

FORMULACIONES FARMACEÚTICAS EUTÉCTICAS: PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN

Trabajo de fin de grado

NURIA PADILLA APUNTATE

Junio, 2019, Zaragoza

Directora Dra. Manuela Artal

Departamento de Química Física

Resumen

Debido a la reciente preocupación por el medio ambiente, surge la búsqueda de nuevos disolventes ecológicos, entre los que destacan los disolventes eutécticos profundos (DESS). La formación de estos disolventes no requiere reacción química lo que implica bajo coste, eficiencia total y nulos residuos. Además, sus componentes, generalmente, presentan baja toxicidad. Un DES es una mezcla de dos o más componentes que forman un líquido de temperatura de fusión inferior a la que tendría la mezcla si fuera ideal. Se han encontrado múltiples aplicaciones para estos disolventes siendo la farmacológica, en la que se centra este trabajo. Recientemente, se ha observado que los DESS son un vehículo adecuado para fármacos con principios activos (APIs) escasamente solubles en medio acuoso. Permiten preparar formulaciones líquidas de elevada concentración con propiedades modificables. Cuando los DESS contienen en su composición algún API, se les conoce como disolventes eutécticos profundos terapéuticos, THEDESs. En este trabajo se preparan dos THEDESs de composición: Timol:alcanfor (1:1) y mentol:alcanfor (2:1). Ambos son estudiados mediante espectroscopia RMN y caracterizados físico-químicamente midiendo diferentes propiedades termofísicas (densidad, velocidad del sonido, índice de refracción, tensión y viscosidad). Finalmente se evalúa la capacidad de ambos THEDES para disolver lidocaína, un API de especial interés en mezclas líquidas usadas para anestesia.

Abstract

Due to the increasing concern with the environment, new ecological solvents are sought-after. Among these solvents, deep eutectic solvents (DESS) stand out. These solvents are formed without chemical reaction, implying low cost, total efficiency, and no residues. Moreover, the DES's components usually have low toxicity. DES is a mixture of two or more components which form a liquid with a less melting temperature than they would have if they are an ideal mixture. Multiple applications have been found for these solvents. This project focuses on the pharmacological application. Recently, it has been observed that DESS are a suitable vehicle for drugs with active principles (APIs) that are very poorly soluble in an aqueous medium. They allow us to prepare liquid formulations of high concentration with modifiable properties. DESS that contain some API in their composition are called therapeutic deep eutectic system (THEDES). Two THEDES are prepared in this project composed of : Thymol:camphor (1:1) and menthol:camphor (2:1). Both of them have been characterized by determining their structure through NMR and by measuring different thermophysical properties (density, sound velocity, refractive index, tension and viscosity). Lastly, the capacity of both THEDES to dissolve lidocaine is evaluated.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	5
3.1 <i>Compuestos</i>	5
3.2 <i>Preparación de los THEDESs</i>	5
3.3 <i>Estudio estructural</i>	6
3.4 <i>Caracterización termofísica</i>	6
3.5 <i>Determinación de la solubilidad</i>	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4.1 <i>Estudio estructural</i>	8
4.1.1 <i>Timol:alcanfor (1:1), TC</i>	9
4.1.2 <i>Mentol:alcanfor (2:1), M2C</i>	9
4.2 <i>Estudio termofísico</i>	11
4.3 <i>Estudio de la solubilidad</i>	18
4.3.1 <i>Solubilidad en agua</i>	19
4.3.2 <i>Solubilidad en la mezcla TC</i>	19
4.3.3 <i>Solubilidad en la mezcla M2C</i>	20
5. CONCLUSIONES.....	21
6. BIBLIOGRAFÍA.....	21

1 INTRODUCCIÓN

Como solución a varias problemáticas actuales relacionadas con el medioambiente, la búsqueda de disolventes alternativos sostenibles es uno de los objetivos de la llamada química verde¹ o “Green chemistry”, definida por la US Environmental Protection Agency (EPA), como –“la rama de la química que estudia el diseño de productos químicos que reduzcan o eliminen el uso de sustancias peligrosas”. La química verde se basa en 12 principios, siendo el número 5 el que hace alusión a los disolventes indicando que se debe reducir o eliminar el uso de disolventes en los laboratorios químicos siempre que no sean imprescindibles o el reemplazo de éstos por otros que sean lo más inocuos posibles. Para considerar un disolvente como verde se valora tanto su nivel de toxicidad como los impactos derivados de su síntesis, uso y eliminación. Los líquidos iónicos² parecían una buena alternativa (cuentan con baja volatilidad, alta estabilidad física y química, son reutilizables y eventualmente fáciles de manipular) sin embargo, presentan algunos inconvenientes como el elevado coste y la toxicidad inherente de algunos de sus compuestos. Otros disolventes ecológicos son los fluidos supercríticos pero éstos necesitan condiciones de presión y temperatura que en ocasiones no son factibles.

