



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Fernando Bonin Okasaki**

**O impacto da formação de micelas gigantes no aumento de solubilidade  
do anestésico Propofol em meio aquoso**

**The impact of the formation of wormlike micelles on the increase in  
solubility of the anesthetic Propofol in aqueous media**

**CAMPINAS  
2022**

**Fernando Bonin Okasaki**

**O impacto da formação de micelas gigantes no aumento de solubilidade do anestésico Propofol em meio aquoso.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Química na área de Físico-Química.

**Orientador: Prof. Dr. Edvaldo Sabadini**

**O arquivo digital corresponde à versão final da Dissertação defendida pelo aluno Fernando Bonin Okasaki e orientada pelo Prof. Dr. Edvaldo Sabadini.**

**CAMPINAS  
2022**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Química  
Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

Ok1i Okasaki, Fernando Bonin, 1996-  
O impacto da formação de micelas gigantes no aumento de solubilidade do anestésico Propofol em meio aquoso / Fernando Bonin Okasaki. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Edvaldo Sabadini.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Propofol. 2. Solubilidade. 3. Micelas gigantes. I. Sabadini, Edvaldo, 1962-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** The impact of the formation of wormlike micelles on the increase in solubility of the anesthetic Propofol in aqueous media

**Palavras-chave em inglês:**

Propofol

Solubility

Giant micelles

**Área de concentração:** Físico-Química

**Titulação:** Mestre em Química na área de Físico-Química

**Banca examinadora:**

Edvaldo Sabadini [Orientador]

Watson Loh

Laura de Oliveira Nascimento

**Data de defesa:** 09-02-2022

**Programa de Pós-Graduação:** Química

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-6335-1882>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/4588864160471190>

## **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Edvaldo Sabadini (Orientador)

Prof. Dr. Watson Loh (IQ - Unicamp)

Profa. Dra. Laura de Oliveira Nascimento (FCF - Unicamp)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pelo aluno **Fernando Bonin Okasaki**, aprovada pela Comissão Julgadora em 9 de fevereiro de 2022.

## **Agradecimentos**

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais por todo o apoio e as oportunidades que me propiciaram, além de me acompanharem e torcerem a cada novo passo que dou, sem eles, nada teria conquistado.

Agradeço a Vanessa por ter me dado todo apoio do mundo desde o momento em que decidi fazer o mestrado além de fazer parte da minha vida e me dar tantos motivos para sorrir até nos dias mais difíceis.

Agradeço meus amigos da graduação e do colégio por toda amizade e companheirismo que me proporcionam já há anos. Graças a vocês sei que nunca estarei sozinho em qualquer desafio que for enfrentar.

Agradeço aos amigos e colegas do GCS e do laboratório B – 145 por toda ajuda científica (que não foi pouca) na construção do meu trabalho e também pela amizade e companhia no laboratório, cafés, pastéis e afins. Um agradecimento extra ao Dr. Luís Duarte por ter possibilitado todo o desenvolvimento da parte de espectroscopia que enriqueceu muito este trabalho além das inúmeras discussões e explicações sobre fluorescência.

Agradeço ao Professor Edvaldo pela sua amizade, por ter me dado a oportunidade de realizar este trabalho e acreditar no projeto e em mim durante todo percurso. Sem o ter como referência, este trabalho não existiria.

Agradeço ao IQ – Unicamp pelo acesso as instalações e todo o suporte técnico e burocrático.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*“O sentido da vida, é o que você quiser que ele seja. Nós somos o universo  
contemplando a si mesmo”*

*Stephen Hawking*

## Resumo

O fármaco propofol é um importante anestésico de rápida e curta ação utilizado na indução e na manutenção de anestesia geral sem a necessidade da administração conjunta de outros fármacos. Atualmente sua administração clínica é realizada através do medicamento Diprivan® na forma de uma emulsão. A administração do propofol através das emulsões lipídicas possui limitações e adversidades, gerando incentivo na busca por formulações aquosas para suas aplicações na área clínica, entretanto, a baixa solubilidade em água do propofol é o principal obstáculo para o desenvolvimento desses novos tipos de formulação.

A utilização de surfactantes para aumentar a solubilidade de compostos hidrofóbicos em meio aquoso é vastamente reportada na literatura, dessa forma, a utilização de veículos micelares pode ser uma alternativa aos obstáculos no desenvolvimento de formulações aquosas de propofol. A literatura também mostra que a associação de compostos aromáticos, como os fenóis, com surfactantes catiônicos é capaz de promover a formação de micelas gigantes. A estrutura molecular do propofol o torna um bom candidato para promover a formação desses agregados alongados.

Neste trabalho, investigou-se o impacto da morfologia dos agregados micelares, esférico ou alongado, no aumento de solubilidade do propofol em sistemas onde o fármaco foi combinado com surfactantes catiônicos, aniônicos, não – iônicos e zwitteriônicos. Também se averiguou a formação de agregados micelares alongados em sistemas contendo fospropofol, um pró – fármaco do propofol. Os sistemas estudados foram caracterizados por reologia, calorimetria, condutimetria e fluorescência.

Foi possível constatar que a morfologia micelar alongada é responsável por promover um maior aumento na solubilidade do propofol em meio aquoso em comparação com a morfologia esférica. O maior aumento provavelmente está associado a diferente distribuição das moléculas do fármaco na estrutura micelar, onde nas micelas alongadas as moléculas de propofol estão orientadas na interface do agregado enquanto que em sistemas de micelas esféricas, as moléculas de propofol concentram-se no core hidrofóbico micelar.

## Abstract

The drug propofol is an important anesthetic of rapid and short action, used in both induction and maintenance of general anesthesia without the need of joint administration of other drugs. Currently, its clinical administration is made through the medicine Diprivan® in the form of an emulsion. The administration of propofol through lipidic emulsions has limitations and drawbacks, generating incentive to the search of aqueous formulations for its clinical applications, however, propofol's low water solubility is the main obstacle for the development of these new types of formulations.

The utilization of surfactants to enhance the solubility in water of hydrophobic compounds is vastly reported in the literature, in that way, the utilization of micellar vehicles could be an alternative to the obstacles at the development of aqueous formulations of propofol. Literature also shows that the association of aromatic compounds, like phenols, with cationic surfactants is able to promote the formation of wormlike micelles. Propofol's molecular structure makes it a good candidate to promote the formation of these elongated aggregates.

In this work, the impact of the micellar morphology, spherical or elongated, in propofol's solubility enhancement was investigated in systems where the drug was combined with cationic, anionic, non – ionic and zwitterionic surfactants. The formation of elongated micellar aggregates with fospropofol, a propofol prodrug, was also verified. Systems were characterized through rheology, calorimetry, conductimetry and fluorescence.

It was found that the elongated micellar morphology is responsible to promote a higher enhancement in propofol's aqueous solubility in comparison with the spherical micellar morphology. The higher enhancement is probably related to the distinct distribution of the drug molecules in the micellar structure, where in elongated micelles the molecules of propofol are oriented at the interface of the aggregate, while in spherical micelles' systems, the molecules of propofol concentrate in the hydrophobic micellar core.

## Lista de Ilustrações

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. a) Molécula de propofol. b) Molécula de Cremophor® EL, x,y e z representam o número de segmentos etoxilados, sendo $x + y + z = 35$ .....                                                                                                                                                                                                                                    | 14 |
| Figura 2. Estrutura do fospropofol e seus metabolitos após ação da enzima fosfatase alcalina. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 17 |
| Figura 3. Representação da estrutura de um surfactante e seus segmentos quando solubilizados em água. ....                                                                                                                                                                                                                                                                             | 17 |
| Figura 4. Representação da orientação dos surfactantes em uma interface água – ar. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 18 |
| Figura 5. Representação das espécies do sistema quando a concentração de surfactante atinge a CMC.....                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 19 |
| Figura 6. Representação gráfica dos elementos que compõe o CPP. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 20 |
| Figura 7. Valores de CPP e morfologias micelares relacionadas. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 21 |
| Figura 8. Representação esquemática da mudança de morfologia micelar a partir da adição de NaSal em um sistema com CTAB. ....                                                                                                                                                                                                                                                          | 22 |
| Figura 9. Diagrama das morfologias dos agregados micelares em função da fração volumétrica e da razão da concentração da espécie aromática pela concentração de surfactante catiônico. Adaptado da referência 33. ....                                                                                                                                                                 | 23 |
| Figura 10. Representação do desmanchamento das micelas poliméricas carregadas com propofol após sua entrada na corrente sanguínea, liberando propofol. Adaptado da referência 40.....                                                                                                                                                                                                  | 26 |
| Figura 11. Diagramas de fases contendo as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos na temperatura de 25°C, para soluções contendo diferentes concentrações de DTAB, TTAB e CTAB. A linhas foram traçadas para facilitar a visualização das tendências.....                                                                                                     | 32 |
| Figura 12. Diagramas de fases contendo as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos na temperatura de 25°C, para soluções contendo diferentes concentrações de surfactantes catiônicos e aniônico. A linhas foram traçadas para facilitar a visualização das tendências. ....                                                                                   | 34 |
| Figura 13. Diagramas de fases contendo as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos na temperatura de 25°C, para soluções contendo diferentes concentrações do surfactante não – iônico Pluronic F-127. ....                                                                                                                                                    | 35 |
| Figura 14. Fotografias de sistemas formados por propofol e os surfactantes catiônicos DTAB, TTAB e CTAB antes e após a inversão dos frascos. ....                                                                                                                                                                                                                                      | 36 |
| Figura 15. Curvas de fluxo de sistemas propofol + surfactante: 100 mmol.L <sup>-1</sup> de propofol + 300 mmol.L <sup>-1</sup> dos surfactantes catiônicos (DTAB, TTAB, CTAB e CTAC), 100 mmol.L <sup>-1</sup> de propofol + 10 mmol.L <sup>-1</sup> de Pluronic F-127 e 80 mmol.L <sup>-1</sup> de propofol + 300 mmol.L <sup>-1</sup> de SDS. A temperatura foi mantida em 25°C..... | 37 |
| Figura 16. Curva como proposto por Rehage – Hoffmann, referente à variação da viscosidade medida no platô newtoniano para sistemas com concentração fixa do surfactante catiônico CpyCl (de 15 mmol.L <sup>-1</sup> ), em função da concentração do ânion aromático NaSal. Adaptado da referência 50.....                                                                              | 38 |
| Figura 17. Curvas relativas à viscosidade no platô newtoniano para sistemas com concentrações crescentes de propofol e concentrações fixas dos surfactantes catiônicos CTAC e CTAB. A temperatura foi mantida em 25°C. ....                                                                                                                                                            | 40 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 18. Representação da inserção do propofol em micelas formadas por CTAB ou CTAC. A quantidade de <i>gaps</i> de dissociação depende do contraíon em cada sistema. ....                                                                                                                                                                                                              | 41 |
| Figura 19. a) Fotografia da separação de fases em sistemas com CTAC e propofol após a centrifugação. b) Fotografia de frascos contendo propofol ou água após a deposição de uma gota da fase turva retirado do sistema em a). c) Observação em microscópio óptico de gota de fase turva do sistema mostrado em a). ....                                                                   | 43 |
| Figura 20. Exemplo de resultado obtido em ensaio oscilatório de amplitude, sistema utilizado: Propofol 50 mmol.L <sup>-1</sup> e CTAB 200 mmol.L <sup>-1</sup> . A região de viscoelasticidade linear corresponde ao intervalo entre 0,1 e 10 Pa. A temperatura foi mantida em 25°C. ....                                                                                                 | 45 |
| Figura 21. Ensaio oscilatório de frequência de sistema de micela gigante composto por 100 mmol.L <sup>-1</sup> de CPyCl e 60 mmol.L <sup>-1</sup> de NaSal. As linhas vermelhas cheias referem-se ao ajuste do modelo de Maxwell. Adaptado da referência 58. ....                                                                                                                         | 45 |
| Figura 22. Ensaio oscilatório de frequência de sistema de micela gigante composto por 70 mmol.L <sup>-1</sup> de propofol e 200 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB. As linhas cheias referem-se ao ajuste do modelo de Maxwell. A temperatura foi mantida em 25°C. ....                                                                                                                         | 47 |
| Figura 23. Gráficos Cole – Cole para diferentes concentrações de propofol (mostradas na legenda em mmol.L <sup>-1</sup> ) com a) 200 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB b) 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB c) 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC. A linha preta cheia refere-se ao ajuste perfeito do modelo de Maxwell, para ser usada como referência. A temperatura foi mantida em 25°C. .... | 48 |
| Figura 24. Representação da estrutura de cadeias de micelas gigantes entrelaçadas e comprimentos característicos. ....                                                                                                                                                                                                                                                                    | 50 |
| Figura 25. Comparação entre os perfis de variação da viscosidade no platô Newtoniano ( $\eta_0$ , curva em vermelho), tempo de relaxação (curva em preto) e os comprimentos de contorno ( <i>LC</i> curva em azul) obtidos em sistemas com propofol e 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB (acima) ou 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC (abaixo). ....                                         | 51 |
| Figura 26. Fotografia de sistemas com concentração fixa de 80 mmol.L <sup>-1</sup> de propofol com 300 mmol.L <sup>-1</sup> dos surfactantes DTAB, TTAB, CTAB e SDS ou com 10 mmol.L <sup>-1</sup> dos surfactante Pluronic F-127. ....                                                                                                                                                   | 54 |
| Figura 27. Espectros eletrônicos de absorção de propofol em diferentes concentrações em a) água e em b) n-hexano. ....                                                                                                                                                                                                                                                                    | 54 |
| Figura 28. Espectros eletrônicos de diferentes concentrações de propofol em 100 mmol.L <sup>-1</sup> de DTAB (acima), TTAB (meio) e CTAB (abaixo). As concentrações de propofol são mostradas na legenda em mmol.L <sup>-1</sup> . ....                                                                                                                                                   | 56 |
| Figura 29. Valores de absorbância obtidos para a banda em 425 nm em função da concentração de surfactante e concentração de propofol nos sistemas investigados. ....                                                                                                                                                                                                                      | 57 |
| Figura 30. a) Espectros de emissão obtidos para sistemas com concentração fixa em 100 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB e variando a concentração de propofol (mostrado acima de cada espectro). b) Intensidade das bandas em 300 nm e 350 nm em função da concentração de propofol. ....                                                                                                      | 58 |
| Figura 31. Espectros de emissão normalizados obtidos para 20 $\mu$ mol.L <sup>-1</sup> nos solventes THF e DMSO. ....                                                                                                                                                                                                                                                                     | 60 |
| Figura 32. Espectros de emissão normalizados obtidos para sistemas contendo 10 mmol.L <sup>-1</sup> de propofol e 100 mmol.L <sup>-1</sup> dos surfactantes SDS, DTAB ou CTAB. ....                                                                                                                                                                                                       | 61 |
| Figura 33. Fatores pré – exponenciais obtidos através da Equação 3 para sistemas contendo diferentes concentrações de propofol em 100 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB. Os símbolos                                                                                                                                                                                                           |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| cheios referem-se as populações relacionadas com a banda em 300 nm, os símbolos vazios referem-se as populações relacionadas com a banda em 350 nm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 61 |
| Figura 34. Variações de entalpia e de condutividade elétrica ao se titular a) Água deionizada com solução 15 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB b) Solução de propofol 0,69 mmol.L <sup>-1</sup> com solução 15 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB c) Água deionizada com solução 20 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC na condutividade e 40 mmol.L <sup>-1</sup> na calorimetria d) Solução de propofol 0,69 mmol.L <sup>-1</sup> com solução 20 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC..... | 64 |
| Figura 35. Valores de cmc obtidos por calorimetria e condutividade (acima) e valores de $\Delta H$ de formação de agregados (abaixo). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 65 |
| Figura 36. Valores do grau de dissociação ( $\alpha$ ) obtidos referentes aos sistemas após a agregação dos surfactantes.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 67 |
| Figura 37. Resultados comparados de calorimetria (pontos pretos) e fluorescência (pontos azuis) para a titulação de solução de propofol 0,69 mmol.L <sup>-1</sup> com soluções de CTAB (acima) ou CTAC (abaixo). ....                                                                                                                                                                                                                                              | 68 |
| Figura 38. Entalpograma obtido na titulação de solução 3 mmol.L <sup>-1</sup> de fospropofol com solução 40 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 69 |
| Figura 39. a) Entalpogramas obtidos na titulação de cela contendo solução 1,5 mmol.L <sup>-1</sup> de fospropofol com solução 3,0 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC em diferentes pHs. b) Entalpogramas obtidos na titulação de cela contendo solução de tampão com solução 3,0 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC preparada no mesmo tampão presente na cela ....                                                                                                            | 70 |
| Figura 40. Fotografias dos sistemas tamponados nos pHs que aparecem acima dos frascos. A concentração de CTAC nos frascos que aparecem a esquerda de cada foto é 0,05 mmol.L <sup>-1</sup> e nos frascos a direita é 0,5 mmol.L <sup>-1</sup> . ....                                                                                                                                                                                                               | 72 |
| Figura 41. Fotografia de sistemas contendo concentração fixa de Mapcho – 14 em 100 mmol.L <sup>-1</sup> e diferentes concentrações de propofol mostradas acima de cada frasco em mmol.L <sup>-1</sup> .....                                                                                                                                                                                                                                                        | 74 |
| Figura 42. Diagrama de fases mostrando as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos em função da concentração dos surfactantes. Também são mostradas a concentração limite de propofol em água (círculo laranja) e as concentrações de propofol presentes na formulação do Diprivan® (linhas tracejadas). ....                                                                                                                              | 75 |
| Figura 43. Curvas de fluxo dos sistemas propofol 102 mmol.L <sup>-1</sup> + 300 mmol.L <sup>-1</sup> de Mapcho – 14 e 100 mmol.L <sup>-1</sup> + 300 mmol.L <sup>-1</sup> de TTAB. A temperatura foi mantida em 25°C.....                                                                                                                                                                                                                                          | 76 |
| Figura 44. Reograma referente ao oscilatório de frequência de sistema propofol 102 mmol.L <sup>-1</sup> + 300 mmol.L <sup>-1</sup> de Mapcho – 14. As linhas cheias são referentes ao ajuste ao modelo de Maxwell. A temperatura foi mantida em 25°C. ....                                                                                                                                                                                                         | 77 |
| Figura 45. Ilustração esquemática do impacto que a morfologia dos agregados micelares possui no aumento de solubilidade do propofol. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 79 |
| Figura A1. Gráficos representando a) Tensão aplicada e b) Deformação resposta do material frente aplicação de tensão com defasagem ou não. $\theta$ é o ângulo de fase. Adaptado da referência 80.....                                                                                                                                                                                                                                                             | 82 |
| Figura A2. Perfis característicos das curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento para materiais 1) Newtonianos 2) Pseudoplásticos 3) Dilatantes. Adaptado da referência 77.....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 83 |
| Figura B1. Representação gráfica de um equipamento de ITC. Figura utilizada da referência 81. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 84 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura B2. Dado bruto obtido na titulação de solução de CTAB em água referente ao entalpograma mostrado na Figura 33b. ....                                                                                                                                                                                             | 86 |
| Figura B3. Representação gráfica do cálculo de $\Delta H$ nos sistemas: a) CTAB + solução de propofol, b) CTAC + água, c) CTAC + solução de propofol, d) CTAC + tampão pH 4,0 (símbolos vazios) e CTAC + fospropofol em tampão pH 4,0 (símbolos cheios). ....                                                           | 88 |
| Figura C1. Diagrama de Jablonski com a representação dos processos fotofísicos que ocorrem ao se emitir luz na região do UV -Vis sobre um sistema como os estudados neste trabalho (absorção, transição não – radioativa e fluorescência). ....                                                                         | 89 |
| Figura S2. Resultados de ensaio oscilatório de frequência para amostras com 200 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB e diferentes concentrações de propofol (indicadas em mmol.L <sup>-1</sup> nas figuras). Os pontos pretos representam o módulo elástico (G') e os pontos vermelhos representam o módulo viscoso (G''). .... | 93 |
| Figura S3. Resultados de ensaio oscilatório de frequência para amostras com 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB e diferentes concentrações de propofol (indicadas em mmol.L <sup>-1</sup> nas figuras). Os pontos pretos representam o módulo elástico (G') e os pontos vermelhos representam o módulo viscoso (G''). .... | 94 |
| Figura S4. Resultados de ensaio oscilatório de frequência para amostras com 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC e diferentes concentrações de propofol (indicadas em mmol.L <sup>-1</sup> nas figuras). Os pontos pretos representam o módulo elástico (G') e os pontos vermelhos representam o módulo viscoso (G''). .... | 95 |
| Figura S5. Espectros de emissão obtidos para sistemas com 200 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB (esquerda) e 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAB (direita). As concentrações de propofol são mostradas nas legendas em mmol.L <sup>-1</sup> . ....                                                                              | 96 |
| Figura S6. Espectros de emissão obtidos para sistemas com 100 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC (esquerda), 200 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC (direita) e 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC (abaixo). As concentrações de propofol são mostradas nas legendas em mmol.L <sup>-1</sup> . ....                                   | 97 |
| Figura S7. Fatores pré – exponenciais obtidos através da Equação 3 para sistemas contendo diferentes concentrações de propofol em 300 mmol.L <sup>-1</sup> de CTAC. Os ajustes foram realizados para a banda em 300 nm (esquerda) e a banda em 350 nm (direita). ....                                                   | 97 |
| Figura S8. Espectros de emissão obtidos de forma a mimetizar os experimentos de ITC. A concentração de propofol é fixa em 0,69 mmol.L <sup>-1</sup> e a concentração dos surfactantes CTAB (esquerda) e CTAC (direita) varia conforme mostrado na legenda em mmol.L <sup>-1</sup> . ....                                | 98 |
| Figura S9. Resultados comparados de calorimetria (pontos pretos) e fluorescência (pontos azuis representando os fatores pré – exponencial referentes a população 1, propofol fora do ambiente micelar) para a titulação de CTAB (acima) ou CTAC (abaixo) em solução de propofol. ....                                   | 99 |

## Sumário

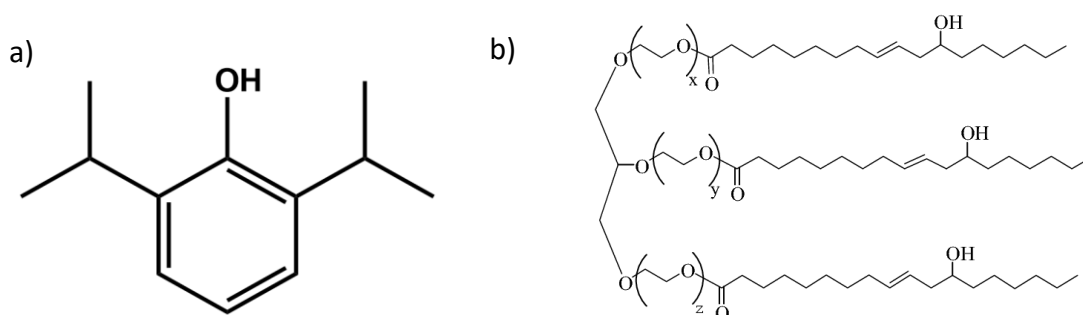
|                                                                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1. Introdução.....                                                                                                                                                      | 14  |
| 1.1 O anestésico Propofol e seus desafios.....                                                                                                                          | 14  |
| 1.2 Surfactantes e micelas gigantes.....                                                                                                                                | 17  |
| 1.3 Micelas como possível veículo para o desenvolvimento de formulações com Propofol em meio aquoso.....                                                                | 24  |
| 2. Motivação e objetivos .....                                                                                                                                          | 26  |
| 2.1 Motivação.....                                                                                                                                                      | 26  |
| 2.2 Objetivos .....                                                                                                                                                     | 27  |
| 3. Materiais e métodos .....                                                                                                                                            | 28  |
| 3.1 Materiais.....                                                                                                                                                      | 28  |
| 3.2 Preparo de amostras.....                                                                                                                                            | 29  |
| 3.3 Experimentos de reologia.....                                                                                                                                       | 29  |
| 3.4 Experimentos de calorimetria de titulação isotérmica .....                                                                                                          | 30  |
| 3.5 Experimentos de condutividade.....                                                                                                                                  | 30  |
| 3.6 Experimentos de espectroscopia UV-Vis e de fluorescência .....                                                                                                      | 30  |
| 4. Sistemas com Propofol .....                                                                                                                                          | 32  |
| 4.1 Regime semi – diluído .....                                                                                                                                         | 32  |
| 4.1.1 Diagramas de fases.....                                                                                                                                           | 32  |
| 4.1.2 Resultados de reologia – Provando a existência das micelas gigantes.....                                                                                          | 35  |
| 4.1.3 Resultados de espectroscopia eletrônica de absorção e de fluorescência – Investigando o impacto da morfologia micelar no aumento de solubilidade do Propofol..... | 53  |
| 4.2 Regime diluído.....                                                                                                                                                 | 63  |
| 4.2.1 Resultados de calorimetria e condutividade – Investigando a região do limite de solubilidade em água do Propofol.....                                             | 63  |
| 5. Sistemas com fospropofol.....                                                                                                                                        | 69  |
| 6. Busca pela biocompatibilidade: Propofol + Mapcho® - 14 .....                                                                                                         | 73  |
| 7. Conclusões e perspectivas.....                                                                                                                                       | 78  |
| 8. Apêndices.....                                                                                                                                                       | 81  |
| A. Fundamentos de reologia .....                                                                                                                                        | 81  |
| B. Fundamentos de calorimetria de titulação isotérmica.....                                                                                                             | 84  |
| C. Fundamentos de espectroscopia eletrônica de absorção e fluorescência.....                                                                                            | 89  |
| 9. Material Suplementar.....                                                                                                                                            | 92  |
| 10. Referências bibliográficas .....                                                                                                                                    | 100 |

## 1. Introdução

### 1.1 O anestésico Propofol e seus desafios.

A palavra “Anestesia” possui origem grega com significado “ausência de sensação”. A ausência de sensações, entre elas a dor, possibilitou grandes avanços na medicina como o advento das intervenções cirúrgicas. Esses avanços instigaram o desenvolvimento da anestesiologia na busca pela compreensão dos mecanismos de ação dos anestésicos no corpo humano, possibilitando a evolução dos anestésicos, que partiu dos rudimentares anestésicos inaláveis, como éter e clorofórmio, até resultar nos anestésicos intravenosos de maior eficácia.

O fármaco 2,6 – diisopropilfenol ou Propofol, cuja estrutura molecular está representada na Figura 1a, é um importante anestésico de rápida ação de administração intravenosa, incluído na lista de medicamentos essenciais da OMS.<sup>1</sup> Sua importância decorre de características como: boa performance na indução e na manutenção de anestesia geral adulta e pediátrica, sem a necessidade da administração conjunta de outros fármacos para seu funcionamento, e a rápida recuperação dos pacientes após sua administração mesmo após longos períodos de anestesia.<sup>2</sup> O propofol ficou mundialmente conhecido após seu uso abusivo indevido causar a parada cardíaca que levou a óbito o cantor Michael Jackson.<sup>3</sup>



**Figura 1.** a) Molécula de propofol. b) Molécula de Cremophor® EL, x,y e z representam o número de segmentos etoxilados, sendo  $x + y + z = 35$ .

A Tabela 1 traz alguns parâmetros físico – químicos do propofol.

**Tabela 1:** Parâmetros físico – químicos do propofol.

| Parâmetro      | Valor                      |
|----------------|----------------------------|
| Massa molar    | 178,27 g.mol <sup>-1</sup> |
| Solubilidade   | 124 mg.L <sup>-1</sup>     |
| log P          | 3,79                       |
| Ponto de fusão | 18 °C                      |

A primeira formulação contendo propofol foi reportada na década de 70 pela ICI (Imperial Chemical Industries, hoje AstraZeneca), essa formulação utilizava o surfactante Cremophor® EL, representado na Figura 1b, como veículo para solubilizar as moléculas de propofol em meio aquoso, entretanto, a alta incidência de choques anafiláticos em sua administração descontinuou sua produção. Na década de 80, a AstraZeneca relança o propofol agora na formulação do medicamento Diprivan®, onde o propofol é solubilizado em óleo de soja nas concentrações 1% ou 2% m/m e emulsificado em água com lecitina de ovo, na formulação do Diprivan®, também estão presentes: EDTA para inibir a proliferação microbiana, hidróxido de sódio para ajuste de pH e glicerol para garantir a isotonicidade da formulação. <sup>4</sup>

Ao ser administrado no organismo, as moléculas de propofol solubilizadas nas gotas de óleo da emulsão difundem para a corrente sanguínea e chegam ao cérebro. O mecanismo de ação do propofol consiste principalmente no estímulo a modulação positiva do ácido gama – aminobutírico (GABA), o principal neurotransmissor de inibição de atividade do sistema nervoso central e também a inibição do N-metil D-Aspartato (NMDA), um aminoácido excitatório.<sup>2,4</sup>

Apesar da utilização em larga escala, o Diprivan® possui limitações e problemas como: A possibilidade de causar forte dor local durante sua administração no paciente, possibilidade de causar embolia e complicações como hiperlipidemia em pacientes que possuam deficiência no metabolismo de gorduras. A ausência de estabilidade em emulsões também é problemática do ponto de vista do *shelf – life* do medicamento, já que a eficiência farmacocinética do propofol está diretamente atrelada à sua difusão para corrente sanguínea, que por sua vez está relacionada ao tamanho das gotas de óleo na emulsão, dessa forma, a coalescência na emulsão é um obstáculo a ser levado em conta. Na literatura, considera-se a possibilidade de que a dor durante a administração esteja relacionada com a concentração de propofol livre, ou seja, com

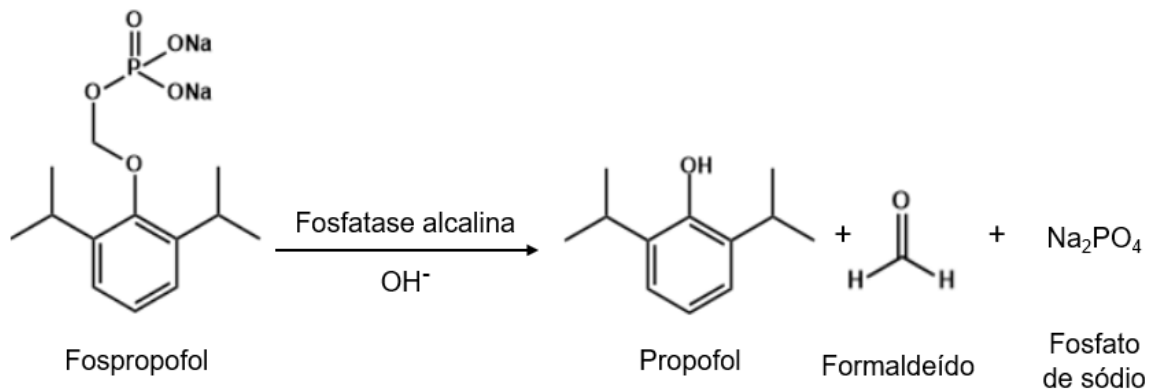
as moléculas de propofol solubilizadas em água, fora da gota de óleo emulsionada, podendo ser responsável por irritar o tecido epitelial e as mucosas durante a injeção.<sup>5-</sup>

<sup>7</sup> Assim, ausência de estabilidade em emulsões é novamente preocupante por poder afetar a concentração de propofol livre.

Por conta das adversidades das formulações utilizando emulsões lipídicas com propofol, iniciou-se a busca por novos veículos. Alguns avanços relativos a novas formulações já foram reportados na literatura, como as emulsões formuladas com lipídios de cadeia menor que as presentes no óleo de soja, capazes de reduzir a concentração de propofol livre fora da emulsão, além de serem menos nocivo aos pacientes com deficiências metabólicas de gorduras <sup>5,7</sup>, formulações aquosas com ciclodextrinas e formulações *lipid free*, onde ocorre a infusão concomitante de propofol solubilizado em etanol e veículo aquoso. Entretanto, todas possíveis novas formulações ainda estão em período de desenvolvimento e testes.<sup>2,4</sup> O maior desafio para criar novas formulações com propofol é sua baixa solubilidade em água, abaixo de 1 mmol.L<sup>-1</sup>,<sup>2,6</sup> além disso, é inviável clinicamente criar formulações que contenham sais de propofol devido a seu elevado pKa, em torno de 11.<sup>6</sup>

Outra estratégia para criar novas formulações não lipídicas com propofol consiste na utilização de pró-fármacos. Pró-fármacos são espécies inativas de um fármaco que podem ser convertidas na forma ativa através da biotransformação dentro do organismo. Molecularmente a estrutura dos pró-fármacos garantem propriedades físico-químicas que podem minimizar problemas intrínsecos do fármaco de interesse. O pró-fármaco mais conhecido do propofol é o fospropofol que possui alta solubilidade em água e é convertido em propofol dentro do organismo pela ação das enzimas fosfatase alcalina presentes no fígado, como mostrado na Figura 2.<sup>4,8,9</sup> A principal limitação das formulações contendo fospropofol é a menor velocidade de indução anestésica quando comparadas as formulações com propofol, já que o fospropofol

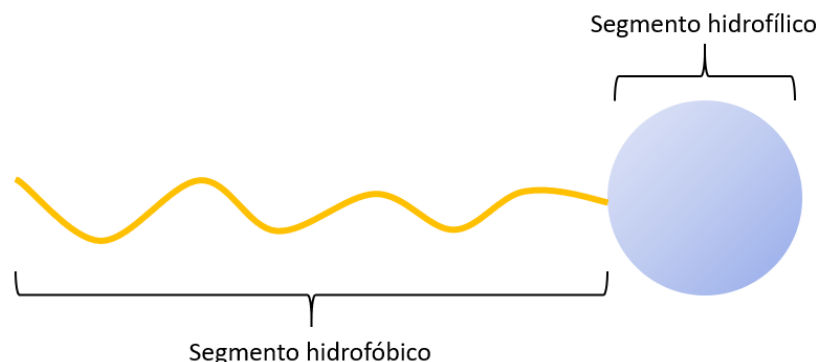
precisa ser convertido neste último dentro do organismo para então atuar como anestésico.



**Figura 2.** Estrutura do fospropofol e seus metabolitos após ação da enzima fosfatase alcalina.

## 1.2 Surfactantes e micelas gigantes.

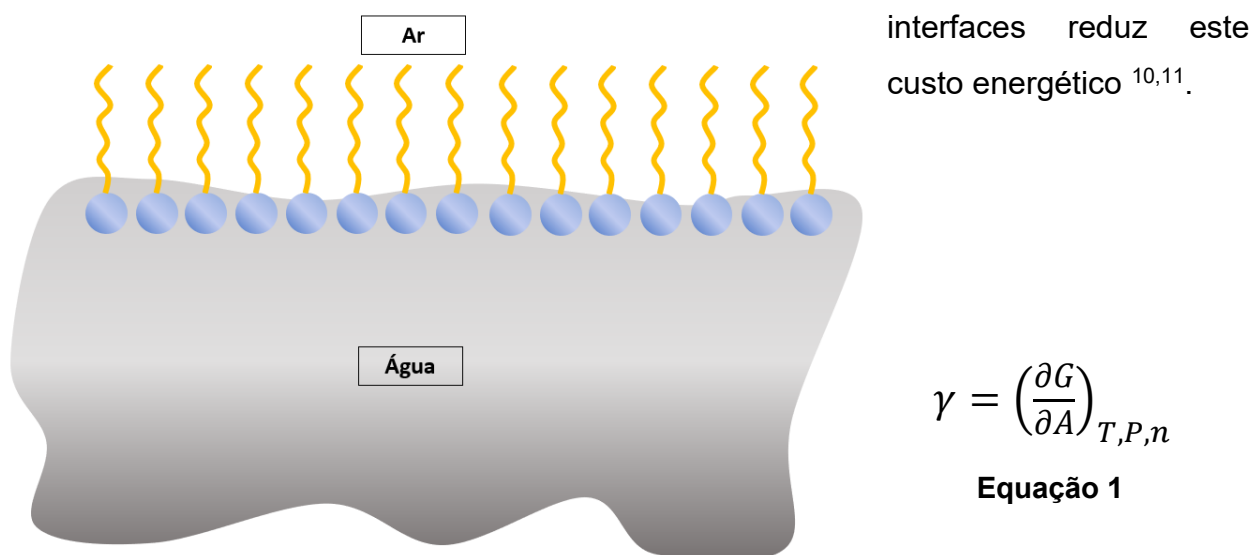
Surfactantes são uma classe de moléculas com uma propriedade bastante característica quanto o comportamento físico – químico em solução: são moléculas anfifílicas, do grego “duas afinidades”, estas afinidades são relacionadas a suas interações intermoleculares com os solventes, possuindo em suas estruturas moleculares um segmento liofílico, que possui boa interação com o solvente, e um segmento liofóbico, que possui baixa interação com o solvente, se o solvente em questão for água, pode-se nomear os segmentos como hidrofílico e hidrofóbico respectivamente.<sup>10</sup> Na Figura 3, tem-se uma representação esquemática dos segmentos de um surfactante tomando o solvente como água.



