



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Programa de Pós-graduação em Engenharia Química  
Doutorado em Engenharia Química

**SOLUÇÕES AQUOSAS DE SAIS E LÍQUIDOS IÔNICOS  
PARA PROMOVER A SOLUBILIDADE E EXTRAÇÃO DE  
ARTEMISININA**

**Soluções aquosas de sais e líquidos iônicos para promover a solubilidade e extração de artemisinina**

Isabela Conceição Sales

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvana Mattedi e Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Simão P. Pinho

Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup> Mara G. Freire

Salvador/BA

2021

---

S163 Sales, Isabela Conceição.

Soluções aquosas de sais e líquidos iônicos para promover a solubilidade e extração de artemisinina/ Isabela Conceição Sales. – Salvador, 2021.

116 f.: il. color.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Mattedi e Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Simão Pedro de Almeida Pinho.

Coorientadora: Profa. Dra. Mara Guadalupe Freire Martins

Tese (doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Escola Politécnica, 2021.

1. Artemisinina. 2. Líquidos iônicos. 3. Hidrótropos. 4. Solubilidade 5. Extração sólido-líquido. I. Silva, Silvana Mattedi e. II. Pinho, Simão Pedro de Almeida. III. Martins, Mara Guadalupe Freire. IV. Universidade Federal da Bahia. V. Título.

---

CDD: 660.29

*Dedico esta tese à minha avó Julieta, à minha mãe Maria Luiza, à minha madrinha  
Marisete e à minha tia Margarida (in memoriam).*

## **Agradecimentos**

Sair de sua cidade natal e ir em busca de crescimento profissional em outra cidade ou país dá um pouco de medo, mas ao mesmo tempo surge a coragem para dar o primeiro passo e cresce a esperança de estar no caminho certo. Para vencer esse desafio, tive o apoio incondicional dos meus pais – Maria Luiza e Gerson –, dos meus irmãos – Geifer, Raissa e Lucas –, além de tias, tios, avó e prim@s. Agradeço a todos eles pelo carinho, por acreditar o tempo inteiro que eu era capaz e por não me deixar desistir.

Agradeço também aos meus orientadores Prof.<sup>a</sup> Silvana Mattedi, Prof. Simão Pinho e Prof.<sup>a</sup> Mara Freire pelo acompanhamento, paciência e, acima de tudo, confiança depositada em mim. Gostaria de estender esse agradecimento ao Prof.<sup>o</sup> João Coutinho que esteve sempre presente durante o doutorado sanduíche em Portugal. Sou uma grande admiradora do trabalho de todos e foi uma honra ter sido orientada por grandes profissionais.

Durante todo esse tempo foi muito importante poder contar com meus amigos da UFBA. Juntos podemos dividir alegrias, angústias, dúvidas e as ansiedades desse caminho tortuoso que é o doutorado. Muito obrigada Thaíse, Jarlon, Fernanda, Jamille, Alane, Gabriela, Gabriel, Fábio, João, Ícaro e Carine! Jamais irei esquecer todo o apoio que me foi dado por vocês. Todos são muito essenciais na minha vida.

Com o doutorado também veio a oportunidade de realizar um grande sonho: estudar e viver em outro país. Em Aveiro pude viver esse sonho! Quero agradecer aos membros do PATH por terem me recebido de braços abertos durante todo o tempo em que permaneci no grupo. Em especial, muito obrigada aos outros brasileiros que compartilharam esse sonho comigo: Filipe, Leonardo, Bruna, Juliana e Evila. Obrigada por tudo, amigos.

Um agradecimento especial à minha amiga de todas as horas Taianí.

E um agradecimento mais que especial a Renato. Muito obrigada pelo apoio nos momentos difíceis, por me mostrar os lugares mais bonitos do seu país e por todo amor que tem me dado todos os dias. Sem você, seria muito mais difícil.

Agradeço a todos os docentes do PPEQ, à querida Leide, Wanderléia, Sirlene e Eduardo.

À CAPES (Proc. 88881.189075/2018-01 e 88887.494428/2020-00) e FCT pelo apoio financeiro.

E, acima de tudo, agradeço a Deus pela força, amor e por ter colocado todos em minha vida.



## **Soluções aquosas de sais e líquidos iônicos para promover a solubilidade e extração de artemisinina**

### **Resumo**

A busca pela cura da malária levou pesquisadores a encontrar a artemisinina (ART) em uma planta chinesa (*Artemisia annua L.*), no início da década de 1970. Este composto é um peróxido de lactona sesquiterpenóide conhecido por sua potente atividade antimalárica, doença que afeta 216 milhões de pessoas atualmente. No entanto, a extração convencional da ART apresenta alto custo e baixa eficiência, sendo sua baixa solubilidade em água considerada um forte obstáculo ao seu amplo uso. Os hidrótropos são uma classe de compostos com a capacidade de aumentar consideravelmente a solubilidade de solutos hidrofóbicos em soluções aquosas. Recentemente, líquidos iônicos (LIs) têm sido relatados como uma classe promissora de hidrótropos capaz de aumentar a solubilidade de vários compostos hidrofóbicos em solução aquosa. Assim, soluções hidrotrópicas com LIs podem contribuir não apenas para melhorar a eficiência da extração de ART de fonte natural, mas também para aumentar sua biodisponibilidade. Neste contexto, o objetivo principal da tese é propor um método de extração de ART que utilize soluções aquosas de LIs, ou sais, como solventes alternativos. Neste âmbito, foi analisado o impacto das estruturas químicas dos LIs, nomeadamente a natureza do ânion e do cátion, e suas concentrações, na solubilidade da ART em água, tendo essa sido determinada em soluções aquosas de LIs, ou sais, a diferentes molalidades, e a 30 °C. Os resultados obtidos evidenciam claramente a capacidade excepcional deste tipo de substâncias para aumentar a solubilidade da ART em meio aquoso, o que é comparado ao obtido com o uso de alguns solventes orgânicos. O valor máximo da solubilidade variou, nos diferentes sistemas, entre 2,5 e até 750 vezes o valor da solubilidade da água pura, sendo o máximo atingido com o salicilato de sódio. Além disso, parâmetros solvatocrômicos das soluções aquosas investigadas foram determinados com o objetivo de correlacionar as propriedades do solvente com os dados de solubilidade da ART e contribuir na compreensão do fenômeno da hidrotropia. Após a comprovação do poder hidrotrópico do LI e do sal, a metodologia de superfície de resposta foi utilizada para otimizar as condições operacionais de extração (tempo de extração, concentração de hidrotropo e temperatura), levando a um rendimento máximo de extração de ART de 0,68% em peso de folhas secas da *Artemisia annua L.* Por fim, a atividade antimalárica dos extratos foi determinada e comprovada.

**Palavras-chave:** artemisinina, líquidos iônicos, hidrótropos, extração sólido-líquido, parâmetros solvatocrômicos

## **Aqueous solutions of salts and ionic liquids to promote the solubility and extraction of artemisinin**

### **Abstract**

The search for a cure for malaria led researchers to find artemisinin (ART) in a Chinese plant (*Artemisia annua L.*) in the early 1970s. This compound is a sesquiterpenoid lactone peroxide known for its potent antimalarial activity, a disease that affects 216 million people today. However, conventional ART extraction has high cost and low efficiency, and its low solubility in water is considered a strong obstacle to its wide use. Hydrotropes are a class of compounds with the ability to increase the solubility of hydrophobic solutes in aqueous solutions considerably. Recently, ionic liquids (ILs) have been reported as a promising class of hydrotropes capable of increasing the solubility of various hydrophobic compounds in an aqueous solution. Thus, hydrotropic solutions with ILs can contribute not only to improve the efficiency of extracting ART from natural sources but also to increase its bioavailability. In this context, the main objective of the thesis is to propose a method of extracting ART that uses aqueous solutions of ILs, or salts, as alternative solvents. First, the impact of the chemical structures of ILs, namely the nature of the anion and cation, and their concentration on the solubility of ART in water was evaluated. For this, the solubility of ART was determined in several aqueous solutions of ILs/salts at different concentrations at 30 °C. The results obtained so far clearly demonstrate the exceptional ability of ILs to increase the solubility of ART in aqueous media, which is compared to that obtained with the use of organic solvents. The maximum solubility value varied, in the different systems, between 2.5 and 750 times the solubility value of pure water, the maximum being reached with sodium salicylate. In addition, solvatochromic parameters of the investigated aqueous solutions of ILs were determined to correlate the solvent properties with the ART solubility data and study the hydrotrophy phenomenon. After proving the IL and salt hydrotropic power, the response surface methodology was used to optimize the operational extraction conditions (extraction time, hydrotrope concentration, and temperature), leading to a maximum ART extraction yield of 0.68% by weight of dry leaves of *Artemisia annua L.* Finally, the antimalarial activity of the extracts was determined and confirmed.

**Key words:** artemisinin, ionic liquids, hydrotropes, solid-liquid extraction, solvatochromic parameters

## Lista de Figuras

Figura 1. Visão geral do projeto da tese. ....	5
Figura 2. Estrutura química da artemisinina.....	8
Figura 3. Exemplos de metodologias de extração. ....	9
Figura 4. Número de documentos publicados por ano relacionadas ao termo “ionic liquids” (barras verdes) e “ionic liquids” AND “extraction” (pontos azuis). Dados do Scopus em 22 de junho de 2021. ....	13
Figura 5. Curva de solubilidade na presença de uma solução hidrotrópica, descrevendo a existência de MHC. ....	19
Figura 6. Estruturas químicas de algumas sondas utilizadas para a determinação de parâmetros solvatocrômicos. ....	22
Figura 7. Estruturas químicas dos cátions e aniões estudados neste trabalho. ....	26
Figura 8. Estrutura da artemisinina, conforme determinado por difração de raios-X de cristal único. Fonte: (AMARA et al., 2015). ....	27
Figura 9. Solubilidade da ART em água a diferentes temperaturas. ....	31
Figura 10. Solubilidade relativa, expressa com a razão entre a solubilidade da ART no solvente (S) e a solubilidade em água pura ( $S_0$ ) a $(30,0 \pm 0,5)$ °C: solventes puros e em soluções aquosas (50:50 v/v). ....	32
Figura 11. Influência da concentração do hidrotropo na solubilidade relativa da ART em soluções aquosas a 30 °C. As linhas são guias visuais. ....	33
Figura 12. Efeito do cátion na solubilidade da ART em água. Os hidrotropos são baseados em (a) $\text{Cl}^-$ (b) $[\text{SCN}]^-$ (c) $[\text{N}(\text{CN})_2]^-$ e (d) $[\text{Sal}]^-$ . As linhas são guias visuais. ....	34
Figura 13. Efeito do ânion na solubilidade da ART em água. Os hidrotropos são baseados em (a) $[\text{Chol}]^+$ , (b) $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}]^+$ e (c) $\text{Na}^+$ . As linhas são guias visuais. ....	36
Figura 14. Perfis sigma para: (a) ART (b) $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}][\text{TOS}]$ (vermelho); $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}][\text{SCN}]$ (azul); $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}][\text{N}(\text{CN})_2]$ (verde); $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}]\text{Cl}$ (roxo). Fonte: (SALES et al., 2021). ....	37
Figura 15. Solubilidade relativa da ART em soluções aquosas de a 30°C a baixas concentrações do hidrotropo. ....	38
Figura 16. Solubilidade relativa de ART em soluções aquosas de solventes orgânicos e hidrotropos (cerca de 44% em massa) a 30 °C. ....	40
Figura 17. Modelo de hidrotropia cooperativa de Shimizu para: (a) $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}]\text{Cl}$ ; (b) $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}][\text{N}(\text{CN})_2]$ ; (c) $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}][\text{SCN}]$ ; (d) $[\text{C}_4\text{C}_{1\text{im}}][\text{TOS}]$ ; (e) $[\text{Chol}][\text{Sal}]$ ; (f)	

[Chol][Gal]; (g) [Chol][Van]; (h) [P <sub>4,4,4,4</sub> ]Cl; (i) [N <sub>4,4,4,4</sub> ]Cl; (j) Na[N(CN) <sub>2</sub> ]; (k) Na[SCN]; (l) Na[Sal]. As linhas representam os ajustes obtidos pelo modelo usando os parâmetros listados na Tabela C.3 .....	41
Figura 18. Parâmetros $\alpha$ , $\beta$ e $\pi^*$ para soluções de hidrótropos. As linhas tracejadas são os parâmetros solvatocrômicos para a água pura. As linhas contínuas são guias para os olhos. ....	43
Figura 19. Parâmetro $\alpha$ para os hidrótropos baseados em: (a) Cl <sup>-</sup> ; (b) [N(CN) <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; (c) [Sal] <sup>-</sup> e (d) [SCN] <sup>-</sup> . As linhas contínuas são guias para os olhos. ....	44
Figura 20. Influência do ânion no parâmetro $\alpha$ para os LIs baseados em: (a) [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im] <sup>+</sup> e (b) Na <sup>+</sup> . ....	45
Figura 21. Parâmetro $\beta$ para os hidrótropos baseados em: (a) [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im] <sup>+</sup> ; (b) Na <sup>+</sup> . As linhas contínuas são guias para os olhos. ....	46
Figura 22. Influência do cátion no parâmetro $\beta$ para os hidrótropos baseados em: (a) Cl <sup>-</sup> , (b) [Sal] <sup>-</sup> , (c) [SCN] <sup>-</sup> e (d) [N(CN) <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> . ....	47
Figura 23. Parâmetro $\pi^*$ para os hidrótropos baseados em: (a) [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im] <sup>+</sup> ; (b) Na <sup>+</sup> ; [SCN] <sup>-</sup> ; (d) [N(CN) <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; (e) Cl <sup>-</sup> e (f) [Sal] <sup>-</sup> . As linhas contínuas são guias para os olhos. ....	48
Figura 24. Correlação entre solubilidade experimental e predita da ART em soluções de: ■ [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im][TOS]; ● [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im][SCN]; ▲ [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im][N(CN) <sub>2</sub> ]; ◆ [C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im]Cl. Fonte: (SALES et al., 2021). ....	49
Figura 25. Instrumentos utilizados para a extração convencional em Soxhlet.....	53
Figura 26. Rendimento de extração da ART com soluções aquosas de hidrótropos com concentração de 2 mol/Kg <sub>solução</sub> (vermelho) e 3 mol/Kg <sub>solução</sub> (azul), 30 °C e 90 min. ...	56
Figura 27. Parâmetros $\alpha$ , $\beta$ para soluções de hidrótropos utilizados na extração de ART a 2 mol/Kg <sub>solução</sub> (vermelho) e 3 mol/Kg <sub>solução</sub> (azul). As linhas tracejadas são os parâmetros da água pura.....	58
Figura 28. Gráficos de superfície de resposta (à esquerda) e gráficos de contorno (à direita) no rendimento de extração de ART com os efeitos combinados de (a) Concentração (mol/kg <sub>solução</sub> ) e T (°C); (b) Concentração (mol/kg <sub>solução</sub> ) e tempo (min); e (c) T (°C) e tempo (min), utilizando soluções aquosas de [Chol][Sal].....	61
Figura 29. Gráficos de superfície de resposta (à esquerda) e gráficos de contorno (à direita) no rendimento de extração de ART com os efeitos combinados de (a) Concentração (mol/kg <sub>solução</sub> ) e T (°C); (b) Concentração (mol/kg <sub>solução</sub> ) e tempo (min); e (c) T (°C) e tempo (min), utilizando soluções aquosas de Na[Sal]. ....	62

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Exemplos de estudos envolvendo LI à base de colinas e seus autores.....	14
Tabela 2. Parâmetros característicos ( $e/nm^2$ ) das diversas regiões; doador e acceptor de ponte de hidrogênio, e apolar, de acordo com as equações 6 e 7. ....	39
Tabela 3. Parâmetros solvatocrômicos de água pura a 25 °C e 0,1 MPa. ....	42
Tabela 4. EC <sub>50</sub> dos extratos produzidos com soluções aquosas de hidrótipos.....	63

## Lista de Abreviaturas e Siglas

<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>]</b>	Dicianamida de 1-butil-3-metilimidazólio
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS]</b>	Tosilato de 1-butil-3-metilimidazólio
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]Cl</b>	Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio
<b>[Chol][Gal]</b>	Galato de colina
<b>[Chol][Sal]</b>	Salicilato de colina
<b>[Chol][Van]</b>	Vanilato de colina
<b>[N<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	Cloreto de tetrabutilamônio
<b>[P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	Cloreto de tetrabutílfosfônio
<b>ART</b>	Artemisinina
<b>DAD</b>	Detector de arranjo de diodos, do inglês <i>Diode array detector</i>
<b>HBA</b>	Aceptor de ligação de hidrogênio, do inglês <i>Hydrogen bond acceptor</i>
<b>HBD</b>	Doador de ligação de hidrogênio, do inglês <i>Hydrogen bond donor</i>
<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High performance liquid chromatography</i>
<b>LI</b>	Líquido iônico
<b>Na[N(CN)<sub>2</sub>]</b>	Dicianamida de sódio
<b>Na[Sal]</b>	Salicilato de sódio
<b>Na[SCN]</b>	Tiocianato de sódio
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PEG 400</b>	Polietileno glicol 400
<b>RMN</b>	Ressonância Nuclear Magnética

## Lista de Símbolos

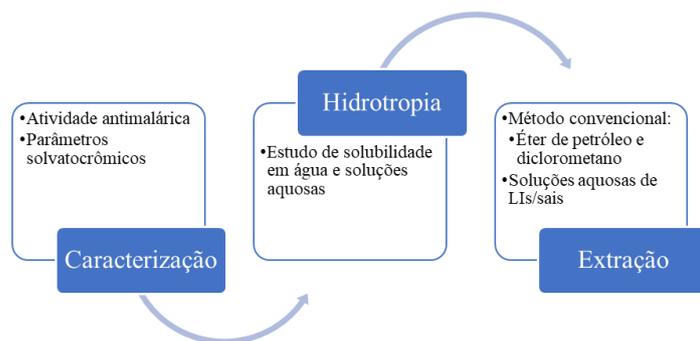
$\alpha$	Capacidade de doação de ligação de hidrogênio/Acidez
$\beta$	Capacidade de aceitação de ligação de hidrogênio/Basicidade
$\beta_0$	Coefficiente ajustado para o termo de intercepção
$\beta_i$	Coefficiente ajustado para o termo linear
$\beta_{ii}$	Coefficiente ajustado para o termo quadrático
$\beta_{ij}$	Coefficiente ajustado para o termo de interação
$\pi^*$	Dipolaridade/Polarizabilidade
$\sigma$	Desvio padrão
S	Solubilidade da artemisinina na presença de hidrótropos
S <sub>0</sub>	Solubilidade da artemisinina em água pura
T	Temperatura absoluta (K)
t	Tempo

# ÍNDICE

<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. OBJETIVOS.....	4
1.2. VISÃO GERAL DO PROJETO .....	4
<b>CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>6</b>
2.1. ARTEMISININA.....	7
2.2. EXTRAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS .....	9
2.3. LÍQUIDOS IÔNICOS .....	11
<i>Toxicidade dos LIs.....</i>	<i>15</i>
<i>Solubilidade e hidrotropia.....</i>	<i>16</i>
<i>Parâmetros solvatocrômicos .....</i>	<i>20</i>
2.4. ATIVIDADE ANTIMALÁRICA .....	22
2.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	24
<b>CAPÍTULO 3 – SOLUBILIDADE E HIDROTROPIA.....</b>	<b>25</b>
3.1. SECÇÃO EXPERIMENTAL .....	26
3.1.1. MATERIAIS .....	26
3.1.2. MÉTODOS .....	27
<i>Síntese de LIs à base de colina.....</i>	<i>27</i>
<i>Solubilidade da ART.....</i>	<i>28</i>
<i>Quantificação da ART.....</i>	<i>29</i>
<i>Parâmetros solvatocrômicos .....</i>	<i>29</i>
<i>COSMO-RS.....</i>	<i>30</i>
3.2. RESULTADOS .....	30
<i>Solubilidade da ART.....</i>	<i>30</i>
<i>Parâmetros Solvatocrômicos.....</i>	<i>42</i>
<b>CAPÍTULO 4 – EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO DA ART .....</b>	<b>51</b>
4.1. SECÇÃO EXPERIMENTAL .....	52
4.1.1. MATERIAIS .....	52
4.1.2. MÉTODOS .....	52
<i>Extração convencional de ART .....</i>	<i>52</i>

<i>Extração da ART usando soluções aquosas de LIs e sal</i> .....	53
<i>Metodologia superfície de resposta</i> .....	54
<i>Atividade antimalárica determinada usando o ensaio Whole-Cell SYBR Green I</i>	54
<b>4.2. RESULTADOS</b> .....	<b>55</b>
<i>Extração sólido-líquido de ART</i> .....	55
<i>Otimização da extração sólido-líquido</i> .....	59
<i>Atividade antimalárica</i> .....	63
<b>CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES</b> .....	<b>65</b>
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	67
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>83</b>

# Capítulo 1 – Introdução



A malária é uma doença infecciosa causada pelo parasita *Plasmodium*. Estes parasitas são transmitidos ao ser humano através da picada da fêmea de mosquitos *Anopheles*. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 3,3 mil milhões de pessoas estão em risco de contrair malária durante a sua vida, em particular nos países menos desenvolvidos. Embora a taxa de incidência da malária tenha diminuído cerca de 2% entre 2015 e 2019 (de 58 para 57 casos por 1000 pessoas em risco), estima-se que em 2019 a malária tenha atingido 229 milhões de pessoas em todo o mundo, tendo sido responsável por 409 mil mortes nesse mesmo ano (WHO, 2020).

A artemisinina (ART) é um composto de origem natural encontrado em mais elevada concentração numa planta de origem asiática denominada de *Artemisia annua L.* e tem ação rápida contra os vetores que causam a malária. As suas características farmacodinâmicas e farmacocinéticas, assim como a sua forte capacidade para a eliminação do *Plasmodium* trouxeram muitas expectativas face a esta nova classe de fármacos antimaláricos (DE VRIES; DIEN, 1996). Existem diversas formulações comerciais baseadas na ART (CZECHOWSKI et al., 2020), e além da sua atividade antimalárica, a ART e os seus derivados apresentam outras propriedades terapêuticas, nomeadamente atividade antimicrobiana, antiviral e antitumoral (BEEKMAN et al., 1998; CRESPO-ORTIZ; WEI, 2012; OH et al., 2009).

Mais de 3,1 bilhões de tratamentos à base de ART foram vendidos mundialmente entre 2010–2019 (WHO, 2020), o que equivale a cerca de 1550 toneladas de ART pura obtida de *A. annua* (assumindo 0,5 g de ART por tratamento). Embora seja possível a sua preparação por síntese química, esta é muito longa, com baixo rendimento e economicamente pouco sustentável. Assim, a origem da maior quantidade desse composto para comercialização continua a ser a *Artemisia annua L.* (ABDIN et al., 2003; LAPKIN, 2014).

A extração da ART é sujeita a uma grande atenção por parte da comunidade científica, com diversos métodos a serem estudados e comparados por diversos autores (HAO et al., 2002; PILKINGTON; PRESTON; GOMES, 2014; SILVA et al., 2017). Os métodos tradicionais de extração envolvem a utilização de hidrocarbonetos, como hexano ou éter de petróleo (LABOUKHI-KHORSI; DAOUD; CHEMAT, 2017a). No entanto, têm surgido algumas propostas alternativas à extração convencional, nomeadamente a utilização de extrações sólido-líquido a baixa pressão com hexano ou etanol (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006), a extração com solventes supercríticos, como o caso do

dióxido de carbono supercrítico (KOHLENER et al., 1997), e a extração com líquidos iônicos (DAI et al., 2013).

A eficácia terapêutica da ART depende, no entanto, da sua biodisponibilidade e solubilidade em meio aquoso. Este composto possui baixa solubilidade em água e isso tem sido um grande obstáculo ao seu uso efetivo. Nesse contexto, as soluções hidrotrópicas podem contribuir não apenas para melhorar a eficácia da extração de ART, mas também para aumentar a sua biodisponibilidade. Alguns líquidos iônicos (LIs) mostraram uma forte capacidade de aumentar a solubilidade de biomoléculas através do fenômeno de hidrotropia (CLÁUDIO et al., 2015; SINTRA et al., 2018).

A possibilidade de combinar vários cátions e ânions e, assim, ser capaz de sintetizar um grande número de LIs, torna necessária a caracterização físico-química desses compostos para que possam ser melhor selecionados para uma determinada aplicação. O conhecimento de suas propriedades, tais como temperaturas de fusão, densidade, viscosidade e propriedades de solvatação/polaridade, a fim de definir o solvente que melhor se adequa a um processo específico, é, portanto, de alta relevância (CLÁUDIO et al., 2014). No caso do processo hidrotrópico, as interações específicas que ocorrem entre o solvente e o soluto dissolvido (interações soluto-solvente) geralmente estão relacionadas à polaridade do solvente e de outras interações específicas (TELES et al., 2017). Os estudos das sondas solvatocrômicas surgiram da necessidade de compreender questões como a influência dos efeitos do solvente nas reações químicas e nos processos de dissolução de solutos, principalmente em termos de polaridade (MACHADO, 1997). Kamlet, Taft e colaboradores (KAMLET, 1975; KAMLET; ABBOUD; TAFT, 1977; KAMLET; TAFT, 1976) propuseram o uso de sondas solvatocrômicas e espectrofotometria visível no UV para estabelecer uma escala numérica quanto à capacidade aceptora e doadora de pontes de hidrogênio, bem como de polarizabilidade das diferentes moléculas.

Tendo em consideração a importância da ART no tratamento da malária, e com o intuito de propor um método de extração mais econômico e sustentável, a tese propõe estudar a aplicação de soluções aquosas de LIs ou sais, como solventes alternativos para a extração de ART das folhas da *Artemisia annua L.*. Uma triagem indicou quais as melhores soluções aquosas de LIs e dos sais. Para isso, foram investigadas a solubilidade da ART nessas soluções. Após identificar os LIs mais promissores, variáveis de processo como temperatura, tempo de extração e porcentagem de água adicionada ao LI, foram

otimizados para maximizar a extração de ART. Por fim, a bioatividade do extrato foi testada.

### **1.1. Objetivos**

O objetivo geral do trabalho é avaliar o uso de líquidos iônicos, sais, e suas soluções aquosas, como solventes alternativos para a extração de artemisinina a partir de folhas de *Artemisia annua L.*, visando melhorar sua biodisponibilidade e atividade antimalárica. Os objetivos específicos são: 1. Determinação da solubilidade da ART em diferentes soluções aquosas de LIs/sais, a 30°C; 2. Determinação dos parâmetros solvatocrômicos dos sistemas estudados; 3. Extração de ART utilizando soluções aquosas de LIs e solventes orgânicos; 4. Avaliação da atividade antimalárica.

### **1.2. Visão geral do projeto**

A tese de doutorado é dividida em duas etapas: determinação de dados de solubilidade e caracterização físico-química das soluções hidrotrópicas, e extração da ART da biomassa.

Para a primeira etapa, foi feito um mapeamento onde foram utilizados 12 LIs e sais para a determinação de dados de solubilidade da ART e verificação do efeito hidrotrópico dos mesmos a 30 °C. Foram escolhidos diferentes cátions e ânions com o intuito de obter uma representativa combinação de solventes. Os líquidos iônicos à base de colina foram sintetizados para essa tese. Os dados de solubilidade foram ajustados com o modelo de Shimizu e Matubayasi (2016). Foram ainda determinados os parâmetros solvatocrômicos de soluções aquosas contendo os mesmos LIs e sais escolhidos no mapeamento inicial. Esses dados preliminares serão suporte na escolha do solvente que será utilizado na segunda etapa do projeto.

Na segunda etapa, foram realizadas extrações convencionais em Soxhlet utilizando solventes orgânicos (éter de petróleo e diclorometano) para certificar a existência de ART na biomassa, e comparação com os resultados encontrados no processo alternativo proposto nesse projeto. Soluções aquosas dos 5 LIs e sais que obtiveram o maior aumento da solubilidade do composto quando comparado a água pura foram escolhidos para a extração do composto a partir da biomassa.

O esquema para o projeto da tese descrito está esquematizado na Figura 1.

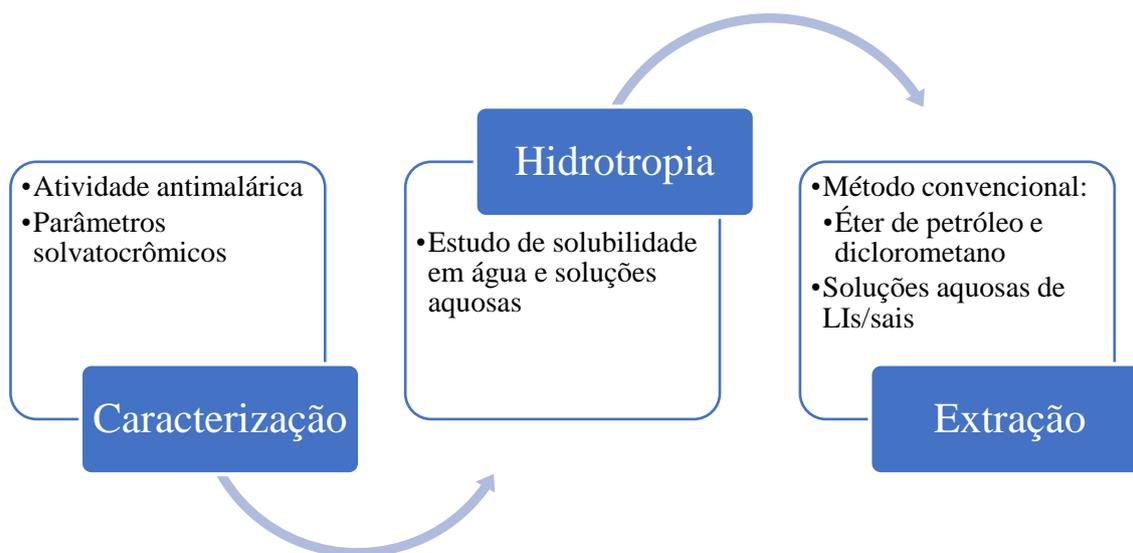


Figura 1. Visão geral do projeto da tese.

Os capítulos desta tese são brevemente descritos a seguir.

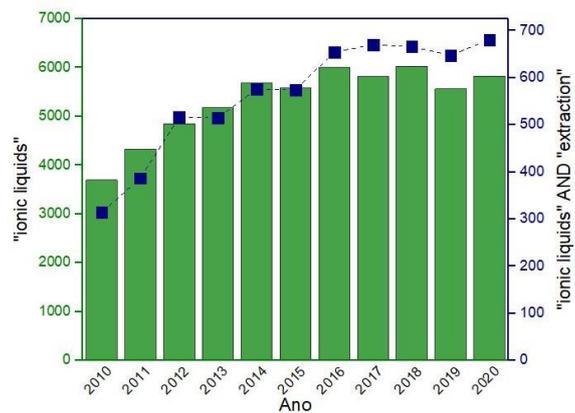
No Capítulo 2 está apresentada a revisão bibliográfica dos assuntos abordados.

O Capítulo 3 está centrado no estudo da solubilidade da ART em água e soluções aquosas de 12 LIs/sais a 30 °C, e ainda da determinação dos parâmetros solvatocrômicos. Serão apresentadas as metodologias empregadas, bem como os resultados e sua interpretação.

As extrações a partir da biomassa são descritas e discutidas no Capítulo 4. Neste, também se apresenta a otimização realizada com o intuito de obter melhores rendimentos de extração. Foram feitos dois planejamentos experimentais para as soluções aquosas de Na[Sal] e [Chol][Sal]. A atividade antimalárica dos extratos obtidos foi avaliada.

As conclusões, e sugestões para trabalhos futuros, são apresentadas no Capítulo 5.

# Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica



Neste capítulo é apresentada uma breve revisão acerca do estado da arte em que este trabalho se insere. Além de descrever as principais características do composto alvo, também se focam conceitos de hidrotropia, as principais características dos líquidos iônicos, e métodos de extração convencionais e alternativos que tem vindo a ser desenvolvidos para a concentração e purificação da artemisinina.

## 2.1. Artemisinina

Em 2019, 229 milhões de pessoas foram infectadas com a malária em todo o mundo e 409 mil delas morreram. O parasita responsável pela maior parte dos casos fatais é o *Plasmodium falciparum* (WHO, 2020). Nas Américas, 20% do número de casos aconteceu no Brasil, em 2019. Dentre eles, 90% dos casos aconteceram na região amazônica onde questões socioeconômicas, culturais e ambientais favorecerem a reprodução do vetor, e a infecção pelo *Plasmodium*. Os povos indígenas são os mais atingidos pela malária na região (MENDES et al., 2020; WHO, 2020).

O primeiro fármaco utilizado para o tratamento dessa doença foi a quinina, isolada da casca da *Cinchona L.* Desde então, a malária tem sido tratada com medicamentos à base de quinolina, como cloroquina, mefloquina e primaquina. Infelizmente, muitas cepas de *P. falciparum* tornaram-se resistentes à cloroquina e algumas, como as do sudeste asiático, também desenvolveram resistência à mefloquina e halofantrina (ABDIN et al., 2003).

No início da década de 1970, cientistas chineses iniciaram uma busca por plantas indígenas utilizadas como remédios naturais e encontraram uma conhecida como "qing hao" (*Artemisia annua L.*). As primeiras tentativas de confirmar a atividade antimalárica a partir de um extrato produzido com água foram decepcionantes. No entanto, os cientistas investigaram a extração a baixa temperatura usando éter etílico como solvente e, em 1979, pacientes com malária por *P. falciparum* ou *P. vivax* aparentemente foram curados com derivados do qing hao (BARRADELL; FITTON, 1995; KLAYMAN, 1985). Desde daí, o poder antimalárico da artemisinina tem sido regularmente e crescentemente reportado.

A ART é uma lactona endoperóxido de sesquiterpeno (Figura 2) e sua principal fonte é *Artemisia annua L.*, que cresce em climas temperados e é mais difundida na China e no Vietnã, embora também tenha sido encontrada e/ou cultivado na África Oriental, nos

Estados Unidos, Rússia, Índia, Brasil e alguns outros países (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006).

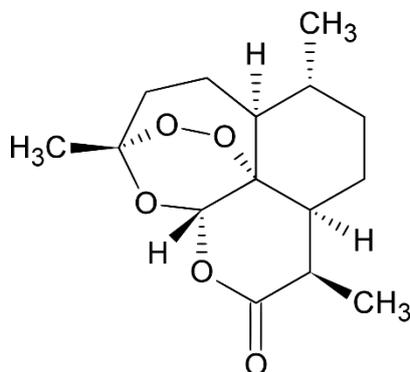


Figura 2. Estrutura química da artemisinina.

A obtenção da ART por síntese química é possível. No entanto, a sua complexa estrutura faz com que o processo seja muito exigente tecnicamente e economicamente inviável devido ao baixo rendimento (ABDIN et al., 2003). Várias tentativas para a síntese química da artemisinina foram relatadas. Schmid e Hofheinz (1983), por exemplo, converteram (-)-isopulegol em ART em 13 etapas de síntese com um rendimento de 5%.