A principios del siglo XXI surge una familia de nuevos disolventes, los llamados disolventes eutécticos profundos (Deep Eutectic Solvents, DESs). Los DES tienen una síntesis fácil y barata, sus componentes son abundantes en la naturaleza y biodegradables, y por lo general son poco tóxicos. Otras características importantes son su gran versatilidad y que no reaccionan con agua.

Lo primero que deberíamos destacar al hablar de los DES³ es que no son compuestos nuevos ni pseudo puros, sino mezclas. Su preparación no se lleva a cabo a través de una reacción química, por lo que se trata de un proceso 100% eficiente y sin residuos. Esta es la principal diferencia respecto a los líquidos iónicos, con los que frecuentemente se les confunde.

Un DES se puede definir como una mezcla de dos o más compuestos que siendo sólidos a temperatura ambiente, al combinarse en determinadas proporciones presentan una temperatura de transición sólido-líquido inferior a la de la mezcla si se comportase de manera ideal. Se llama punto eutéctico al mínimo en el diagrama de fases SL (Fig. 1). Por tanto, los DESs presentan desviaciones negativas significativas de la idealidad ($\Delta T_2 > 0$). La disminución de la temperatura debe definirse como la diferencia entre el punto eutéctico ideal y el real, $\Delta T_2 = T_{E,ideal} - T_E$, y no como la diferencia entre la combinación lineal de los puntos de fusión de los compuestos puros y el punto eutéctico real, $\Delta T_1 = (T_{m,1} + T_{m,2}/2) - T_E$. Así, la magnitud de ΔT_2 permite establecer comparaciones entre las intensidades de las interacciones presentes en una mezcla debidas a la aparición de interacciones específicas entre los componentes.

La mayoría de los DESs estudiados hasta el momento son hidrofílicos. En ellos, las interacciones principales son puentes de hidrógeno establecidos entre uno de los compuestos (o varios) que actúa como donador (HBD) y otro (u otros) como aceptor (HBA). Las mezclas estudiadas en este trabajo, sin embargo, son hidrofóbicas. Como se verá más adelante, en este caso las interacciones por puente de hidrógeno pierden importancia.

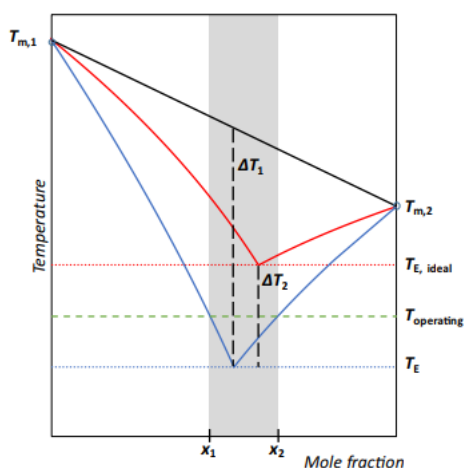


Figura 1. Representación esquemática de la comparación del equilibrio sólido - líquido de una mezcla eutéctica ideal simple (línea roja) y una mezcla eutéctica profunda (línea azul).

En la bibliografía, el estudio de estos disolventes no se restringe únicamente a la composición del punto eutéctico sino en el rango de composiciones donde la mezcla es líquida a la temperatura de interés; en la Figura 1 se corresponde con la zona sombreada, desde x_1 hasta x_2 . La mayoría de los trabajos publicados hasta ahora se han centrado en sus aplicaciones: catálisis enzimática, purificación molecular, electroquímica, procesos biocatalíticos, producción de zeolitas, como agentes de extracción (cafeína, triptófano, ácido isoftálico, vanilina..), como agentes antibacterianos y disolventes farmacológicos.⁴ Sin embargo, existe poca información acerca de sus propiedades químico-físicas a pesar de que se pueden preparar DESs idóneos para cada aplicación eligiendo los componentes apropiados (modificando la composición se modifican las interacciones que son las que marcan las propiedades de los DES⁵).