**Figura 3.** Representação da estrutura de um surfactante e seus segmentos quando solubilizados em água.

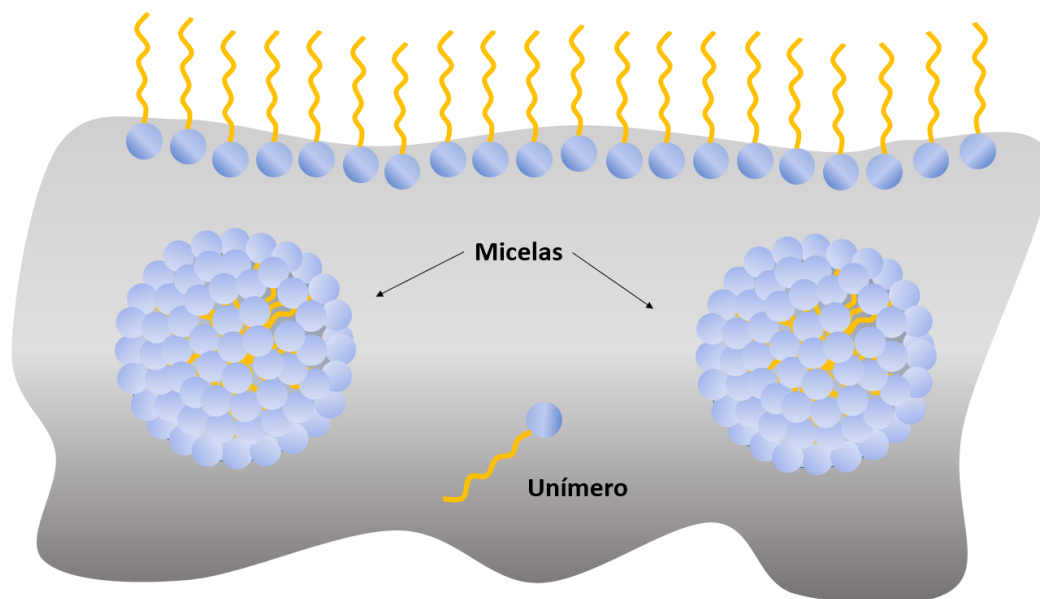
A anfifilicidade gera dois importantes desdobramentos. O primeiro deles é a capacidade dos surfactantes de abaixarem a tensão superficial ou interfacial ( $\gamma$ ) em

interfaces líquido – gás ou líquido – líquido, respectivamente. Esta propriedade é a que origina o nome desta classe de moléculas, “surfactante”, relativo à palavra inglesa *surfactant* contração de *surface active agent*. O abaixamento da tensão superficial ou interfacial está associado com a adsorção favorável das moléculas de surfactante nas interfaces. Tomando como exemplo a interface água – ar, ao adsorver, o grupo hidrofílico orienta-se na direção da fase aquosa enquanto que o segmento hidrofóbico orienta-se na direção do ar, como representado na Figura 4. Considerando que a tensão superficial está associada ao custo energético (variação da energia livre de Gibbs,  $G$ ) da migração de moléculas do *bulk* da solução para a superfície aumentando a área superficial da interface,  $A$  (como expresso na Equação 1), observa-se que a capacidade das moléculas dos surfactantes de adsorver e de se orientar nas



**Figura 4.** Representação da orientação dos surfactantes em uma interface água – ar.

O segundo desdobramento da anfifilicidade é a auto – associação das moléculas de surfactante em solução. Na situação mostrada na Figura 4, a inserção de mais moléculas de surfactante no sistema aumentará a concentração desta espécie até chegar a uma faixa de concentração denominada Concentração Micelar Crítica (CMC). Nessa região de concentração as moléculas dos surfactantes passam a se auto – associar em estruturas chamadas micelas <sup>10,12</sup>, como é ilustrado na Figura 5.



**Figura 5.** Representação das espécies do sistema quando a concentração de surfactante atinge a CMC.

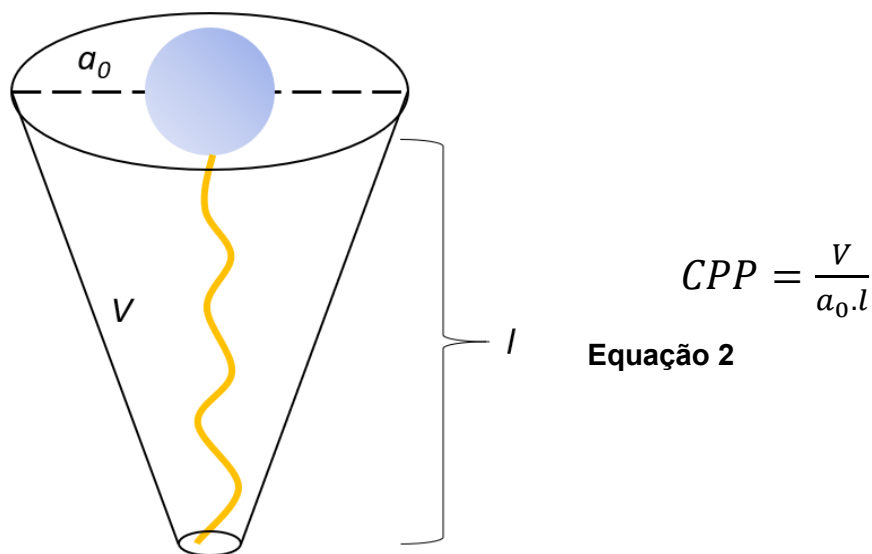
Como pode ser visto na Figura 5, os agregados micelares são formados de forma que orientem o grupo hidrofílico das moléculas dos surfactantes para maior contato com a fase aquosa e reduzam o contato da água com o segmento hidrofóbico. A formação de micelas é espontânea ao se atingir a região da CMC, desta forma, pode-se inferir que dispor as moléculas de surfactante nas micelas é termodinamicamente favorável em relação a colocar mais moléculas de surfactante nas interfaces, ou seja, na CMC, o potencial químico das moléculas do surfactante no agregado micelar torna-se menor do que na interface.

A auto-associação de surfactantes na formação de micelas possui natureza principalmente entrópica, visto que, as moléculas de água apresentam interações intensas e altamente direcionadas, assim, ao solubilizar moléculas de surfactante, as moléculas de água que solvatam o segmento hidrofóbico se arranja em outra configuração (*iceberg-like*), resultando em uma penalidade entrópica. Dessa forma, quando as moléculas de surfactante formam micelas, as moléculas de água que antes solvavam o segmento hidrofóbico voltam a formar ligações de hidrogênio com outras moléculas de água, levando à um ganho de entropia, por esta razão o processo é chamado de efeito hidrofóbico <sup>10-12</sup>. Do ponto de vista entálpico, no caso de surfactantes iônicos, a repulsão das cabeças das moléculas, desfavorece o aumento da concentração na interface.

Na Figura 5 também é representada a presença de unímeros de surfactante em solução, que se mantém na concentração equivalente à CMC. Vale mencionar que as micelas são estruturas dinâmicas e ocorre constantemente a troca de unímeros entre os agregados micelares.

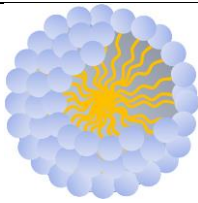
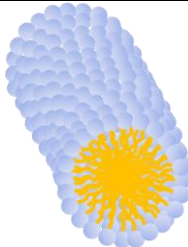
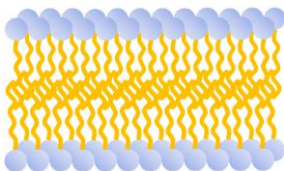
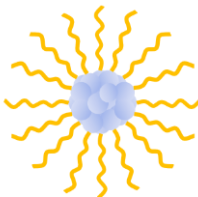
Estas duas propriedades, o abaixamento da tensão superficial ou interfacial e a capacidade de se auto-associar em solução faz dos surfactantes uma das classes mais versáteis de moléculas com diversas aplicações na indústria química: atuando como agentes espumantes,<sup>13</sup> na indústria de alimentos,<sup>14</sup> na indústria farmacêutica e cosméticos<sup>15</sup> e na indústria do petróleo.<sup>16</sup>

Na Figura 5, as micelas representadas são esféricas, entretanto, existem outras morfologias que podem ser formadas na auto-associação de surfactantes em solução. Um modelo bastante útil para interpretar as possíveis morfologias micelares é o parâmetro de empacotamento crítico (*critical packing parameter – CPP*) proposto por Israelachvili<sup>17</sup> que depende apenas das grandezas geométricas do surfactante nos agregados e é dado na Equação 2 e representado na Figura 6.



**Figura 6.** Representação gráfica dos elementos que compõe o CPP.

Na Equação 2,  $V$  é o volume do segmento hidrofóbico do surfactante,  $l$  é o comprimento da cauda hidrofóbica e  $a_0$  é a área efetiva da cabeça hidrofílica. Os valores de CPP fornecem um direcionamento sobre como se dará o empacotamento dos surfactantes. Quanto maior for o valor de CPP, menor será a curvatura de agregado, resultando em diferentes morfologias micelares como mostrado na Figura 7 com as respectivas faixas de CPP.

| Valor de CPP      | Morfologia micelar                                                                  |                  |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| $CPP < 1/3$       |   | Esférica         |
| $1/3 < CPP < 1/2$ |   | Cilíndrica       |
| $CPP \sim 1$      |   | Bicamada         |
| $CPP > 1$         |  | Esférica reversa |

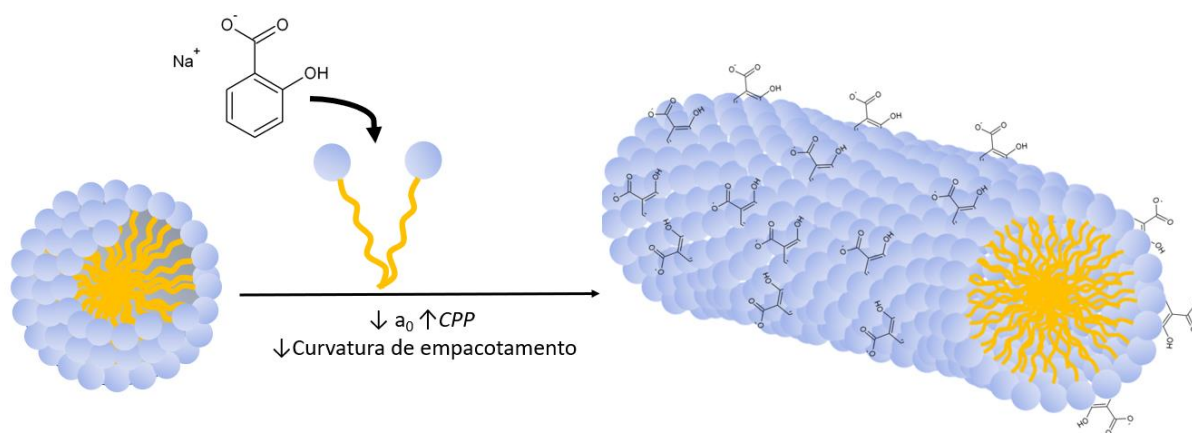
**Figura 7.** Valores de CPP e morfologias micelares relacionadas.

Na Figura 7, vale mencionar que: ainda que as moléculas de surfactante sejam iguais em todas as morfologias micelares representadas, as áreas efetivas das cabeças polares são diferentes.

Os valores de CPP, e consequentemente as morfologias micelares, podem ser modulados através de parâmetros como: concentração e estrutura molecular dos surfactantes,<sup>18,19</sup> pH,<sup>20</sup> temperatura<sup>21</sup> e força iônica.<sup>22</sup> Estes fatores afetam a parte polar da molécula do surfactante, afetando o parâmetro  $a_0$ , expresso na Equação 2. No caso dos surfactantes com duas caudas ou ramificações, há o aumento o parâmetro  $V$ .

Um caso particular das micelas com morfologia cilíndrica são as micelas gigantes, onde o CPP, e o raio da seção transversal são semelhantes aos de uma micela cilíndrica curta, entretanto, sua extensão longitudinal é muito maior, podendo chegar a centenas de nanômetros.<sup>23</sup>

Há muitos trabalhos na literatura mostrando que a combinação de surfactantes catiônicos com ânions aromáticos que possuam algumas características estruturais promove a formação de micelas gigantes.<sup>23-26</sup> Para compreender o efeito causado pelo ânion aromático que promove a formação das micelas gigantes, será considerado um dos exemplo mais descritos na literatura; a combinação de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB) com salicilato de sódio (NaSal). Partindo de uma solução de CTAB acima da CMC onde adiciona-se NaSal, as moléculas aromáticas por possuírem carga negativa, são atraídas pelas cabeças catiônicas das moléculas do surfactante. Adicionalmente, a presença de interações  $\text{cátion} - \pi$  e a hidrofobicidade do anel aromático favorecem que o ânion aromático se posicione entre as cabeças catiônicas do surfactante com o anel aromático direcionado para o *core* hidrofóbico da micela. A somatória destes três efeitos cria um arranjo bastante eficiente em reduzir a área efetiva da cabeça hidrofílica (termo  $a_0$  do CPP) através da blindagem da repulsão eletrostática entre as cabeças catiônicas, promovendo a mudança de morfologia esférica para cilíndrica como é representado esquematicamente na Figura 8.



**Figura 8.** Representação esquemática da mudança de morfologia micelar a partir da adição de NaSal em um sistema com CTAB.

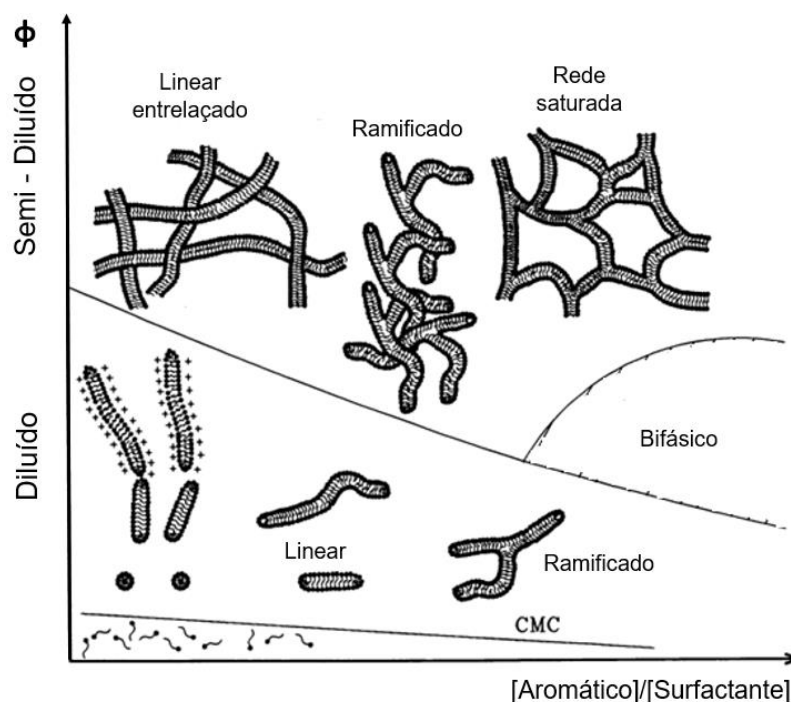
A elevada razão de aspecto das micelas gigantes se relaciona com o fato de que o potencial químico das moléculas no corpo cilíndrico do agregado é menor que nas suas pontas (hemisféricas). Como foi mostrado por Souza et al.,<sup>27</sup> a formação e crescimento das micelas gigantes possui significativa contribuição entálpica.

As micelas gigantes possuem diversas aplicações graças principalmente a seu rico comportamento reológico, onde é possível modular sua viscoelasticidade a partir de fatores facilmente manipuláveis, como  $\text{pH}$ <sup>21</sup> ou irradiação por luz UV.<sup>28</sup> Entre as

aplicações, pode-se citar a atuação de micelas gigantes: como fluídos para redução de atrito,<sup>29</sup> em recuperação de petróleo,<sup>30</sup> como moldes para síntese inorgânica<sup>31</sup> e na indústria cosmética<sup>32</sup>.

A riqueza reológica das micelas gigantes está associada com as semelhanças que este tipo de sistema possui com soluções poliméricas, esses aspectos serão melhor discutidos na seção 4.1.2 do Capítulo 4.

As soluções de micelas gigantes podem ser classificadas quanto aos regimes de concentração assim como soluções poliméricas.<sup>33</sup> No entanto, como mostrado na Figura 9, alterações morfológicas importantes das micelas gigantes podem ocorrer, na medida em que a razão das concentrações das espécies aromáticas e de surfactante variam.



**Figura 9.** Diagrama das morfologias dos agregados micelares em função da fração volumétrica e da razão da concentração da espécie aromática pela concentração de surfactante catiônico. Adaptado da referência 33.

Como pode ser observado no diagrama da Figura 9, as estruturas dos agregados variam na medida em que a concentração do surfactante e do aromático aumentam, dois regimes de concentração são considerados, o diluído e o semi-diluído. O regime diluído corresponde a região onde os agregados alongados estão isolados no espaço, à medida que a fração volumétrica aumenta, os agregados começam a interagir, se tocar e entrelaçar, definindo a transição para o regime semi – diluído. Ao aumentar a

concentração do aromático, as cadeias podem se tornar ramificadas, formando no limite uma rede saturada sem pontas. Esta região está próxima da região em que ocorre a coacervação do sistema, onde sistema separa-se em duas fases aquosas.

Nesta dissertação, diferentes técnicas experimentais foram utilizadas para investigar diferentes regimes de concentração das micelas gigantes, como será abordado nos Capítulos 4 e 5.

### **1.3 Micelas como possível veículo para o desenvolvimento de formulações com Propofol em meio aquoso.**

Uma alternativa bastante imediata para formulações que precisam conter constituintes hidrofílicos e hidrofóbicos são as micelas ou outros agregados de surfactantes. O *core* hidrofóbico das micelas é capaz de solubilizar compostos hidrofóbicos.

Os fármacos são uma classe de compostos que possuem obstáculos bastante complexos quanto aos balanços hidrofílicos – hidrofóbicos, um exemplo desse tipo de obstáculo quando um fármaco hidrofóbico atuante em regiões liposas do organismo precisa atravessar segmentos aquosos do corpo após sua administração. Esses desafios em *drug delivery* inspiram muitos trabalhos envolvendo moléculas anfifílicas, que proporcionam a modulação da morfologia de agregados de surfactantes não iônicos com fosfolipídeos,<sup>34</sup> a liberação de fármacos hidrossolúveis a partir de micelas reversas<sup>35</sup> e o desenvolvimento de moléculas anfifílicas biomiméticas baseadas em peptídeos.<sup>36</sup>

Uma classe de surfactantes bastante utilizada em *drug delivery* são os polaxameros, comercialmente conhecidos como Pluronic®, os Pluronic® são surfactantes não-iônicos copolímeros, contendo um bloco hidrofóbico (polioxipropileno) e um bloco hidrofílico (polioxietileno). A presença desses dois segmentos confere propriedades anfifílicas a esses polímeros possibilitando sua agregação em solução. Como exemplo de trabalho utilizando os Pluronic® para *drug delivery* pode-se citar o trabalho de Rapoport et al.<sup>37</sup> que evidencia os efeitos das micelas de Pluronic® na administração de fármacos para tratamento de câncer.

Há relatos na literatura e patentes de propostas de formulações micelares com propofol como a própria formulação inicial contendo Cremophor® EL mencionada na seção 1.1. Entre as formulações mais recentes, cita-se: aquelas utilizando os

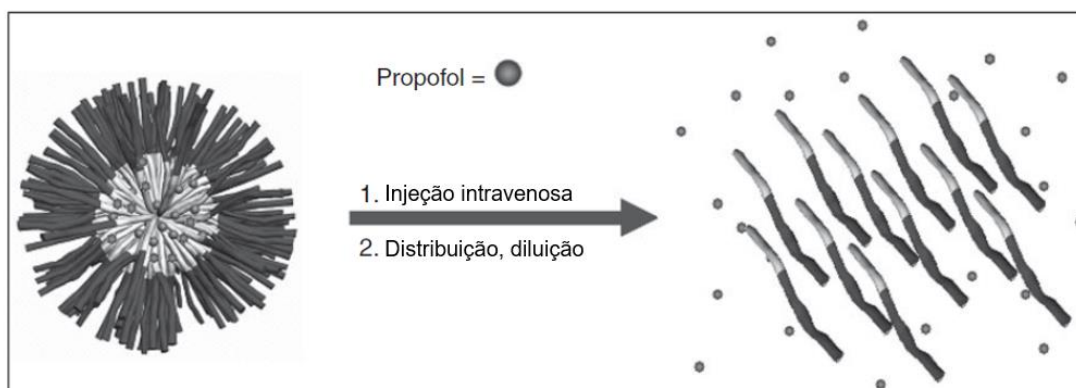
Pluronic®<sup>38,39</sup>, outros copolímeros em bloco não iônicos<sup>40,41</sup> e microemulsões utilizando surfactante não iônico.<sup>42</sup> Nesses trabalhos, alcançou-se considerável sucesso em relação aos efeitos farmacológicos e farmacocinéticos do propofol, mostrando que formulações micelares podem ser uma alternativa as emulsões lipídicas.

Trabalhos investigativos sobre a formação de micelas gigantes pela combinação de surfactantes catiônicos e moléculas aromáticas mostraram que a planaridade e presença de um grupo polar na molécula aromática são características que podem induzir o crescimento micelar. A formação de agregados alongados na combinação de surfactantes catiônicos com certos fenóis já foi observada,<sup>24,43,44</sup>. Dessa forma, a molécula de propofol apresenta as características desejadas para induzir a formação de agregados alongados.

## 2. Motivação e objetivos

### 2.1 Motivação

As possíveis vantagens do desenvolvimento de um sistema de micelas gigantes que contenha propofol são: a vasta gama de possibilidades de modulação das propriedades físico – químicas das micelas gigantes podendo ser ajustadas nos parâmetros desejados para administração, o possível impacto da morfologia do agregado no aumento de solubilidade do propofol e o fato das micelas gigantes serem sistemas estáveis termodinamicamente não apresentando as mesmas limitações que emulsões lipídicas. Ravenelle et al.<sup>40</sup> Mostraram que há um impacto positivo na farmacocinética do propofol se as micelas poliméricas desmancharem após a inserção na corrente sanguínea (Figura 10), propriedade que pode ser replicada pelas micelas gigantes já que ocorre transição para morfologia esférica mediante diluição.



**Figura 10.** Representação do desmanchamento das micelas poliméricas carregadas com propofol após sua entrada na corrente sanguínea, liberando propofol. Adaptado da referência 40.

Há registros na literatura sobre mudanças na morfologia micelar com surfactantes catiônicos a partir da adição de fármacos<sup>45</sup> e também sobre sistemas de micelas gigantes utilizados em *drug delivery*<sup>46,47</sup>. Também há registros da não biocompatibilidade de surfactantes catiônicos, já que estes causam hemólise.<sup>48</sup> Entretanto, o estudo com surfactantes catiônicos pode fornecer informações sobre a formação de micelas gigantes com propofol, dando embasamento para a busca de outros surfactantes biocompatíveis, como os zwitteriônicos.

Dado que o fospropofol pode ser convertido em propofol a partir da ação de enzimas, o estudo da formação de micelas gigantes com fospropofol é o primeiro passo para a investigação do impacto na conversão de fospropofol em propofol quando o fospropofol está inserido em ambiente micelar, abrindo caminho para o estudo de sistemas que formam micelas gigantes a partir da ação de mecanismos enzimáticos.

## **2.2 Objetivos**

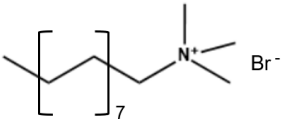
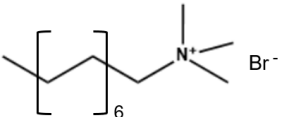
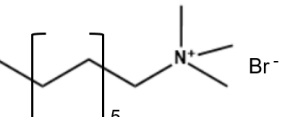
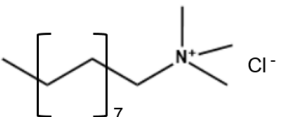
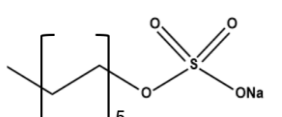
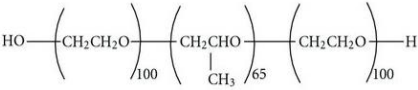
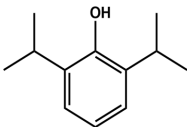
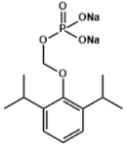
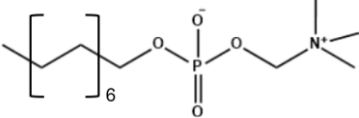
Investigar a formação de micelas gigantes de propofol e fospropofol com surfactantes catiônicos e zwitteriônico e investigar o impacto da morfologia dos agregados micelares formados no aumento de solubilidade do propofol em meio aquoso.

### 3. Materiais e métodos

#### 3.1 Materiais

A Tabela 2 mostra os reagentes utilizados, que foram utilizados sem prévio tratamento, com seus respectivos fornecedores e grau de pureza.

**Tabela 2:** Lista de reagentes, fornecedores e graus de pureza.

| Reagente                                    | Pureza (%) | Fornecedor          | Estrutura molecular                                                                   |
|---------------------------------------------|------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Brometo de hexadeciltrimetil amônio (CTAB)  | ≥99,5      | Sigma-Aldrich       |    |
| Brometo de tetradeciltrimetil amônio (TTAB) | ≥99,5      | Sigma-Aldrich       |    |
| Brometo de dodeciltrimetil amônio (DTAB)    | ≥99,5      | Sigma-Aldrich       |   |
| Cloreto de hexadeciltrimetil amônio (CTAC)  | ≥99,5      | Sigma-Aldrich       |  |
| Dodecilsulfato de sódio (SDS)               | ≥99,0      | Sigma-Aldrich       |  |
| Pluronic® F-127                             | ≥99,0      | Sigma-Aldrich       |  |
| Propofol                                    | ≥97,0      | Sigma-Aldrich       |  |
| Fospropofol disódico                        | ≥90,0      | Clearysynth         |  |
| n - tetradecilfosfocolina (Mapcho®-14)      | ≥99,0      | Avanti Polar Lipids |  |

### 3.2 Preparo de amostras

Todas as amostras e soluções foram gravimetricamente preparadas em água deionizada Milli-Q® (18,2 MΩ.cm) usando balança analítica. O preparo foi realizado adicionando o aromático de interesse (propofol ou fospropofol) a uma solução de surfactante com concentração conhecida. As amostras foram homogeneizadas sob agitação branda e mantidas em temperatura ambiente por pelo menos 48 horas antes da realização de qualquer análise.

### 3.3 Experimentos de reologia

Experimentos de reologia foram conduzidos no reômetro Thermo Scientific HAAKE™ MARS III acoplado a um banho termostático. Todos experimentos reológicos foram feitos a 25°C. A geometria utilizada bem como os tipos de ensaios desenvolvidos foram escolhidos tendo como base a viscosidade da amostra analisada. Todos experimentos foram realizados em duplicata.

Para amostras de baixa viscosidade, na ordem de grandeza da água pura ( $\approx 1,0$  mPa.s), utilizou-se a geometria DG41 (*Double - gap* com diâmetro de 41 mm). Experimentos de reologia no regime não-linear foram realizados para se obter valores da viscosidade em função da taxa de cisalhamento, as chamadas curvas de fluxo. Previamente ao início das curvas de fluxo, as amostras são submetidas a uma etapa de pré – cisalhamento em taxa de cisalhamento constante, correspondente ao valor mais baixo da taxa de cisalhamento da curva durante 100 segundos, a etapa de pré – cisalhamento é responsável por eliminar os efeitos inerciais observados ao se retirar a amostra do repouso, o que geraria desvios nos dados iniciais das curvas de fluxo. As curvas de fluxo foram obtidas para a série de amostras em que a concentração do surfactante foi mantida fixa e a concentração de propofol variada. A partir dos dados obtidos nessas séries foram determinados os valores da viscosidade no platô Newtoniano ( $\eta_0$ ) em função da concentração de propofol.

Para amostras de elevada viscosidade, utilizou-se a geometria P35 (Placa – placa com diâmetro do rotor de 35mm). Experimentos de reologia no regime não-linear foram realizados com metodologia semelhante à utilizada para amostras de baixa viscosidade. Experimentos de reologia no regime linear, oscilatório de amplitude e oscilatório de frequência foram realizados, sendo que no primeiro caso, a frequência

de oscilação ( $\omega$ ) foi fixada em 1,0 Hz e varreu-se a tensão de cisalhamento ( $\tau$ ) para encontrar a região de viscoelasticidade linear, onde os módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) são paralelos e constantes. Então, utilizando um valor de tensão encontrado na região de viscoelasticidade linear, realizaram-se os experimentos oscilatórios de frequência para se obter a variação dos dois módulos da amostra quando submetida a diferentes frequências de cisalhamento.

### **3.4 Experimentos de calorimetria de titulação isotérmica**

Experimentos de calorimetria foram realizados no equipamento PEAQ® - ITC MicroCal da Malvern. Os experimentos consistem em titulações, sendo o titulante soluções com concentrações conhecidas de surfactante em água deionizada ou tampão e o titulado amostras com concentrações conhecidas da molécula orgânica estudada em água deionizada ou tampão. Todos experimentos foram realizados a 25°C, sob 750 rpm de agitação e utilizando 7  $\mu$ W como potência de referência sem feedback. O sinal da primeira injeção foi sempre descartado das análises posteriores. Todos experimentos foram realizados em duplicata.

Tampões foram utilizados em experimentos em que fospropofol foi a molécula aromática estudada, os tampões utilizados foram: tampão de ácido acético/acetato de sódio nos pHs 4,0, 5,0, 5,8 e tampão fosfato de sódio monobásico/fosfato de sódio dibásico no pH 7,0 com força iônica de 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Os titulantes também foram preparados em tampão a fim de evitar variações de energias referentes ao calor de diluição do tampão em água.

### **3.5 Experimentos de condutividade**

Experimentos condutimétricos foram realizados com o condutivímetro Metrohm 912® em formato de titulação semelhantes aos calorimétricos. Os experimentos foram realizados em um béquer encamisado acoplado a um banho de água termostático para manter a temperatura constante a 25°C durante toda titulação. Todos experimentos foram realizados em duplicata.

### **3.6 Experimentos de espectroscopia UV-Vis e de fluorescência**

Espectros eletrônicos de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro de absorção UV-Vis da HP modelo HP8453®. Utilizou-se cubeta de quartzo com caminho

ótico de 10 mm nas análises e todas amostras foram analisadas a 25°C. Definiu-se o comprimento de onda de excitação de 285 nm a ser utilizado para obter os espectros de emissão do propofol. Os espectros de emissão foram obtidos em um espectrofluorímetro PC1® da ISS a temperatura ambiente.

Com base nos espectros de emissão obtidos para diferentes concentrações de propofol em sistemas com micelas gigantes, definiu-se os comprimentos de onda 300 nm e 350 nm para serem estudados em experimentos de dinâmica de fluorescência afim de obter os tempos de vida de fluorescência e fator pré – exponencial atribuídos as populações fluorescentes no sistema em função do decaimento da intensidade total do sinal de fluorescência no tempo. A evolução do sinal de fluorescência foi obtida em um equipamento TCSPC (Time – Correlated Single Photon Counting) FL900® da Edinburgh Analytical Instruments com analisador eletrônico multicanal e fotomultiplicador Hamamatsu R3809U-50®. Para excitar a amostra nesses experimentos, utilizou-se um EPLED-280® da Edinburgh Analytical Instruments, com comprimento de onda de 280 nm, largura da banda de 10 nm e pulsos espaçados em 950 ps. Os decaimentos foram obtidos utilizando 10.000 contagens e a função de resposta do instrumento foi medida utilizando a dispersão coloidal de sílica 30% em massa LUDOX®. Os tempos de vida de fluorescência e fatores pré – exponenciais dos sistemas com diferentes concentrações de propofol foram obtidos a partir da análise feita pelo software FAST que utiliza a Equação 3.

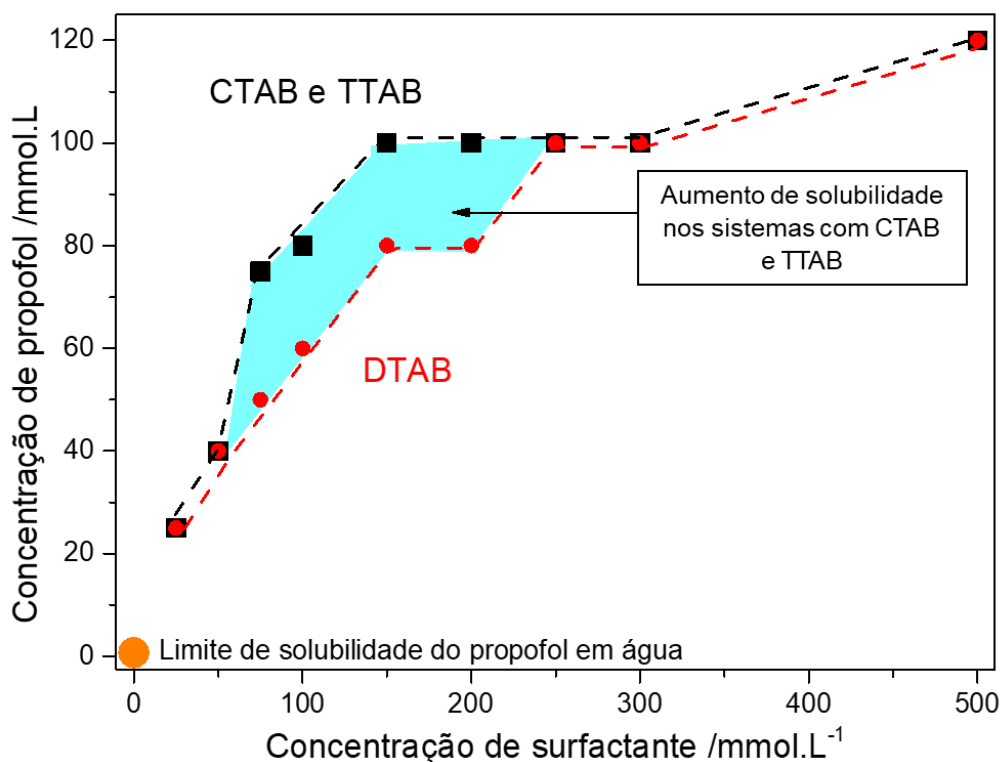
$$I(t) = \sum_{i=1}^n A_i e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad \text{Equação 3}$$

## 4. Sistemas com Propofol

### 4.1 Regime semi – diluído

#### 4.1.1 Diagramas de fases

A partir da análise visual das amostras feitas conforme procedimento descrito na seção 3.2, construiu-se diagramas de fases como o mostrado na Figura 11 (os dados completos que foram usados para a construção dos diagramas são apresentados no Material Suplementar). Nos diagramas de fases está representada a maior concentração de propofol que forma sistemas homogêneos em diferentes concentrações dos surfactantes investigados na temperatura de 25°C. Concentrações maiores de propofol geram sistemas turvos que evoluem para separação macroscópica de fases. No diagrama da Figura 11 também está indicado, o limite de solubilidade do propofol em água que é em torno de 0,69 mmol.L<sup>-1</sup>.

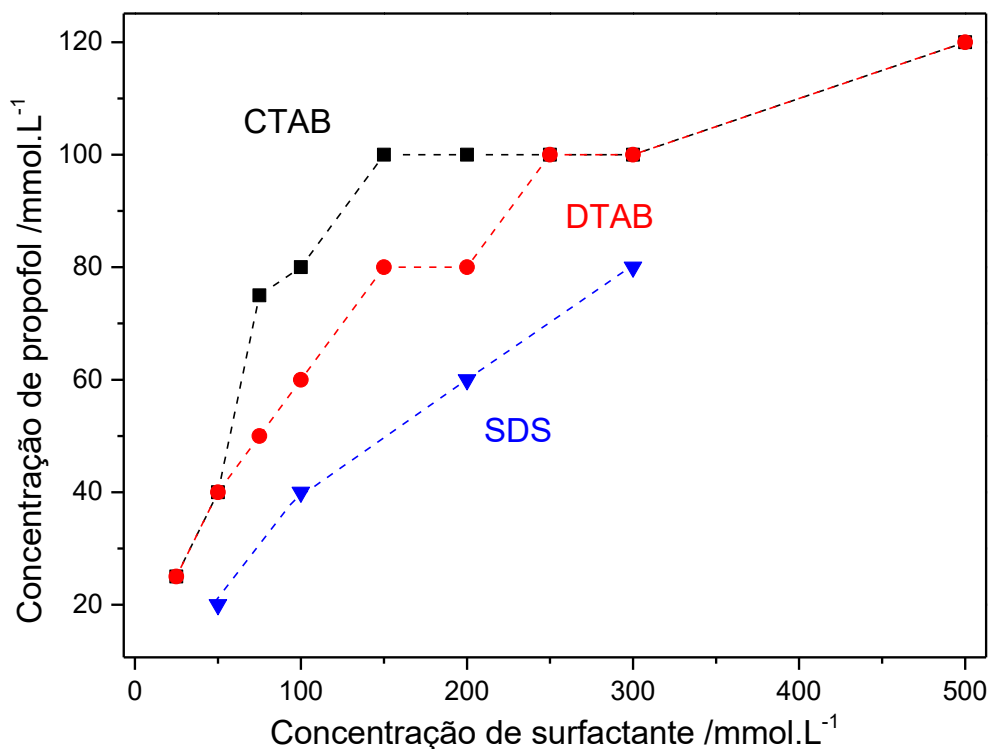


**Figura 11.** Diagramas de fases contendo as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos na temperatura de 25°C, para soluções contendo diferentes concentrações de DTAB, TTAB e CTAB. As linhas foram traçadas para facilitar a visualização das tendências.