Por outro lado, a quantidade total de ART encontrada em diferentes variedades de *A. annua L.* varia amplamente, e depende não apenas da variedade de plantas, mas também do clima, taxa de crescimento e uso de fertilizantes, e irrigação (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006). As diferenças genéticas também são fatores que contribuem para essa variabilidade de produção de ART em cada planta. Atendendo a isso, alguns pesquisadores têm buscado desenvolver técnicas de cruzamento genético de *Artemisia Annuia L.* na tentativa de criar *in vitro* uma planta que ofereça maiores concentrações de ART em suas folhas. Com isso, plantas híbridas, com origem na Suíça, podem conter até 1,38% em massa de ART. As plantas selvagens, de lugares como Vietnã, Índia e Argentina, apresentam valores entre 0,01 a 0,86% de ART. Já as plantas selvagens de origem chinesa possuem concentração em massa do fármaco de 0,14 a 1,07% (DELABAYS; SIMONNET; GAUDIN, 2012). Mais ainda, 89% do conteúdo total de artemisinina é encontrado nas folhas (CHARLES et al., 1990).

Além da ART, outros compostos do mesmo grupo são encontrados nas folhas da mesma planta, como por exemplo a arteannuina B e o ácido artemisínico. Este último, inclusive, é precursor da ART na via de biotransformação, e pode ser encontrado em concentrações significativas (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006). Porém, após a extração desse

composto, seria necessário desenvolver uma rota semissintética para a produção da ART e isso pode não ser um método viável para uma produção em larga escala da molécula. Portanto, atualmente, sua extração a partir das plantas de *Artemisia annua L.* continua sendo a principal fonte do antimalárico.

## 2.2. Extração de biomoléculas

Extração é um processo no qual um ou mais componentes são separados seletivamente, ou não, de uma matriz sólida (extração sólido-líquido) ou líquida (extração líquido-líquido). A força motriz para a transferência da biomolécula da matriz para o solvente é a solubilidade de cada componente, o que resulta em duas fases: o extrato, que é a fase enriquecida do componente a ser separado, e o refinado, que é a fase pobre da biomolécula alvo (LIMA; OLIVEIRA; SANTANA, 2017).

Os métodos de extração podem ser classificados em métodos convencionais, como a extração por solvente a quente ou a frio, como percolação ou turbo extração, e as metodologias não-convencionais, tais como a extração assistida por ultrassom ou microondas e a extração com fluido supercrítico (LIMA; OLIVEIRA; SANTANA, 2017). Alguns exemplos de metodologias de extração podem ser vistos na Figura 3.

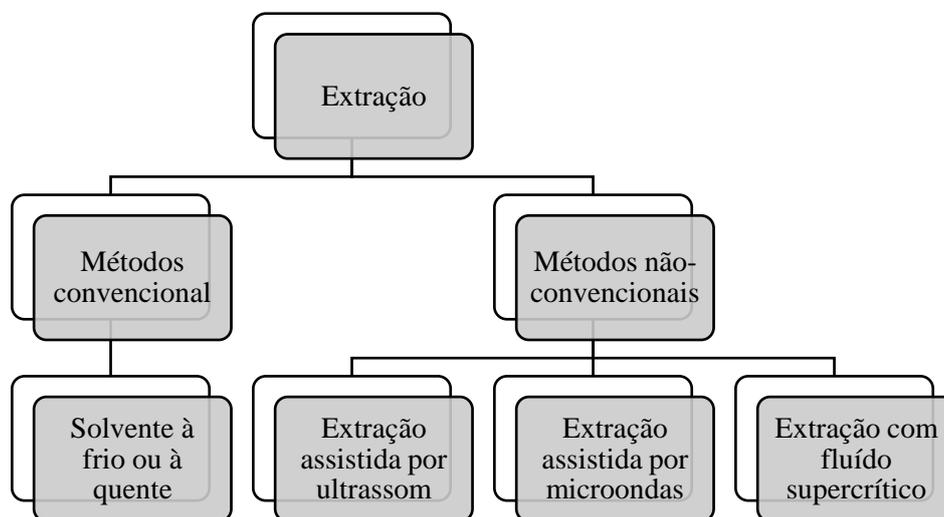


Figura 3. Exemplos de metodologias de extração.

As plantas são matrizes complexas que contêm uma variedade de metabólitos secundários que diferem em seus grupos funcionais e polaridades. Levando em consideração as propriedades biológicas de metabólitos vegetais específicos, e a crescente busca por esse

tipo de compostos para aplicações em alimentos, saúde e cosméticos, há um interesse crescente no desenvolvimento de processos de extração mais sustentáveis e econômicos. Porém para se melhorar a seletividade da molécula alvo, tanto quanto possível, os fatores que controlam a partição dos compostos de interesse devem ser levados em consideração para que o melhor resultado de extração seja alcançado e possibilitem resultados reprodutíveis (BOGDANOV, 2014).

Para que a extração seja eficiente é necessário fazer a escolha adequada do solvente, levando em consideração a miscibilidade, a capacidade de extração, densidade, estabilidade térmica e química, preço, dentre outros (LIMA; OLIVEIRA; SANTANA, 2017). Além disso, diferentes partes das plantas, como folhas, flores, galhos, cascas, sementes, frutos e raízes, podem ser usadas para extração e as partes das plantas utilizadas devem ser claramente indicadas, pois todas diferem quanto à morfologia e composição química (BOGDANOV, 2014).

Para a extração convencional de compostos de alto valor da biomassa, vários solventes, como etanol, acetona, diclorometano, metanol etc., ou ainda a mistura desses solventes, são comumente usados e aplicados de acordo com a natureza dos compostos-alvo. No caso da ART, o principal processo de extração comercial é baseado no uso de éter de petróleo como agente extrator, devido a sua ampla disponibilidade e boa solvatação da molécula alvo na extração da planta (LAPKIN et al., 2010), e algumas vezes modificado com acetato de etila para aumentar a solubilidade da ART (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006). Solventes orgânicos, como heptano, hexano, etanol e tolueno também são usados e são quase idênticos em desempenho ao éter de petróleo. O uso de hexano/éter de petróleo como agente de extração é amplamente praticado na China e no Vietnã, que são os principais produtores e centros de processamento de *A. annua* (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006).

Na literatura é possível encontrar trabalhos como o de Soktoeva et al. (2013) que utilizaram diferentes métodos de extração, como maceração e extração supercrítica, e diferentes solventes para isolar a ART. O teor de ART encontrado na extração realizada com hexano e utilizando maceração foi de 0,039%.

Misturas de hexano com acetato de etila também são utilizados para extração (CHEMAT et al., 2017). Neste caso, foram comparados os resultados encontrados da extração utilizando maceração com a extração utilizando lixiviação assistida com ultrassom, além

de variações na temperatura. As melhores eficiências de extração foram alcançadas a 40 °C e, enquanto com a ART extraída foi 4,95mg/g, a técnica que utilizava ultrassom resultou numa extração de 5,98mg/g.

Como a quantidade de ART presente em *Artemisia annua L.* é extremamente baixa, esforços contínuos foram dedicados ao emprego de métodos de extração mais eficazes e ecologicamente mais benignos para aumentar o rendimento de extração desse composto. Prawang et al. (2019), por exemplo, sugeriram o uso de irradiação ultrassônica para intensificar a extração de ART usando poli(etilenoglicol) (PEG) de diferentes massas moleculares, para substituir os solventes tradicionais, e o método desenvolvido mostra maior eficiência de extração quando comparado com uma extração convencional por Soxhlet. Além desses, métodos como extração assistida por ultrassom (BRIARS; PANIWNKYK, 2013; CHEMAT et al., 2017; ZHANG et al., 2018) e microondas (HAO et al., 2002) e extração supercrítica de fluidos (CIFTCI et al., 2018; KOHLER et al., 1997; NAHAR; GUO; SARKER, 2020) também têm sido reportados. Existem ainda autores que combinam técnicas na tentativa de melhorar o rendimento de extração da ART. É o caso de Martinez-correa et al. (2017) que desenvolveram um processo de duas etapas, onde na primeira foi utilizado dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>) como solvente e, a partir do resíduo sólido da extração supercrítica, foram obtidos outros extratos (segunda etapa) usando etanol ou água como solventes. No entanto, segundo os autores, a maior quantidade de ART foi obtida com scCO<sub>2</sub>, portanto, uma segunda etapa de extração não traria grande benefício.

Os solventes comumente utilizados no processo de extração da ART geralmente são altamente voláteis, inflamáveis e explosivos, o que torna esses processos perigosos e não ambientalmente benignos (ZHANG et al., 2018). Com isso, solventes alternativos vêm sendo aplicados em processos de extração de compostos de interesse em substituição dos solventes tradicionais, tais como líquidos iônicos e solvente eutéticos profundos (SOUZA et al., 2017).

### **2.3. Líquidos iônicos**

Líquidos iônicos (LIs) são geralmente definidos como sais orgânicos que possuem pontos de fusão abaixo de 100 °C (ÁLVAREZ et al., 2010). Esses solventes têm propriedades interessantes que incluem amplo intervalo de temperaturas no estado líquido, pressão de vapor desprezível e elevada solubilidade de componentes orgânicos e inorgânicos

(ROGERS; SEDDON, 2003). A sua baixíssima volatilidade em condições atmosféricas, que significa que quase nenhuma poluição volátil é criada durante a sua manipulação nas operações industriais, atribui-lhe um carácter mais “verde”, podendo assim substituir solventes orgânicos voláteis, causando menos danos para o meio ambiente (NEVES et al., 2016; VENTURA et al., 2012a).

Em alguns casos em que os LIs são utilizados como solventes é obtida melhor seletividade para reações orgânicas, ou de absorção molecular, do que com solventes orgânicos convencionais, devido a interações específicas entre os íons, e destes com os restantes compostos na mistura. Nos últimos anos, os LIs têm encontrado uma série de aplicações como solventes limpos, e catalisadores para química verde, como eletrólitos para baterias, na fotoquímica e outros. A faixa em que se encontram na fase líquida pode ser tão grande quanto 300 °C, o que permite grande controle cinético da reação, facilita a separação de moléculas orgânicas através de destilação, podendo ainda recuperar-se o LI (ÁLVAREZ et al., 2010). O fato de que muitos são líquidos à temperatura ambiente os tornam atraentes para um número de aplicações industriais como extração sólido-líquido ou processos tecnológicos como purificação e recuperação de biomoléculas (MAIA et al., 2012).

Os LIs são considerados solventes de projeto porque podem ser desenhados a partir da combinação de grande diversidade de cátions e ânions orgânicos/inorgânicos (NEUMANN et al., 2007), conferindo-lhe determinadas propriedades. Os cátions mais frequentemente estudados são à base de nitrogênio, como o pirrolidínio, imidazólio, piridínio e amônio quaternário, combinados com ânions como cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), brometo ( $\text{Br}^-$ ), tetrafluoroborato ( $[\text{BF}_4]^-$ ), tiocianato ( $[\text{SCN}]^-$ ), alquilcarboxilato ( $[\text{C}_n\text{CO}_2]^-$ ), entre outros. Dada a sua multiplicidade e diversidade, os pesquisadores estão ainda focados em LI à base de imidazólio (PASSOS; FREIRE; COUTINHO, 2014) para a extração de vários compostos como ácidos fenólicos (CLÁUDIO et al., 2012; DE FARIA et al., 2019), alcalóides (BOGDANOV et al., 2012; BOGDANOV; SVINYAROV, 2013) e triterpenóides (DE FARIA et al., 2017).

Para entender a evolução do número de publicações de trabalhos relacionados com o uso de LIs, uma pesquisa foi feita na base de dados “Scopus” usando os termos “*ionic liquids*” e, com o intuito de refinar a pesquisa, os termos “*ionic liquids*” AND “*extraction*” foram utilizados. A Figura 4 mostra o número de publicações a partir de 2010. É possível perceber que os LIs ainda são muito utilizados ao longo dos anos principalmente na área

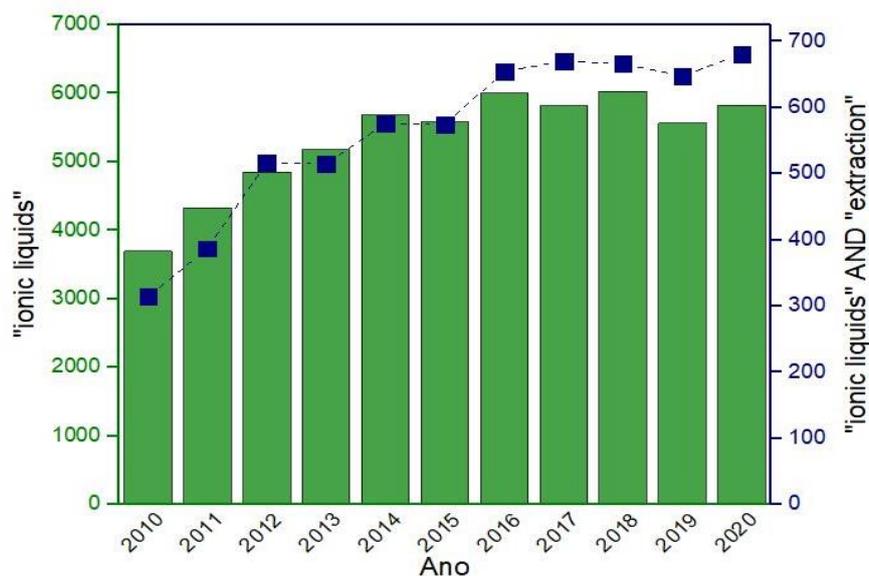


Figura 4. Número de documentos publicados por ano relacionadas ao termo “ionic liquids” (barras verdes) e “ionic liquids” AND “extraction” (pontos azuis). Dados do Scopus em 22 de junho de 2021.

Química e de Ciência dos Materiais, segundo o Scopus. No entanto, o baixo número de documentos relacionados a extrações revela que ainda há muito o que se explorar nessa área.

Além dos imidazólios, os LIs à base de colinas tem sido alvo de crescente interesse de pesquisadores. Isto porque o cátion da colina produzirá LIs com menor potencial de risco ambiental e biológico, por esta ser um nutriente essencial. Esta classe de LIs é derivada a partir de sais quaternários de amônio, descritos como estruturas importantes nos processos biológicos e utilizados como precursores para a síntese de vitaminas (vitamina B - tiamina) e enzimas que participam do metabolismo de glicídios (MECK; WILLIAMS, 1999).

O cloreto de colina foi oficialmente reconhecido em 1998 pelo Instituto de Medicina (Institute of Medicine - IOM) como um nutriente essencial devido à sua ampla gama de funções no metabolismo humano (MEDICINE, 1998). É encontrado numa grande variedade de alimentos, e em maior percentagem nos ovos, carnes e salmão. Além disso, existe a possibilidade de combinação do cátion colina com diversos ânions, produzindo LIs com diferentes propriedades a fim de uma ótima separação do composto de interesse.

Recentemente, pesquisas vêm demonstrado a síntese de novos LIs com o cátion colina ([Chol]<sup>+</sup>) combinando com diferentes ânions. Alguns estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Exemplos de estudos envolvendo LI à base de colinas e seus autores.

Autores (Ano)	Estudo
Alencar et al. (2020)	Estudo sobre o uso de sistema aquoso bifásico, formado por acetonitrila + bitartarato de colina + água a 25°C, para a separação seletiva e posterior recuperação de corantes. Uma eficiência de extração de cerca de 99% para a fase rica em colina foi obtida.
Díaz-Quiroz et al. (2020)	Uso de alaninato de colina no sistema bifásico utilizado na extração de diferentes antibióticos e hormônio.
Quental et al. (2019)	LI à base de colinas foram investigados, tanto para atuar como meio de preservação quanto como agentes formadores de fase de sistemas aquosos bifásicos, com o objetivo de desenvolver plataformas integradas de extração-preservação. O RNA foi extraído com sucesso para a fase rica em LI sem comprometer sua integridade e estabilidade.
Bogdanov e Svinjarov (2018)	Sistema aquoso bifásico à base de LI compostos por íons de baixa toxicidade, colina ([Chol <sup>+</sup> ]) e sacarinato ([Sac <sup>-</sup> ]) e acesulfamato ([Ace <sup>-</sup> ]), foram empregadas para a extração simultânea e concentração de acetilcolinesterase.
Wang et al. (2016)	Estudo do comportamento de fases em sistemas compostos por LI à base de colina + água + sal, com variação da temperatura.
Wang et al. (2016b)	Extração e purificação de flavonóides e pectinas da casca de ponkan utilizando soluções à base de colina.
Quental et al. (2015)	Extração de proteínas usando LI à base de cloreto de colina como constituintes de sistemas aquosos bifásicos. A eficiência de extração obtidas são muito superiores às observadas com sistemas aquosos convencionais baseado em PEG.

A aplicação destes compostos a processos de extração de biomoléculas é vista como uma alternativa promissora e pouco explorada, como se percebe pela Figura 4. Além disso, misturas de LIs à base de colinas, com água, ou solventes orgânicos, ainda é pouco caracterizada, o que dificulta a compreensão destes sistemas (SOUZA et al., 2017).

Fazendo uma pesquisa sobre trabalhos que envolvam extração de ART utilizando LIs, apenas 2 publicações foram encontradas. Na primeira, solução aquosa de brometo de 1-etil-3-metilimidazólio e ondas ultrassônicas foram utilizadas para melhorar a extração da ART. Segundo os autores, a taxa de extração foi de 97% (XIA; ZENG; ZHAO, 2008). O segundo estudo foi realizado pela Bioniqs Ltd (Reino Unido). Os testes iniciais foram realizados com cinco LIs, dos quais o octanoato de N,N-dimetiletanolamônio (DMEA) apresentou o melhor rendimento de extração, quando comparados aos resultados obtidos com hexano. O processo de extração é semelhante a uma extração sólido-líquido padrão e foi realizado em regime de batelada. Com o DMEA, a concentração máxima de ART em solução (0,79 g/L) foi atingida após 30 minutos de extração e 25°C (BIONIQS LTD., 2008).

#### *Toxicidade dos LIs*

Algumas pesquisas destacam as aplicações industriais de LIs como uma abordagem inovadora para “Química Verde” e em sustentabilidade. Porém, o fato de apresentarem pressão de vapor desprezível não é suficiente para garantir que esses compostos possam ser considerados solventes inofensivos para o meio ambiente. Na verdade, mesmo os LIs mais hidrofóbicos apresentam alguma solubilidade em água e, portanto, podem constituir um risco ambiental para os ecossistemas aquáticos (NACHAM et al., 2015).

Uma ampla gama de testes (bactérias, fungos, algas, plantas aquáticas, crustáceos, linhagens celulares de mamíferos e vertebrados) foi utilizada para avaliar a toxicidade de LIs (AMDE; LIU; PANG, 2015; DOCHERTY; KULPA, 2005; KULACKI; LAMBERTI, 2008; PERNAK; ROGOZA; MIRSKA, 2001; PETKOVIC et al., 2010; SANTOS et al., 2015; SINTRA et al., 2017; VENTURA et al., 2012b, 2013; YUE; MO; ZHANG, 2021).

Docherty e Kulpa (2005) e Kulacki e Lamberti (2008), por exemplo, avaliaram a toxicidade de LIs a base de imidazólios. Os primeiros fizeram testes em *Vibrio fischeri* (bactéria marinha) e os demais em *Scenedesmus quadricauda* e *Chlamydomonas reinhardtii* (algas marinhas). Ambos os trabalhos chegaram à conclusão de que um

aumento no comprimento da cadeia do grupo alquil, bem como um aumento no número de grupos alquil substituídos no anel catiônico, correspondem a um aumento na toxicidade do LI.

Mais recentemente, Ventura et al. (2013) investigaram a toxicidade de LIs, abordando os impactos negativos nos ecossistemas aquáticos e avaliaram a possibilidade de se projetar LIs hidrofóbicos de baixa ecotoxicidade, por meio da manipulação de suas estruturas químicas. O impacto da presença do anel aromático na toxicidade de diferentes cátions, incluindo os imidazólios, e ânions foi analisado. Para tanto, ensaios padrão foram realizados utilizando organismos de diferentes níveis tróficos (*Vibrio fischeri*, *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Daphnia magna*) permitindo avaliar a consistência das relações estrutura-atividade em diferentes alvos biológicos. Os resultados mostram claramente que a toxicidade aumenta com a hidrofobicidade do LI. Além disso, sugerem a possibilidade de projetar LIs com um caráter hidrofóbico acentuado e menor toxicidade, pela eliminação de sua natureza aromática.

Pesquisas também têm sido voltadas para o estudo da toxicidade dos LIs baseados em colina, mas com diferentes ânions (FRADE et al., 2013; HOU et al., 2013; NOCKEMANN et al., 2007; PERNAK; CHWAŁA, 2003; PETKOVIC et al., 2010).

A toxicidade de uma ampla gama de LIs com o cátion colina foram testados por Ventura et al. (2014). Nele também foram utilizadas bactérias marinhas *Vibrio fischeri* para a realização dos testes propostos. Os resultados mostram que a maioria desses compostos são classificados como "praticamente inofensivos". No entanto alertam que alguns, como o butanoato de colina, possuem toxicidade maior que alguns solventes orgânicos como diclorometano e clorofórmio. Informação que foi posteriormente validada por Santos et al. (2015), reforçando a necessidade de realizar uma caracterização ecotoxicológica completa antes de assumir os LIs como solventes alternativos adequados e ambientalmente compatíveis.

#### *Solubilidade e hidrotropia*

As fontes e o número de substâncias ativas na indústria farmacêutica mudaram significativamente em cerca de 1970. No entanto, esses medicamentos geralmente apresentam baixa solubilidade em água, bem como baixa biodisponibilidade, especialmente por via oral (LIPINSKI et al., 2012), e por essa via também a baixa solubilidade da ART em água tem sido um grande obstáculo ao seu uso efetivo.

A solubilidade pode ser definida como o fenômeno da dissolução de um soluto no solvente que leva a um sistema homogêneo. É um dos parâmetros mais importantes para atingir a concentração necessária de moléculas de fármacos na circulação sistêmica para respostas farmacológicas adequadas e são primordiais para a escolha de solventes alternativos (DAS; PAUL, 2017). Na literatura, existem poucos dados relatados sobre a solubilidade da ART. Alguns estudos relataram a solubilidade em solventes orgânicos (LIU; LÜ; PANG, 2009; NTI-GYABAAH; GBEWONYO; CHIEW, 2010; QU et al., 2010) e também em solventes binários (MALWADE et al., 2016; WANG et al., 2007). Mais recentemente, Laboukhi-khors, Daoud e Chemat (2017) relataram solubilidade em água, sulfóxido de dimetila (DMSO), propileno glicol e isopropanol. Eles concluíram que a maior solubilidade a 20°C é no DMSO (103,7 mg/mL), enquanto o propileno glicol apresentou uma solubilidade semelhante à da água e muito baixa (0,6 mg/mL), devido à sua polaridade.

Os dados de solubilidade em soluções binárias aquosas são igualmente importantes e foram propostos por Wang et al. (2007), que relataram dados de solubilidade da ART em soluções de etanol e água, a diferentes temperaturas. Foi estabelecido que a solubilidade aumenta à medida que a concentração de etanol e a temperatura aumentam.

Os dados encontrados na literatura deixam claro que a solubilidade da ART em água é baixa. Os valores encontrados variam de 0,01 a 0,09 mg/ml em temperaturas de 20 a 40 °C (LABOUKHI-KHORSI; DAOUD; CHEMAT, 2017a; LETCHMANAN et al., 2018; MALWADE et al., 2016; SHAHZAD et al., 2012; USUDA et al., 2000). Algumas abordagens foram desenvolvidas para aumentar a solubilidade e a dissolução deste fármaco pouco solúvel em água, como a complexação fármaco-polímero usando o polímero hidrofílico polivinilpirrolidona (PVP) (SHAHZAD et al., 2012) e um secador por pulverização com um bocal multifluido modificado (SAHOO et al., 2009, 2011), mas os estudos envolvendo soluções aquosas de compostos hidrotrópicos para aumentar a solubilidade dos fármacos em água estão crescendo e podem contribuir não só para melhorar a solubilidade do ART, mas também para aumentar sua biodisponibilidade, uma vez que os hidrotrópicos aumentam consideravelmente os níveis de solubilidade dos solutos hidrofóbicos em soluções aquosas (CLÁUDIO et al., 2015; SOARES et al., 2020; YIN; CHEN; SHEN, 2019).

Hidrotrópicos são compostos utilizados para aumentar os níveis de solubilização de solutos hidrofóbicos em soluções aquosas (CLÁUDIO et al., 2015; SHIMIZU; MATUBAYASI,

2016; YIN; CHEN; SHEN, 2019). A maioria dos hidrótropos possui baixo coeficiente de partição octanol-água (Kow), devido a sua natureza hidrofílica, e baixa toxicidade. Além disso, como a solubilidade de um soluto em meio aquoso depende da concentração do hidrótropo, sua recuperação pode ser facilmente alcançada usando a água como anti-solvente. Logo, a pureza do produto final pode ser bastante aprimorada com a lavagem adicional com água (WAGLE; KOTHARI; GAIKAR, 2007).

O fenômeno da hidrotropia foi relatado pela primeira vez em 1916. O trabalho demonstrou o aumento da solubilidade de compostos pouco solúveis em água pela adição de sais de metais alcalinos de vários ácidos orgânicos com cadeias alquílicas curtas. Embora um grande número de trabalhos durante o século passado tenha abordado esse fenômeno, seu mecanismo de ação ainda não é totalmente compreendido (CLÁUDIO et al., 2015; DAS; PAUL, 2017).

O mecanismo de hidrotropia tem sido amplamente relacionado com a presença de uma concentração mínima hidrotrópica (MHC, do inglês *Minimum Hydrotrope Concentration*), a partir da qual se verifica um aumento significativo da solubilidade da biomolécula na solução aquosa do hidrótropo (Figura 5) (BOOTH; ABBOTT; SHIMIZU, 2012; NEUMANN et al., 2007). O termo MHC para um hidrótropo veio em consonância com a concentração micelar crítica (CMC, do inglês *Critical Micelle Concentration*) de um surfactante. Para uma determinada temperatura, um surfactante clássico forma uma micela acima de seu CMC e um hidrótropo semelhante também exibe um comportamento de agregação acima de seu valor de MHC (DAS; PAUL, 2017). No entanto, apesar da similaridade estrutural e de ser utilizados para aumentar a solubilidade de compostos poucos solúveis em água, os hidrótropos possuem parte apolar menor do que a dos surfactantes tradicionais (HOPKINS HATZOPOULOS et al., 2011).

Nas últimas décadas, três hipóteses tem sido levantadas para justificar o aumento da solubilidade dos compostos-alvo na água pelo papel dos hidrótropos: (i) auto-agregação, onde os hidrótropos formam aglomerados ou agregados na solução e, esse agrupamento, promove a solubilidade dos solutos (BAUDUIN et al., 2005); (ii) ruptura da estrutura da água induzida pelos hidrótropos, permitindo um aumento na solubilidade da molécula de interesse (SANGHVI; EVANS; YALKOWSKY, 2007); (iii) soluto-hidrótropo complexação como principal mecanismo por trás da solubilização (NEUMANN et al., 2007). Booth, Abbott, e Shimizu (2012) identificaram que a combinação das hipóteses

(ii) e (iii) podem explicar a hidrotropia no aumento da solubilidade de fármacos hidrofóbicos.

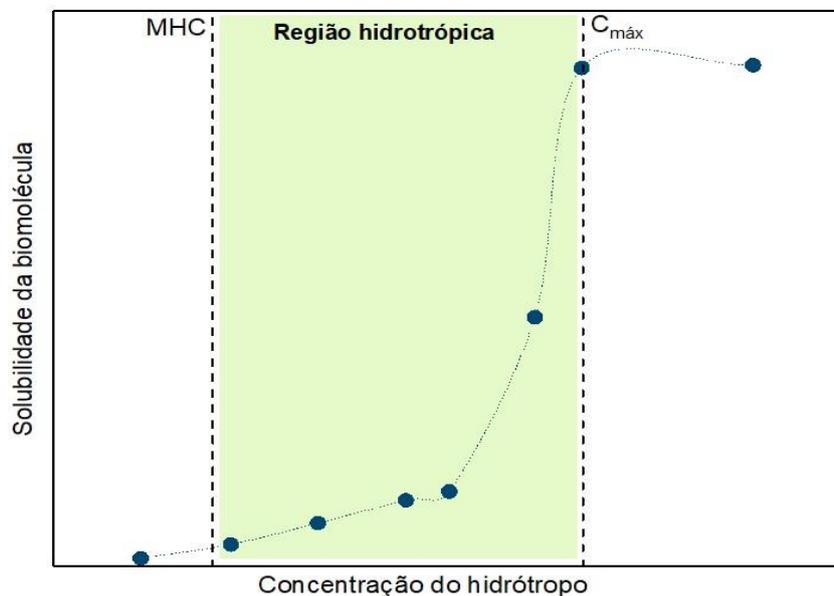


Figura 5. Curva de solubilidade na presença de uma solução hidrotrópica, descrevendo a existência de MHC.

Recentemente, LIs têm sido relatados como uma classe promissora de hidrótropos, pois cátion e ânion contribuem para a solubilidade de compostos hidrofóbicos em solução aquosa (SINTRA et al., 2018). Com isso, eles têm sido aplicados em várias pesquisas, como por exemplo, para extrair fitoquímicos (NAGARAJAN et al., 2016), ácido sírínico a partir de resíduos da indústria alimentar (DE FARIA et al., 2019) e hemiceluloses e lignina da biomassa da madeira (WU et al., 2020). No entanto, a primeira vez em que os LIs foram apontados como potenciais hidrótropos foi num estudo relacionado ao aumento da solubilidade de biomoléculas em água, por Cláudio et al. (2015). Neste trabalho, LIs baseados em imidazólio, piridina, e pirlidina foram avaliados e os autores observaram um aumento de 40 vezes na solubilidade, quando comparados a água pura. Além disso, os resultados gerais apoiaram a ideia de que o aprimoramento da solubilidade de solutos pouco solúveis em água é impulsionada pelo mecanismo de formação de agregados soluto-LI.

Os LIs à base de imidazólio também são candidatos promissores para aumentar a solubilidade de fármacos hidrofóbicos em solução aquosa, selecionando combinações

adequadas de cátion e ânion, como foi feito por Sintra et al. (2018). Neste trabalho, foi investigado o efeito das estruturas químicas de LI e sua concentração na solubilidade do ibuprofeno, composto pouco solúvel em água. Os resultados obtidos evidenciam claramente a capacidade dos LIs de aumentar a solubilidade do ibuprofeno. Ainda, nos sistemas contendo tiocianato de 1-butil-3-metilimidazólio ( $[C_4C_{1im}][SCN]$ ) e dicianamida de 1-butil-3-metilimidazólio ( $[C_4C_{1im}][N(CN)_2]$ ) foi observado um aumento na solubilidade de 60 e 120 vezes com relação a água pura.

Além disso, também existe a possibilidade de combinar o cátion de colina com vários ânions, produzindo LIs com propriedades diferentes para obter uma separação ótima do composto de interesse (BOGDANOV; SVINYAROV, 2018; QUENTAL et al., 2019, 2015; WANG et al., 2016b) contendo íons provenientes de fontes naturais (ácidos fenólicos), que se mostram alternativas promissoras ainda são pouco exploradas, e capazes de atuar como hidrótropos excepcionais, o que indica seu potencial como solventes de extração (FERREIRA et al., 2017). Sintra et al., (2021), por exemplo, demonstraram a capacidade do salicilato de colina de aumentar a solubilidade de drogas hidrofóbicas - ibuprofeno - em até 6.000 vezes.

Desde que os LIs surgiram como substitutos promissores dos solventes tradicionais, tornou-se crucial explorar suas propriedades. O conhecimento de suas propriedades físicas e químicas, a fim de escolher o melhor solvente para uma tarefa específica, é, portanto, de alta relevância. Entre as características mais relevantes interações específicas que ocorrem entre o solvente e o soluto, que geralmente estão relacionadas à polaridade do solvente e ao poder de formação de ponte de hidrogênio (CLÁUDIO et al., 2014; KURNIA et al., 2015). Assim, é necessário estudar métodos que permitam qualificar e quantificar essas propriedades.

#### *Parâmetros solvatocrômicos*

Os estudos das sondas solvatocrômicas surgiram da necessidade de compreender questões como a influência dos efeitos do solvente nas reações químicas e nos processos de dissolução de solutos, principalmente em termos de polaridade (MACHADO, 1997). Kamlet, Taft e colaboradores propuseram o uso de corantes e UV-visível para determinar intensidade de ligação do hidrogênio e, com isso, um conjunto de parâmetros solvatocrômicos foi obtido através de estudos espectrométricos de interações intermoleculares: ( $\alpha$ ) capacidade do solvente para doar ligações de hidrogênio (HBD); ( $\beta$ )

capacidade do solvente de aceitar ligações de hidrogênio (HBA) e ( $\pi^*$ ) dipolaridade / polarizabilidade (KAMLET, 1975; KAMLET; ABBOUD; TAFT, 1977; KAMLET; TAFT, 1976).

Esses parâmetros permitiram o desenvolvimento da correlação Kamlet-Taft para a descrição de uma variedade de propriedades usando o modelo LSER (do inglês *Linear Solvation Energy Relationship*), dado pela Equação 1.

$$(XYZ) = (XYZ)_0 + a\alpha + b\beta + s\pi^* \quad (1)$$

onde XYZ é o resultado de um processo dependente de solvente específico,  $(XYZ)_0$  é o valor para o sistema de referência. Os parâmetros  $a$ ,  $b$  e  $s$  representam os coeficientes e são independentes do solvente.

Diferentes corantes e abordagens experimentais podem resultar em diversos valores de parâmetros solvatocrômicos para o mesmo solvente (KAMLET, 1975; KAMLET; ABBOUD; TAFT, 1977; KAMLET; TAFT, 1976). Nesse contexto, diferentes técnicas empíricas fornecem apenas escalas únicas de polaridade relativa. Por exemplo, duas sondas estruturalmente semelhantes, N,N-dietil-3-nitroanilina e N,N-dietil-4-nitroanilina, levam a diferentes valores de  $\pi^*$  para o mesmo IL (AB RANI et al., 2011a). Na Figura 6 estão apresentados alguns exemplos de corantes que são utilizados na determinação de parâmetros solvatocrômicos.

