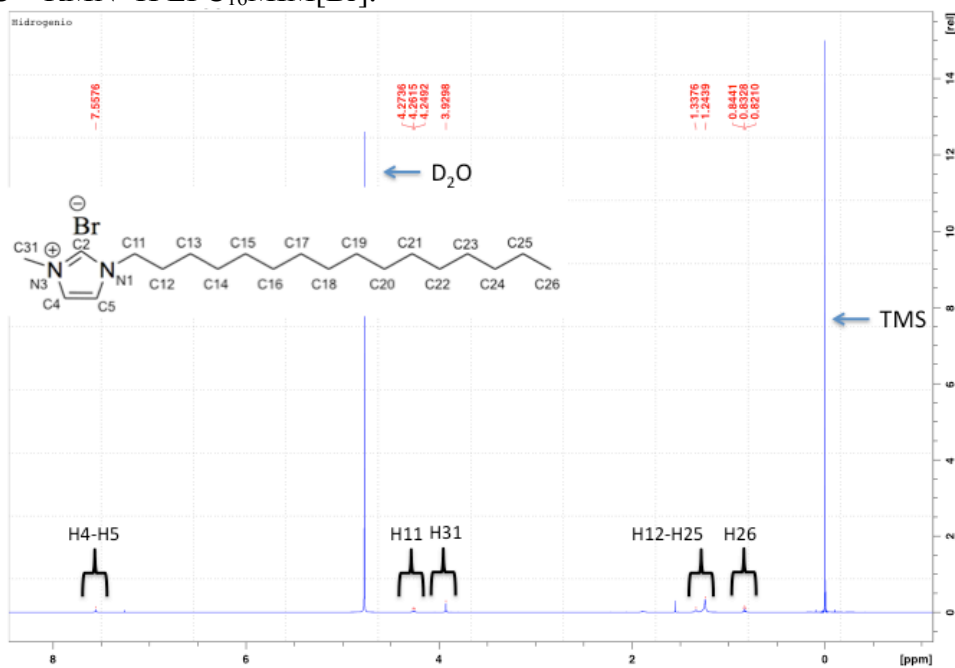


Figura A4 – RMN ^{13}C LI $\text{C}_{16}\text{MIM}[\text{Br}]$.

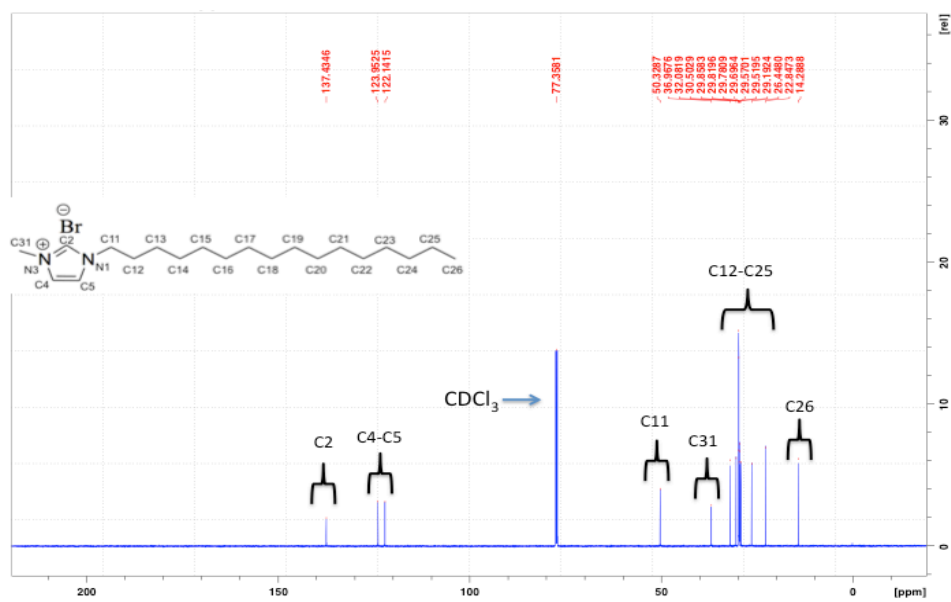


Tabela A1 - Dados de RMN de ¹H dos LIs.^a

| C ₁₂ MIM[Br] | | C ₁₆ MIM[Br] | |
|---------------------------------------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Núcleo | δ | Núcleo | δ |
| H22 | 0,80 (t, 3H) | H26 | 0,83 (t, 3H) |
| H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21 | 1,22 (m, 18H) | H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H23, H24, H25 | 1,24 (m, 26H) |
| H12 | 1,78 (q, 2H) | H12 | 1,79 (q, 2H) |
| H31 | 3,93(s, 3H) | H31 | 3,93 (s, 3H) |
| H11 | 4,26 (t, 2H) | H11 | 4,26 (t, 2H) |
| H5 | 7,55 (d, 1H) | H5 | 7,55 (s, 1H) |
| H4 | 7,57 (d, 1H) | H4 | 7,55 (s, 1H) |
| H2 | -b | H2 | -b |

^aOs espectros de RMN de ¹H foram realizados em um Espectrômetro BRUKER AVANCE III (600,13 MHz). O deslocamento químico é dado em ppm. Espectros registrados em DMSO como solvente. ^bH2 não foi observado devido as trocas com D₂O.

Tabela A2 - Dados de RMN de ¹³C dos LIs.^a

| C ₁₂ MIM[Br] | | C ₁₆ MIM[Br] | |
|-------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|
| Núcleo | δ | Núcleo | δ |
| C22 | 14,13 | C26 | 14,29 |
| C21 | 22,67 | C25 | 22,84 |
| C20 e C19 | 31,89 e 25,28 | C24 e C23 | 29,4 |
| C18 e C17 | 29,32 e 28,04 | C22 e C21 | 29,19 e 25,45 |
| C16 e C15 | 29,59 e 29,52 | C20 e C19 | 29,52 e 28,47 |
| C14 e C13 | 29,40 e 29,32 | C18 e C17 | 29,57 e 29,52 |
| C12 | 29,32 | C16 e C15 | 29,78 e 29,69 |
| C31 | 35,81 | C14 e C13 | 29,50 e 28,95 |
| C11 | 50,13 | C12 | 30,50 |
| C4 e C5 | 122,11 e 123,94 | C31 | 31,30 |
| C2 | 137,02 | C11 | 50,33 |
| | | C4 e C5 | 122,14 e 123,95 |
| | | C2 | 137,43 |

^aOs espectros de RMN de ¹³C foram realizados em um Espectrômetro BRUKER AVANCE III (150 MHz). O deslocamento químico é dado em ppm. Espectros registrados em DMSO como solvente.

Figura A5 – Espectro de massas modo scan LI C₁₂MIM[Br] (positivo).

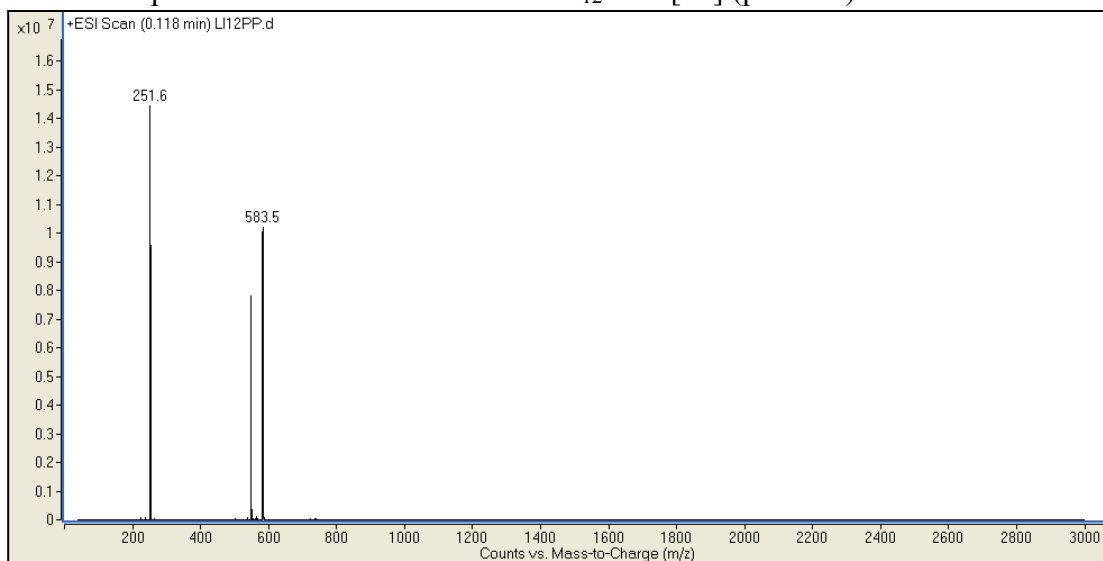


Figura A6 – Espectro de massas modo scan LI C₁₂MIM[Br] (negativo).

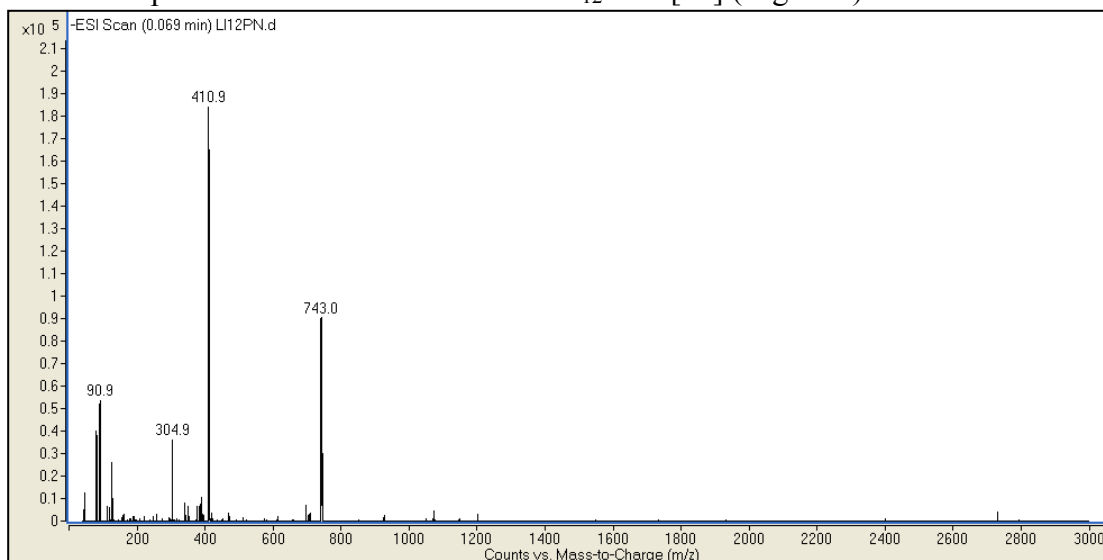


Figura A7 – Espectro de massas modo scan LI C₁₆MIM[Br] (positivo).

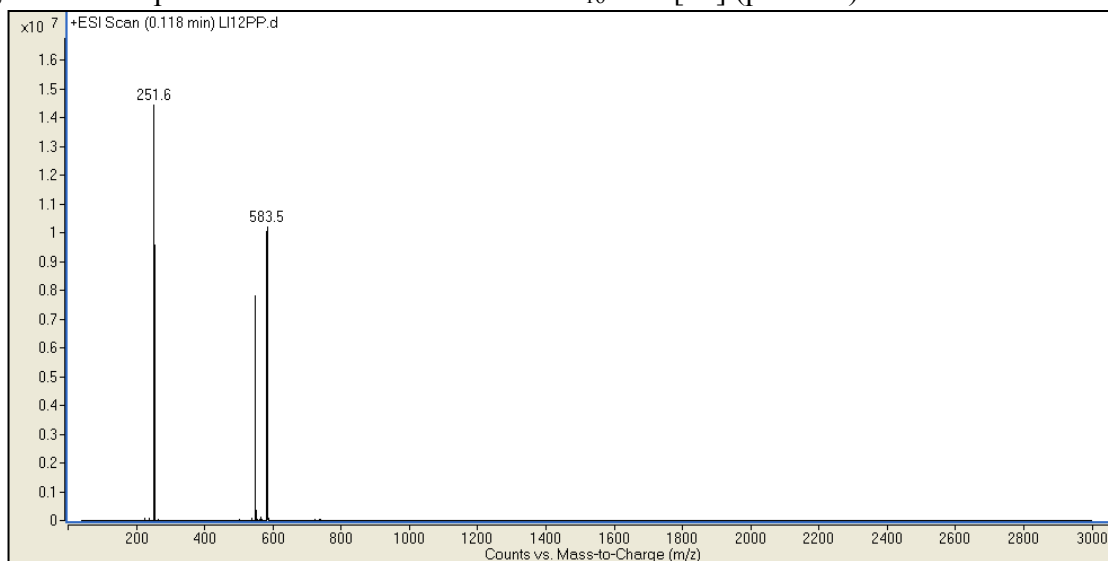


Figura A8 – Espectro de massas modo scan LI C₁₆MIM[Br] (negativo).

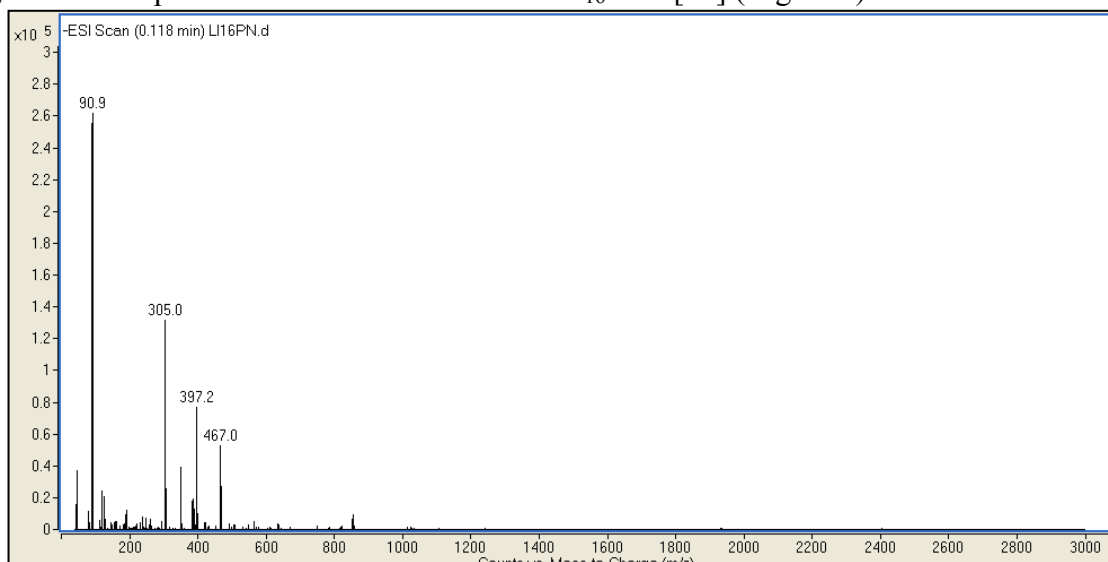


Figura A9 – Espectro de massas modo scan Fluconazol (positivo).

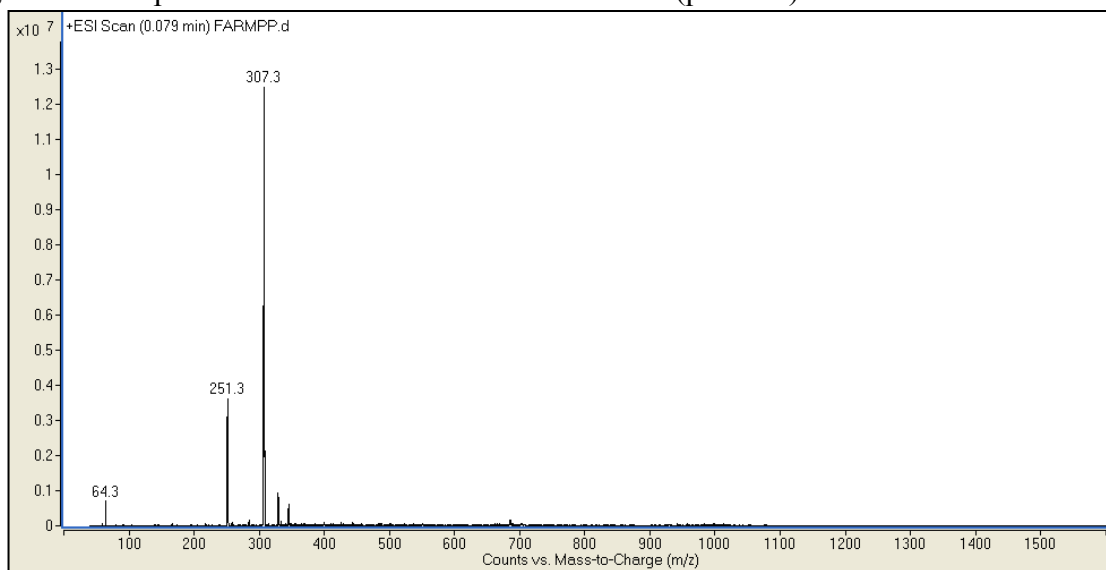


Figura A10 – Espectro de massas modo scan Fluconazol (negativo).

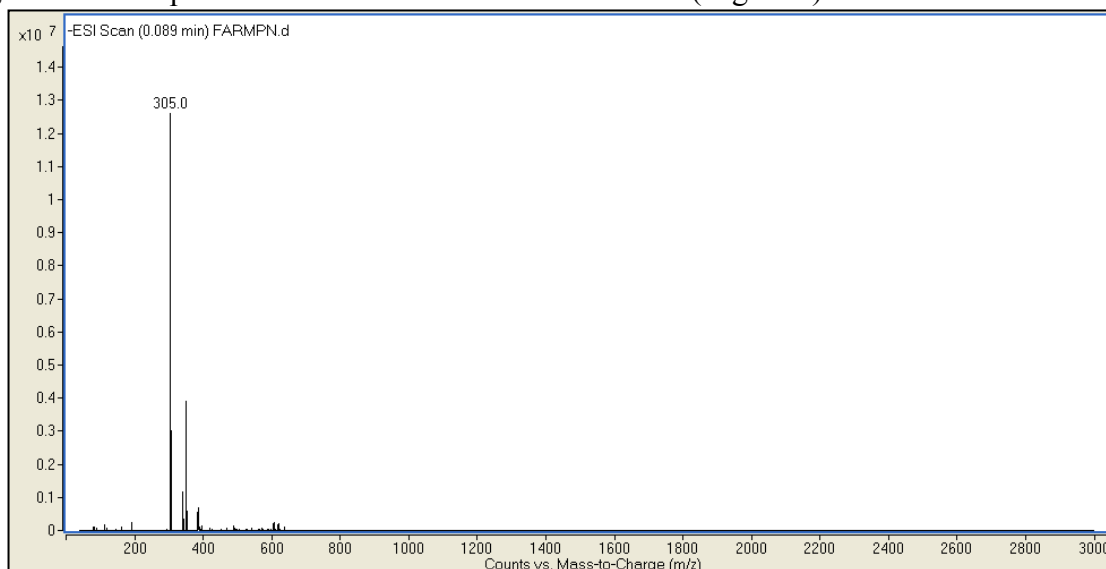


Figura A11 – Espectro de massas modo scan TCM (positivo).

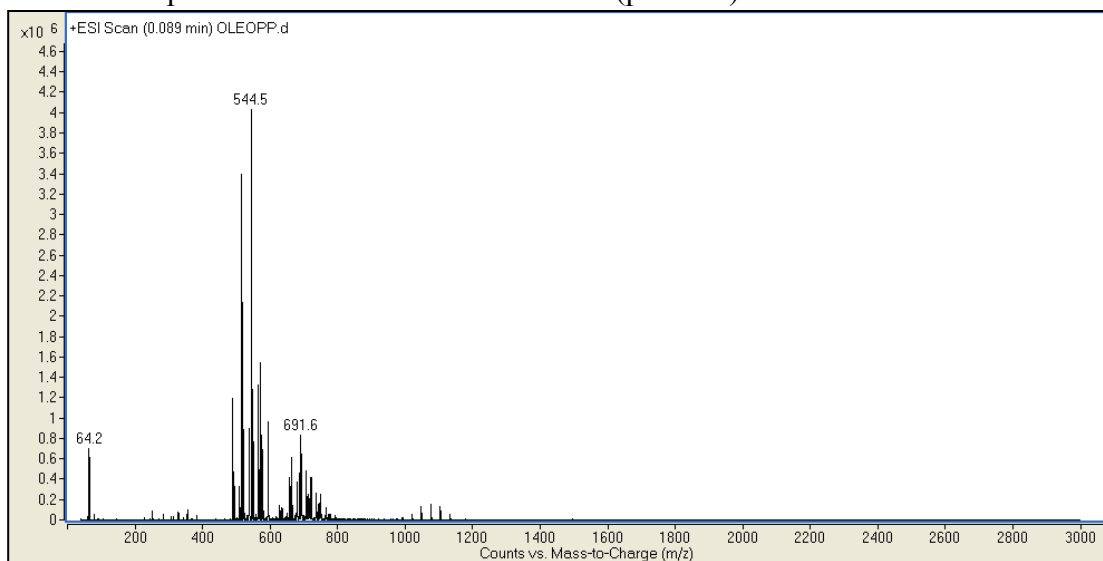
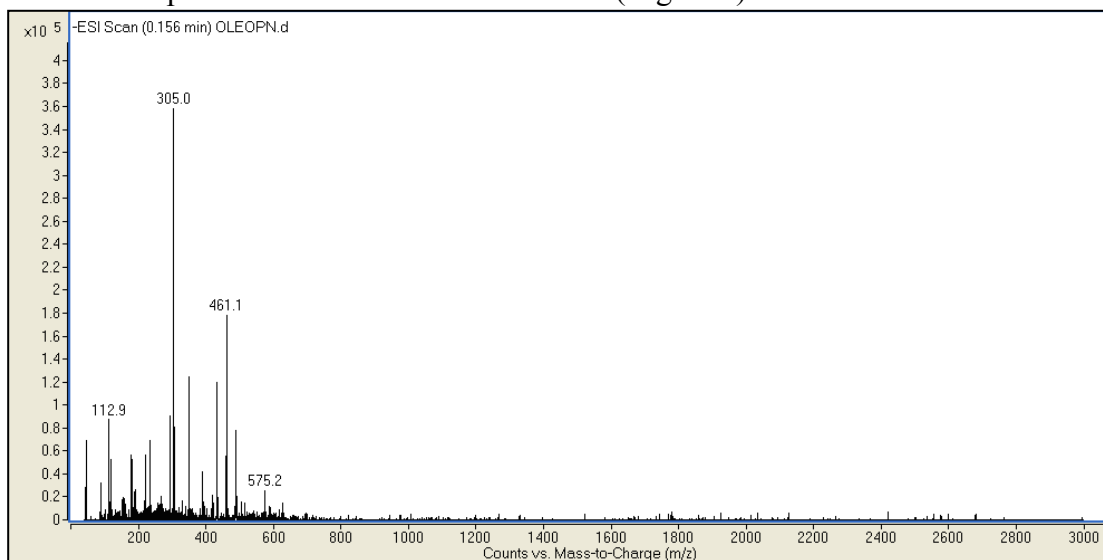


Figura A12 – Espectro de massas modo scan TCM (negativo).



APÊNDICE B – TAMANHO DE PARTÍCULA E ÍNDICE DE POLIDISPERSÃO (SPAN) DAS EMULSÕES

Tabela B1 – Média do tamanho de partícula e desvio padrão das emulsões com C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br].

| Diâmetro de partícula (µm) | | | | | | |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Conc (mM) | 1,5 | 1,3 | 2,4 | 2,06 | 3,6 | 3,1 |
| | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] |
| AM | 0,905±0,02 | 0,95±0,02 | 1,16±0,03 | 0,941±0,03 | 0,928±0,04 | 0,936±0,04 |
| US20 | 0,541±0,02 | 0,505±0,03 | 0,531±0,02 | 0,933±0,05 | 0,498±0,05 | 0,791±0,04 |
| US40 | 0,632±0,03 | 0,517±0,07 | 0,582±0,02 | 0,486±0,05 | 0,51±0,04 | 0,552±0,03 |

Gráfico B1 – Média do tamanho de partícula e desvio padrão das emulsões com a) C₁₂MIM[Br] e b) C₁₆MIM[Br].