Nota-se que, conforme esperado, a presença de surfactantes em concentrações acima da CMC aumenta consideravelmente a solubilidade do propofol em sistemas aquosos. Isto é explicado pelo fato de que, de forma geral, as estruturas micelares oferecem um núcleo hidrofóbico capazes de compartimentar solutos hidrofóbicos como o propofol. No entanto, uma característica dos diagramas chama atenção: a solubilidade do propofol nos três surfactantes catiônicos quando suas concentrações estão em  $50 \text{ mmol.L}^{-1}$  é praticamente a mesma ( $40 \text{ mmol.L}^{-1}$ ). No entanto, em valores maiores de concentração de surfactante, na faixa entre 50 e  $250 \text{ mmol.L}^{-1}$ , a solubilidade do aromático é cerca de  $20 \text{ mmol.L}^{-1}$  maior para os sistemas com TTAB e CTAB em relação aos sistemas com DTAB. Como será demonstrado nas próximas seções, entre 50 e  $250 \text{ mmol.L}^{-1}$ , os surfactantes TTAB e CTAB formam soluções consideravelmente viscoelásticas (discutido em 4.1.2), devido a formação de micelas gigantes, ao passo que para o DTAB, as soluções se comportam como fluidos de baixa viscosidade e newtonianos, nesse caso, micelas esféricas são formadas. Desta forma, com base neste resultado, pode-se concluir que a alteração morfológica do agregado é um fator central para o aumento da solubilidade. Um comportamento semelhante para soluções contendo surfactantes catiônicos e a molécula aromática timol foi anteriormente observado.<sup>49</sup>

Como foi apresentado na seção 1.2, para que as micelas gigantes sejam formadas, deve ocorrer a diminuição da curvatura do agregado. Pode-se então inferir, que as moléculas de propofol se posicionam na interface das micelas de TTAB e CTAB com a fase aquosa, alterando assim o CPP. Como será apresentado em 4.1.3, esta hipótese é apoiada por uma evidência experimental. O aumento de solubilidade do propofol, em soluções de TTAB e CTAB, indica que o potencial químico do propofol no corpo cilíndrico das micelas gigantes é menor do que nas micelas esféricas.

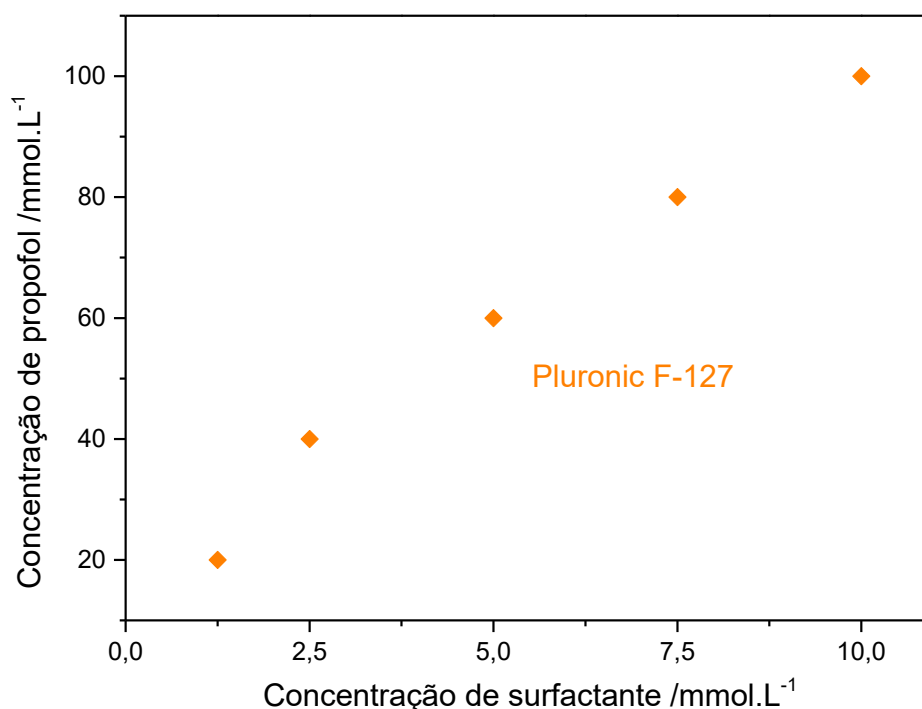
No diagrama de fases da Figura 12, estão apresentadas as curvas de solubilidade limite, aferidas em  $25^\circ\text{C}$ , para comparar o aumento de solubilidade do propofol em sistemas com diferentes tipos de grupos polares nos surfactantes, sendo eles: os catiônicos como já representados na Figura 11 e o surfactante aniônico SDS.



**Figura 12.** Diagramas de fases contendo as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos na temperatura de 25°C, para soluções contendo diferentes concentrações de surfactantes catiônicos e aniônico. As linhas foram traçadas para facilitar a visualização das tendências.

Como pode ser observado na Figura 12, a solubilidade de propofol em soluções contendo os surfactantes catiônicos são maiores em comparação com o aniônico. Como o DTAB não forma micelas gigantes nas condições investigadas, possivelmente a maior capacidade de solubilização pode estar associada com interações específicas, como a  $\text{cátion} - \pi$  e a  $\text{cátion} - \text{fenol}$  entre as moléculas de propofol e o grupo catiônico dos surfactantes.

A Figura 13 traz o diagrama de fases referente ao aumento de solubilidade do propofol quando combinado com o surfactante não – iônico Pluronic® F-127.



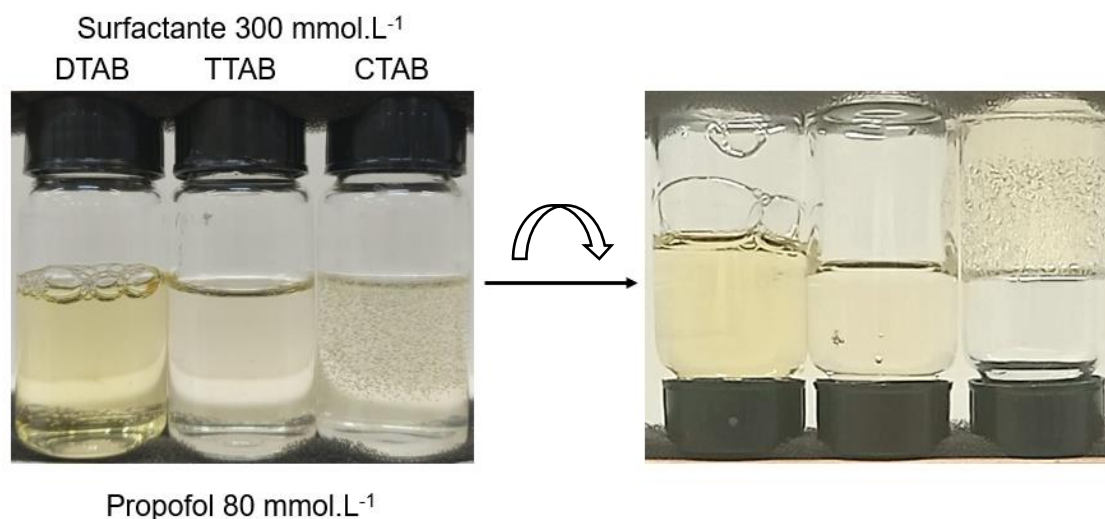
**Figura 13.** Diagramas de fases contendo as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos na temperatura de 25°C, para soluções contendo diferentes concentrações do surfactante não – iônico Pluronic F-127.

A faixa de concentração do surfactante mostrada na Figura 13 destoa das observadas nas Figuras 11 e 12 pelo fato de que o Pluronic F-127 é um surfactante polimérico e possui elevada massa molar em comparação com os outros surfactantes investigados. Nota-se na Figura 13 que o Pluronic F-127 também possui elevada capacidade em promover o aumento da solubilização do propofol em meio aquoso. Há indícios que a presença do propofol também promove alterações morfológicas nas micelas de Pluronic F-127 como será discutido nas seções 4.1.2 e 4.1.3.

#### **4.1.2 Resultados de reologia – Provando a existência das micelas gigantes.**

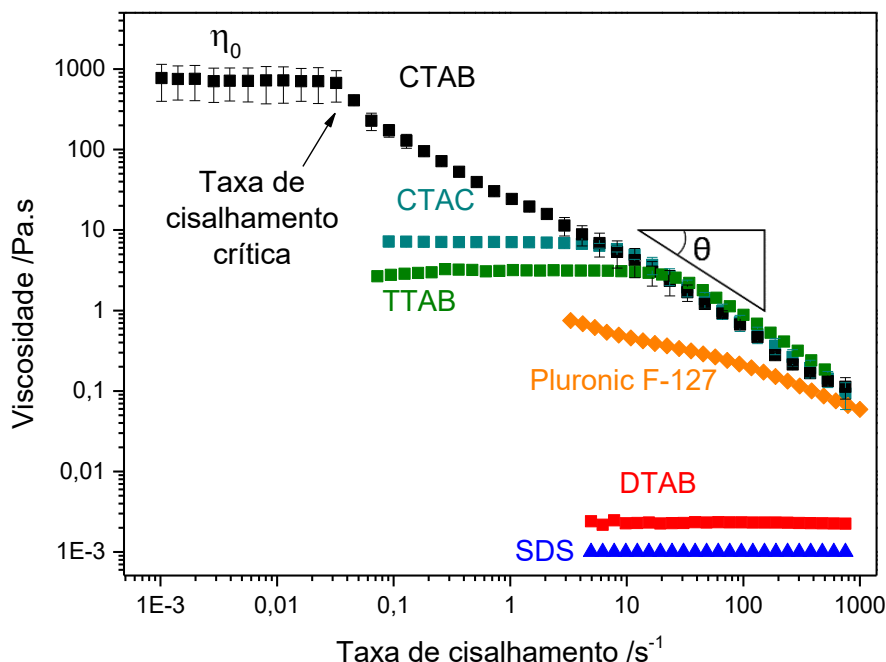
As fotografias mostradas na Figura 14 fornecem indicações que contribuem para a hipótese levantada sobre a formação de micelas gigantes a partir da combinação de 80 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol com 300 mmol.L<sup>-1</sup> de TTAB ou CTAB e a não formação de agregados alongados quando o anestésico é combinado com 300 mmol.L<sup>-1</sup> de DTAB. Nas fotografias, pode-se observar que, com a inversão dos frascos, o líquido escorre

rapidamente na solução de DTAB e um aumento na viscosidade é observado nos sistemas com TTAB e CTAB, além disso, o sistema com CTAB possui bolhas de ar aprisionadas, o que ocorre para sistemas com elevada viscoelasticidade como é o caso das micelas gigantes.<sup>50</sup>



**Figura 14.** Fotografias de sistemas formados por propofol e os surfactantes catiônicos DTAB, TTAB e CTAB antes e após a inversão dos frascos.

Para melhor caracterizar as observações da Figura 14, foram conduzidos experimentos reológicos. A Figura 15 mostra as curvas de fluxo obtidas para todos surfactantes deste estudo, que correspondem aos sistemas mais concentrados que foram investigados, tanto em surfactante quanto em propofol, ou seja: 100 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol + 300 mmol.L<sup>-1</sup> dos surfactantes catiônicos (DTAB, TTAB, CTAB e CTAC), 100 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol + 10 mmol.L<sup>-1</sup> de Pluronic F-127 e 80 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol + 300 mmol.L<sup>-1</sup> de SDS.



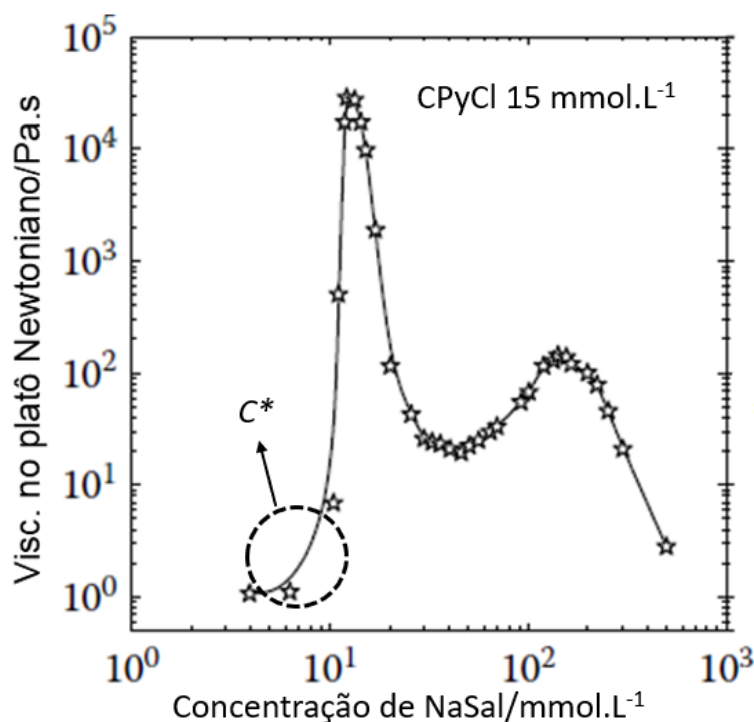
**Figura 15.** Curvas de fluxo de sistemas propofol + surfactante: 100 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol + 300 mmol.L<sup>-1</sup> dos surfactantes catiônicos (DTAB, TTAB, CTAB e CTAC), 100 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol + 10 mmol.L<sup>-1</sup> de Pluronic F-127 e 80 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol + 300 mmol.L<sup>-1</sup> de SDS. A temperatura foi mantida em 25°C.

A partir das curvas de fluxo observa-se evidências da formação de micelas gigantes nos sistemas com propofol e CTAB, TTAB e CTAC; o aparecimento do perfil pseudoplástico, onde a partir de uma taxa de cisalhamento crítica, como exemplificado na Figura 15 para o CTAB, as cadeias de micelas gigantes se alinham ao fluxo e a viscosidade diminui.<sup>23,50</sup> A inclinação  $\theta$  indicada na Figura 15 corresponde à inclinação da queda de viscosidade na região do afinamento, os valores de  $\theta$  encontrados foram: -0,81 para o CTAB, -0,88 para o TTAB e -0,94 para o CTAC, coerentes com os valores reportados na literatura para micelas gigantes (-0,85 a -1,0).<sup>51</sup> Além disso, nos sistemas onde aparece o perfil pseudoplástico, as viscosidades em taxas de cisalhamento abaixo da taxa de cisalhamento crítica, chamada viscosidade no platô Newtoniano ( $\eta_0$ ), estão ordens de grandeza acima da viscosidade da água pura ou de solução de micelas esféricas, indicando a presença de agregados micelares de elevado tamanho no sistema.

Os sistemas com propofol e SDS e DTAB não exibiram o perfil pseudoplástico e a viscosidade dos sistemas é próxima ao valor da viscosidade da água (1 mPa.s), indicando a formação de agregados esféricos ou cilindros muito curtos. Na curva de fluxo para o sistema com propofol e Pluronic F-127 não é observado o platô

newtoniano, mas apenas a região de afinamento sem a inclinação característica dos sistemas de micelas gigantes, a viscosidade medida para este sistema é significativamente maior que as observadas para o SDS e DTAB, indicando que agregados alongados ou clusters de agregados esféricos devem estar sendo formados, como já mostrado para a combinação de fenol e Pluronic na literatura.<sup>52</sup>

A partir dos valores de  $\eta_0$  obtidos nas curvas de fluxo é possível construir um gráfico dos valores de  $\eta_0$  em função da concentração da espécie aromática, como proposto por Rehage e Hoffmann.<sup>53</sup> As micelas gigantes possuem um perfil reológico característico conforme é exemplificado na Figura 16 para o surfactante catiônico cloreto de cetilpiridínio (CPyCl) e o ânion aromático salicilato de sódio (NaSal). Este comportamento é observado para ânions aromáticos que se ligam fortemente na micela gigante (chamados de *strongly binding*).



**Figura 16.** Curva como proposto por Rehage – Hoffmann, referente à variação da viscosidade medida no platô newtoniano para sistemas com concentração fixa do surfactante catiônico CpyCl (de 15 mmol.L<sup>-1</sup>), em função da concentração do ânion aromático NaSal. Adaptado da referência 50.

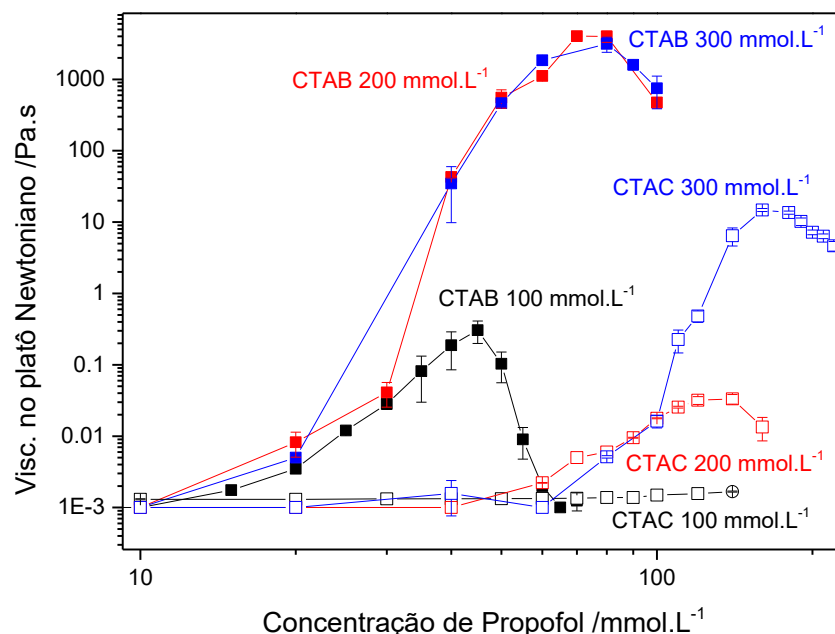
Ao se adicionar os ânions aromáticos no sistema com surfactantes catiônicos, as moléculas aromáticas induzem a formação de micelas gigantes através dos mecanismos discutidos na seção 1.2. À medida que as micelas gigantes vão sendo formadas, atinge-se a uma determinada concentração denominada concentração de

*overlap* ( $C^*$ ) indicada na Figura 16, nessa concentração as cadeias dos agregados alongados passam a se entrelaçar no sistema, gerando um intenso aumento na viscosidade até atingir um máximo, nesse máximo da região da curva, os agregados micelares são lineares, longos, entrelaçados e com carga residual positiva, na superfície dos agregados proveniente do excesso de surfactantes catiônicos relativo aos ânions.

Após o primeiro máximo, a adição de mais moléculas aromáticas gera um decréscimo na viscosidade do sistema. À medida que os agregados se aproximam da eletroneutralidade em decorrência da adição dos ânions aromáticos, as cadeias das micelas gigantes começam a fundir e gerar uma rede de agregados ramificados, os pontos de ramificação podem deslizar ao longo da rede, gerando um novo mecanismo de relaxação da tensão de cisalhamento, que é refletido na queda de viscosidade.<sup>51,54</sup> No mínimo local da curva os agregados micelares são ramificados e sem carga elétrica superficial, e o sistema é muito mais fluido.

A adição de mais moléculas aromáticas gera um novo crescimento na viscosidade do sistema (mais moléculas de salicilato particionam para o ambiente micelar e por este motivo este ânion é designado como *strongly binding*). A micela volta a apresentar excesso de carga superficial (agora negativa) e altera a morfologia das cadeias de ramificada para entrelaçada. O segundo máximo é então observado. O segundo máximo de viscosidade é menos pronunciado que o primeiro já que o excesso de moléculas aromáticas gera um número maior de agregados, porém mais curtos que os do primeiro máximo. A adição de mais moléculas aromáticas após o segundo máximo, por fim, promove a formação de agregados curtos com grande quantidade de ânions aromáticos na superfície.

A Figura 17 exhibe as curvas como proposto por Rehage – Hoffmann para os sistemas com propofol e os surfactantes catiônicos CTAB e CTAC, nas concentrações de 100, 200 e 300 mmol.L<sup>-1</sup>. É possível destacar algumas semelhanças com a curva mostrada na Figura 16; exceto para o CTAC 100 mmol.L<sup>-1</sup>, observa-se a presença da concentração de *overlap* e o primeiro máximo de viscosidade, entretanto, como o propofol não possui carga, o segundo máximo não é observado. Na Figura 17 as curvas são interrompidas onde a adição de mais propofol gera sistemas turvos ou com separação de fases.



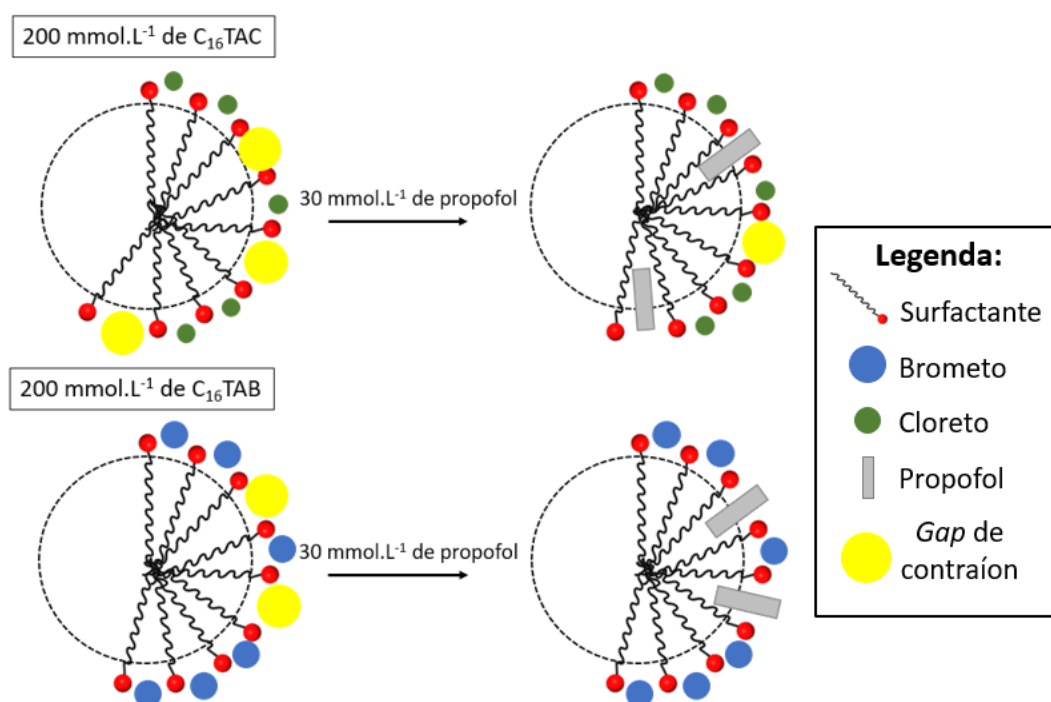
**Figura 17.** Curvas relativas à viscosidade no platô newtoniano para sistemas com concentrações crescentes de propofol e concentrações fixas dos surfactantes catiônicos CTAC e CTAB. A temperatura foi mantida em 25°C.

Diferenças notáveis podem ser observadas na Figura 17 entre as amostras constituídas por CTAB ou CTAC. As razões Propofol/Surfactante em que o sistema passa a exibir turbidez ou separação de fases diferem entre os surfactantes, sistemas com CTAB no geral alcançam razões Propofol/CTAB = 0,7 antes de turvar, já sistemas com CTAC homogêneos são observados em razões Propofol/CTAC > 1,0. De acordo com as curvas, nota-se, portanto, que é possível solubilizar cerca de duas vezes mais propofol em CTAC do que em CTAB na mesma concentração de surfactante. Para ambos os surfactantes, a razão Propofol/Surfactante em que ocorre separação de fases ou turbidez diminui à medida que a concentração de surfactante aumenta.

O aumento mais pronunciado nos valores de viscosidade, associado ao entrelaçamento de micelas gigantes, ocorre para menores concentrações de propofol em sistemas com CTAB quando comparados aos sistemas com CTAC. Posto isso, nota-se que: sistemas com CTAB são capazes de solubilizar menores quantidades de propofol, no entanto, são mais viscosos que CTAC. Fica claro que os contraíons, Br<sup>-</sup> ou Cl<sup>-</sup> são relevantes para as duas propriedades.

Comportamentos semelhantes foram observados para esses mesmos surfactantes no estudo de micelas gigantes formadas com salicilato de sódio feito por

Lutz-Bueno *et al.*<sup>55</sup> A interpretação para explicar as diferenças na formação de micelas gigantes variando o contraíon do surfactante catiônico está relacionada com os diferentes graus de dissociação ( $\alpha$ ) dos ânions dos surfactantes catiônicos, sendo 0,24 para o brometo e 0,39 para o cloreto. Os autores interpretam que a transição de micelas esféricas para micelas cilíndricas ocorre quando as moléculas aromáticas são inseridas na paliçada micelar, entretanto, a transição de micelas cilíndricas para micelas gigantes passa a ocorrer depois que todos os *gaps* formados na dissociação dos contraíons são preenchidos. Dessa forma, como menos *gaps* são formados nas micelas de CTAB, menor é a concentração de aromático necessária para preenchê-los e o crescimento dos agregados começa em menores concentrações de aromático. Além disso, os íons brometo são maiores que os íons cloreto e blindam de forma mais efetiva a repulsão eletrostática entre as cabeças positivas dos surfactantes, sendo sinérgico à inserção da molécula aromática para o aumento do CPP. Com base nesta interpretação, pode-se propor, como representado na Figura 18, que as diferenças descritas na inserção do propofol no ambiente micelar em sistemas com esses dois surfactantes catiônicos, contribuem para as diferenças reológicas mostradas na Figura 17.



**Figura 18.** Representação da inserção do propofol em micelas formadas por CTAB ou CTAC. A quantidade de *gaps* de dissociação depende do contraíon em cada sistema.

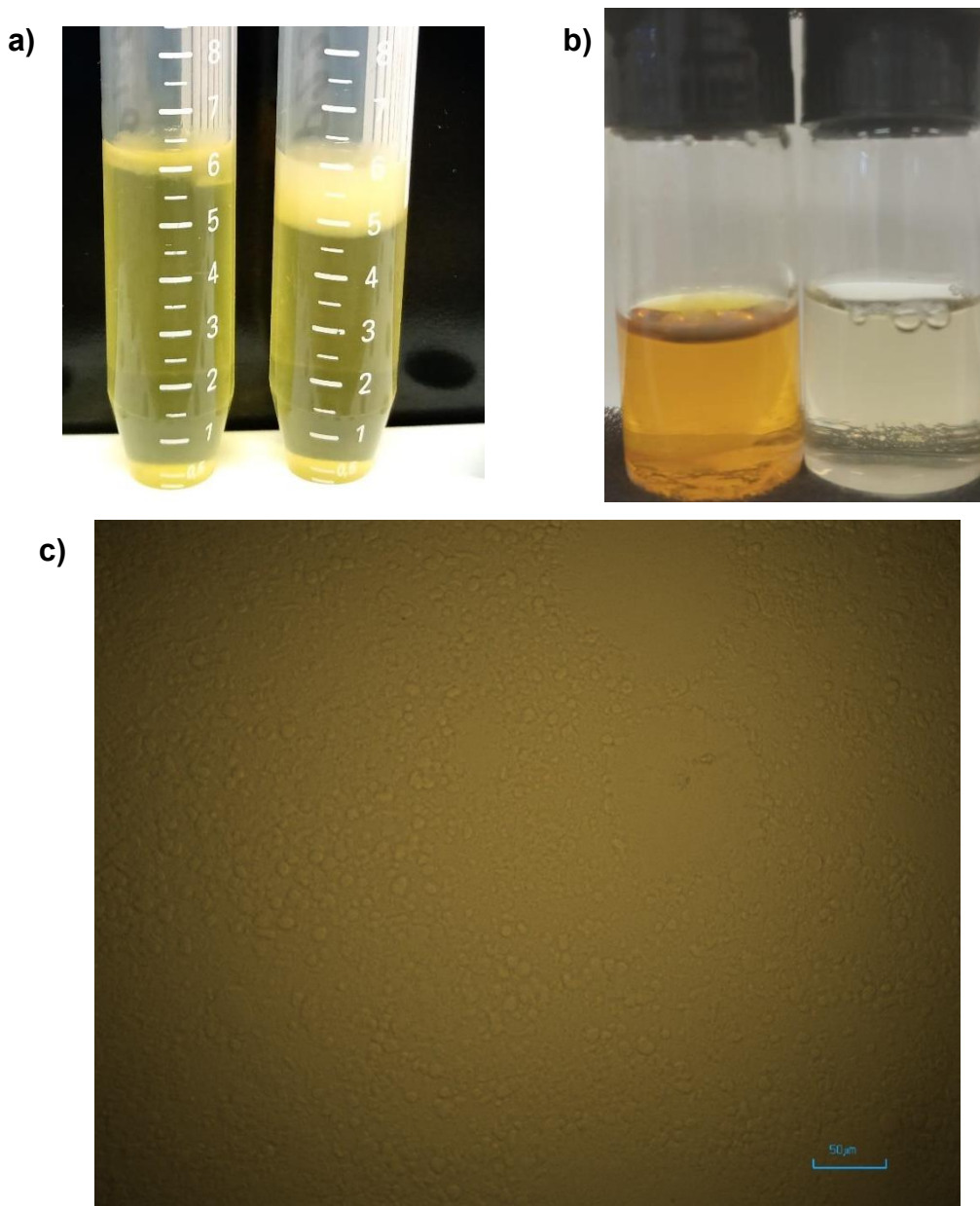
Na Figura 18, vale mencionar que os *gaps* de dissociação de contraíon são ilustrativos, sendo que esses espaços são preenchidos por água ou até mesmo por caudas hidrofóbicas torcidas dos surfactantes catiônicos que ocupam o espaço antes da inserção das moléculas aromáticas.

Uma interpretação alternativa para explicar os resultados da Figura 17 pode ser proposta, considerando por exemplo a comparação entre os resultados para os dois surfactantes na concentração de 300 mmol.L<sup>-1</sup>, pode-se observar que a viscosidade no máximo da curva é cerca de 100 vezes maior nas micelas formadas por CTAB em comparação com o CTAC. No entanto, a capacidade de solubilizar propofol é cerca de 2,5 vezes maior em CTAC em relação ao CTAB. Esses aspectos podem estar relacionados com a própria tendência de agregação dos dois surfactantes em água. Devido à menor repulsão entre as cabeças dos surfactantes no caso das micelas de CTAB, associado ao menor grau de dissociação do brometo, a cmc para este surfactante (0,9 mmol.L<sup>-1</sup>) é em torno de 60% menor que a do CTAC (1,6 mmol.L<sup>-1</sup>). Assim, naturalmente é esperado que na presença de propofol o crescimento e entrelaçamento das micelas gigantes ocorra em menores concentrações do aromático para o CTAB, respaldado pelos dados de viscosidade. O crescimento micelar é limitado por questões entrópicas<sup>23,55</sup> e assim, uma razão de propofol/CTAB menor que uma razão de propofol/CTAC faz com que o agregado atinja o limite de crescimento, o que é refletido na menor capacidade de incorporação de propofol, que por sua vez está associado a solubilidade do anestésico no sistema.

Na Figura 17, uma característica das curvas segundo o modelo de Rehage – Hoffmann chama atenção; se as moléculas de propofol não possuem carga, não é possível explicar a queda de viscosidade após o primeiro máximo pelo mesmo mecanismo discutido para a curva mostrada na Figura 16, já que o sistema não caminha em direção a eletroneutralidade para induzir a formação de agregados ramificados. Em sistemas com fenóis, as micelas gigantes formadas por surfactantes catiônicos não perdem a carga residual positiva e comportam-se como bastões rígidos.<sup>24</sup> Uma possível interpretação para a queda de viscosidade é a que o acúmulo de moléculas orgânicas neutras de propofol faz com que as moléculas de surfactante se reorganizem para um arranjo mais próximo ao de uma emulsão, o que causa a queda na viscosidade. Esse rearranjo já foi reportado na literatura.<sup>56-58</sup>

A interpretação que o sistema de micelas gigantes evolui para um arranjo semelhante ao de uma emulsão é coerente com a separação de fases que ocorre nos

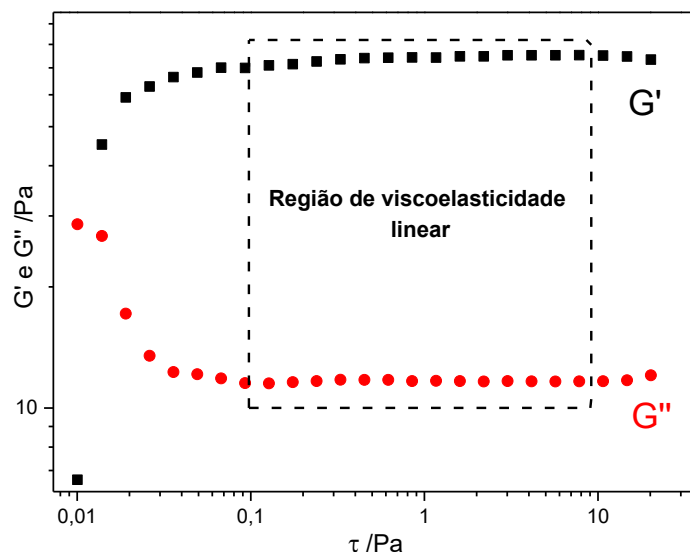
sistemas se uma grande quantidade de propofol for adicionada. É bem conhecido que micelas gigantes se desfazem ao entrar em contato com uma fase óleo<sup>16,18</sup>. A Figura 19a mostra uma fotografia contendo os sistemas com 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC e 190 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol (esquerda) ou 220 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol (direita), portanto, além do máximo de viscosidade para este sistema. Na Figura 19a os sistemas foram centrifugados e nota-se que o aumento da concentração de propofol resultou no aumento relativo da quantidade da fase turva (menos densa).



**Figura 19.** a) Fotografia da separação de fases em sistemas com CTAC e propofol após a centrifugação. b) Fotografia de frascos contendo propofol ou água após a deposição de uma gota da fase turva retirado do sistema em a). c) Observação em microscópio óptico de gota de fase turva do sistema mostrado em a).

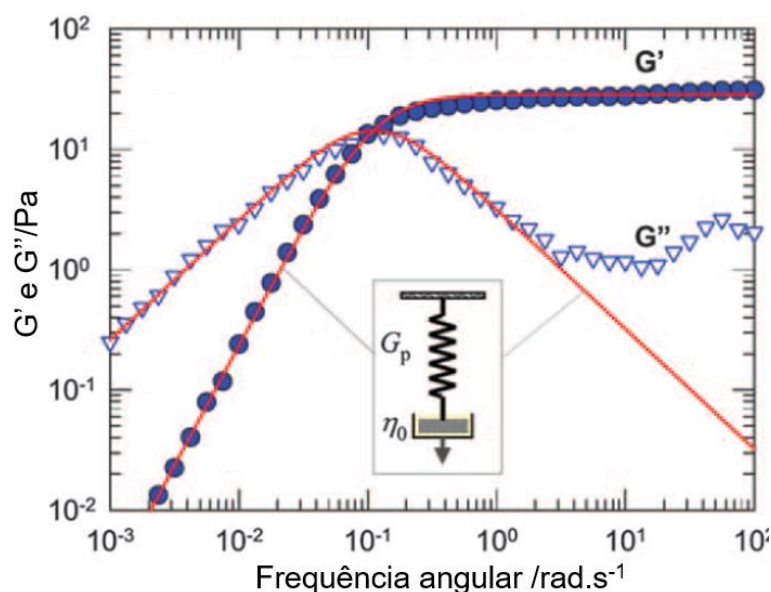
Na Figura 19b, uma gota da fase turva do sistema mais rico em propofol da Figura 16a é depositada em frascos contendo propofol puro ou água (frasco à esquerda e à direita respectivamente na Figura 19b). Nota-se que a gota não mistura com propofol puro, mas é desfeita em água, fazendo o sistema adquirir coloração levemente amarelada. Isso pode novamente indicar que a fase turva superior da Figura 19a possui arranjo parecido com o de uma emulsão O/W. A imagem obtida em microscópio óptico mostrada em 18c reforça a hipótese de que existem pequenas gotas emulsionadas no sistema, entretanto, devido a seu provável diminuto tamanho, não foi possível observá-las com boa resolução usando microscópio óptico. A discussão sobre a disposição das moléculas de propofol nos sistemas investigados neste trabalho será mais aprofundada na seção 4.1.3.