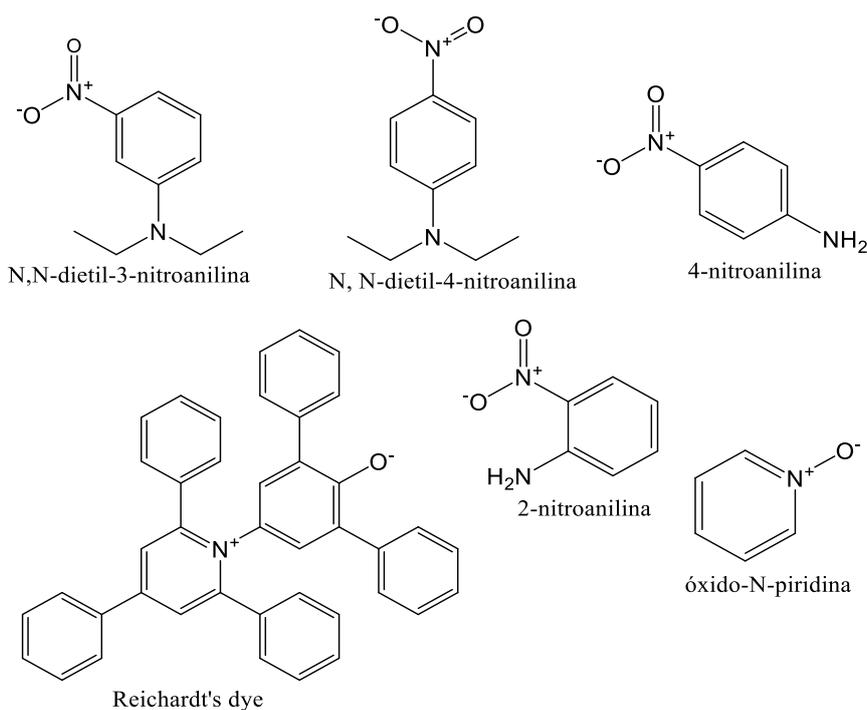


Figura 6. Estruturas químicas de algumas sondas utilizadas para a determinação de parâmetros solvatocrômicos.

Anos mais tarde, Schneider et al. (1992) propuseram uma nova metodologia para determinar o parâmetro  $\alpha$  onde eram utilizadas as alterações químicas  $^{13}\text{C}$ -RMN do óxido-N-piridina (Figura 6) como sonda. Esta substância e método podem ser utilizados como uma sonda eficaz para  $\alpha$ , sem a necessidade de outro solvente, como exigido por outros indicadores. Atualmente, essa mesma metodologia também se mostrou eficaz na determinação da capacidade de doação de ligações de hidrogênio por LI (MADEIRA et al., 2017).

Seguindo o método tradicional de determinação dos parâmetros solvatocrômicos, é mais comum que sejam obtidos a partir dos valores médios de uma série de corantes (BUHVESTOV et al., 1998; LU et al., 2001; MARCUS, 1993). No entanto, esse método exige um esforço experimental considerável, e então, a de medição direta, utilizando apenas um corante, também vem sendo utilizada (PASSOS et al., 2018; TELES et al., 2017).

Mesmo com as divergências encontradas entre diferentes autores e corantes, é geralmente aceito que os valores de dipolaridade/polarizabilidade ( $\pi^*$ ) são semelhantes entre várias LIs e são mais altos que os da maioria dos solventes moleculares, enquanto os valores de basicidade da ligação de hidrogênio ( $\beta$ ) cobrem uma ampla faixa e são controlados principalmente pelo ânion do LI. Já os valores de acidez da ligação de hidrogênio ( $\alpha$ ) são determinados principalmente pelo cátion LI (embora o ânion também tenha um papel secundário) (AB RANI et al., 2011a; CHIAPPE; POMELLI; RAJAMANI, 2011; CROWHURST et al., 2003).

#### **2.4. Atividade antimalárica**

*Plasmodium falciparum*, o agente causador da malária, apresenta uma elevada taxa de mutação e é resistente a vários tipos de medicamentos antimaláricos. Isto torna-se um sério revés para os programas antimaláricos, pois impede o uso de medicamentos baratos e anteriormente eficazes como a cloroquina (DE ANDRADE-NETO et al., 2004).

Uma abordagem alternativa na busca por medicamentos antimaláricos é a identificação de novos alvos dentro do parasita, seguida pelo desenho de agentes químicos agindo sobre esses alvos (OLLIARO; YUTHAVONG, 1999). Os potenciais alvos quimioterápicos

antimaláricos foram classificados em três categorias principais: inibição de processos que ocorrem no vacúolo digestivo, inibição de enzimas envolvidas na síntese macromolecular e metabólitos, e na inibição do processamento de membrana e sinalização (VLAHAKIS et al., 2010). O mecanismo de ação da ART ainda não é totalmente claro, mas alguns estudos sugerem que a ART age dentro do vacúolo alimentar do parasita (JEFFORD, 2012; PANDEY et al., 1999).

Na literatura, é possível encontrar testes *in vitro* e *in vivo* de extratos de origem vegetal contra o *Plasmodium falciparum*. No estudo feito por Bagavan et al. (2011), por exemplo, foram dez extratos de plantas produzidos com acetato de etila e metanol e testadas suas atividades antimaláricas *in vitro* utilizando o ensaio *SYBR Green* baseado em fluorescência. Os extratos de duas plantas mostraram atividade antiplasmódica promissora: a folha de *Phyllanthus* e botão de flor de *Syzygium aromaticum*.

Ensaio *in vivo* foram feitos por Mengiste; Makonnen; Urga (2012). Nesse relato, extratos aquosos e hidroalcoólicos (mistura água + metanol) de sementes de *D. angustifolia* foram investigados quanto à sua atividade antimalárica usando o *Peters' 4-day suppressive test*. Os extratos de sementes de *D. angustifolia* mostraram atividade antimalárica em camundongos, conforme evidenciado pela porcentagem de inibição do parasita. Além disso, o extrato aquoso das sementes exibiu maior atividade supressiva do que seu extrato hidroalcoólico.

Estudos envolvendo testes *in vitro* e *in vivo* para comprovar a eficiência de extratos produzidos a partir de folhas da *Artemisia Annua L.* também podem ser encontrados (DE DONNO et al., 2012; GRUESSNER; WEATHERS, 2021; LIU et al., 1992; MAHE et al., 2019; ZIME-DIAWARA et al., 2015).

Resultados de teste *in vitro* de extratos aquosos foram consistentes com a eficácia clínica da *Artemisia Annua L.* no estudo publicado por De donno et al.(2012). No entanto, a baixa concentração da ART no extrato produzido ( $0,18 \pm 0.02\%$  m/m) levaram os autores a concluir que a ART não era a única responsável pela atividade antimalárica. A ART presente no extrato seria provavelmente co-solubilizada com outros compostos, alguns dos quais também com atividade antimalárica, agindo, assim, sinergicamente com ela. Estudos anteriores já haviam demonstrado que flavonóides presentes na *A. annua* também podem alterar o potencial clínico dos extratos de *Artemisia Annua L.* (ELFORD et al., 1987; LIU et al., 1992). Não foram encontradas pesquisas envolvendo a atividade

antimalárica de extratos em soluções aquosas de líquidos iônicos, reforçando o carácter inovador desta tese.

## **2.5. Considerações finais**

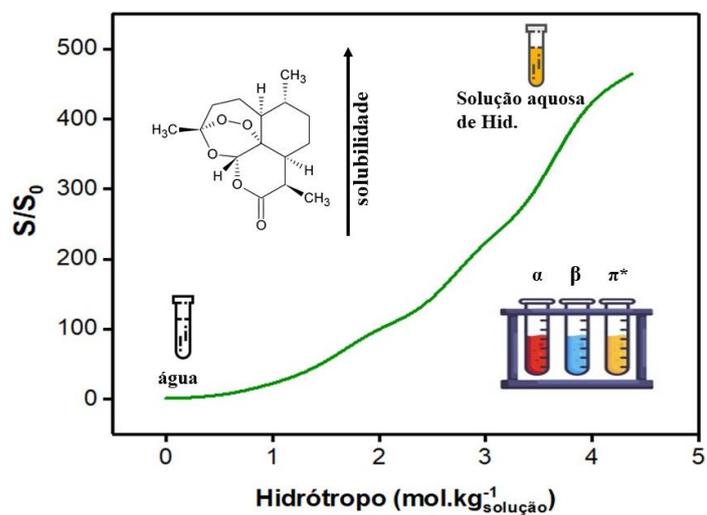
Nesse trabalho foi avaliado o uso de soluções aquosas de líquidos iônicos na extração de artemisinina, substância usada no tratamento da malária, doença que atinge milhões de pessoas no mundo, inclusive no Brasil. Além disso, existem poucos trabalhos que abordem esse tema. Para isso, foram avaliados o poder hidrotópico dos LIs e sais. Para auxiliar o desenvolvimento do processo é necessário o estudo da solubilidade da ART em soluções aquosas de LIs e sais, bem como a determinação dos parâmetros solvatocrômicos dessas soluções.

Foram considerados para esse estudo uma serie de LIs baseados em imidazólios e colinas, além de diversos sais. Para auxiliar o desenvolvimento do processo é necessário o estudo da solubilidade da ART em soluções aquosas de LIs/sais, e neste trabalho foi determinada essa propriedade para soluções aquosas de várias concentrações dos 12 hidrótropos, o que representa um bom número de possibilidade de combinação de cátions.

Foram também determinados os parâmetros solvatocrômicos dessas soluções, o que permite entender a influência da polaridade e poder de ligação de hidrogênio desses compostos no aumento da solubilidade da ART em água. Além disso, por se tratarem de solventes novos, e candidatos a solventes alternativos, o aumento da base de dados e propriedades ajuda não só nesse trabalho, como em outros projetos futuros.

Por fim, os LIs que proporcionaram maior aumento da solubilidade em água da ART foram utilizados na extração sólido-líquido utilizando soluções aquosas de hidrótropos com solventes, comprovando que LIs podem sim ser utilizados como solventes alternativos nesse processo.

# Capítulo 3 – Solubilidade e Hidrotropia



Neste capítulo serão apresentados a metodologia e resultados encontrados para a solubilidade da ART em sistemas aquosos de 12 hidrótropos, de diversas concentrações a 30 °C.

### 3.1. Seção experimental

#### 3.1.1. Materiais

Nesta parte do trabalho foi avaliado o impacto da estrutura química de LIs, assim como da sua concentração, na solubilidade da ART. As estruturas iônicas dos compostos estudados estão representadas na Figura 7, e as propriedades de cada composto são mostradas na Tabela A 1 do Apêndice A.

Os LIs foram secos em linha de vácuo (0,1 Pa e 80°C) por 48 horas antes do seu uso (o teor de água é inferior a 1500 ppm, medido por Karl-Fischer). Também foi utilizada água ultrapura, que foi duplamente destilada, passada por sistema de osmose reversa e tratada em Milli-Q plus 185.

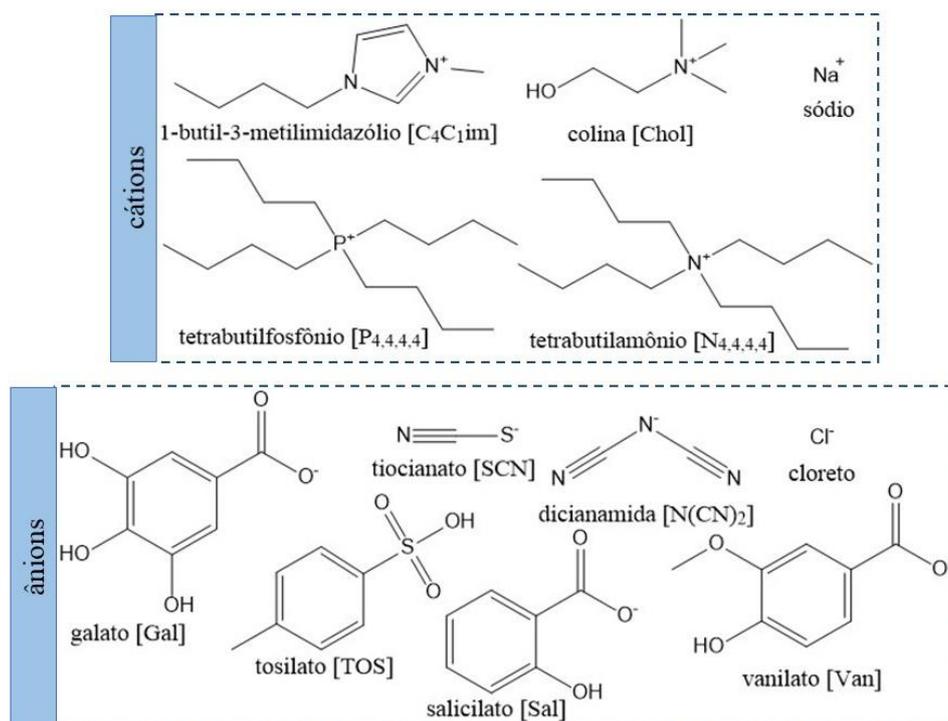


Figura 7. Estruturas químicas dos catiões e aniões estudados neste trabalho.

A análise da estrutura de cristal da ART foi realizada a 150 K, usando a difração de raios-X monocristal (Bruker D8-QUEST). Este composto possui estrutura ortorrômbica, grupo

espacial  $P2_12_12_1$ , com parâmetros celulares ( $a = 6,29 \text{ \AA}$ ;  $b = 9,25 \text{ \AA}$ ;  $c = 23,78 \text{ \AA}$ ;  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ), a mesma estrutura descrita na literatura (AMARA et al., 2015) e que pode ser observada na Figura 8. O estudo da fase sólida recristalizada da solução saturada revelou que a ART apresentou a mesma estrutura cristalina do composto original, indicando que o solvente não altera a estrutura do composto.

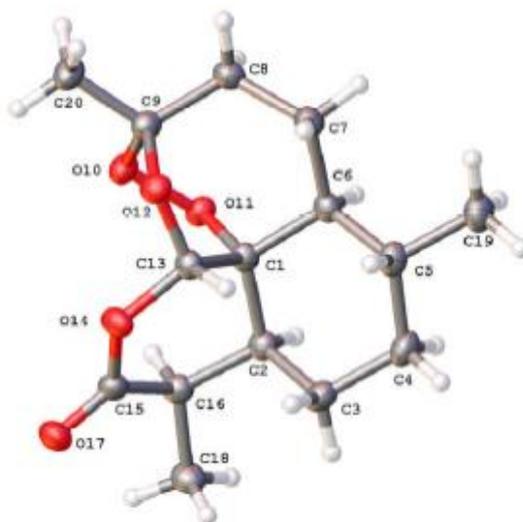


Figura 8. Estrutura da artemisinina, conforme determinado por difração de raios-X de cristal único. Fonte: (AMARA et al., 2015).

### 3.1.2. Métodos

#### *Síntese de LIs à base de colina*

Foram sintetizadas três LIs baseadas em colina: galato de colina ([Chol][Gal]), vanilato de colina ([Chol][Van]) e salicilato de colina ([Chol][Sal]). Os LIs baseadas em colina investigadas foram sintetizadas pela neutralização da base (bicarbonato de colina, equivalentes a 1 mol) com o ácido apropriado (ácidos gálico, vanílico ou salicílico, equivalentes de 1,1 mol), com base em protocolos padrão (KORNER, 1952; SINTRA et al., 2015). Apesar de a síntese já ter sido relatada na literatura (KORNER, 1952; SINTRA et al., 2015), a rota sintética aqui proposta é mais simples, uma vez que se usou como base o bicarbonato de colina, permitindo realizar a síntese sem a necessidade de atmosfera de nitrogênio.

Mais especificamente, o bicarbonato de colina foi adicionado gota a gota a uma solução aquosa ácida, a  $0^\circ\text{C}$ . A mistura foi agitada durante a noite à temperatura ambiente e protegida da luz, produzindo LI à base de colina, gás carbônico e água como subproduto.

A água foi então removida sob pressão reduzida. O ácido não reagido acumulado no LI produzido foi eliminado por lavagem com metanol para [Chol][Gal], acetato de etila para [Chol][Sal] e acetona para o [Chol][Van]. Depois a solução foi filtrada para remover o LI (que estava no estado sólido). A única exceção foi ao [Chol][Sal], onde o restante do ácido salicílico foi removido por extração líquido-líquido. Finalmente, o solvente residual foi removido sob pressão reduzida, e o composto obtido foi seco sob alto vácuo por pelo menos 48 h. A estrutura de todos os compostos sintetizados foi confirmada por ressonância magnética nuclear (RMN);  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -RMN, mostrando alto nível de pureza de todas as LIs sintetizados, e se encontram registrados no Apêndice B.

#### *Solubilidade da ART*

Para testar e validar a metodologia, e para comparar o uso de solventes convencionais com os LIs e sais propostos, a solubilidade da ART foi inicialmente determinada para solventes orgânicos comumente usados, são eles etilenoglicol, poli (etilenoglicol) 400 (PEG400), etanol e acetona, todos puros, e em soluções aquosas (50:50% em volume).

Soluções aquosas contendo os hidrótropos foram preparadas usando uma balança Mettler Toledo XS205 Dual Range (repetibilidade de 0,015 mg). ART em pequeno excesso para o limite de solubilidade foi adicionada a cada eppendorf com as soluções e dispersa usando um vortex. O sistema foi mantido com agitação (750 rpm) e temperatura  $(30,0\pm 0,5)^\circ\text{C}$  constantes por 72h no equipamento Eppendorf Thermomixer Comfort, garantindo assim a saturação da ART na solução. Em seguida, as amostras são centrifugadas a 4500 rpm e  $(30,0\pm 0,5)^\circ\text{C}$  por 20 minutos em centrífuga Thermo Scientific Heraeus Megafuge 16R. Para cada solvente, três soluções saturadas independentes foram preparadas.

A solução saturada é finalmente amostrada, e uma etapa de filtração realizada usando filtros de seringa ( $0,45\ \mu\text{m}$ ) adquiridos na Whatman, e depois diluída em uma mistura de acetonitrila e água ultrapura em uma razão volumétrica de 60:40 quando necessário, e a quantidade de ART foi quantificada por HPLC-DAD (HPLC Shimadzu, matriz de diodos detectores SPD-M20A). Pelo menos três amostras individuais para cada concentração foram determinadas. Em todas as análises, amostras de controle nas mesmas composições, mas sem soluto, foram estudadas.

### *Quantificação da ART*

A quantificação da ART em cada solução foi realizada por HPLC-DAD (Shimadzu, modelo PROMINENCE). As análises por HPLC foram realizadas com uma coluna analítica de fase reversa C18 (250 × 4,60 mm), cinetex 5 μm C18 100 A, da Phenomenex. A fase móvel consistiu em 60% de acetonitrila e 40% de água ultra-pura. A separação foi realizada no modo isocrático, a uma vazão de 1,0 mL·min<sup>-1</sup> e usando um volume de injeção de 10 μL. DAD foi ajustado em 210 nm. Cada amostra foi analisada pelo menos em duplicata. O forno da coluna e o amostrador automático foram operados a uma temperatura controlada de 30 °C. Nessas condições, o ART exibe um tempo de retenção de cerca de 6 min. As curvas de calibração foram preparadas usando ART puro (comercial).

### *Parâmetros solvatocrômicos*

Os parâmetros solvatocrômicos foram determinados para as soluções aquosas de LI, sais e água pura. Os LIs foram secos em uma linha de vácuo por 48 horas antes das preparações. Para determinar o parâmetro  $\alpha$  (capacidade de doação de ligação de hidrogênio), a sonda óxido-N-piridina foi utilizada e determinada por espectros de <sup>13</sup>C de RMN, usando um equipamento Bruker Avance 300 operando a 75 MHz, óxido de deutério (D<sub>2</sub>O) como solvente e ácido trimetilsililpropanóico (TSP) como referência interna. Foram determinados os desvios químicos de <sup>13</sup>C-RMN  $\delta$  (Ci) em ppm dos átomos de carbono nas posições  $i = 2$  e  $4$  de óxido-N-piridina, e  $\alpha$  foi calculado usando a equação (2) (MADEIRA et al., 2017; PASSOS et al., 2018; TELES et al., 2017).

$$\alpha = -0.15 \times d_{24} + 2.32 \quad (2)$$

onde  $d_{24} = \delta_4 - \delta_2$

Os parâmetros  $\beta$  (capacidade de aceitação da ligação de hidrogênio) e  $\pi^*$  (dipolaridade/polarizabilidade do solvente) foram determinados usando os corantes N, N-dietil-4-nitroanilina e 4-nitroanilina, respectivamente. Após agitação vigorosa para dissolução completa dos corantes, as amostras foram analisadas num espectrofotômetro UV-Vis (leitor de microplacas BioTeck Synergy HT). A banda de absorção do comprimento de onda mais longa de cada sonda foi usada nas equações (3) a (5) para determinar os parâmetros correspondentes.

$$\beta = \frac{(\Delta v_{N,N}^{LI} - \Delta v_{N,N}^{ciclohexano}) \times 0.76}{\Delta v_{N,N}^{DMSO} - \Delta v_{N,N}^{ciclohexano}} \quad (3)$$

$$\Delta v = \Delta v_{N,N} - \Delta v_{4N} \quad (4)$$

$$\pi^* = \frac{(\Delta v_{N,N}^{LI} - \Delta v_{N,N}^{ciclohexano})}{\Delta v_{N,N}^{DMSO} - \Delta v_{N,N}^{ciclohexano}} \quad (5)$$

onde,  $v$  é o número da onda experimental, os subscritos N, N e 4N representam as sondas solvatocrômicas N, N-dietil-4-nitroanilina e 4-nitroanilina, respectivamente, enquanto LI, ciclo-hexano e DMSO correspondem aos valores nesses solventes.

### *COSMO-RS*

O modelo COSMO-RS (Conductor like Screening Model for Real Solvents) é um modelo totalmente preditivo baseado na química quântica que calcula o potencial químico de todos os componentes em uma mistura líquida apenas por meio de cálculos *ab initio*. Em resumo, antes do cálculo COSMO-RS, a geometria do soluto e solventes foram otimizados usando o pacote de programa de software TURBOMOLE V7.3 2018 usando o nível de teoria funcional de densidade e utilizando o B88-p86 funcional BP com uma base polarizada de triplo  $\zeta$  valência conjunto (TZVP) e a resolução da aproximação do padrão de identidade (RI).

## **3.2 Resultados**

### *Solubilidade da ART*

Devido à sua enorme relevância para o presente estudo, a solubilidade da artemisinina em água foi determinada em primeiro lugar. Como pode ser observado na Figura 9, o valor obtido foi  $(61,83 \pm 4,33) \text{ mg.L}^{-1}$  a  $(30,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ , que está dentro da faixa de valores encontrados na literatura (CHAN et al., 1997; LABOUKHI-KHORSI; DAOUD; CHEMAT, 2017a; LETCHMANAN et al., 2018; SHAHZAD et al., 2012; USUDA et al., 2000). No entanto, ainda há grande incerteza no valor da solubilidade em água, pois é possível encontrar a solubilidade da ART em água variando de 13 a  $48 \text{ mg.L}^{-1}$  a  $37^\circ\text{C}$  (CHAN et al., 1997; LETCHMANAN et al., 2018; SHAHZAD et al., 2012). Testes realizados em meio ácido e meio básico mostraram que a solubilidade do composto não é alterada com o pH.

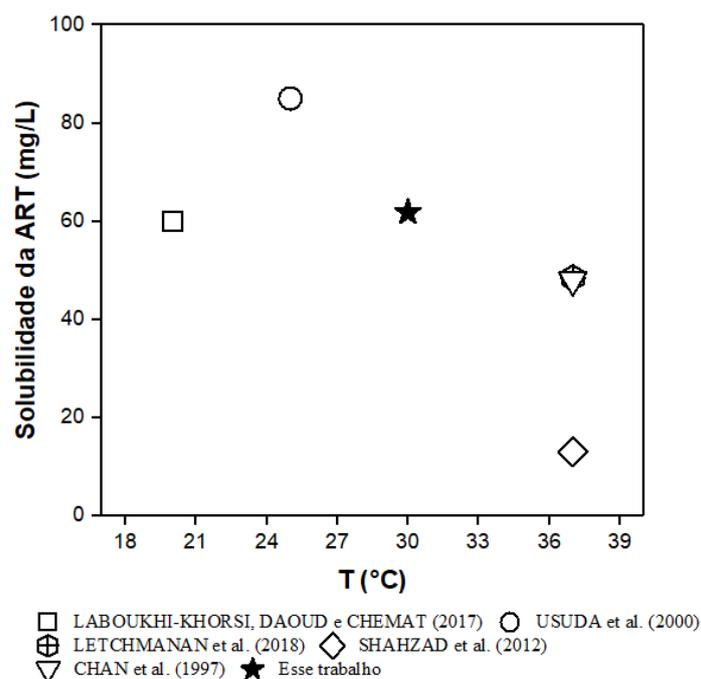


Figura 9. Solubilidade da ART em água a diferentes temperaturas.

Os resultados encontrados para a solubilidade de ART em solventes orgânicos podem ser analisados na Figura 10 (Tabela C 1 do Apêndice C). Os valores de solubilidade aumentam na seguinte ordem: etilenoglicol < PEG 400 < etanol < acetona. Comparando os resultados encontrados com os relatados na literatura, os valores obtidos são semelhantes aos determinados por QU et al. (2010), para as duas metodologias utilizadas pelos autores, e Liu, Lü e Pang (2009). É pertinente destacar novamente as grandes discrepâncias da solubilidade em solventes orgânicos (Figuras C.1 e C.2) encontradas por diferentes pesquisadores. Isso provavelmente está relacionado com a pureza e a origem da ART, mas a técnica analítica e a dificuldade de estudar solventes orgânicos altamente voláteis também desempenham um papel.

A maior solubilidade da ART nos solventes orgânicos, mais notavelmente na acetona, é evidente na Figura 10. No entanto, também é perceptível a diminuição acentuada da solubilidade em solução aquosa dos mesmos solventes orgânicos, à mesma temperatura (Figura 10) que sugerem a necessidade de se encontrar outras substâncias capazes de aumentar a solubilidade da ART em água.

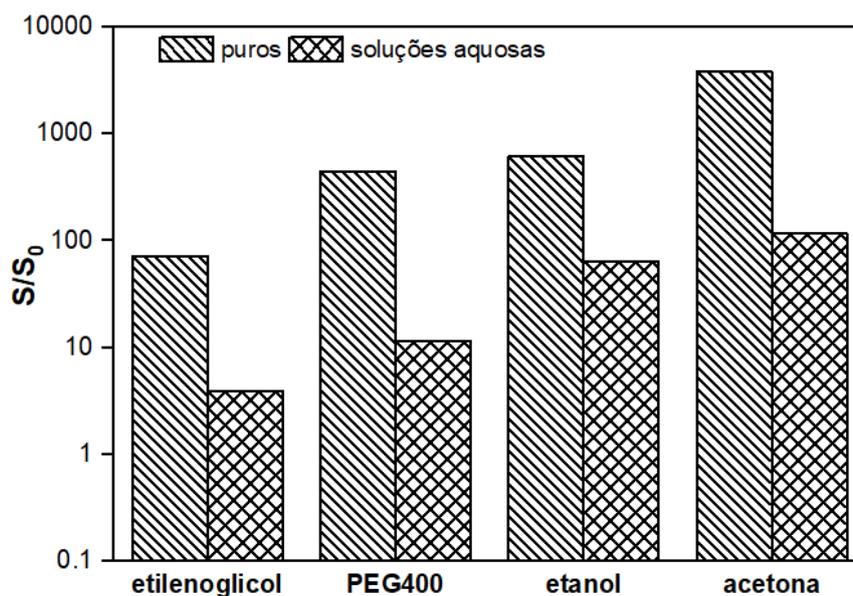


Figura 10. Solubilidade relativa, expressa com a razão entre a solubilidade da ART no solvente (S) e a solubilidade em água pura (S<sub>0</sub>) a (30,0±0,5) °C: solventes puros e em soluções aquosas (50:50 v/v).

Para avaliar o potencial dos LIs como hidrótropos, foi determinada a solubilidade da ART nas várias soluções aquosas dos LIs e sais. O conjunto de LIs estudado aqui foi escolhido para avaliar o impacto da natureza do cátion e do ânion na solubilidade desse composto, mostrado na Figura 11, enquanto os dados completos são compilados na Tabela C 2, no Apêndice C.

Dentre os LIs e sais estudados alguns mostraram efeito hidrotrópico muito promissor para o antimalárico em estudo. A capacidade dos vários LIs e sais de agir como hidrótropos para ART aumenta (considerando o máximo aumento encontrado) na seguinte ordem: Na[N(CN)<sub>2</sub>] < Na[SCN] < [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]Cl < [Chol][Van] < [Chol][Gal] < [N<sub>4,4,4,4</sub>]Cl < [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS] < [Chol][Sal] < [P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl < [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] < [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>] < Na[Sal].

Os sistemas aquosos de quase todos os hidrótropos estudados mostram uma mudança significativa no valor de solubilidade próximo a 1 mol.kg<sub>solução</sub><sup>-1</sup>. Alguns autores denominam esse nível de concentração como sendo a concentração hidrotrópica mínima (MHC), a partir da qual há um aumento significativo na solubilidade (BOOTH; ABBOTT; SHIMIZU, 2012; SHIMIZU; MATUBAYASI, 2014, 2016), mas não relacionando isso a alguma mudança nas propriedades físico-químicas do solvente, tornando o conceito impreciso. Por outro lado, o aumento na solubilidade da ART nas

soluções aquosas de outros como  $\text{Na}[\text{N}(\text{CN})_2]$  e  $\text{Na}[\text{SCN}]$  é possível observar que há um aumento contínuo muito menor na solubilidade da ART com a concentração. Esses comportamentos corroboram com o questionamento de alguns autores quanto a existência de um MHC (EASTOE; HATZOPOULOS; DOWDING, 2011; RUSSO; HOFFMANN, 2011).

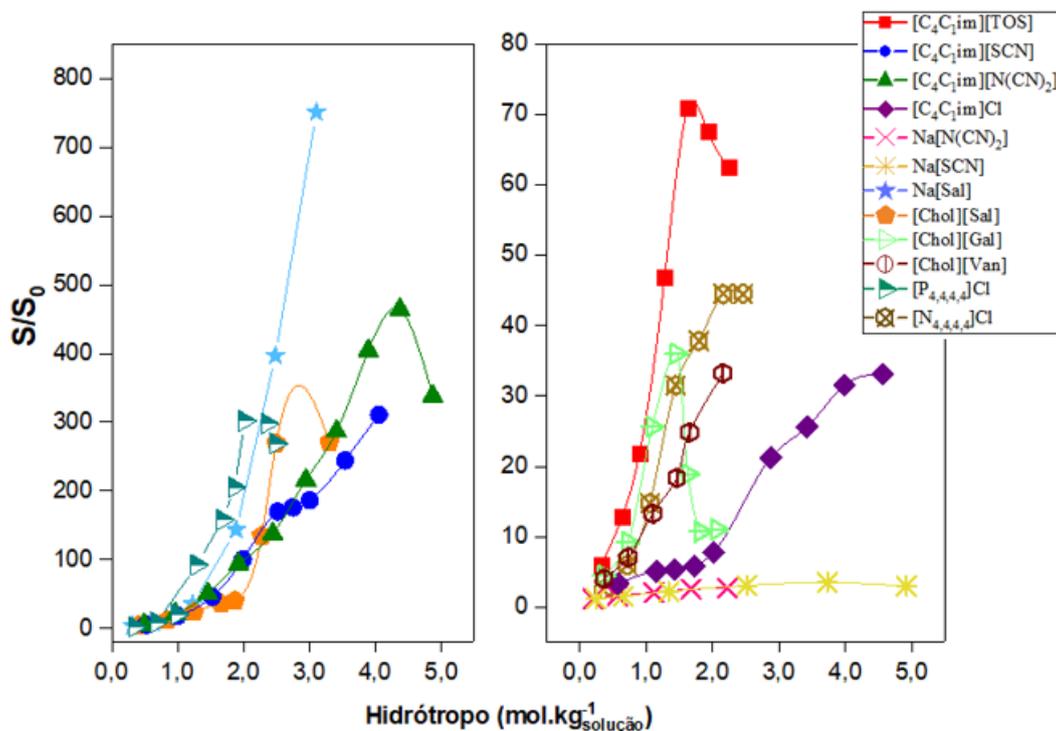


Figura 11. Influência da concentração do hidrótopo na solubilidade relativa da ART em soluções aquosas a 30 °C. As linhas são guias visuais.

O aumento da solubilidade da ART, em algumas das soluções aquosas, não segue uma tendência monótona ao longo de toda a gama de composição do LI. Soluções aquosas de  $[\text{C}_4\text{C}_1\text{im}][\text{TOS}]$  e  $[\text{P}_{4,4,4,4}]\text{Cl}$  apresentam uma diminuição na solubilidade acima de  $1,5 \text{ mol.kg}_{\text{solução}}^{-1}$ , enquanto para o e  $[\text{C}_4\text{C}_1\text{im}][\text{N}(\text{CN})_2]$  esse diminuição é observada para molalidade maior que  $4,4 \text{ mol.kg}_{\text{solução}}^{-1}$ . Este efeito provavelmente pode ser descrito em termos de auto-associação do hidrótopo diminuindo sua disponibilidade para interagir com o soluto. Outra explicação, como demonstrado recentemente para sistemas baseados em cirene (ABRANCHES et al., 2020a), pode ser devido a fortes interações de três corpos entre água, soluto e hidrótopo, tornando a água o co-solvente do sistema para alta concentração de hidrótopo. Em contrapartida, nos sistemas aquosos contendo  $\text{Na}[\text{Sal}]$ ,

[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] e [Chol][Van] a solubilidade da ART não alcança um platô a medida que aumenta-se a concentração do hidrótropo.

De forma a avaliar o efeito do cátion dos LIs na solubilidade da ART, foram estudados quatro pares de composto com quatro ânions distintos. Uma série de LIs clorados foram estudados e são apresentados na Figura 12a. Dentre os cátions investigados na série, [P<sub>4,4,4,4</sub>]<sup>+</sup> claramente apresentou o maior aumento na solubilidade do fármaco estudado neste trabalho, seguido pelo [N<sub>4,4,4,4</sub>]<sup>+</sup> e [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]<sup>+</sup>. Sintra et al. (2018) reportou comportamento semelhante no estudo do efeito hidrotrópico de LIs clorados na solubilidade do ibuprofeno.

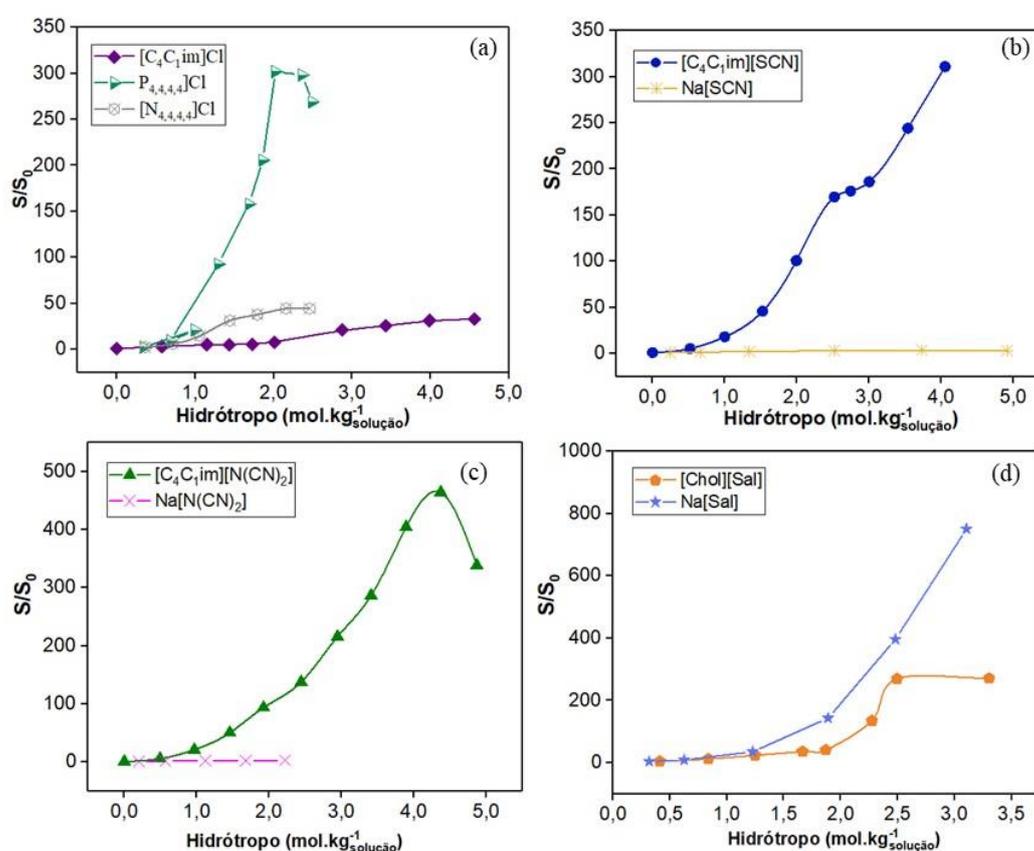


Figura 12. Efeito do cátion na solubilidade da ART em água. Os hidrótropos são baseados em (a) Cl<sup>-</sup> (b) [SCN]<sup>-</sup> (c) [N(CN)<sub>2</sub>]<sup>-</sup> e (d) [Sal]<sup>-</sup>. As linhas são guias visuais.