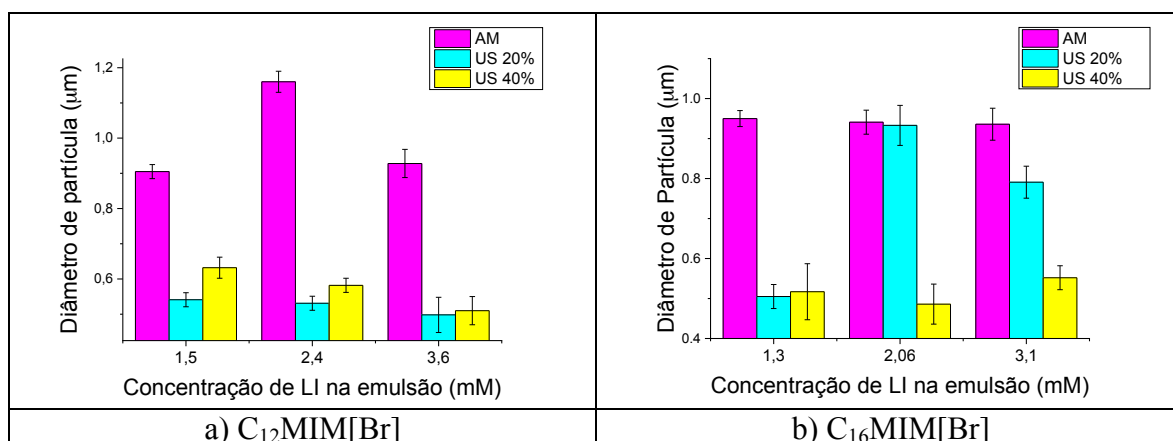
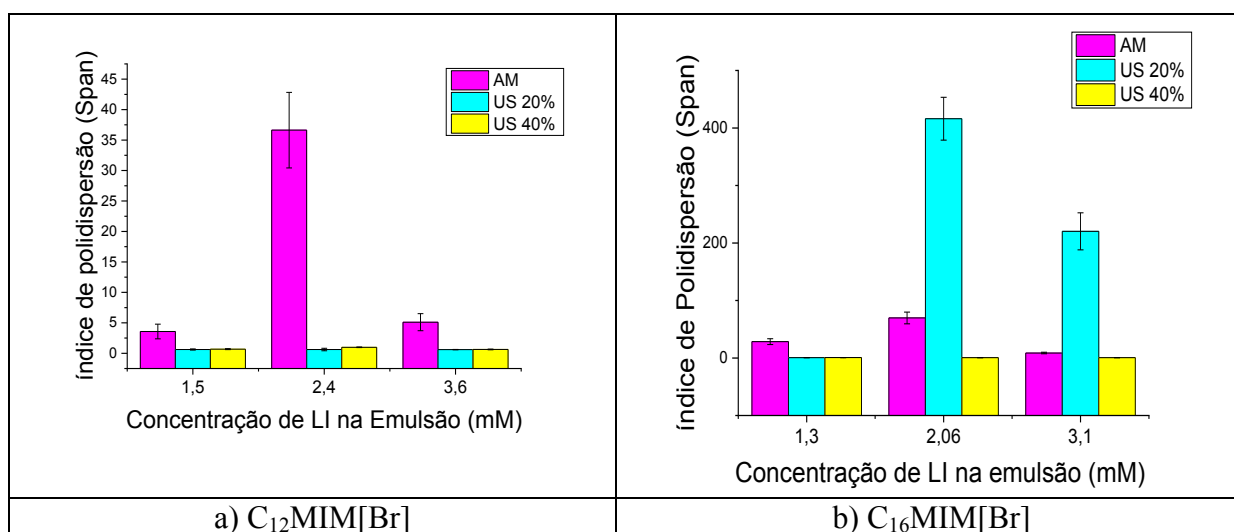


Tabela B2 – Média do índice de polidispersão (Span) e desvio padrão das emulsões com C₁₂MIM[Br] e C₁₆MIM[Br].

| Índice de polidispersão (Span) | | | | | | |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Conc. (mM) | 1,5 | 1,3 | 2,4 | 2,06 | 3,6 | 3,1 |
| | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] | C ₁₂ MIM[Br] | C ₁₆ MIM[Br] |
| AM | 3.581±1.2 | 28.44±5.03 | 36.63±6.2 | 69.67±10.2 | 5.106±1.4 | 8.702±1.34 |
| US20 | 0.625±0.1 | 0.608±0.2 | 0.622±0.2 | 416.05±37.23 | 0.606±0.03 | 220.32±32.18 |
| US40 | 0.677±0.08 | 0.731±0.1 | 0.983±0.05 | 0.596±0.14 | 0.631±0.06 | 0.632±0.2 |

Gráfico B2 – Média do índice de polidispersão (Span) e desvio padrão das emulsões com a) C₁₂MIM[Br] e b) C₁₆MIM[Br].



APÊNDICE C – IMAGENS DE MET DAS EMULSÕES

Figura C1 - Imagens LI C₁₂MIM[Br] na concentração de 1,5 mM feitas no US 20%.

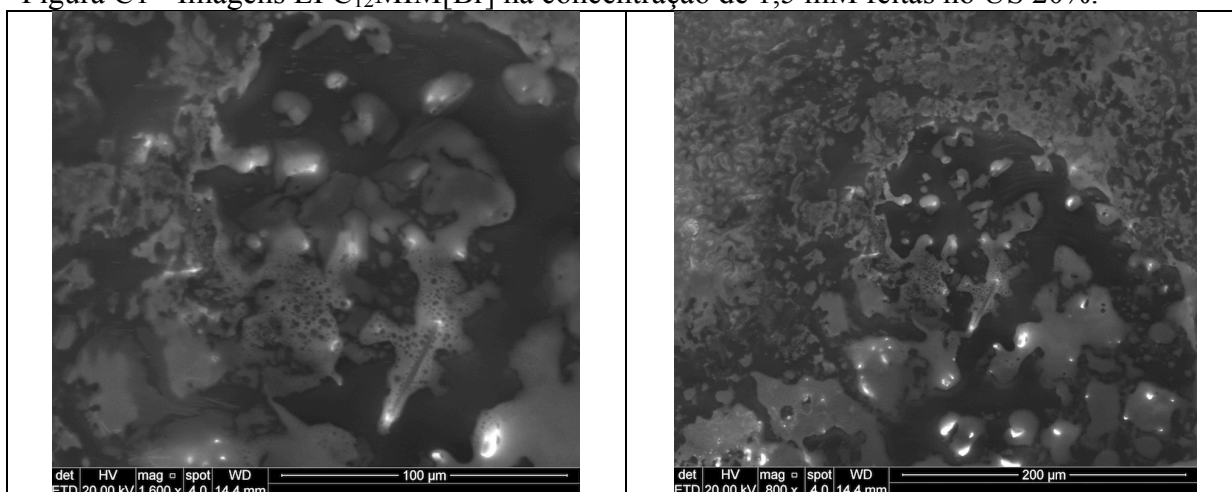


Figura C2 - Imagens LI C₁₂MIM[Br] na concentração de 2,4 mM feitas no AM.

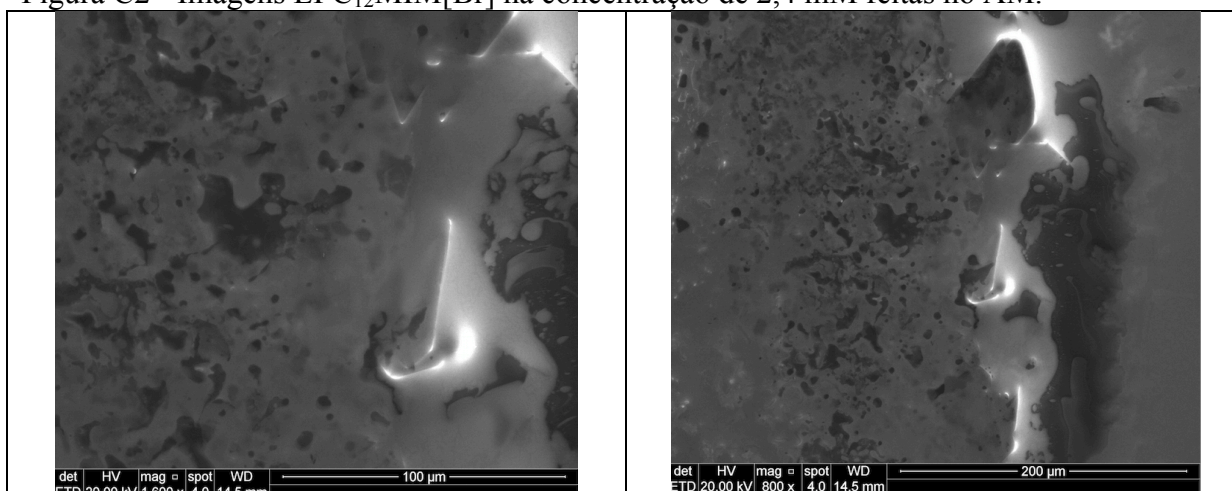


Figura C3 - Imagens LI C₁₂MIM[Br] na concentração de 2,4 mM feitas no US 20%.

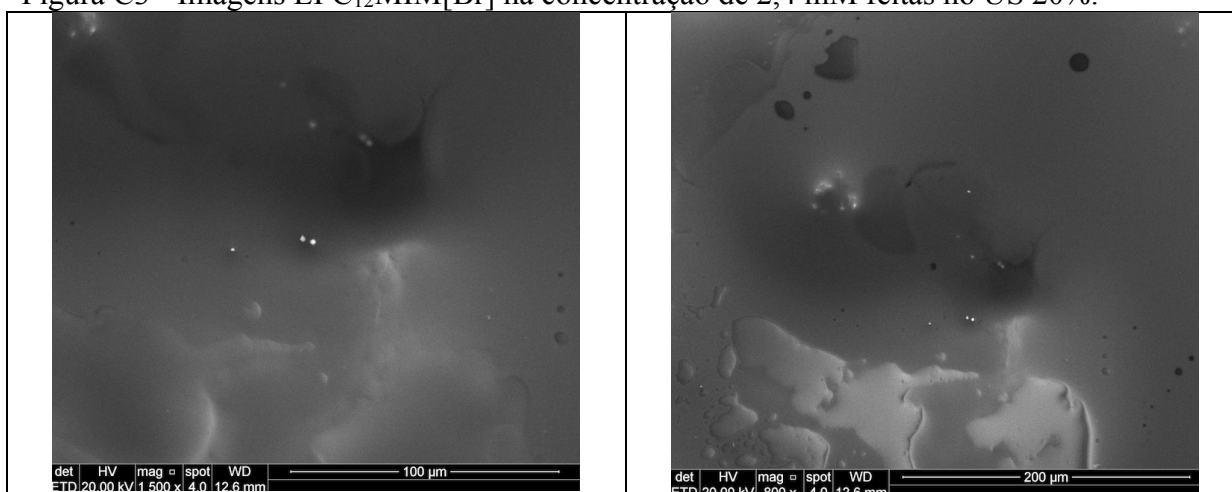


Figura C4 - Imagens LI $C_{12}MIM[Br]$ na concentração de 2,4 mM feitas no US 40%.

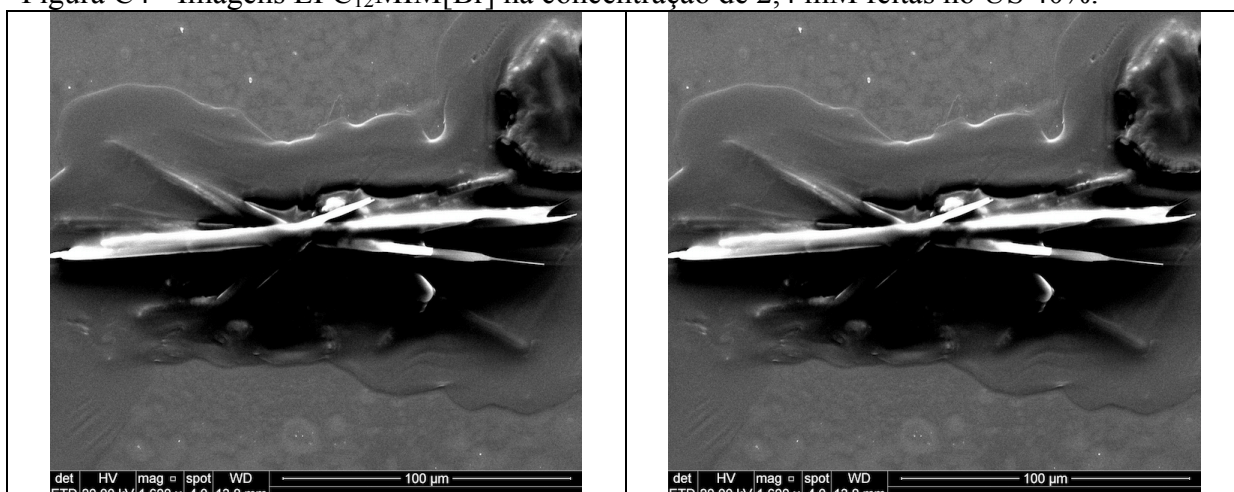


Figura C5 - Imagens LI $C_{12}MIM[Br]$ na concentração de 3,6 mM feitas no AM.

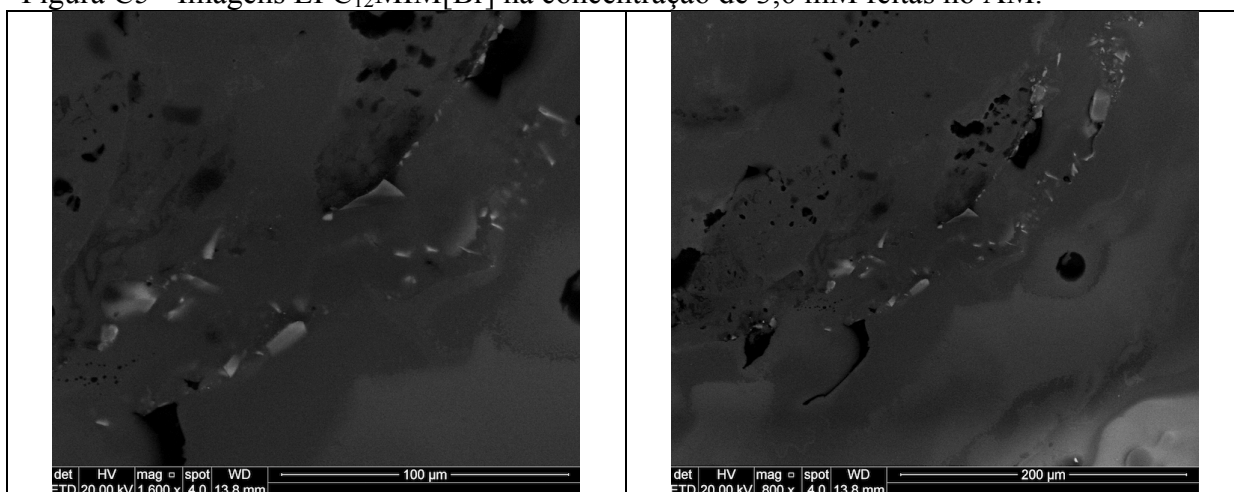


Figura C6 - Imagens LI $C_{12}MIM[Br]$ na concentração de 3,6 mM feitas no US 20%.

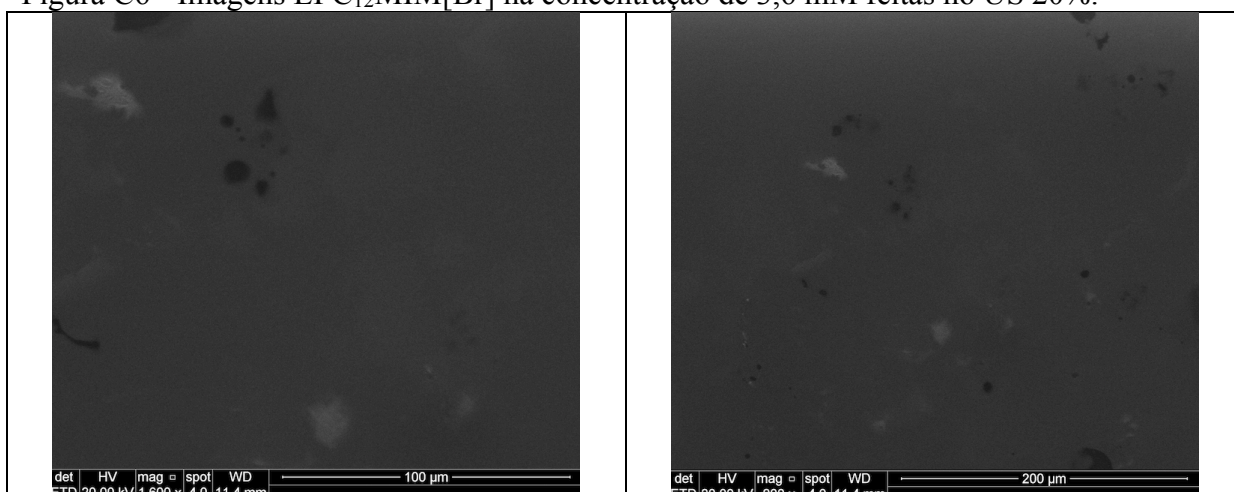


Figura C7 - Imagens LI C₁₂MIM[Br] na concentração de 3,6 mM feitas no US 40%.

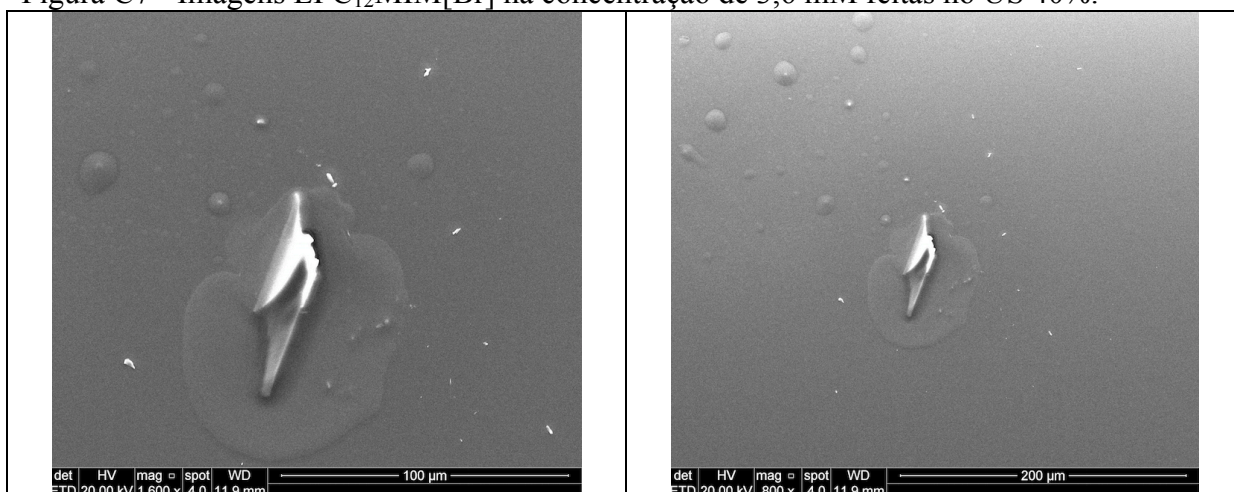


Figura C8 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 1,3 mM feitas no AM.

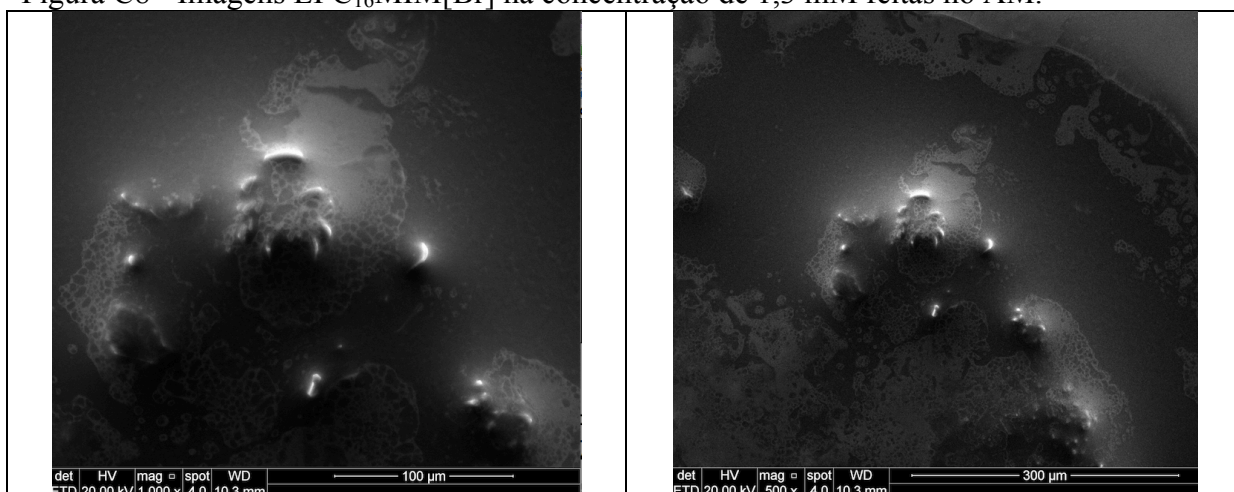


Figura C9 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 1,3 mM feitas no US 20%.

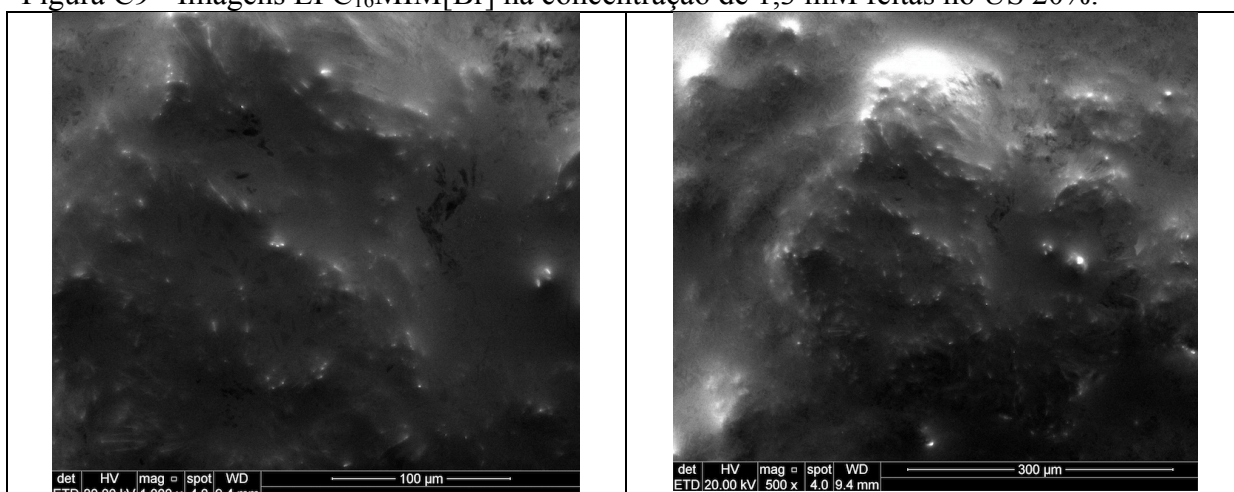


Figura C10 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 1,3 mM feitas no US 40%.

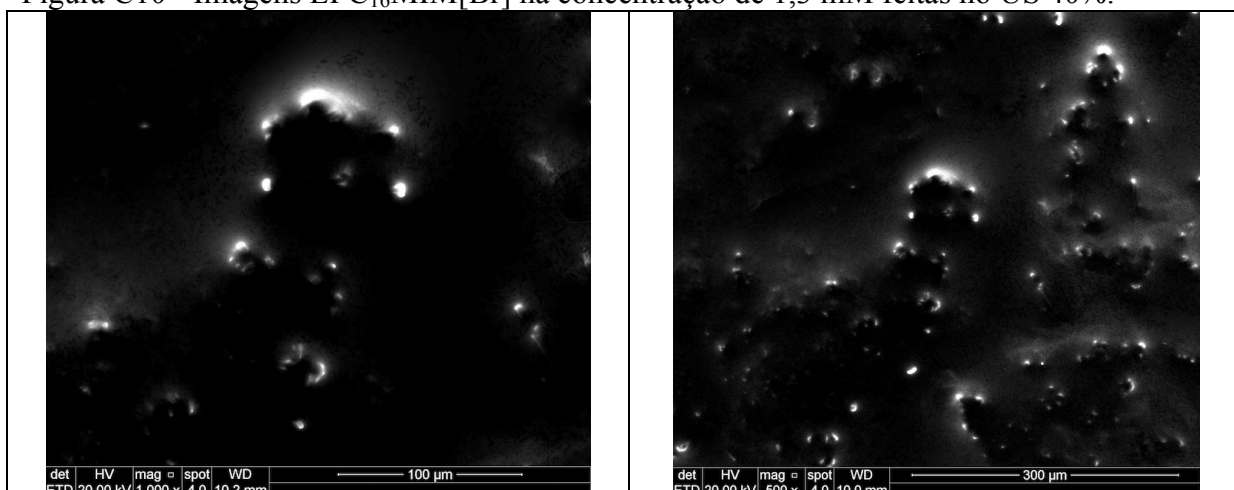


Figura C11 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 2,06 mM feitas no AM.

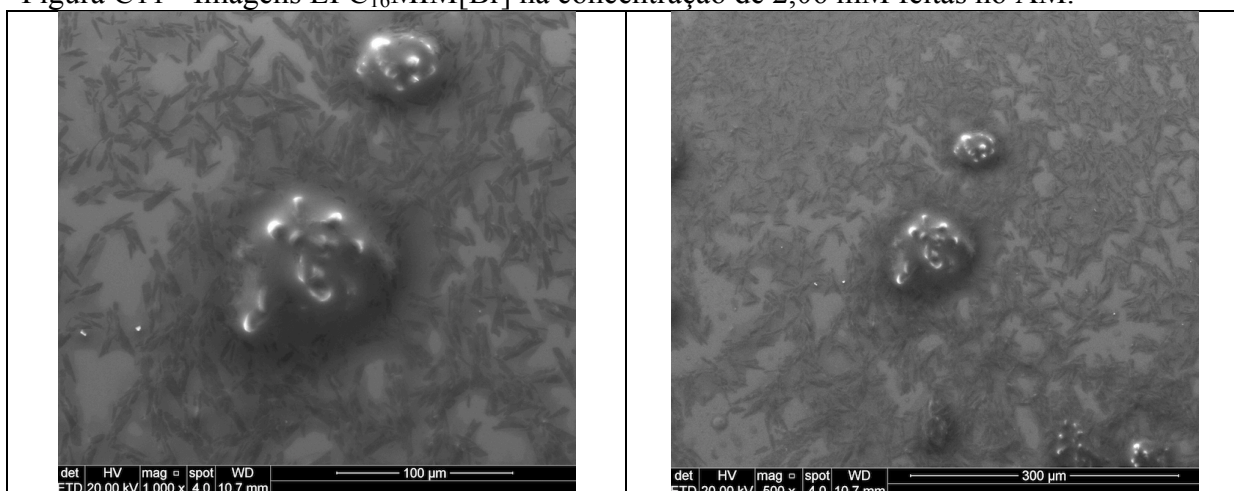


Figura C12 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 2,06 mM feitas no US 20%.