Conforme descrito na seção 3.3, os ensaios de reologia oscilatória foram realizados em duas etapas. Na primeira etapa, ensaio oscilatório de amplitude, a amostra é cisalhada em uma frequência fixa e varia-se a amplitude da tensão de cisalhamento aplicada, afim de se encontrar o intervalo de tensão em que os módulos  $G'$  e  $G''$  são paralelos e constantes, a chamada região de viscoelasticidade linear. Um valor de tensão dentro deste intervalo deve ser utilizado no experimento da segunda etapa, oscilatório de frequência, onde mantém-se a tensão constante e varia-se a frequência de cisalhamento. Valores de tensão fora da região de viscoelasticidade linear provocam grandes deformações na amostra e a resposta reológica dos módulos  $G'$  e  $G''$  não reflete o real comportamento reológico da amostra devido a desestruturação interna causada pelo cisalhamento aplicado. Um exemplo de um reograma de um ensaio oscilatório de amplitude com destaque a região de viscoelasticidade linear é mostrado na Figura 20.



**Figura 20.** Exemplo de resultado obtido em ensaio oscilatório de amplitude, sistema utilizado: Propofol 50 mmol.L<sup>-1</sup> e CTAB 200 mmol.L<sup>-1</sup>. A região de viscoelasticidade linear corresponde ao intervalo entre 0,1 e 10 Pa. A temperatura foi mantida em 25°C.

Após determinar a região de viscoelasticidade para todas as amostras, prosseguiu-se para os ensaios oscilatórios de frequência. O comportamento de sistemas de micelas gigantes nos ensaios oscilatórios de frequência é bastante documentado na literatura<sup>23,25,59,60</sup>. A Figura 21 exemplifica o perfil usual do espectro de frequências de sistemas de micelas gigantes formados por surfactantes catiônicos e ânions aromáticos.



**Figura 21.** Ensaio oscilatório de frequência de sistema de micela gigante composto por 100 mmol.L<sup>-1</sup> de CPyCl e 60 mmol.L<sup>-1</sup> de NaSal. As linhas vermelhas cheias referem-se ao ajuste do modelo de Maxwell. Adaptado da referência 58.

Analisando o resultado da Figura 21, nota-se que o sistema de micelas gigantes possui comportamento viscoelástico. Em baixas frequências de oscilação, o módulo  $G''$  é mais pronunciado que  $G'$ , indicando resposta predominantemente viscosa do sistema ao ser cisalhado, isso ocorre pois em baixas frequências o sistema possui mais tempo para relaxar, visto que a frequência é a grandeza inversa ao tempo, dessa forma, mecanismos mais cooperativos de relaxação podem ocorrer, como por exemplo o deslizamento de cadeias de micelas gigantes entrelaçadas. Em altas frequências de oscilação o módulo  $G'$  torna-se mais pronunciado que  $G''$ , indicando resposta predominantemente elástica do sistema ao ser cisalhado. Isso ocorre pois o sistema relaxa por mecanismos menos cooperativos de segmentos menores das cadeias das micelas gigantes em decorrência do menor tempo disponível para relaxar.

Um modelo para interpretar a viscoelasticidade em sistemas de micelas gigantes foi proposto por Cates<sup>23,61</sup>, neste modelo as micelas gigantes, quando submetidas a tensões, podem relaxar através do mecanismo de reptação assim como sistemas poliméricos, entretanto, outro mecanismo de relaxação designado como cinético passou a ser considerado, neste mecanismo, considera-se os processos de quebra e recombinação dos agregados micelares que estão constantemente ocorrendo. De acordo com o modelo de Cates, quando o tempo de relaxação através da quebra e recombinação,  $\tau_{br}$  é muito menor que o tempo de relaxação por reptação,  $\tau_{rep}$ , o sistema exibe um único tempo de relaxação característico,  $\tau_R$ , dado na Equação 4.

$$\tau_R = (\tau_{rep}\tau_{br})^{\frac{1}{2}}, \text{ quando } \tau_{br} \ll \tau_{rep} \quad \text{Equação 4}$$

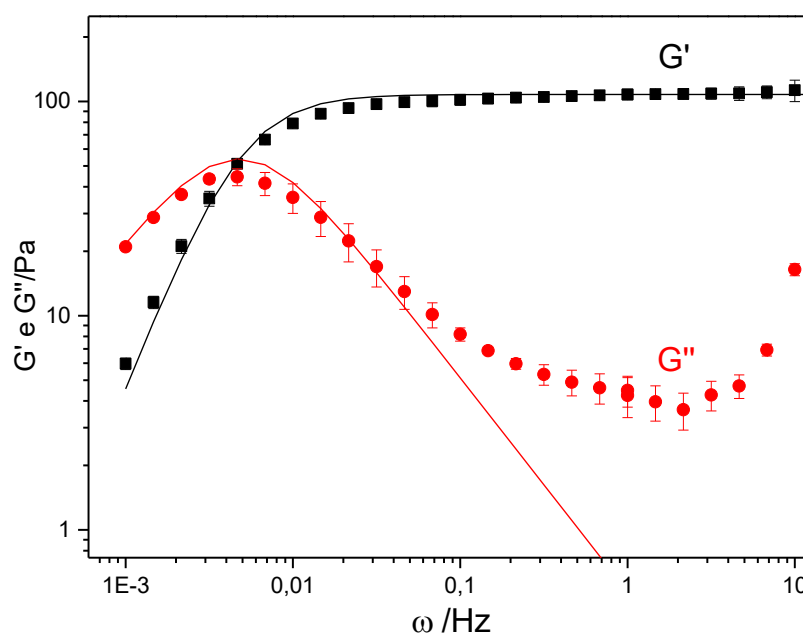
Nos sistemas que obedecem a condição do modelo de Cates, as curvas de  $G'$  e  $G''$  em função da frequência de oscilação, são descritas pelas equações do modelo de Maxwell, indicadas nas Equações 5 e 6. Na Figura 21, os ajustes do modelo de Maxwell para  $G'$  e  $G''$  são representados pelas linhas cheias vermelhas. De acordo com o modelo de Maxwell, a resposta mecânica da amostra pode ser descrita pela associação em série de um pistão preenchido com fluido de viscosidade  $\eta_0$ , que representa a parte viscosa e, uma mola com constante elástica  $G_P$  que representa a parte elástica, como representado na ilustração interna da Figura 21.

$$G'(\omega) = \frac{G_0 \omega^2 \tau_R^2}{(1 + \omega^2 \tau_R^2)} \quad \text{Equação 5}$$

$$G''(\omega) = \frac{G_0 \omega \tau_R}{(1 + \omega^2 \tau_R^2)} \quad \text{Equação 6}$$

Nas Equações 5 e 6,  $G_0$  corresponde ao valor de  $G'$  no platô em altas frequências após o cruzamento dos módulos, o tempo de relaxação  $\tau_R$  pode ser obtido pelo inverso da frequência em que os módulos  $G'$  e  $G''$  se cruzam. No ajuste do modelo de Maxwell da Figura 21 nota-se que um desvio bastante substancial do modelo ocorre para  $G''$  em altas frequências, esse desvio é comum em sistemas de micelas gigantes e está associado ao aparecimento de outros mecanismos de relaxação em altas frequências como os movimentos Rouseanos e de *breathing*.<sup>59</sup> Além da reptação e quebra e recombinação previstos no modelo de Cates, esses novos mecanismos de relaxação geram o desvio em relação ao previsto no modelo de Maxwell que não os leva em consideração.

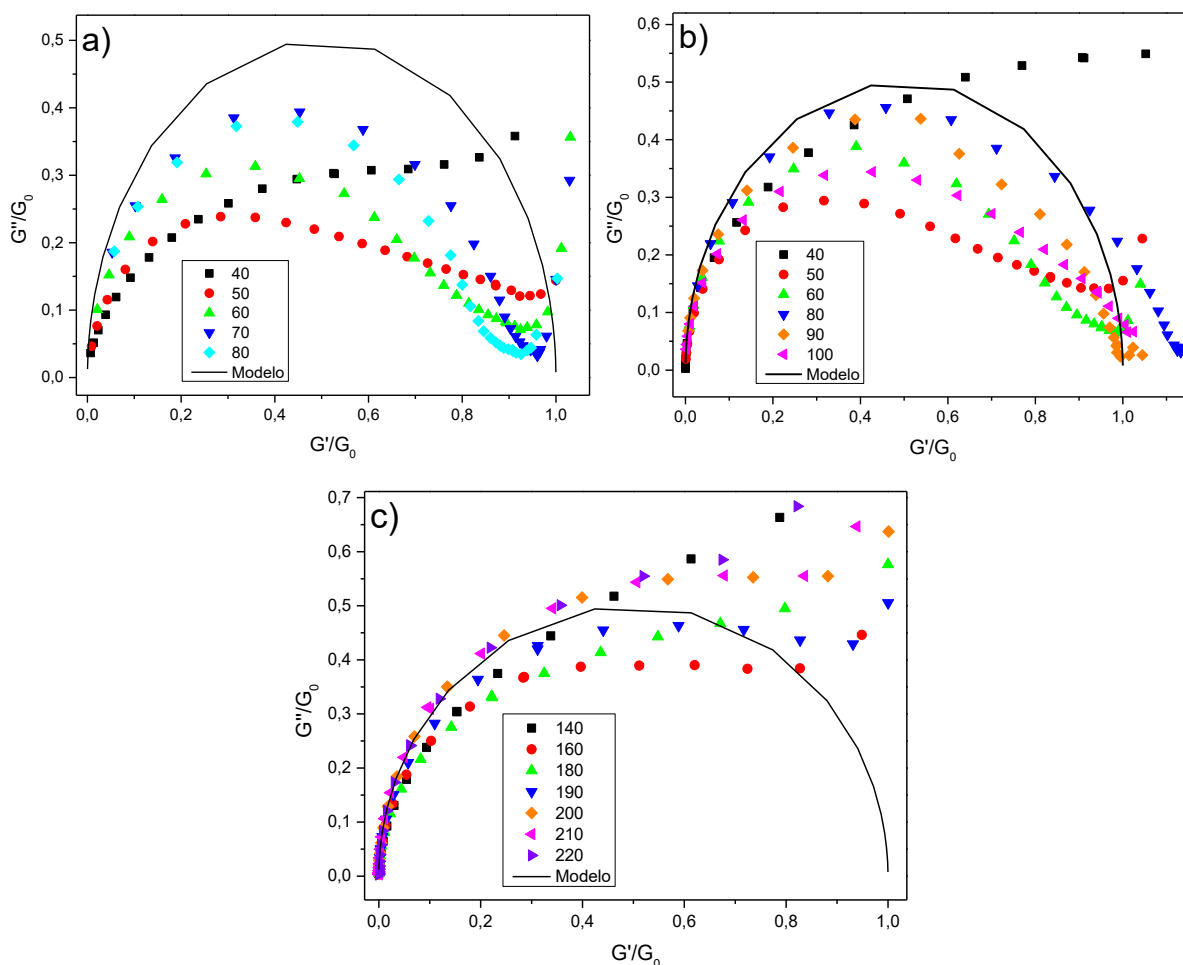
A Figura 22 mostra um resultado do ensaio oscilatório de frequência para uma amostra com 70 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol e 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB e o ajuste de  $G'$  e  $G''$  ao modelo de Maxwell.



**Figura 22.** Ensaio oscilatório de frequência de sistema de micela gigante composto por 70 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol e 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB. As linhas cheias referem-se ao ajuste do modelo de Maxwell. A temperatura foi mantida em 25°C.

Analisando a Figura 22, nota-se que os dados do sistema com 70 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol e 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB seguem razoavelmente o modelo de Maxwell. No Material suplementar estão apresentadas as curvas de todos os sistemas investigados. Uma outra forma de avaliar o ajuste dos dados dos ensaios oscilatórios

de frequência ao modelo de Maxwell é através dos gráficos de Cole–Cole <sup>62</sup>, onde  $G'$  é disposto no eixo das abscissas e  $G''$  no eixo das ordenadas, ambos normalizados por  $G_0$ , em toda a faixa de frequência estudada. A Figura 23 mostra os gráficos Cole – Cole referentes aos sistemas com propofol e 200 ou 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB ou 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC.



**Figura 23.** Gráficos Cole – Cole para diferentes concentrações de propofol (mostradas na legenda em mmol.L<sup>-1</sup>) com a) 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB b) 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB c) 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC. A linha preta cheia refere-se ao ajuste perfeito do modelo de Maxwell, para ser usada como referência. A temperatura foi mantida em 25°C.

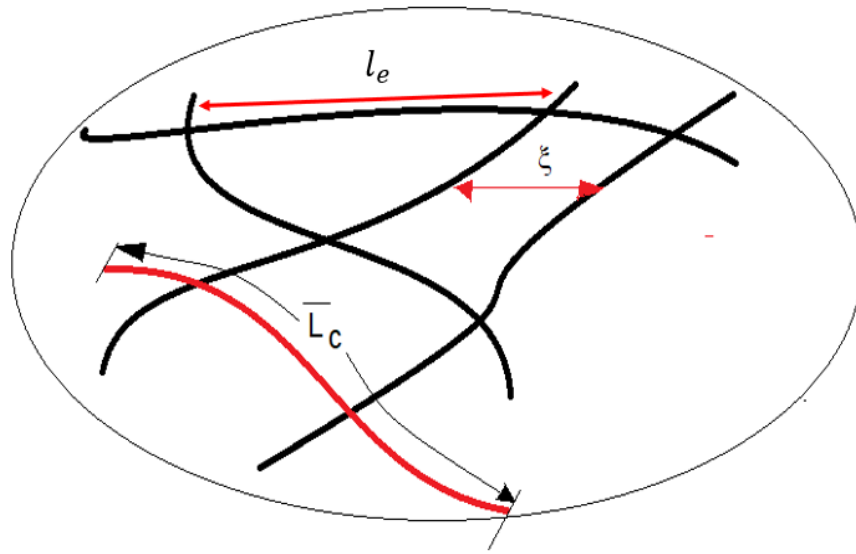
Nos gráficos do tipo Cole – Cole, o ajuste ao modelo de Maxwell é representado por uma semicircunferência de raio 0,5 quando os módulos que compõe os eixos do gráfico são normalizados por  $G_0$ . Nota-se nos gráficos da Figura 23 que as amostras com maior concentração de surfactante catiônico seguem melhor o ajuste ao modelo

de Maxwell. Comparando os gráficos da Figura 23b e c, que representam sistemas com 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB e CTAC respectivamente, observa-se que os sistemas com CTAC perdem a correlação com a semicircunferência antes que as amostras com CTAB, novamente indicando que as micelas formadas pelo surfactante com brometo são maiores, mais entrelaçadas e assim portanto, mais viscoelásticas e seguem melhor o modelo de Maxwell

Vale lembrar que, conforme descrito na seção 3.3, as concentrações menores dos surfactantes catiônicos investigadas por reologia não – linear como visto na Figura 17 não são tão viscosas quanto os sistemas estudados na Figura 23, e, portanto, a menor viscosidade indica a presença de agregados menores e menos entrelaçados no sistema, de forma que naturalmente não seguem o modelo de Maxwell.

Desvios do modelo de Maxwell para micelas gigantes formadas por surfactantes catiônicos e moléculas aromáticas neutras foram demonstradas por Creatto.<sup>63</sup> Possivelmente, isto se relaciona com a presença de carga elétrica na superfície das micelas gigantes, que evita o contato entre as cadeias e, portanto, afetando os mecanismos de reptação e quebra e recombinação.

Os dados de reologia no regime linear também possibilitam determinar alguns parâmetros estruturais das micelas gigantes, como o *mesh size* ( $\xi$ ) que corresponde a distância média entre cadeias dos agregados no espaço, e é relacionado a densidade de emaranhamento. O comprimento de entrelaçamento ( $l_e$ ) é a distância entre dois pontos de entrelaçamento ao longo do agregado e o comprimento de contorno médio das cadeias das micelas gigantes no meio ( $\bar{L}_C$ ). A Figura 24 ilustra esses parâmetros



**Figura 24.** Representação da estrutura de cadeias de micelas gigantes entrelaçadas e comprimentos característicos.

Com os dados obtidos nos ensaios oscilatórios de frequência, o comprimento de contorno  $\bar{L}_C$  pode ser estimado a partir da Equação 7:

$$\bar{L}_C = \frac{l_e G_0}{G''_{min}} \quad \text{Equação 7}$$

Onde  $G_0$  é o valor do módulo elástico no platô após o cruzamento,  $G''_{min}$  é o valor mínimo do módulo viscoso após o cruzamento e  $l_e$  é o comprimento de entrelaçamento que pode ser estimado na Equação 8:

$$l_e = \frac{\xi^{\frac{5}{3}}}{l_p^{\frac{2}{3}}} \quad \text{Equação 8}$$

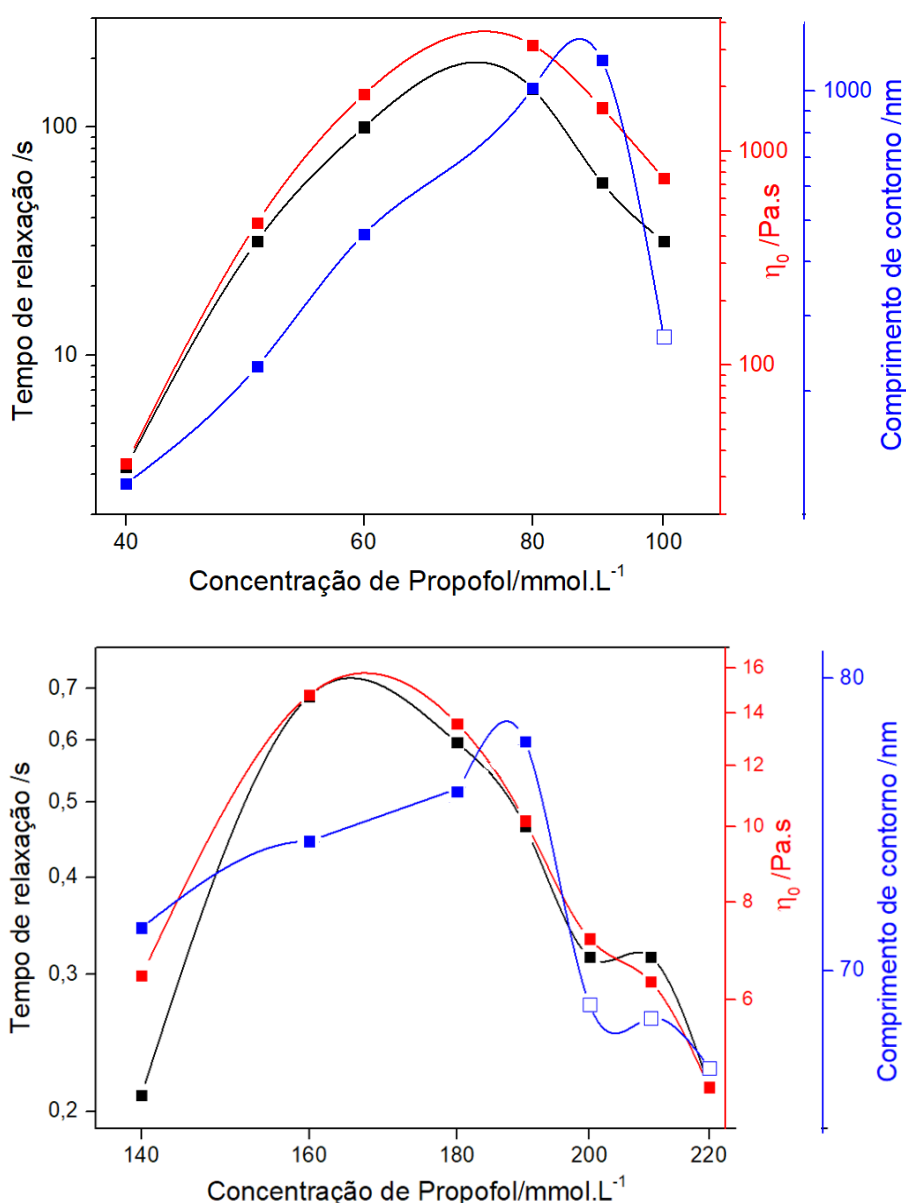
Sendo o *mesh size* e  $l_p$  o comprimento de persistência. O *mesh size* por sua vez, pode ser estimado na Equação 9:

$$\xi = \left( \frac{k_b T}{G_0} \right)^{1/3} \quad \text{Equação 9}$$

$k_b$  é a constante de Boltzmann e  $T$  é a temperatura.

O comprimento de persistência  $l_p$  está associado ao comprimento dos segmentos que estão espacialmente correlacionados, de forma que: quanto maior o comprimento de persistência menos flexíveis são as micelas gigantes. Na literatura encontra-se que a faixa de comprimentos de persistência típica para micelas gigantes formadas por

surfactantes catiônicos é entre 20 e 50 nm.<sup>23,64</sup> Para comparar os comprimentos de contorno dos sistemas investigados neste trabalho, será utilizado 30 nm como comprimento de persistência nos cálculos para os surfactantes catiônicos estudados.<sup>64</sup> A Figura 25 mostra como os comprimentos de contorno calculados a partir da Equação 7, as viscosidades no platô Newtoniano e os tempos de relaxação característicos, variam com a concentração de propofol, em soluções contendo 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB e CTAC.



**Figura 25.** Comparação entre os perfis de variação da viscosidade no platô Newtoniano ( $\eta_0$ , curva em vermelho), tempo de relaxação (curva em preto) e os comprimentos de contorno ( $\bar{L}_c$  curva em azul) obtidos em sistemas com propofol e 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB (acima) ou 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC (abaixo).

Os comprimentos de contorno calculados nos sistemas com os surfactantes investigados estão na ordem de dezenas de nanômetros até unidades de micrômetro, ordem de grandeza característica do comprimento de contorno de micelas gigantes.<sup>14</sup> Nota-se que as 3 grandezas possuem correlação: primeiro todas aumentam, o que é reflexo do aumento de tamanho e entrelaçamento das cadeias dos agregados micelares, causado pela incorporação crescente de propofol.

Após os máximos observados nas curvas, duas possíveis interpretações são colocadas para explicar as quedas na viscosidade do platô newtoniano e tempo de relaxação. A primeira interpretação está relacionada com a formação de estruturas micelares ramificadas. Como já proposto na literatura para sistemas constituídos por surfactantes catiônicos e ânions aromáticos, essas estruturas são mais eficientes na dissipação da tensão de cisalhamento aplicada por serem mais fluídas, visto que os pontos de ramificação são capazes de deslizar sobre a malha micelar como mostrado por Olsson *et al.* através da RMN.<sup>65</sup> As estruturas ramificadas são formadas na condição em que as micelas iônicas tendem a neutralidade da carga superficial. É possível que o crescimento micelar provocado pela incorporação de propofol gere uma maior condensação de ânions (cloreto ou brometo) na superfície das micelas gigantes acarretando em uma progressiva neutralização das cargas superficiais, já que o propofol por si só, é neutro. Nesta interpretação, a abrupta queda de viscosidade e separação de fases estão associados a uma possível insolubilidade da macroestrutura das micelas gigantes em água causada pela ausência de carga superficial.

Na segunda interpretação, as quedas na viscosidade e tempo de relaxação e a separação de fases com a adição de mais propofol ao sistema, estão relacionadas a transição da morfologia do sistema de micelas gigantes para um arranjo semelhante ao de uma emulsão, onde as moléculas de surfactante são distribuídas na interface de gotas de propofol com o ambiente aquoso, como apresentado na discussão da fotografia da Figura 19. A análise macroscópica das soluções na faixa estudada por ensaios reológicos, não apresenta opacidade, que seria característico de um sistema emulsionado.

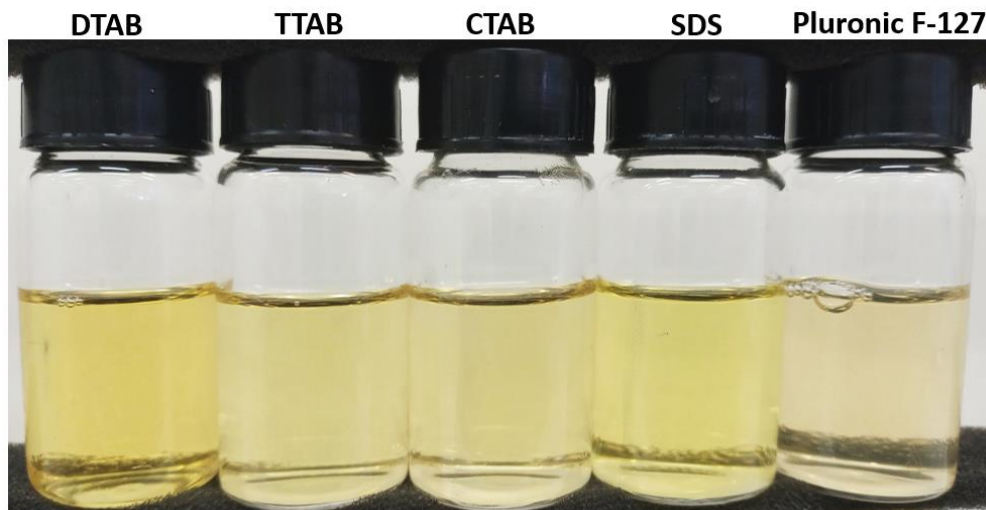
Analisando o parâmetro  $\overline{L_c}$  observa-se uma significativa diminuição na extensão das micelas gigantes após o máximo, na medida em que a quantidade de propofol

aumenta. O modelo de Cates não prevê a formação de agregados ramificados ou a reorganização do sistema para uma emulsão, por isso, os pontos referentes a queda do comprimento de contorno são mostrados como pontos vazios na Figura 25. A hipótese de que há de fato uma redução no comprimento de agregados de micelas gigantes foi descrita na literatura por Kwiatkowski *et al.*<sup>66</sup>, entretanto, esta hipótese necessita do respaldo de outras técnicas experimentais para ser melhor aferida.

#### **4.1.3 Resultados de espectroscopia eletrônica de absorção e de fluorescência – Investigando o impacto da morfologia micelar no aumento de solubilidade do Propofol.**

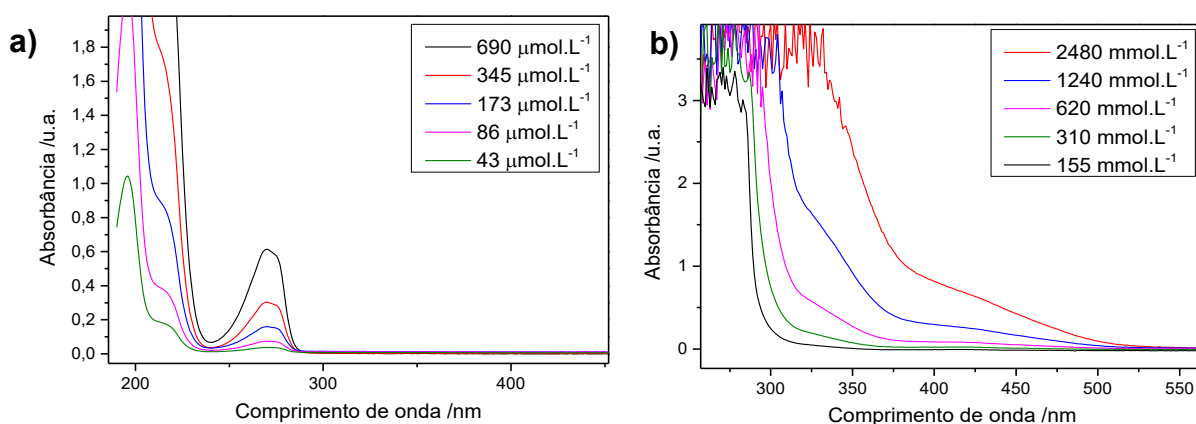
Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos através de técnica espectroscópicas, estes experimentos foram realizados com a finalidade de investigar a distribuição das moléculas de propofol, que é uma molécula fluorescente, nos agregados micelares.<sup>27,28</sup> Estes resultados podem auxiliar na formulação de uma interpretação para explicar a maior solubilidade do propofol nos sistemas que formam micelas gigantes (TTAB, CTAB e CTAC) ou agregados alongados/clusters de micelas esféricas (Pluronic F-127).

A fotografia exibida na Figura 26 mostra sistemas com concentração fixa em 80 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol combinado com 300 mmol.L<sup>-1</sup> dos surfactantes DTAB, TTAB, CTAB e SDS ou 10 mmol.L<sup>-1</sup> do surfactante Pluronic F-127. Na Figura 26, nota-se que, apesar dos sistemas possuírem a mesma concentração de propofol, suas tonalidades de amarelo (coloração característica do propofol) diferem, sendo menos intensas nos sistemas com CTAB, TTAB e Pluronic F-127, os mesmos surfactantes que promovem a formação de micelas gigantes ou agregados alongados/clusters de micelas esféricas como visto nas curvas de fluxo da Figura 15.



**Figura 26.** Fotografia de sistemas com concentração fixa de  $80 \text{ mmol.L}^{-1}$  de propofol com  $300 \text{ mmol.L}^{-1}$  dos surfactantes DTAB, TTAB, CTAB e SDS ou com  $10 \text{ mmol.L}^{-1}$  dos surfactante Pluronic F-127.

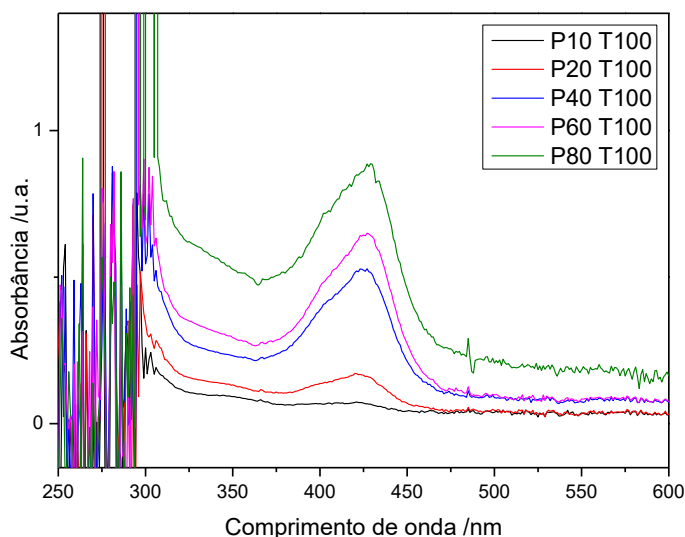
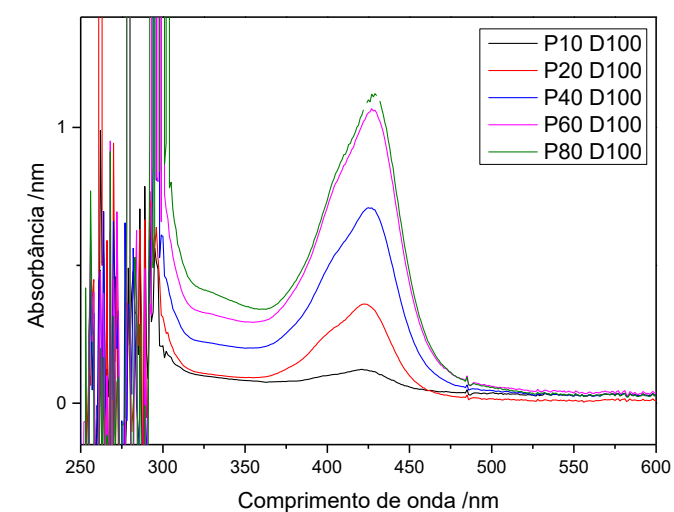
Soluções muito diluídas de propofol ( $< 1 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) são incolores, a coloração amarelada começa a aparecer em sistemas quando a concentração do anestésico está na ordem de  $10 \text{ mmol.L}^{-1}$ , além disso, propofol em sua forma pura é um líquido de coloração amarela intensa, dessa forma, infere-se que a coloração amarelada está associada a moléculas de propofol que interagem com outras moléculas de propofol. Os espectros de absorção obtidos na Figura 27 para soluções com diferentes faixas de concentração de propofol reforçam a hipótese colocada acima. Os sistemas mais concentrados em propofol foram investigados em n – hexano pois nessa faixa de concentração não seriam solúveis em água.

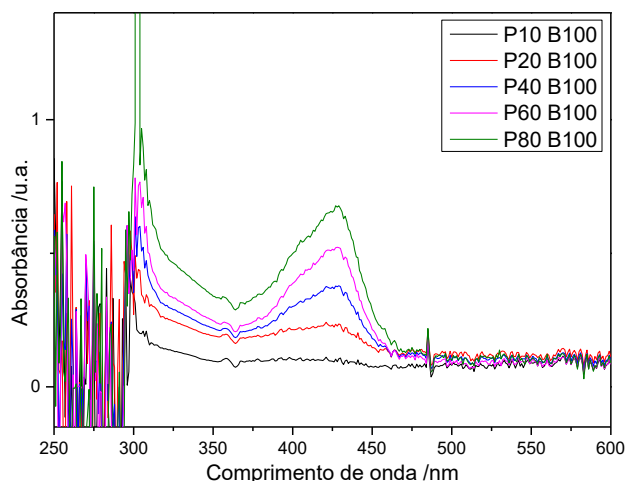


**Figura 27.** Espectros eletrônicos de absorção de propofol em diferentes concentrações em a) água e em b) n-hexano.

Como mostrado na Figura 27a, o propofol possui uma banda característica por volta de 285 nm mas nenhuma banda na região do visível quando em baixas concentrações. Nos espectros em n- hexano da Figura 27b, uma pequena banda ao redor de 425 nm (responsável pela coloração amarela) aparece quando a concentração de propofol está ao redor de 310 mmol.L<sup>-1</sup>.

Na Figura 28 estão apresentados os espectros eletrônicos de absorção para diferentes concentrações de propofol em soluções contendo 100 mmol.L<sup>-1</sup> de DTAB, TTAB e CTAB.



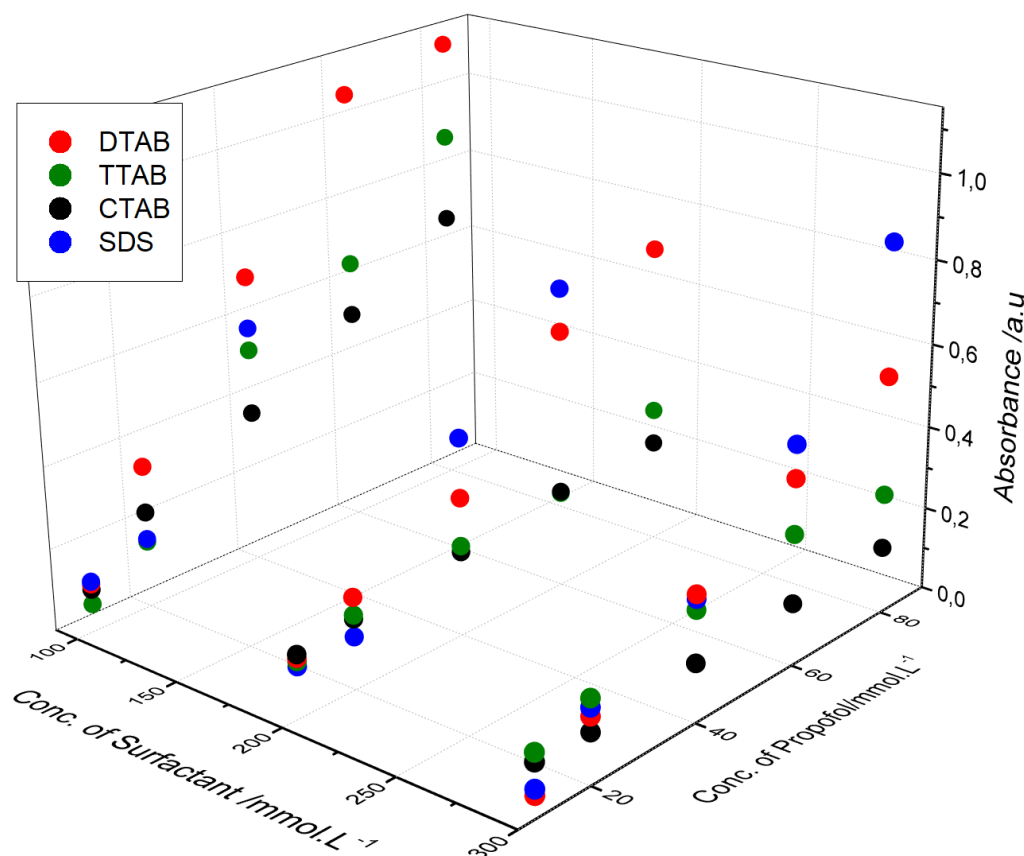


**Figura 28.** Espectros eletrônicos de diferentes concentrações de propofol em 100 mmol.L<sup>-1</sup> de DTAB (acima), TTAB (meio) e CTAB (abaixo). As concentrações de propofol são mostradas na legenda em mmol.L<sup>-1</sup>

Como pode ser observado na Figura 28, a banda de absorção característica associada com a coloração amarela aparece bem resolvida em 425 nm. Como todos os espectros foram obtidos nas mesmas condições, as intensidades relativas das bandas em 425 nm podem ser comparadas, nota-se que as bandas são mais intensas em DTAB e menos intensas em CTAB. Assim, pode-se concluir que a formação dos agregados das moléculas de propofol que resultam na cor amarela é maior em DTAB e menor em CTAB.