Como discutido anteriormente, os LIs contendo [SCN]<sup>-</sup> e [N(CN)<sub>2</sub>]<sup>-</sup> estão entre os que mais aumentaram a solubilidade da ART em água. No entanto, é possível ver nas Figuras 12b-c que o mesmo comportamento não foi observado quando esses ânions são combinados com o Na<sup>+</sup>. Ao contrário dos LIs, os dois sais foram os que menos demonstraram um efeito hidrotrópico na solubilidade da ART. Isso pode ser explicado pelo

fato dos imidazólios possuírem estrutura cíclica, com maior tamanho, onde as forças de dispersão apresentam relevância mais considerável, favorecendo a interação com a ART. Apesar do cátion de sódio também possuir uma carga positiva, o seu tamanho pode desfavorecer essa solubilização, quando comparado ao  $[C_4C_{1im}]^+$ . Por outro lado, a exceção desse comportamento é o Na[Sal] (Figura 12d). Soluções aquosas desse sal levam ao aumento de quase 800 vezes na solubilidade da ART, sendo o melhor de todos os estudados, e assim o salicilato é um ânion que favorece a solubilização da ART, como se irá discutir na série de sais de colina estudados.

Com o intuito de estudar a influência do ânion no aumento da solubilidade da ART, foram escolhidos três LIs baseados no cátion  $[Chol]^+$ , quatro baseados em  $[C_4C_{1im}]^+$  e os sais baseados em  $Na^+$  (Figura 13). O  $[Chol][Sal]$  é o LI que apresenta maior efeito hidrotópico dentre os LIs com  $[Chol]^+$  como cátion (Figura 13a). O que é observado nesse caso é que o aumento dos substituintes no anel aromático do ânion faz com que o LI fique mais polar, diminuindo a solubilidade da ART. Dos LIs baseados em  $[C_4C_{1im}]^+$ , os contendo  $[SCN]^-$  e  $[N(CN)_2]^-$  mostraram-se hidrotópicos muito promissores para ART (Figura 13b), o aumento da solubilidade foi de quase 500 vezes superior ao valor de solubilidade em água. Ao contrário do efeito do  $[C_4C_{1im}]Cl$  sobre a solubilidade do ácido gálico ou vanilina (CLÁUDIO et al., 2015), este LI tem o menor impacto na solubilidade da ART em solução aquosa entre os LIs estudados. No entanto, a classificação observada para o efeito do LI sobre a solubilidade da ART também foi observada para o aumento da solubilidade do ibuprofeno em água (SINTRA et al., 2018).

Entre os sais (Figura 13c), observa-se que os ânions lineares não apresentam efeito hidrotópico significativo. Por outro lado, o Na[Sal] possui um anel aromático em sua estrutura, semelhante ao ART, o que pode ter favorecido sua solubilidade em solução aquosa.

O efeito da hidrotropia foi explicado no passado em termos da formação de complexos soluto-hidrotropo através das interações  $\pi - \pi$  (HUSSAIN; DILUCCIO; MAURIN, 1993; RASOOL; HUSSAIN; DITTERT, 1991; SANGHVI; EVANS; YALKOWSKY, 2007; SUZUKI; SUNADA, 1998). No entanto, os resultados obtidos aqui não suportam a ideia de que somente as interações  $\pi - \pi$  entre soluto-solvente sejam as forças motrizes dominantes por trás do comportamento hidrotópico, tendo em vista que compostos não aromáticos estudados também induzem um aumento significativo da solubilidade da

ART. De uma forma geral, os resultados obtidos suportam a ideia de que tanto ânion quanto cátion contribuem para o mecanismo hidrotópico de forma sinérgica.

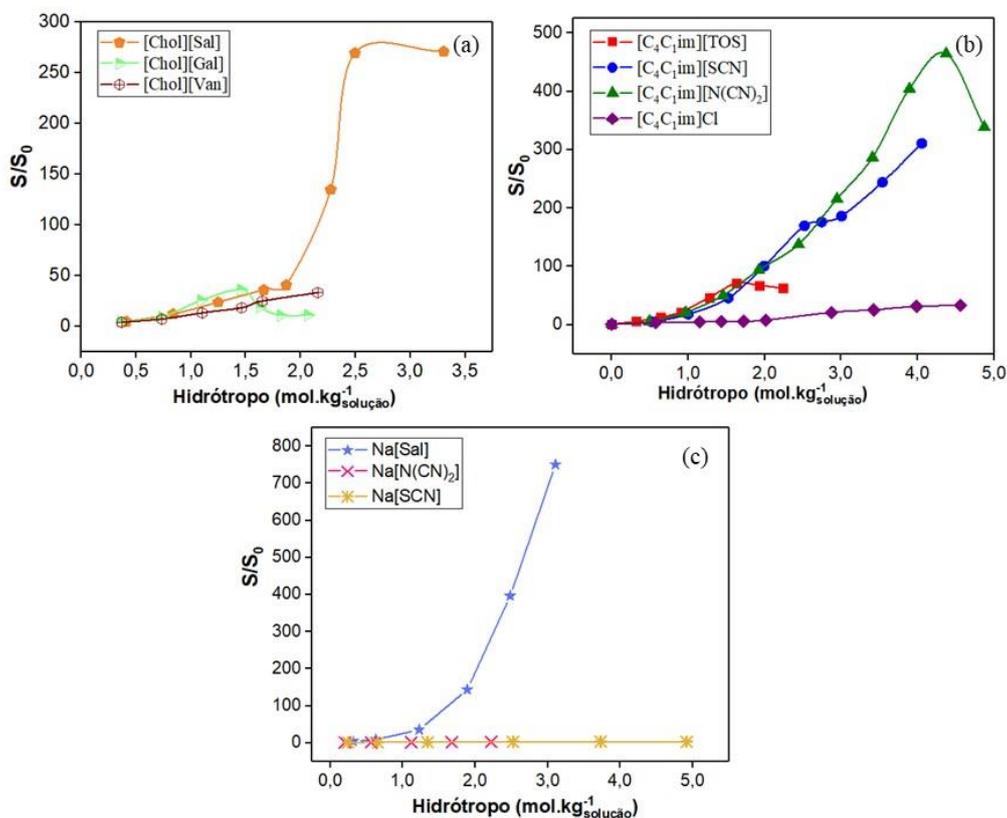


Figura 13. Efeito do ânion na solubilidade da ART em água. Os hidrótopos são baseados em (a) [Chol]<sup>+</sup>, (b) [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]<sup>+</sup> e (c) Na<sup>+</sup>. As linhas são guias visuais.

O efeito da hidrotropia na solubilidade da ART em água de LIs baseados em [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]<sup>+</sup> foram recentemente estudados por Sales et al. (2021). No trabalho, utilizou-se o COSMO-RS visando explorar a físico-química destes sistemas. Os perfis sigma (Figura 14) demonstraram que a ART apresenta um pico forte na região apolar, quase igualando-se ao de [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS], e um pico mais curto na região do aceptor de ligação de hidrogênio (HBA), que é semelhante aos de [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] e [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>]. A partir desses perfis é possível entender a relevância da região apolar do hidrótopo quando o LI é diluído em água. O [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS], o mais apolar, apresenta um efeito mais pronunciado, mas quando a concentração de LI aumenta, o aspecto dominante que favorece a solubilização da ART parece ser o menor caráter HBA de o hidrótopo.

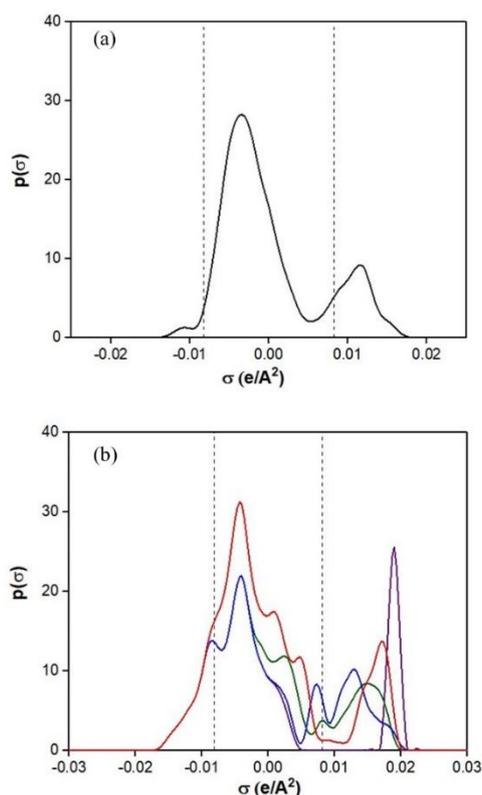


Figura 14. Perfis sigma para: (a) ART (b) [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS] (vermelho); [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] (azul); [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>] (verde); [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]Cl (roxo). Fonte: (SALES et al., 2021).

Tendo em consideração as conclusões anteriores, foram determinados os perfis sigma dos outros hidrótropos estudados, e da água, utilizando COSMO-RS (Apêndice E). Por analogia com abordagem proposta por Abranches et al. (2020b), esses perfis foram usados para determinar indicadores numéricos relativos às diferentes regiões (doador e acceptor de ponto de hidrogénio, e apolar). Assim na região apolar aplicou-se:

$$\int_{-0,0082}^{0,0082} p(\sigma)(0,0082 - |\sigma|)d\sigma \quad (6)$$

Enquanto nas restantes regiões:

$$\int_{0,0082}^{|\sigma|} p(\sigma)(|\sigma| - 0,0082)d\sigma \quad (7)$$

Os integrais foram determinados recorrendo à regra dos trapézios composta, e os resultados compilados na Tabela 2.

Com o se pode observar na Figura 15a, os resultados confirmam o melhor poder hidrotrópico do [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS] em concentrações de 0 a 1,0 mol.kg<sub>solução</sub><sup>-1</sup>. De todos os sistemas estudados, esse composto é o que possui região apolar mais próxima do valor da

ART (Tabela 2). Por outro lado, os sais  $\text{Na}[\text{SCN}]$  e  $\text{Na}[\text{N}(\text{CN})_2]$  apresentam um parâmetro de região apolar mais afastado do mesmo valor da ART, são os compostos que apresentaram menor efeito hidrotrópico nessa região. De facto, e nesta gama de concentrações, observa-se na generalidade que o efeito hidrotrópico é bem correlacionado com a semelhança entre os parâmetros apolares do soluto e do hidrotropo. Estudando o efeito hidrotrópico sobre a solubilidade do ácido gálico ou sirínico, Abranches et al. (2020b) mostraram que o número de moléculas de hidrotropo que agregam em torno do soluto atinge um máximo quando o fator apolar do soluto e do hidrotropo são iguais, em consistência com os resultados aqui apresentados.

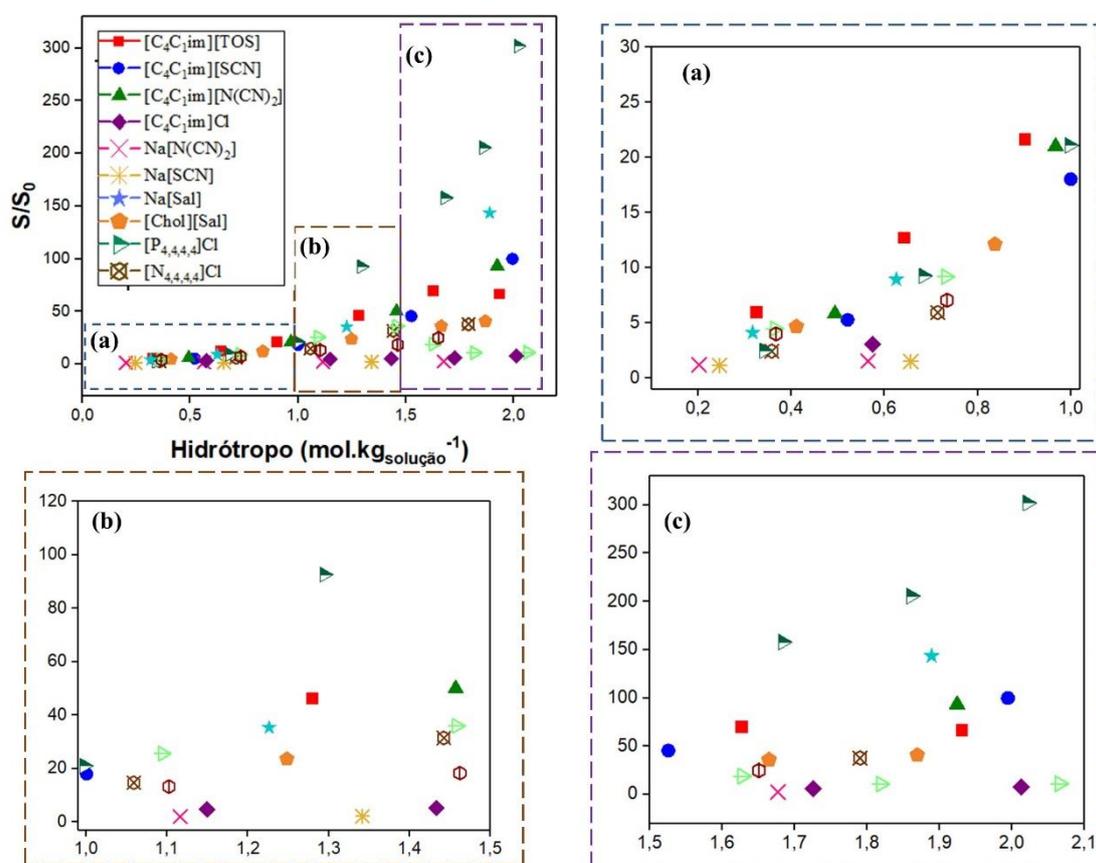


Figura 15. Solubilidade relativa da ART em soluções aquosas de a 30°C a baixas concentrações do hidrotropo.

Já na faixa de concentração de hidrotropo mais elevada, Figura 15b-c é possível observar que as zonas polares dos hidrotropos, com carácter acceptor de ponte de hidrogénio, começam a exercer impacto no aumento da solubilidade, sendo que a sequência apresentada atrás quanto ao máximo aumento da solubilidade está ainda relacionada com o parâmetro da capacidade de acceptor de ponte de hidrogénio.

Tabela 2. Parâmetros característicos ( $e/nm^2$ ) das diversas regiões; doador e acceptor de ponte de hidrogénio, e apolar, de acordo com as equações 6 e 7.

	<b>Doador</b>	<b>Apolar</b>	<b>Acceptor</b>
<b>ART</b>	0,1	10,3	1,5
<b>água</b>	1,0	0,4	0,7
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]Cl</b>	1,2	6,6	5,7
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN]</b>	1,2	7,0	3,3
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>]</b>	1,2	8,5	3,6
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS]</b>	1,7	12,1	4,9
<b>[N<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	0,4	15,9	5,7
<b>[P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	0,4	16,3	5,7
<b>[Chol][Sal]</b>	1,8	5,7	4,4
<b>Na[Sal]</b>	6,7	3,9	3,9
<b>Na[SCN]</b>	6,7	0,4	3,3
<b>Na[N(CN)<sub>2</sub>]</b>	6,7	1,9	3,6

De fato, os hidrótropos que provocam os maiores aumentos de solubilidade ([C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN], [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>] e Na[Sal]), apresentam um parâmetro de carácter acceptor moderado, e aumentando esse valor, o efeito hidrotrópico favorável só é mantido aumentando o fator apolar. Mais especificamente, fixando o ânion, entre o tiocianato, dicianamida ou cloro, em todos os casos a solubilidade aumenta com o aumento do fator apolar. Essa situação também ocorre fixando o cátion (seja o sódio ou C<sub>4</sub>mim<sup>+</sup>), mais uma vez demonstrando a importância deste parâmetro. A constatação de que o Na[Sal] apresenta o maior aumento de solubilidade não é, contudo, evidente, se comparado com o efeito do salicilato de colina, pois apresenta o mesmo fator acceptor, mas aquele com menor carácter apolar (Na[Sal]), tem um aumento de solubilidade muito mais considerável. De fato, os sais de sódio com dicianamida e tiocianato, são os piores hidrótropos enquanto que, e contrariando completamente as observações anteriores, o Na[Sal] é o melhor. Deve aqui registrar-se que nesse sistema em específico, as medições foram repetidas por duas vezes, tendo-se obtido valores muito consistentes.

A Figura 16 mostra o aumento da solubilidade para os 7 melhores solventes estudados neste trabalho à mesma concentração (em torno de 44% em massa). É possível observar que a solubilidade da ART em soluções aquosas dos LIs e em Na[Sal] são comparáveis

ou melhores do que os valores encontrados nas soluções aquosas de acetona, tornando viável o estudo de processos alternativos de extração e purificação, substituindo solventes orgânicos voláteis por compostos de natureza mais benigna.

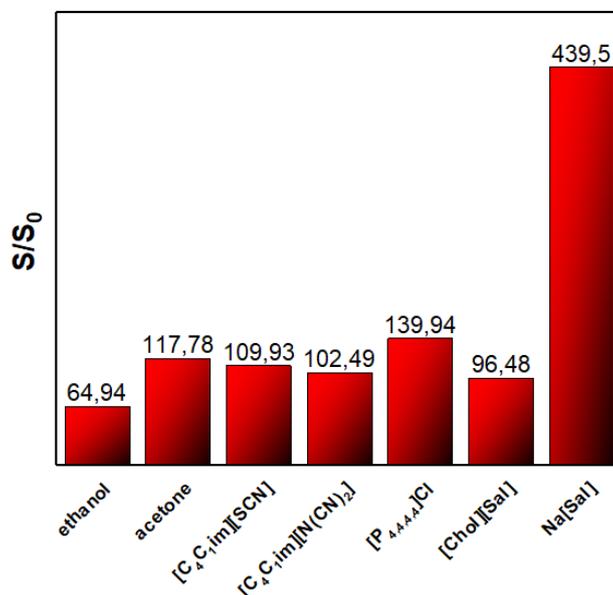


Figura 16. Solubilidade relativa de ART em soluções aquosas de solventes orgânicos e hidróticos (cerca de 44% em massa) a 30 °C.

Recentemente, a formação de co-agregados entre os íons de LIs e o soluto foi proposta como um dos principais contribuintes para a solubilização (ABRANCHES et al., 2020b; CLÁUDIO et al., 2015; SINTRA et al., 2018), sendo a teoria de Kirkwood-Buff (KB) uma boa base para entender as principais forças motrizes das solubilização hidrotópica (SHIMIZU; BOON, 2004). Nesse sentido, Shimizu e Matubayasi (2016) sugeriram uma nova abordagem que permite estabelecer uma analogia entre a hidrotropia e os fenômenos cooperativos por meio da linearização apresentada na equação 8:

$$Y_{shimizu} = \ln \left[ \frac{1 - \frac{S}{S_0}}{\frac{S}{S_0} - \left(\frac{S}{S_0}\right)_{max}} \right] = m \cdot \ln x_{Hid.} + b \quad (8)$$

onde  $x_{Hid.}$  representa a fração molar do hidrótropo na solução aquosa, e  $S$  e  $S_0$  a solubilidade da ART na solução do hidrótropo e água, respectivamente. Finalmente,  $m$  e  $b$  são parâmetros que fornecem informações sobre as interações moleculares entre o soluto e o hidrótropo. Mais especificamente,  $m$  representa o número de moléculas de hidrótropo na vizinhança do soluto (SHIMIZU; MATUBAYASI, 2016; SOARES et al., 2020)

Conforme mostrado na Figura 17, uma boa linearização é observada para quase todos os sistemas, com  $R^2$  variando entre 0,88 e 0,99, sugerindo a validade das suposições de Shimizu e Matubayasi (2016) para fenômenos cooperativos (Tabela C 3 nos Apêndices). A representação da solubilidade relativa da ART sobre toda a faixa de concentrações hidrotrópicas estudadas é mostrada na Figura C.3, confirmando os bons ajustes.

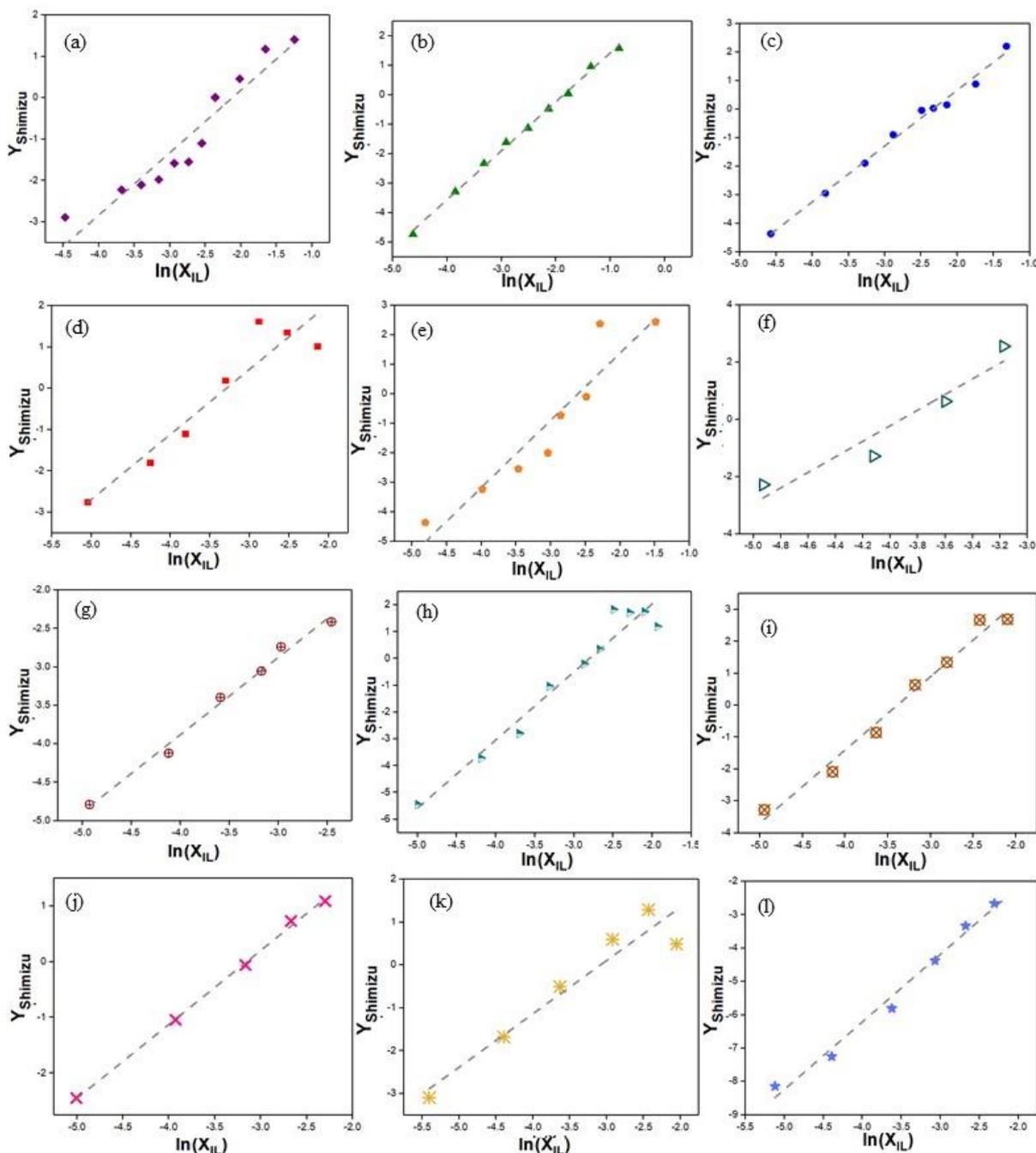


Figura 17. Modelo de hidrotropia cooperativa de Shimizu para: (a)  $[C_4C_{1im}]Cl$ ; (b)  $[C_4C_{1im}][N(CN)_2]$ ; (c)  $[C_4C_{1im}][SCN]$ ; (d)  $[C_4C_{1im}][TOS]$ ; (e)  $[Chol][Sal]$ ; (f)  $[Chol][Gal]$ ; (g)  $[Chol][Van]$ ; (h)  $[P_{4,4,4,4}]Cl$ ; (i)  $[N_{4,4,4,4}]Cl$ ; (j)  $Na[N(CN)_2]$ ; (k)  $[C_4C_{1im}][N(CN)_2]$ ; (l)  $[C_4C_{1im}][N(CN)_2]$ .

Na[SCN]; (l) Na[Sal]. As linhas representam os ajustes obtidos pelo modelo usando os parâmetros listados na Tabela C .

*Parâmetros Solvatocrômicos*

A fim de melhorar a compreensão do aumento da solubilidade da ART e as interações solvente-soluto, os parâmetros empíricos de Kamlet-Taft,  $\alpha$  (doador de ligação de hidrogênio, HBD),  $\beta$  (HBA) e dipolaridade/polarizabilidade ( $\pi^*$ ), também foram determinados. Os parâmetros foram medidos em primeiro lugar para água pura e são relatados e em comparados com os valores da literatura na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros solvatocrômicos de água pura a 25 °C e 0,1 MPa.

$\alpha$	$\beta \pm \sigma$	$\pi^* \pm \sigma$	Autores (Ano)
1,37 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01	1,27 $\pm$ 0,01	Esse trabalho
1,17	0,47	1,09	Marcus (1993)
1,17	0,15	1,09	Lu et al. (2001)
1,23	0,49	1,14	Buhvestov et al. (1998)
1,30	0,46	1,10	Harifi-mood; Habibi-yangjeh; Gholami (2006)
1,36	0,16	1,26	Passos et al. (2018)
0,95	0,15	1,31	Trivedi et al. (2010)

A Tabela 3 mostra que é bastante comum encontrar diferentes valores dos parâmetros Kamlet-Taft para o mesmo solvente. Foi demonstrado que as diferenças podem ser facilmente relacionadas com os diferentes corantes usados (AB RANI et al., 2011a; JESSOP et al., 2012). Por exemplo, Lu et al.(2001) utilizou 4-nitroanisol para determinar o parâmetro  $\pi^*$ , um corante de betaína substituído com dicloro para encontrar  $\alpha$  e 4-nitroanilina e N, Ndimetil-4-nitroanilina para obter o  $\beta$ . A escolha da sonda levou a uma diferença entre os dados encontrados para o HBD e os parâmetros de dipolaridade/polarizabilidade. Contudo, o parâmetro HBA mostra conformidade nos resultados deste trabalho, possivelmente porque o mesmo corante foi usado. Apesar dessas diferenças, deve-se ressaltar que o os parâmetros Kamlet-Taft, quando determinados nas mesmas condições, fornecem uma tendência qualitativa de um determinado conjunto de solventes.

Os valores  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\pi^*$  foram determinados para diferentes soluções aquosas de LIs, sendo o efeito da concentração de LIs representado na Figura 18 (os valores numéricos são compilados na Tabela D ). A Figura 18 indica que o aumento da concentração da maioria dos hidrótropos levam a diminuição dos valores de  $\alpha$  e  $\pi^*$ , assim como já foi reportando em soluções aquosas de LIs (HARIFI-MOOD; HABIBI-YANGJEH; GHOLAMI, 2006). Dentre os hidrótropos aqui estudados, apenas os sais possuem valores de  $\pi^*$  maiores do que a da água. Os valores de  $\pi^*$  são semelhantes entre vários LIs e são maiores do que o da maioria dos solventes moleculares (KAMLET; ABOUD; TAFT, 1977). Interações de Coulomb, bem como efeitos de dipolo e polarizabilidade podem justificar esse comportamento (AB RANI et al., 2011b; CLÁUDIO et al., 2014).

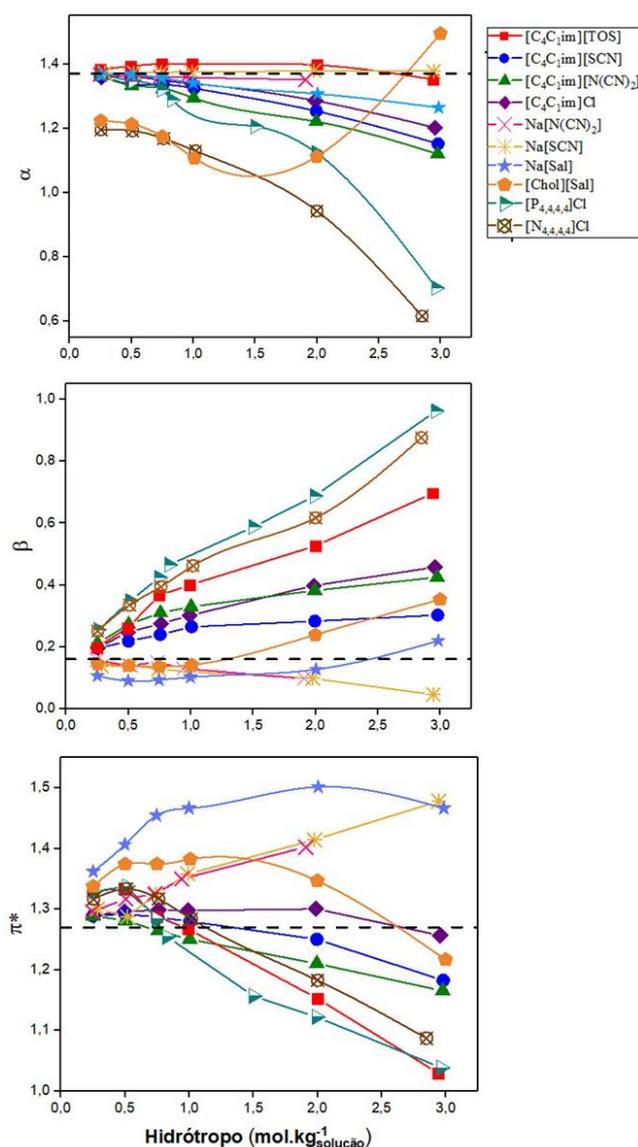


Figura 18. Parâmetros  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\pi^*$  para soluções de hidrótropos. As linhas tracejadas são os parâmetros solvatocrômicos para a água pura. As linhas contínuas são guias para os olhos.

Alguns autores destacam que a força do acceptor da ligação de hidrogênio ( $\beta$ ) de um LI é dominada por seu ânion, enquanto a capacidade doadora da ligação de hidrogênio ( $\alpha$ ) é essencialmente controlada pelo cátion e depende apenas ligeiramente do ânion do LI (AB RANI et al., 2011a; JESSOP et al., 2012; KURNIA et al., 2015). Partindo dessa premissa, os resultados dos parâmetros foram separados em cátions e ânions para melhor discussão e busca de entendimento do comportamento apresentado nos LIs estudados. A Figura 19 mostra os valores experimentais para o parâmetro  $\alpha$ . Verifica-se que, no geral, os LIs apresentam comportamento muito diferente dos respectivos sais quando há o aumento da concentração da solução. Aparentemente, cátions pequenos, como o  $\text{Na}^+$ , possuem maior capacidade de aceitação de elétrons quando comparados a cátions como o  $[\text{C}_4\text{C}_1\text{im}]^+$ .

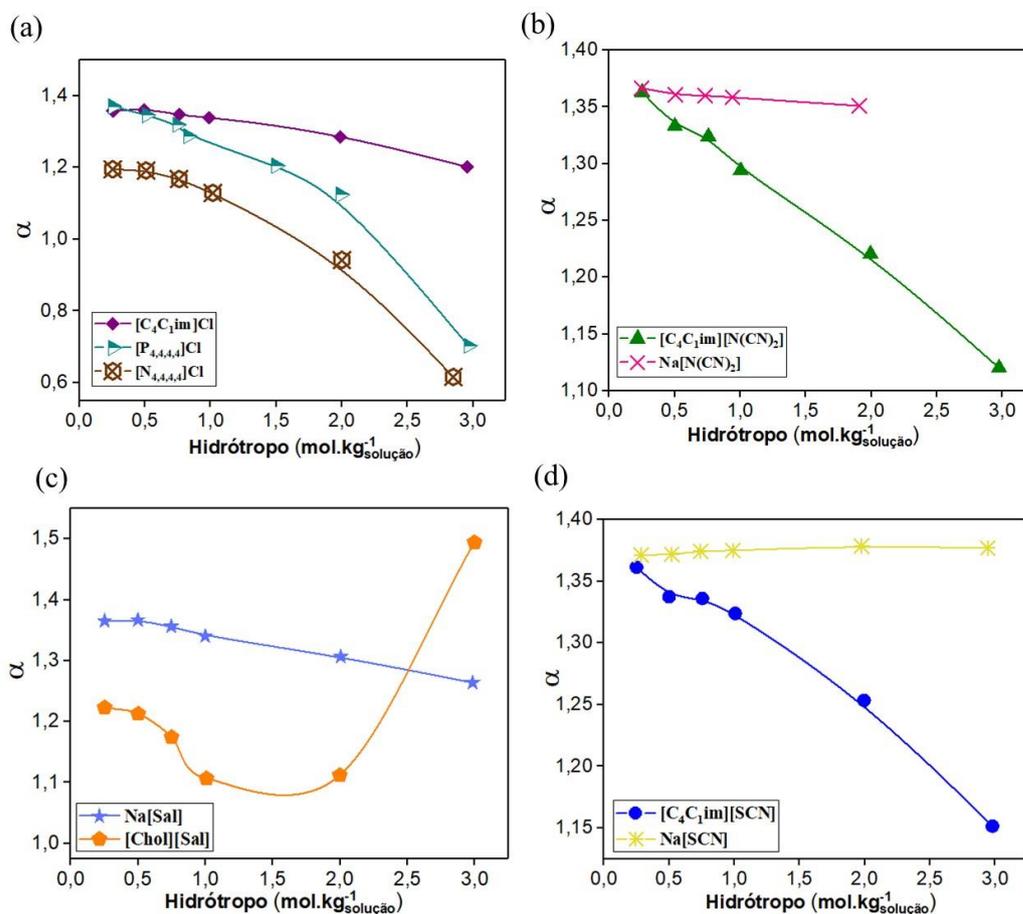


Figura 19. Parâmetro  $\alpha$  para os hidrótopos baseados em: (a)  $\text{Cl}^-$ ; (b)  $[\text{N}(\text{CN})_2]^-$ ; (c)  $[\text{Sal}]^-$  e (d)  $[\text{SCN}]^-$ . As linhas contínuas são guias para os olhos.