La creciente preocupación por el cuidado de la salud en todo el mundo es el motor para buscar nuevas formulaciones farmacéuticas. Se buscan nuevos dispositivos de administración de medicamentos más efectivos y adecuados para el paciente. Se ha visto que los DESs son un vehículo adecuado de fármacos sobre todo con principios activos (APIs) escasamente solubles en medio acuoso. Utilizados como disolventes mejoran la biodisponibilidad (solubilidad, permeabilidad y absorción) del API. Además, hay DES que contienen en su composición uno o varios APIs; en este caso, las mezclas se denominan eutécticos profundos terapéuticos (THEDES) y permiten preparar formulaciones líquidas de elevada concentración.

El conocimiento de sus propiedades (densidad, viscosidad o tensión superficial óptimos) es esencial para el diseño eficiente del producto final así como para la mejor comprensión de las interacciones presentes.⁶

Los APIs incluidos en este trabajo son: Timol (Fig. 2a) y mentol (Fig. 2b), alcoholes cíclicos usados habitualmente como excipientes con propiedades antisépticas; y alcanfor (Fig. 2c), terpenoide con acción antiséptica, antipruriginosa y expectorante. Los tres componentes son ya utilizados en formulaciones sólidas comerciales, siendo el vicsvaporub (Fig. 3a) la más conocida. Además, la lidocaína (Fig. 2d) es una aminoamida poco soluble en agua usada como antiarrítmico, analgésico (odontología, anestesia epidural, ...) y antiepiléptico. Su mezcla equimolar con prilocaína fue el primer THEDES comercial, EMLA (Fig. 3b); sin embargo, los efectos secundarios de la prilocaína hacen necesario su sustitución.

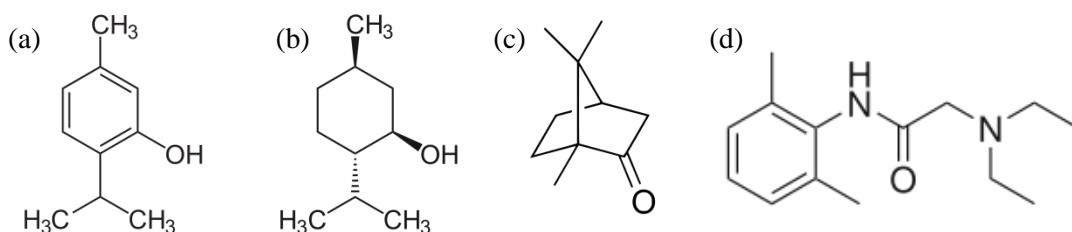


Figura 2. Estructuras de los compuestos utilizados a lo largo del trabajo. (a) Timol. (b) Mentol. (c) Alcanfor. (d) Lidocaína.



Figura 3. Productos comerciales elaborados con los compuestos utilizados en este trabajo.

Este trabajo puede dividirse en 2 partes. En la primera, se recoge el estudio estructural con técnicas espectroscópicas (RMN) y la medida de propiedades termofísicas (densidad, velocidad del sonido, índice de refracción, tensión superficial y viscosidad cinemática) de dos disolventes eutécticos terapéuticos (THEDESs): timol+alcanfor (1:1, mol), y mentol+alcanfor (2:1, mol);

TC y M2C, respectivamente. En la segunda parte, se estudia la solubilidad de la lidocaína tanto en agua como en los disolventes estudiados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos académicos:

Los objetivos académicos para este trabajo de fin de grado son:

- Planificar el trabajo en el laboratorio optimizando tanto el tiempo como los recursos.
- Controlar el funcionamiento de los equipos utilizados para realizar las medidas de las propiedades termofísicas.
- Aplicar los conocimientos adquiridos a lo largo de mi formación académica.
- Aprender a analizar de manera crítica los distintos datos experimentales relacionándolos con la estructura de los disolventes correspondientes.
- Buscar y analizar bibliografía para su incorporación tanto a la introducción del trabajo como a las conclusiones.