Comparando os sistemas com CTAB e TTAB, como mostrado através dos valores de viscosidade nas curvas de fluxo da Figura 15, as micelas gigantes formadas em CTAB devem ser maiores que as formadas em TTAB, principalmente devido à maior agregação causada pelo efeito hidrofóbico que é mais pronunciado no surfactante de cadeia mais longa. Assim, a formação dos agregados de propofol que absorvem em 425 nm são ainda menos favorecidos em CTAB em comparação com os sistemas com TTAB.

Foi avaliado como se dá a variação da intensidade na banda em 425 nm do propofol, frente as variações nas concentrações dos surfactantes catiônicos e também do SDS, que sabidamente não forma micelas gigantes com propofol. Os resultados estão apresentados na Figura 29.



**Figura 29.** Valores de absorbância obtidos para a banda em 425 nm em função da concentração de surfactante e concentração de propofol nos sistemas investigados.

Os espectros de absorção utilizados para construir a Figura 29 são mostrados no Material Suplementar.

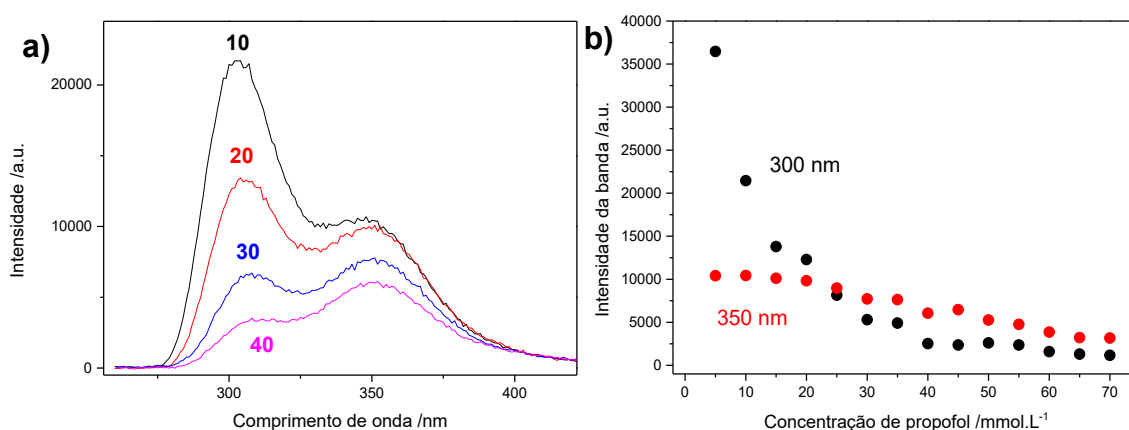
Como pode-se observar na Figura 29, o aumento na absorbância da banda em 425 nm é proporcional a quantidade de propofol em todos os sistemas, entretanto, o aumento da absorbância com a concentração de propofol é mais acentuado nos sistemas com DTAB e SDS.

Portanto, com base na Figura 29, pode-se considerar que os surfactantes CTAB e TTAB (e o Pluronic F-127) desfavorecem a agregação das moléculas de propofol em comparação com os sistemas que contém DTAB e SDS e, assim, a coloração amarela é menos intensa. Isto provavelmente está associado a formação de micelas gigantes, onde as moléculas aromáticas são inseridas entre as cabeças dos surfactantes catiônicos como ilustrado na Figura 8. Nos sistemas com DTAB e SDS, as moléculas de propofol provavelmente interagem entre si no *core* hidrofóbico micelar, resultando na coloração amarelada mais intensa.

Esta diferença na distribuição das moléculas de propofol causada pela formação de micelas gigantes é o que possibilita a maior capacidade de solubilização do anestésico em sistemas com esse tipo de agregado como representado nos diagramas de fase da Figura 11, o impedimento imposto a agregação das moléculas aromáticas retarda a transição para o arranjo semelhante a emulsão que desencadeia a separação de fases no sistema. A agregação de fenóis em ambiente micelar já foi reportada na literatura por Chaghi *et al.*<sup>44</sup>

O propofol é uma molécula fluorescente assim como a maioria das moléculas aromáticas, dessa forma, sistemas que contenham propofol podem ser investigados através de experimentos de fluorescência. Esta técnica já foi previamente utilizada na investigação da formação de micelas gigantes formadas pela combinação de CTAB e salicilato.<sup>27,28</sup>

A Figura 30a mostra os espectros de emissão do propofol, obtidos para sistemas com concentração fixa de CTAB em  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  e variando a concentração da molécula aromática. Os espectros de emissão possuem duas bandas: uma na região de 300 nm e outra na região de 350 nm, o que caracteriza a presença de pelo menos duas espécies emissoras. Nota-se que, ao se aumentar a concentração de propofol no sistema, a intensidade de todo o espectro diminui, isto está relacionado aos efeitos de auto – absorção das moléculas aromáticas, onde uma molécula de propofol absorve a radiação emitida por outra molécula de propofol.



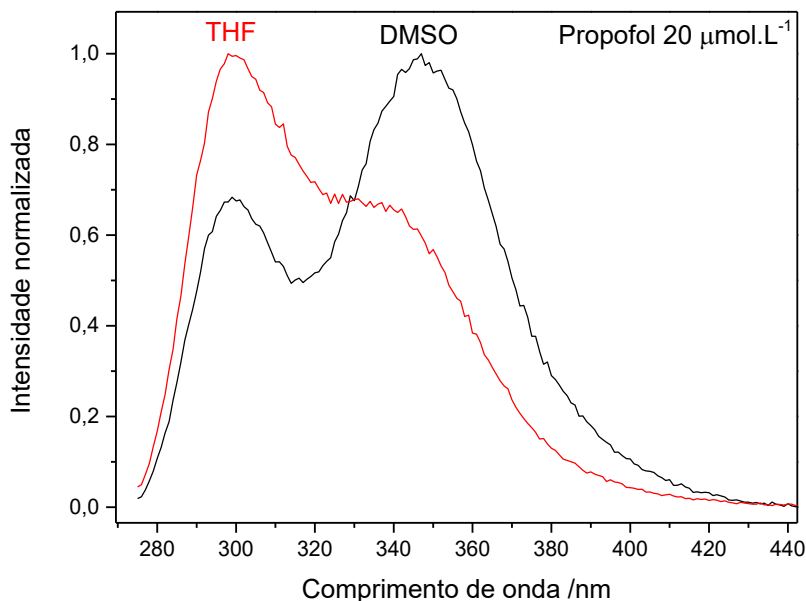
**Figura 30.** a) Espectros de emissão obtidos para sistemas com concentração fixa em  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAB e variando a concentração de propofol (mostrado acima de cada espectro). b) Intensidade das bandas em 300 nm e 350 nm em função da concentração de propofol.

Os espectros de emissão investigados contemplam a região entre 250 e 420 nm e, portanto, não estão relacionados com a emissão que resulta na coloração amarela dos sistemas que é associada a banda de absorção em 425 nm (Figura 28).

Ao comparar os espectros de emissão (Figura 30a) com o espectro de absorção do propofol em água (Figura 27a), atribui-se que a espécie emissora em 300 nm está relacionada com a forma unimérica do propofol, visto que a banda de emissão em 300 nm é especular à de absorção em 285 nm, já a banda em 350 nm provavelmente está relacionada aos agregados das moléculas do anestésico. Esta interpretação é reforçada quando se analisa os espectros de emissão e observa-se que a intensidade relativa das bandas varia com o aumento da concentração de propofol, onde a intensidade da banda em 300 nm diminui mais intensamente do que a da banda em 350 nm como representado na Figura 30b, assim, ao se aumentar a concentração de propofol, a fração de moléculas agregadas aumenta relativamente.

A atribuição das bandas de emissão feita acima é coerente com os espectros de emissão mostrados na Figura 31 para propofol solubilizado em THF ou DMSO. O DMSO é um solvente mais polar que o THF, dessa forma, sua interação com uma molécula predominantemente apolar como o propofol é desfavorecida e preferencialmente as moléculas de propofol interagem entre si gerando os agregados de moléculas de propofol, o que é refletido na maior intensidade relativa da banda na região de 350 nm no sistema com DMSO.

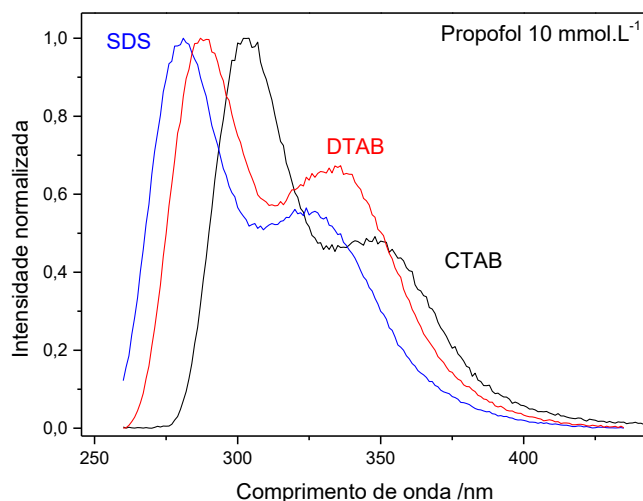
Devido à baixa solubilidade do propofol em água, não é possível observar a formação de agregados nesse solvente sem a presença de surfactantes, o espectro de emissão de propofol em água está apresentado no Material Suplementar.



**Figura 31.** Espectros de emissão normalizados obtidos para  $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$  nos solventes THF e DMSO.

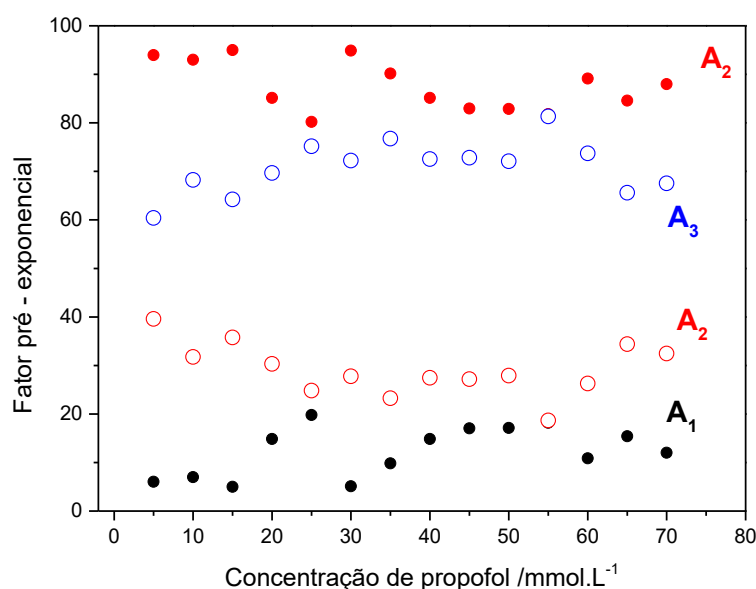
Nos espectros da Figura 31, também se nota que a banda na região de 350 nm foi deslocada para maiores comprimentos de onda ao se comparar o espectro em DMSO com o espectro em THF. Esse fenômeno é chamado *red shift*, onde o aumento na polaridade do solvente desloca a banda para maiores comprimentos de onda devido as diferenças das interações do fluoróforo no estado excitado com o solvente mais polar. Na literatura, já se observou a ocorrência do *red shift* para o propofol.<sup>67</sup>

A Figura 32 exibe os espectros de emissão para concentração fixa de  $10 \text{ mmol.L}^{-1}$  propofol em  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  dos surfactantes SDS, DTAB e CTAB. Analisando os espectros da Figura 32, nota-se que a intensidade relativa da banda na região de 350 nm é menor para o CTAB quando comparada aos outros dois surfactantes, novamente corroborando com a hipótese de que a agregação de propofol é menos favorecida em sistemas capazes de formar micelas gigantes. Além disso, o *red shift* pronunciado no espectro com CTAB indica que as moléculas de propofol experimentam um ambiente mais polar nesse sistema, que deve estar associado ao posicionamento do anestésico na interface micela-água. O *red shift* observado ao se comparar os espectros com DTAB e SDS mostram que, ainda que o DTAB não seja capaz de promover a formação de micelas gigantes, as interações do propofol com a cabeça catiônica deslocam algumas moléculas aromáticas para a superfície micelar.



**Figura 32.** Espectros de emissão normalizados obtidos para sistemas contendo 10 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol e 100 mmol.L<sup>-1</sup> dos surfactantes SDS, DTAB ou CTAB.

Por fim, experimentos de fluorescência resolvida no tempo forneceram mais informações sobre como se dá a distribuição das moléculas de propofol nos sistemas investigados. A partir do ajuste dos decaimentos da Equação 3 (discussão dos termos da equação no Apêndice C) obtiveram-se os fatores pré – exponenciais exibidos na Figura 33 para sistemas com 100 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB e diferentes concentrações de propofol. Nos experimentos, obtém-se os decaimentos temporais centrados em 300 e em 350 nm.



**Figura 33.** Fatores pré – exponenciais obtidos através da Equação 3 para sistemas contendo diferentes concentrações de propofol em 100 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB. Os símbolos cheios referem-se as populações relacionadas com a banda em 300 nm, os símbolos vazios referem-se as populações relacionadas com a banda em 350 nm.

Resultados dos espectros de emissão e de fluorescência resolvida no tempo para sistemas com outros surfactantes e diferentes concentrações de surfactante são mostrados no Material Suplementar.

A Figura 33 mostra que existem três tipos de população de moléculas de propofol nos sistemas investigados. A população 1, associada ao fator pré – exponencial  $A_1$ , é detectada na banda em 300 nm, é a relativamente menos abundante e possui tempo de vida em torno de 2 ns. A população 2, associada ao fator pré – exponencial  $A_2$ , é detectada nas duas bandas em 300 nm e em 350 nm e possui tempo de vida em torno de 5 ns. Já a população 3, associada ao fator pré – exponencial  $A_3$ , é detectada apenas na banda em 350 nm e possui tempo de vida em torno de 8 ns.

A inserção de moléculas aromáticas no ambiente micelar ajuda a estabilizar seu estado excitado e, portanto, aumenta o tempo de vida de fluorescência observado.<sup>27</sup> Além disso, analisando a tendência ao se aumentar a concentração de propofol, o fator pré – exponencial  $A_3$  aumenta relativamente em relação ao fator  $A_2$ , dessa forma, atribui-se que: a população 1 é referente as moléculas de propofol não inseridas no ambiente micelar (unímeros), a população 2 é referente as moléculas de propofol não agregadas (intercaladas entre as cabeças das moléculas de CTAB, e a população 3 é referente as moléculas de propofol agregadas a outras moléculas de propofol inseridas no ambiente micelar, possivelmente no core hidrofóbico.

Como foi apresentado, com fluorescência foi possível entender como as moléculas de propofol estão distribuídas nos sistemas com os surfactantes que formam e os que não formam micelas gigantes. No entanto, ainda não foi esclarecida qual é espécie de propofol responsável pela coloração amarela que absorve em 425 nm. Sabe-se que se trata de uma forma agregada do propofol, mas sua origem não parece estar relacionada com as micelas (esféricas ou gigantes). Uma possível explicação é a de que as moléculas do surfactante estejam formando miniemulsões, isto é, estejam sendo formadas gotas de propofol com dimensões menores que 500 nm, estabilizadas pelas moléculas de surfactante. Neste caso, o diminuto tamanho das gotículas não permite que a separação de fases seja observada a olho nu.

Em resumo, as espécies de propofol podem estar na forma unimérica (em água), unimérica (intercalada nas micelas gigantes, quando este tipo de agregado é formado), agregadas no core das micelas ou emulsionada (miniemulsão). A proporção das espécies do propofol e mesmo sua solubilidade irá depender da forma como o agregado está arranjado. No caso das micelas gigantes, a intercalação entre as

cabeças das moléculas do surfactante desloca o equilíbrio, favorecendo a forma não agregada. Assim, a coloração amarelada é menos intensa, e a solubilidade do anestésico é maior.

A formação da emulsão, pode justificar as variações de viscosidade dos sistemas contendo propofol e CTAB e CTAC da Figura 17. Na medida em que a concentração de propofol aumenta, as formas agregadas do anestésico (no core das micelas ou na miniemulsão) são favorecidas, deslocando moléculas do surfactante das micelas gigantes e resultado na diminuição da viscosidade.

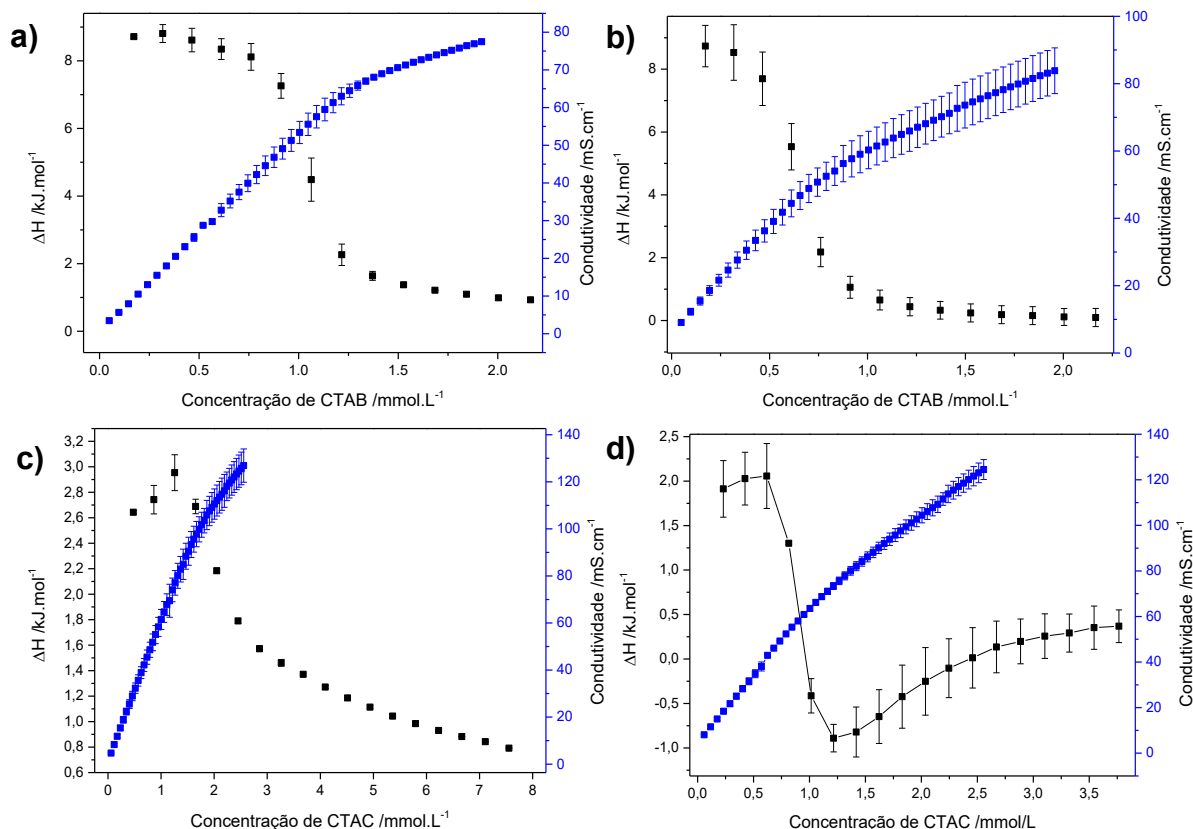
## **4.2 Regime diluído**

### **4.2.1 Resultados de calorimetria e condutividade – Investigando a região do limite de solubilidade em água do Propofol.**

Os resultados apresentados a seguir são relacionados ao regime diluído dos sistemas investigados, no qual as cadeias das micelas alongadas se encontram isoladas espacialmente e pode-se observar as condições em que as micelas gigantes são formadas. Além disso, a faixa de concentração de surfactante investigada nos experimentos calorimétricos compreende valores abaixo e acima da CMC e, dessa forma, é possível avaliar os desdobramentos causados na agregação dos surfactantes pela presença de propofol no sistema. Os processos que envolvem a formação de agregados micelares envolvem variações de entalpia ( $\Delta H$ ) associados a quebras e formações de interações intermoleculares dos constituintes do sistema. Assim, essas variações de entalpia podem ser medidas em experimentos de calorimetria de titulação isotérmica (introdução à técnica no Apêndice B). A magnitude do  $\Delta H$  associado ao processo e o formato do entalpograma obtido fornecem informações sobre o tipo de agregado micelar formado, já que a formação de agregados alongados que originarão as micelas gigantes possui um entalpograma com perfil característico.<sup>27,68</sup>

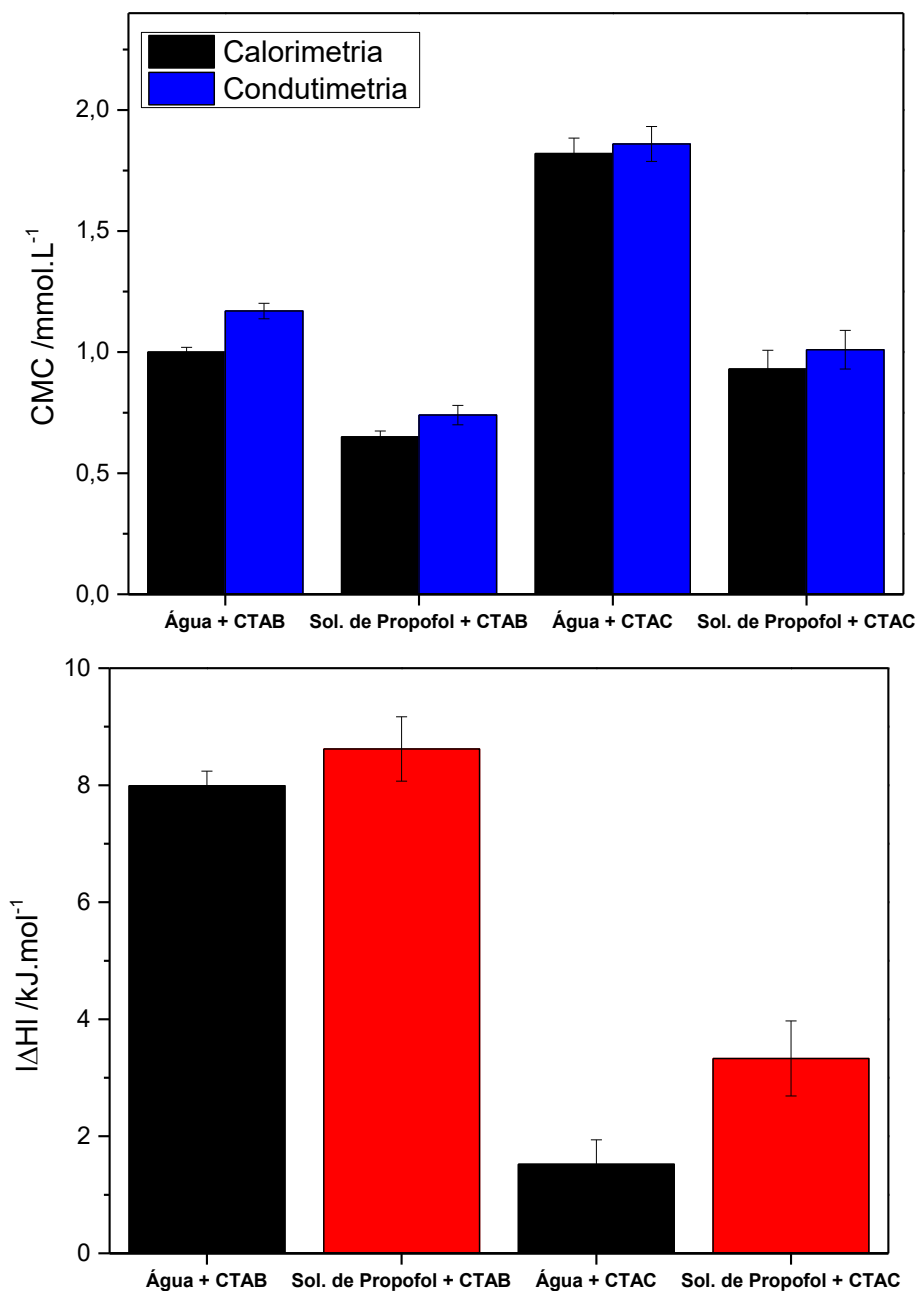
Outra propriedade utilizada para detectar a formação de agregados micelares é a condutividade elétrica da solução, visto que a mobilidade dos portadores de carga e o grau de dissociação dos contraíons dos surfactantes mudam quando ocorre a agregação micelar. A Figura 34 mostra os resultados obtidos na variação de entalpia e da condutividade da solução ao se titular água deionizada ou solução de propofol

na concentração limite de solubilidade ( $0,69 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) com soluções de CTAB ou CTAC. As diferentes concentrações de surfactante no titulante, indicadas na legenda das figuras, foram adotadas para otimizar a janela de concentração dos eventos observados no experimento.



**Figura 34.** Variações de entalpia e de condutividade elétrica ao se titular a) Água deionizada com solução  $15 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAB b) Solução de propofol  $0,69 \text{ mmol.L}^{-1}$  com solução  $15 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAB c) Água deionizada com solução  $20 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAC na condutividade e  $40 \text{ mmol.L}^{-1}$  na calorimetria d) Solução de propofol  $0,69 \text{ mmol.L}^{-1}$  com solução  $20 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAC.

Os valores de cmc obtidos para os surfactantes em água estão na região dos reportados na literatura:  $0,9 \text{ mmol.L}^{-1}$  para o CTAB e  $1,6 \text{ mmol.L}^{-1}$  para o CTAC.<sup>69</sup> Nos experimentos calorimétricos, a cmc foi determinada a partir da inflexão no entalpograma, obtida via gráfico da primeira derivada (esquematizado no Apêndice B). Nos experimentos de condutividade, a cmc foi obtida a partir do valor de concentração de surfactante onde a curva muda de inclinação. Os valores de  $\Delta H$  foram calculados como nas referências 27 e 70. Os gráficos da Figura 35 ilustram os resultados obtidos quanto aos valores de cmc e os valores de  $\Delta H$ .



**Figura 35.** Valores de cmc obtidos por calorimetria e condutividade (acima) e valores de  $\Delta H$  de formação de agregados (abaixo).

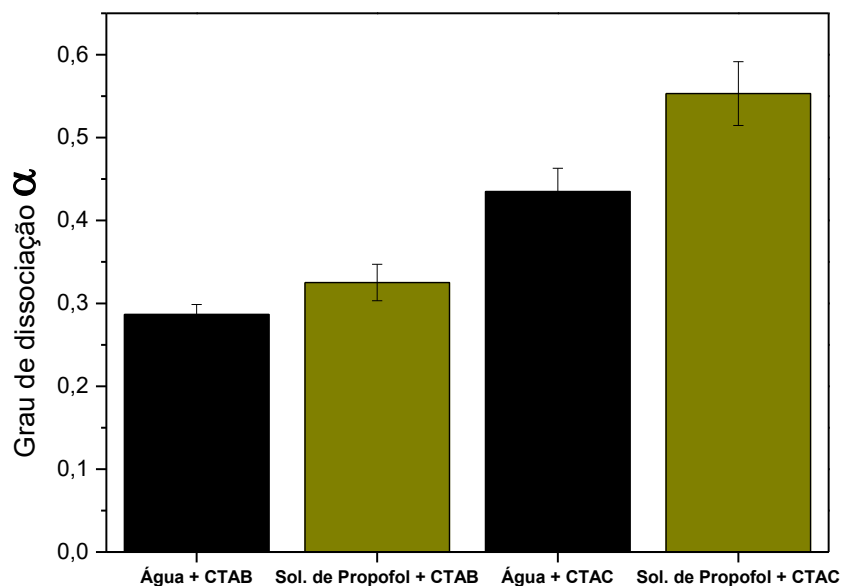
Nos gráficos “a” e “b” da Figura 34 e na Figura 35, nota-se que a presença de propofol na solução aquosa pouco influenciou na agregação do CTAB; a cmc foi levemente deslocada para valores mais baixos, o que é esperado na presença de um hidrótopo e a variação de entalpia tornou-se ligeiramente mais exotérmica. O propofol favorece a agregação do CTAB, mas em sua concentração limite de solubilidade em água não é capaz de promover mudanças na curvatura de agregação em grande escala.

Surpreendentemente, o perfil do entalpograma referente a CTAC com propofol (gráfico “d” da Figura 34) mostra que a presença do aromático desloca a cmc para praticamente a metade do seu valor em água e a variação de entalpia é ligeiramente mais que dobrada, além disso o entalpograma passou a exibir o perfil característico da formação de micelas gigantes.<sup>27,68</sup> Uma possível interpretação pode ser feita novamente com base no trabalho de Lutz-Bueno *et al.*<sup>55</sup>: A inserção inicial do aromático na paliçada micelar gera mudanças mais pronunciadas no ambiente químico do CTAC que no CTAB, exatamente pelo fato de que as cabeças catiônicas estão mais desprotegidas pela maior dissociação e menor blindagem do cloreto. Entretanto, o crescimento e posterior entrelaçamento já no regime semi-diluído de concentração ocorre mais pronunciadamente nos sistemas com CTAB pelas propriedades do brometo previamente discutidas na seção 4.1.2. Jora *et al.* mostraram que a adição de mais moléculas aromáticas após a razão crítica de formação detectada no calorímetro ainda promovem o crescimento do agregado.<sup>26</sup> Levanta-se, portanto, a hipótese que no regime diluído de concentração dos agregados micelares, o propofol promove a mudança na curvatura de agregação de forma mais pronunciada no CTAC em comparação com CTAB, entretanto, no regime semi-diluído de concentração dos agregados micelares, a adição de mais propofol faz com que o crescimento dos agregados ocorra mais intensamente com CTAB.

Outro parâmetro físico – químico que pode ser determinado a partir dos dados de condutividade obtidos é o grau de dissociação do surfactante ( $\alpha$ ) referente a dissociação dos contraíons dos surfactantes após a formação do agregado micelar. A Equação 10 mostra como  $\alpha$  é estimado.

$$\alpha \equiv \frac{[\text{Surfactantes dissociados}]}{[\text{Surfactante total}]} = \frac{\theta_{\text{Final}}}{\theta_{\text{Inicial}}} \quad \text{Equação 10}$$

Na Equação 10,  $\theta_{\text{Final}}$  e  $\theta_{\text{Inicial}}$  são referentes as inclinações da curva de condutividade após e anterior a CMC respectivamente. O método para cálculo de  $\alpha$  mostrado na Equação 10 trata-se do método de Evans já bem estabelecido na literatura e bastante eficiente por sua simplicidade, entretanto, modelos mais complexos e com maior precisão também já foram reportados.<sup>71</sup> A Figura 36 compara os valores de  $\alpha$  calculados para os sistemas com CTAB ou CTAC na presença ou ausência de propofol.

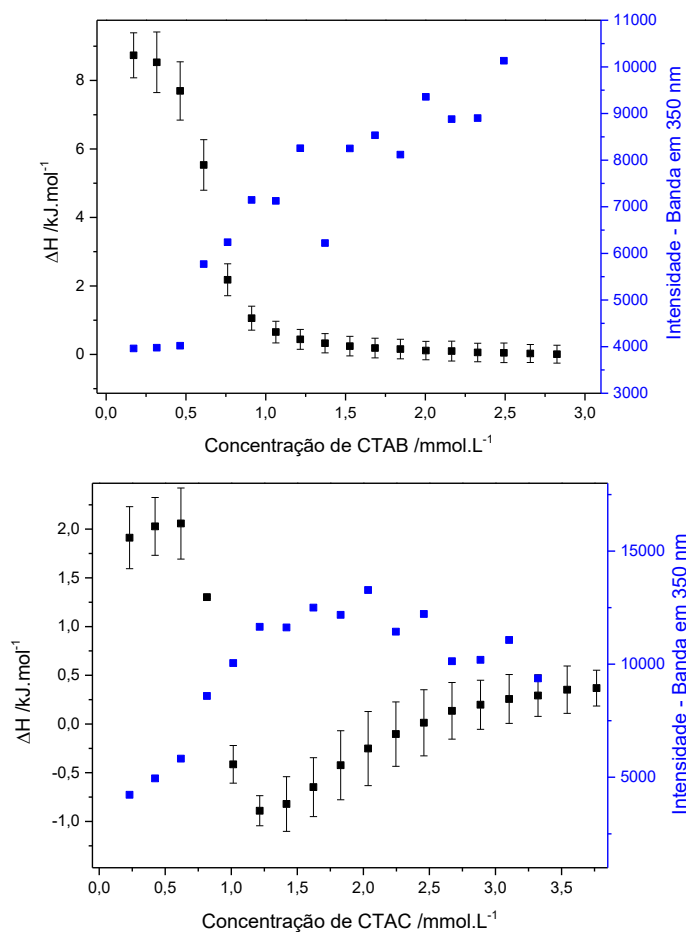


**Figura 36.** Valores do grau de dissociação ( $\alpha$ ) obtidos referentes aos sistemas após a agregação dos surfactantes.

Os valores de  $\alpha$  obtidos para os surfactantes em sistemas sem propofol foram 0,43 para o CTAC e 0,28 para o CTAB, coerentes com os valores reportados na literatura.<sup>54</sup> Para ambos os surfactantes, a presença de propofol provocou um aumento em  $\alpha$ , ou seja, a presença do aromático aumenta o grau de dissociação dos surfactantes catiônicos. Esse desdobramento possivelmente está associado com o fato de que, o propofol é capaz de interagir com as cabeças catiônicas através das interações cátion –  $\pi$  e cátion – fenol reduzindo a repulsão eletrostática entre elas, essa redução da repulsão pode possibilitar uma maior dissociação dos contraíons.

Comparando os aumentos de  $\alpha$  causados pela presença de propofol relativo aos surfactantes, a mesma tendência observada para os valores de  $\Delta H$  é obtida: o  $\alpha$  aumenta em torno de 30% no sistema com CTAC e em torno de 10% no sistema com CTAB, novamente indicando que a presença da molécula aromática gera um maior impacto no ambiente químico nos sistemas com CTAC em comparação com os sistemas com CTAB.

As titulações realizadas para obter os entalpogramas referentes à adição dos surfactantes CTAC e CTAB em solução de propofol foram replicadas em experimentos de fluorescência. A comparação dos resultados obtidos através das duas técnicas está apresentada na Figura 37.



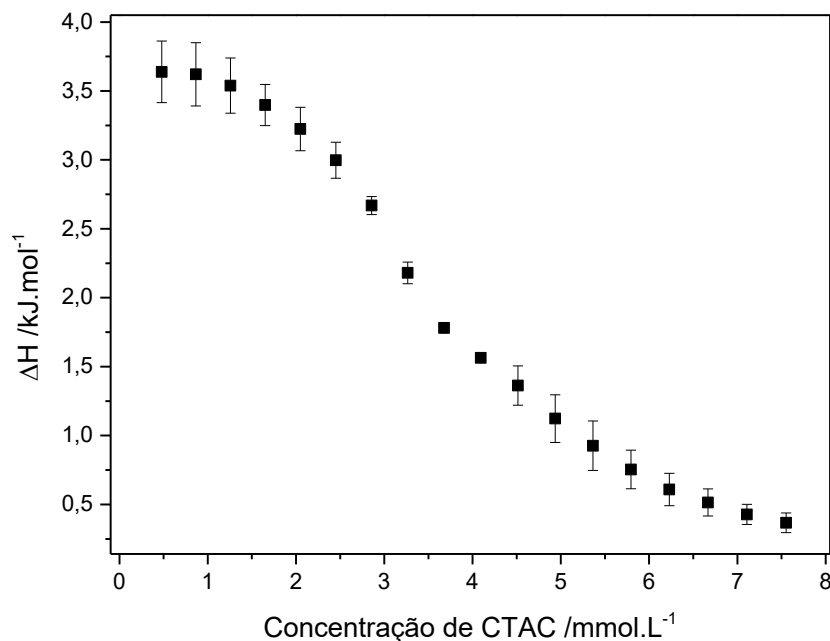
**Figura 37.** Resultados comparados de calorimetria (pontos pretos) e fluorescência (pontos azuis) para a titulação de solução de propofol  $0,69 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  com soluções de de CTAB (acima) ou CTAC (abaixo).

Na Figura 37, compara-se os entalpogramas com a intensidade da banda em 350 nm do espectro de emissão (os espectros de emissão usados para construir a Figura 37 são mostrados no Material Suplementar). Nota-se que após a CMC a intensidade da banda em 350 nm cresce de forma mais acentuada, reiterando a interpretação de que essa banda está associada a formação de agregados de propofol inseridos no *core* hidrofóbico das micelas.