Kurnia et al. (2015) reportaram que os LIs portadores do cátion imidazólio apresentam valores de  $\alpha$  mais elevados do que LIs baseados em piperidínio-, piridínio-,

tetraalquilamônio-, e sulfônio. A alta acidez dos LIs à base de imidazólio é principalmente resultado do hidrogênio ácido ligado ao carbono entre os dois átomos de nitrogênio no anel. Isso explicaria os resultados encontrados na Figura 19a, onde verifica-se que o LI com anel aromático ( $[C_4C_1im]Cl$ ) possui maior acidez quando comparados aos correspondentes não aromáticos. É importante realçar o comportamento anômalo observado pelo  $[Chol][Sal]$  na Figura 19c.

Os resultados encontrados para  $\alpha$ , e mostrados na Figura 19, corroboram com os apresentados anteriormente, na Tabela 2, onde pode ser visto que as regiões doadoras encontradas nos perfis sigma são maiores para os sais do que para os imidazólios. Além disso, quando se compara o  $[C_4C_1im]^+$  com  $[P_{4,4,4,4}]^+$  e  $[N_{4,4,4,4}]^+$ , o comportamento também está de acordo com o previsto pelo COSMO-RS, onde o imidazólio apresenta maior capacidade de doação de ligação de hidrogênio do que os outros LIs clorados aqui estudados.

Foi verificado se o valor de  $\alpha$  também teria influência com o ânion. Para tal, foi mantido o cátion e variou-se os ânions. O resultado dessa análise pode ser visto na Figura 20.

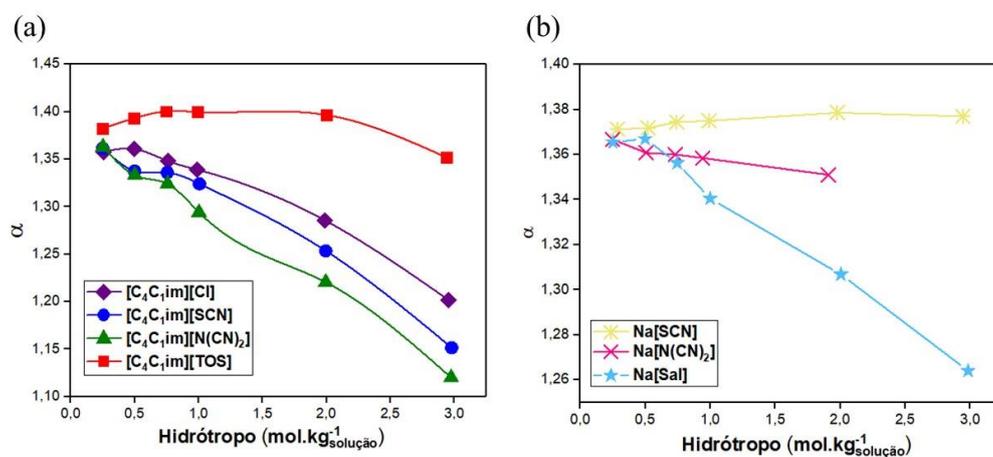


Figura 20. Influência do ânion no parâmetro  $\alpha$  para os LIs baseados em: (a)  $[C_4C_1im]^+$  e (b)  $Na^+$ .

O parâmetro  $\alpha$  depende majoritariamente do cátion do LI, tendo em vista que houve pouca alteração do comportamento dos sistemas que possuíam quase todos os imidazólios estudados aqui. No entanto, o  $[C_4C_1im][TOS]$  é exceção, indicando que este LI é influenciado também pelo ânion na capacidade de doação de ligação de hidrogênio (Figura 20a). Remetendo novamente à Tabela 2, é possível observar que o  $[C_4C_1im][TOS]$  é o LI baseado em imidazólio que possui maior região doadora no seu

perfil sigma, confirmado na Figura 20a nos valores de  $\alpha$  e que também pode ser a causa do desvio no comportamento da tendência quando comparado aos outros LIs do mesmo grupo.

Dentre os sais, existe uma alta influência dos ânions na acidez das soluções aquosas, principalmente por parte do Na[Sal] (Figura 20b). Como a região doadora é numericamente igual entre esses hidrótropos, a grande região apolar do salicilato, quando comparado aos outros sais, é o grande diferencial entre eles.

Na Figura 21 é possível verificar a influência do ânion no parâmetro  $\beta$ . Em ambos os casos, ânions com anel aromático possuem maior capacidade acceptora de prótons, tornando o meio mais básico.

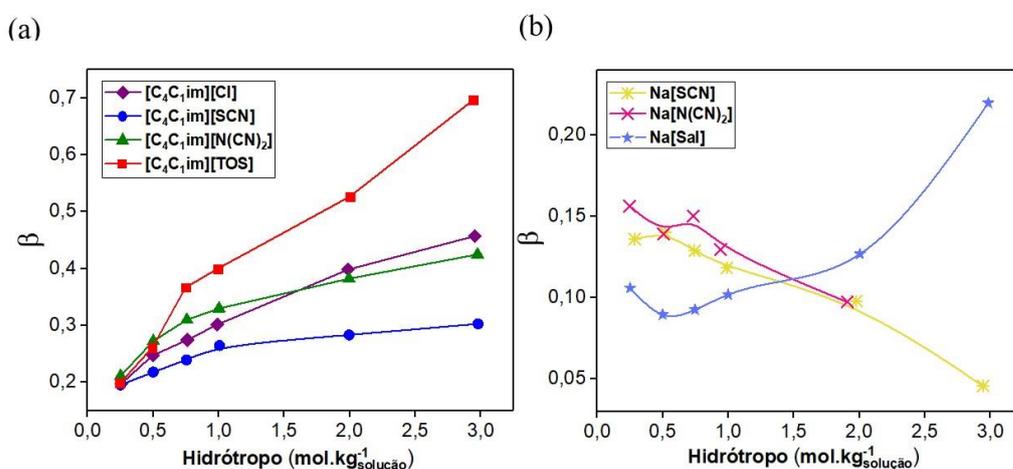


Figura 21. Parâmetro  $\beta$  para os hidrótropos baseados em: (a)  $[C_4C_1im]^+$ ; (b)  $Na^+$ . As linhas contínuas são guias para os olhos.

Por outro lado, ânions lineares possuem comportamento contrário. Segundo Cláudio et al. (2014), há uma diminuição na capacidade do ânion de aceitar ligações de hidrogênio com o aumento do número de grupos  $-CN$  ligados ao átomo central, apesar do número crescente de locais possíveis para interação. Quanto mais grupos  $-CN$  estiverem presentes, menor será a carga geral do grupo final e, portanto, a densidade de elétrons necessária para a ligação de hidrogênio. No entanto, aqui esse comportamento não é observado.

Ademais, os valores de  $\beta$  são consistentes com os perfis sigma gerados pelos COSMO-RS, onde o  $[TOS]^-$  possui região acceptora maior do que  $[N(CN)_2]^-$ ; seguido por  $[SCN]^-$  dentre os imidazólios (Tabela 2). Nos sais, essa consistência também é observada. A única

exceção é o  $[C_4C_1im]Cl$  que, seguindo esse comportamento, deveria ser o que possui a maior valor de  $\beta$  por possuir a maior região acceptora de prótons dentre os imidazólios. O que nos leva a verificar a influência do cátion nesse parâmetro.

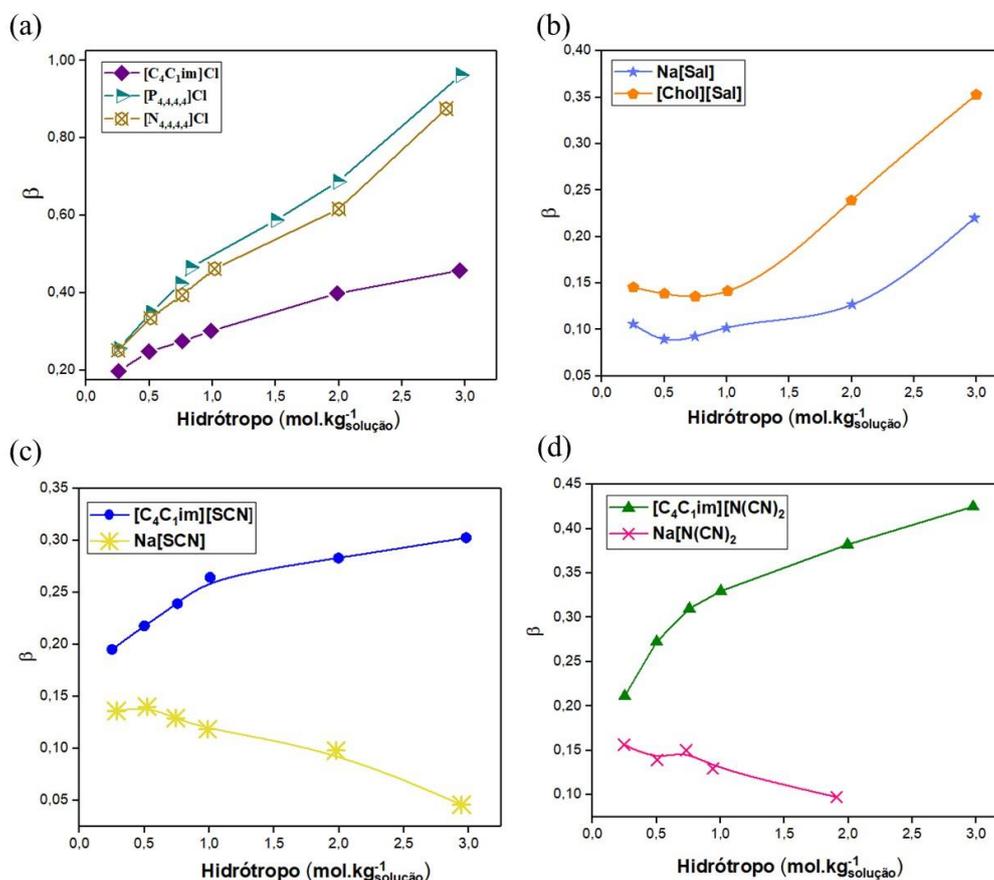


Figura 22. Influência do cátion no parâmetro  $\beta$  para os hidrótopos baseados em: (a)  $Cl^-$ , (b)  $[Sal]^-$ , (c)  $[SCN]^-$  e (d)  $[N(CN)_2]^-$ .

Algumas informações podem ser retiradas da Figura 22: (i) o comportamento do  $[P_{4,4,4,4}]Cl$  e do  $[N_{4,4,4,4}]Cl$  com o aumento da concentração varia de forma similar (Figura 22a). Nesses casos, a aceitação de ligação de hidrogênio parece estar associada ao ânion, já que a mudança do cátion não levou a alterações significativas no comportamento; (ii) o  $[C_4C_1im]Cl$  e todos os outros pares de hidrótopos estudados não obedecem a essa regra. O que indica que para os outros compostos, o cátion também possui interferência na basicidade; (iii) a região acceptora dos hidrótopos baseados em  $[Sal]^-$  (Tabela 2) é maior para a colina do que para o sódio, e esse comportamento foi observado nos valores de  $\beta$  (Figura 22b); (iv) os sais, que anteriormente mostraram ser grandes aceptores de elétrons (Figura 19), possuem baixo valor de aceitação de prótons (Figura 22c-d). O que já era esperado já que o cátion dos sais é formado apenas pelo  $Na^+$  e não possuem elétrons

livres. Com isso, a forte interação da água com o  $\text{Na}^+$ , limita a sua capacidade de aceitação de ligação de hidrogênio, diminuindo a sua basicidade. Em resumo, não é possível afirmar que existe uma regra universal que dite como o cátion e o ânion influenciam os parâmetros  $\alpha$  ou  $\beta$ .

Por fim, foi associado a região apolar dos perfis sigma de cada hidrótopo com os parâmetros  $\pi^*$  (Figura 23 e Tabela 2).

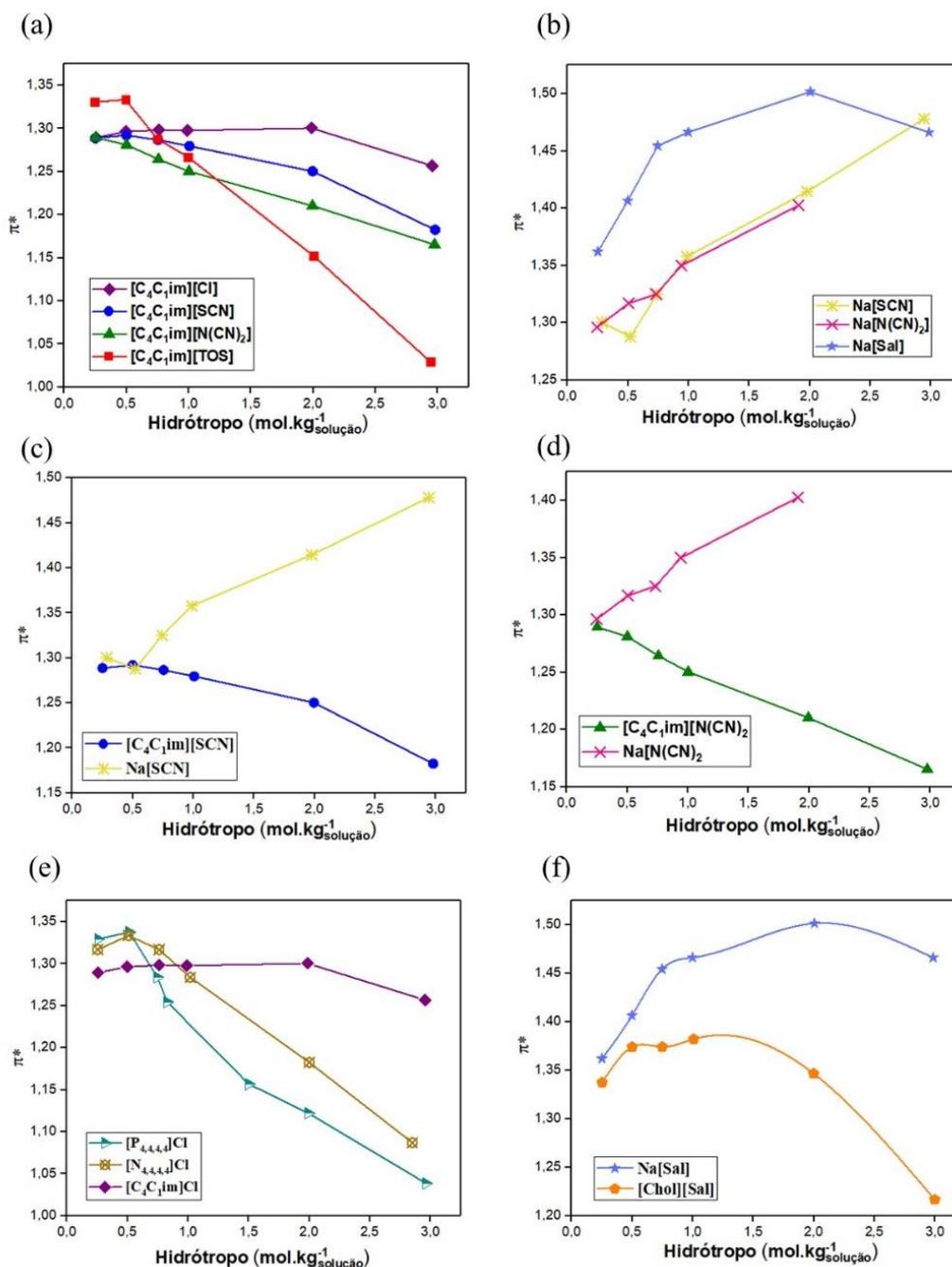


Figura 23. Parâmetro  $\pi^*$  para os hidrótopos baseados em: (a)  $[\text{C}_4\text{C}_1\text{im}]^+$ ; (b)  $\text{Na}^+$ ;  $[\text{SCN}]^-$ ; (d)  $[\text{N}(\text{CN})_2]^-$ ; (e)  $\text{Cl}^-$  e (f)  $[\text{Sal}]^-$ . As linhas contínuas são guias para os olhos.

Os resultados mostram que, para todos os grupos avaliados, o aumento da região apolar, leva à diminuição da dipolarizabilidade/polarizabilidade. As únicas exceções são os sais de sódio (Figura 23b) que não seguem uma tendência tão direta. Nesse caso, os ânions lineares causam valores de  $\pi^*$  quase idênticos, enquanto o salicilato tem valores altos de dipolarizabilidade/polarizabilidade, assim como sua região apolar. Nitidamente não há um paralelismo entre os valores de  $\pi^*$  e os valores do fator apolar na Tabela 2.

Ainda é possível observar, a partir da Figura 23, que os sais, de uma forma geral, possuem maior dipolarizabilidade/polarizabilidade do que os LIs.

Na tentativa de estabelecer uma relação entre a alteração da solubilidade da ART em soluções aquosas dos mesmos quatro LIs baseados em imidazólio estudados aqui e seus respectivos parâmetros solvatocrômicos, uma metodologia de correlação linear múltipla foi implementada por Sales et al. (2021). Em primeiro lugar, foi tentada a correlação da solubilidade nos quatro solventes com cada parâmetro individualmente. As correlações com  $\alpha$  e  $\beta$  não mostram melhora em relação a uma correlação simples com a concentração de LI. No entanto, ao usar o parâmetro  $\pi^*$ , uma correlação muito boa é obtida, que melhora apenas ligeiramente se combinada com  $\alpha$  ou  $\beta$ . A Figura 24 mostra os dados de solubilidade experimental versus os dados de solubilidade previstos para a melhor correlação usando o parâmetro  $\pi^*$ .

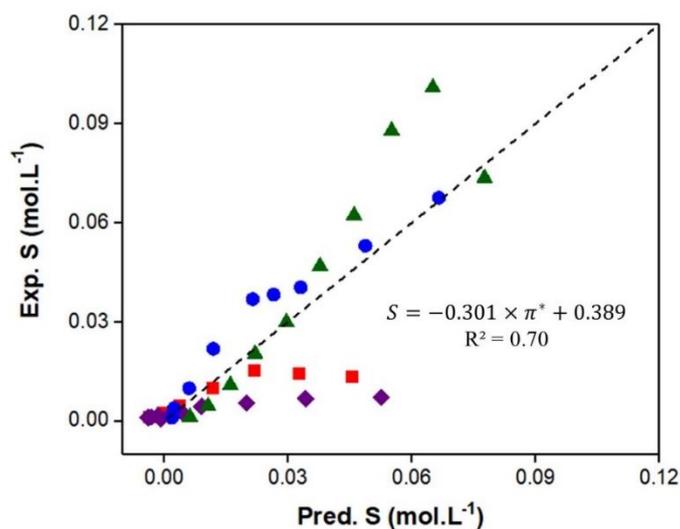
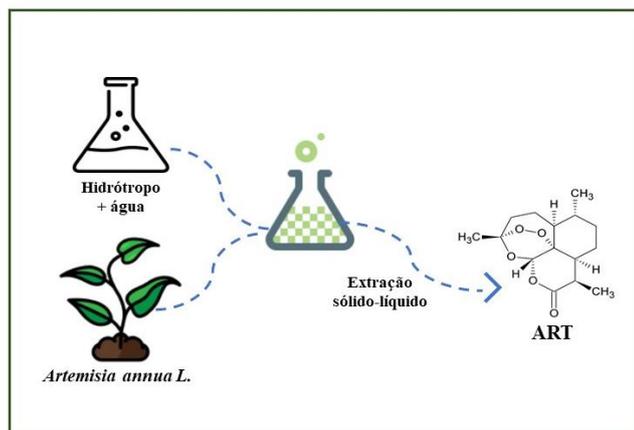


Figura 24. Correlação entre solubilidade experimental e predita da ART em soluções de: ■ [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][TOS]; ● [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN]; ▲ [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>]; ◆ [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]Cl. Fonte: (SALES et al., 2021).

O aumento considerável da solubilidade da ART em água usando [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN], [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>], [Chol][Sal], [P<sub>4,4,4,4</sub>][Cl] e Na[Sal] sugere que as soluções aquosas de LIs podem ser solventes promissores para a extração sustentável de ART a partir de folhas de *Artemisia annua* L.

# Capítulo 4 – Extração sólido-líquido da ART



Os dados de extração convencional com solventes orgânicos e com soluções aquosas de hidrótropos são apresentados neste capítulo. As extrações foram realizadas com éter de petróleo e diclorometano em Soxhlet e, de forma alternativa, com soluções dos 5 hidrótropos que apresentaram os melhores resultados no aumento da solubilidade da ART em água.

## **4.1. Secção experimental**

### **4.1.1. Materiais**

Para a extração convencional em Soxhlet, éter de petróleo e diclorometano foram selecionados. Os hidrótropos utilizados foram Na[Sal], [Chol][Sal], [P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl, [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] e [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>], sendo que as soluções aquosas foram preparadas seguindo a mesma metodologia utilizada no capítulo anterior. As estruturas dos hidrótropos estão na Figura 7 e as propriedades dos compostos na Tabela A 1 do Apêndice A.

### **4.1.2. Métodos**

#### *Extração convencional de ART*

Para fins de comparação, foi feita uma extração convencional de ART de folhas secas com solventes orgânicos em Soxhlet (Figura 25). Mais especificamente, as folhas moídas de *Artemisia annua L.* (3g) foram embaladas em um dedal de celulose e colocadas no extrator Soxhlet. As extrações foram realizadas com éter de petróleo e diclorometano por 5 h e utilizando um volume de 300 mL para cada extração. No final de cada extração, o solvente foi separado do extrato sob pressão reduzida.



Figura 25. Instrumentos utilizados para a extração convencional em Soxhlet.

*Extração da ART usando soluções aquosas de LIs e sal*

As extrações sólido-líquido de ART de *Artemisia annua L.* foram realizadas utilizando as soluções aquosas que apresentaram os maiores valores de solubilidade da ART, ou seja, soluções aquosas de hidrótropos com uma concentração entre 2 e 3 mol/kg<sub>solução</sub>. Todas as soluções aquosas foram preparadas gravimetricamente. Em seguida, as folhas secas de *Artemisia annua L.* foram trituradas para garantir granulometria uniforme. As misturas de quantidades específicas de folhas trituradas e soluções aquosas também foram preparadas em peso e em frascos de vidro cuidadosamente selados. As extrações foram realizadas em equipamento comercial (Carousel Radleys Tech) com agitação e controle de temperatura de  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Em todos os experimentos, a agitação foi mantida constante a 250 rpm, bem como a temperatura a  $30^{\circ}\text{C}$ , a razão sólido-líquido de 1:10 (em massa) e um tempo de 90 min. Após as extrações, o extrato foi centrifugado, filtrado e diluído para análise em HPLC-DAD, nas mesmas condições usadas para os dados de solubilidade, descritos no capítulo anterior.

O rendimento de ART presente nas folhas secas é calculado de acordo com a massa de ART presente no extrato dividido pelo peso total de biomassa seca utilizada.

### *Metodologia superfície de resposta*

Com o objetivo de maximizar o rendimento de ART do extrato de folhas secas de *Artemisia annua L.*, foi aplicado um planejamento experimental, a fim de determinar os fatores mais importantes (condições operacionais) e otimizá-los. Em uma metodologia de superfície de resposta  $2^k$ , existem  $k$  fatores que contribuem para uma resposta diferente e os dados são tratados de acordo com uma equação polinomial de segunda ordem:

$$Y = \beta_0 + \sum_i \beta_i X_i + \sum_i \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j \quad (9)$$

onde  $Y$  é a variável de resposta e  $\beta_0$ ,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  e  $\beta_{ij}$  são os coeficientes ajustados para os termos de ordenada na origem, linear, quadrático e de interação, respectivamente, e  $X_i$  e  $X_j$  são as variáveis independentes (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

Neste estudo, temperatura ( $T$ ), tempo de extração ( $t$ ) e concentração de hidrótropos ( $C$ ), foram submetidos a um planejamento fatorial  $2^3$  para otimizar o rendimento da ART, utilizando uma razão sólido-líquido de 1:10, e as soluções aquosas Na[Sal] ou [Chol][Sal]. Foi utilizado um delineamento composto central,  $2^3$ , com seis repetições do ponto central. As condições foram definidas para o nível zero (ponto central) e um nível (+1 e -1, os pontos fatoriais). Assim, vinte experimentos foram desenvolvidos e as condições aplicadas são fornecidas no Apêndice G. O planejamento foi estendido até aos pontos axiais que estão a uma distância de ( $\alpha = 2^{k/4}$ ) unidades codificadas do ponto central.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente a um nível de confiança de 95%, realizando a análise de variância (ANOVA) e de regressão utilizando o Statistica 8.0 ©. Superfícies de resposta e gráficos de contorno do rendimento de ART foram gerados a partir de modelos ajustados e, por meio de sua análise, as condições ideais determinadas.

### *Atividade antimalárica determinada usando o ensaio Whole-Cell SYBR Green I*

Testes *in vitro* de inibição do *Plasmodium falciparum* foram feitos em parceria com o Instituto de Higiene e Medicina tropical da Universidade Nova de Lisboa. Foram escolhidos extratos produzidos com Na[Sal] 2,61 mol/kg<sub>solução</sub> e [Chol][Sal] 3,99 mol/kg<sub>solução</sub>, [Chol][Sal] 2,47 mol/kg<sub>solução</sub>, nas condições ótimas obtidas pelo planejamento experimental. Além disso, extrato em diclorometano (DCM) também foi produzido para efeitos de comparação. Neste caso, o extrato foi seco e ressuspenso em

água. Os testes também foram realizados com soluções aquosas dos hidrótropos puros. Artemisinina e cloroquina foram utilizadas como controle.

A atividade antimalárica foi determinada usando o ensaio *SYBR Green I*. Resumidamente, parasitas assincrônicos foram cultivados por 72 h na presença de uma diluição seriada de 1:3 de cada composto, variando de 0,1 µg/ml a 0,001 µg/ml. A intensidade da fluorescência foi medida com um leitor de microplacas multimodo (Triad, Dynex Technologies), com excitação e emissão de comprimentos de onda de 485 e 535 nm, respectivamente, e analisada por regressão não linear usando GraphPad Prism para determinar os valores de IC<sub>50</sub>. Foram realizados pelo menos 3 ensaios independentes, cada um em triplicata.

## 4.2. Resultados

### *Extração sólido-líquido de ART*

No intuito de estabelecer referências acerca da quantidade de ART na biomassa, inicialmente foi realizada uma extração convencional usando éter de petróleo e diclorometano em Soxhlet e os resultados encontrados foram 0,38% e 1,30% (m/m), respectivamente. O conteúdo de ART na *Artemisia annua L.* varia muito e depende não apenas da variedade da planta, mas também do clima, dos métodos de plantio, momento de colheita e processo de secagem e armazenamento. A quantidade total em diferentes variedades de *Artemisia annua L.* está entre 0,01 e 1,4% em peso, com base na massa de folhas secas (LAPKIN; PLUCINSKI; CUTLER, 2006).

Extrações convencionais de ART são geralmente realizadas com solventes orgânicos como etanol, metanol, acetato de etila (TZENG et al., 2007), hexano (CIFTCI et al., 2018; QUISPE-CONDORI et al., 2005) e éter de petróleo (CHARLES et al., 1990; PRAWANG et al., 2019), sendo que este último é considerado o mais adequado, devido à sua ampla disponibilidade e a uma razoável solvatação da molécula alvo da planta (ZHANG et al., 2018). Hao et al. (2002) extraiu ART de *Artemisia annua L.* com éter de petróleo em Soxhlet por 12 h e o rendimento encontrado foi de 0,24% (m/m). A diferença entre esse resultado com o aqui encontrado, é muito pouco significativa, podendo estar relacionado com o tempo de extração, mas a heterogeneidade da biomassa é sempre um fator maior a ter em consideração.

Apesar de não ser um solvente comumente utilizado para a extração, a ART possui uma elevada solubilidade em diclorometano (QU et al., 2010). O intuito de utilizá-lo nesse estudo foi verificar se esse solvente seria um bom extrator, o que foi confirmado pelos autores.

Após as análises anteriores dos resultados de solubilidade do ART em soluções aquosas, foram selecionados Na[Sal], [Chol][Sal], [P<sub>4,4,4,4</sub>][Cl], [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] e [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>] para serem utilizados como solventes de extração de ART de folhas secas de *Artemisia annua* L. Em um primeiro teste, a extração foi realizada sob a mesma temperatura utilizada nos dados de solubilidade (30,0±0,5) °C, razão biomassa-solvente (1:10), tempo (90 min) e soluções aquosas de hidrótropos de 2 e 3 mol/Kg<sub>solução</sub>. Os resultados estão apresentados na Figura 26, enquanto os valores são compilados na Tabela F 1 do Apêndice F.

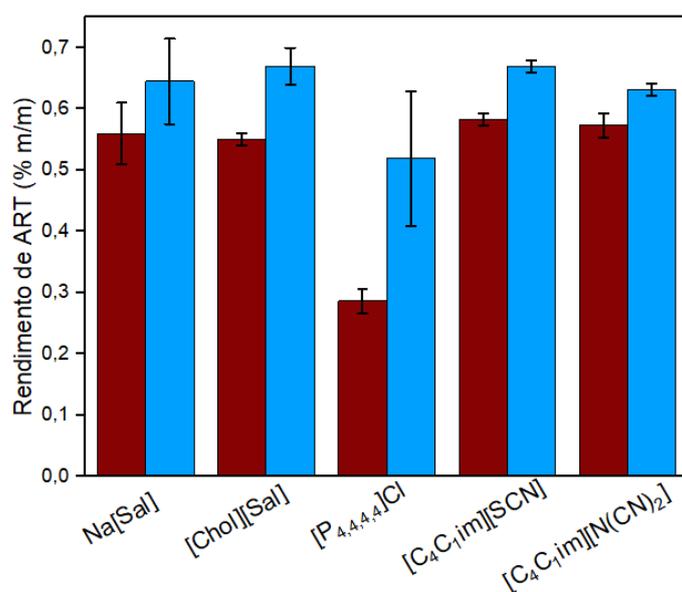


Figura 26. Rendimento de extração da ART com soluções aquosas de hidrótropos com concentração de 2 mol/Kg<sub>solução</sub> (vermelho) e 3 mol/Kg<sub>solução</sub> (azul), 30 °C e 90 min.

Numa análise mais imediata, as soluções aquosas de hidrótropos provam ser bons solventes para extrair ART da biomassa, com rendimento de extração bastante superior ao do éter de petróleo em Soxhlet, mas inferior ao do diclorometano. De fato, LIs e outros hidrótropos já demonstraram ser excelentes solventes para processos de extração sólido-líquido devido à versatilidade nas possíveis combinações de íons, propriedades físico-químicas únicas e ajustáveis (BOGDANOV, 2014), e sua capacidade de dissolver e modificar a permeabilidade da parede celular vegetal, mesmo quando em soluções

aquosas, o que pode levar a um melhor acesso aos compostos alvo incorporados nas matrizes da biomassa (BOGDANOV; SVINYAROV, 2013; DE FARIA et al., 2018; PASSOS; FREIRE; COUTINHO, 2014).

Apesar da alta eficiência do diclorometano em relação às soluções aquosas do hidrótopo para a extração de artemisinina, a natureza volátil do diclorometano, a sua recente suspeita de causar câncer (European Chemicals Agency; BYRNE et al., 2016; WHO) e a evidência de que esse composto impacta a camada de ozônio (HOSSAINI et al., 2015), representa uma grande desvantagem quando se pensa no consumo humano.

Tanto o cátion quanto o ânion do LI influenciam a eficiência da extração (BOGDANOV, 2014). Considerando as propriedades dos ânions estudados na literatura, pôde-se concluir que a capacidade aceitação de ligação de hidrogênio (HBA) é o principal fator que influencia o resultado da extração em comparação com o cátion (CLÁUDIO et al., 2014). Ao comparar os parâmetros solvatocrômicos determinadas anteriormente com os dados de extração, é notório que o  $[P_{4,4,4,4}]Cl$  possui os maiores valores de  $\beta$  (Figura 27), porém foi o LI que apresentou a menor eficiência de extração (Figura 26), sugerindo que, apesar de possuir um ânion com alta capacidade ligação de hidrogênio, a complexa estrutura do seu cátion pode ter dificultado o acesso ao composto alvo no interior da célula vegetal. De toda a forma este resultado é compatível com as observações formuladas no capítulo anterior, onde os melhores hidrótopos apresentam uma capacidade acceptora de ponte de hidrogênio mais moderada. Como se constata na Figura 27, as soluções aquosas dos demais hidrótopos possuem valores médios de HBA (ou seja de  $\beta$ ), e apresentaram melhor eficiência de extração, podendo ainda postular-se que tendo a água um forte carácter doador de ponte de hidrogênio, o  $[P_{4,4,4,4}]Cl$  com maior carácter acceptor prefere a interação com água, aumentando o carácter acceptor do solvente, e com uma dipolarizabilidade menor, apresenta maior dificuldade na agregação do soluto.

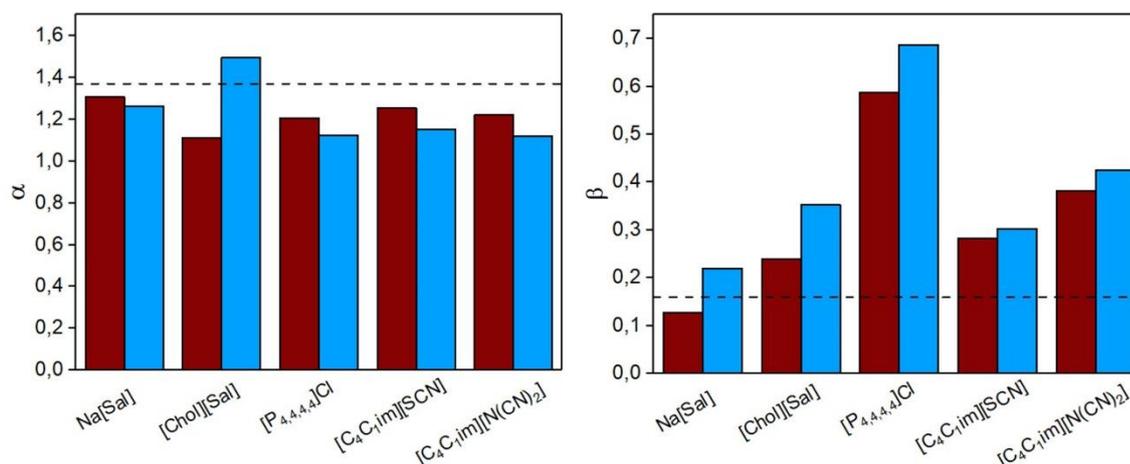


Figura 27. Parâmetros  $\alpha$ ,  $\beta$  para soluções de hidrótropos utilizados na extração de ART a 2 mol/Kg<sub>solução</sub> (vermelho) e 3 mol/Kg<sub>solução</sub> (azul). As linhas tracejadas são os parâmetros da água pura.