2.2 Objetivos científicos:

Los objetivos científicos más destacables en este trabajo son:

- Preparación de dos disolventes eutécticos terapéuticos (THEDESs) atendiendo a sus características y utilidades.
- Caracterización estructural de ambos THEDESs mediante espectroscopia RMN.
- Caracterización termofísica de cada mezcla eutéctica mediante la determinación de diferentes propiedades, así como el cálculo de propiedades derivadas.
- Determinación de la solubilidad de lidocaína en agua y en ambos THEDESs para la obtención de una formulación líquida muy concentrada en dicho API.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Compuestos

Las características de todos los compuestos utilizados en este trabajo se recogen en la Tabla 1. Los compuestos utilizados para la preparación de los THEDESs (timol, mentol, y alcanfor) y la lidocaína utilizada para el estudio de la solubilidad provienen de la casa comercial Sigma-Aldrich y cuentan con una pureza superior al 98% por lo que con ninguno de ellos se hizo una purificación adicional. Para el estudio de solubilidad, además de lidocaína se utilizó agua mili-Q de resistividad inferior a $18,2 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ y etanol para realizar las correspondientes disoluciones.

Tabla 1. Características de los compuestos utilizados.

Producto	Casa comercial	Purificación	Pureza	Masa molar/ $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	CAS No
Alcanfor	Sigma-Aldrich	No	>0,98	152,23	464-49-3
Timol	Sigma-Aldrich	No	>0,99	150,22	89-83-8
Mentol	Sigma-Aldrich	No	>0,99	156,27	89-78-1
Lidocaína	Sigma-Aldrich	No	>0,98	234,34	137-58-6

3.2 Preparación de los THEDESs

La preparación de las mezclas eutécticas se llevó a cabo utilizando en ambos casos el mismo método. Para cada mezcla, se pesaron los componentes en la proporción adecuada utilizando una balanza (*Sartorius BP210S*) cuya incertidumbre es de 0,1 mg. Posteriormente, se introdujo el matraz en un baño de silicona con agitación continua y a una temperatura aproximada de 70°C para evitar posibles descomposiciones térmicas. Al cabo de unos 10-15 minutos se observó la formación de un líquido homogéneo (Fig. 4) que se dejó atemperar suavemente. Cabe destacar que en el caso de la mezcla timol:alcanfor, durante la adición del segundo componente en la balanza ya se pudo observar una interfase líquida. En la Tabla 2 se recogen las características de ambos THEDESs.

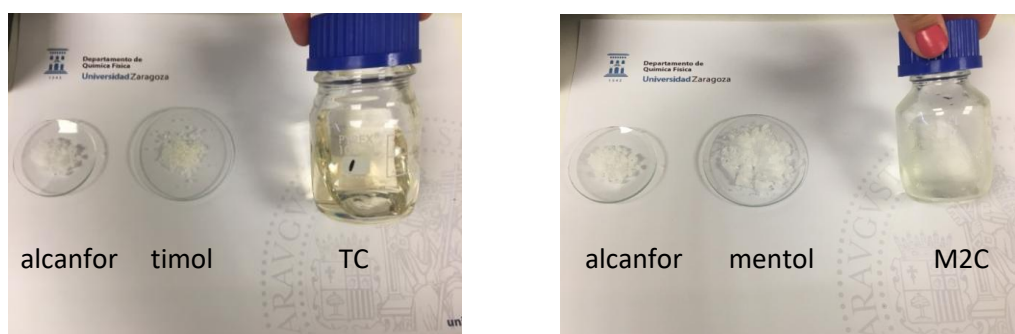


Figura 4. Formación de los THEDESs.

Tabla 2. Características de los THEDESS estudiados: acrónimos utilizados en este trabajo, composición, y masa molar calculada, M .

DES	HBD	HBA	Relación molar	M^a /g·mol ⁻¹
TC	Timol	Alcanfor	1:1	151,23
M2C	Mentol	Alcanfor	2:1	152,92

^a Calculada a partir de la relación molar, $M = \sum_i M_i x_i$.

3.3 Estudio estructural.

Se utilizaron diferentes técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear, a 298 K, para estudiar las mezclas preparadas en el apartado 3.2. Para el ¹H-RMN se utilizó un espectrofotómetro Bruker AVANCE de 400 MHz con una anchura espectral de 16 ppm, centrado a 5 ppm, y con un tiempo de relajación de 30 s; se llevaron a cabo 8 escaneos. Para el espectro de ¹³C se usó un Bruker APT con una anchura espectral de 240 ppm, centrado a 110 ppm, y con un tiempo de relajación de 2 s; se llevaron a cabo 256 escaneos. Además, con el objetivo de poder establecer el tipo de interacciones establecidas entre los componentes de la mezcla, se usó la técnica bidimensional NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) con un ancho espectral de 4 ppm, centrada a 4 ppm, y 8 escaneos por cada experimento. El tiempo de mezcla ha sido ajustado para cada caso.