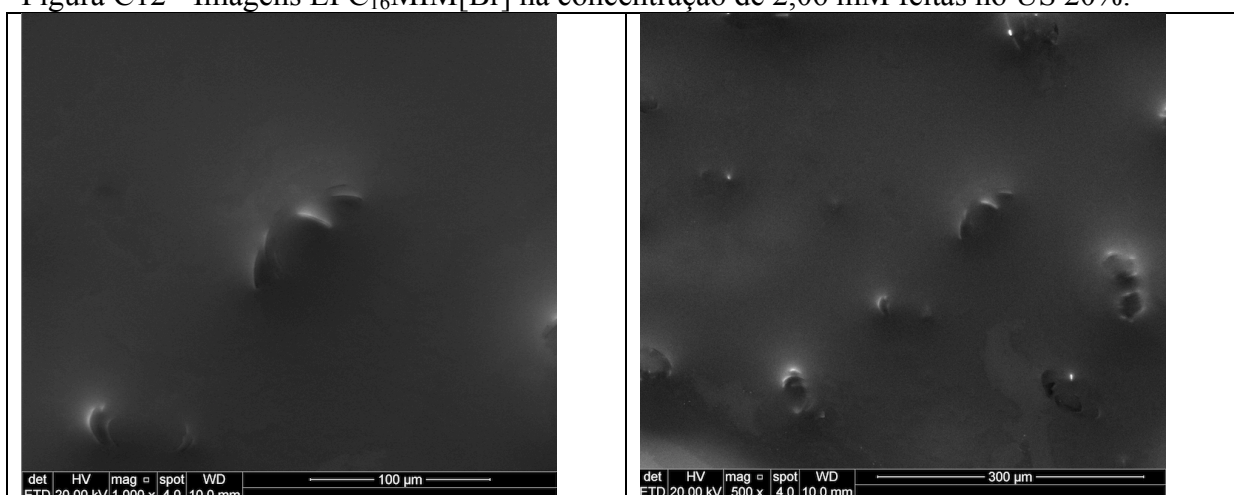


Figura C13 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 2,06 mM feitas no US 40%.

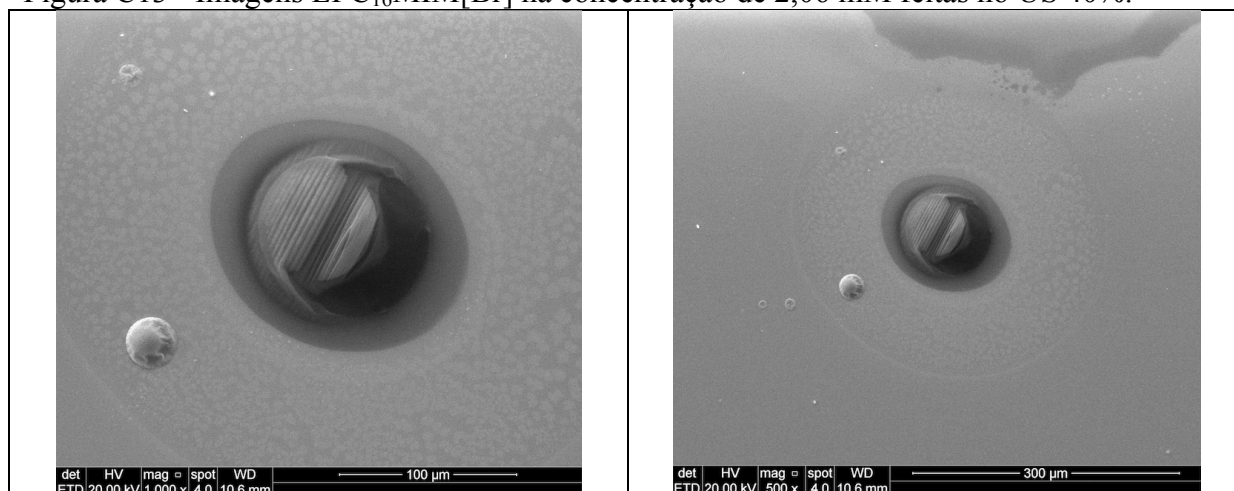


Figura C14 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM feitas no AM.

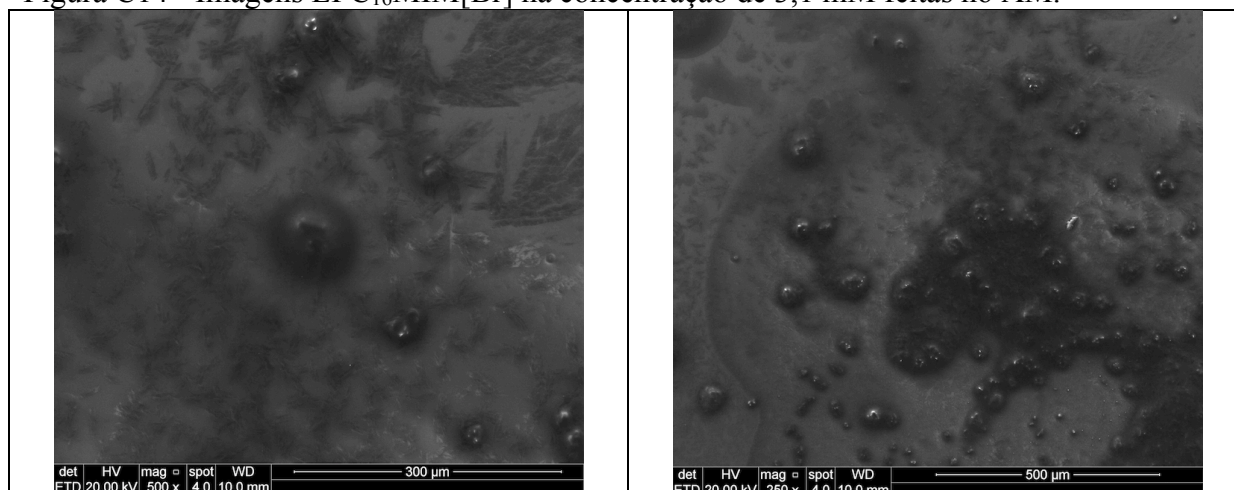


Figura C15 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM feitas no US 20%.

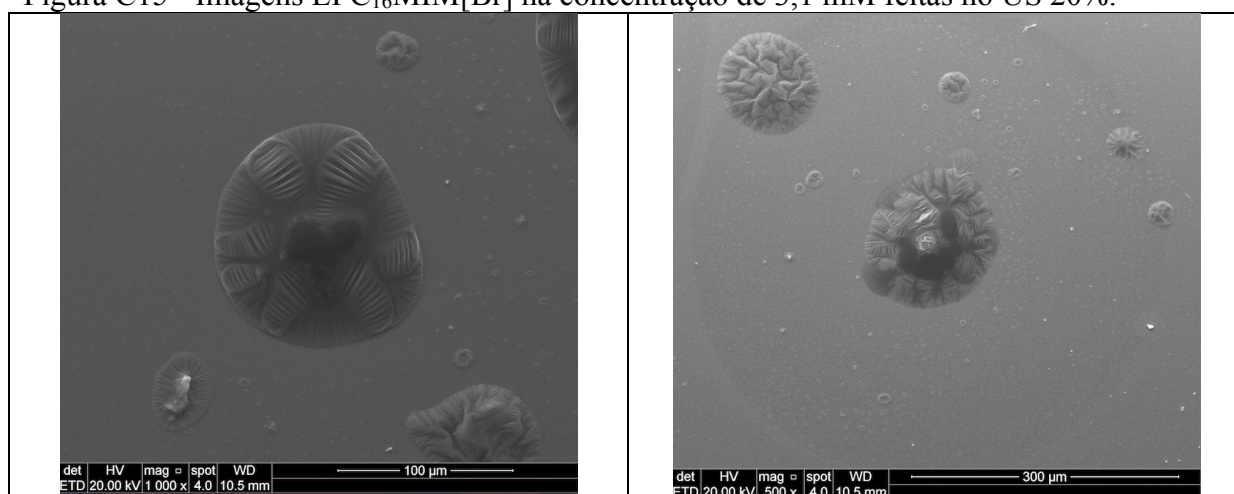
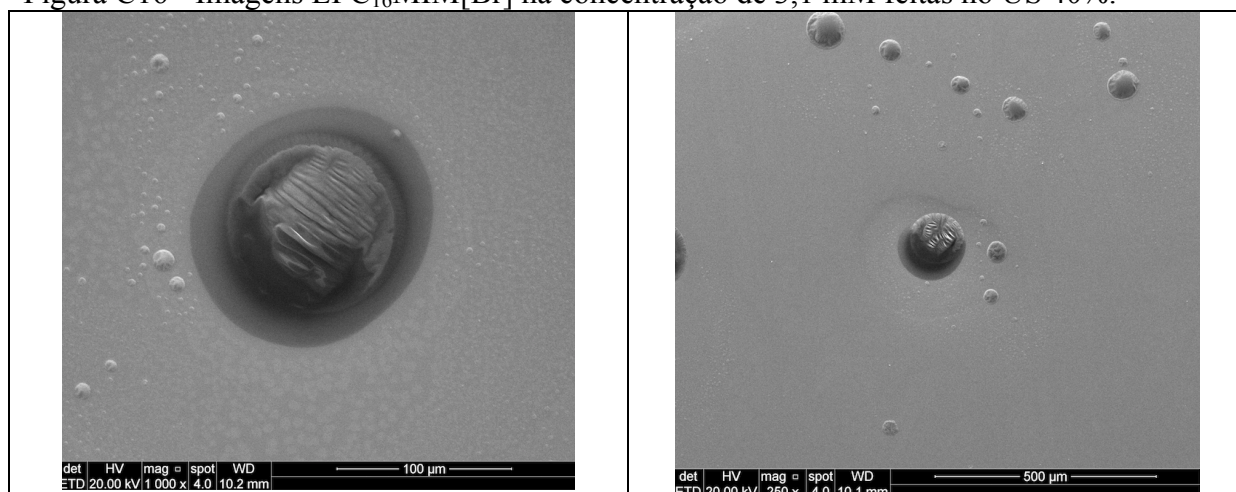


Figura C16 - Imagens LI C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM feitas no US 40%.



APÊNDICE D – PERFIL DE LIBERAÇÃO DO FLUCONAZOL NAS EMULSÕES

Figura D1 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 1,5 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por AM.

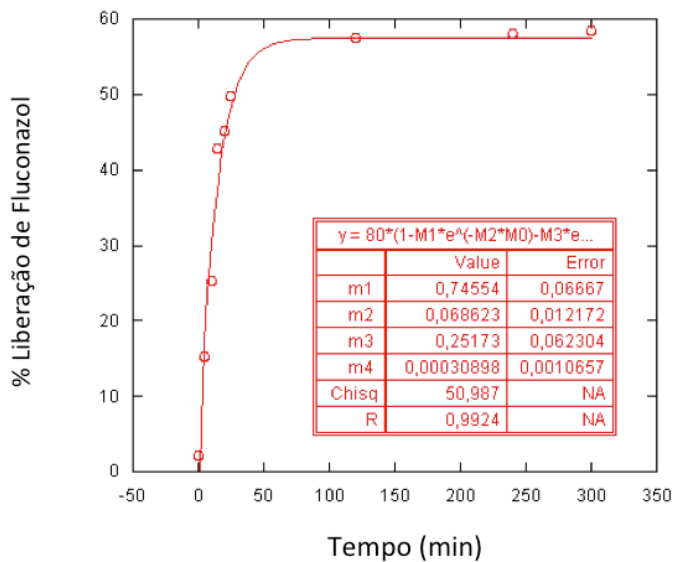


Figura D2 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 1,5 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por US 20%.

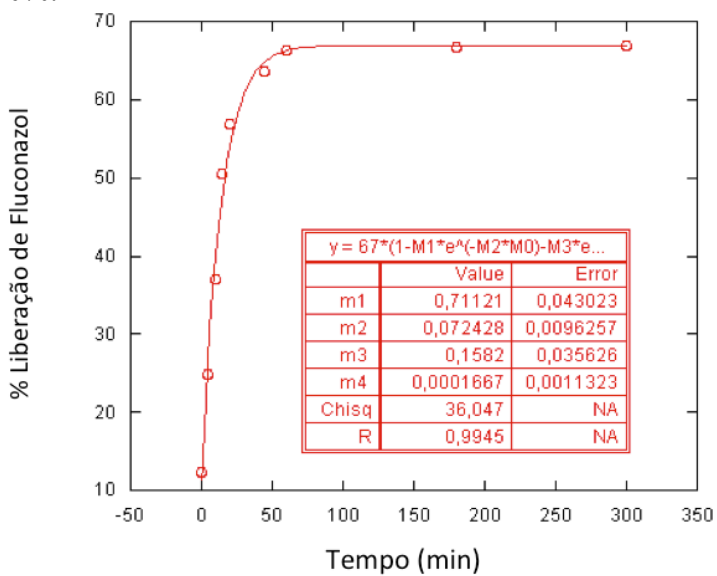


Figura D3 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 1,5 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por US 40%.

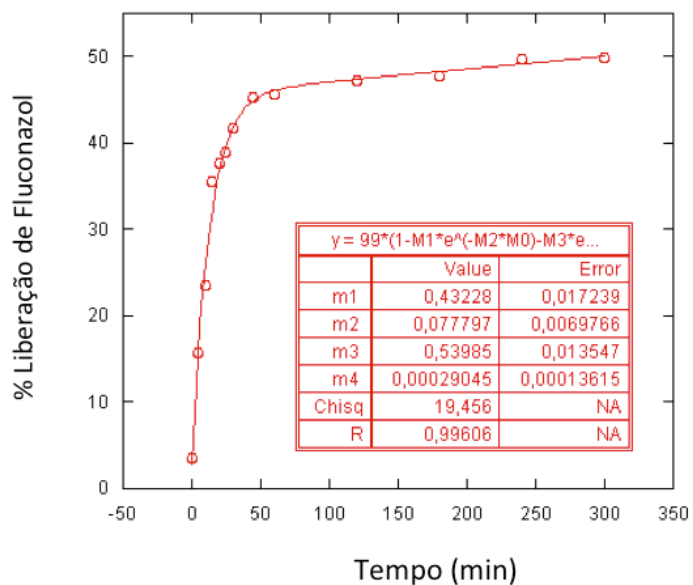


Figura D4 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 2,4 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por AM.

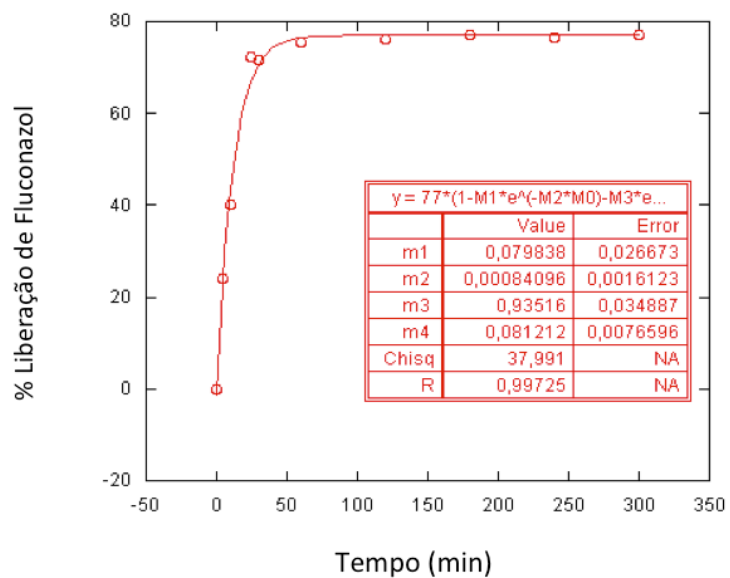


Figura D5 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 2,4 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por US 20%.

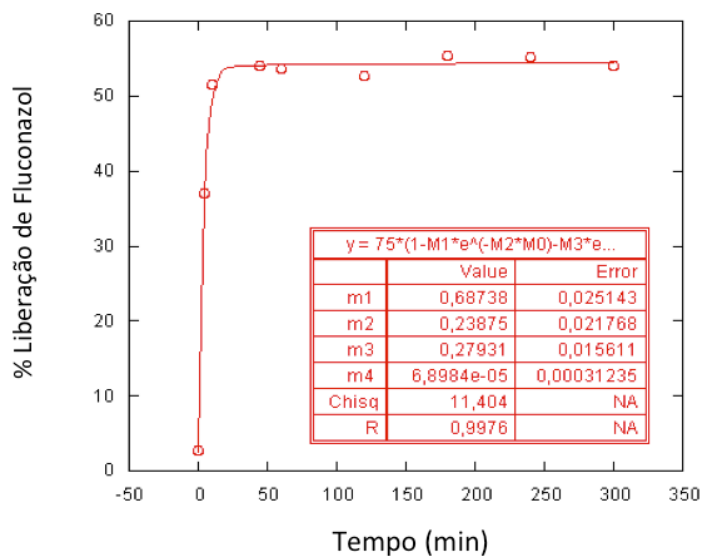


Figura D6 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 2,4 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por US 40%.

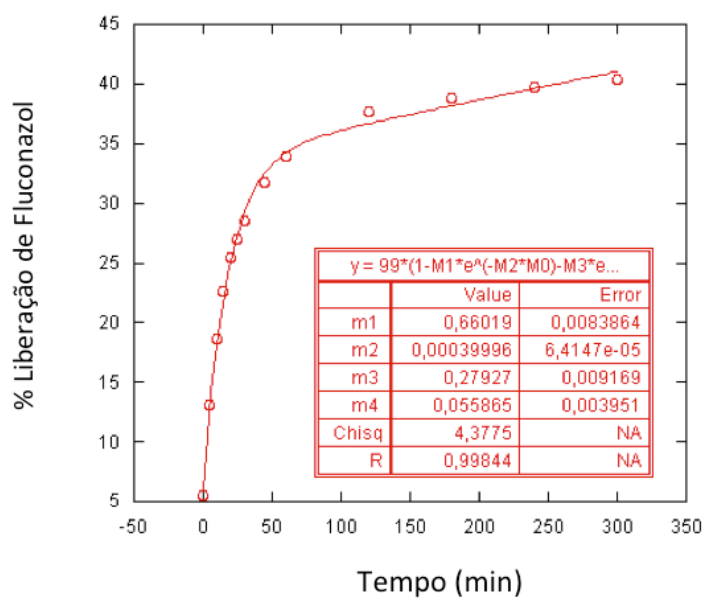


Figura D7 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 3,6 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por AM.

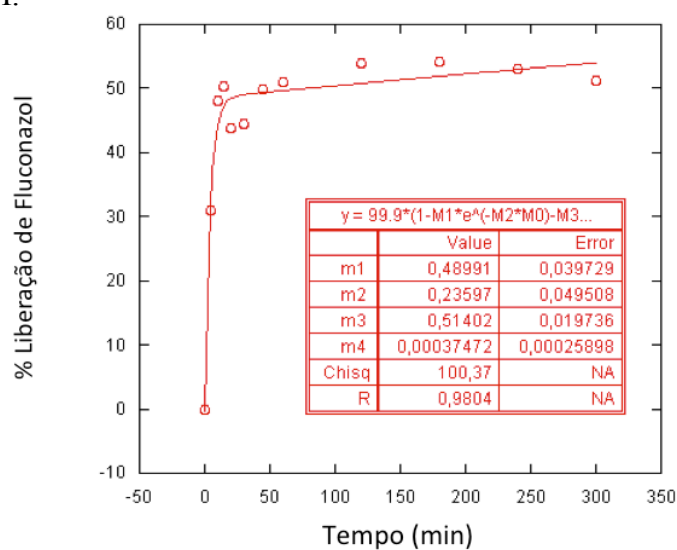


Figura D8 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 3,6 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por US 20%.

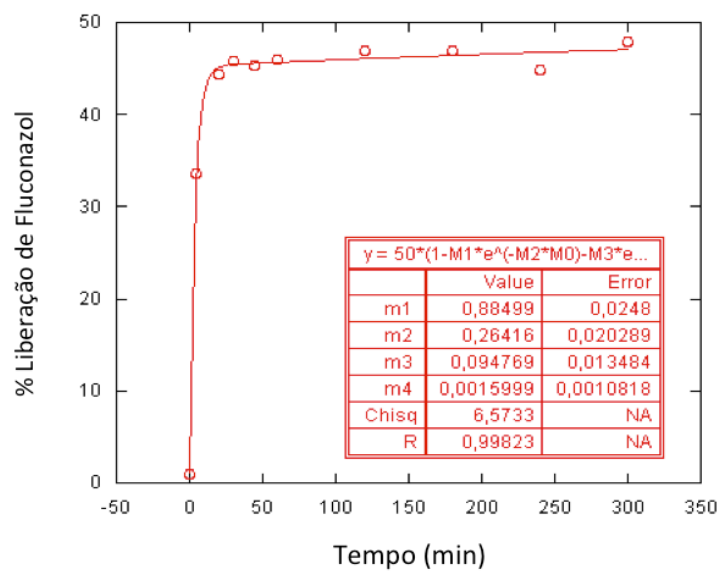


Figura D9 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 3,6 mM do LI C₁₂MIM[Br] preparada por US 40%.

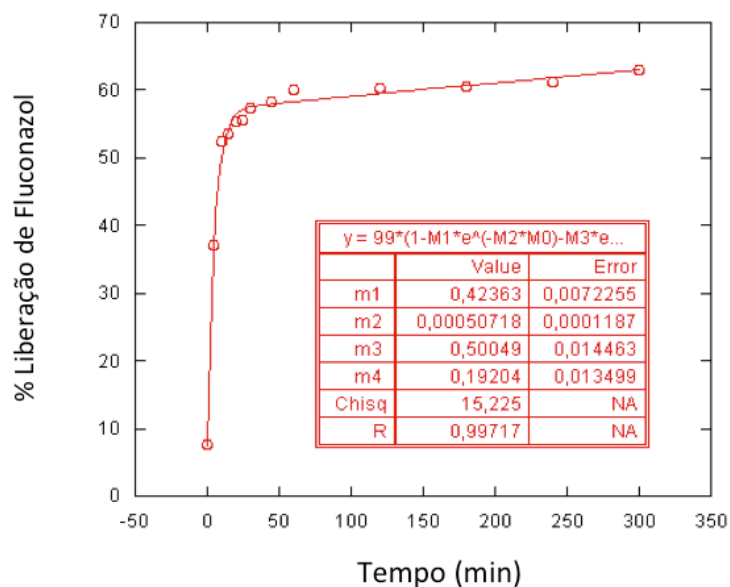


Figura D10 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 1,3 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por AM.

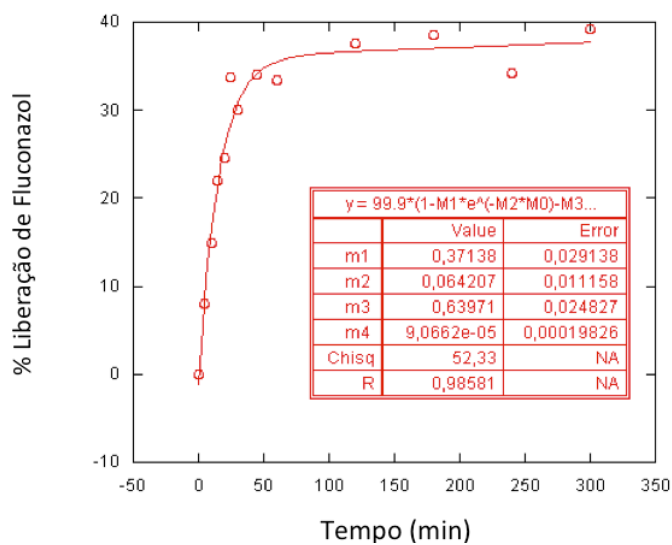


Figura D11 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 1,3 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por US 20%.

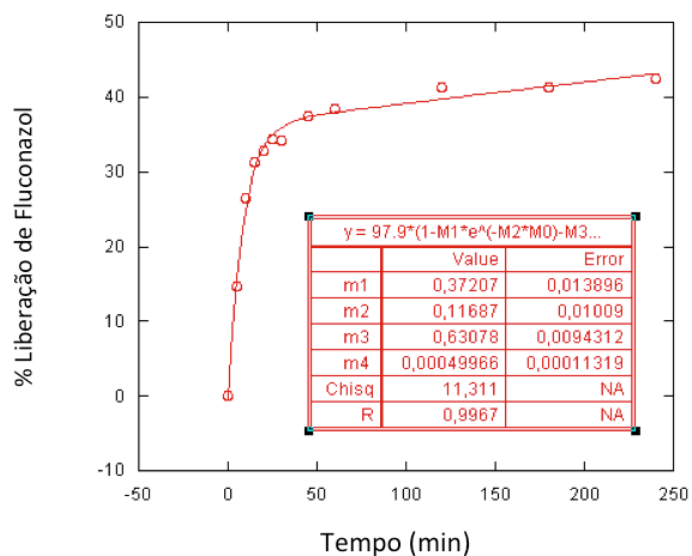


Figura D12 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 1,3 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por US 40%.

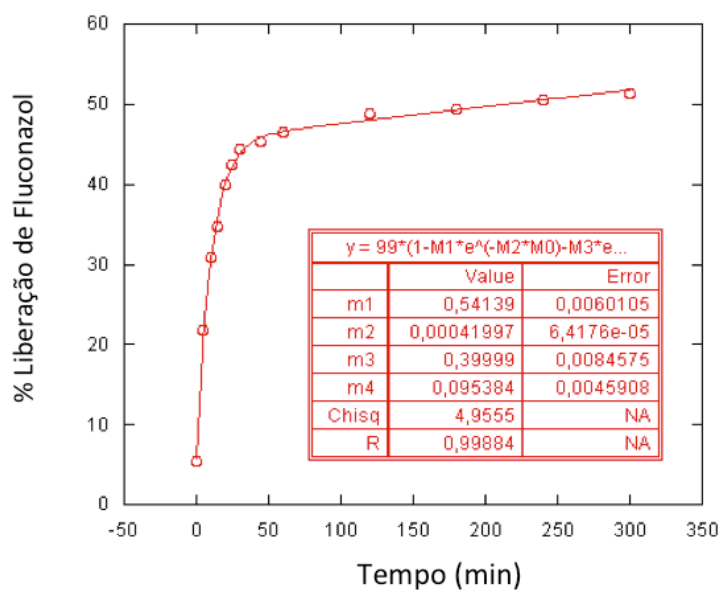


Figura D13 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 2,06 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por AM.