Para o mesmo ânion, nos hidrótropos com [Sal]<sup>-</sup> na sua estrutura, a solução mais concentrada de LI baseado na colina apresentou maior eficiência de extração. Esse sistema também apresentou um maior valor de  $\alpha$  (Figura 27), que pelos estudos de solubilidade não indicou ser um parâmetro muito importante, mas os valores de  $\alpha$  em todas as soluções aquosas não são muito significativamente diferentes do valor da água pura. De fato, o tipo de cátion usado é muito significativo, dando vantagem aos cátions aromáticos, ricos em elétrons (BOGDANOV, 2014), como é visto na boa eficiência de extração dos imidazólios, por exemplo. Em particular, [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im]<sup>+</sup> já mostrou ser superior em relação à extração de compostos fenólicos a partir de plantas medicinais (DU et al., 2009).

O comprimento da cadeia alquílica e a concentração de LI são também importantes, pois sua variação pode alterar as propriedades do sistema extrativo (BOGDANOV, 2014). Apesar dos valores de eficiência de extração não terem diferença significativa, e o erro associado às medições com o Na[Sal] bem mais evidente, a maior capacidade dos LIs em romper a matriz vegetal pode explicar a vantagem do sistema contendo [Chol][Sal] quando comparado ao do sal (Na[Sal]).

Apesar de ser considerado um bom solvente alternativo por ser mais ambientalmente benigno do que os solventes orgânicos, é crescente o número de estudos envolvendo o exame toxicológico, bem como a análise do destino ambiental dos LIs (VENTURA et al., 2014). Estudos envolvendo bactérias marinhas mostraram que LIs a base de imidazólio e

fosfônio são mostrados como “moderadamente” ou “levemente tóxicos”. E ainda de acordo com os resultados relatados, foi possível concluir que os LIs à base de fosfônio são mais tóxicos que as LIs à base de imidazólio (VENTURA et al., 2012b). Por outro lado, os LIs à base de colina são considerados estáveis na água, biodegradáveis e apresentam menor toxicidade, em comparação com outros LIs (SINTRA et al., 2015; TIAN; BERTON; ROGERS, 2019; VENTURA et al., 2014). Pelos motivos apresentados, a otimização da extração sólido-líquido foi realizada em soluções aquosas de [Chol][Sal], e para fins de comparação, também sobre soluções aquosas de Na[Sal] por ser o sal correspondente ao LI que apresentou uma maior solubilidade da ART.

#### *Otimização da extração sólido-líquido*

Com o objetivo de identificar os parâmetros de processamento mais significativos e otimizar as condições operacionais para obter melhores rendimentos de extração, foi utilizada a metodologia da superfície de resposta (RSM). Neste trabalho, foram realizados dois planejamentos fatoriais de  $2^3$  (3 fatores e 2 níveis), onde se variaram a concentração de soluções aquosas de hidrótropos, o tempo de extração e a temperatura de extração. A influência das três variáveis no rendimento da extração da ART são ilustrados na Figura 28 e Figura 29. Os pontos experimentais utilizados no segundo planejamento fatorial, o rendimento da ART obtido experimentalmente, bem como todas as análises estatísticas, são mostrados no Apêndice G.

De acordo com a análise estatística apresentada no Apêndice G e os dados das Figura 28 e Figura 29, é possível afirmar que a concentração é o parâmetro mais significativo que conduz a uma região de rendimento máximo de extração. Uma concentração maior é vantajosa para a extração da ART. No entanto, como as extrações foram feitas em soluções aquosas, a solubilidade dos hidrótropos em água deve ser considerada, como a alteração na viscosidade, bem como os fatores econômicos e ambientais. A temperatura também tem um impacto relevante no rendimento da extração da ART, pois temperaturas mais elevadas favorecem a diminuição da viscosidade do solvente, aumentando sua capacidade mistura e conseqüente extração do fármaco da biomassa. Neste vetor paramétrico, o tempo foi a variável com menor influência na extração da ART. Em geral, os dois hidrótropos testados apresentaram condições ótimas de extração a 35 °C, 80 minutos e concentração em torno de 2,4 mol/kg<sub>solução</sub>.

Uma vez que na análise estatística do planejamento fatorial  $2^3$  foram encontradas condições ótimas, outra extração foi realizada usando água pura nas condições ótimas. O rendimento de extração, neste caso, foi de 0,01% em peso, contra 0,68 e 0,64% em peso para soluções aquosas de Na[Sal] e [Chol][Sal], respectivamente. Os dois últimos conjuntos de resultados sobre a solubilidade e extração de ART da biomassa sugerem que o alto desempenho demonstrado por soluções aquosas de hidrótropos na extração pode estar relacionado à melhora da solubilidade causada por esses compostos, e não apenas pela ruptura da biomassa.

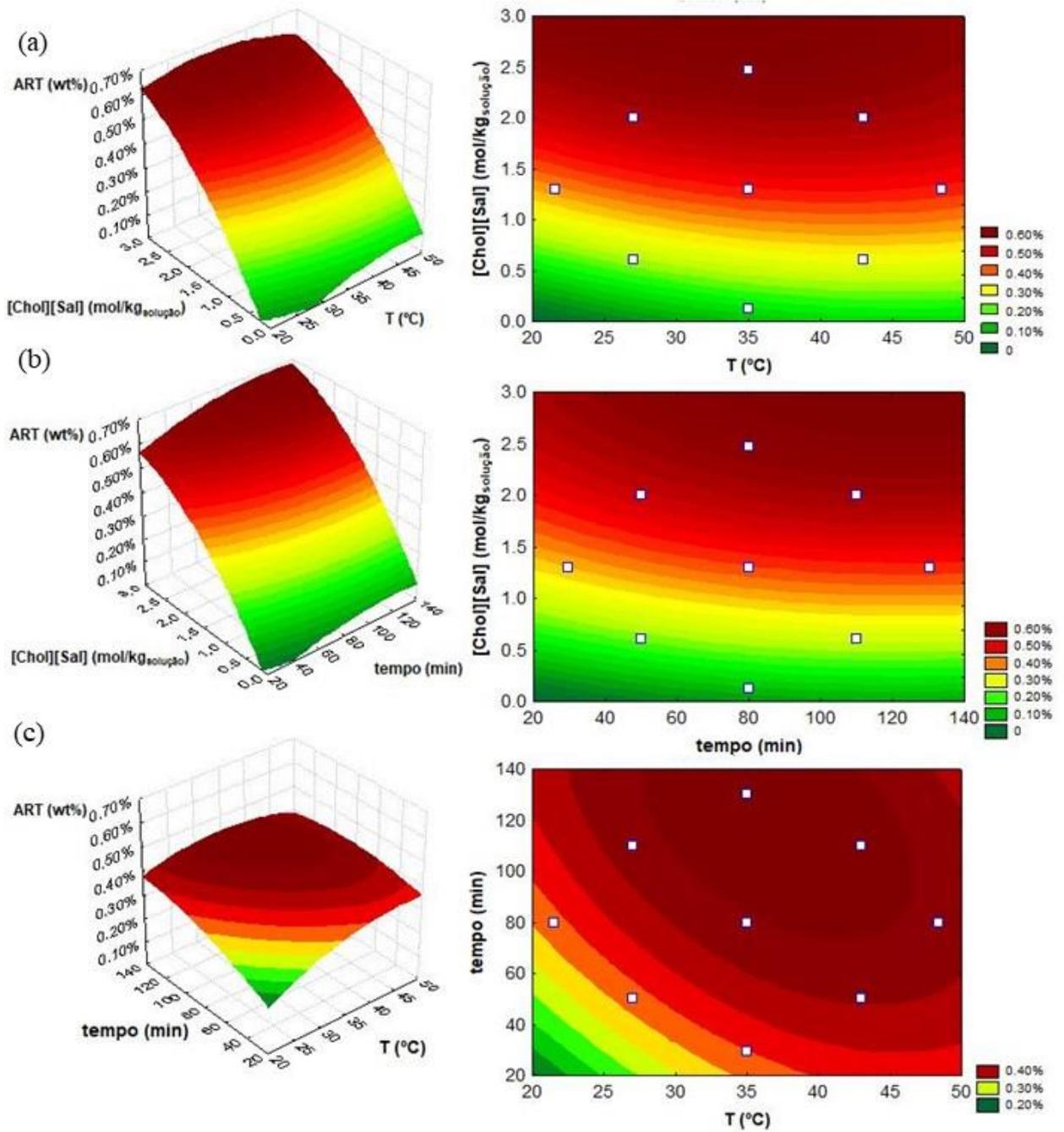


Figura 28. Gráficos de superfície de resposta (à esquerda) e gráficos de contorno (à direita) no rendimento de extração de ART com os efeitos combinados de (a) Concentração (mol/kg<sub>solução</sub>) e T (°C); (b) Concentração (mol/kg<sub>solução</sub>) e tempo (min); e (c) T (°C) e tempo (min), utilizando soluções aquosas de [Chol][Sal].

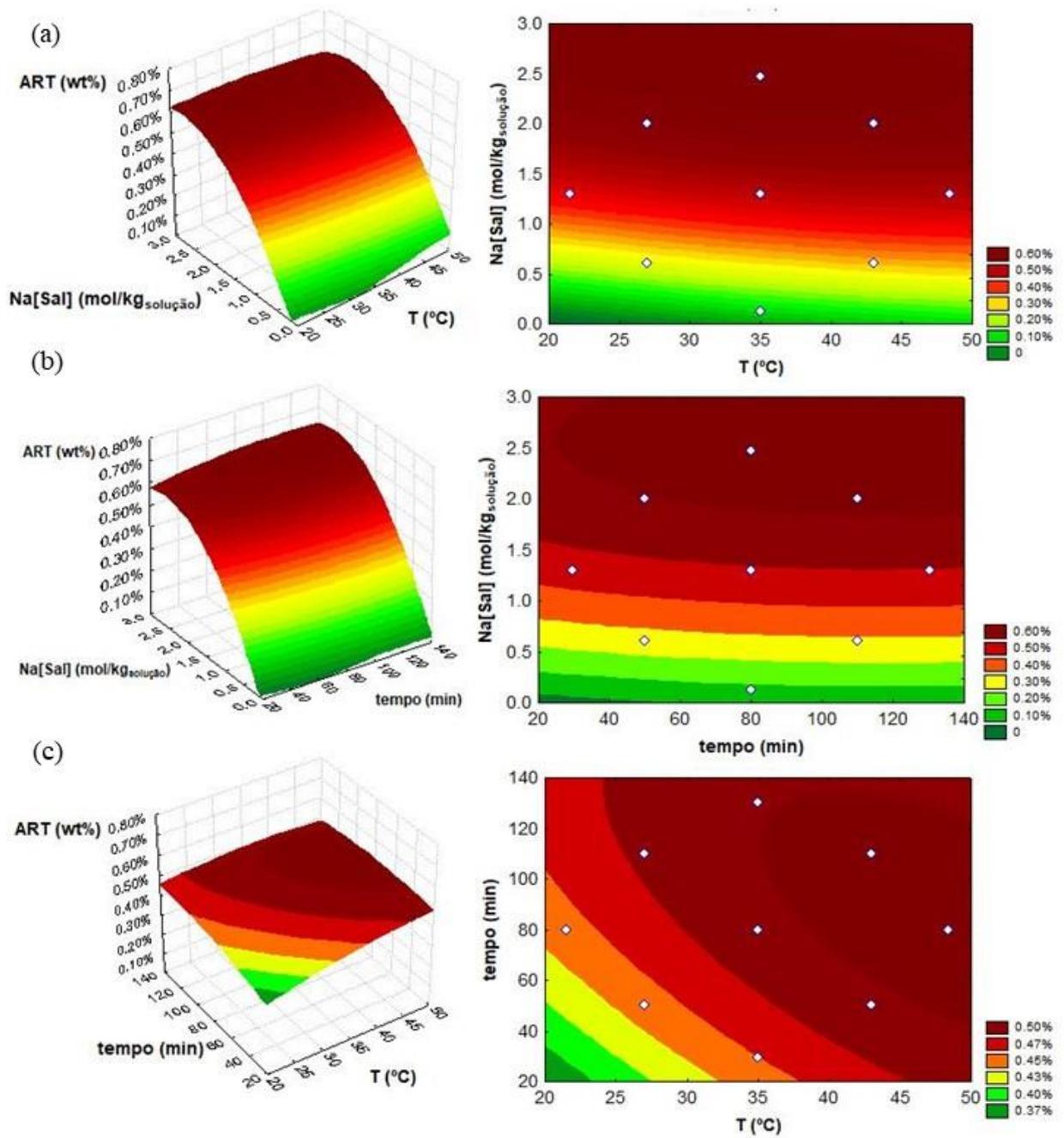


Figura 29. Gráficos de superfície de resposta (à esquerda) e gráficos de contorno (à direita) no rendimento de extração de ART com os efeitos combinados de (a) Concentração (mol/kg<sub>solução</sub>) e T (°C); (b) Concentração (mol/kg<sub>solução</sub>) e tempo (min); e (c) T (°C) e tempo (min), utilizando soluções aquosas de Na[Sal].

### Atividade antimalárica

Testes *in vitro* de inibição do *Plasmodium falciparum* foram feitos com extratos produzidos com [Chol][Sal], Na[Sal], e diclorometano (DCM). Os resultados indicam que todos os extratos produzidos com soluções aquosas de hidrótropos possuem atividade contra o parasita causador da malária (Tabela 4). É possível perceber que pequenas concentrações de extrato são necessárias para atingir a metade do efeito máximo de inibição (EC<sub>50</sub>) do *Plasmodium falciparum*, sendo o Na[Sal] 2,61 mol/kg<sub>solução</sub> apresenta o maior poder inibitório. Os extratos de [Chol][Sal] também apresentam resultados promissores e muito semelhante ao Na[Sal]. Os extratos produzidos com as soluções aquosas dos hidrótropos possuem atividade antimalárica maior até do que o extrato produzido com DCM.

Tabela 4. EC<sub>50</sub> dos extratos produzidos com soluções aquosas de hidrótropos

	EC <sub>50</sub> ± desvio	
	(µg/ml)	
<b>Artemisinina (ART)</b>	0,0066	0,0025
<b>Cloroquina (CQ)</b>	0,0099	0,0016
<b>Extrato (em Na[Sal] 2,61 mol/kg<sub>solução</sub>)</b>	0,0027	0,0005
<b>Extrato (em [Chol][Sal] 2,47 mol/kg<sub>solução</sub>)</b>	0,0034	0,0009
<b>Extrato (em [Chol][Sal] 3,99 mol/kg<sub>solução</sub>)</b>	0,0128	0,0038
<b>Extrato (em DCM)</b>	0,0200	0,0078
<b>Na[Sal] 2,61 mol/kg<sub>solução</sub></b>	ND	ND
<b>[Chol][Sal] 2,47 mol/kg<sub>solução</sub></b>	ND	ND
<b>[Chol][Sal] 3,99 mol/kg<sub>solução</sub></b>	ND	ND

ND=não detectado

Outro aspecto importante que vale a pena ressaltar é que as soluções de hidrótropos pura não possuem qualquer atividade. O que significa que a inibição encontrada pode estar relacionada exclusivamente com a presença da ART nos extratos ou de outros compostos

que podem estar agindo de forma sinérgica com o fármaco. Essa segunda opção já foi discutida por outros autores (DE DONNO et al., 2012) e é confirmada aqui, já que a ART pura necessita de uma concentração mais elevada para atingir metade do efeito máximo de inibição ( $EC_{50}$ ). Com isso, é possível afirmar que as soluções aquosas dos hidrótropos extraíram outros compostos da *Artemisia Annu L.* que também possuem atividade antimalárica.

De qualquer forma, os resultados encontrados são animadores pois indicam que a ART extraída possui bioatividade e o método proposto na tese pode ser utilizado como uma forma alternativa de extração de fármacos com baixa solubilidade em água.

# Capítulo 5 – Conclusões

Este trabalho está centrado na proposta de um método alternativo de extração da artemisinina a partir da *Artemisia annua L.* Esta molécula apresenta um potencial enorme no tratamento da malária, mas a sua baixíssima solubilidade em água limita a sua dissolução e biodisponibilidade. De modo a melhorar esta característica foram estudados líquidos iônicos e sais como potenciais hidrotropos.

Os resultados mostraram o excelente efeito hidrotrópico dos líquidos iônicos, com destaque para [Chol][Sal], [P<sub>4,4,4,4</sub>][Cl], [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN] e [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>], sendo que esse último aumentou a solubilidade da artemisinina em solução aquosa em até 460 vezes, sendo comparável aos melhores solventes orgânicos identificados. Além disso, os melhores resultados foram encontrados em soluções aquosas de Na[Sal], onde o aumento atinge um valor de quase 750 vezes. De uma forma geral, os resultados obtidos suportam a ideia de que tanto ânion quanto cátion contribuem para o mecanismo hidrotrópico de forma sinérgica. Adicionalmente, o efeito da molalidade dos líquidos iônicos na solubilidade da artemisinina foi bem descrito pelo modelo de hidrotropia cooperativa baseado na teoria de Kirkwood-Buff.

Foi possível empregar sondas solvatocrômicas para determinar o carácter doador e aceptor de ponte de hidrogênio das soluções aquosas estudadas, bem como em termos de polaridade. Em resumo, não é possível afirmar que existe uma regra única que dite como o cátion e o ânion influenciam nos parâmetros  $\alpha$  ou  $\beta$ , e assim cada caso deve ser analisado separadamente. O parâmetro  $\pi^*$  pode ser associado a região apolar dos hidrotropos. De uma forma geral, quando maior for a região apolar, menor será o valor desse parâmetro em solução aquosa. Além disso, os sais possuem maior dipolarizabilidade/polarizabilidade do que os LIs.

A partir dos testes de solubilidade, foi possível identificar 5 hidrotropos promissores para a extração da artemisinina de folhas de *Artemisia annua L.*: C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][SCN], [C<sub>4</sub>C<sub>1</sub>im][N(CN)<sub>2</sub>], [Chol][Sal], [P<sub>4,4,4,4</sub>][Cl] e Na[Sal]. As extrações tiveram rendimentos de até 0,65% (m/m) para soluções aquosas de [Chol][Sal]. Esse resultado foi melhor do que o encontrado para extração com éter de petróleo (0,38% (m/m)) utilizando Soxhlet como metodologia. Levando em consideração que o conteúdo de artemisinina em folhas de *Artemisia annua L.* variam entre 0,01 e 1,4% em massa, esses resultados são bastante promissores.

Os resultados de extração também evidenciaram que tanto o cátion quanto o ânion afetam na extração do composto alvo. No entanto, dentre os LIs utilizados, a solução aquosa de [P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl apresentou maior valor de  $\beta$  e menor eficiência de extração. De uma forma geral, os melhores resultados de extração foram com as soluções aquosas dos hidrótropos que apresentam uma capacidade aceptora de ponte de hidrogênio mais moderada.

Foi utilizada a metodologia da superfície de resposta (RSM) com o objetivo de identificar os parâmetros de processamento mais significativos e otimizar as condições operacionais para obter altos rendimentos de extração para soluções aquosas de [Chol][Sal] e Na[Sal]. Em geral, os dois hidrótropos testados apresentaram condições ótimas de extração em 35 °C, 80 minutos e concentração em torno de 2,4 mol/kg<sub>solução</sub>. Nessas condições, os rendimentos de extração foram 0,68 e 0,64% em massa para soluções aquosas de Na[Sal] e [Chol][Sal], respectivamente.

Por fim, a atividade antimalárica dos extratos produzidos com Na[Sal] e [Chol][Sal] foi avaliada. Os resultados indicam que todos os extratos produzidos com soluções aquosas de hidrótropos possuem atividade contra o parasita causador da malária. Porém, o fato da ART pura necessitar de uma concentração mais elevada para atingir metade do efeito máximo de inibição (EC<sub>50</sub>) do que os extratos em solução do LI e do sal, indica que as soluções aquosas dos hidrótropos extraem outros compostos da *Artemisia Annuua L.* que também possuem atividade antimalárica e estão agindo de forma sinérgica.

### **Sugestões para trabalhos futuros**

- Ampliar a gama de cátions e ânions dos líquidos iônicos para o estudo da hidrotropia, bem como avaliar a influência da temperatura no processo, com o intuito de enriquecer a base de dados dessa série de solventes.
- Desenvolver metodologias para quantificar outros compostos presentes no extrato, procedendo a eventuais fracionamentos para avaliação de atividade antimalárica.
- Simular os processos de extração e purificação da artemisinina recorrendo a simuladores comerciais.
- Estudar a citotoxicidade dos líquidos iônicos visando a sua aplicação conjunta com artemisinina no tratamento da malária.

# Referências

---

- AB RANI, M. A. et al. Understanding the polarity of ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 37, p. 16831–16840, 2011a.
- AB RANI, M. A. et al. Understanding the polarity of ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 37, p. 16831–16840, 2011b.
- ABDIN, M. Z. et al. Artemisinin, a novel antimalarial drug: Biochemical and molecular approaches for enhanced production. **Planta Medica**, v. 69, n. 4, p. 289–299, 2003.
- ABRANCHES, D. O. et al. Solubility Enhancement of Hydrophobic Substances in Water/Cyrene Mixtures: A Computational Study. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 2020a.
- ABRANCHES, D. O. et al. Unveiling the mechanism of hydrotrophy: Evidence for water-mediated aggregation of hydrotropes around the solute. **Chemical Communications**, v. 56, n. 52, p. 7143–7146, 2020b.
- AGENCY, E. C. **Information on Chemicals**. Disponível em: <<https://echa.europa.eu/home>>. Acesso em: 15 de abril de 2021.
- ALENCAR, L. V. T. D. et al. Complete process for the selective recovery of textile dyes using aqueous two-phase system. **Separation and Purification Technology**, v. 253, n. June, p. 117502, 2020.
- ÁLVAREZ, V. H. et al. Brønsted Ionic Liquids for Sustainable Processes: Synthesis and Physical Properties †. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 2, p. 625–632, 11 fev. 2010.
- AMARA, Z. et al. Applying green chemistry to the photochemical route to artemisinin. **Nature Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 489–495, 2015.
- AMDE, M.; LIU, J. F.; PANG, L. Environmental Application, Fate, Effects, and Concerns of Ionic Liquids: A Review. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 21, p. 12611–12627, 2015.
- BAGAVAN, A. et al. In vitro antimalarial activity of medicinal plant extracts against Plasmodium falciparum. **Parasitology Research**, v. 108, n. 1, p. 15–22, 2011.

- BARRADELL, L. B.; FITTON, A. Artesunate: A Review of its Pharmacology and Therapeutic Efficacy in the Treatment of Malaria. **Drugs**, v. 50, n. 4, p. 714–741, 1995.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. [s.l: s.n.].
- BAUDUIN, P. et al. Unified concept of solubilization in water by hydrotropes and cosolvents. **Langmuir**, v. 21, n. 15, p. 6769–6775, 2005.
- BEEKMAN, A. C. et al. Artemisinin-derived sesquiterpene lactones as potential antitumour compounds: Cytotoxic action against bone marrow and tumour cells. **Planta Medica**, v. 64, n. 7, p. 615–619, 1998.
- BIONIQS LTD. Extraction of Artemisinin Using. **Project Report 003-0003/3**, v. 44, n. February, p. 0–27, 2008.
- BOGDANOV, M. G. et al. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. I. New HPLC method for quantitative determination of glaucine in *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). **Separation and Purification Technology**, v. 97, n. December 2017, p. 221–227, 2012.
- BOGDANOV, M. G. Alternative Solvents for Natural Products Extraction. In: CHEMAT, F.; VIAN, M. A. (Eds.). **Green Chemistry and Sustainable Technology**. [s.l.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014. p. 127–166.
- BOGDANOV, M. G.; SVINYAROV, I. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. II. Kinetics, modeling and mechanism of glaucine extraction from *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). **Separation and Purification Technology**, v. 103, n. January, p. 279–288, 2013.
- BOGDANOV, M. G.; SVINYAROV, I. Analysis of acetylcholinesterase inhibitors by extraction in choline saccharinate aqueous biphasic systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1559, p. 62–68, 2018.
- BOOTH, J. J.; ABBOTT, S.; SHIMIZU, S. Mechanism of hydrophobic drug solubilization by small molecule hydrotropes. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 51, p. 14915–14921, 2012.
- BRIARS, R.; PANIWNYK, L. Effect of ultrasound on the extraction of artemisinin from *Artemisia annua*. **Industrial Crops & Products**, v. 42, p. 595–600, 2013.

BUHVESTOV, U. et al. **Solute-solvent and solvent-solvent interactions in binary solvent mixtures. Part 7. Comparison of the enhancement of the water structure in alcohol-water mixtures measured by solvatochromic indicators** *Journal of Physical Organic Chemistry*, 1998.

BYRNE, F. P. et al. Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. **Sustainable Chemical Processes**, v. 4, n. 1, p. 7, 23 dez. 2016.

CHAN, K. L. et al. Polymorphism of artemisinin from *Artemisia annua*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 7, p. 1209–1214, 1997.

CHARLES, D. J. et al. Germplasm variation in artemisinin content of *artemisia annua* using an alternative method of artemisinin analysis from crude plant extracts1. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 1, p. 157–160, 1990.

CHEMAT, S. et al. Extraction mechanism of ultrasound assisted extraction and its effect on higher yielding and purity of artemisinin crystals from *Artemisia annua* L. leaves. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 310–316, 2017.

CHIAPPE, C.; POMELLI, C. S.; RAJAMANI, S. Influence of structural variations in cationic and anionic moieties on the polarity of ionic liquids. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, n. 31, p. 9653–9661, 2011.

CIFTCI, O. N. et al. Optimization of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L. with supercritical carbon dioxide + ethanol using response surface methodology. **Electrophoresis**, v. 39, n. 15, p. 1926–1933, 2018.

CLÁUDIO, A. F. M. et al. **Optimization of the gallic acid extraction using ionic-liquid-based aqueous two-phase systems**. Separation and Purification Technology. **Anais...**2012

CLÁUDIO, A. F. M. et al. Extended scale for the hydrogen-bond basicity of ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 14, p. 6593–6601, 2014.

CLÁUDIO, A. F. M. et al. The magic of aqueous solutions of ionic liquids: Ionic liquids as a powerful class of cationic hydrotropes. **Green Chemistry**, v. 17, n. 7, p. 3948–3963, 2015.

CRESPO-ORTIZ, M. P.; WEI, M. Q. Antitumor activity of artemisinin and its derivatives: From a well-known antimalarial agent to a potential anticancer drug. **Journal**

**of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, 2012.

CROWHURST, L. et al. Solvent-solute interactions in ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 5, n. 13, p. 2790–2794, 2003.

CZECHOWSKI, T. et al. Editorial: Artemisinin—From Traditional Chinese Medicine to Artemisinin Combination Therapies; Four Decades of Research on the Biochemistry, Physiology, and Breeding of *Artemisia annua*. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. September, p. 2019–2021, 2020.

DAI, Y. et al. Ionic liquids and deep eutectic solvents in natural products research: Mixtures of solids as extraction solvents. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 11, p. 2162–2173, 2013.

DAS, S.; PAUL, S. Hydrotropic Action of Cationic Hydrotrope p-Toluidinium Chloride on the Solubility of Sparingly Soluble Gliclazide Drug Molecule: A Computational Study. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 57, n. 6, p. 1461–1473, 2017.

DE ANDRADE-NETO, V. F. et al. Antimalarial activity of phenazines from lapachol,  $\beta$ -lapachone and its derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 5, p. 1145–1149, 2004.

DE DONNO, A. et al. First-time comparison of the in vitro antimalarial activity of *Artemisia annua* herbal tea and artemisinin. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 11, p. 696–700, 2012.

DE FARIA, E. L. P. et al. Aqueous Solutions of Surface-Active Ionic Liquids: Remarkable Alternative Solvents to Improve the Solubility of Triterpenic Acids and Their Extraction from Biomass. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 8, p. 7344–7351, 2017.

DE FARIA, E. L. P. et al. Extraction and recovery processes for cynaropicrin from *Cynara cardunculus* L. using aqueous solutions of surface-active ionic liquids. **Biophysical Reviews**, v. 10, n. 3, p. 915–925, 2018.

DE FARIA, E. L. P. et al. Recovery of Syringic Acid from Industrial Food Waste with Aqueous Solutions of Ionic Liquids. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v.

7, n. 16, p. 14143–14152, 2019.

DE VRIES, P. J.; DIEN, T. K. Clinical pharmacology and therapeutic potential of artemisinin and its derivatives in the treatment of malaria. **Drugs**, v. 52, n. 6, p. 818–836, 1996.

DELABAYS, N.; SIMONNET, X.; GAUDIN, M. The Genetics of Artemisinin Content in *Artemisia annua* L. and the Breeding of High Yielding Cultivars. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 15, p. 1795–1801, 2012.

DÍAZ-QUIROZ, C. et al. Biocompatible amino acid-based ionic liquids for extracting hormones and antibiotics from swine effluents. **Separation and Purification Technology**, v. 250, n. February, p. 117068, 2020.

DOCHERTY, K. M.; KULPA, C. F. Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 7, n. 4, p. 185–189, 2005.

DU, F. Y. et al. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from medicinal plants. **Talanta**, v. 78, n. 3, p. 1177–1184, 2009.

EASTOE, J.; HATZOPOULOS, M. H.; DOWDING, P. J. **Action of hydrotropes and alkyl-hydrotropes** *Soft Matter*, 2011.

ELFORD, B. C. et al. Potentiation of the antimalarial activity of qinghaosu by methoxylated flavones. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 3, p. 434–436, 1987.

FERREIRA, A. M. et al. Enhanced extraction and biological activity of 7-hydroxymatairesinol obtained from Norway spruce knots using aqueous solutions of ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 19, n. 11, p. 2626–2635, 2017.

FRADE, R. F. M. et al. Toxicological evaluation of magnetic ionic liquids in human cell lines. **Chemosphere**, v. 92, n. 1, p. 100–105, 2013.

GRUESSNER, B. M.; WEATHERS, P. J. In vitro analyses of *Artemisia* extracts on *Plasmodium falciparum* suggest a complex antimalarial effect. **PLoS ONE**, v. 16, n. 3 March, p. 1–21, 2021.

HAO, J. YU et al. Microwave-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L.

**Separation and Purification Technology**, v. 28, n. 3, p. 191–196, 2002.

HARIFI-MOOD, A. R.; HABIBI-YANGJEH, A.; GHOLAMI, M. R. Solvatochromic parameters for binary mixtures of 1-(1-butyl)-3- methylimidazolium tetrafluoroborate with some protic molecular solvents. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 13, p. 7073–7078, 2006.

HOPKINS HATZOPOULOS, M. et al. Are hydrotropes distinct from surfactants? **Langmuir**, v. 27, n. 20, p. 12346–12353, 2011.

HOSSAINI, R. et al. Efficiency of short-lived halogens at influencing climate through depletion of stratospheric ozone. **Nature Geoscience**, v. 8, n. 3, p. 186–190, 16 mar. 2015.

HOU, X. D. et al. Evaluation of Toxicity and Biodegradability of Cholinium Amino Acids Ionic Liquids. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–8, 2013.

HUSSAIN, M. A.; DILUCCIO, R. C.; MAURIN, M. B. Complexation of moricizine with nicotinamide and evaluation of the complexation constants by various methods. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 82, n. 1, p. 77–79, 1993.

JEFFORD, C. Why Artemisinin and Certain Synthetic Peroxides are Potent Antimalarials. Implications for the Mode of Action. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 15, p. 1803–1826, 2012.

JESSOP, P. G. et al. Solvatochromic parameters for solvents of interest in green chemistry. **Green Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 1245–1259, 2012.

KAMLET, M. J. Solvent Hydrogen-Bond Acceptor (HBA) Basicities'. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 98, n. 2, p. 377–383, 1975.

KAMLET, M. J.; ABBOUD, J. L.; TAFT, R. W. The Solvatochromic Comparison Method. 6. The  $\pi^*$  Scale of Solvent Polarities<sup>1</sup>. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 18, p. 6027–6038, 1977.

KAMLET, M. J.; TAFT, R. W. The Solvatochromic Comparison Method. I. The  $\beta$ -Scale Of Solvent Hydrogen-Bond Acceptor (HBA) Basicities. **Journal of the American Chemical Society**, v. 98, n. 2, p. 377–383, 1976.

KLAYMAN, D. L. Qinghaosu (artemisinin): An antimalarial drug from China. **Science**,

v. 228, n. 4703, p. 1049–1055, 1985.

KOHLER, M. et al. Extraction of artemisinin and artemisinic acid from. **Journal of chromatography A**, v. 785, p. 353–360, 1997.

KORNER, J. **Choline Gallate and its preparation** UNITED STATES PATENT OFFICE, 1952.

KULACKI, K. J.; LAMBERTI, G. A. Toxicity of imidazolium ionic liquids to freshwater algae. **Green Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 104–11, 2008.

KURNIA, K. A. et al. Hydrogen-bond acidity of ionic liquids: an extended scale. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 29, p. 18980–18990, 2015.

LABOUKHI-KHORSI, S.; DAOUD, K.; CHEMAT, S. Efficient Solvent Selection Approach for High Solubility of Active Phytochemicals: Application for the Extraction of an Antimalarial Compound from Medicinal Plants. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 5, p. 4332–4339, 2017a.

LABOUKHI-KHORSI, S.; DAOUD, K.; CHEMAT, S. Efficient Solvent Selection Approach for High Solubility of Active Phytochemicals: Application for the Extraction of an Antimalarial Compound from Medicinal Plants. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 5, p. 4332–4339, 2017b.

LAPKIN, A. A. et al. Screening of new solvents for artemisinin extraction process using ab initio methodology. **Green Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 241–251, 2010.

LAPKIN, A. A. Green Extraction of Artemisinin from *Artemisia annua* L. **Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice**, p. 333–356, 2014.

LAPKIN, A. A.; PLUCINSKI, P. K.; CUTLER, M. **Comparative assessment of technologies for extraction of artemisinin** *Journal of Natural Products*, 2006.

LETCHMANAN, K. et al. Application of transglycosylated stevia and hesperidin as drug carriers to enhance biopharmaceutical properties of poorly-soluble artemisinin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 161, p. 83–93, 2018.

LIMA, Á. S.; OLIVEIRA, B. S.; SANTANA, C. C. Processos de Extração e purificação de biomoléculas. In: LIMA, Á. S.; SANTANA, C. C. (Eds.). . **Processos de extração e purificação de biomoléculas**. [s.l.] EDUNIT, 2017.

- LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 4–17, 2012.
- LIU, K. C. S. C. et al. Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. **Plant Cell Reports**, v. 11, n. 12, p. 637–640, 1992.
- LIU, Y.; LÜ, H.; PANG, F. Solubility of artemisinin in seven different pure solvents from (283.15 to 323.15) K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 54, n. 3, p. 762–764, 2009.
- LU, J. et al. Polarity and hydrogen-bonding of ambient to near-critical water: Kamlet-Taft solvent parameters. **Chemical Communications**, n. 7, p. 665–666, 2001.
- MACHADO, C. Estudos físico-químicos do solvatocromismo e halocromismo. p. 175, 1997.
- MADEIRA, P. P. et al. Alternative probe for the determination of the hydrogen-bond acidity of ionic liquids and their aqueous solutions. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 18, p. 11011–11016, 2017.
- MAHE, A. et al. In Vitro Determination of Anti-Plasmodial Activity of *Artemisia Annua* Leaf Extract on *Plasmodium Parasite*. v. 5, n. 2, p. 104–109, 2019.
- MAIA, F. M. et al. Equation of state modelling of systems with ionic liquids: Literature review and application with the Cubic Plus Association (CPA) model. **Fluid Phase Equilibria**, v. 332, p. 128–143, out. 2012.
- MALWADE, C. R. et al. Crystallization of Artemisinin from Chromatography Fractions of *Artemisia annua* Extract. **Organic Process Research and Development**, v. 20, n. 3, p. 646–652, 2016.
- MARCUS, Y. The properties of organic liquids that are relevant to their use as solvating solvents. **Chemical Society Reviews**, v. 22, n. 6, p. 409–416, 1993.
- MARTINEZ-CORREA, H. A. et al. Integrated extraction process to obtain bioactive extracts of *Artemisia annua* L. leaves using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol and water. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 535–542, 2017.
- MECK, W. H.; WILLIAMS, C. L. Choline supplementation during prenatal development

reduces proactive interference in spatial memory. **Developmental Brain Research**, v. 118, n. 1–2, p. 51–59, 1999.

MEDICINE, I. OF. **Dietary Reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin and choline: a report of the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B.** [s.l.: s.n.].

MENDES, A. M. et al. Malária entre povos indígenas na fronteira Brasil-Guiana Francesa, entre 2007 e 2016: um estudo descritivo. **Epidemiologia e serviços de saúde : revista do Sistema Unico de Saude do Brasil**, v. 29, n. 2, p. e2019056, 2020.

MENGISTE, B.; MAKONNEN, E.; URGA, K. In vivo antimalarial activity of dodonaea angustifolia seed extracts against plasmodium berghei in mice model. **Momona Ethiop J Sci**, v. 4, n. 1, p. 47–63, 2012.

NACHAM, O. et al. Synthetic strategies for tailoring the physicochemical and magnetic properties of hydrophobic magnetic ionic liquids. **Chemistry of Materials**, v. 27, n. 3, p. 923–931, 2015.

NAGARAJAN, J. et al. Extraction of phytochemicals using hydrotropic solvents. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, v. 51, n. 7, p. 1151–1165, 2016.

NAHAR, L.; GUO, M.; SARKER, S. D. A review on the latest advances in extraction and analysis of artemisinin. **Phytochemical Analysis**, v. 31, n. 1, p. 5–14, 2020.

NEUMANN, M. G. et al. The photophysical determination of the minimum hydrotropic concentration of aromatic hydrotropes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 315, n. 2, p. 810–813, 2007.

NEVES, C. M. S. S. et al. Aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and polypropylene glycol: insights into their liquid – liquid demixing mechanisms †. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, p. 20571–20582, 2016.

NOCKEMANN, P. et al. Choline saccharinate and choline acesulfamate: Ionic liquids with low toxicities. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 19, p. 5254–5263, 2007.

NTI-GYABAAH, J.; GBEWONYO, K.; CHIEW, Y. C. Solubility of artemisinin in different single and binary solvent mixtures between (284.15 and 323.15) K and NRTL interaction parameters. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 55, n. 9, p.

3356–3363, 2010.

OH, S. et al. Synthesis and anti-cancer activity of covalent conjugates of artemisinin and a transferrin-receptor targeting peptide. **Cancer Letters**, v. 274, n. 1, p. 33–39, 2009.

OLLIARO, P. L.; YUTHAVONG, Y. An overview of chemotherapeutic targets for antimalarial drug discovery. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 81, n. 2, p. 91–110, 1999.

ORGANIZATION, W. H. **Agents Classified by the IARC Monographs**. Disponível em: <<https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>>. Acesso em: 15 de abril de 2021.

PANDEY, A. V. et al. Artemisinin, an endoperoxide antimalarial, disrupts the hemoglobin catabolism and heme detoxification systems in malarial parasite. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 27, p. 19383–19388, 1999.

PASSOS, H. et al. Mechanisms ruling the partition of solutes in ionic-liquid-based aqueous biphasic systems – the multiple effects of ionic liquids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 20, n. 13, p. 8411–8422, 2018.

PASSOS, H.; FREIRE, M. G.; COUTINHO, J. A. P. Ionic liquid solutions as extractive solvents for value-added compounds from biomass. **Green Chemistry**, v. 16, n. 12, p. 4786–4815, 2014.

PERNAK, J.; CHWAŁA, P. Synthesis and anti-microbial activities of choline-like quaternary ammonium chlorides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, n. 11–12, p. 1035–1042, 2003.

PERNAK, J.; ROGOZA, J.; MIRSKA, I. Synthesis and antimicrobial activities of new pyridinium and benzimidazolium chlorides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, n. 4, p. 313–320, 2001.

PETKOVIC, M. et al. Novel biocompatible cholinium-based ionic liquids—toxicity and biodegradability. **Green Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 643–64, 2010.

PILKINGTON, J. L.; PRESTON, C.; GOMES, R. L. Comparison of response surface methodology (RSM) and artificial neural networks (ANN) towards efficient extraction of artemisinin from *Artemisia annua*. **Industrial Crops and Products**, v. 58, n. July, p. 15–24, 2014.

PRAWANG, P. et al. Ultrasonic Assisted Extraction of Artemisinin from *Artemisia annua* L. Using Poly(Ethylene Glycol): Toward a Greener Process. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 39, p. 18320–18328, 2019.

QU, H. et al. Chromatography-crystallization hybrid process for artemisinin purification from *Artemisia annua*. **Chemical Engineering and Technology**, v. 33, n. 5, p. 791–796, 2010.

QUENTAL, M. V. et al. Integrated Extraction-Preservation Strategies for RNA Using Biobased Ionic Liquids. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 7, n. 10, p. 9439–9448, 2019.

QUENTAL, M. V et al. Enhanced extraction of proteins using cholinium-based ionic liquids as phase-forming components of aqueous biphasic systems. **Biotechnology Journal**, v. 10, n. 9, p. 1457–1466, 2015.

QUISPE-CONDORI, S. et al. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 36, n. 1, p. 40–48, 2005.

RASOOL, A. A.; HUSSAIN, A. A.; DITTERT, L. W. Solubility enhancement of some water-insoluble drugs in the presence of nicotinamide and related compounds. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 4, p. 387–393, 1991.

ROGERS, R. D.; SEDDON, K. R. Ionic Liquids - Solvents of the Future? **Science**, v. 302, n. 5646, p. 792–793, 2003.

RUSSO, J. W.; HOFFMANN, M. M. Measurements of surface tension and chemical shift on several binary mixtures of water and ionic liquids and their comparison for assessing aggregation. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 56, n. 9, p. 3703–3710, 2011.

SAHOO, N. G. et al. Solubility Enhancement of a Poorly Water-Soluble Anti-Malarial Drug: Experimental Design and Use of a Modified Multifluid Nozzle Pilot Spray Drier. **Online**, v. 98, n. 4, p. 281–294, 2009.

SAHOO, N. G. et al. Dissolution enhancement of a poorly water-soluble antimalarial drug by means of a modified multi-fluid nozzle pilot spray drier. **Materials Science and Engineering C**, v. 31, n. 2, p. 391–399, 2011.

- SALES, I. et al. Enhancing Artemisinin Solubility in Aqueous Solutions: Searching for Hydrotropes based on Ionic Liquids. **Fluid Phase Equilibria**, v. 534, p. 112961, 2021.
- SANGHVI, R.; EVANS, D.; YALKOWSKY, S. H. Stacking complexation by nicotinamide: A useful way of enhancing drug solubility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 336, n. 1, p. 35–41, 2007.
- SANTOS, J. I. . B et al. Environmental safety of cholinium-based ionic liquids: assessing structure-ecotoxicity relationships. **Green Chemistry**, v. 17, n. 9, p. 4657–4668, 2015.
- SCHMID, G.; HOFHEINZ, W. Total Synthesis of Qinghaosu. **Journal of the American Chemical Society**, v. 105, n. 3, p. 624–625, 1983.
- SCHNEIDER, H. et al. Hydrogen Bond Donation Properties of Organic Solvents and Their Aqueous Mixtures from <sup>13</sup>C NMR Data of Pyridine-N-Oxide. **Zeitschrift fur Physikalische Chemie**, v. 177, n. Part\_2, p. 143–156, 1992.
- SHAHZAD, Y. et al. Effects of drug-polymer dispersions on solubility and in vitro diffusion of artemisinin across a polydimethylsiloxane membrane. **Chinese Science Bulletin**, v. 57, n. 14, p. 1685–1692, 21 maio 2012.
- SHIMIZU, S.; BOON, C. L. The Kirkwood-Buff theory and the effect of cosolvents on biochemical reactions. **Journal of Chemical Physics**, v. 121, n. 18, p. 9147–9155, 2004.
- SHIMIZU, S.; MATUBAYASI, N. Hydrotropy: Monomer-micelle equilibrium and minimum hydrotrope concentration. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 35, p. 10515–10524, 2014.
- SHIMIZU, S.; MATUBAYASI, N. The origin of cooperative solubilisation by hydrotropes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 18, n. 36, p. 25621–25628, 2016.
- SILVA, E. D. O. et al. Box-behnken experimental design for extraction of artemisinin from artemisia annua and validation of the assay method. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, n. 4, p. 519–524, 2017.
- SINTRA, T. E. et al. Enhancing the antioxidant characteristics of phenolic acids by their conversion into cholinium salts. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 3, n. 10, p. 2558–2565, 2015.
- SINTRA, T. E. et al. Ecotoxicological evaluation of magnetic ionic liquids.

**Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 143, n. November 2016, p. 315–321, 2017.

SINTRA, T. E. et al. Enhanced dissolution of ibuprofen using ionic liquids as cationic hydrotropes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 20, n. 3, p. 2094–2103, 2018.

SINTRA, T. E. et al. Cholinium-based ionic liquids as bioinspired hydrotropes to tackle solubility challenges in drug formulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 164, n. April, p. 86–92, 2021.

SOARES, B. P. et al. Glycerol Ethers as Hydrotropes and Their Use to Enhance the Solubility of Phenolic Acids in Water. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 14, p. 5742–5749, 13 abr. 2020.

SOKTOEVA, T. E. et al. Artemisinin content in *Artemisia annua* L. extracts obtained by different methods. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 39, n. 7, p. 761–764, 2013.

SOUZA, R. L. et al. Extração com solventes não convencionais. In: LIMA, Á. S.; SANTANA, C. C. (Eds.). **Processos de extração e purificação de biomoléculas**. [s.l.] EDUNIT, 2017.

SUZUKI, H.; SUNADA, H. Mechanistic studies on hydrotropic solubilization of nifedipine in nicotinamide solution. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, n. 1, p. 125–130, 1998.

TELES, A. R. R. et al. Solvatochromic parameters of deep eutectic solvents formed by ammonium-based salts and carboxylic acids. **Fluid Phase Equilibria**, v. 448, p. 15–21, 2017.

TIAN, H.; BERTON, P.; ROGERS, R. D. Choline-based aqueous biphasic systems: Overview of applications. **Fluid Phase Equilibria**, v. 502, p. 112258, 2019.

TRIVEDI, S. et al. Temperature-dependent solvatochromic probe behavior within ionic liquids and (ionic liquid + water) mixtures. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 24, p. 8118–8125, 2010.

TZENG, T. C. et al. Ethanol modified supercritical fluids extraction of scopoletin and artemisinin from *Artemisia annua* L. **Separation and Purification Technology**, v. 56, n. 1, p. 18–24, 2007.

USUDA, M. et al. Interaction of antimalarial agent artemisinin with cyclodextrins. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 613–619, 2000.

VENTURA, S. P. M. et al. Ionic-liquid-based aqueous biphasic systems with controlled pH: The ionic liquid anion Effect. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 57, n. 2, p. 507–512, 2012a.

VENTURA, S. P. M. et al. Toxicity assessment of various ionic liquid families towards *Vibrio fischeri* marine bacteria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, n. 1, p. 162–168, 2012b.

VENTURA, S. P. M. et al. Designing ionic liquids: The chemical structure role in the toxicity. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 1, p. 1–12, 2013.

VENTURA, S. P. M. et al. Ecotoxicity analysis of cholinium-based ionic liquids to *Vibrio fischeri* marine bacteria. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 102, n. 1, p. 48–54, 2014.

VLAHAKIS, J. Z. et al. Anti-Plasmodium activity of imidazolium and triazolium salts. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 16, p. 6184–6196, 2010.

WAGLE, V. B.; KOTHARI, P. S.; GAIKAR, V. G. Effect of temperature on aggregation behavior of aqueous solutions of sodium cumene sulfonate. **Journal of Molecular Liquids**, v. 133, n. 1–3, p. 68–76, 2007.

WANG, L. H. et al. Solubility of artemisinin in ethanol + water from (278.2 to 343.2) K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 52, n. 3, p. 757–758, 2007.

WANG, R. et al. Phase behavior of aqueous biphasic systems composed of novel choline amino acid ionic liquids and salts. **Journal of Molecular Liquids**, v. 222, p. 836–844, 2016a.

WANG, R. et al. Applications of choline amino acid ionic liquid in extraction and separation of flavonoids and pectin from ponkan peels. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, v. 51, n. 7, p. 1093–1102, 2016b.

WHO. **World Malaria Report 2020**. [s.l: s.n.]. v. 73

WU, X. et al. Sequential extraction of hemicelluloses and lignin for wood fractionation using acid hydrotrope at mild conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 145, n.

November 2019, p. 112086, 2020.

XIA, Y. J.; ZENG, J. L.; ZHAO, B. Extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. with 1-ethyl-3-methylimidazolium bromide enhanced by ultrasonic wave. **Guocheng Gongcheng Xuebao/The Chinese Journal of Process Engineering**, v. 8, n. 4, p. 774–778, 2008.

YIN, T.; CHEN, Y.; SHEN, W. Aggregation of an ionic-liquid type hydrotrope 1-Butyl-3-methylimidazolium p-toluenesulfonate in aqueous solution. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 564, n. December 2018, p. 95–100, 2019.

YUE, W.; MO, L.; ZHANG, J. Reproductive toxicities of 1-ethyl-3-methylimidazolium bromide on *Caenorhabditis elegans* with oscillation between inhibition and stimulation over generations. **Science of the Total Environment**, v. 765, p. 144334, 2021.

ZHANG, Y. et al. Ultrasonic assisted extraction of artemisinin from: *Artemisia Annua* L. using monoether-based solvents. **Green Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 713–723, 2018.

ZIME-DIAWARA, H. et al. The antimalarial action of aqueous and hydro alcoholic extracts of *Artemisia annua* L. cultivated in Benin : In vitro and in vivo studies. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 8, p. 817–823, 2015.

# Apêndices

## A. Propriedades dos compostos utilizados no desenvolvimento experimental.

**Tabela A 1.** Identificação, CAS, fornecedor e pureza dos reagentes químicos usados neste trabalho.

<b>Composto</b>	<b>CAS</b>	<b>Fornecedor</b>	<b>Pureza (%)</b>
Tiocianato de 1-butil-3-metilimidazólio [C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][SCN]	344790-87-0	Iolitec	99
Tosilato de 1-butil-3-metilimidazólio [C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][TOS]	410522-18-8	Iolitec	99
Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio [C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][Cl]	79917-90-1	Iolitec	99
Dicianamida de 1-butil-3-metilimidazólio [C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][N(CN) <sub>2</sub> ]	448245-52-1	Iolitec	99
Cloreto de tetrabutílfosfônio [P <sub>4,4,4,4</sub> ][Cl]	2304-30-5	Sigma	99
Cloreto de tetrabutílamônio [N <sub>4,4,4,4</sub> ][Cl]	1112-67-0	Sigma	99
Galato de colina [Chol][Gal]		Sintetizado nesse trabalho	
Salicilato de colina [Chol][Sal]		Sintetizado nesse trabalho	
Vanilato de colina [Chol][Van]		Sintetizado nesse trabalho	
Salicilato de sódio Na[Sal]	54-21-7	Sigma	99.5
Tiocianato de sódio Na[SCN]	540-72-7	Fluka	98

Dicianamida de sódio <b>Na[N(CN<sub>2</sub>)]</b>	1934-75-4	Sigma	98
Bicarbonato de colina	78-73-9	Sigma	80% em água
Ácido gálico	149-91-7	Merck	99.5
Ácido Salicílico	69-72-7	Acofarma	99
Ácido vanílico	121-34-6	Acros Organics	97
Acetato de etila	141-78-6	VWR Chemicals	99
Metanol	67-56-1	Fisher Scientific	HPLC grade
Acetonitrila	75-05-8	Fisher Scientific	99
Acetona	67-64-1	VWR Chemicals	99
Etanol	64-17-5	Fisher Scientific	98
Etileno glicol	107-21-1	Fluka	99
Polietileno glicol 400 <b>PEG 400</b>	25322-68-3	Acros Organics	99
Diclorometano	75-09-2	Fisher Scientific	99.9
Éter de petróleo	8032-32-4	Panreac	PA
Artemisinina <b>ART</b>	63968-64-9	Kang Biothec	99

## B. Síntese e caracterização de líquidos iônicos à base de colina

Galato de colina, [Chol][Gal] – sólido branco (99% de pureza)

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7.08 (s, 2H, H-2 e H-6), 4.01 (ddd,  $J = 6.8, 5.3, 2.8$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.47 – 3.39 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.13 (s, 9H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  174.63 (s,  $\text{COO}$ ), 144.28 (s, C-3 e C-5), 135.61 (s, C-4), 127.95 (s, C-1), 109.31 (s, C-2 e C-6), 67.25 (s,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 55.45 (s,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 53.84 – 53.47 (m,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ).

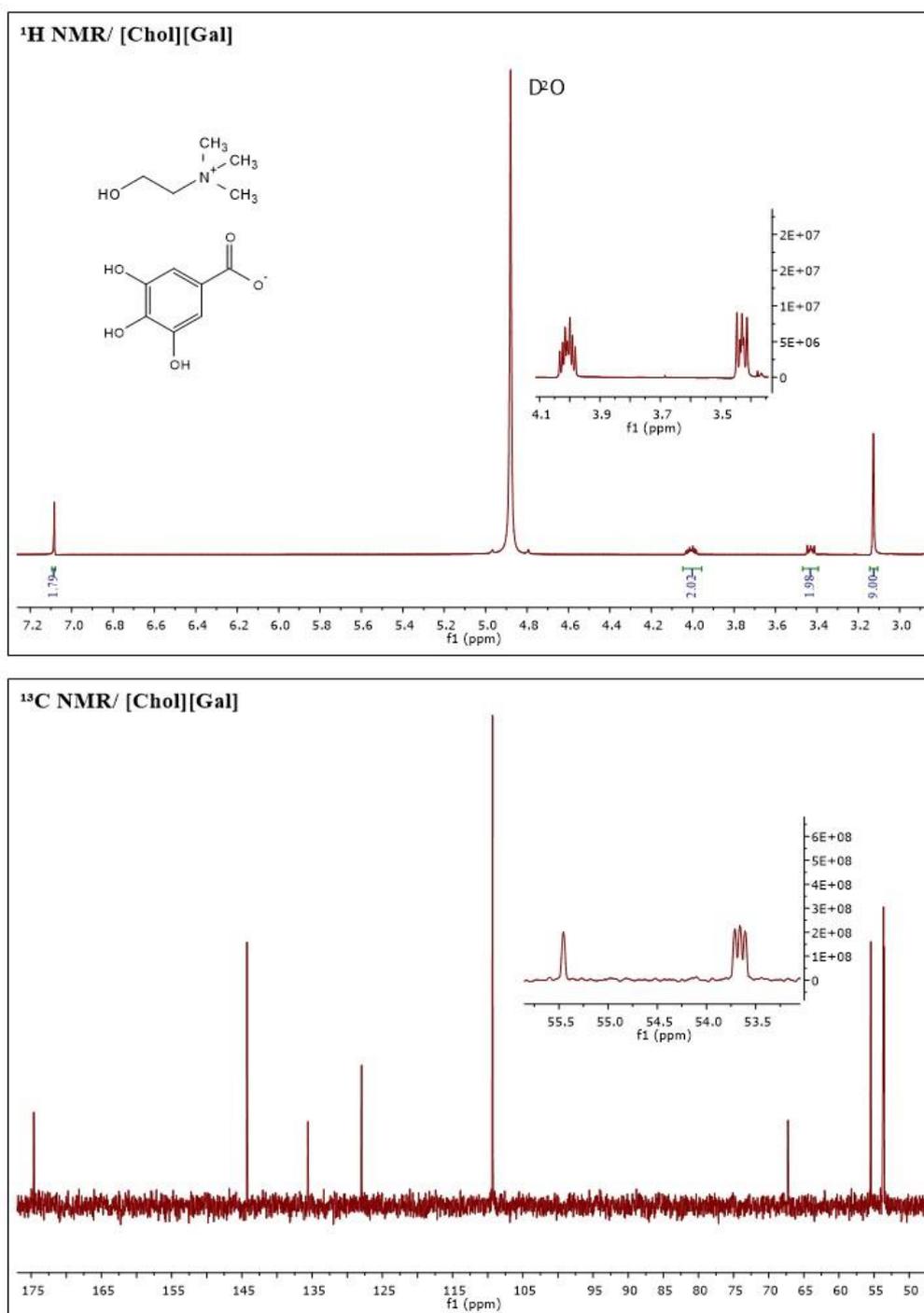
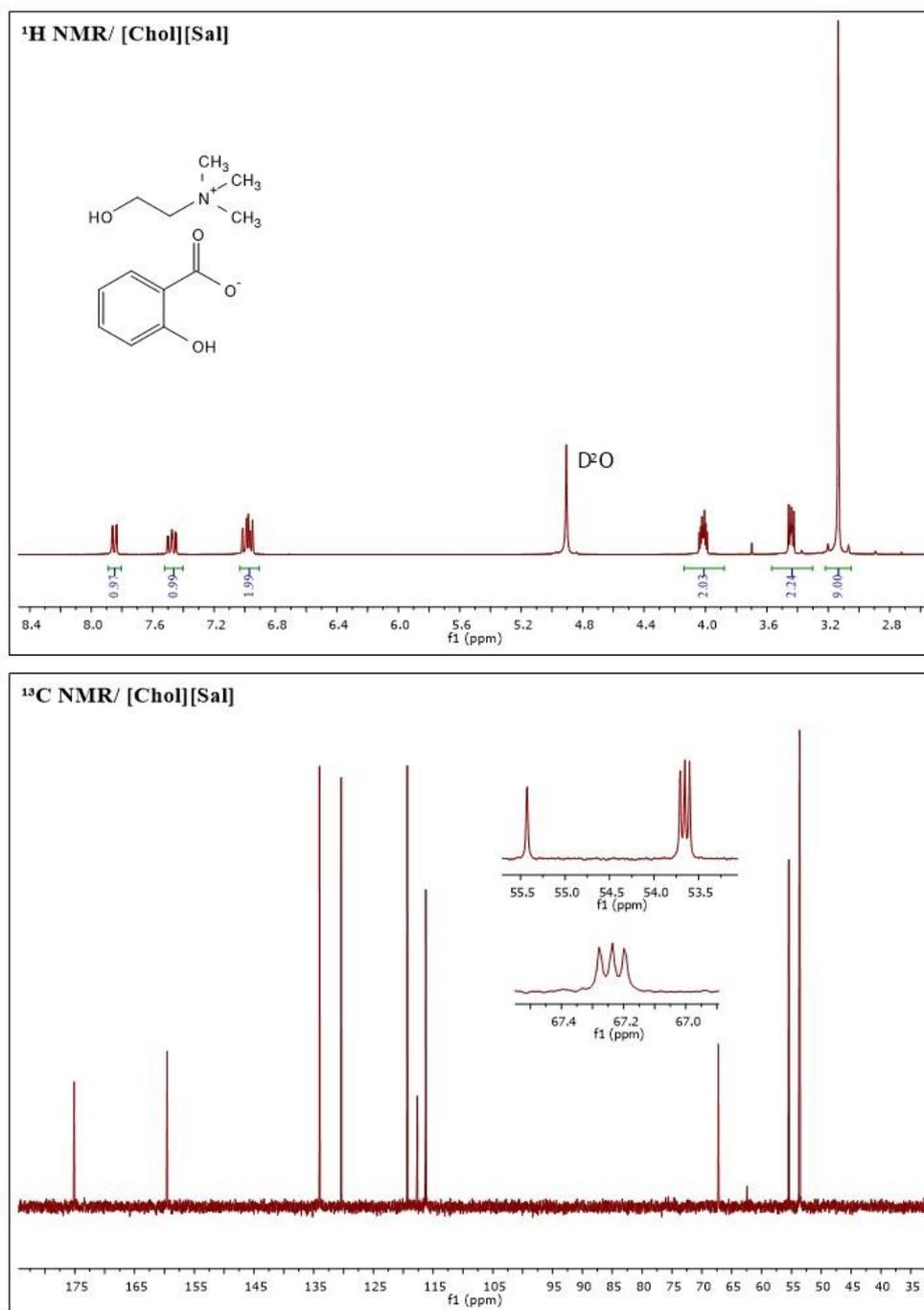


Figura B.1.  $^1\text{H}$ -NMR e  $^{13}\text{C}$ -NMR do [Chol][Gal].

Salicilato de colina, [Chol][Sal] – líquido levemente amarelado, viscoso (98% de pureza).  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7.89 – 7.80 (m, 1H, H-6), 7.47 (ddd,  $J = 8.2, 7.3, 1.8$  Hz, 1H, H-4), 6.98 (tdd,  $J = 6.0, 4.9, 2.3$  Hz, 2H, H-3 e H-5), 4.03 (tdd,  $J = 6.8, 6.3, 3.7$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.57 – 3.30 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.14 (s, 9H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  175.13 (s,  $\text{C}=\text{O}$ ), 159.56 (s,  $\text{C}-\text{OH}$ ), 134.03 (s, C-4), 130.40 (s, C-6), 119.33 (s,  $\text{C}-\text{COO}$ ), 117.67 (s, C-5), 116.24 (s, C-3), 67.46 – 67.06 (m  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 55.43 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 53.89 – 53.47 (m,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ).



**Figura B.1.**  $^1\text{H}$ -NMR e  $^{13}\text{C}$ -NMR do [Chol][Sal].

Vanilato de colina, [Chol][Van] – sólido marrom (99% de pureza).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  7.53 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H, H-2), 7.46 (dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, 1H, H-6), 6.99 – 6.90 (m, 1H, H-5), 4.12 – 3.98 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.48 (dd,  $J = 5.9, 4.0$  Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 3.17 (s, 9H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  174.93 (s, C=O), 147.76 (s, C-OH-4), 146.66 (s, C=OCH<sub>3</sub>-3), 128.59 (s, C=COO-1), 123.02 (s, C-6), 114.70 (s, C-5), 112.99 (s, C-2), 67.30 (s, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 55.61 (d,  $J = 18.3$  Hz, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH), 55.51 (OCH<sub>3</sub>), 53.92 – 53.55 (m, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

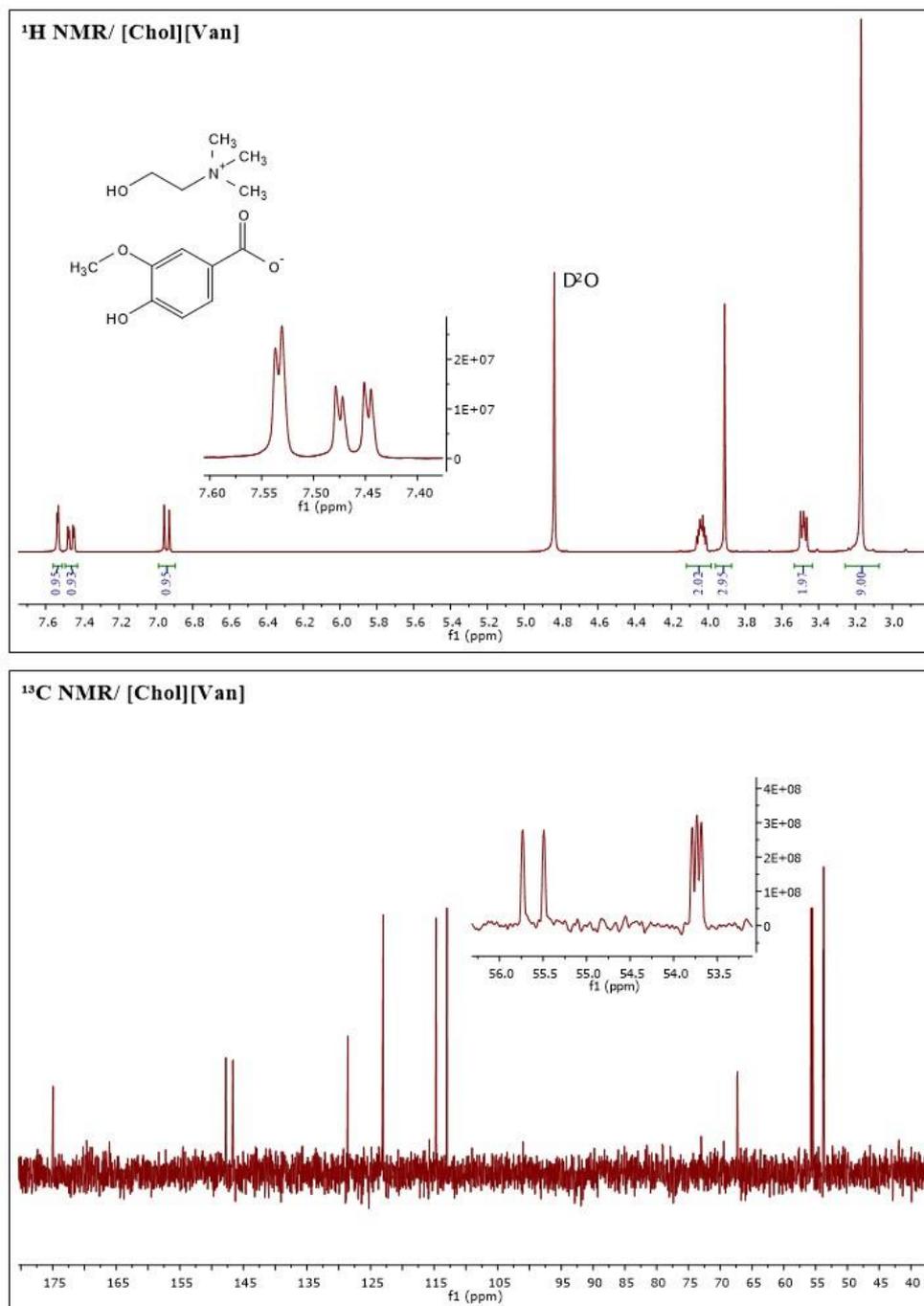
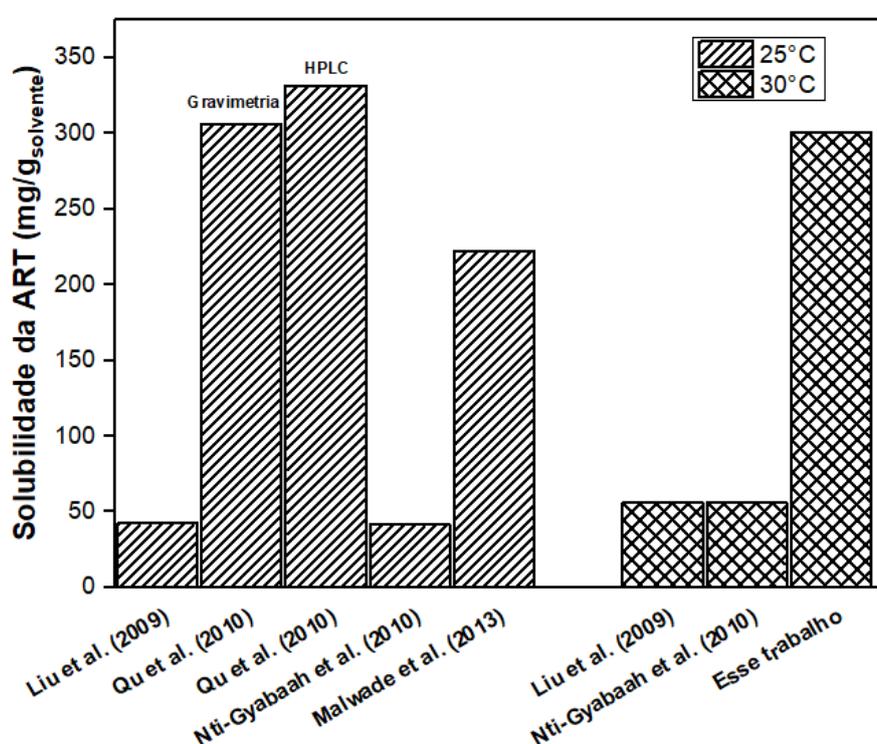


Figura B.2.  $^1\text{H}$ -NMR e  $^{13}\text{C}$ -NMR do [Chol][Van].

### C. Dados experimentais de solubilidade

**Tabela C 1.** Solubilidade de artemisinina (ART) e desvio padrão em solventes convencionais puros e misturas aquosas a 30 °C.

Solvente:água (v/v)	Solubilidade da ART (mg/L) *10 <sup>-3</sup>			
	Etilenoglicol	PEG400	Etanol	Acetona
<b>100:0</b>	4,452 ± 0,164	27,499 ± 0,495	38,236 ± 2,100	237,843 ± 42,930
<b>50:50</b>	0,242 ± 0,006	0,709 ± 0,039	3,986 ± 0,042	7,239 ± 0,003



**Figura C.1.** Comparação de dados de solubilidade de ART em acetona a 25 e 30°C.

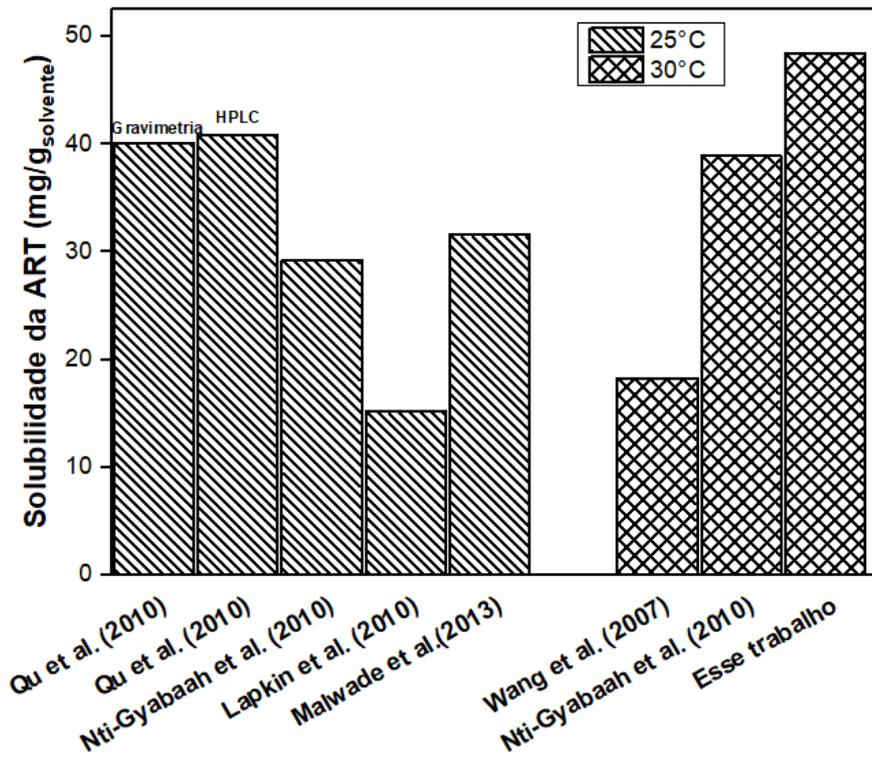


Figura C.2. Comparação de dados de solubilidade da ART em etanol a 25 e 30°C.