Além disso, o ajuste dos dados de fluorescência resolvida no tempo da banda em 300 nm através da Equação 3 fornece que: antes da CMC, só existe um tipo de população fluorescente no sistema, associado as moléculas de propofol solubilizadas em água. Após a CMC o ajuste dos dados referentes a banda em 300 nm torna-se biexponencial devido ao aparecimento da população de propofol inserida no ambiente micelar (Figura S9 no Material Suplementar).

## 5. Sistemas com fospropofol

O fospropofol é bastante solúvel em água na sua forma ionizada como a representada na Figura 2, essa característica possibilitou que seus sistemas fossem mais explorados através da calorimetria. A Figura 38 mostra o entalpograma obtido ao se titular uma solução de fospropofol com uma solução de CTAC.

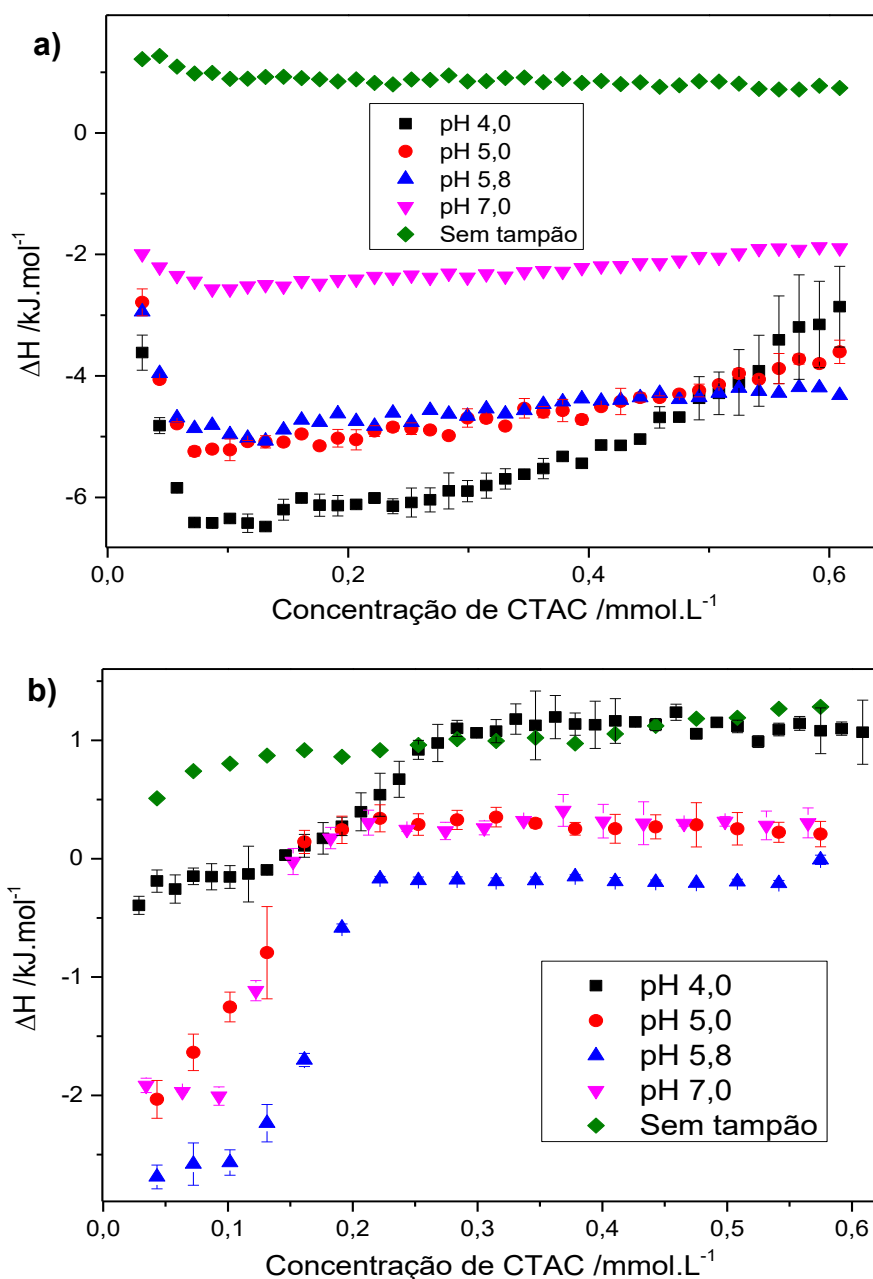


**Figura 38.** Entalpograma obtido na titulação de solução 3 mmol.L<sup>-1</sup> de fospropofol com solução 40 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC.

O perfil sigmoide do entalpograma da Figura 38 indica que o fospropofol solubilizado em água pouco interfere na agregação do surfactante. Uma possível interpretação levantada para explicar essa baixa interação é que o fospropofol solubilizado em água com pH em torno de 7,0 está majoritariamente na forma de ânion bivalente como mostrado na Figura 2, já que seus pKa são: 1,19 e 6,27.<sup>72</sup> Na forma de ânion bivalente a partição é bastante deslocada para a fase aquosa em comparação com a pseudofase micelar. Assim, a incorporação na paliçada micelar não ocorreria em grande escala, não causaria mudança na curvatura, e logo, a maior parte dos agregados formados é esférico.

Para investigar a interpretação proposta, experimentos calorimétricos foram realizados em sistemas tamponados, onde os tampões utilizados foram: tampão ácido acético/acetato de sódio com força iônica 0,1 mol.L<sup>-1</sup> nos pHs 4,0, 5,0 e 5,8 e tampão fosfato de sódio monobásico/fosfato de sódio dibásico com força iônica 0,1 mol.L<sup>-1</sup> no

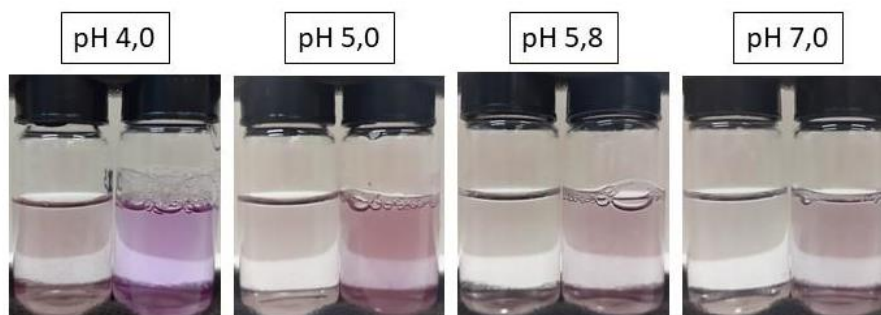
pH 7,0. Tanto as soluções de fospropofol quanto as soluções de CTAC foram preparadas nos tampões para que não ocorressem sinais térmicos referentes a solubilização dos tampões em água na cela do calorímetro. Os resultados são mostrados na Figura 39.



**Figura 39.** a) Entalpogramas obtidos na titulação de cela contendo solução  $1,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  de fospropofol com solução  $3,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAC em diferentes pHs. b) Entalpogramas obtidos na titulação de cela contendo solução de tampão com solução  $3,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAC preparada no mesmo tampão presente na cela.

Os entalpogramas da Figura 39a indicam que nos sistemas tamponados os valores de  $\Delta H$  foram mais exotérmicos que os obtidos nos experimentos sem tampão. Além disso, o perfil dos entalpogramas mudou de sigmoidal para o perfil característico da formação de agregados alongados, entretanto, o perfil também foi alterado em pH 7,0 o que não era esperado já que neste pH o fospropofol está em sua forma ânion bivalente. Além dos desdobramentos nos valores de  $\Delta H$ , as razões críticas de agregação foram deslocadas para valores muito baixos de concentração de surfactante, impossibilitando a observação do platô inicial de deformação de micelas esféricas, necessário para o cálculo de  $\Delta H$  de formação dos agregados alongados. Para obter um valor estimado da variação de entalpia de deformação de micelas e observar o efeito da força iônica proporcionada pelos tampões na agregação do surfactante sem a presença de fospropofol, titulações de surfactante em sistemas tamponados sem o aromático foram realizados e os resultados são mostrados na Figura 39b.

Na Figura 39b fica claro que a alteração da força iônica influencia na agregação do CTAC, como esperado, entretanto, a formação de agregados alongados só ocorreu quando na presença de fospropofol, fortalecendo a interpretação da dependência da quantidade de cargas no composto aromático com sua partição na paliçada micelar. Em pH 7,0, a sinergia entre a presença de fospropofol no sistema, somada a maior força iônica, foi suficiente para induzir a mudança na curvatura dos agregados. Para confirmar se os sinais observados na Figura 39b são associados a formação de micelas, testes com o corante vermelho do Nilo foram realizados em sistemas tamponados nas concentrações 0,05 e 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> de C<sub>16</sub>TAC, a coloração dos sistemas pode ser observada nas fotografias da figura 40.



**Figura 40.** Fotografias dos sistemas tamponados nos pHs que aparecem acima dos frascos. A concentração de CTAC nos frascos que aparecem a esquerda de cada foto é 0,05 mmol.L<sup>-1</sup> e nos frascos a direita é 0,5 mmol.L<sup>-1</sup>.

A coloração nos frascos com maior concentração de surfactante, que está localizado após a inflexão observada nos entalpogramas, ficou roxeada, indicando a solubilização do corante na porção hidrofóbica de micelas. Isto confirma que os sinais térmicos observados na Figura 39b são associados a formação de agregados micelares. Utilizou-se o valor de entalpia na concentração de CTAC 0,05 mmol.L<sup>-1</sup> como calor de formação de micelas para estimar o  $\Delta H$  de formação de agregados alongados na Figura 39a, como não é possível obter a razão crítica de agregação, o  $\Delta H$  foi estimado a partir da diferença do mínimo do entalpograma referente a formação de agregados alongados com o calor de deformação de micelas em cada pH. Os valores são mostrados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Valores de  $\Delta H$  estimados para os entalpogramas com e sem fospropofol em diferentes pHs.

| pH  | $\Delta H$ formação de micelas esféricas (kJ.mol <sup>-1</sup> ) | $\Delta H$ formação de agregados alongados com fospropofol (kJ.mol <sup>-1</sup> ) |
|-----|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 4,0 | 1,3                                                              | -6,3                                                                               |
| 5,0 | 2,2                                                              | -3,2                                                                               |
| 5,8 | 2,5                                                              | -2,2                                                                               |
| 7,0 | 2,4                                                              | -0,6                                                                               |

O valor de  $\Delta H$  de formação de agregados alongados fica mais exotérmico à medida que se aumenta a quantidade da espécie aniônica monovalente do fospropofol, portanto ao se reduzir o pH do meio abaixo de seu pKa. A semelhança no perfil dos entalpogramas com os reportados na literatura sugere que o mecanismo de inserção do fospropofol monovalente na paliçada micelar provavelmente é semelhante ao proposto para o salicilato de sódio.

## 6. Busca pela biocompatibilidade: Propofol + Mapcho® - 14

Os estudos conduzidos até este ponto mostraram que a presença de surfactantes provoca um aumento considerável na solubilidade do propofol em sistemas aquosos e que a morfologia dos agregados micelares é um fator a ser levado em conta, já que a formação de micelas gigantes contribui positivamente para o aumento da solubilidade do propofol provavelmente associado a diferente distribuição das moléculas aromáticas no sistema inerente a formação desse tipo de agregado micelar.

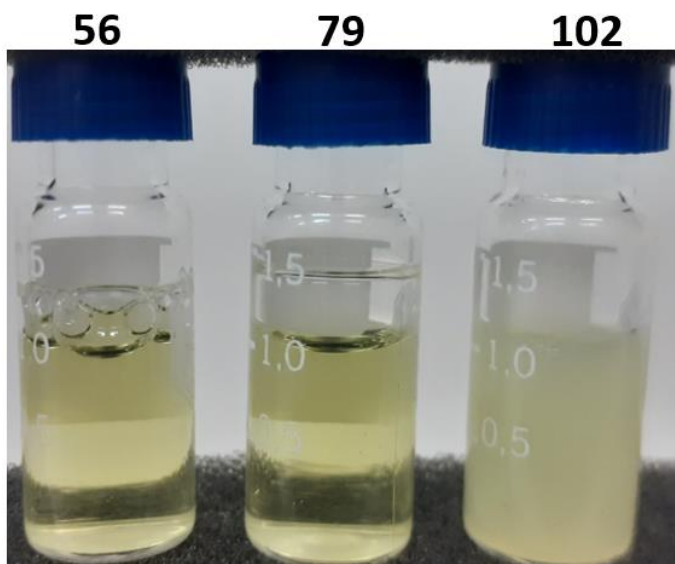
A formação de micelas gigantes está fortemente associada as interações que as moléculas aromáticas como o propofol estabelecem com as cabeças catiônicas dos surfactantes, entretanto, do ponto de vista da aplicação clínica do propofol, uma formulação contendo surfactantes catiônicos é inviável devido a hemólise celular causada por essa classe de moléculas.<sup>48</sup>

O grupo catiônico alquiltrimetilamônio está presente nos fosfolípidos que fazem parte do organismo humano (por exemplo, nas membranas celulares) e, portanto, são biocompatíveis. Tendo como inspiração as moléculas de fosfolípidos, e baseado no modelo do CPP, procurou-se um fosfolípido com apenas uma única cauda, tal que a inserção das moléculas de propofol entre suas cabeças polares (especificamente na parte catiônica) promovesse a formação de micelas gigantes, resultando no aumento da solubilidade do anestésico. Fosfolípidos de uma única cauda não são comuns, mas encontrou-se o Mapcho – 14 (n – tetradecilfosfocolina), uma fosfocolina com grupos funcionais semelhantes aos fosfolípidos e com características estruturais promissoras para a formação de micelas gigantes a partir da associação com moléculas aromáticas: grupo alquiltrimetilamônio terminal e cauda hidrofóbica única com 14 carbonos.

O Mapcho – 14 é biocompatível e há registros na literatura de sua utilização em aplicações biológicas, como por exemplo: na formação de estruturas para efetuar a transferência de genes no tratamento de tumores<sup>73</sup>, na formação de micelas para estabilizar enzimas<sup>74</sup>, na formação de membranas para interação com peptídeos<sup>75</sup> e na solubilização de toxinas.<sup>76</sup>

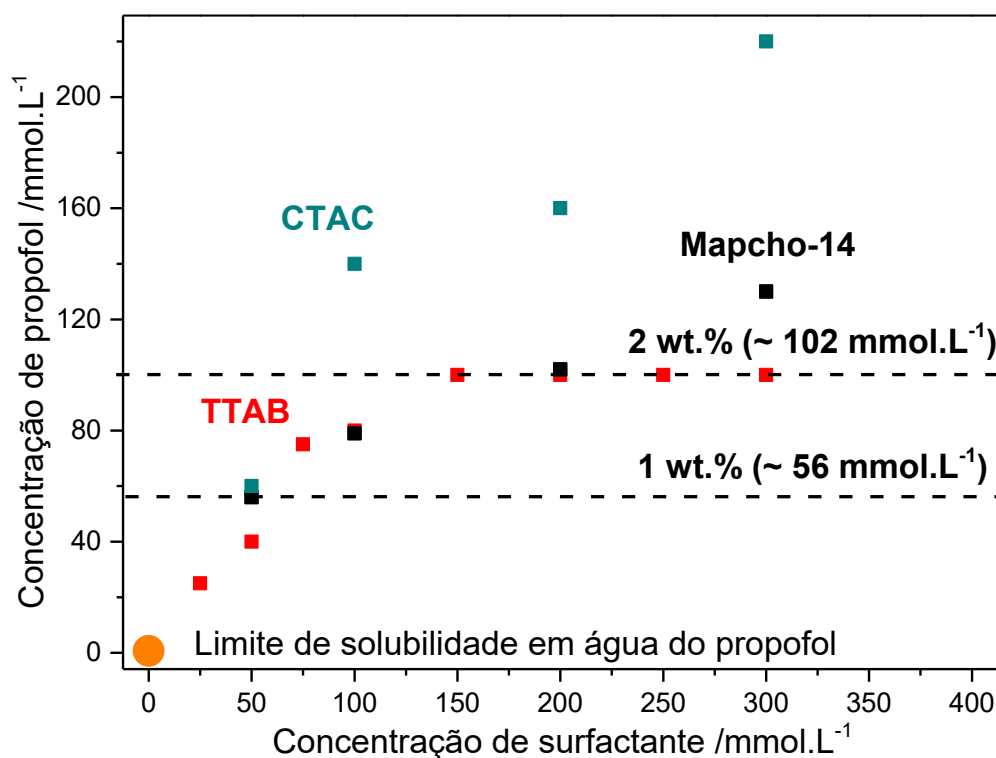
A Figura 41 mostra uma fotografia de sistemas com concentração fixa em 100 mmol.L<sup>-1</sup> de Mapcho – 14, combinados com propofol. Nota-se que os sistemas com 56 e 79 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol são homogêneos, mostrando que o Mapcho – 14, assim como os outros surfactantes estudados, é capaz de causar considerável aumento na

solubilidade do propofol em meio aquoso. No entanto, o sistema com  $102 \text{ mmol.L}^{-1}$  de propofol separou fase, entretanto, o Mapcho – 14 foi capaz de formar sistemas com razão propofol/surfactante maior que 1, o que não foi atingido para surfactantes como o CTAB e o TTAB.



**Figura 41.** Fotografia de sistemas contendo concentração fixa de Mapcho – 14 em  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  e diferentes concentrações de propofol mostradas acima de cada frasco em  $\text{mmol.L}^{-1}$ .

A Figura 42 mostra o diagrama de fases construído para o Mapcho – 14 comparando-o com o TTAB e o CTAC, as linhas tracejadas no diagrama representam as concentrações de propofol presentes nas duas formulações comerciais do Diprivan®, ambas foram alcançadas e até mesmo ultrapassadas por sistemas contendo Mapcho – 14.

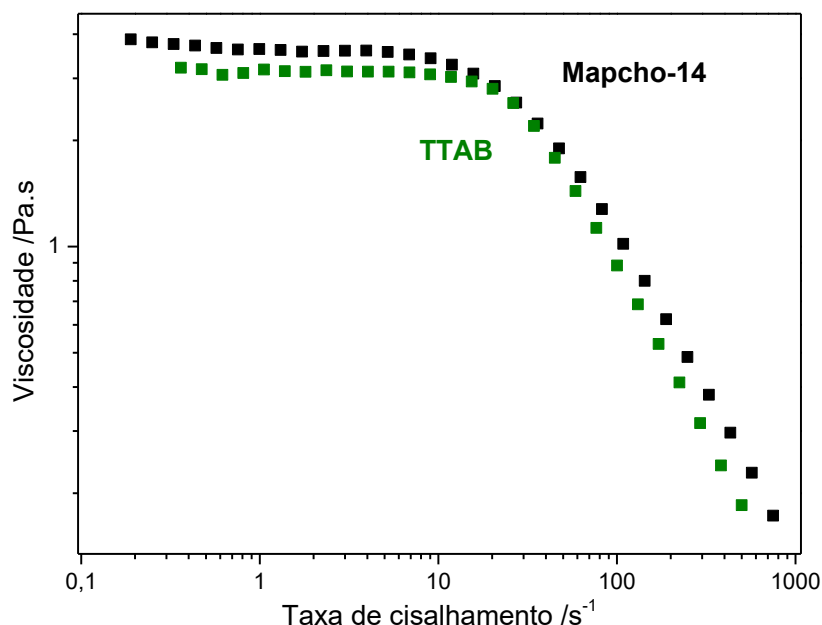


**Figura 42.** Diagrama de fases mostrando as concentrações máximas de propofol que formam sistemas homogêneos em função da concentração dos surfactantes. Também são mostradas a concentração limite de propofol em água (círculo laranja) e as concentrações de propofol presentes na formulação do Diprivan® (linhas tracejadas).

Nota-se na Figura 42 que o Mapcho – 14 possui capacidade de aumento de solubilidade do propofol superior que seu análogo de mesmo número de carbonos TTAB, mas ainda possui menor capacidade de solubilização em relação ao CTAC, que além de possuir maior cauda hidrofóbica, o que favorece a formação de micelas gigantes, conta com o aumento de solubilidade provocado pela presença do contraíon cloreto como discutido na seção 4.1.2.

Seguindo os mesmos procedimentos realizados para os surfactantes catiônicos, experimentos reológicos foram conduzidos afim de se obter evidência de que houve a formação de micelas gigantes a partir da combinação de propofol com Mapcho – 14. A Figura 43 mostra a curva de fluxo obtida para o sistema com 102 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol e 300 mmol.L<sup>-1</sup> de Mapcho – 14 comparada com a curva de fluxo para o sistema 100 mmol.L<sup>-1</sup> de propofol e 300 mmol.L<sup>-1</sup> de TTAB, sinais da formação de micelas gigantes, como discutido para os surfactantes catiônicos, foram observados,

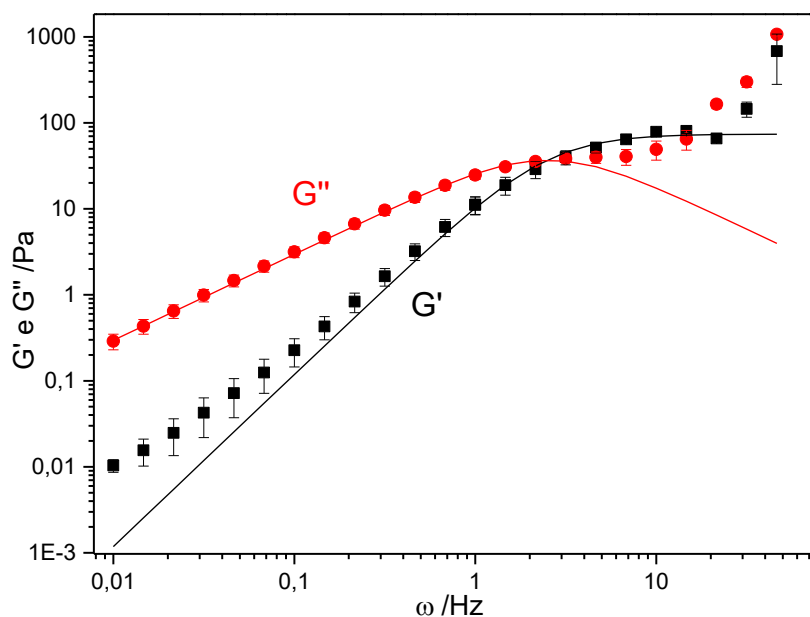
sendo eles: a presença do platô Newtoniano, sendo mais de mil vezes maior que o da água pura, e o aparecimento do perfil pseudoplástico em altas taxas de cisalhamento.



**Figura 43.** Curvas de fluxo dos sistemas propofol 102 mmol.L<sup>-1</sup> + 300 mmol.L<sup>-1</sup> de Mapcho – 14 e 100 mmol.L<sup>-1</sup> + 300 mmol.L<sup>-1</sup> de TTAB. A temperatura foi mantida em 25°C.

Nota-se que a viscosidade do sistema formado na presença de Mapcho – 14 não atingiu valores tão altos de viscosidade como os observados em sistemas com CTAB ou CTAC, o que seria problemático ao se pensar em sua administração intravenosa assim como é feito com o Diprivan®.

Além da curva de fluxo, experimentos de reologia no regime linear foram conduzidos e o reograma referente ao ensaio oscilatório de frequência é mostrado na Figura 44. O sistema com propofol e Mapcho – 14 possui propriedades viscoelásticas e um ajuste razoável ao modelo de Maxwell em frequências próximas a frequência de cruzamento dos módulos. O desvio em  $G''$  em frequências acima da frequência de cruzamento foi observado.



**Figura 44.** Reograma referente ao oscilatório de frequência de sistema propofol 102 mmol.L<sup>-1</sup> + 300 mmol.L<sup>-1</sup> de Mapcho – 14. As linhas cheias são referentes ao ajuste ao modelo de Maxwell. A temperatura foi mantida em 25°C.

A partir das evidências reológicas, é possível afirmar que há formação de micelas gigantes a partir da combinação de propofol com Mapcho – 14, tornando possível a idealização inicial de uma formulação aquosa de propofol baseada na utilização de micelas gigantes como veículo para aumentar a solubilidade do anestésico.

## 7. Conclusões e perspectivas.

Todos os surfactantes investigados neste trabalho (CTAB, TTAB, DTAB, CTAC, SDS, Pluronic F-127 e Mapcho – 14) são capazes de promover a formação de sistemas aquosos homogêneos com propofol em concentrações do fármaco consideravelmente acima de seu limite de solubilidade em água. O aumento de solubilidade está claramente associado a formação de micelas, entretanto, a morfologia dos agregados micelares formados interfere na capacidade de aumentar a solubilidade do propofol, uma vez que está associada as formas de distribuição das moléculas aromáticas nos sistemas.

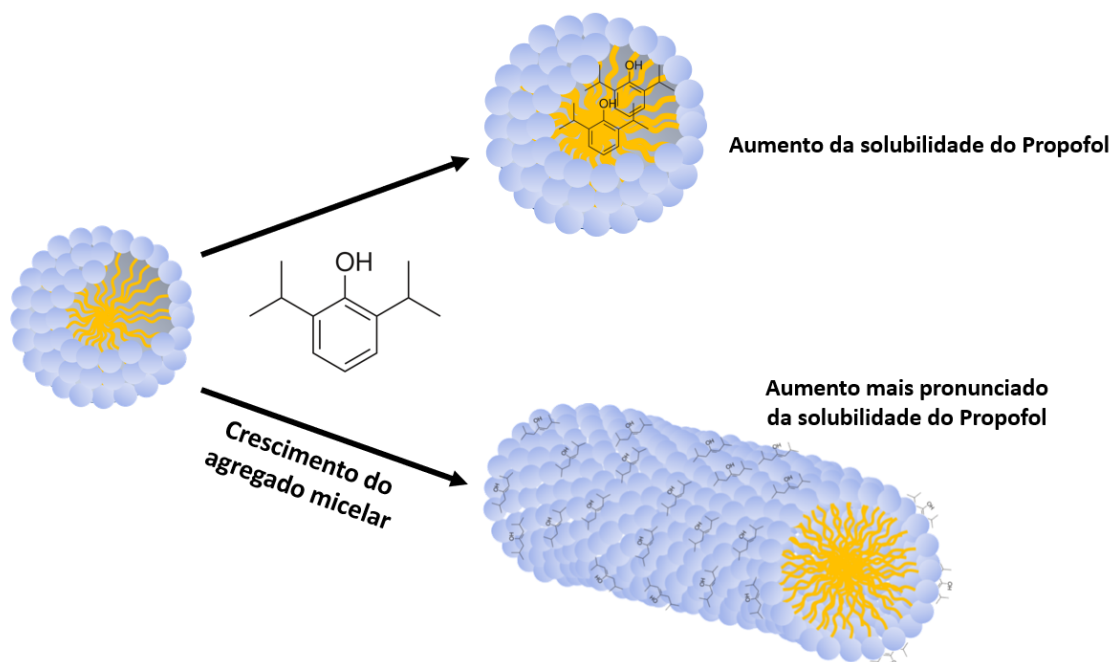
Na associação com propofol, os surfactantes CTAB, TTAB, CTAC e Mapcho – 14 formaram micelas gigantes, os surfactantes SDS e DTAB formaram micelas esféricas e o surfactante Pluronic F – 127 formou agregados alongados e/ou clusters de micelas esféricas. A presença de micelas gigantes altera claramente as propriedades reológicas do sistema, significativamente aumentando a viscosidade e a viscoelasticidade. Perfis reológicos característicos desse tipo de agregado foram detectados, como o comportamento das viscosidades no platô newtoniano em função da concentração de propofol e o ajuste razoável ao modelo de Maxwell em sistemas mais concentrados.

Comparando os sistemas com CTAB e CTAC, diferenças notáveis foram observadas ao se variar o contraíon do surfactante catiônico. A partir dos dados de calorimetria, condutividade e reologia, sugere-se que, no regime diluído, os agregados alongados com propofol são formados primeiro em sistemas com CTAC mas, no regime semi – diluído, crescem em maior taxa nos sistemas com CTAB a medida em que a concentração de propofol aumenta.

Observou-se que, a formação das micelas gigantes ou dos agregados de propofol com o surfactante Pluronic F-127 claramente reduz a intensidade da coloração amarelada nos sistemas com propofol, como essa coloração está associada a moléculas de propofol agregadas a outras moléculas de propofol, coloca-se que as estruturas micelares formadas nestes sistemas são mais eficientes em desfavorecer a agregação dessas moléculas aromáticas provavelmente pelo fato de que, nesses agregados, as moléculas aromáticas se posicionam na interface micela – água entre as cabeças dos surfactantes.

Os dados de fluorescência, através da obtenção de três tempos de vida característicos, sugerem a interpretação que três populações de propofol estão presentes nos sistemas de micelas gigantes, propofol solubilizado em água fora do ambiente micelar, propofol inserido no ambiente micelar entre a cabeças dos surfactantes e moléculas de propofol agregadas a outras moléculas de propofol também inseridas no ambiente micelar provavelmente no *core* hidrofóbico das micelas. Entretanto, nenhuma das populações propostas explica a coloração amarela dos sistemas (máximo de absorção em 425 nm), por isso, propõe-se que também existam gotas de propofol miniemulsionadas no sistema, a adição subsequente de propofol desloca a organização do sistema para essas emulsões, o que explica a queda de viscosidade no platô Newtoniano e a separação de fases em altas concentrações de propofol.

A Figura 45 ilustra a ideia principal desenvolvida neste trabalho, onde as micelas gigantes são mais eficientes que micelas esféricas em promover o aumento de solubilidade de propofol pois são capazes de desfavorecer a agregação das moléculas aromáticas ao posicioná-las na interface micela – água entre a cabeça dos surfactantes.



**Figura 45.** Ilustração esquemática do impacto que a morfologia dos agregados micelares possui no aumento de solubilidade do propofol.

Os sistemas investigados neste trabalho foram capazes de atingir as concentrações de propofol presentes nas formulações comerciais do fármaco Diprivan® e até mesmo superá-las. O surfactante Mapcho – 14 é particularmente destacado por ser biocompatível e sua estrutura molecular ser bastante semelhante aos fosfolipídeos presentes no organismo.

O pró – fármaco fospropofol ao ser solubilizado em água sem controle de pH não é capaz de promover a formação de micelas gigantes, isso ocorre devido ao fato de que no pH em torno de 7,0 o fospropofol está na forma de ânion bivalente, dessa forma, sua partição é mais deslocada para a fase aquosa em comparação com a pseudofase micelar. Pôde-se observar a partir do perfil dos entalpogramas e a magnitude dos valores de  $\Delta H$  que a formação de micelas gigantes com fospropofol é dependente do controle de pH para faixas em que o aromático fique na sua forma monovalente.

Entre as perspectivas deste trabalho, pode-se citar a finalização das medidas de fluorescência, onde serão aferidos os tempos de vida das populações em sistemas que não formam micelas gigantes (DTAB e SDS). Além disso, tendo em vista a elaboração de uma patente contendo a formulação de propofol + Mapcho – 14, testes relativos à citotoxicidade e atividade hemolítica da formulação estão sendo realizados em parceria com o grupo da Prof. Dr.<sup>a</sup> Laura Nascimento da FCF – Unicamp. Imagens de Cryo – TEM serão obtidas em parceria com o LNNano para elucidar definitivamente quais são as morfologias micelares formadas nos sistemas estudados.

## 8. Apêndices

### A. Fundamentos de reologia

Reologia é o campo da mecânica onde estuda-se as respostas dos materiais frente a aplicação de diferentes formas de tensão. A caracterização reológica possui fundamental importância em diversos segmentos industriais, desde cosméticos até tintas, onde o comportamento reológico dos materiais deve ser modulado para atender os fins desejados nas diversas etapas de produção, como escoamento, estocagem e aplicação. A palavra “reologia” possui raiz grega com significado “estudo do fluxo”.<sup>77</sup>

Neste trabalho, dividiu-se os resultados reológicos em dois grupos: reologia no regime linear e reologia no regime não – linear. A seguir, apresenta-se alguns conceitos fundamentais destes dois campos da reologia.

Na reologia no regime linear, investiga-se o comportamento do material frente a pequenas deformações de forma que a estruturação interna do material seja mantida, a nomenclatura “linear” vem do fato de que a magnitude da deformação é linearmente proporcional à tensão aplicada. Dois modelos descrevem as respostas ideais frente a aplicação de tensão neste regime, os sólidos Hookeanos que seguem a Equação 11 e os fluidos Newtonianos que seguem a Equação 12.<sup>77,78</sup>

$$\tau = G\gamma \quad \text{Equação 11}$$

$$\tau = \eta\dot{\gamma} \quad \text{Equação 12}$$

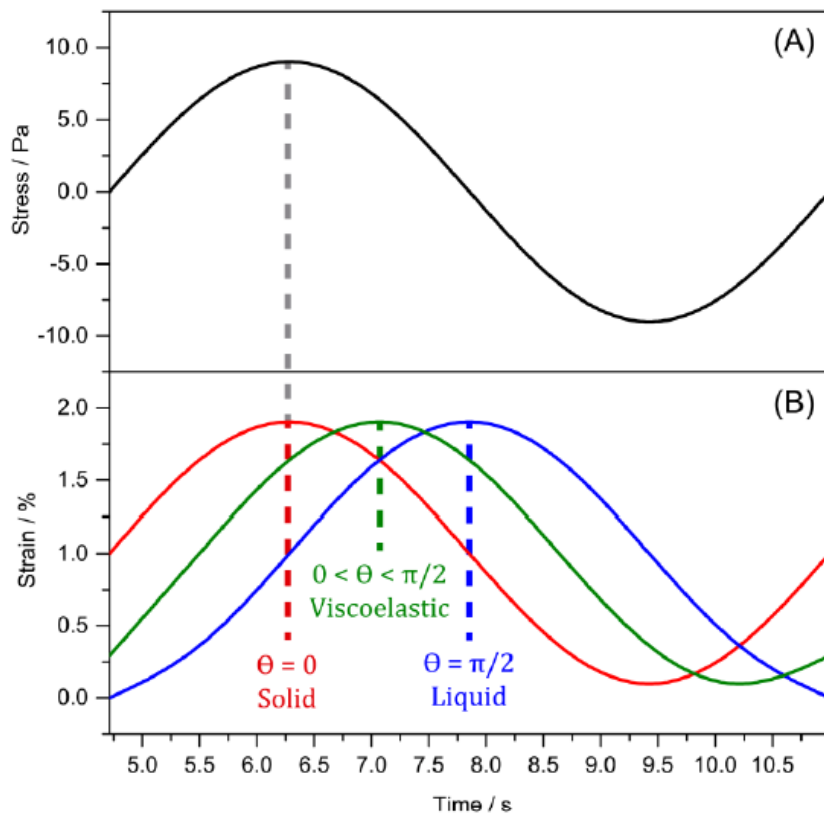
Na Equação 11,  $\tau$  é a tensão aplicada,  $G$  é a constante elástica do material e  $\gamma$  é a deformação. Na Equação 12,  $\eta$  é a viscosidade do material e  $\dot{\gamma}$  é a taxa de cisalhamento aplicada. Um material que se comporta como sólido Hookeano é perfeitamente elástico, ou seja, toda energia aplicada pela tensão é armazenada pelo material. Já um material que se comporte como um fluido Newtoniano é perfeitamente viscoso, ou seja, toda energia aplicada pela tensão é dissipada pelo material na forma de geração de fluxo. A maior parte dos materiais não são nem totalmente Hookeanos nem totalmente Newtonianos, são a junção dos dois comportamentos a que se dá o nome de materiais viscoelásticos.<sup>76</sup>

A resposta viscoelástica dos materiais também é função da escala de tempo em que a tensão é aplicada, onde deve-se ter como referência o tempo de relaxação do material. O número de Deborah ( $De$ ) mostrado na equação 13 indica como se dá a resposta do material frente a um estímulo externo.<sup>79</sup>

$$D_e = \frac{t_{Rel}}{t_{Apl}} \quad \text{Equação 13}$$

Na Equação 13,  $t_{Rel}$  é o tempo de relaxação característico do material e  $t_{Apl}$  é o tempo de aplicação da tensão externa. Se o tempo de aplicação for muito menor que o tempo de relaxação, obtém-se  $De \gg 1$  e a resposta do material é mais semelhante à de um sólido, já que o material não possui tempo suficiente para relaxar. Quando o tempo de aplicação for muito maior que o tempo de relaxação, obtém-se  $De \ll 1$  e a resposta do material, desta vez, é mais semelhante à de um líquido. Para  $De \sim 1$ , a resposta do material é intermediária entre um sólido e um líquido.

Os dados de reologia oscilatória obtidos neste trabalho, são referentes a reologia no regime linear, onde os módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) obtidos fornecem a magnitude dos comportamentos elástico e viscoso, respectivamente, na composição da resposta reológica frente aplicação de tensão nos materiais estudados. Os módulos elástico e viscoso são obtidos a partir da defasagem angular da resposta do material na forma de deformação (oscilatória) em relação a tensão aplicada,<sup>77,78</sup> essa defasagem é expressa pelo ângulo de defasagem ( $\theta$ ) ilustrado na Figura A1.