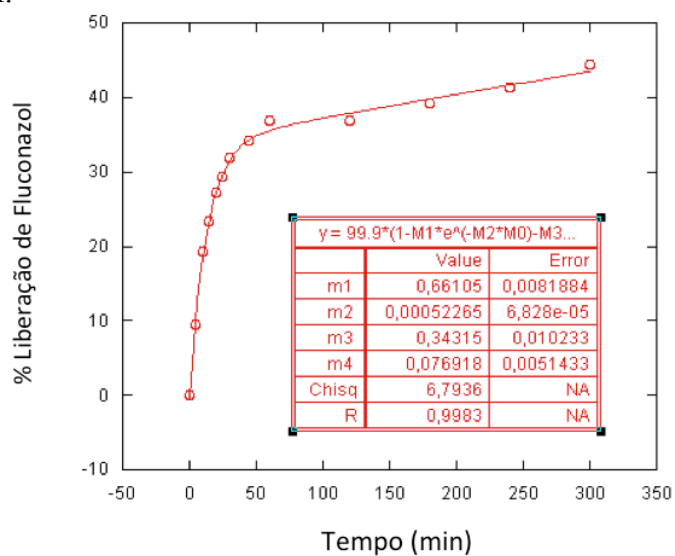


Figura D14 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 2,06 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por US 20%.

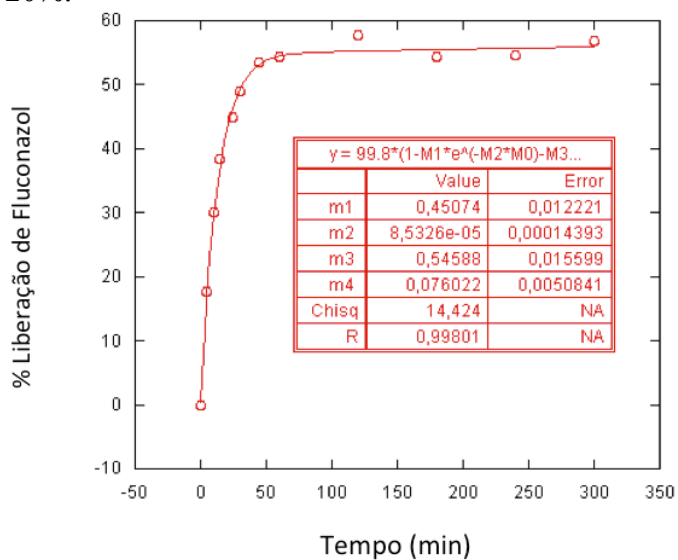


Figura D15 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 2,06 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por US 40%.

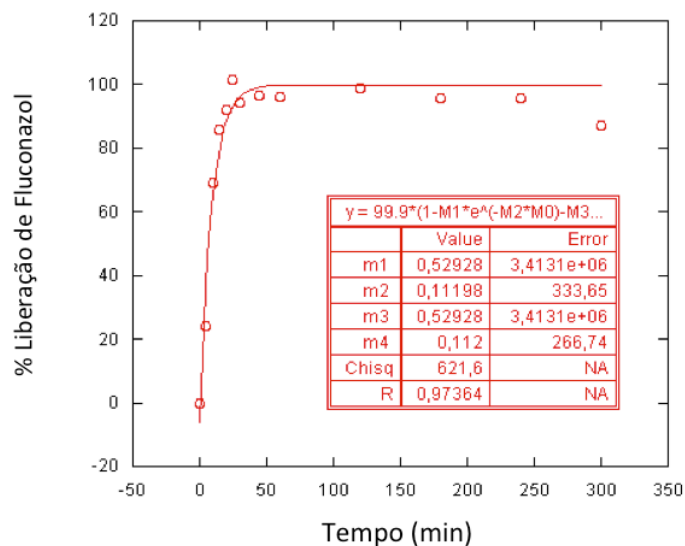


Figura D16 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 3,1 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por AM.

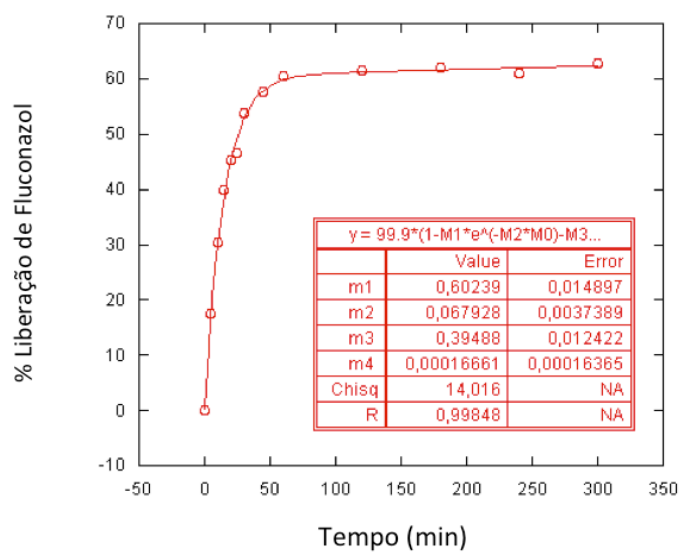


Figura D17 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 3,1 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por US 20%.

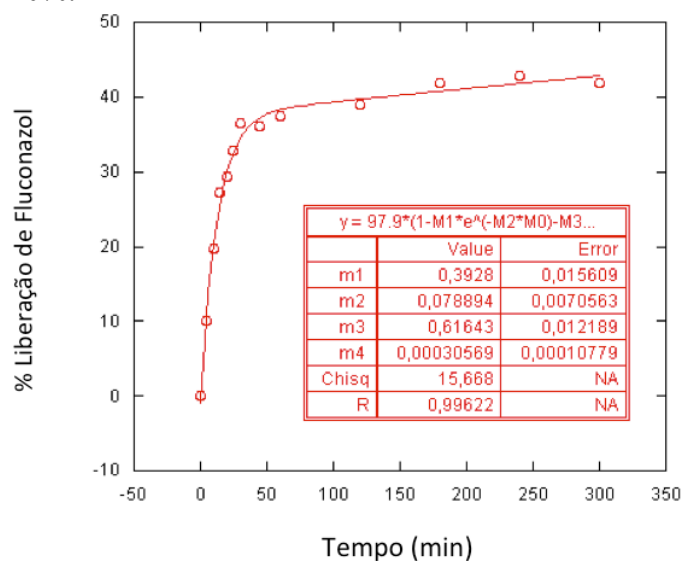
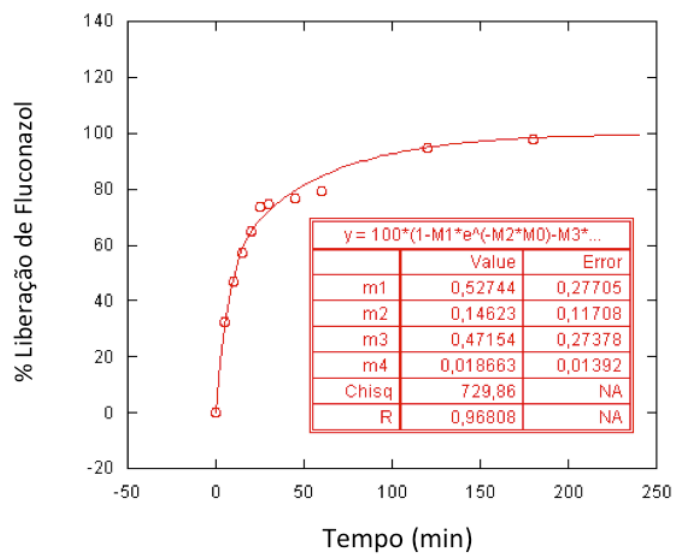


Figura D18 – Perfil de liberação do Fluconazol na emulsão com 3,1 mM do LI C₁₆MIM[Br] preparada por US 40%.



APÊNDICE E – GRÁFICOS DE VISCOSIDADE DAS EMULSÕES

Gráfico E1 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 1,5 mM -AM.

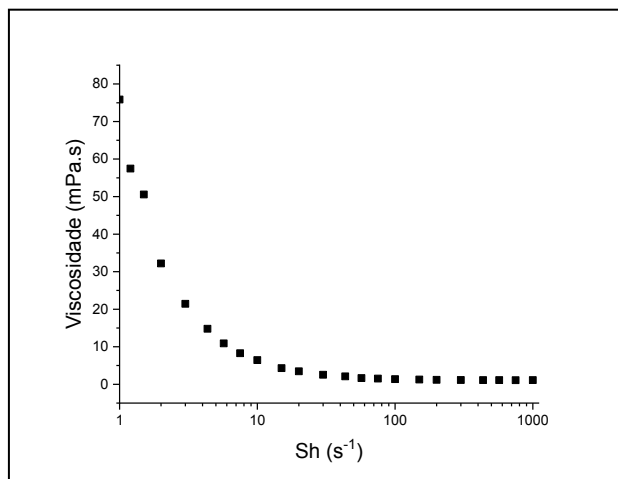


Gráfico E2 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 1,5 mM –US 20%.

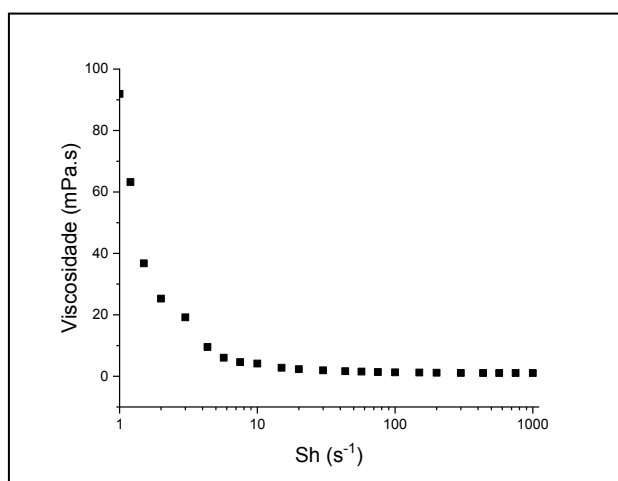


Gráfico E3 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 1,5 mM –US 40%.

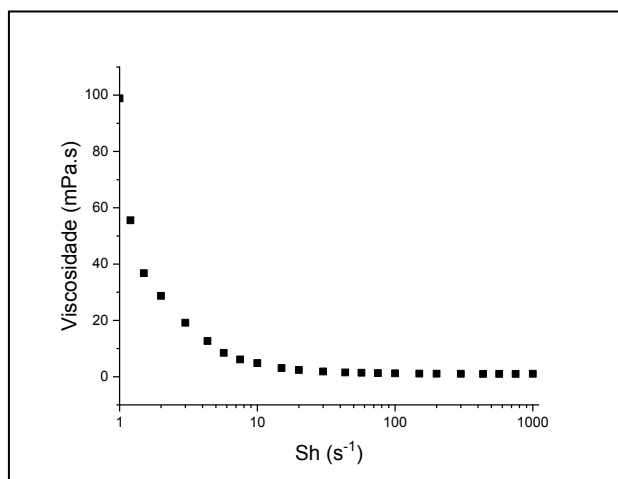


Gráfico E4 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 2,4 mM -AM.

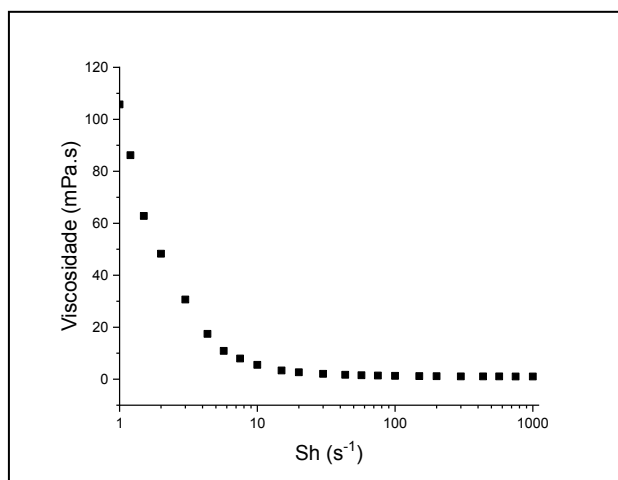


Gráfico E5 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 2,4 mM -US 20%.

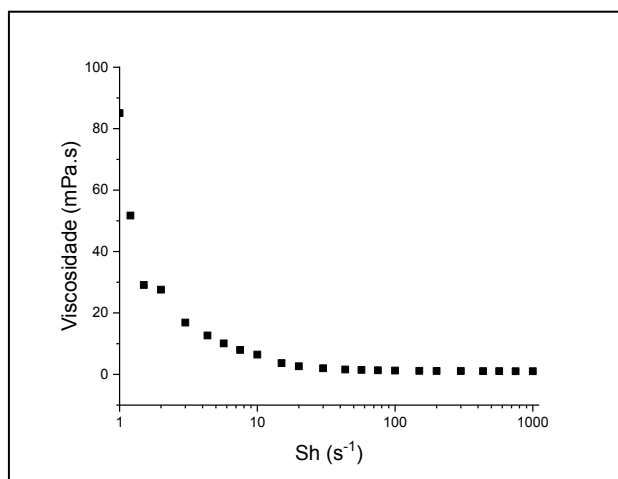


Gráfico E6 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 2,4 mM -US 40%.

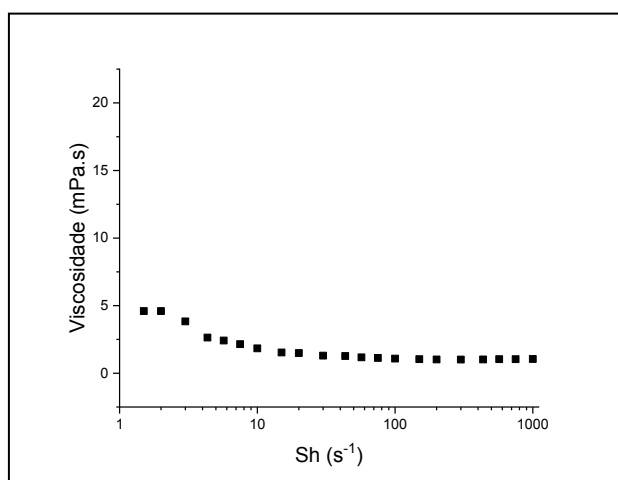


Gráfico E7 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 3,6 mM -AM.

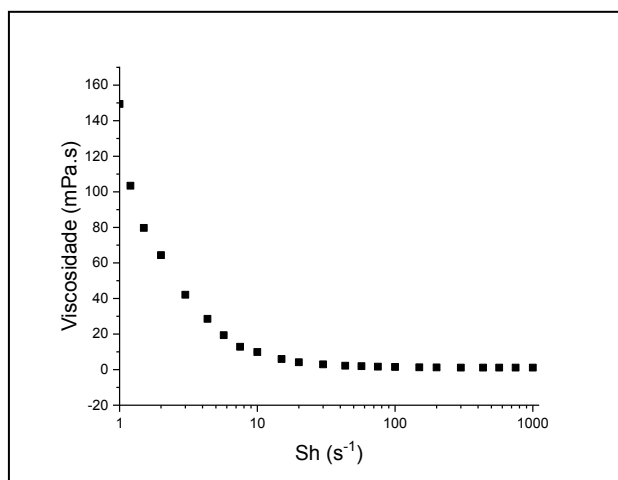


Gráfico E8 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 3,6 mM -US 20%.

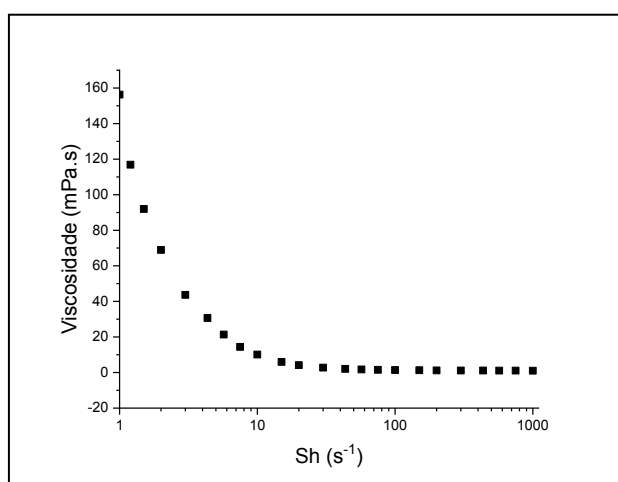


Gráfico E9 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₂MIM[Br] na concentração de 3,6 mM -US 40%.

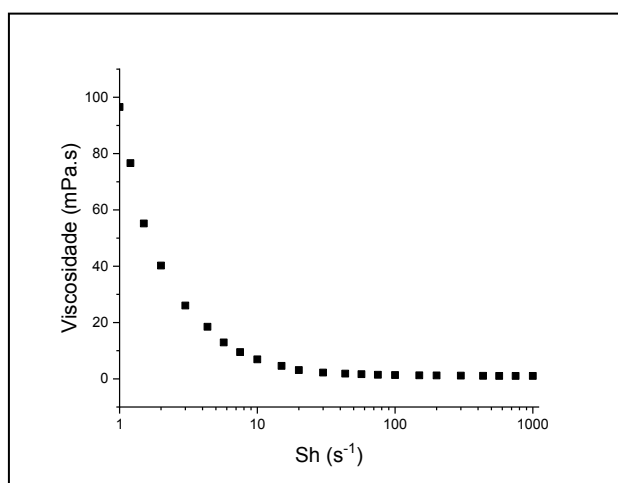


Gráfico E10 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 1,3 mM -AM.

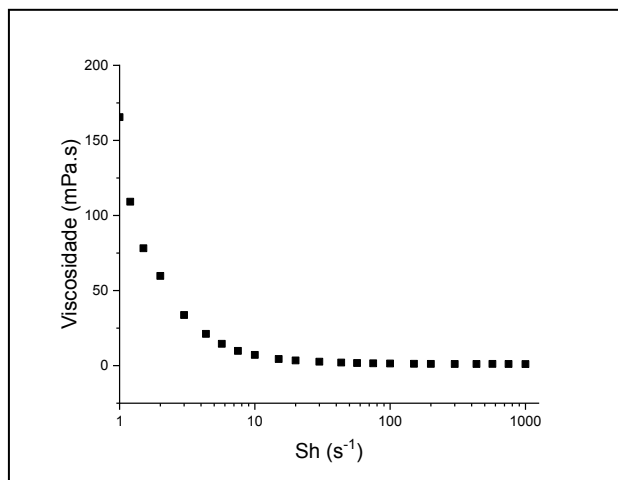


Gráfico E11 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 1,3 mM -US 20%.

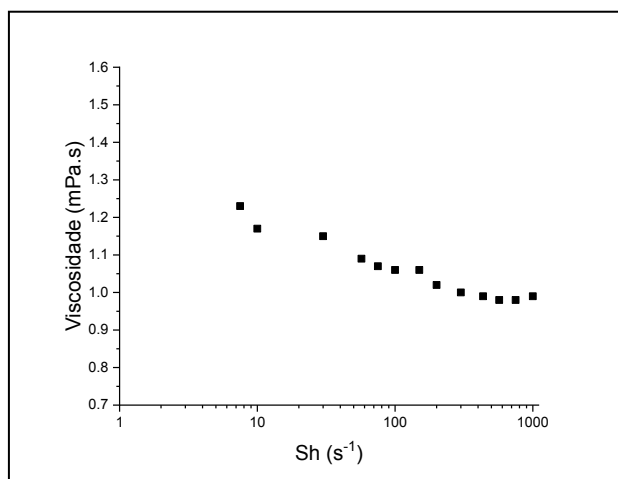


Gráfico E12 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 1,3 mM -US 40%.

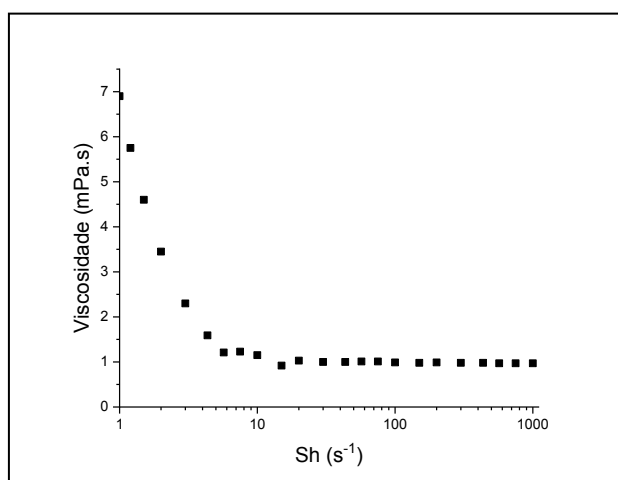


Gráfico E13 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 2,06 mM -AM.

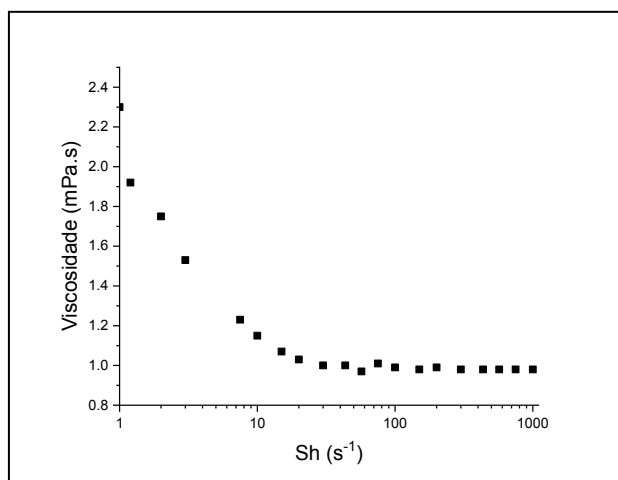


Gráfico E14 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 2,06 mM -US 20%.

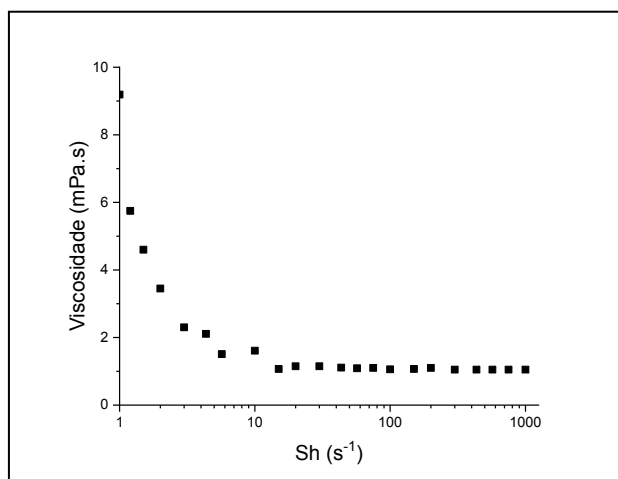


Gráfico E15 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 2,06 mM -US 40%.

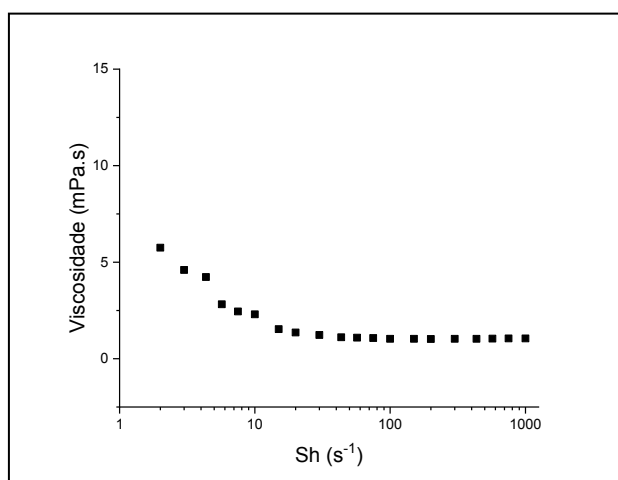


Gráfico E16 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM -AM.

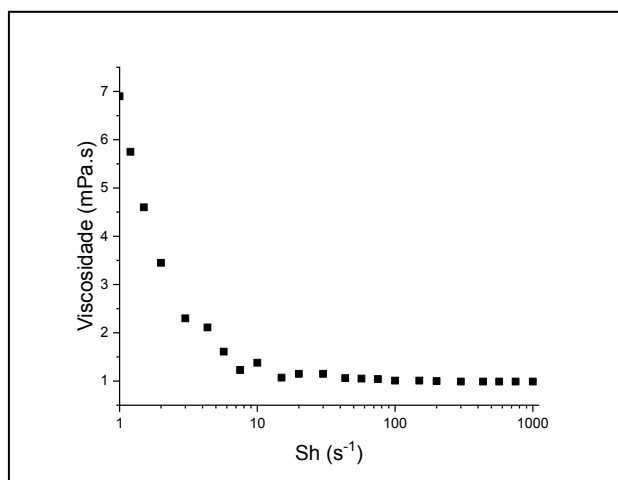


Gráfico E17 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM -US 20%.

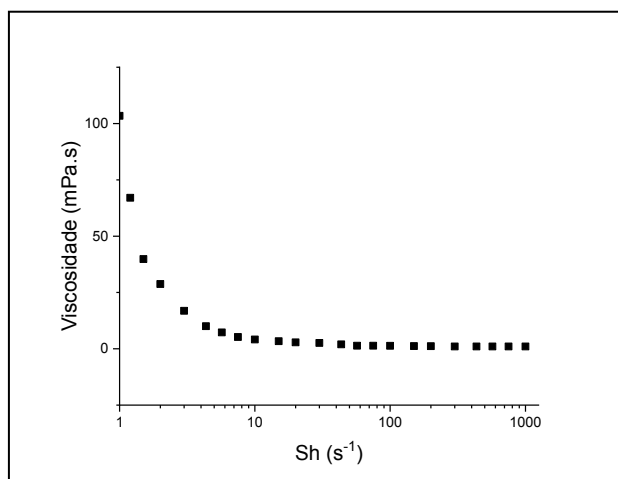
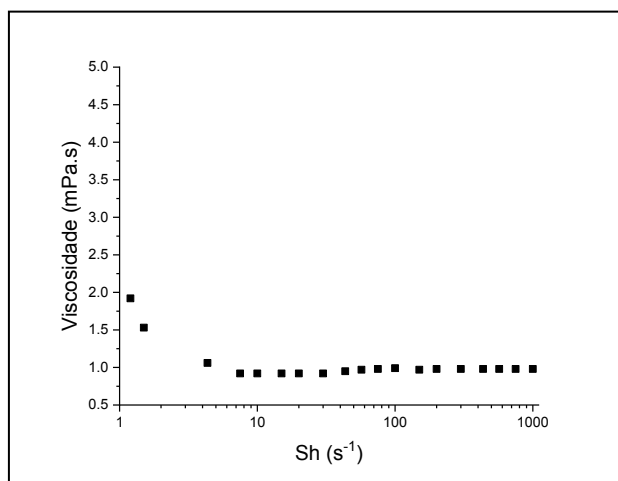


Gráfico E18 – Viscosidade vs. Log Sh da emulsão com C₁₆MIM[Br] na concentração de 3,1 mM -US 40%.