**Tabela C 2.** Solubilidade da artemisinina (ART) e desvio padrão em soluções aquosas de hidrótropos a 30°C.

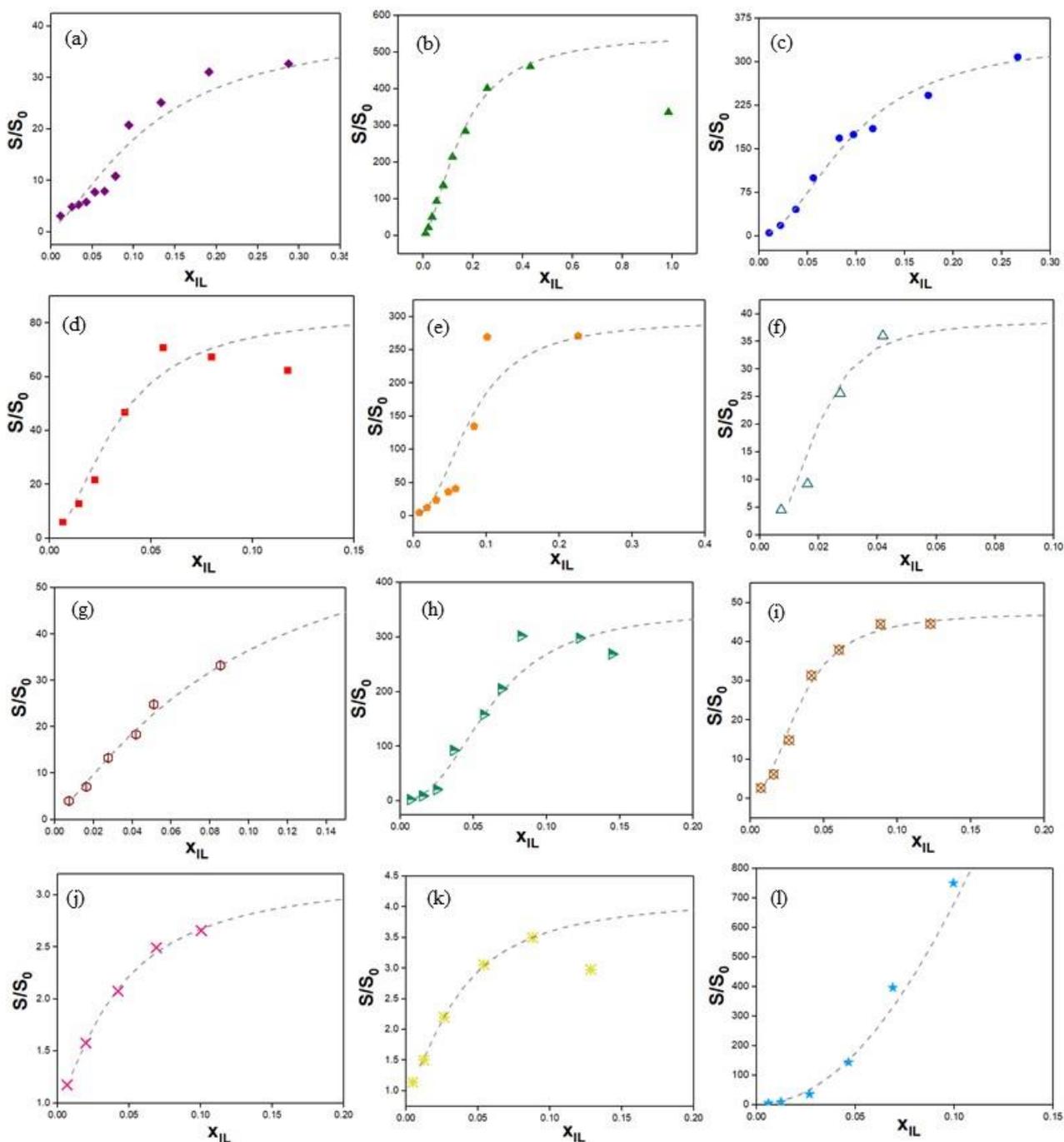
Hidrótropos	Fração mássica	Solubilidade da ART	
		(mg/L) ± $\sigma$	S/S <sub>0</sub>
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ]Cl	0,100	190,109 ± 3,844	3,075
	0,201	299,494 ± 3,381	4,844
	0,250	326,244 ± 44,700	5,276
	0,301	357,459 ± 37,375	5,781
	0,352	476,240 ± 28,601	7,702
	0,402	488,552 ± 2,668	7,902
	0,451	670,276 ± 104,457	10,841
	0,502	1284,295 ± 72,280	20,771
	0,598	1555,167 ± 79,026	25,152
	0,696	1923,222 ± 85,739	31,105
	0,796	2019,412 ± 16,260	32,661
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][N(CN) <sub>2</sub> ]	0,101	360,612 ± 2,501	5,832
	0,199	1298,876 ± 55,895	21,007
	0,299	3097,722 ± 29,575	50,101
	0,395	5760,567 ± 365,767	93,168
	0,502	8457,814 ± 1093,365	136,791
	0,605	13242,919 ± 890,431	214,183
	0,700	17594,587 ± 656,735	284,564
	0,799	24825,922 ± 2493,801	401,519
	0,898	28495,650 ± 195,884	460,871
	1,000	20774,594 ± 2386,041	335,995
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][SCN]	0,103	326,651 ± 3,742	5,283
	0,197	1115,137 ± 28,183	18,036
	0,301	2813,469 ± 32,538	45,503
	0,394	6179,586 ± 269,163	99,945
	0,497	10418,759 ± 403,110	168,507
	0,542	10804,994 ± 55,328	174,753
	0,593	11430,772 ± 443,866	184,874
	0,699	14988,066 ± 1327,442	242,408

	0,800	19084,822 ± 1263,014	308,666
	0,100	371,440 ± 10,084	6,007
	0,199	789,256 ± 8,249	12,765
	0,280	1339,609 ± 26,372	21,666
<b>[C<sub>4</sub>C<sub>1im</sub>][TOS]</b>	0,397	2876,068 ± 278,869	46,516
	0,505	4349,128 ± 62,348	70,340
	0,599	4144,780 ± 111,557	67,035
	0,696	3832,581 ± 376,886	61,986
	0,099	289,423 ± 5,041	4,681
	0,202	751,081 ± 20,142	12,148
	0,301	1465,968 ± 13,175	23,710
<b>[Chol][Sal]</b>	0,402	2226,105 ± 13,018	36,004
	0,450	2520,695 ± 121,250	40,768
	0,549	8338,126 ± 18,449	134,856
	0,602	16658,520 ± 1661,490	269,425
	0,797	16755,570 ± 1557,480	270,994
	0,100	277,323 ± 4,740	4,485
	0,200	568,299 ± 28,280	9,191
	0,299	1583,610 ± 77,420	25,612
<b>[Chol][Gal]</b>	0,399	2226,287 ± 101,809	36,007
	0,445	1167,811 ± 16,424	18,887
	0,497	663,056 ± 6,816	10,724
	0,565	681,925 ± 17,740	11,029
	0,099	248,115 ± 2,900	4,013
	0,199	436,727 ± 7,129	7,063
<b>[Chol][Van]</b>	0,299	822,033 ± 16,411	13,295
	0,397	1134,671 ± 27,101	18,351
	0,448	1535,111 ± 12,365	24,828
	0,585	2055,774 ± 48,601	33,249
	0,101	153,931 ± 0,986	2,490
<b>[P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	0,294	1304,236 ± 23,392	21,094
	0,202	572,736 ± 33,944	9,263
	0,382	5725,620 ± 213,426	92,603

	0,497	9765,519± 408,784	157,941
	0,549	12708,255 ± 445,147	205,535
	0,596	18669,953 ± 1738,644	301,956
	0,696	18441,866 ± 1053,105	298,267
	0,735	16634,802 ± 392,535	269,041
	0,099	151,557 ± 7,776	2,451
	0,198	367,744 ± 8,236	5,948
	0,294	913,101 ± 40,445	14,768
<b>[N<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	0,401	1947,625 ± 132,582	31,500
	0,498	2337,228 ± 84,436	37,801
	0,600	2750,279 ± 16,279	44,481
	0,683	2754,054 ± 271,515	44,542
	0,018	72,705 ± 1,626	1,176
	0,050	97,412 ± 5,120	1,575
<b>Na[N(CN)<sub>2</sub>]</b>	0,099	128,240 ± 7,440	2,074
	0,149	154,160 ± 5,320	2,493
	0,198	164,210 ± 3,685	2,656
	0,020	70,392 ± 2,919	1,138
	0,053	92,776 ± 5,661	1,500
<b>Na[SCN]</b>	0,109	136,085 ± 4,535	2,201
	0,204	189,072 ± 8,407	3,058
	0,302	216,413 ± 9,637	3,500
	0,399	184,115 ± 5,086	2,978
	0,051	267,444 ± 2,465	4,325
	0,100	553,094 ± 9,630	8,945
<b>Na[Sal]</b>	0,196	2187,754 ± 34,073	35,383
	0,302	8870,420 ± 372,642	143,465
	0,397	24517,330 ± 590,720	396,528
	0,497	46417,860 ± 416,940	750,734

**Tabela C 3.** Parâmetros do modelo de hidrotropia cooperativa para a solubilidade da ART em soluções de hidrótropos.

<b>Hidrótropo</b>	<b>m</b>	<b>b</b>	<b>(S/S<sub>0</sub>)<sub>max</sub></b>
[C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im]Cl	1,509	3,202	40,410
[C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im][N(CN) <sub>2</sub> ]	1,664	3,097	554,782
[C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im][SCN]	1,961	4,593	342,498
[C <sub>4</sub> C <sub>1</sub> im][TOS]	1,849	6,316	84,030
[Chol][Sal]	2,281	5,947	294,389
[Chol][Gal]	5,099	21,442	38,350
[Chol][Van]	1,006	0,145	393,027
[P <sub>4,4,4,4</sub> ]Cl	2,503	6,962	349,891
[N <sub>4,4,4,4</sub> ]Cl	2,296	7,784	47,549
Na[N(CN) <sub>2</sub> ]	1,328	4,189	3,211
Na[SCN]	1,486	4,905	4,189
Na[Sal]	2,027	1,896	11443,294



**Figura C.3.** Dados experimentais de solubilidade para (a)  $[C_4C_{1im}]Cl$ ; (b)  $[C_4C_{1im}][N(CN)_2]$ ; (c)  $[C_4C_{1im}][SCN]$ ; (d)  $[C_4C_{1im}][TOS]$ ; (e)  $[Chol][Sal]$ ; (f)  $[Chol][Gal]$ ; (g)  $[Chol][Van]$ ; (h)  $[P_{4,4,4,4}]Cl$ ; (i)  $[N_{4,4,4,4}]Cl$ ; (j)  $Na[N(CN)_2]$ ; (k)  $Na[SCN]$ ; (l)  $Na[Sal]$  ajustados utilizando o modelo de hidrotropia cooperativa (linhas tracejadas).

#### D. Dados experimentais dos parâmetros solvatocrômicos

**Tabela D 1.** Parâmetros solvatocrômicos para as soluções aquosas de hidrótropos a 25°C.

Hidrótropos	Fração mássica	$\alpha$	$\beta$	$\pi^*$
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ]Cl	0,045	1,358	0,197 ± 0,019	1,289 ± 0,005
	0,087	1,361	0,247 ± 0,006	1,296 ± 0,005
	0,133	1,348	0,274 ± 0,011	1,298 ± 0,004
	0,173	1,339	0,301 ± 0,010	1,298 ± 0,005
	0,347	1,286	0,398 ± 0,009	1,300 ± 0,001
	0,516	1,202	0,457 ± 0,024	1,257 ± 0,008
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][[N(CN <sub>2</sub> )]	0,0517	1,363	0,211 ± 0,007	1,289 ± 0,005
	0,1029	1,333	0,273 ± 0,008	1,281 ± 0,005
	0,1554	1,324	0,310 ± 0,021	1,264 ± 0,013
	0,2059	1,294	0,330 ± 0,024	1,250 ± 0,008
	0,4094	1,221	0,382 ± 0,007	1,210 ± 0,004
	0,6107	1,120	0,425 ± 0,009	1,165 ± 0,001
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][SCN]	0,049	1,362	0,195 ± 0,011	1,289 ± 0,005
	0,099	1,338	0,218 ± 0,021	1,292 ± 0,007
	0,149	1,336	0,239 ± 0,013	1,287 ± 0,005
	0,199	1,324	0,265 ± 0,003	1,280 ± 0,005
	0,394	1,254	0,283 ± 0,024	1,250 ± 0,012
	0,588	1,152	0,303 ± 0,019	1,183 ± 0,001
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][TOS]	0,077	1,383	0,199 ± 0,007	1,331 ± 0,005
	0,153	1,393	0,261 ± 0,015	1,333 ± 0,016
	0,232	1,400	0,367 ± 0,007	1,288 ± 0,006
	0,309	1,400	0,400 ± 0,009	1,267 ± 0,001
	0,621	1,397	0,527 ± 0,042	1,152 ± 0,018
	0,913	1,352	0,696 ± 0,029	1,030 ± 0,006
[Chol][Sal]	0,061	1,223	0,146 ± 0,012	1,338 ± 0,006
	0,121	1,213	0,139 ± 0,004	1,374 ± 0,011
	0,181	1,174	0,136 ± 0,001	1,374 ± 0,011
	0,243	1,107	0,142 ± 0,001	1,382 ± 0,001
	0,482	1,112	0,239 ± 0,036	1,347 ± 0,009
	0,724	1,494	0,353 ± 0,001	1,217 ± 0,001

	0,076	1,371	0,255 ± 0,017	1,329 ± 0,006
	0,152	1,347	0,349 ± 0,013	1,338 ± 0,017
	0,220	1,320	0,424 ± 0,001	1,284 ± 0,001
<b>[P<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	0,244	1,288	0,465 ± 0,023	1,254 ± 0,042
	0,443	0,703	0,963 ± 0,001	1,039 ± 0,001
	0,588	1,206	0,588 ± 0,009	1,157 ± 0,001
	0,874	1,125	0,687 ± 0,027	1,122 ± 0,006
	0,071	1,195	0,230 ± 0,030	1,317 ± 0,001
	0,141	1,192	0,335 ± 0,001	1,333 ± 0,023
<b>[N<sub>4,4,4,4</sub>]Cl</b>	0,212	1,168	0,394 ± 0,001	1,317 ± 0,001
	0,283	1,130	0,462 ± 0,001	1,284 ± 0,001
	0,556	0,942	0,622 ± 0,008	1,183 ± 0,001
	0,792	0,616	0,876 ± 0,001	1,087 ± 0,006
	0,022	1,367	0,157 ± 0,011	1,296 ± 0,006
	0,045	1,361	0,139 ± 0,018	1,317 ± 0,001
<b>Na[N(CN)<sub>2</sub>]</b>	0,065	1,360	0,150 ± 0,012	1,325 ± 0,012
	0,084	1,359	0,130 ± 0,013	1,350 ± 0,001
	0,170	1,351	0,097 ± 0,007	1,403 ± 0,006
	0,023	1,371	0,136 ± 0,003	1,300 ± 0,001
	0,042	1,372	0,140 ± 0,007	1,288 ± 0,041
<b>Na[SCN]</b>	0,060	1,375	0,129 ± 0,000	1,325 ± 0,012
	0,080	1,375	0,118 ± 0,011	1,358 ± 0,012
	0,160	1,379	0,098 ± 0,002	1,415 ± 0,001
	0,239	1,377	0,046 ± 0,000	1,478 ± 0,001
	0,040	1,366	0,106 ± 0,019	1,362 ± 0,006
	0,080	1,367	0,090 ± 0,027	1,407 ± 0,011
<b>Na[Sal]</b>	0,120	1,356	0,093 ± 0,009	1,454 ± 0,011
	0,160	1,341	0,102 ± 0,018	1,466 ± 0,006
	0,321	1,307	0,127 ± 0,027	1,502 ± 0,022
	0,478	1,264	0,220 ± 0,012	1,466 ± 0,017

## E. COSMO-RS

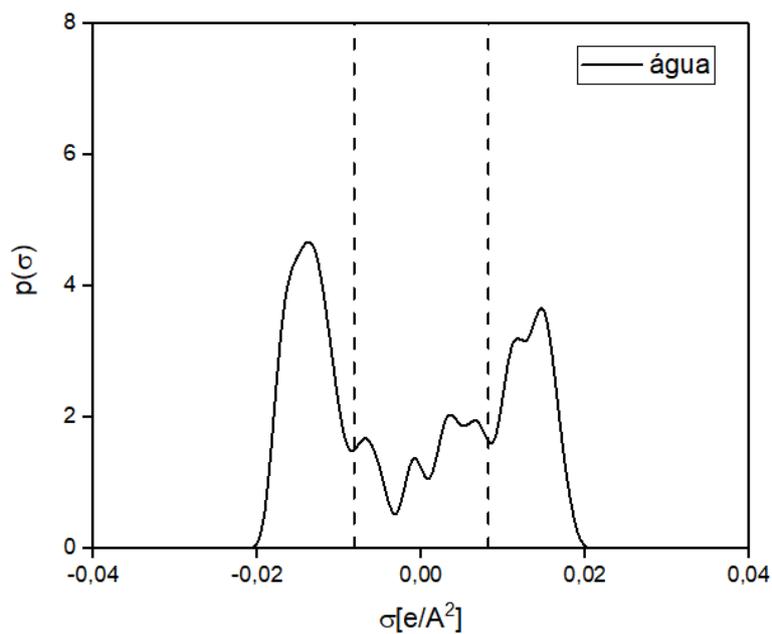


Figura E. 1. Perfil sigma da água.

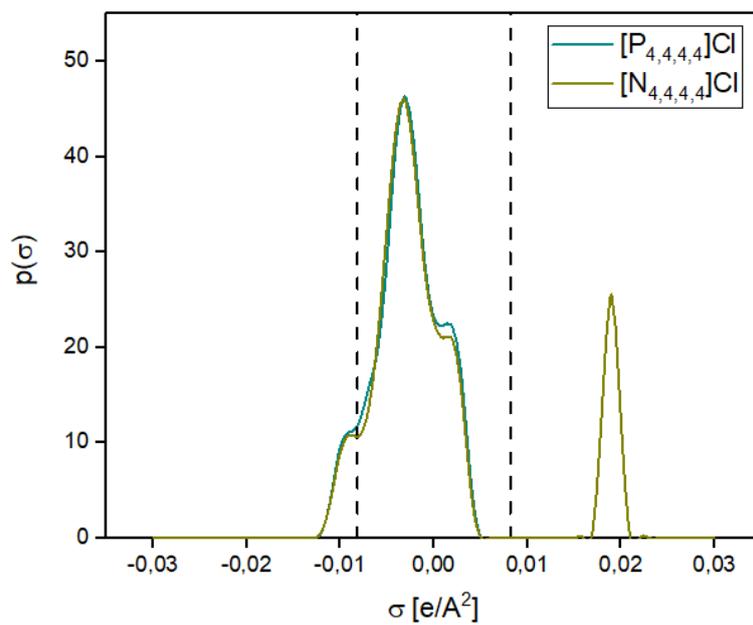


Figura E. 2. Perfil sigma para os LIs baseados em Cl.

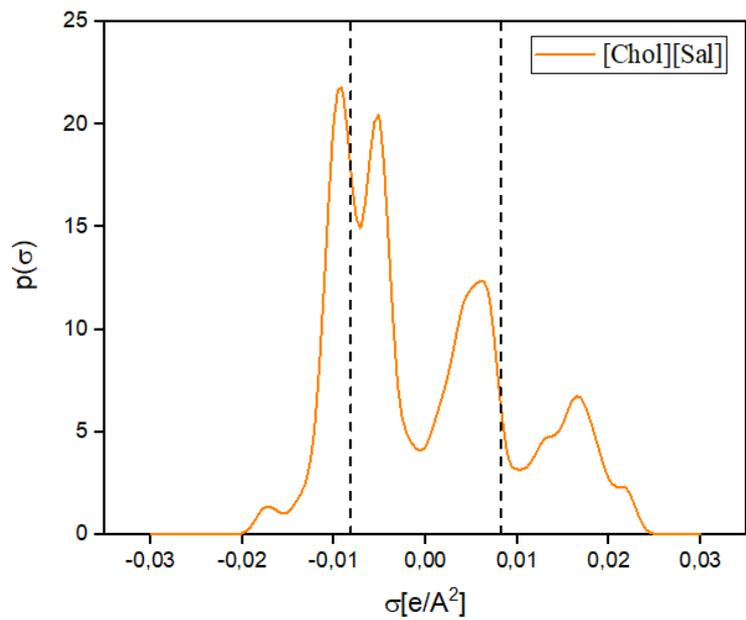


Figura E. 3. Perfil sigma do [Chol][Sal].

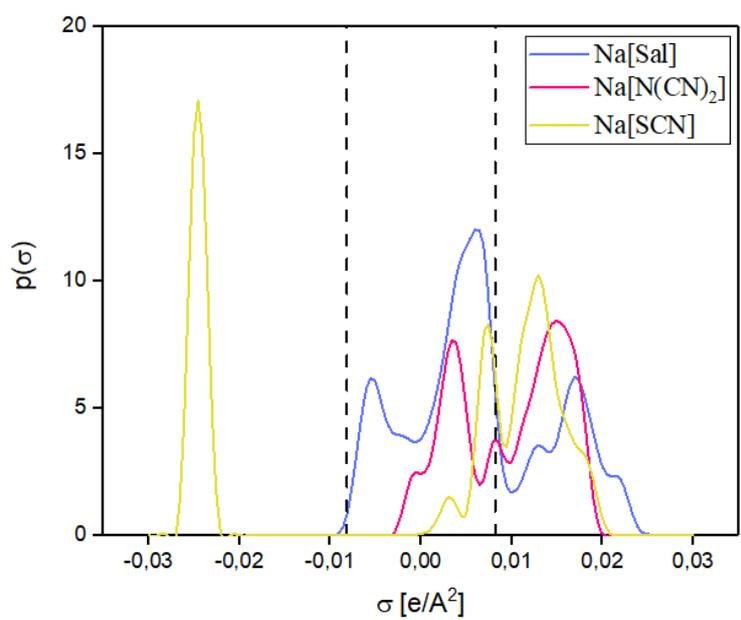


Figura E. 4. Perfis sigma para os sais.

## F. Extração da ART utilizando soluções aquosas de hidrótropos

Tabela F 1. Rendimento de extração (%m/m) da ART  $\pm \sigma$  com soluções aquosas de hidrótropos a 30°C e 90 min.

Hidrótropo	Concentração (mol/kg <sub>solução</sub> )	
	2.00	3.00
Na[Sal]	0,56 $\pm$ 0,05	0,64 $\pm$ 0,07
[P <sub>4,4,4,4</sub> ]Cl	0,29 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,11
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][[N(CN <sub>2</sub> )]	0,57 $\pm$ 0,02	0,63 $\pm$ 0,01
[C <sub>4</sub> C <sub>1im</sub> ][SCN]	0,58 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,01
[Chol][Sal]	0,55 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,03

## G. Metodologia de superfície de resposta

**Tabela G 1.** Planejamento fatorial  $2^3$ .

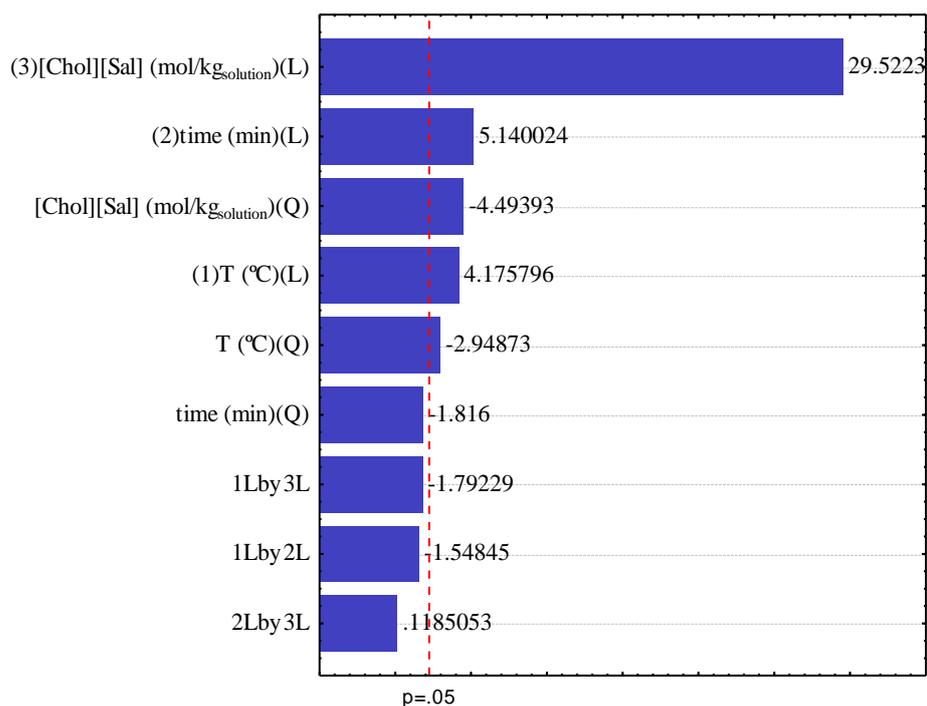
	<b>X<sub>1</sub></b>	<b>X<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>
<b>1</b>	-1	-1	-1
<b>2</b>	1	-1	-1
<b>3</b>	-1	1	-1
<b>4</b>	1	1	-1
<b>5</b>	-1	-1	1
<b>6</b>	1	-1	1
<b>7</b>	-1	1	1
<b>8</b>	1	1	1
<b>9</b>	-1,68	0	0
<b>10</b>	1,68	0	0
<b>11</b>	0	-1,68	0
<b>12</b>	0	1,68	0
<b>13</b>	0	0	-1,68
<b>14</b>	0	0	1,68
<b>15</b>	0	0	0
<b>16</b>	0	0	0
<b>17</b>	0	0	0
<b>18</b>	0	0	0
<b>19</b>	0	0	0
<b>20</b>	0	0	0

**Tabela G 2.** Níveis codificados das variáveis independentes usadas no planejamento fatorial.

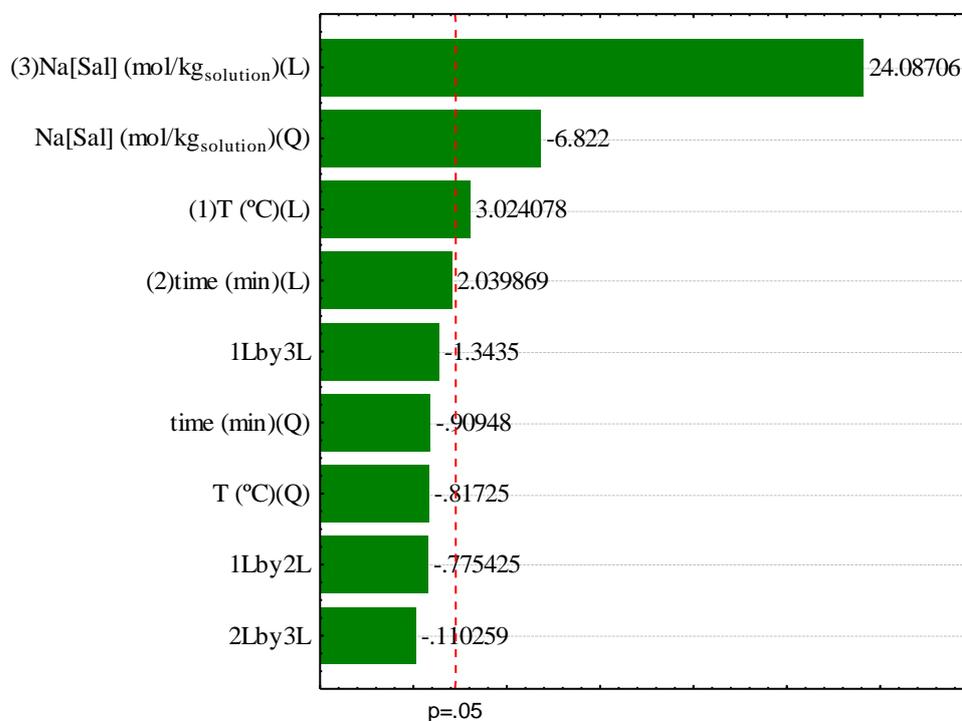
	<b>-1,682</b>	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1,68</b>
<b>Temperatura (T, °C)</b>	21,54	27,00	35,00	43,00	48,44
<b>Extração time (t, min)</b>	29,54	50,00	80,00	110,00	130,40
<b>Concentração (C, mol/kg<sub>solução</sub>)</b>	0,12	0,60	1,30	2,00	2,48

**Tabela G 3.** Resultados experimentais nas diversas condições avaliadas.

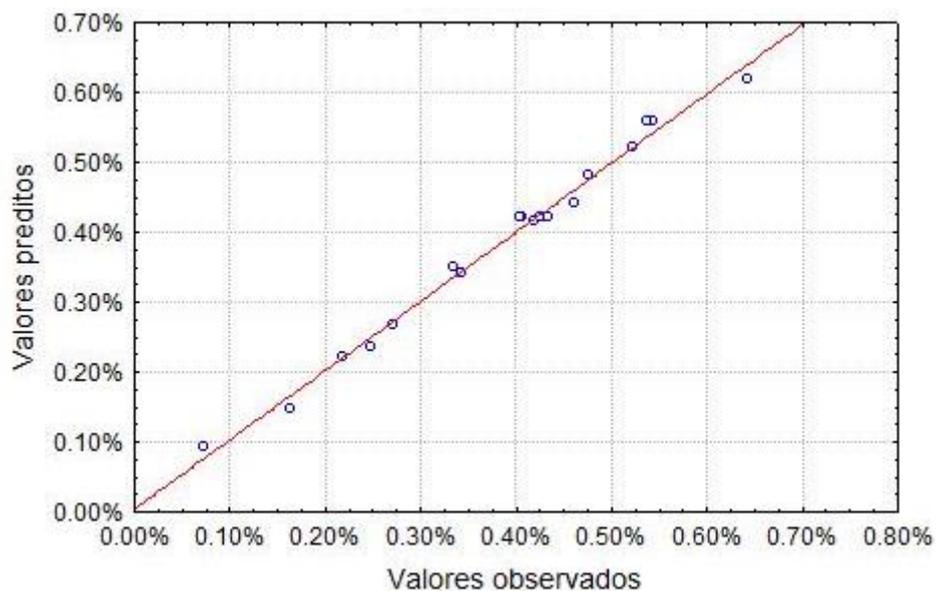
Experimento	T (°C)	t (min)	C (mol/kg <sub>solução</sub> )	Rendimento de extração (wt,%)	
				Na[Sal]	[Chol][Sal]
1	27,00	50,00	0,60	0,19	0,16
2	43,00	50,00	0,60	0,29	0,25
3	27,00	110,00	0,60	0,24	0,22
4	43,00	110,00	0,60	0,31	0,27
5	27,00	50,00	2,00	0,55	0,48
6	43,00	50,00	2,00	0,59	0,52
7	27,00	110,00	2,00	0,58	0,54
8	43,00	110,00	2,00	0,61	0,54
9	21,54	80,00	1,30	0,48	0,34
10	48,44	80,00	1,30	0,51	0,42
11	35,00	29,54	1,30	0,47	0,33
12	35,00	130,40	1,30	0,52	0,46
13	35,00	80,00	0,12	0,07	0,07
14	35,00	80,00	2,48	0,68	0,64
15	35,00	80,00	1,30	0,48	0,43
16	35,00	80,00	1,30	0,51	0,43
17	35,00	80,00	1,30	0,47	0,41
18	35,00	80,00	1,30	0,50	0,40
19	35,00	80,00	1,30	0,50	0,43
20	35,00	80,00	1,30	0,48	0,42



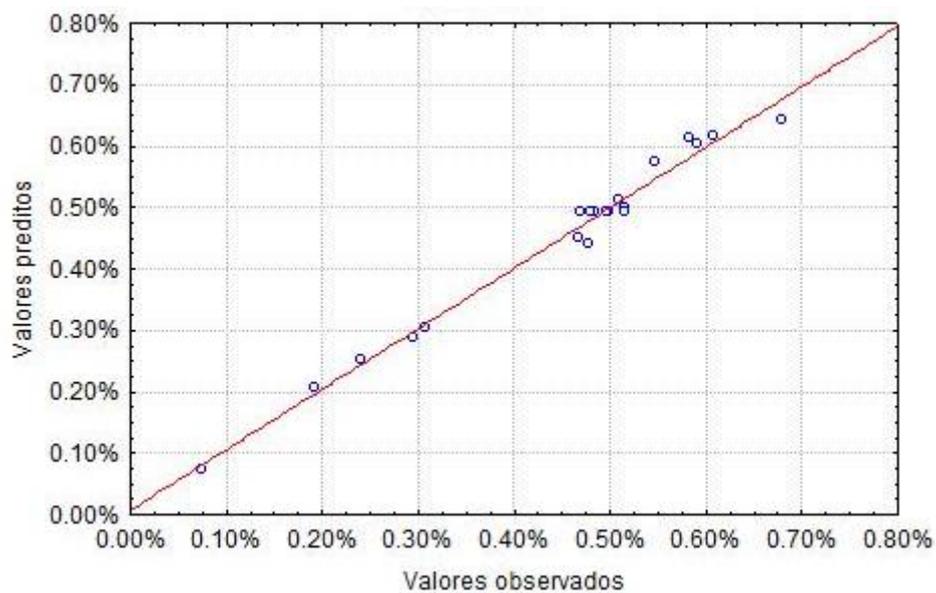
**Figura G.1.** Gráfico de Pareto para os principais efeitos padronizados no planejamento fatorial para o rendimento de extração de artemisinina com soluções de [Chol][Sal]. A linha vertical indica a significância estatística dos vários efeitos.



**Figura G.2.** Gráfico de Pareto para os principais efeitos padronizados no planejamento fatorial para o rendimento de extração de artemisinina com soluções de Na[Sal]. A linha vertical indica a significância estatística dos vários efeitos.



**Figura G.3.** Relação entre os valores de rendimento de extração observados e preditos pelo planejamento para o [Chol][Sal].



**Figura G.4.** Relação entre os valores de rendimento de extração observados e preditos pelo planejamento para o Na[Sal].