**Figura A1.** Gráficos representando a) Tensão aplicada e b) Deformação resposta do material frente aplicação de tensão com defasagem ou não.  $\theta$  é o ângulo de fase. Adaptado da referência 80.

Na Figura A1, observa-se que a resposta de um material perfeitamente elástico ou sólido não possui defasagem em relação a tensão aplicada, ou seja, a deformação ocorre imediatamente após a aplicação de tensão. Um material perfeitamente viscoso ou líquido, possui defasagem angular de  $90^\circ$ , já um material viscoelástico possui defasagem intermediária entre  $0^\circ$  e  $90^\circ$ .

Já nos resultados obtidos nos experimentos de reologia rotacional, correspondente a reologia no regime não – linear, o que se estuda é o comportamento das amostras sob fluxo, onde se obtém sua viscosidade ( $\eta$ ). A resposta dos sistemas sob fluxo pode ser enquadrada nas categorias Newtoniano ou Não – Newtoniano, este último por sua vez, dividem-se em pseudoplásticos e dilatantes. O perfil da curva de viscosidade em função da taxa de cisalhamento destes tipos de sistemas é exemplificado na Figura A2.



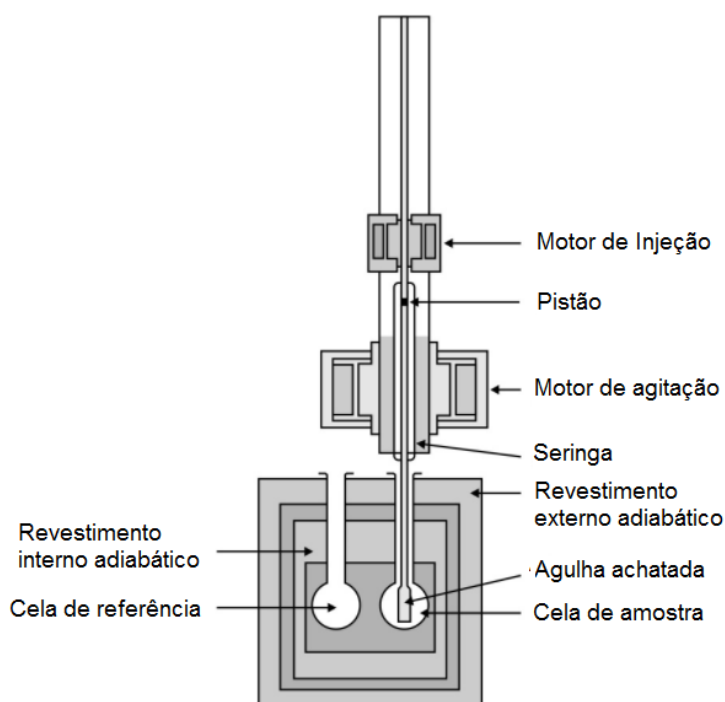
**Figura A2.** Perfis característicos das curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento para materiais 1) Newtonianos 2) Pseudoplásticos 3) Dilatantes. Adaptado da referência 77.

Os fluídos Newtonianos seguem a Equação 12 e suas viscosidades são independentes da taxa de cisalhamento a que o material é submetido. Os fluídos pseudoplásticos exibem o chamado *shear – thinning*, onde a viscosidade diminui à medida que a taxa de cisalhamento aumenta. Já os materiais dilatantes, exibem o *shear – thickening*, onde a viscosidade aumenta à medida que a taxa de cisalhamento aumenta.

## B. Fundamentos de calorimetria de titulação isotérmica

A calorimetria de titulação isotérmica (*isothermal titration calorimetry – ITC*) é uma técnica experimental que possibilita o estudo de variados sistemas com uma perspectiva termodinâmica, já que técnica possibilita a determinação experimental da grandeza físico – química variação de entalpia ( $\Delta H$ ) e fornece informações sobre o estado de equilíbrio do sistema, relacionado a variação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ). Com os valores de  $\Delta H$  e  $\Delta G$  em mãos, é possível obter a variação de entropia relacionada ao processo estudado ( $\Delta S$ ).<sup>70,81</sup>

Uma representação de um equipamento de ITC é mostrada na Figura B1. Como o próprio nome da técnica sugere, os experimentos são conduzidos no formato de titulação, onde o titulando é inserido na cela de amostra e a seringa é carregada com o titulante. O experimento prossegue de forma automatizada tendo como parâmetros ajustáveis iniciais: número de injeções de titulante, volume de cada injeção, intervalo de tempo entre cada injeção e intensidade de agitação, esses parâmetros devem ser ajustados de forma para com que se obtenha melhor qualidade nos dados. Os parâmetros adotados nos experimentos de ITC deste trabalho foram descritos na seção 3.4.



**Figura B1.** Representação gráfica de um equipamento de ITC. Figura utilizada da referência 81.

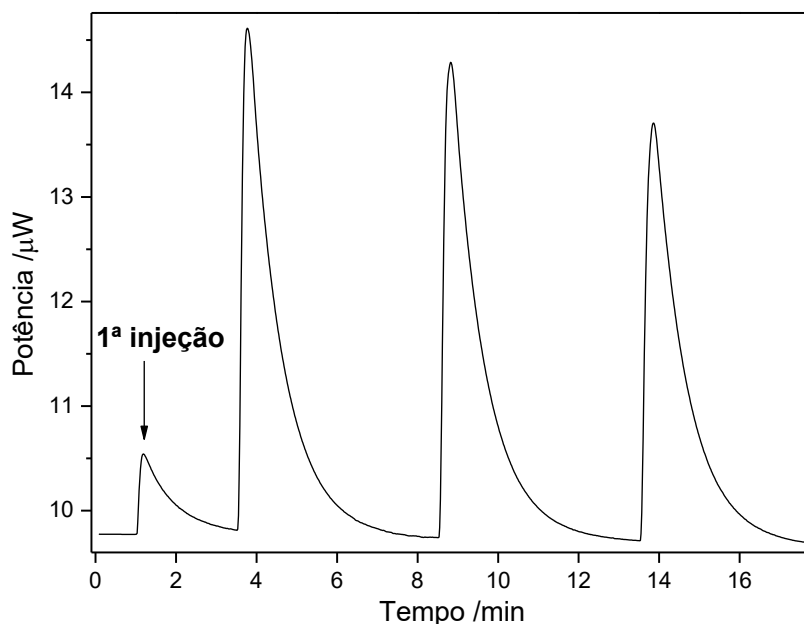
Na Figura B1, nota-se que: além da cela de amostra existe outra pequena câmara no equipamento chamada cela de referência, na cela de referência coloca-se um material que deve possuir propriedades térmicas (como a capacidade calorífica) semelhantes às da amostra, normalmente, a cela de referência é preenchida com o solvente do sistema estudado.

No início do experimento de ITC antes de iniciar a titulação propriamente dita, define-se a temperatura no qual o experimento será conduzido, tanto a cela de amostra quanto a cela de referência são então mantidas nessa temperatura. A manutenção das temperaturas é realizada pela atuação do efeito Joule a partir da aplicação de potenciais elétricos conhecidos em resistores tanto na cela de amostra quanto na cela de referência.

Quando a titulação inicia, eventos endotérmicos ou exotérmicos podem ocorrer, o que gera uma diferença de temperatura entre a cela de amostra e a cela de referência. Para anular essa diferença de temperatura, o equipamento altera o potencial elétrico aplicado no resistor da cela de amostra de forma a compensar o calor liberado no processo físico – químico investigado. Se o processo físico – químico for endotérmico, a cela de amostra fica mais fria que a cela de referência, logo, o potencial elétrico aplicado aumenta em relação ao aplicado na cela de referência para aquecer a cela de amostra, se o processo físico – químico for exotérmico, conseqüentemente, o potencial elétrico aplicado diminui. Essa diferença de potencial elétrico aplicado é numericamente igual ao calor envolvido no processo físico – químico, já que tanto a cela de amostra quanto a de referência estão envolvidas por uma câmara adiabática, portanto, as medidas no ITC estão relacionadas a medida dessa variação de potencial elétrico aplicado para manter nula a diferença de temperatura entre a cela de amostra e a cela de referência.<sup>81</sup>

A Figura B2 mostra o dado bruto das primeiras quatro injeções da titulação de solução 15 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB em água que origina o entalpograma da Figura 30a. Como visto no entalpograma, da Figura 30a, os valores de  $\Delta H$  nas primeiras injeções são endotérmicos, e conforme discutido, geram picos de potência positivos como os da Figura B2. O formato dos picos de injeção é resultado de dois processos térmicos: no instante em que a injeção ocorre, o calor gerado pelo processo físico – químico gera uma resposta no equipamento que altera o potencial elétrico de maneira

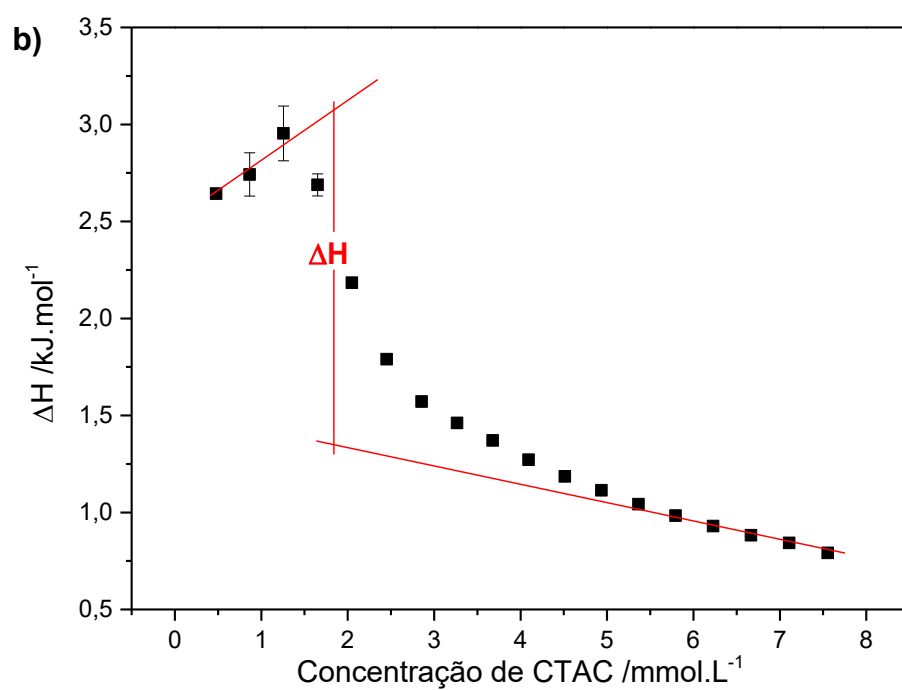
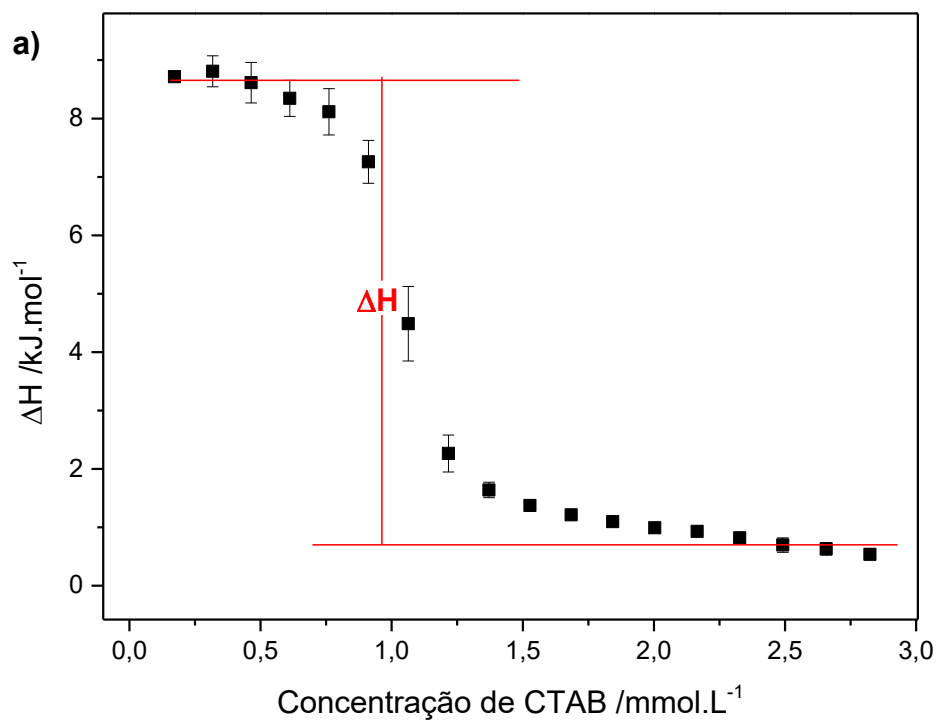
praticamente instantânea, responsável pela parte vertical inicial do pico. Após a aplicação do potencial elétrico correspondente, o sistema começa a equilibrar termicamente, gerando a parte do pico que possui formato de decaimento exponencial.

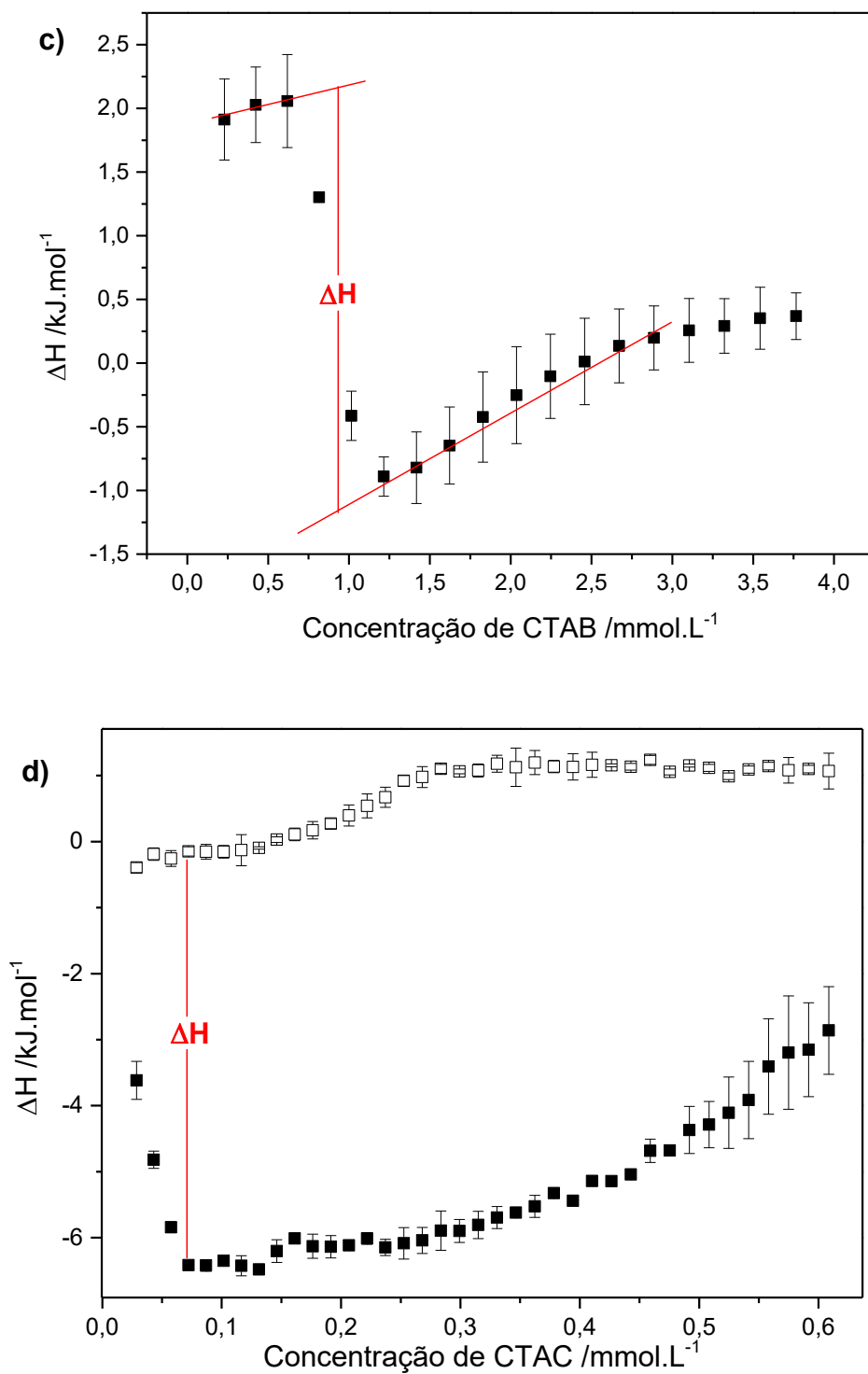


**Figura B2.** Dado bruto obtido na titulação de solução de CTAB em água referente ao entalpograma mostrado na Figura 33b.

Na figura B2, o pico correspondente a primeira injeção de titulante está indicado. A primeira injeção normalmente é realizada com um pequeno volume de titulante e esse dado é descartado na elaboração do entalpograma para eliminar artefatos relacionados ao equilíbrio inicial do sistema na cela de amostra.

Na Figura B3, está esquematizado graficamente como foram calculados os valores de  $\Delta H$  nas seções 4.2.1. e 5 seguindo as referências 27 e 70, sendo: a)  $\Delta H$  de formação de micelas com CTAB na presença e ausência de propofol, b)  $\Delta H$  de formação de micelas com CTAC na ausência de propofol. c)  $\Delta H$  de formação de micelas alongadas com CTAC na presença de propofol, d)  $\Delta H$  estimado para formação de micelas alongadas com CTAC e fospropofol (símbolos preenchidos) utilizando o a entalpia de deformação de micelas de sistemas sem fospropofol (símbolos vazios).



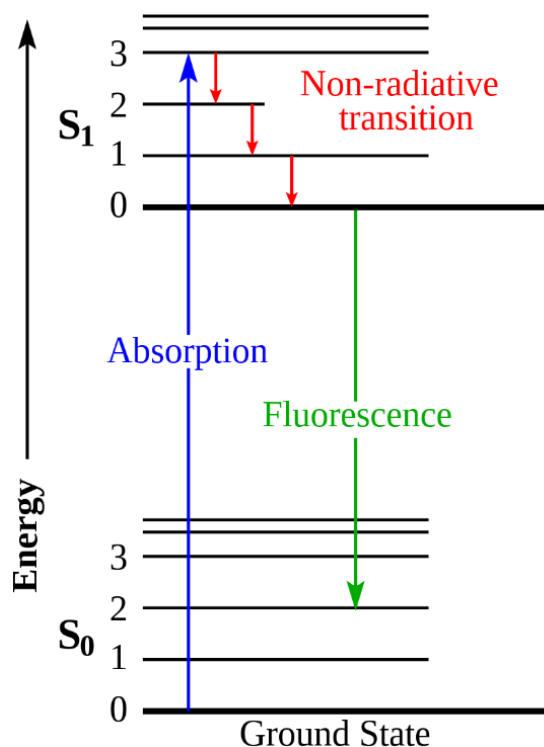


**Figura B3.** Representação gráfica do cálculo de  $\Delta H$  nos sistemas: a) CTAB + solução de propofol, b) CTAC + água, c) CTAC + solução de propofol, d) CTAC + tampão pH 4,0 (símbolos vazios) e CTAC + fospropofol em tampão pH 4,0 (símbolos cheios).

## C. Fundamentos de espectroscopia eletrônica de absorção e fluorescência

As técnicas espectroscópicas são baseadas na interação da luz com a matéria, cada região do espectro eletromagnético é capaz de fornecer informações sobre os diferentes níveis de energia dos materiais estudados, por exemplo: a radiação na região do infravermelho está associada as transições entre níveis vibracionais, já a região das ondas de rádio está associada aos eventos de ressonância magnética nuclear.

Neste trabalho, utilizou-se a espectroscopia na região UV – Vis, associada a transições em níveis eletrônicos ou vibrônicos (eletrônico acoplado a vibracional). A região do UV – Vis foi inicialmente escolhida para avaliar a intensidade da coloração amarela nas amostras com propofol, entretanto, também foi possível avaliar o comportamento fluorescente presente nos sistemas estudados para essa região do espectro eletromagnético. A Figura C1 mostra o diagrama de Jablonski, fundamental para compreender os fenômenos que ocorrem nas técnicas espectroscópicas utilizadas.<sup>83,84</sup>



**Figura C1.** Diagrama de Jablonski com a representação dos processos fotofísicos que ocorrem ao se emitir luz na região do UV -Vis sobre um sistema como os estudados neste trabalho (absorção, transição não – radioativa e fluorescência).

No diagrama de Jablonski, estão representados os níveis eletrônicos fundamental e excitado ( $S_0$  e  $S_1$  respectivamente) bem como os níveis de energia vibracionais (representados pelas linhas finais, numeradas de 0 a 3) contidos nesses dois estados eletrônicos.

Durante um experimento espectroscópico como os realizados neste trabalho, emite-se radiação na região do UV – VIS sobre amostras, a amostra então absorve fótons de comprimentos de onda específicos (nas amostras com propofol, o comprimento de onda de excitação utilizado foi 285 nm) sendo elevada ao estado vibrônico excitado (como ilustrado pela seta azul na Figura 46). No estado excitado, dois fenômenos podem ocorrer, a amostra pode emitir o fóton absorvido, retornando ao estado fundamental inicial ou pode sofrer transições não - radioativas (setas vermelhas na Figura 46) que relaxam a amostra vibracionalmente antes desta emitir um fóton para retornar ao estado eletrônico fundamental, esse fenômeno é chamado de fluorescência (seta verde na Figura 46).<sup>83,84</sup>

As transições não – radioativas estão relacionadas a mecanismos de relaxação como colisões intermoleculares com outros fluoróforos ou com moléculas de solvente, dessa forma, o ambiente químico em que os fluoróforos estão inseridos possui grande impacto na fluorescência. Neste trabalho, as diferenças do comportamento fluorescente dos fluoróforos dentro e fora do ambiente micelar são notáveis e são a base para as inferências feitas sobre a distribuição das moléculas aromáticas nos sistemas.

A dinâmica do evento de fluorescência está na ordem de nanosegundos, por isso, como descrito na seção 3.6, a excitação é feita a partir de lasers pulsados com espaçamento na ordem de picosegundos entre os pulsos.<sup>83,84</sup>

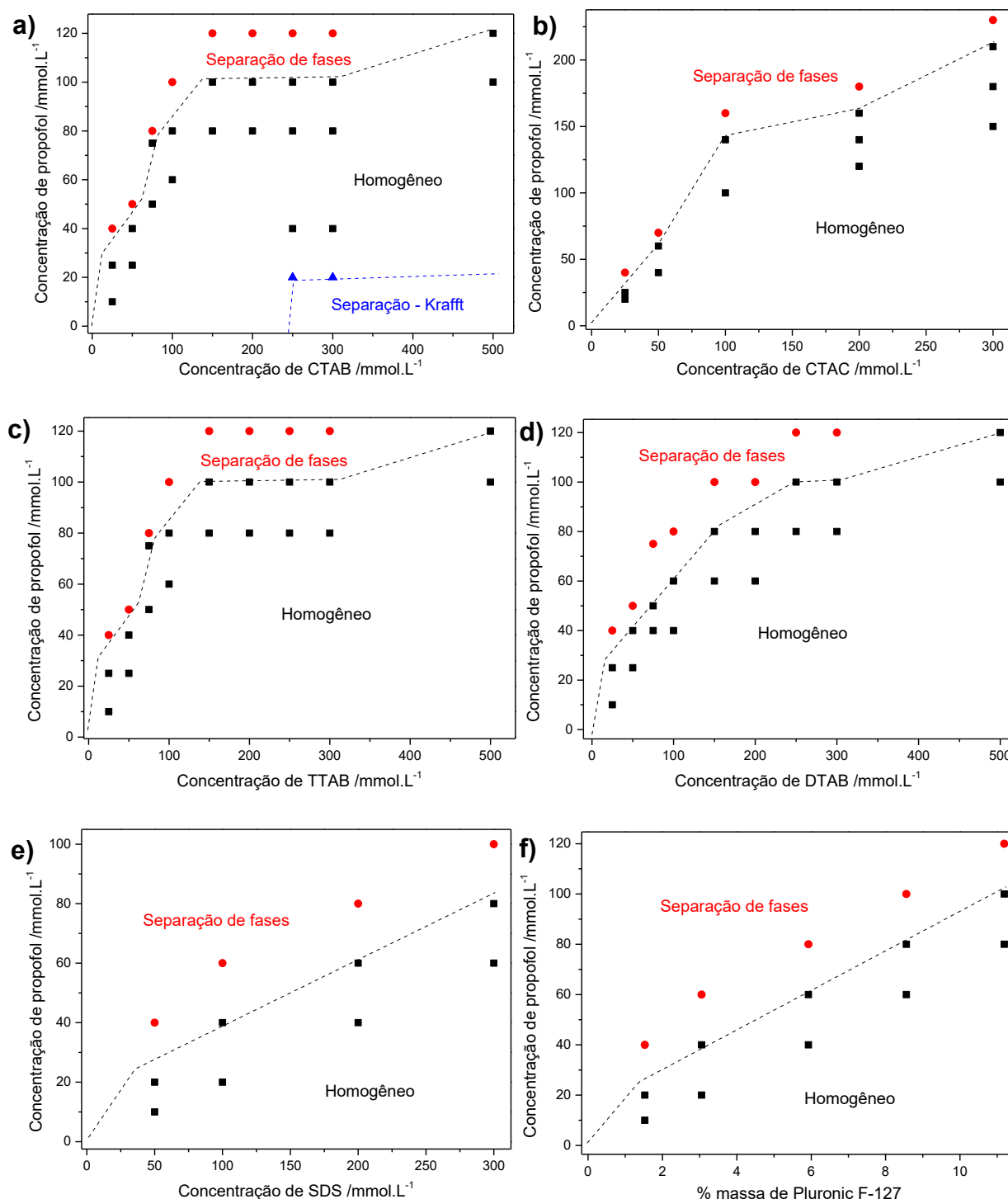
Experimentos de fluorescência resolvida no tempo estão relacionados ao monitoramento do tempo que um sistema leva para decair através da fluorescência após ser excitado, onde é possível obter os tempos que cada espécie fluorescente permaneceu no estado excitado, os chamados tempos de vida de fluorescência. Ajustando os dados experimentais de fluorescência resolvida no tempo à Equação 3, é possível obter o número de espécies fluorescentes presentes no sistema a partir do número tempos de vida de fluorescência que melhor se ajusta ao decaimento obtido e a contribuição relativa que cada tipo de população fluorescente possui na

composição do decaimento total, os chamados fatores pré – exponenciais como os mostrados na Figura 29.

A inserção das moléculas aromáticas no ambiente micelar reduz a mobilidade destas e também reduz a quantidade de colisões com moléculas de solvente, por isso, neste trabalho inferimos que os tempos de vida de fluorescência maiores estão relacionados a moléculas aromáticas inseridas no ambiente micelar, como também já foi proposto na literatura.<sup>27</sup>

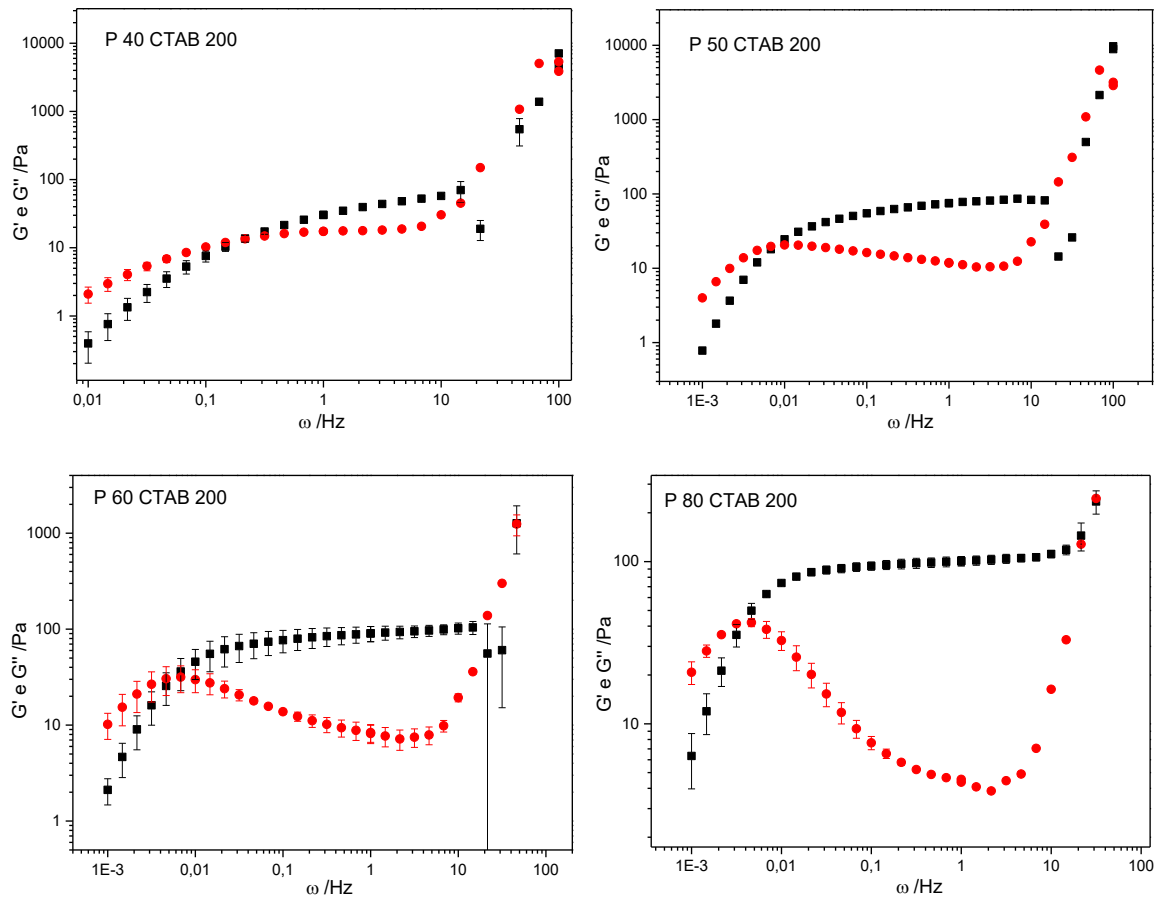
## 9. Material Suplementar

### • Elaboração dos diagramas de fases

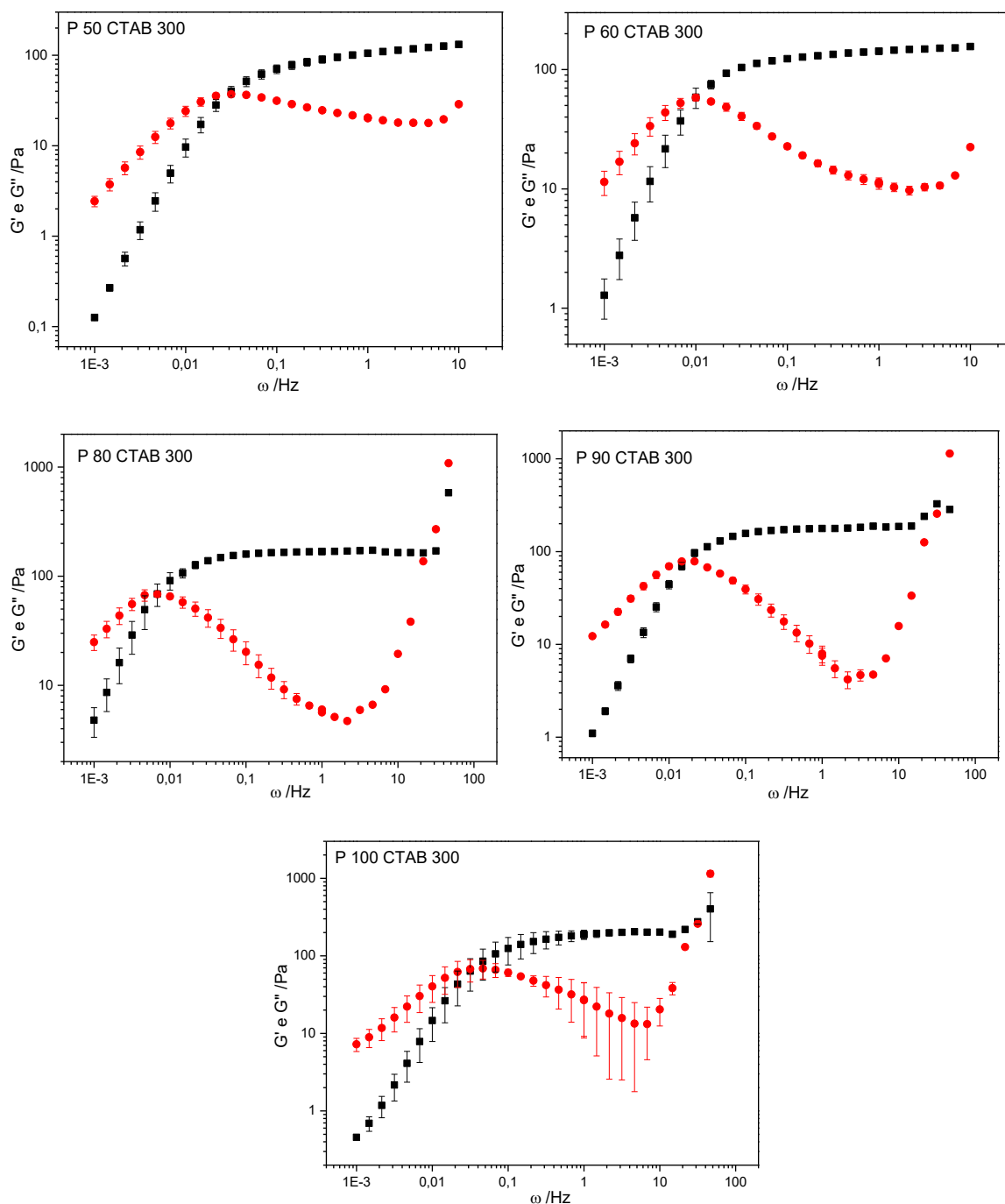


**Figura S1.** Diagramas de fases da aparência macroscópica dos sistemas com diferentes concentrações de propofol em função das concentrações de a) CTAB, b) CTAC, c) TTAB, d) DTAB, e) SDS e f) Pluronic F-127.

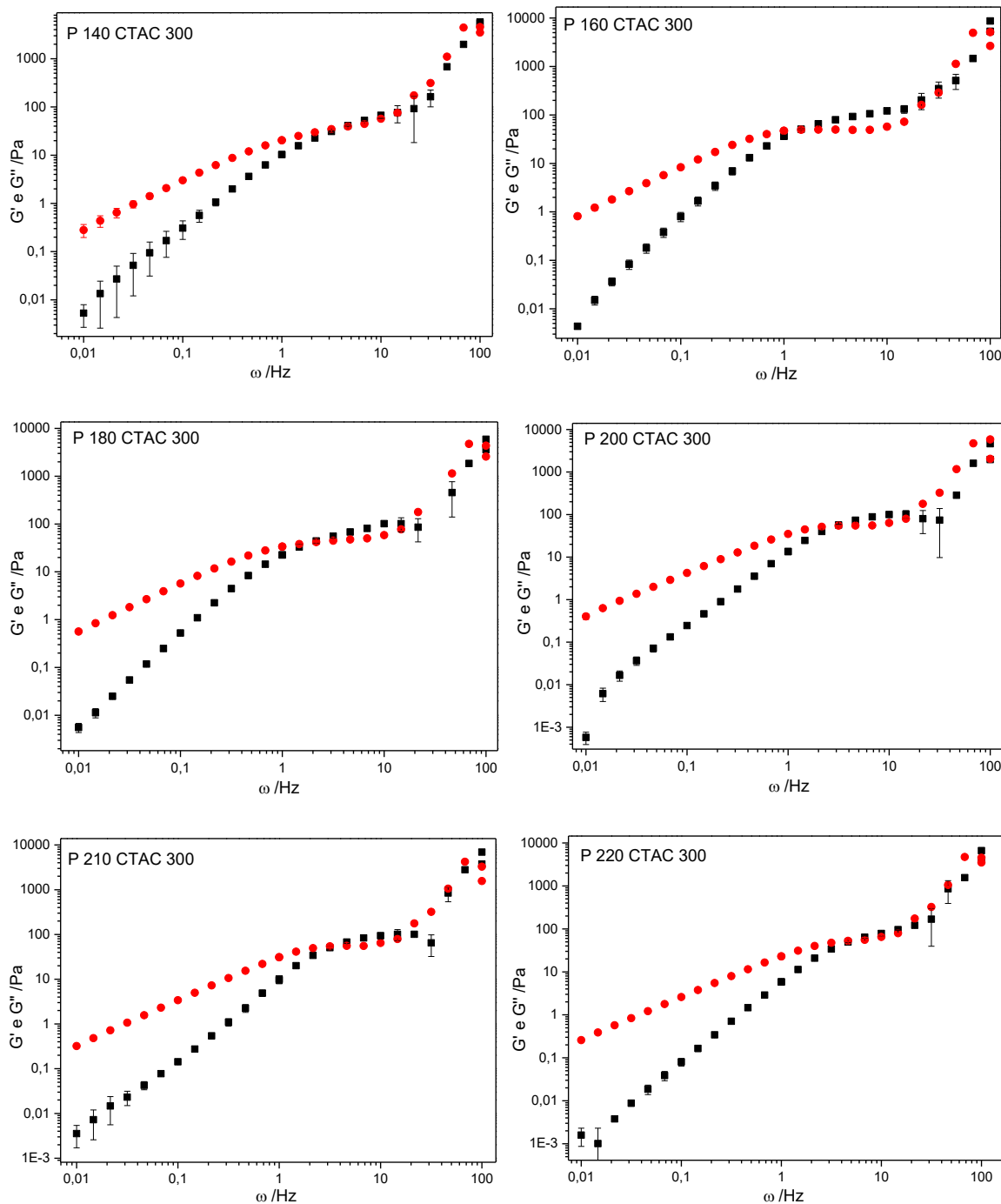
- Resultados de reologia no regime linear



**Figura S2.** Resultados de ensaio oscilatório de frequência para amostras com 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB e diferentes concentrações de propofol (indicadas em mmol.L<sup>-1</sup> nas figuras). Os pontos pretos representam o módulo elástico ( $G'$ ) e os pontos vermelhos representam o módulo viscoso ( $G''$ ).