APÊNDICE F – GRÁFICOS DE DIFUSÃO DAS EMULSÕES

Figura F1 – Gráficos de difusão em a) δ 0,75 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,20 ppm do LI $C_{12}MIM[Br]$ puro.

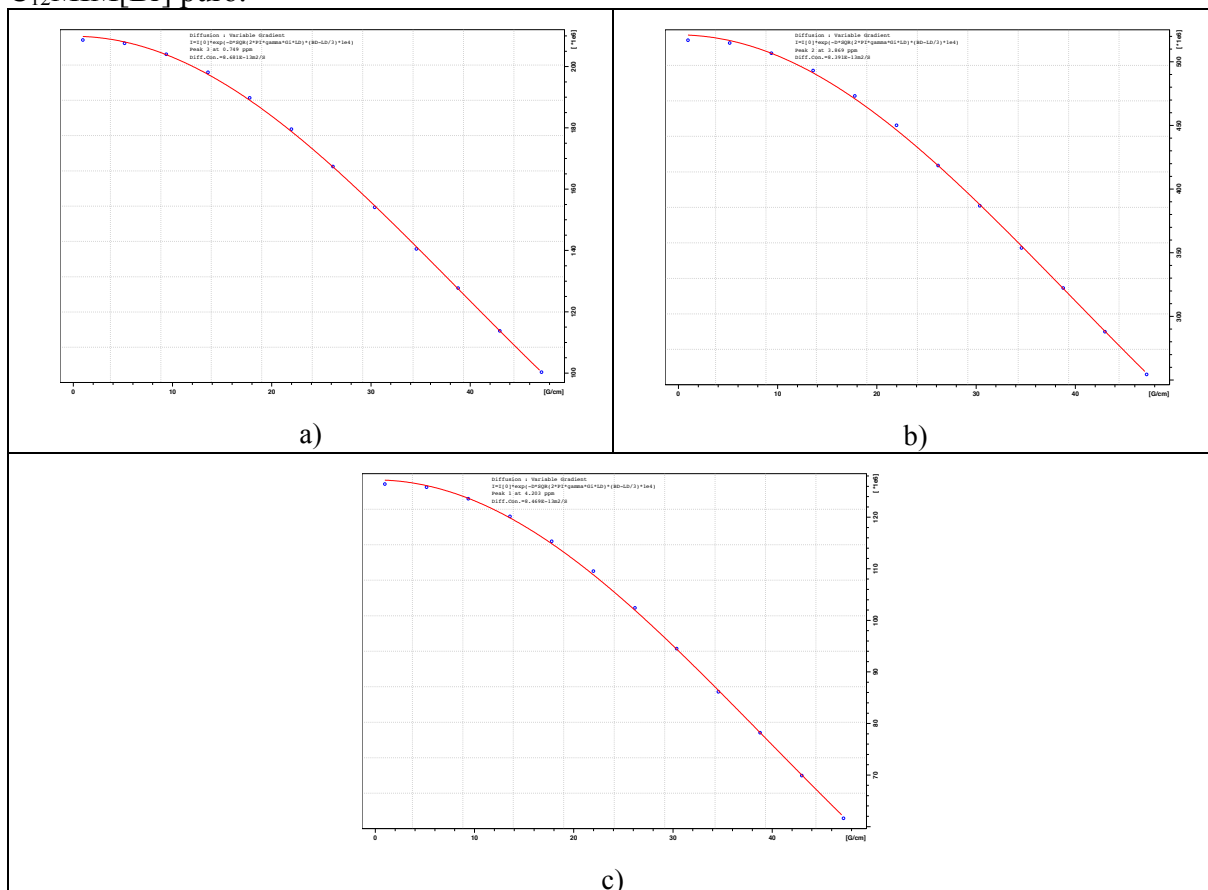


Figura F2 – Gráficos de difusão em a) δ 0,75 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,20 ppm do LI $C_{12}MIM[Br]$ com 0,05 mL de TCM.

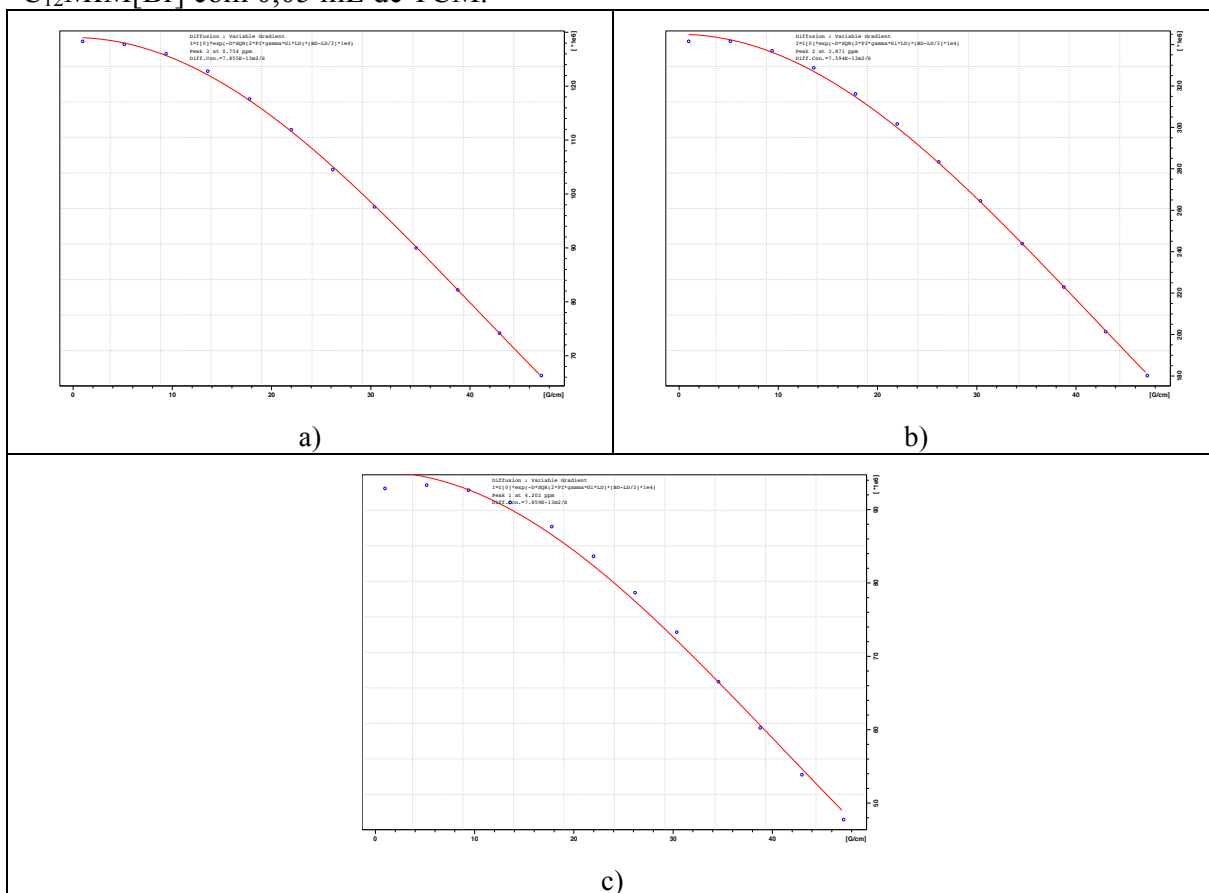


Figura F3 – Gráficos de difusão em a) δ 0,75 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,20 ppm do LI C₁₂MIM[Br] com 0,10 mL de TCM.

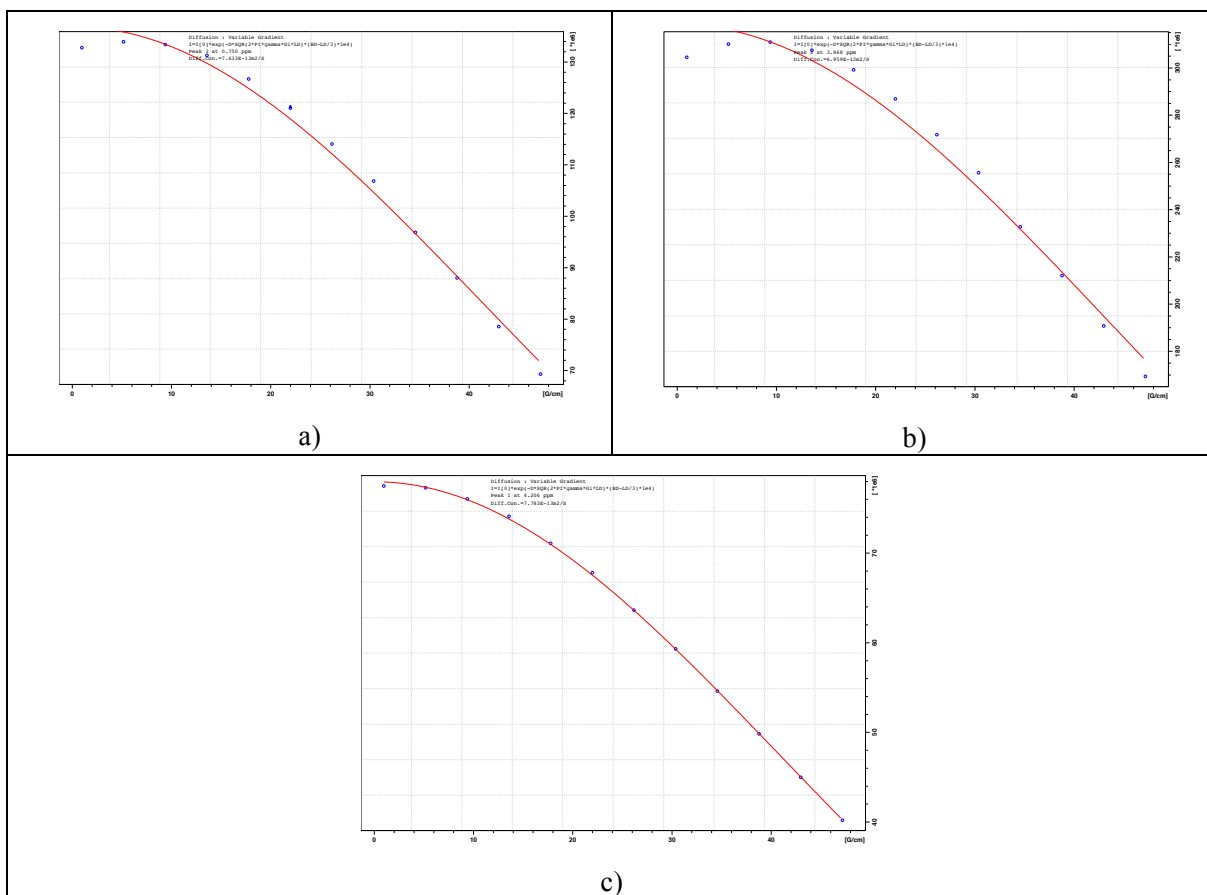


Figura F4 – Gráficos de difusão em a) δ 0,75 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,20 ppm do LI $C_{12}MIM[Br]$ com 0,15 mL de TCM.

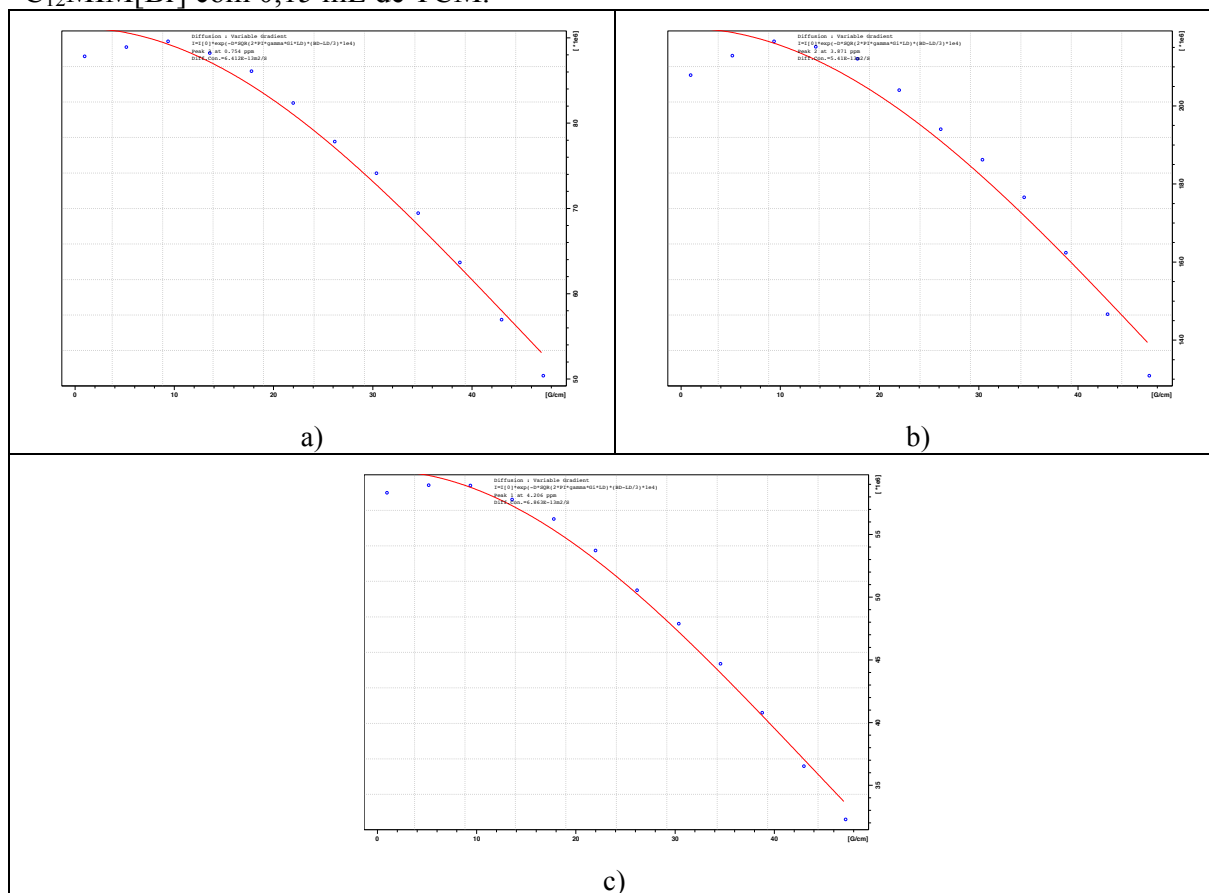


Figura F5 – Gráficos de difusão em a) δ 0,76 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,19 ppm do LI $C_{16}MIM[Br]$ puro.

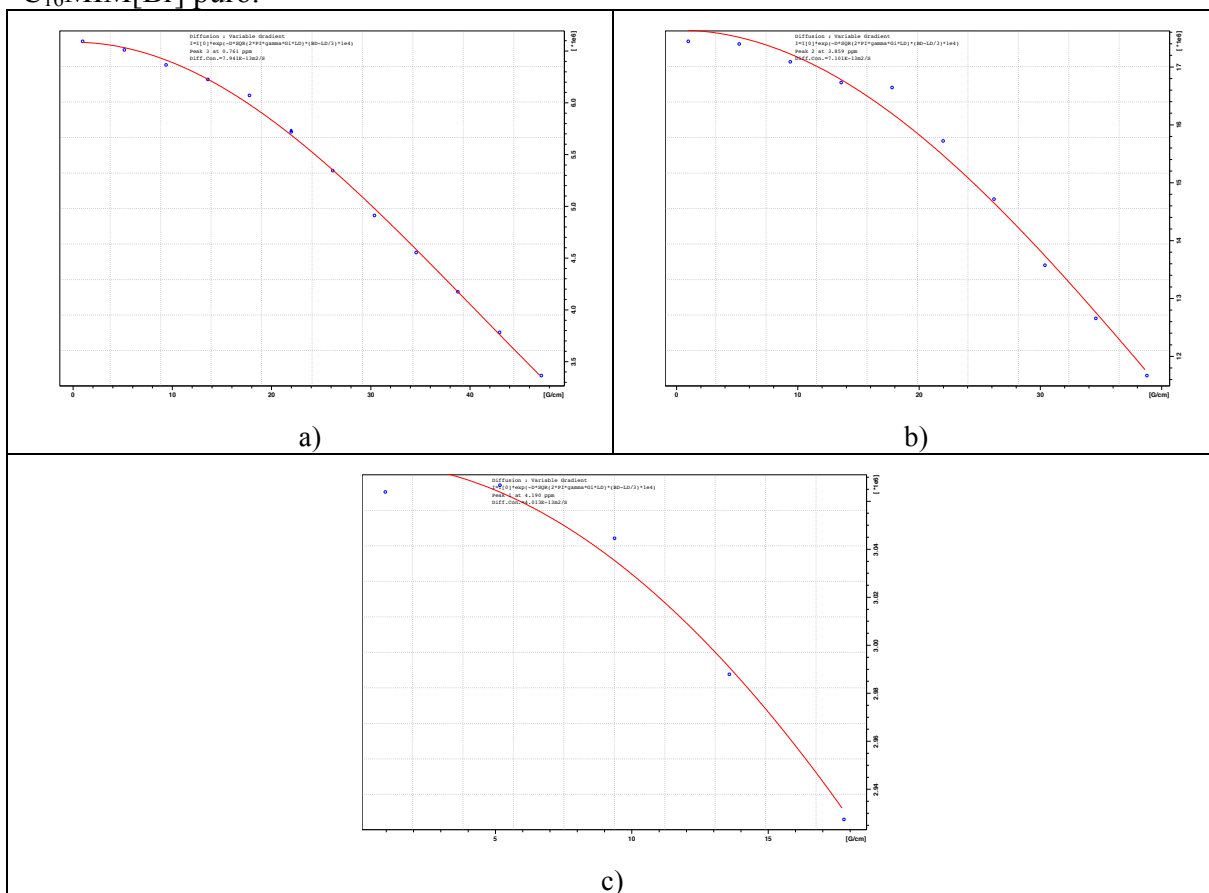


Figura F6 – Gráficos de difusão em a) δ 0,76 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,19 ppm do LI C₁₆MIM[Br] com 0,05 mL de TCM.

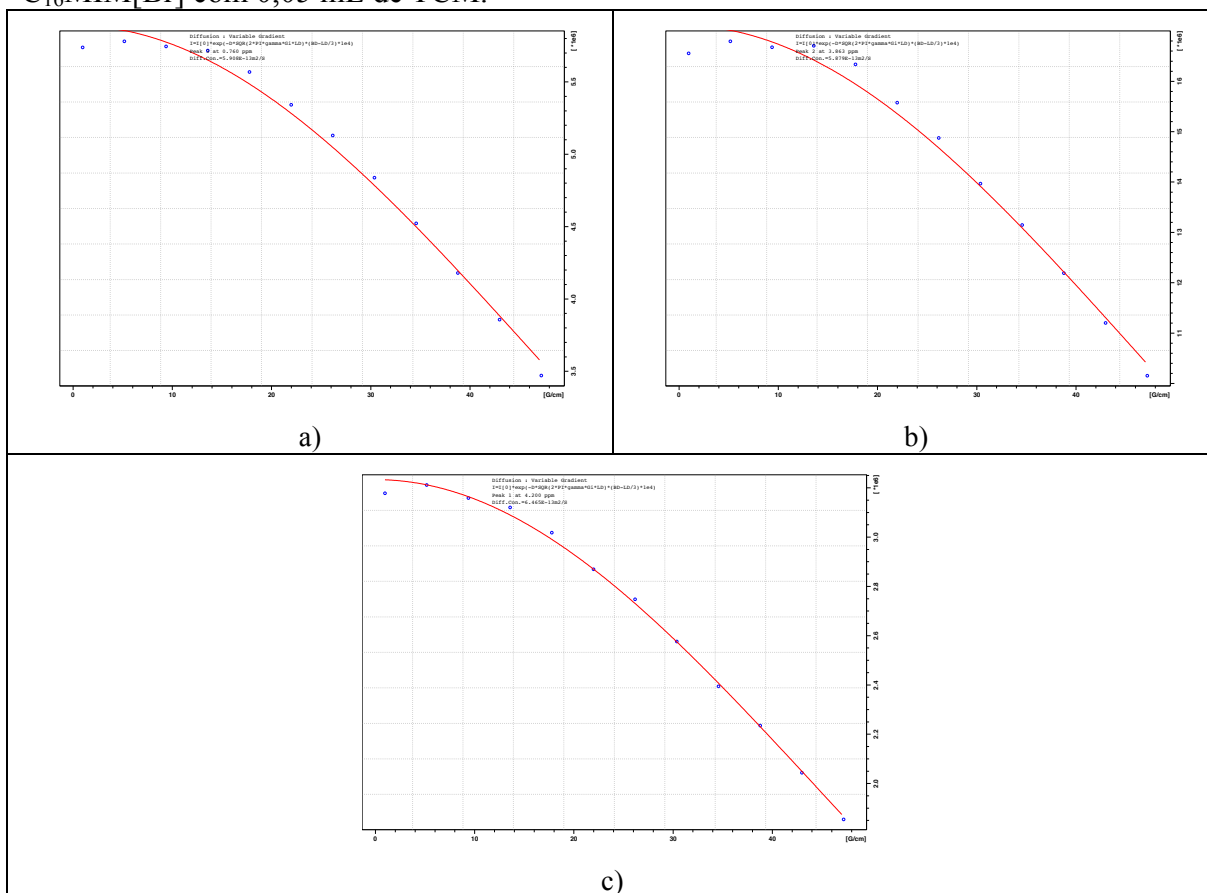


Figura F7 – Gráficos de difusão em a) δ 0,76 ppm b) δ 3,87 ppm c) δ 4,19 ppm do LI C₁₆MIM[Br] com 0,10 mL de TCM.

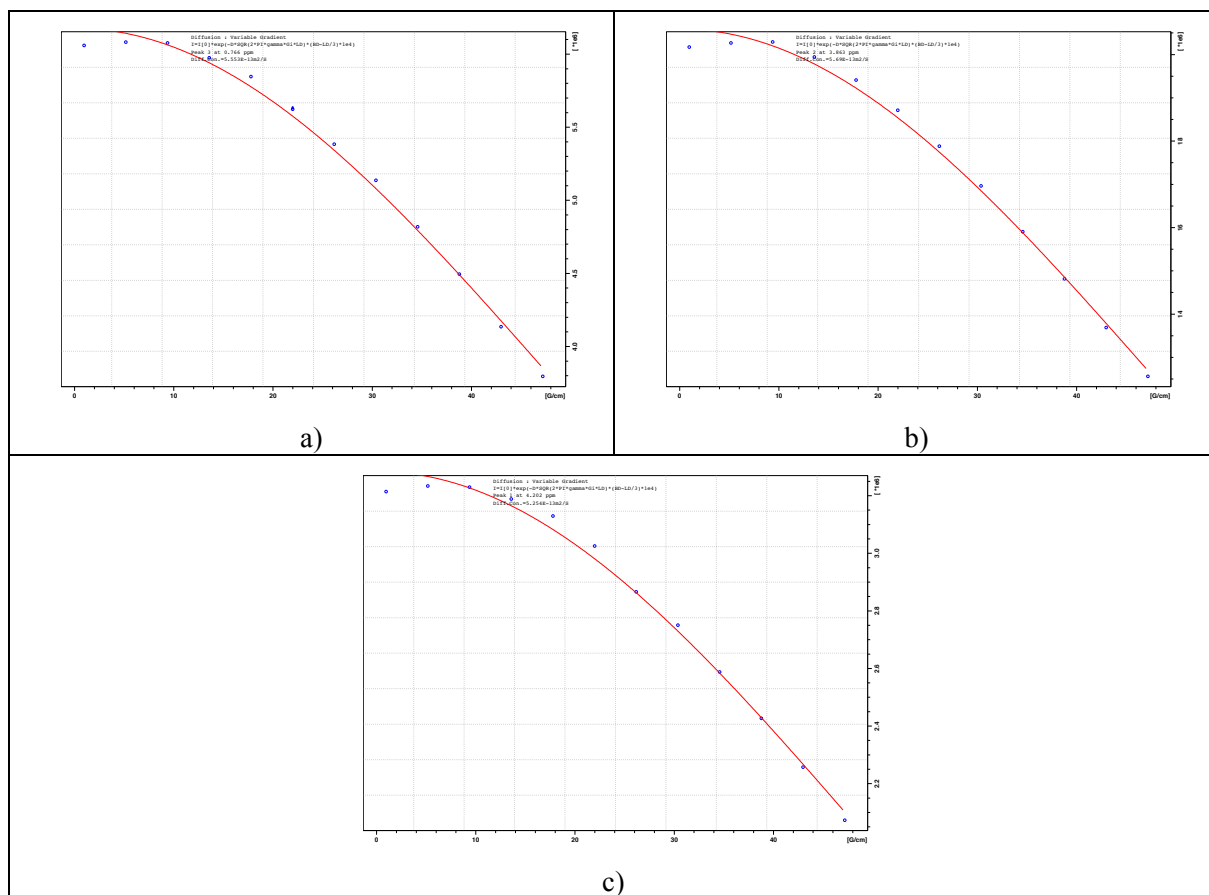


Figura F8 – Gráficos de difusão em a) δ 3,87 ppm do LI C₁₆MIM[Br] com 0,15 mL de TCM.

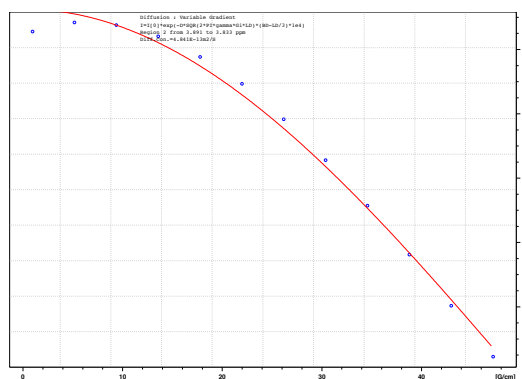


Figura F9 – Gráficos de difusão em a) δ 0,76 ppm b) δ 3,85 ppm c) δ 4,16 ppm d) δ 7,47 do LI C₁₂MIM[Br] com 8 mg de fluconazol.

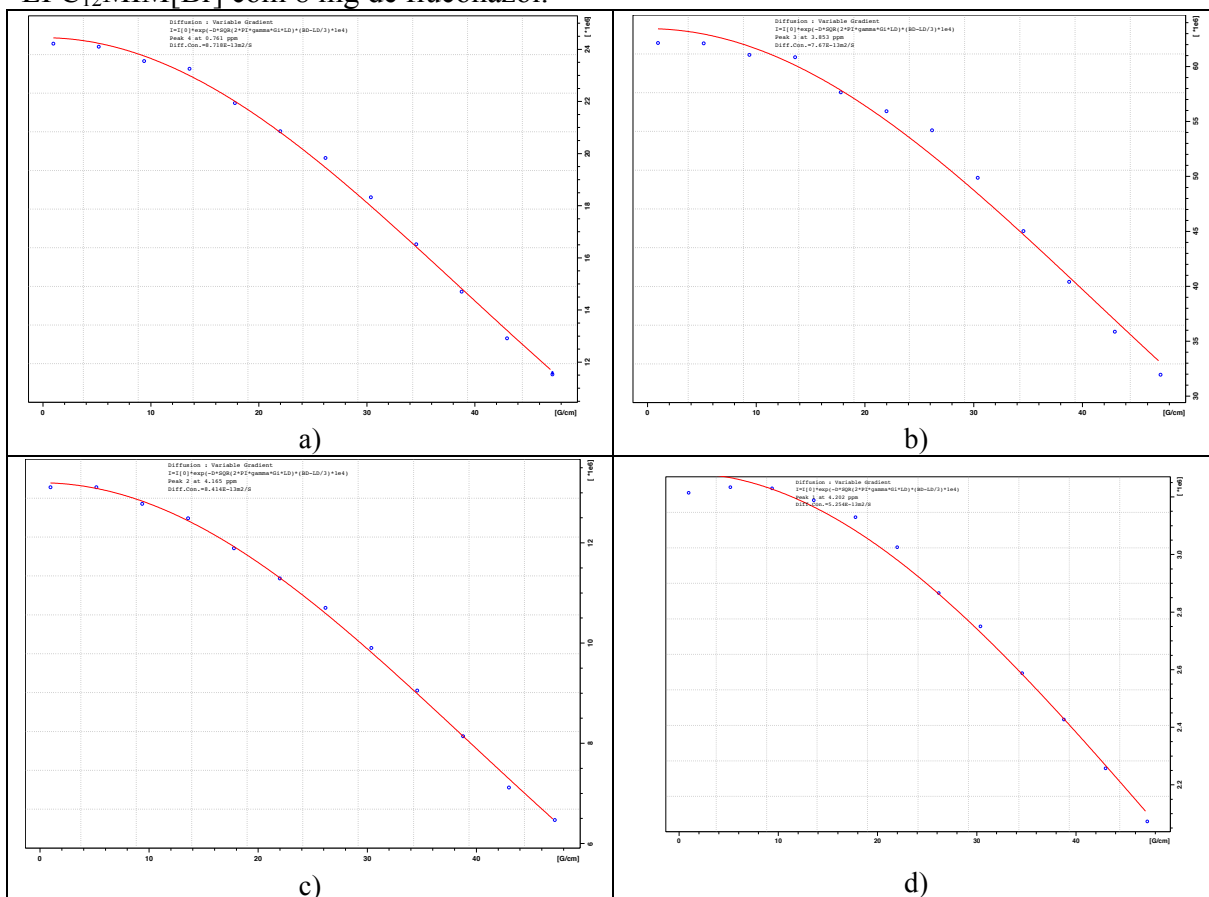
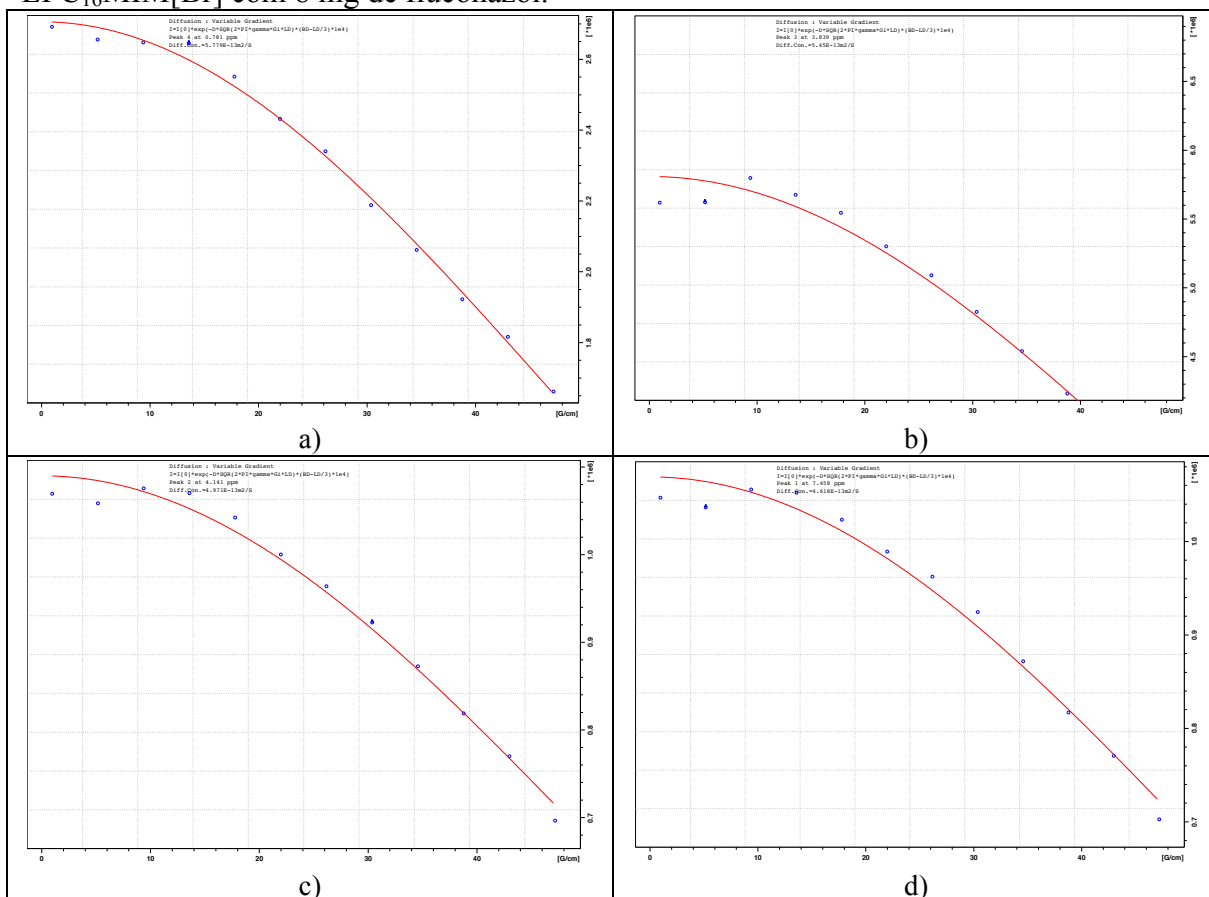


Figura F10 – Gráficos de difusão em a) δ 0,78 ppm b) δ 3,84 ppm c) δ 4,14 ppm d) δ 7,46 do LI C₁₆MIM[Br] com 8 mg de fluconazol.



APÊNDICE G – ESPECTROS E CROMATOGRAMAS FLUCONAZOL

Figura G1 – Cromatograma do ponto 3 da curva de Fluconazol no modo MRM negativo.

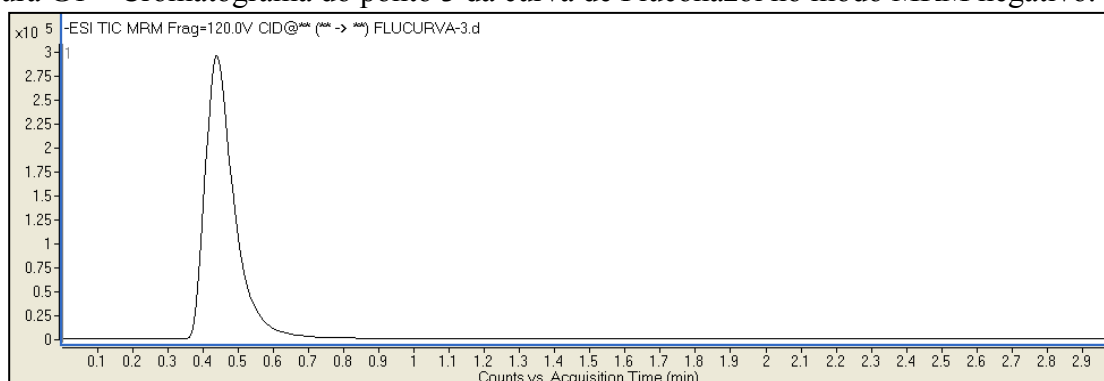
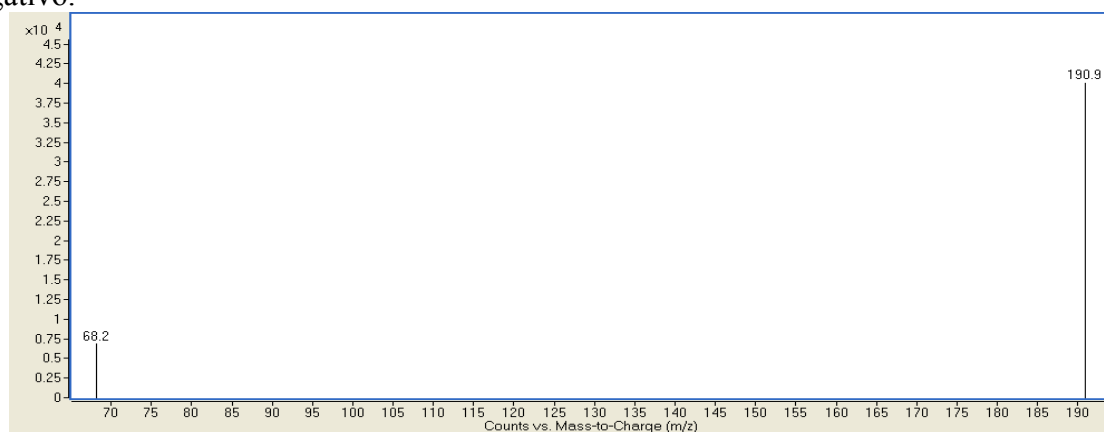


Figura G2 – Espectro de massas Fluconazol modo MRM. Íon precursor m/z 305 modo negativo.



APÊNDICE H – ESPECTROS DE MASSAS DAS MISTURAS DOS COMPONENTES QUE COMPÕEM AS EMULSÕES

Figura H1 – Sobreposição do espectro de LI C₁₂MIM[Br] (preto), Fluconazol (vermelho) e LI + Fluconazol (verde) no modo positivo.

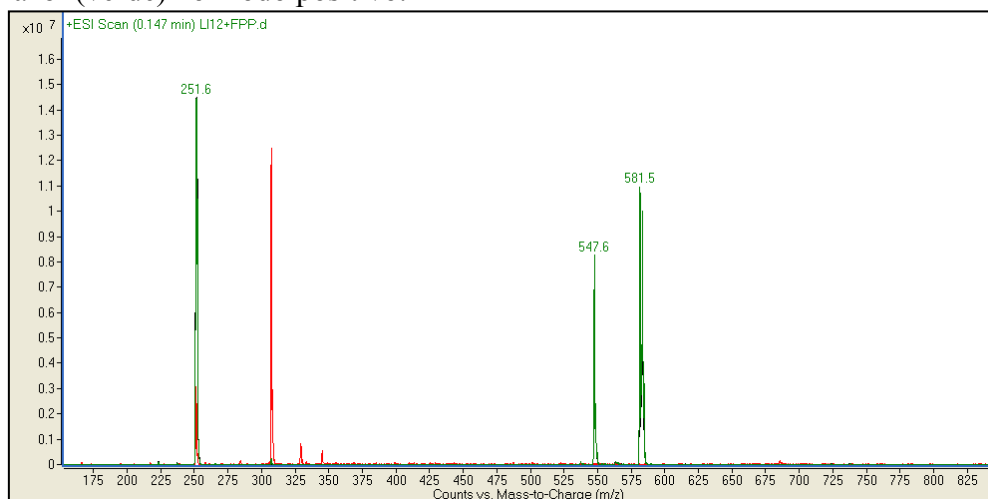


Figura H2 – Sobreposição do espectro de LI C₁₂MIM[Br] (preto), Fluconazol (vermelho) e LI + Fluconazol (verde) no modo negativo.

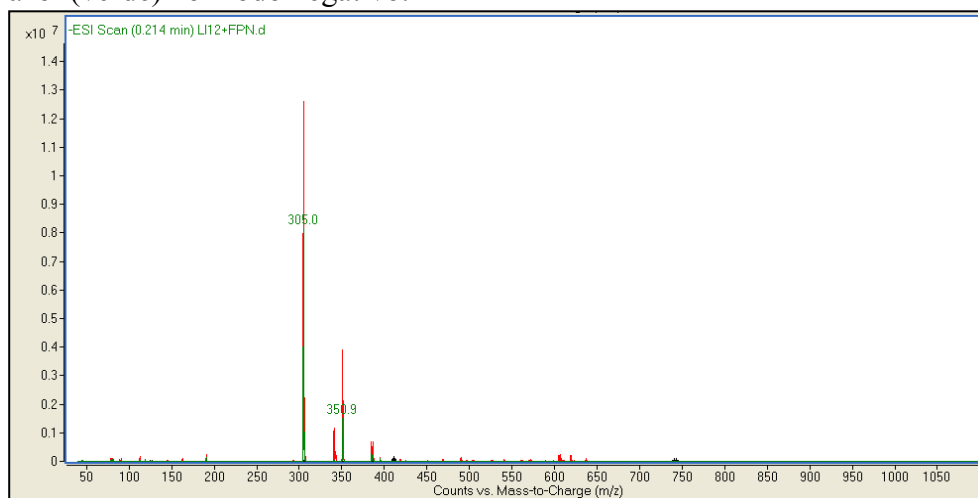


Figura H3 – Sobreposição do espectro de LI C₁₂MIM[Br] (preto), TCM (vermelho) e LI + TCM (verde) no modo positivo.

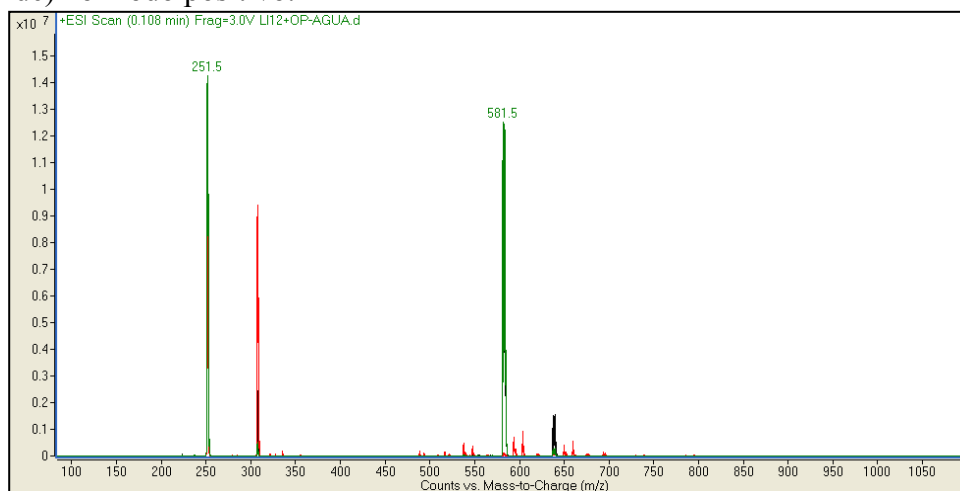


Figura H4 – Sobreposição do espectro de LI C₁₂MIM[Br] (preto), TCM (vermelho) e LI + TCM (verde) no modo negativo.

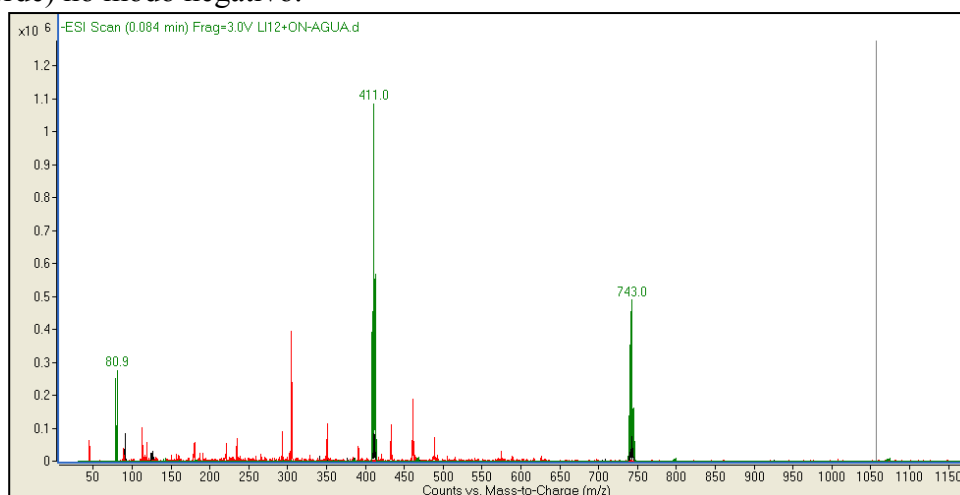


Figura H5 – Sobreposição do espectro de LI C₁₆MIM[Br] (preto), Fluconazol (vermelho) e LI + Fluconazol (verde) no modo positivo.

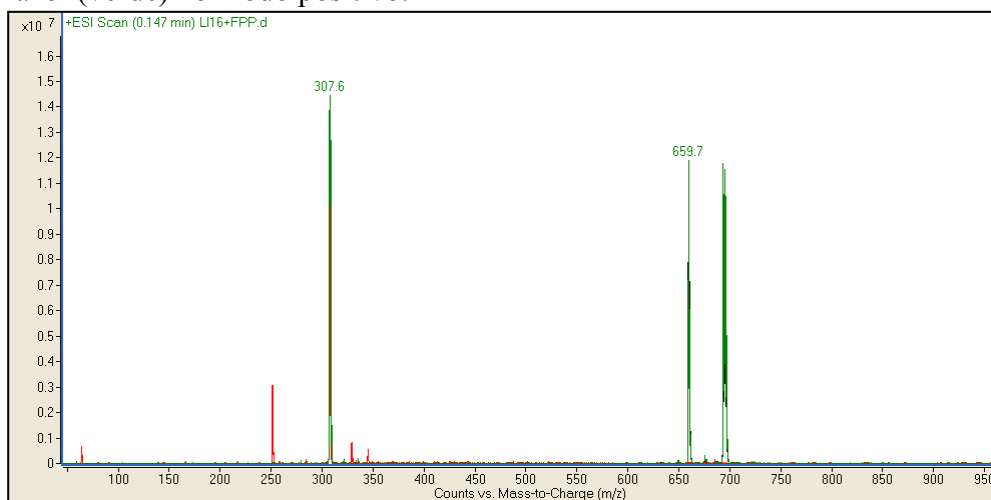


Figura H6 – Sobreposição do espectro de LI C₁₆MIM[Br] (preto), Fluconazol (vermelho) e LI + Fluconazol (verde) no modo negativo.

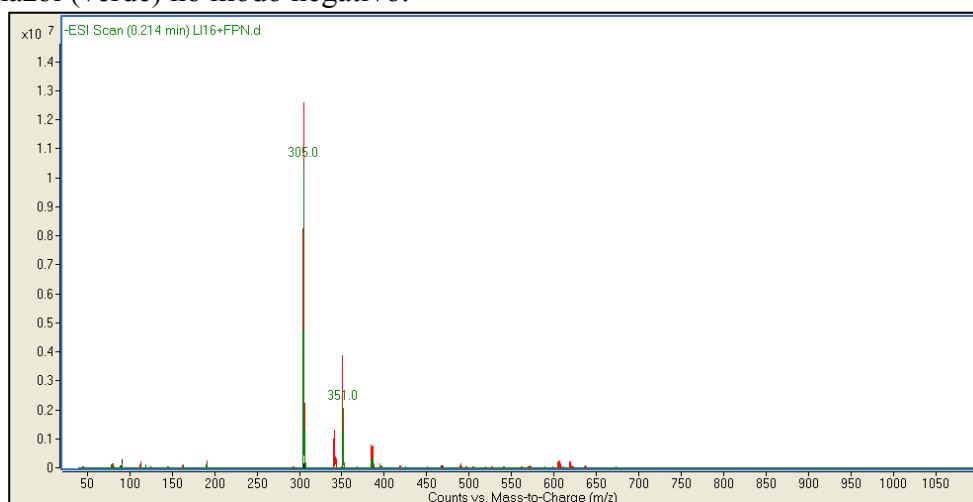


Figura H7 – Sobreposição do espectro de LI C₁₆MIM[Br] (preto), TCM (vermelho) e LI + TCM (verde) no modo positivo.

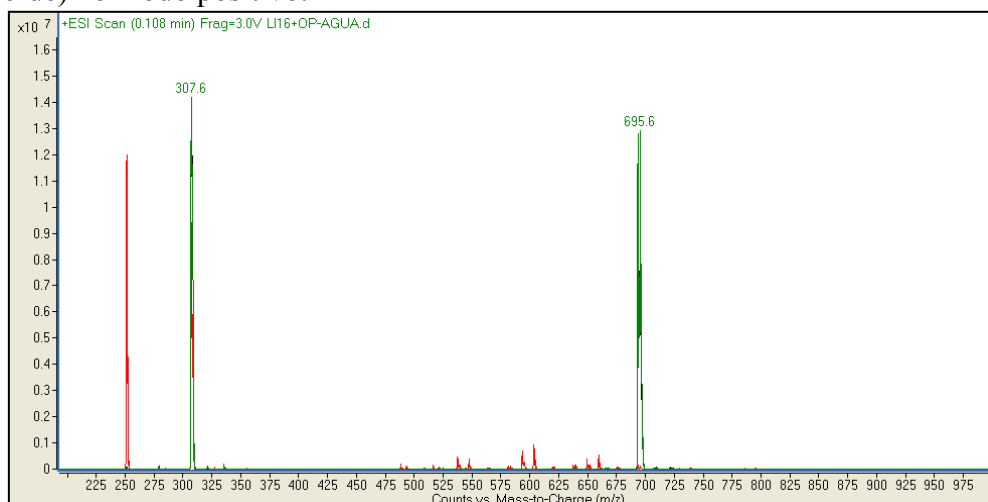
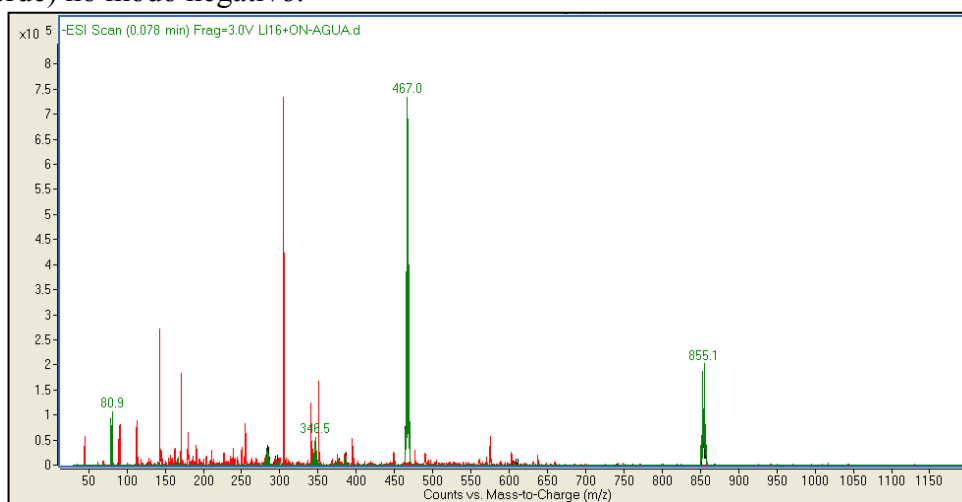


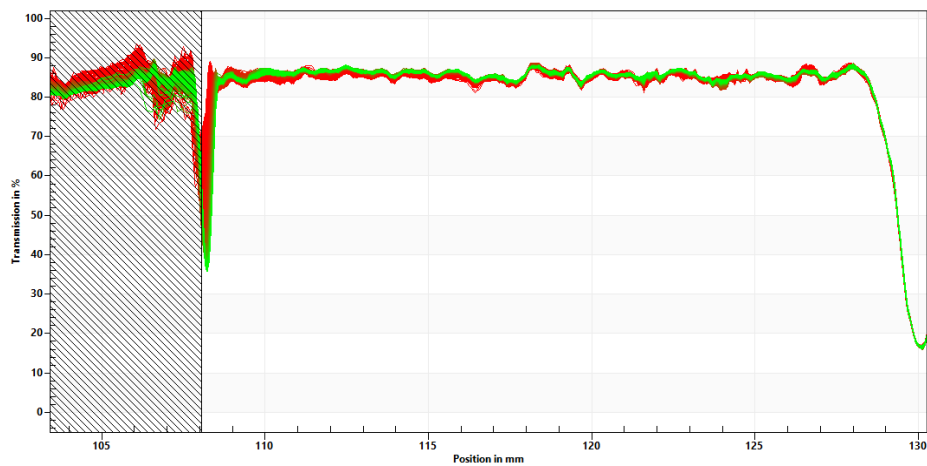
Figura H8 – Sobreposição do espectro de LI C₁₆MIM[Br] (preto), TCM (vermelho) e LI + TCM (verde) no modo negativo.