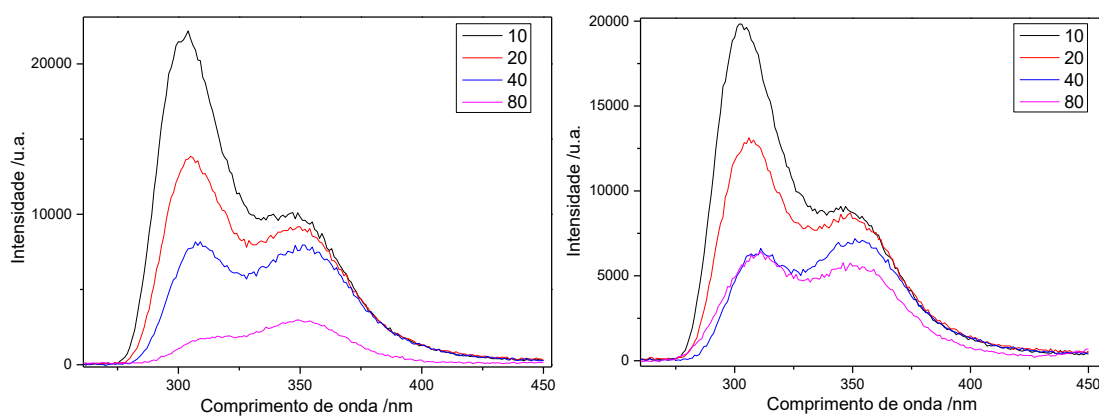


**Figura S3.** Resultados de ensaio oscilatório de frequência para amostras com 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB e diferentes concentrações de propofol (indicadas em mmol.L<sup>-1</sup> nas figuras). Os pontos pretos representam o módulo elástico ( $G'$ ) e os pontos vermelhos representam o módulo viscoso ( $G''$ ).

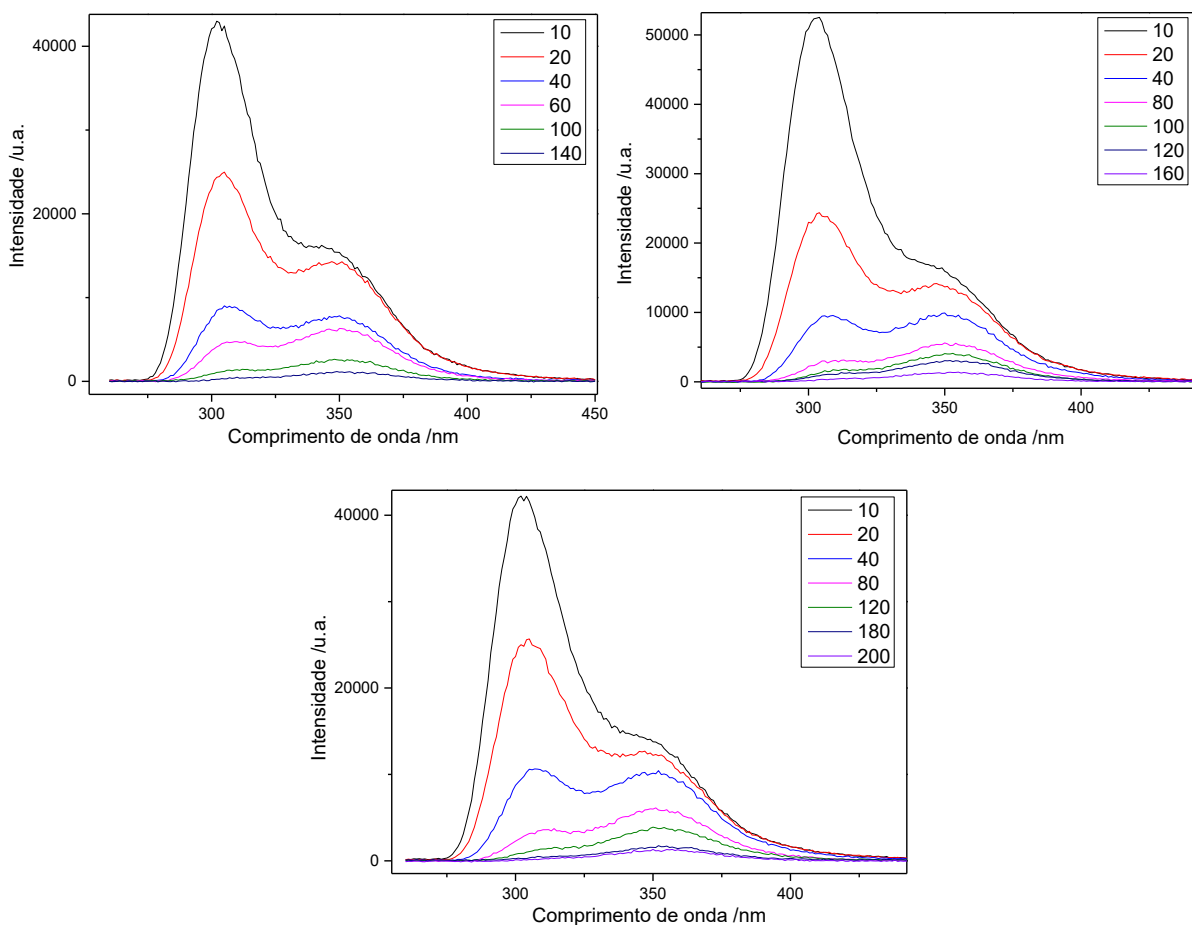


**Figura S4.** Resultados de ensaio oscilatório de frequência para amostras com 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC e diferentes concentrações de propofol (indicadas em mmol.L<sup>-1</sup> nas figuras). Os pontos pretos representam o módulo elástico ( $G'$ ) e os pontos vermelhos representam o módulo viscoso ( $G''$ ).

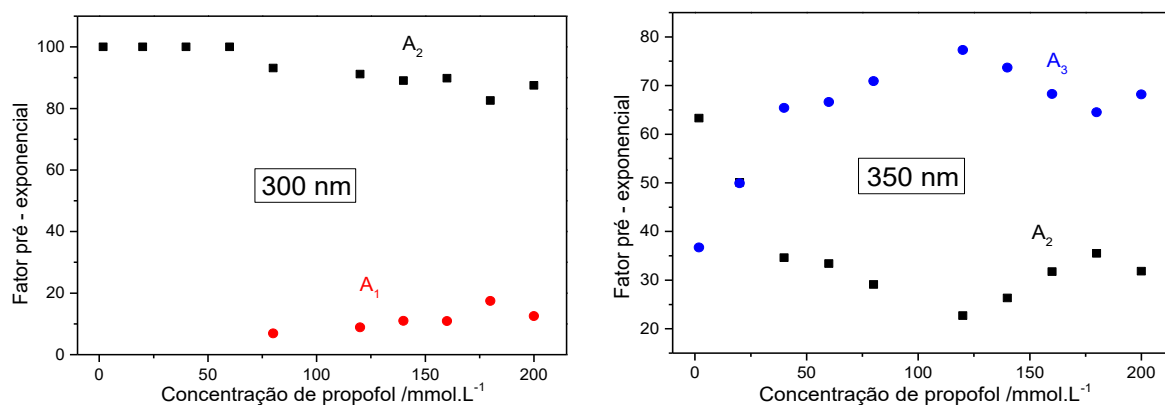
- Espectroscopia – Regime semi – diluído



**Figura S5.** Espectros de emissão obtidos para sistemas com 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB (esquerda) e 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAB (direita). As concentrações de propofol são mostradas nas legendas em mmol.L<sup>-1</sup>.

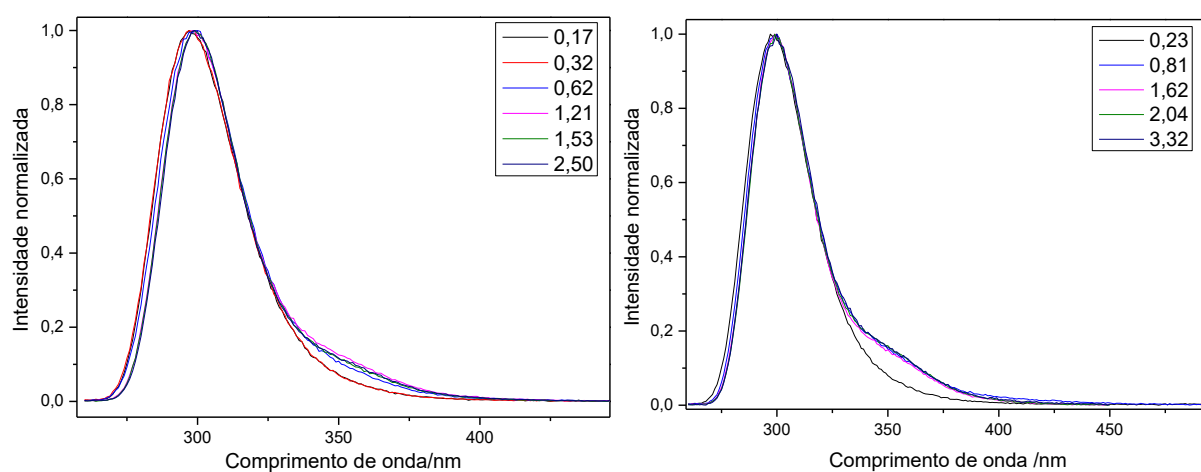


**Figura S6.** Espectros de emissão obtidos para sistemas com 100 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC (esquerda), 200 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC (direita) e 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC (abaixo). As concentrações de propofol são mostradas nas legendas em mmol.L<sup>-1</sup>.

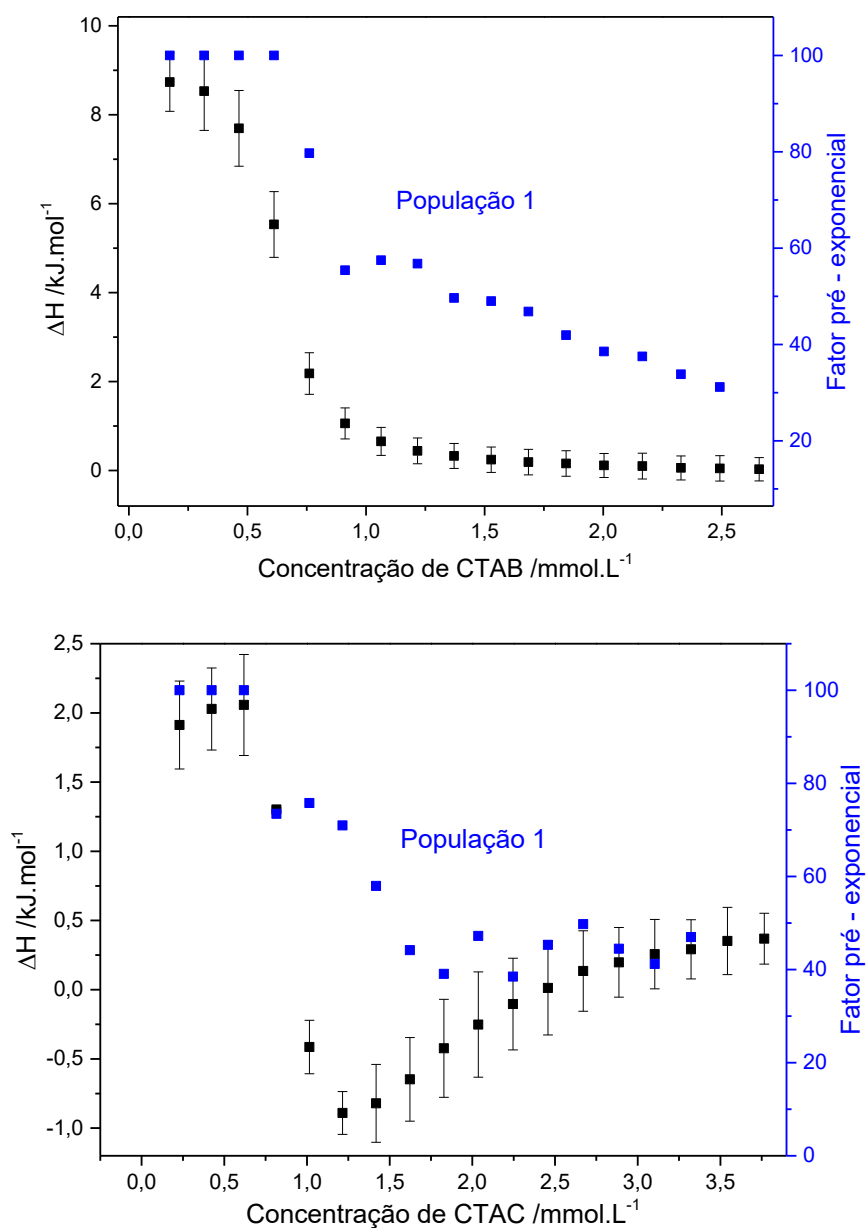


**Figura S7.** Fatores pré – exponenciais obtidos através da Equação 3 para sistemas contendo diferentes concentrações de propofol em 300 mmol.L<sup>-1</sup> de CTAC. Os ajustes foram realizados para a banda em 300 nm (esquerda) e a banda em 350 nm (direita).

- Espectroscopia – Regime diluído (ITC)



**Figura S8.** Espectros de emissão obtidos de forma a mimetizar os experimentos de ITC. A concentração de propofol é fixa em  $0,69 \text{ mmol.L}^{-1}$  e a concentração dos surfactantes CTAB (esquerda) e CTAC (direita) varia conforme mostrado na legenda em  $\text{mmol.L}^{-1}$ .



**Figura S9.** Resultados comparados de calorimetria (pontos pretos) e fluorescência (pontos azuis representando os fatores pré – exponencial referentes a população 1, propofol fora do ambiente micelar) para a titulação de CTAB (acima) ou CTAC (abaixo) em solução de propofol.

## 10. Referências bibliográficas

- 1) WHO Model List of Essential Medicines (19th List)". World Health Organization. April 2015. Archived from the original on 13 December 2016. Retrieved 8 December 2016.
- 2) Trapani, G., Altomare, C., Sanna, E., Biggio, G., & Liso, G. (2012). Propofol in Anesthesia. Mechanism of Action, Structure-Activity Relationships, and Drug Delivery. *Current Medicinal Chemistry*, 7(2), 249–271. <https://doi.org/10.2174/0929867003375335>
- 3) Van Norman G.A., Rosen J.S. (2015) Michael Jackson: Medical Ethics and What Went Wrong. In: Mason K. (eds) Pediatric Sedation Outside of the Operating Room. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1390-9\\_36](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1390-9_36)
- 4) Max T. Baker, Mohamed Naguib; Propofol: The Challenges of Formulation. *Anesthesiology* 2005;103(4):860-876
- 5) Rau, Jens MD; Roizen, Michael F. MD; Doenicke, Alfred W. MD; O'Connor, Michael F. MD; Strohschneider, Ursula MD Propofol in an Emulsion of Long- and Medium-Chain Triglycerides: The Effect on Pain, Anesthesia & Analgesia: August 2001 - Volume 93 - Issue 2 - p 382-384 doi: 10.1213/00000539-200108000-00029
- 6) Naderloo, Z., Shayanfar, A., Zakeri-Milani, P., & Valizadeh, H. (2020). The effect of different factors on partitioning of propofol between aqueous and organic phases of microemulsions. *Journal of Molecular Liquids*, 308, 113003. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113003>
- 7) Larsen B, Beerhalter U, Biedler A, Brandt A, Doege F, Brün K, Erdkönig R, Larsen R. Weniger Injektionsschmerz durch Propofol-MCT/LCT? Ein Vergleich mit Propofol-LCT. *Anaesthesist*. 2001 Nov;50(11):842-5. German. doi: 10.1007/s00101-001-0234-0. PMID: 11760478.
- 8) Yang, J., Yin, W., Liu, J., Wang, Y., Zhou, C., Kang, Y., & Zhang, W. S. (2013). Synthesis and characterization of novel quick-release propofol prodrug via lactonization. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(6), 1813–1816. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.034>
- 9) H. Kumpulainen, T. Järvinen, A. Mannila, J. Leppänen, T. Nevalainen, A. Mäntylä, J. Vepsäläinen, J. Rautio, Synthesis, in vitro and in vivo characterization of novel ethyl dioxy phosphate prodrug of propofol, *Eur. J. Pharm. Sci.* 34 (2008) 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.02.121>.
- 10) HOLMBERG, K.; BO, J.; KRONBERG, B. Surfactants and polymers in aqueous solution. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2002. 0–471 p. ISSN 0883-7554. ISBN 0471498831.

- 11) Rosen MJ, Kunjappu JT (2012). *Surfactants and Interfacial Phenomena* (4th ed.). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons. p. 1. ISBN 978-1-118-22902-6. Archived from the original on 8 January 2017.
- 12) EVANS, D. F.; WENNERSTRÖM, H. *The colloidal domain: Where physics, chemistry, biology, and technology meet*. 2. ed. Wiley-VCH, 1999. ISSN 0935-9648. ISBN 1521-4095. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/adma.19960080318>>.
- 13) R, Figueredo & L, Ribeiro & Sabadini, Edvaldo. (1999). Ciência de espumas - aplicação na extinção de incêndios. *Química Nova*. 22. 10.1590/S0100-40421999000100019.
- 14) LAURIDSEN, J. B. Food emulsifiers: Surface activity, edibility, manufacture, composition, and application. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 53, n. 6, p. 400–407, 1976. ISSN 15589331.
- 15) BALZER, D. *Aqueous Viscoelastic Surfactant Solutions for Hair and Skin Cleaning*. 1999.
- 16) E. Sabadini, R. Rodrigues, Oil Field Exploration: Worm Micelle Applications, in: *Encycl. Surf. Colloid Sci. Third Ed.*, Taylor & Francis, 2016: pp. 5002–5010. <https://doi.org/10.1081/E-ESCS3-120051435>
- 17) Israelachvili, J. N. *Soft and Biological Structures*. In *Intermolecular and Surface Forces*; Elsevier, 14 Ed.; 2011; pp 535–577
- 18) W. Kang, P. Wang, H. Fan, H. Yang, C. Dai, X. Yin, Y. Zhao, S. Guo, A pH-responsive wormlike micellar system of a noncovalent interaction-based surfactant with a tunable molecular structure, *Soft Matter*. 13 (2017) 1182–1189. <https://doi.org/10.1039/C6SM02655A>
- 19) L. Matthews, Ż. Przybyłowicz, S.E. Rogers, P. Bartlett, A.J. Johnson, R. Sochon, W.H. Briscoe, The curious case of SDS self-assembly in glycerol: Formation of a lamellar gel, *J. Colloid Interface Sci.* 572 (2020) 384–395. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.03.102>.
- 20) X.-L. Wei, C.-H. Han, P.-P. Geng, X.-X. Chen, Y. Guo, J. Liu, D.-Z. Sun, J.-H. Zhang, M.-J. Yu, Thermo-responsive properties driven by hydrogen bonding in aqueous cationic gemini surfactant systems, *Soft Matter*. 12 (2016) 1558–1566. <https://doi.org/10.1039/C5SM02247A>.
- 21) Dai, C., Yang, Q., Gao, M., Zhao, M., & Jiang, J. (2018). The mechanism difference between CO<sub>2</sub> and pH stimuli for a dual responsive wormlike micellar system. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20(30), 19900–19905. <https://doi.org/10.1039/c8cp02107d>

- 22) Kwiatkowski, A. L., Molchanov, V. S., Kuklin, A. I., & Philippova, O. E. (2020). Opposite effect of salt on branched wormlike surfactant micelles with and without embedded polymer. *Journal of Molecular Liquids*, 311, 113301. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113301>
- 23) C.A. Dreiss, Wormlike micelles: Where do we stand? Recent developments, linear rheology and scattering techniques, *Soft Matter*. 3 (2007) 956–970. <https://doi.org/10.1039/b705775j>
- 24) Ito, T. H., Miranda, P. C. M. L., Morgon, N. H., Heerdt, G., Dreiss, C. A., & Sabadini, E. (2014). Molecular variations in aromatic cosolutes: Critical role in the rheology of cationic wormlike micelles. *Langmuir*, 30(39), 11535–11542. <https://doi.org/10.1021/la502649j>
- 25) Raghavan, S. R.; Kaler, E. W. Highly Viscoelastic Wormlike Micellar Solutions Formed by Cationic Surfactants with Long Unsaturated Tails. *Langmuir* 2001, 17 (2), 300–306.
- 26) M.Z. Jora, R.N. De Souza, T.M. Barbosa, C.F. Tormena, E. Sabadini, Probing the Formation of Wormlike Micelles Formed by Cationic Surfactant with Chlorobenzoate Derivatives, *Langmuir*. 35 (2019) 17046–17053. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b02173>.
- 27) de Souza, R. N., Jora, M. Z., Duarte, L. G. T. A., Clinckspoor, K. J., Atvars, T. D. Z., & Sabadini, E. (2019). A new interpretation of the mechanism of wormlike micelle formation involving a cationic surfactant and salicylate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 552, 794–800. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.05.025>
- 28) Jora, M. Z.; Sabadini, E.; Raghavan, S. R. Light-Triggered Rheological Changes in a System of Cationic Wormlike Micelles Formulated with a Photoacid Generator. *Langmuir* 2020, [acs.langmuir.0c01439](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01439). <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01439>.
- 29) Souza, R. N. De; Gustavo, L.; Alves, T.; Jora, M. Z.; Dib, T.; Atvars, Z.; Sabadini, E. Thermal Behavior of Wormlike Micelles under Turbulent and Quiescent Regimes. *Colloids Surfaces A* 2020, 603 (June), 125271. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125271>.
- 30) Yang, C.; Hu, Z.; Song, Z.; Bai, J.; Zhang, Y.; Luo, J.; Du, Y.; Jiang, Q. Self-Assembly Properties of Ultra-Long-Chain Gemini Surfactant with High Performance in a Fracturing Fluid Application. *J. Appl. Polym. Sci.* 2017, 134, 44602.
- 31) Tan, G.; Ford, C.; John, V. T.; He, J.; McPherson, G. L.; Bose, A. Surfactant Solubilization and the Direct Encapsulation of Interfacially Active Phenols in Mesoporous Silicas. *Langmuir* 2008, 24, 1031–1036.

- 32) Balzer, D. Aqueous Viscoelastic Surfactant Solutions for Hair and Skin Cleaning. U.S. Patent 5,965,502A, 1999.
- 33) Lequeux, F., Candau, S.J., Dynamical Properties of Wormlike Micelles, Structure and Flow in Surfactant Solutions, Chapter 3pp 51-62, ACS Symposium Series Vol. 578 ISBN13: 9780841230545
- 34) Kwon, S. Y., & Kim, M. W. (2001). Structure and growth control of a nonionic surfactant micelle by adding a phospholipid. *Langmuir*, 17(26), 8016–8023. <https://doi.org/10.1021/la0106182>
- 35) Mackeben, S., Mü, M., & Müller-Goymann, C. C. (2001). The influence of water on phase transitions of a drug-loaded reverse micellar solution into lamellar liquid crystals. In *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. [www.elsevier.nl/locate/colsurfa](http://www.elsevier.nl/locate/colsurfa)
- 36) Kokkoli, E., Mardilovich, A., Wedekind, A., Rexeisen, E. L., Garg, A., & Craig, J. A. (2006). Self-assembly and applications of biomimetic and bioactive peptide-amphiphiles. In *Soft Matter* (Vol. 2, Issue 12, pp. 1015–1024). <https://doi.org/10.1039/b608929a>
- 37) Rapoport, N. (1999). Stabilization and activation of Pluronic micelles for tumor-targeted drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 16(1–4), 93–111. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(99\)00063-6](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00063-6)
- 38) Zhang, Z., Almarsson, S., Chen, H. Aqueous Pharmaceutical Composition of 2,6 – Diisopropylphenol (Propofol) And Their Uses. U.S. Patent 8,133,918 B2, 2012.
- 39) Meadows, J., Du Mayne, J.D., An anaesthetic formulation comprising micelles and propofol. UK Patent Application GB 2 359 747A, 2001.
- 40) Ravenelle, F., Vachon, P., Rigby-Jones, A. E., Sneyd, J. R., le Garrec, D., Gori, S., Lessard, D., & Smith, D. C. (2008). Anaesthetic effects of propofol polymeric micelle: A novel water soluble propofol formulation. *British Journal of Anaesthesia*, 101(2), 186–193. <https://doi.org/10.1093/bja/aen147>
- 41) Li, X., Zhang, Y., Fan, Y., Zhou, Y., Wang, X., Fan, C., Liu, Y., & Zhang, Q. (2011). Preparation and evaluation of novel mixed micelles as nanocarriers for intravenous delivery of propofol. *Nanoscale Research Letters*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1556-276X-6-275>
- 42) Cai, W., Deng, W., Yang, H., Chen, X., & Jin, F. (2012). A propofol microemulsion with low free propofol in the aqueous phase: Formulation, physicochemical characterization, stability and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, 436(1–2), 536–544. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.008>
- 43) Agarwal, V., Singh, M., McPherson, G., John, V., & Bose, A. (2006). Microstructure evolution in aqueous solutions of cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) and

- phenol derivatives. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 281(1–3), 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.047>
- 44) Chaghi, R., de Ménorval, L. C., Charnay, C., Derrien, G., & Zajac, J. (2008). Interactions of phenol with cationic micelles of hexadecyltrimethylammonium bromide studied by titration calorimetry, conductimetry, and <sup>1</sup>H NMR in the range of low additive and surfactant concentrations. *Journal of Colloid and Interface Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.07.035>
- 45) Vaid, Z. S., Kumar, A., el Seoud, O. A., & Malek, N. I. (2017). Drug induced micelle-to-vesicle transition in aqueous solutions of cationic surfactants. *RSC Advances*, 7(7), 3861–3869. <https://doi.org/10.1039/c6ra25577a>
- 46) Crothers, M., Zhou, Z., Ricardo, N. M. P. S., Yang, Z., Taboada, P., Chaibundit, C., Attwood, D., & Booth, C. (2005). Solubilisation in aqueous micellar solutions of block copoly(oxyalkylene)s. *International Journal of Pharmaceutics*, 293(1–2), 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.12.005>
- 47) Y. Kim, P. Dalhaimer, D.A. Christian, D.E. Discher, Polymeric worm micelles as nano-carriers for drug delivery, *Nanotechnology*. 16 (2005) S484–S491. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/7/02>
- 48) Manaargadoo-Catin, M., Ali-Cherif, A., Pognas, J. L., & Perrin, C. (2016). Hemolysis by surfactants - A review. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 228, pp. 1–16). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.10.011>
- 49) ISHIKAWA, Rafael Francisco. Desenvolvimento de geis antimicrobianos baseados em micelas gigantes. 2021. 1 recurso online (105 p.) Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1641285>. Acesso em: 28 dez. 2021.
- 50) Zana, R; Kaler, E.W. 2007 Giant Micelles Properties and Applications. CRC Press
- 51) M.A. Calabrese, S.A. Rogers, R.P. Murphy, N.J. Wagner, The rheology and microstructure of branched micelles under shear, *J. Rheol.* (N. Y. N. Y). 59 (2015) 1299–1328. <https://doi.org/10.1122/1.4929486>.
- 52) Ganguly, R., Kuperkar, K., Parekh, P., Aswal, V. K., & Bahadur, P. (2012). Phenol solubilization in aqueous Pluronic® solutions: Investigating the micellar growth and interaction as a function of Pluronic® composition. *Journal of Colloid and Interface Science*, 378(1), 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.04.034>
- 53) REHAGE, H.; HOFFMANN, H. Rheological properties of viscoelastic surfactant systems. *Journal of Physical Chemistry*, v. 92, n. 16, p. 4712–4719, 1988. ISSN 00223654.

- 54) Clinckspoor, K. J., Jorge, L. L., Hoffmann, H., & Sabadini, E. (2018). Rheological and calorimetric study of alkyltrimethylammonium bromide-sodium salicylate wormlike micelles in aqueous binary systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 515, 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.01.024>
- 55) V. Lutz-Bueno, R. Pasquino, M. Liebi, J. Kohlbrecher, P. Fischer, Viscoelasticity Enhancement of Surfactant Solutions Depends on Molecular Conformation: Influence of Surfactant Headgroup Structure and Its Counterion, *Langmuir*. 32 (2016) 4239–4250. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b00776>
- 56) Shibaev, A. v., Tamm, M. v., Molchanov, V. S., Rogachev, A. v., Kuklin, A. I., Dormidontova, E. E., & Philippova, O. E. (2014). How a viscoelastic solution of wormlike micelles transforms into a microemulsion upon absorption of hydrocarbon: New insight. *Langmuir*, 30(13), 3705–3714. <https://doi.org/10.1021/la500484e>
- 57) Kumar, S., Bansal, D., & Kabir-Ud-Din. (1999). Micellar growth in the presence of salts and aromatic hydrocarbons: Influence of the nature of the salt. *Langmuir*, 15(15), 4960–4965. <https://doi.org/10.1021/la980026s>
- 58) Zaldivar, G., Conda-Sheridan, M., & Tagliazucchi, M. (2021). Molecular Basis for the Morphological Transitions of Surfactant Wormlike Micelles Triggered by Encapsulated Nonpolar Molecules. *Langmuir*, 37(10), 3093–3103. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c03421>
- 59) Dreiss, Cecile & Feng, Yujun. (2017). Wormlike Micelles: Advances in Systems, Characterisation and Applications. 10.1039/9781782629788.
- 60) N.R. Agrawal, X. Yue, S.R. Raghavan, The Unusual Rheology of Wormlike Micelles in Glycerol: Comparable Timescales for Chain Reptation and Segmental Relaxation, *Langmuir*. 36 (2020) 6370–6377. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00489>.
- 61) Cates, M. E.; Fielding, S. M. Rheology of Giant Micelles. *Adv. Phys.* 2006, 55 (7-8), 799–879
- 62) V.I. Yavrukova, G.M. Radulova, K.D. Danov, P.A. Kralchevsky, H. Xu, Y.W. Ung, J.T. Petkov, Rheology of mixed solutions of sulfonated methyl esters and betaine in relation to the growth of giant micelles and shampoo applications, *Advances in Colloid and interface science*. 275 (2019) 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102062>
- 63) Creatto, E.J. Forças hidrofóbicas e eletrostáticas na formação de micelas gigantes de surfactantes quaternários de amônio e cossolutos aromáticos. Tese de Doutorado – Unicamp – 2018

- 64) Helgeson, M. E.; Hodgdon, T. K.; Kaler, E. W.; Wagner, N. J. A Systematic Study of Equilibrium Structure, Thermodynamics, and Rheology of Aqueous CTAB/NaNO<sub>3</sub> Wormlike Micelles. *J. Colloid Interface Sci.* 2010, 349 (1), 1–12.
- 65) U. Olsson, O. Söderman, P. Guéring, Characterization of micellar aggregates in viscoelastic surfactant solutions. A nuclear magnetic resonance and light scattering study, *J. Phys. Chem.* 90 (1986) 5223–5232. <https://doi.org/10.1021/j100412a066>.
- 66) A.L. Kwiatkowski, V.S. Molchanov, A.I. Kuklin, O.E. Philippova, Opposite effect of salt on branched wormlike surfactant micelles with and without embedded polymer, *J. Mol. Liq.* 311 (2020) 113301. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113301>.
- 67) B. Heyne, F. Tfibel, M. Hoebeke, P. Hans, V. Maurel, M.P. Fontaine-Aupart, Photochemistry of 2,6-diisopropylphenol (propofol), *Photochem. Photobiol. Sci.* 5 (2006) 1059–1067. <https://doi.org/10.1039/b605782a>.
- 68) T.H. Ito, K.J. Clinckspoor, R.N. de Souza, E. Sabadini, The thermal signature of wormlike micelles, *J. Chem. Thermodyn.* 94 (2015) 61–66, <https://doi.org/10.1016/j.jct.2015.10.021>
- 69) NSRDS-NBS 36 Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems, United States department of commerce 1972
- 70) W. Loh, C. Brinatti, K.C. Tam, Use of isothermal titration calorimetry to study surfactant aggregation in colloidal systems, *Biochim. Biophys. Acta – Gen.Subj.* 2015 (1860) 999–1016, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2015.10.003>.
- 71) Galgano PD, El Seoud OA. Micellar properties of surface active ionic liquids: a comparison of 1-hexadecyl-3-methylimidazolium chloride with structurally related cationic surfactants. *J Colloid Interface Sci.* 2010 May 1;345(1):1-11. doi: 10.1016/j.jcis.2010.01.078.
- 72) Aquavan” NDA 22-244, Center for drug evaluation and research, FDA, 2008
- 73) Zeisig, R., Ress, A., Fichtner, I., & Walther, W. (2003). Lipoplexes with alkylphospholipid as new helper lipid for efficient in vitro and in vivo gene transfer in tumor therapy. *Cancer Gene Therapy*, 10(4), 302–311. <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700572>
- 74) Koehler, J., Sulistijo, E. S., Sakakura, M., Kim, H. J., Ellis, C. D., & Sanders, C. R. (2010). Lysophospholipid micelles sustain the stability and catalytic activity of diacylglycerol kinase in the absence of lipids. *Biochemistry*, 49(33), 7089–7099. <https://doi.org/10.1021/bi100575s>
- 75) Göbl, C., Dulle, M., Hohlweg, W., Grossauer, J., Falsone, S. F., Glatter, O., & Zangger, K. (2010). Influence of phosphocholine alkyl Chain length on peptide-micelle interactions and micellar size and shape. *Journal of Physical Chemistry B*, 114(13), 4717–4724. <https://doi.org/10.1021/jp9114089>

- 76) Vernier, G., Wang, J., Jennings, L. D., Sun, J., Fischer, A., Song, L., & Collier, R. J. (2009). Solubilization and characterization of the anthrax toxin pore in detergent micelles. *Protein Science*, 18(9), 1882–1895. <https://doi.org/10.1002/pro.199>
- 77) GOODWIN, J. W.; HUGHES, R. W. *Rheology for Chemists: an Introduction*. 1. ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2000.
- 78) Schramm, G. *A Practical Approach to Rheology and Rheometry*, 2nd ed.; Gebrueder: Karlsruhe, DE, 2000.
- 79) Reiner, M. The Deborah Number. *Phys. Today* 1964, 17 (1), 62.
- 80) JORA, Manazael Zuliani. pH-responsive wormlike micelle and its application in acid stimulation in oilfield exploration: Micelas gigantes responsivas a pH e sua aplicação na etapa de estimulação ácida na produção de petróleo . 2020. 1 recurso online ( 336 p.) Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1640183>. Acesso em: 31 dez. 2021.
- 81) BOUCHEMAL, K. et al. What can isothermal titration microcalorimetry experiments tell us about the self-organization of surfactants into micelles? *Journal of Molecular Recognition*, v. 23, n. 4, p. 335–342, 2010. ISSN 09523499.
- 82) SOUZA, Renato Nunes de. Estabilidade térmica de micelas gigantes em repouso e sob fluxo turbulento. 2018. 1 recurso online (79 p.) Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1634607>. Acesso em: 28 dez. 2021
- 83) DUARTE, Luís Gustavo Teixeira Alves. Dinâmica físico-química da transferência de prótons nos estados fundamental e excitado dos isômeros constitucionais de orto-(2-imidazoil)naftol. 2015. 1 recurso online ( 86 p.) Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1626658>. Acesso em: 29 dez. 2021.
- 84) J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3a Edição. 2006.