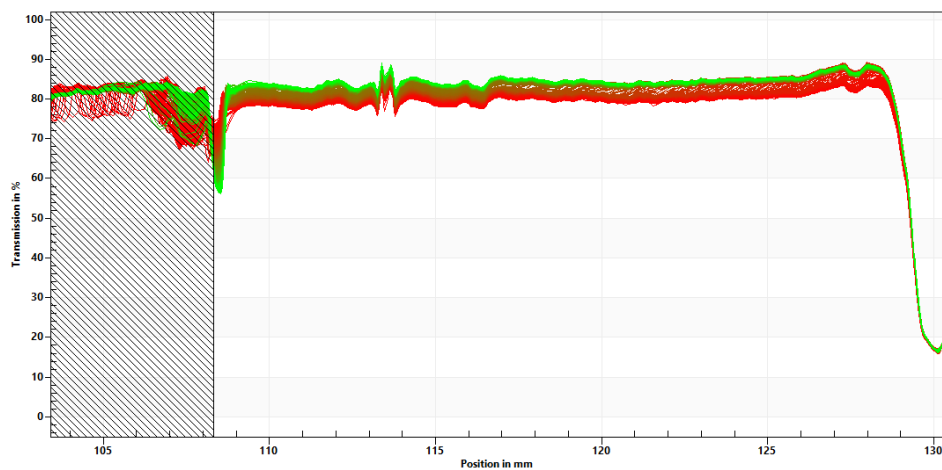
APÊNDICE I – PERFIL DE TRANSMISSÃO E CINÉTICA DE ESTABILIDADE DAS EMULSÕES

Figura II – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 1,5 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

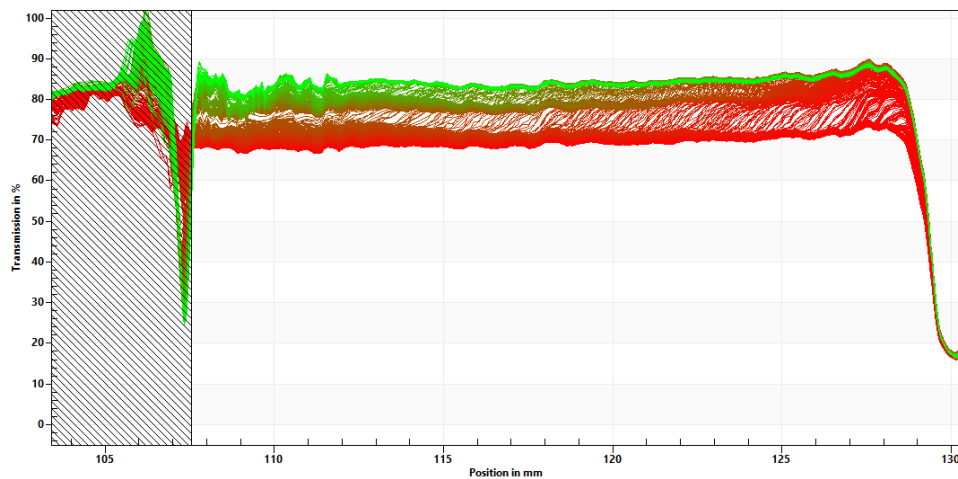
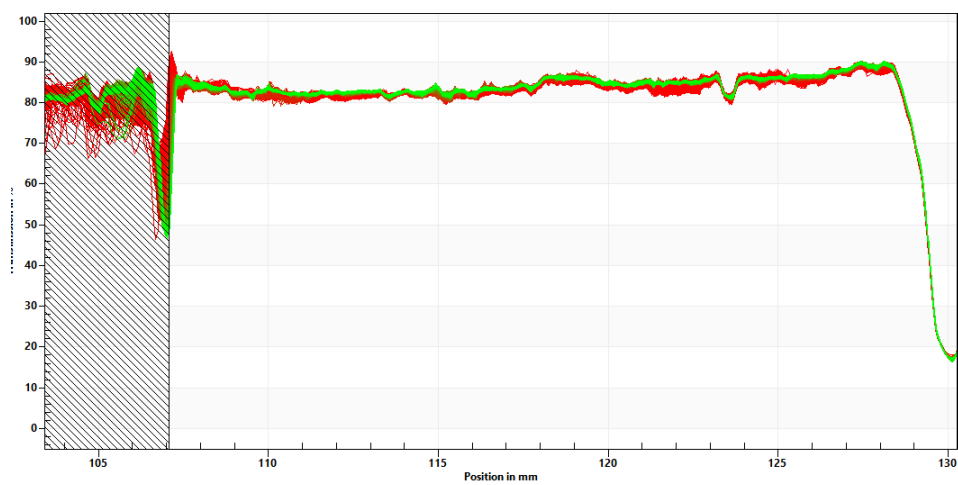
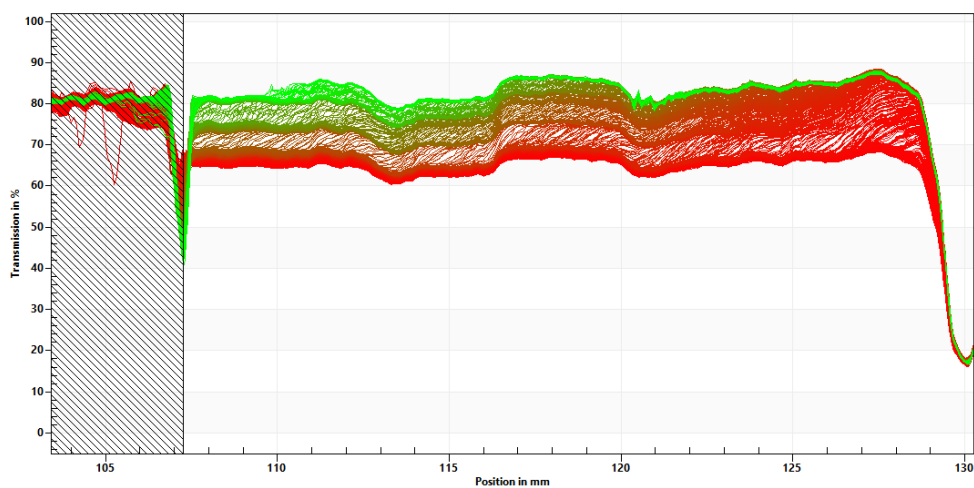


Figura II – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 2,4 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

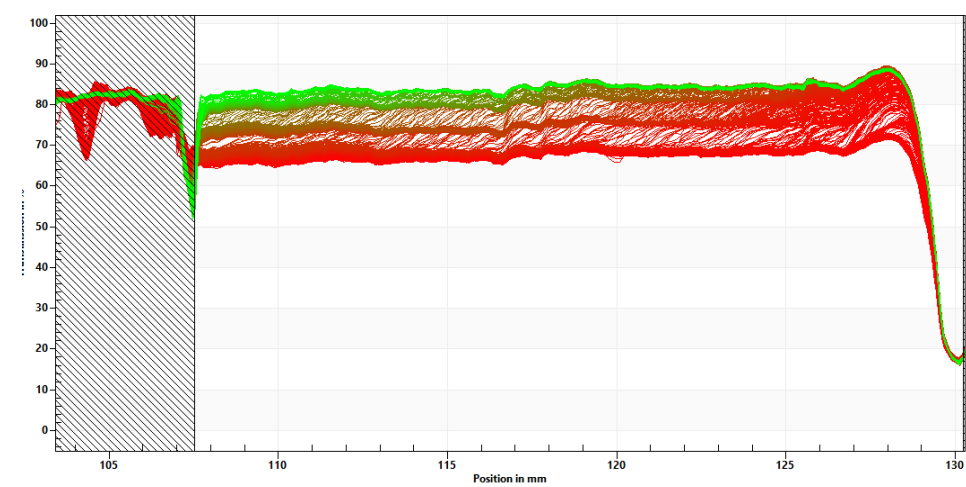
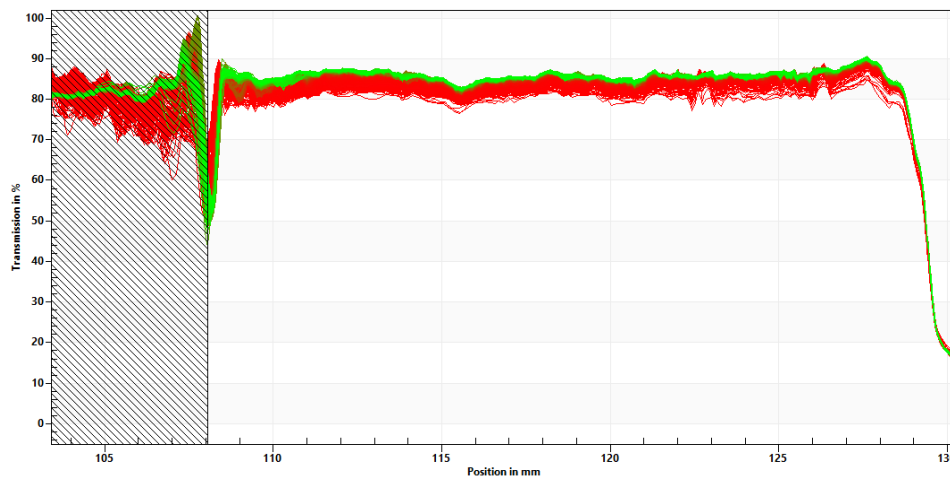
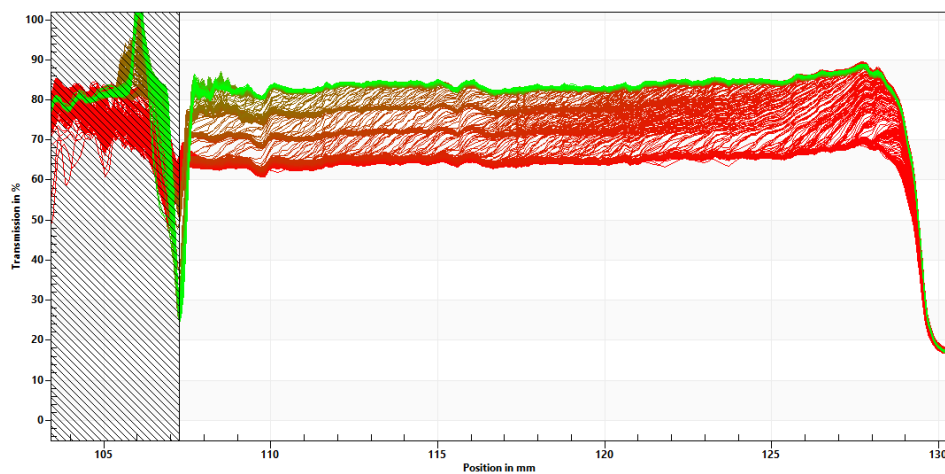


Figura I3 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 3,6 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

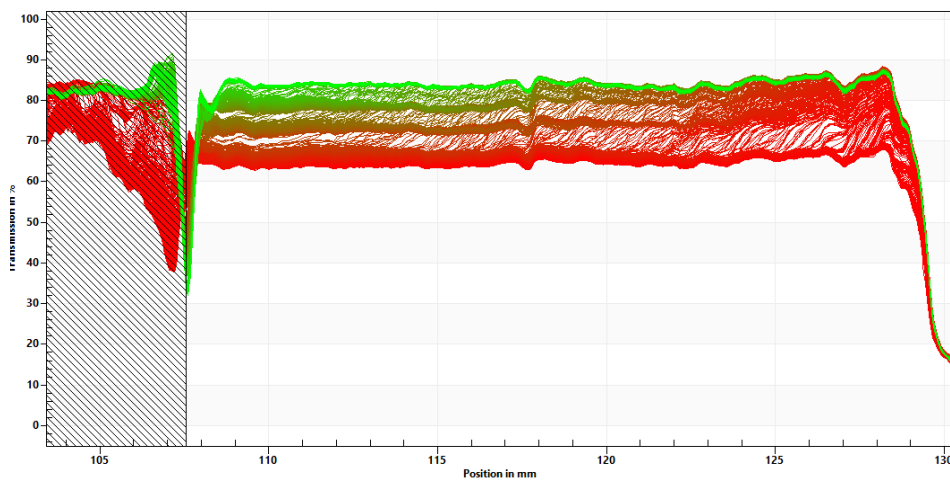
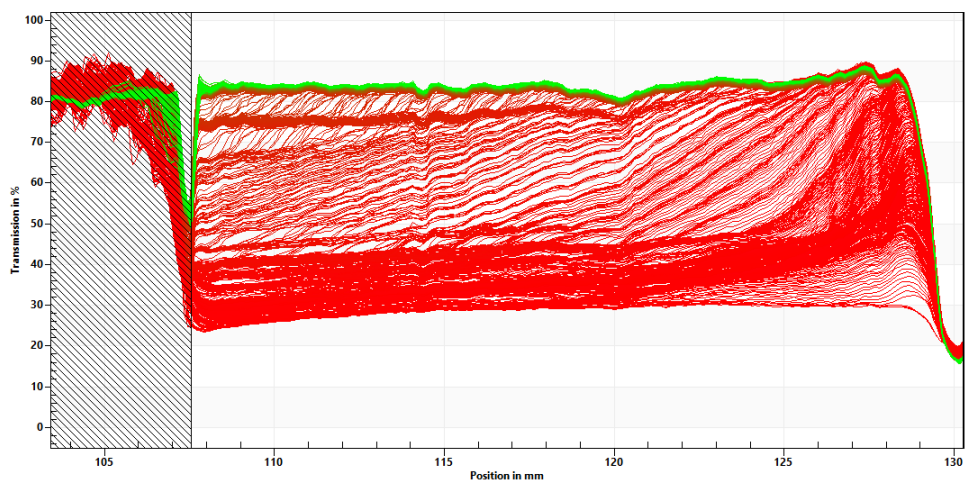
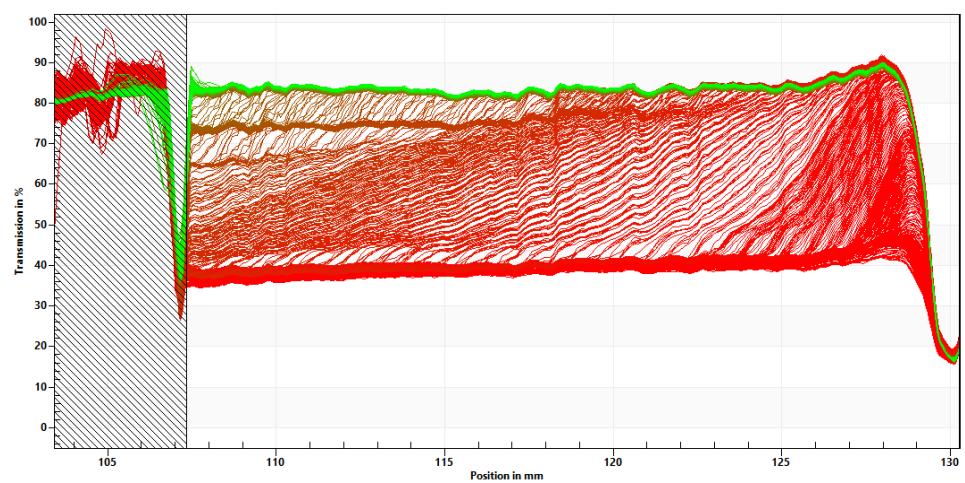


Figura I4 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 1,3 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

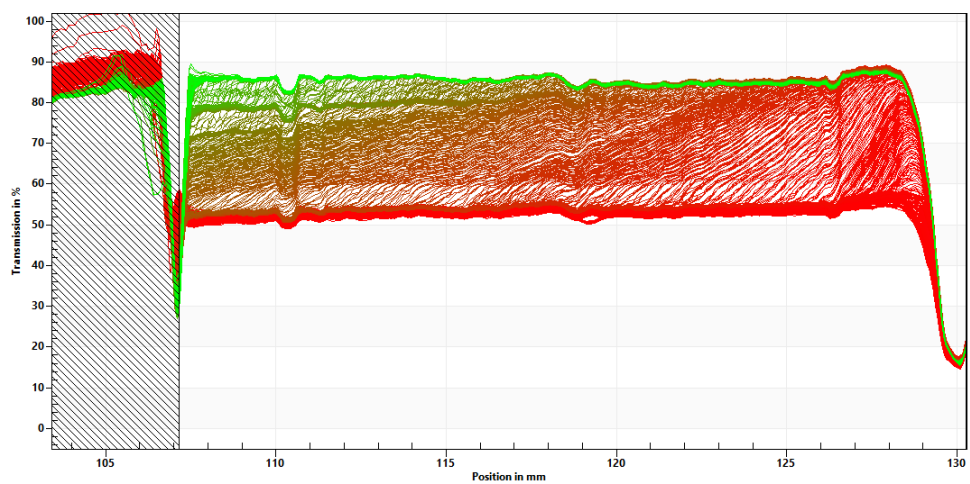
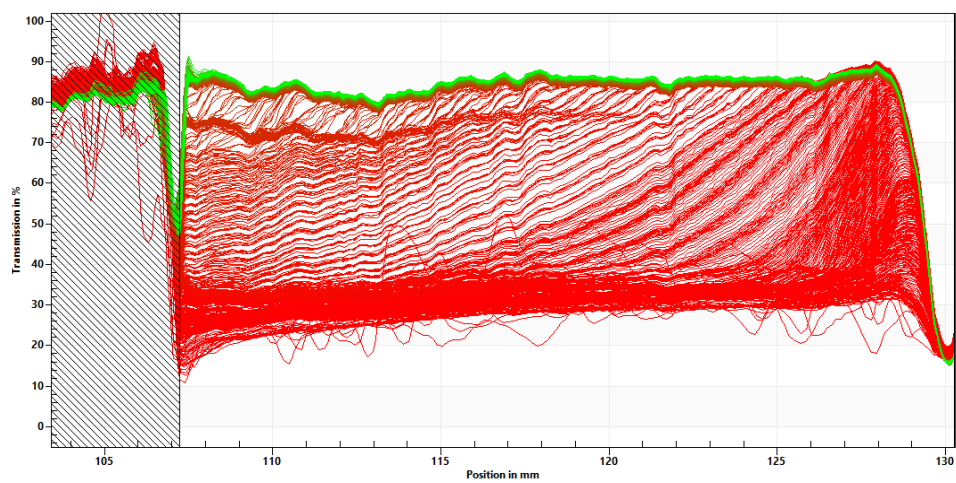
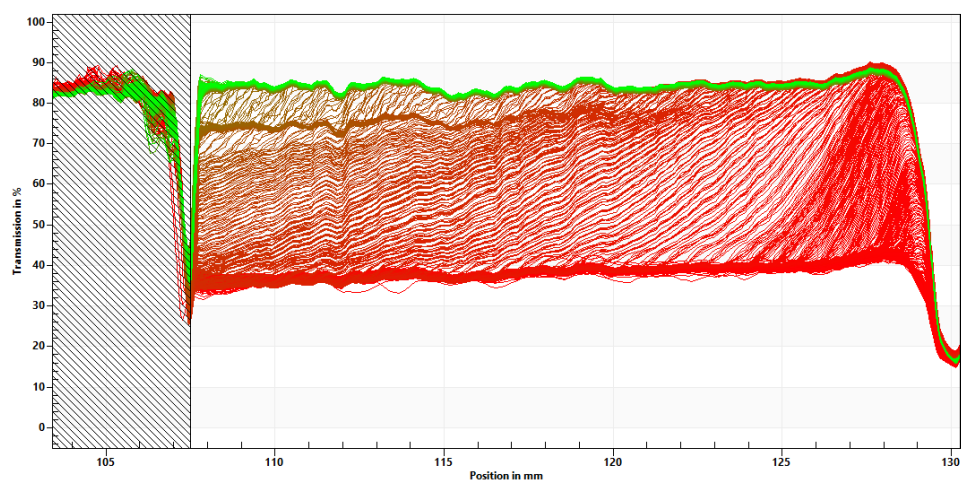


Figura I5 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 2,06 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

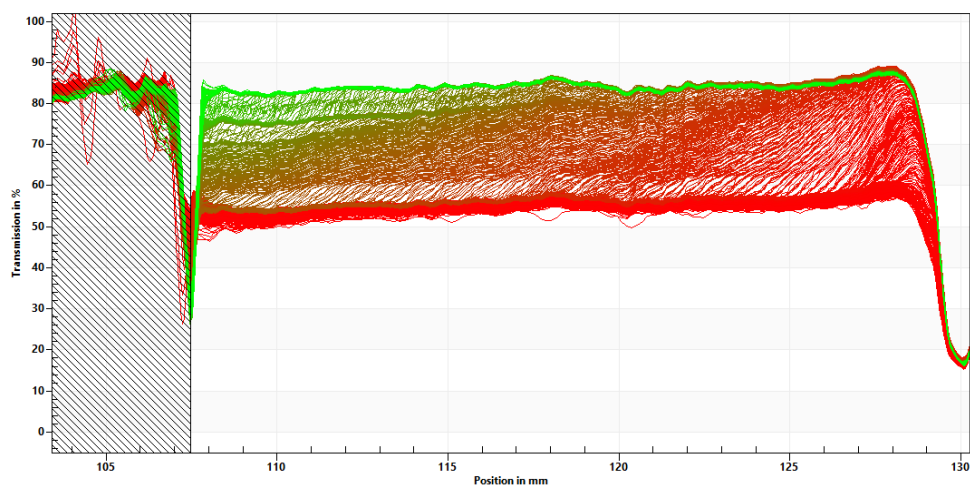
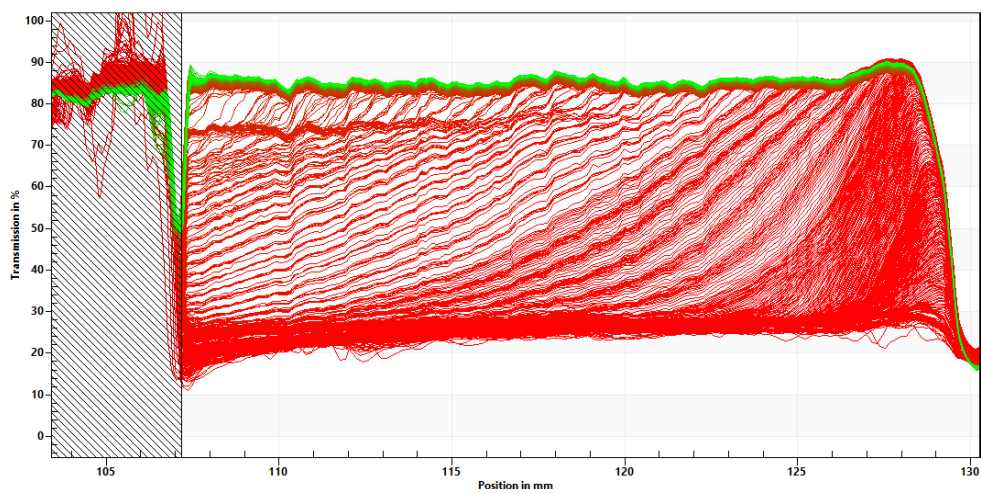
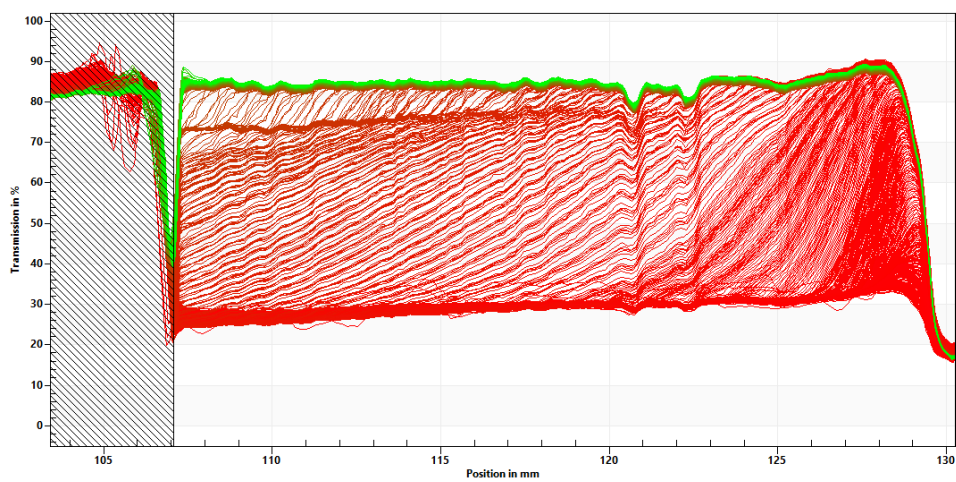


Figura I6 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 25 °C das emulsões com 3,4 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

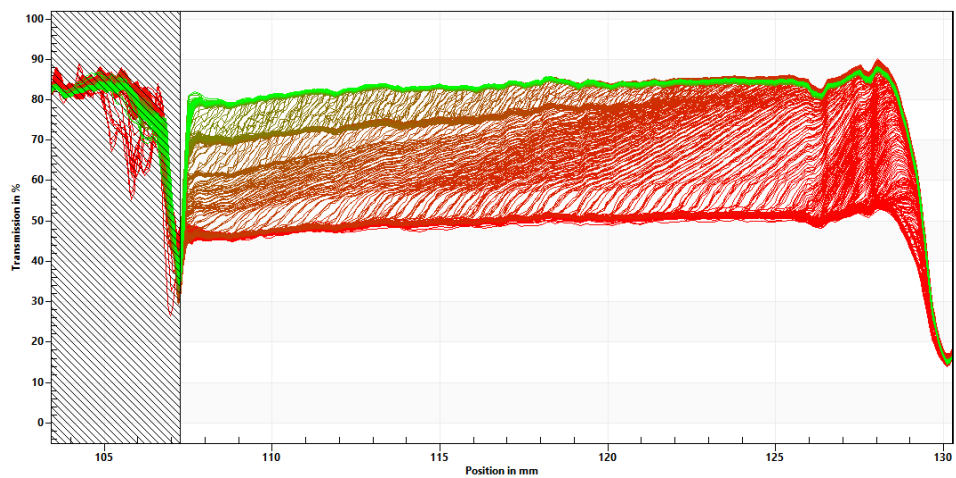
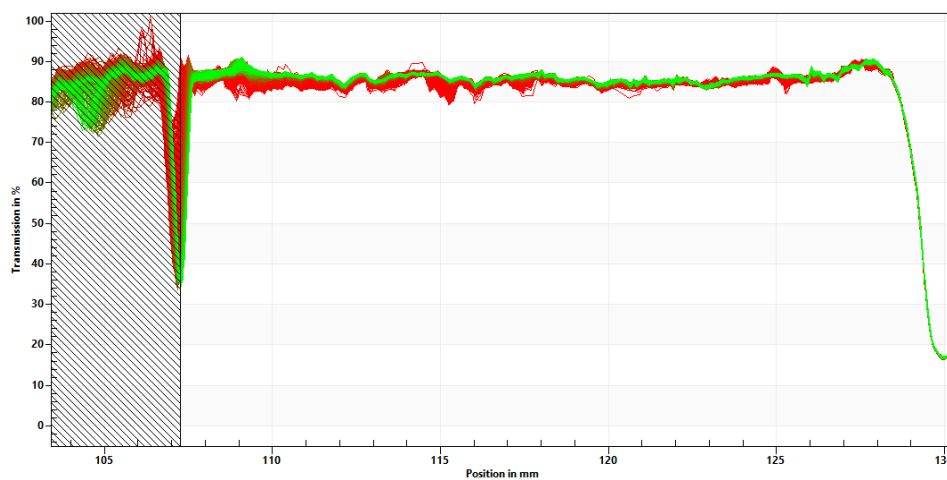
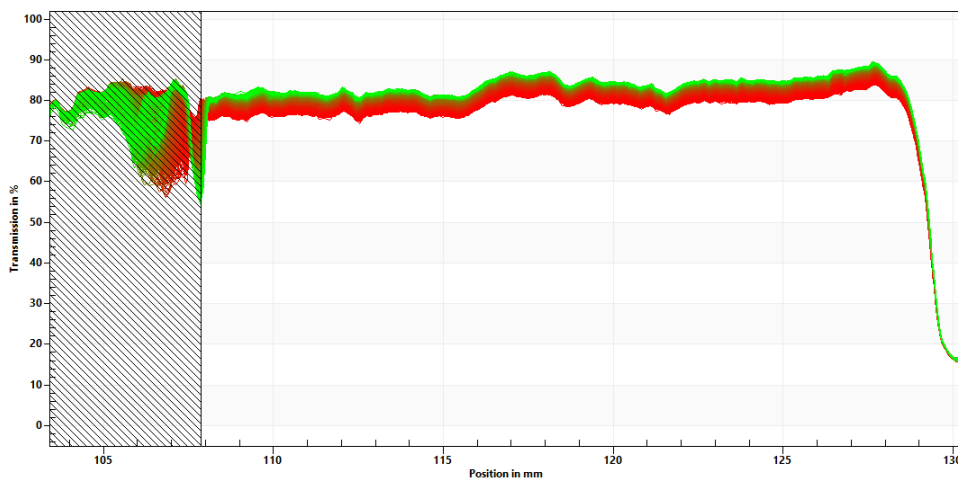


Figura I7 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 37 °C das emulsões com 1,5 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

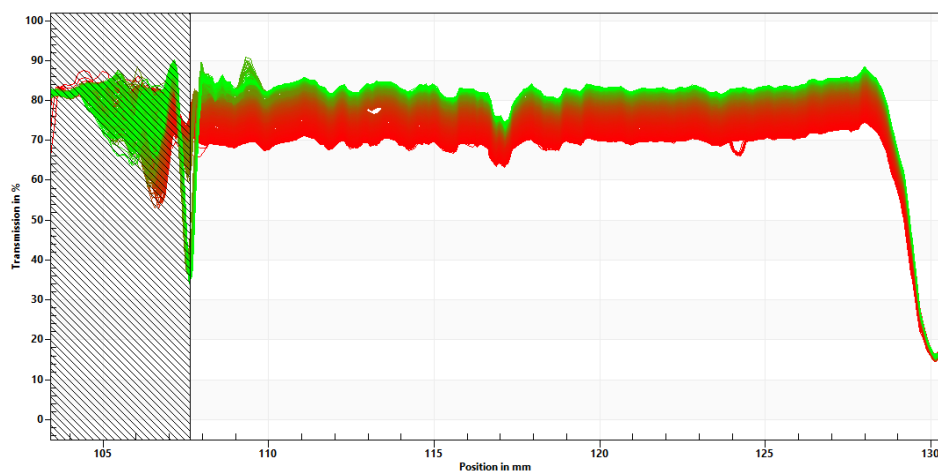
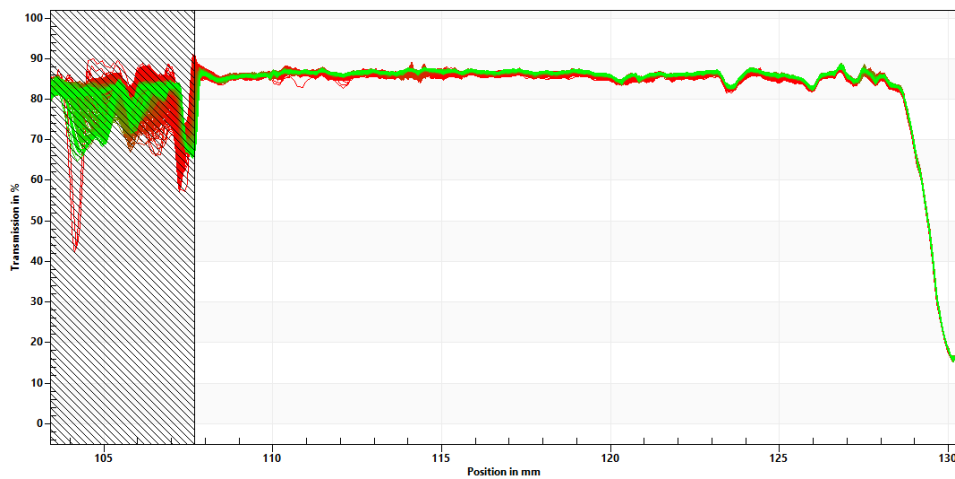
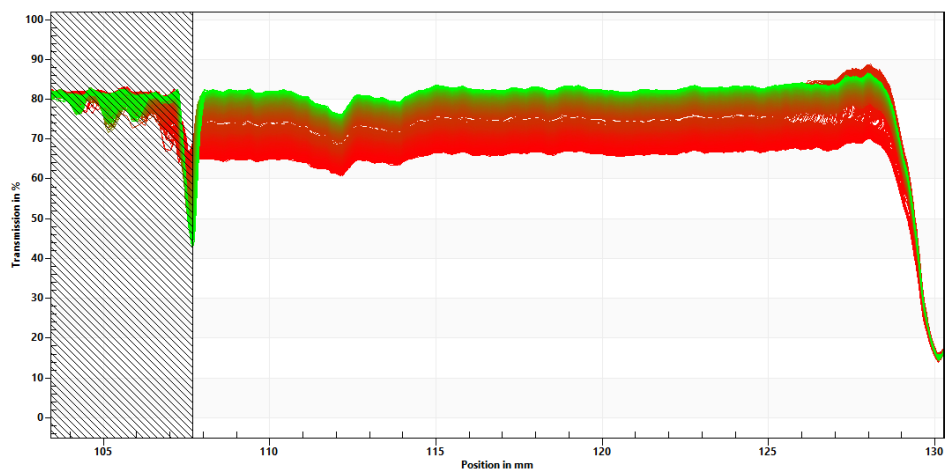


Figura I8 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 37 °C das emulsões com 2,4 mM de LI C₁₂MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

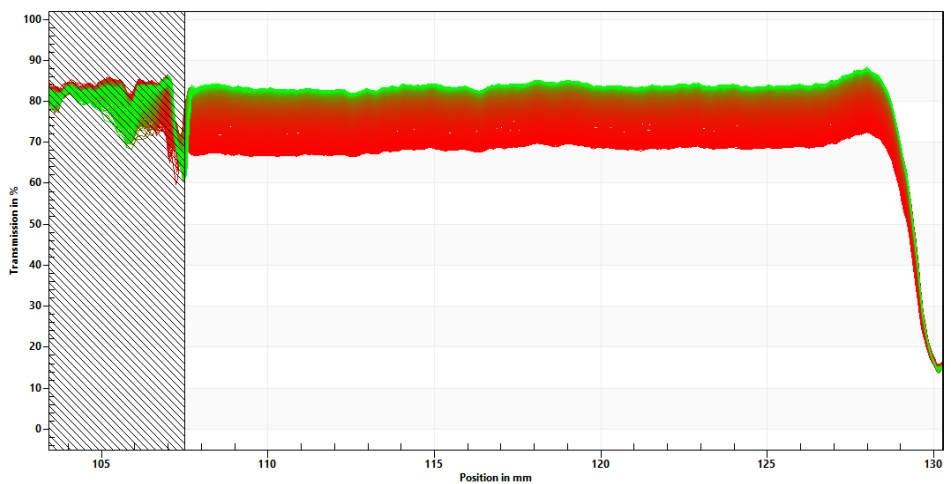
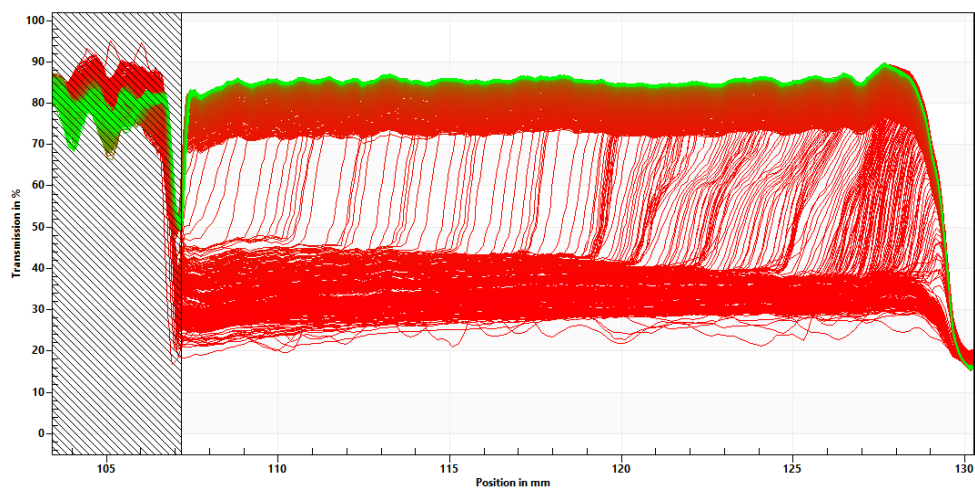
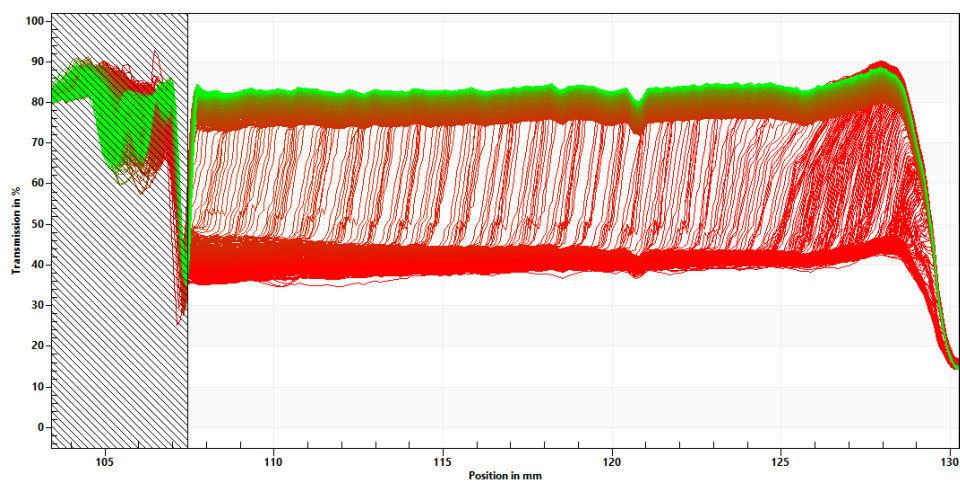


Figura I9 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 37 °C das emulsões com 2,06 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

a)



b)



c)

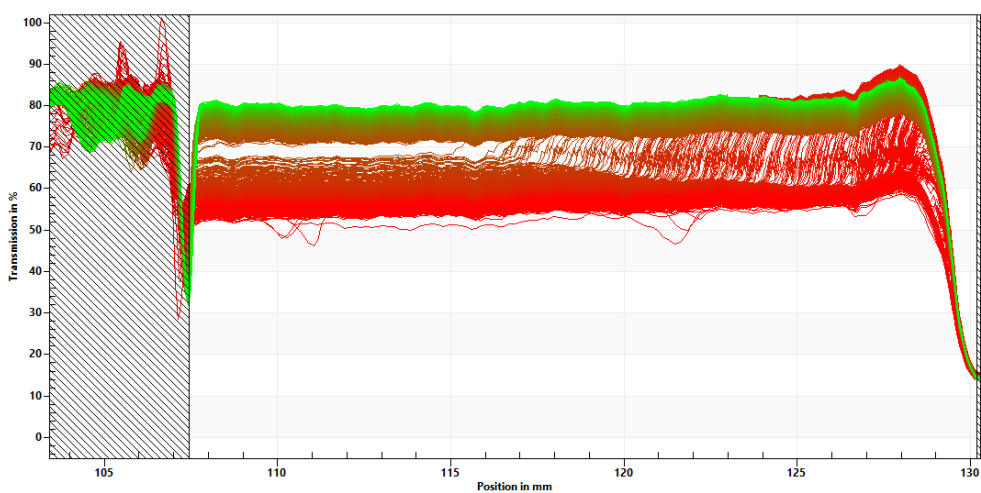
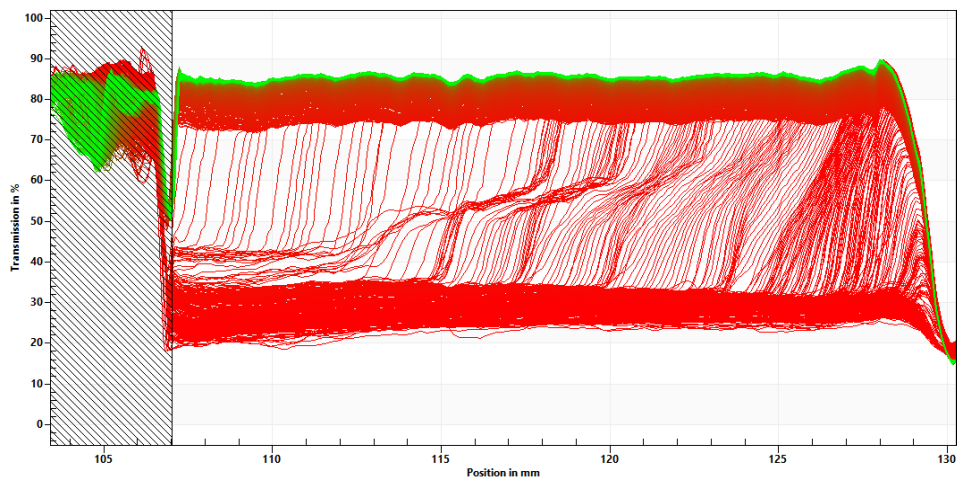
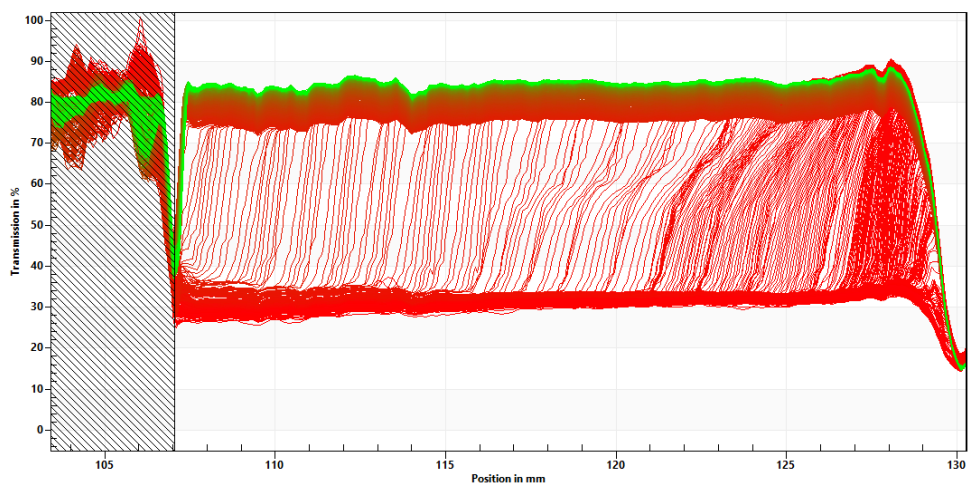


Figura I10 – Perfil de transmissão em função da posição na cubeta a 37 °C das emulsões com 3,4 mM de LI C₁₆MIM[Br] preparadas por (a) AM; (b) US 20%; (c) US 40%;

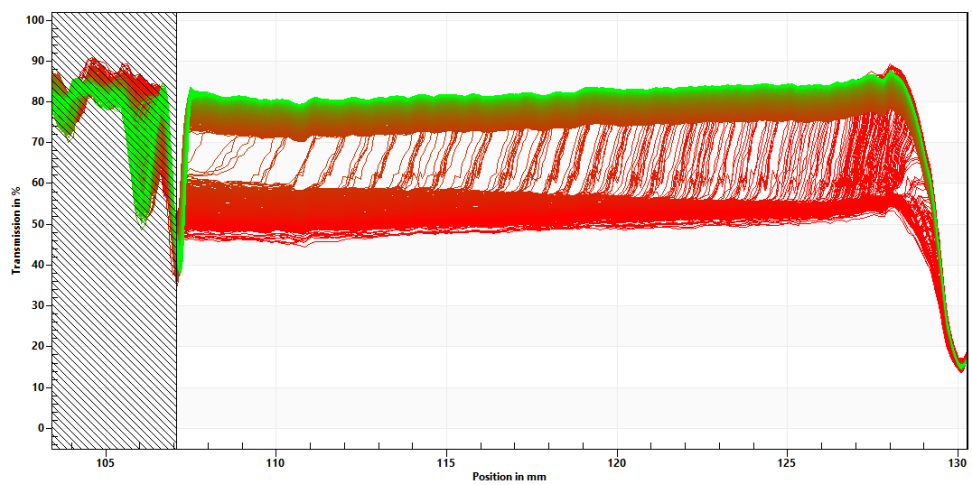
a)



b)



c)



APÊNDICE J – PERMISSÕES DAS IMAGENS ADAPTADAS NA TESE

4/30/2021

RightsLink Printable License

ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Apr 30, 2021

This Agreement between Dr. Bruno Hennemann ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

| | |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| License Number | 5058990192126 |
| License date | Apr 30, 2021 |
| Licensed Content Publisher | Elsevier |
| Licensed Content Publication | Ultrasonics Sonochemistry |
| Licensed Content Title | Emulsification by ultrasound: drop size distribution and stability |
| Licensed Content Author | B Abismail,J.P Canselier,A.M Wilhelm,H Delmas,C Gourdon |
| Licensed Content Date | Mar 1, 1999 |
| Licensed Content Volume | 6 |
| Licensed Content Issue | 1-2 |
| Licensed Content Pages | 9 |
| Start Page | 75 |
| End Page | 83 |

<https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet>

1/8

**ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Apr 30, 2021

This Agreement between Dr. Bruno Hennemann ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number 5059000898208

License date Apr 30, 2021

Licensed Content
Publisher Elsevier

Licensed Content
Publication International Journal of Pharmaceutics

Licensed Content Title Ionic liquids as ingredients in topical drug delivery systems

Licensed Content Author Dorota Dobler,Thomas Schmidts,Ines Klingenhöfer,Frank Runkel

Licensed Content Date Jan 30, 2013

Licensed Content Volume 441

Licensed Content Issue 1-2

Licensed Content Pages 8

Start Page 620

End Page 627

| | |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Type of Use | reuse in a thesis/dissertation |
| Portion | figures/tables/illustrations |
| Number of figures/tables/illustrations | 8 |
| Format | both print and electronic |
| Are you the author of this Elsevier article? | No |
| Will you be translating? | Yes, including English rights |
| Number of languages | 1 |
| Title | EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS N-ALQUIL-N-METIL-IMIDAZOLÍNEOS |
| Institution name | Universidade Federal de Santa Maria |
| Expected presentation date | May 2021 |
| Portions | Figura 14, Figura 15, Figura 16, Figura 17, Figura 18, Figura 19 |
| Specific Languages | Português |
| Requestor Location | Dr. Bruno Hennemann Rua Santa Piccini, 847 Santa Maria, Rio Grande do Sul 97105360 Brazil Attn: Universidade federal de Santa Maria |
| Publisher Tax ID | GB 494 6272 12 |
| Total | 0.00 USD |

| | |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Type of Use | reuse in a thesis/dissertation |
| Portion | figures/tables/illustrations |
| Number of figures/tables/illustrations | 10 |
| Format | both print and electronic |
| Are you the author of this Elsevier article? | No |
| Will you be translating? | Yes, including English rights |
| Number of languages | 1 |
| Title | EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS N-ALQUIL-N-METIL-IMIDAZOLÍNEOS |
| Institution name | Universidade Federal de Santa Maria |
| Expected presentation date | May 2021 |
| Portions | Figura 24, Figura 25, Figura 26, Figura 27, Figura 28, Figura 29, |
| Specific Languages | Português |
| Requestor Location | Dr. Bruno Hennemann Rua Santa Piccini, 847 Santa Maria, Rio Grande do Sul 97105360 Brazil Attn: Universidade federal de Santa Maria |
| Publisher Tax ID | GB 494 6272 12 |
| Total | 0.00 USD |

**JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Apr 30, 2021

This Agreement between Dr. Bruno Hennemann ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License
Number 5059001280937

License date Apr 30, 2021

Licensed
Content John Wiley and Sons
Publisher

Licensed
Content ChemPhysChem
Publication

Licensed
Content Title Ion-Responsive Behavior of Ionic-Liquid Surfactant Aggregates with
Applications in Controlled Release and Emulsification

Licensed
Content Li Niu, Fuyu Yuan, Guifu Yang, et al
Author

Licensed
Content Date Oct 17, 2008

Licensed
Content 9
Volume

Licensed
Content 15
Issue

Licensed
Content 5
Pages

Type of use Dissertation/Thesis

Requestor
type University/Academic

Format Print and electronic

Portion Figure/table

Number of
figures/tables 6

Will you be
translating? Yes, including English rights

Number of
languages 1

Title EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO
FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS N-ALQUIL-N-METIL-
IMIDAZOLÍNEOS

Institution
name Universidade Federal de Santa Maria

Expected
presentation
date May 2021

Portions Figura 30, Figura 31, Figura 32, Figura 33, Figura 34,

Specific
Languages Português

Requestor Dr. Bruno Hennemann
Location Rua Santa Piccini, 847

ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Apr 30, 2021

This Agreement between Dr. Bruno Hennemann ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

| | |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| License Number | 5059010724883 |
| License date | Apr 30, 2021 |
| Licensed Content Publisher | Elsevier |
| Licensed Content Publication | Journal of Colloid and Interface Science |
| Licensed Content Title | Lyotropic liquid crystalline phases formed in ternary mixtures of 1-cetyl-3-methylimidazolium bromide/p-xylene/water: A SAXS, POM, and rheology study |
| Licensed Content Author | Jin Zhang,Bin Dong,Liqiang Zheng,Na Li,Xinwei Li |
| Licensed Content Date | 1 May 2008 |
| Licensed Content Volume | 321 |
| Licensed Content Issue | 1 |
| Licensed Content Pages | 7 |
| Start Page | 159 |
| End Page | 165 |

| | |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Type of Use | reuse in a thesis/dissertation |
| Portion | figures/tables/illustrations |
| Number of figures/tables/illustrations | 4 |
| Format | both print and electronic |
| Are you the author of this Elsevier article? | No |
| Will you be translating? | Yes, including English rights |
| Number of languages | 1 |
| Title | EFEITOS DO ULTRASSOM NA PREPARAÇÃO DE EMULSÕES DO FLUCONAZOL USANDO LÍQUIDOS IÔNICOS N-ALQUIL-N-METIL-IMIDAZOLÍNEOS |
| Institution name | Universidade Federal de Santa Maria |
| Expected presentation date | May 2021 |
| Portions | Figura 35, Figura 36, Figura 37, Figura 38 |
| Specific Languages | Português |
| Requestor Location | Dr. Bruno Hennemann Rua Santa Piccini, 847 Santa Maria, Rio Grande do Sul 97105360 Brazil Attn: Universidade federal de Santa Maria |
| Publisher Tax ID | GB 494 6272 12 |



Organic Solvents Induce the Formation of Oil-in-Ionic Liquid Microemulsion Aggregations

Author: Yanan Gao, Na Li, Shaohua Zhang, et al

Publication: The Journal of Physical Chemistry B

Publisher: American Chemical Society

Date: Feb 1, 2009

Copyright © 2009, American Chemical Society

PERMISSION/LICENSE IS GRANTED FOR YOUR ORDER AT NO CHARGE

This type of permission/license, instead of the standard Terms & Conditions, is sent to you because no fee is being charged for your order. Please note the following:

- Permission is granted for your request in both print and electronic formats, and translations.
 - If figures and/or tables were requested, they may be adapted or used in part.
 - Please print this page for your records and send a copy of it to your publisher/graduate school.
 - Appropriate credit for the requested material should be given as follows: "Reprinted (adapted) with permission from (COMPLETE REFERENCE CITATION). Copyright (YEAR) American Chemical Society." Insert appropriate information in place of the capitalized words.
 - One-time permission is granted only for the use specified in your request. No additional uses are granted (such as derivative works or other editions). For any other uses, please submit a new request.
- If credit is given to another source for the material you requested, permission must be obtained from that source.

[BACK](#)

[CLOSE WINDOW](#)