Nota: Aunque yo he realizado la asignación y discusión de señales, la determinación de los espectros la llevó a cabo el Dr. Delso del Servicio de Resonancia Magnética Nuclear (CEQMA, CSIC-UZ). Por ello, le agradezco su colaboración.

3.4 Caracterización termofísica.

La densidad, ρ , y la velocidad del sonido, u , se han obtenido de forma simultánea con un densímetro de tubo vibrante Anton Paar DSA 5000 que incluye un analizador de sonido que opera a 3 MHz. La termostatación se realiza con un dispositivo Peltier que mantiene la temperatura con una precisión de ± 0.005 K. El calibrado se realizó utilizando aire y agua ultrapura suministrada por SH Calibration Service GmbH. Los índices de refracción se han medido a la longitud de onda de la línea D del sodio (589.3 nm), n_D , con un refractómetro Abbemat-HP Dr. Kernchen calibrado con agua Milli-Q. La precisión en la temperatura fue de ± 0.01 K. Por otro lado, se utilizó un tensiómetro Lauda TVT-2 que contiene un termostato Lauda E-200 ($u(T) = \pm 0.01$ K) para la medida de la tensión superficial, γ . Por último, la viscosidad cinemática, ν , se ha determinado con un viscosímetro capilar Ubbelohde de diámetro interno adecuado para los líquidos estudiados ($k=0,02904$ u.). La temperatura se ha controlado con un termostato Schoot-Geräte CT 1150/2 y la medida del tiempo de caída se ha recogido con una

unidad automatizada Schoot-Geräte AVS-440. Las incertidumbres estándar en la temperatura y el tiempo de flujo son: ± 0.01 K y ± 0.01 s. A partir de los datos de densidad y viscosidad cinemática se calcula la viscosidad dinámica: $\eta = \rho \cdot \nu$.

Las incertidumbres combinadas expandidas ($k \approx 2$)⁷ para las diferentes propiedades medidas son: $U_c(\rho) = 0.05$ kg·m⁻³; $U_c(u) = 0.5$ m·s⁻¹; $U_c(n_D)=10^{-5}$; $U_c(\gamma)=1\%$; $U_c(\nu)=1\%$. Por otro lado, estos aparatos han sido chequeados recientemente con ciclohexano (>99.5 %) obteniendo unas desviaciones medias relativas eq. (1) respecto a datos de la literatura, $MRD(\rho) = 0.02\%$, $MRD(u) = 0.9\%$, $MRD(n_D) = 0.02\%$, $MRD(\eta) = 0.99\%$.

$$MRD(Y) = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{Y_i - Y_{i,exp}}{Y_{i,exp}} \right| \quad (1)$$

Donde Y_i y $Y_{i,exp}$ son los valores de la literatura y experimentales, respectivamente, para la propiedad Y ; y n es el número de puntos.

Una descripción más detallada del procedimiento se encuentra en el Anexo.

3.5 Determinación de la solubilidad

La medida de la solubilidad de lidocaína se ha llevado a cabo mediante el método de sobresaturación. Se utilizó un sistema de 3 vasos con agitación continua y doble pared por la que se hizo pasar agua a 298,15 K con la ayuda de un baño termostatzado. En el vaso 1, se añadió el THEDES TC; en el vaso 2, el THEDES M2C; y en el vaso 3, se puso agua Milli-Q, como se puede ver en la foto adjunta en la Figura 5. Poco a poco se fue adicionando lidocaína con una espátula a cada uno de los vasos hasta conseguir su sobresaturación; se consideró que el sistema estaba sobresaturado cuando la lidocaína sólida quedó en suspensión en el seno del líquido durante unas 12 horas. El proceso de adición de lidocaína fue muy diferente en cada disolvente. En el agua se consiguió una rápida saturación, mientras que para ambos THEDESs se necesitaron 2 días con adiciones continuas de lidocaína. Cabe resaltar el aumento considerable de volumen que se experimentó en estos últimos. De cada uno de estos vasos se tomaron, en pequeños tubitos eppendorf, las diferentes alícuotas que pasaron primero por un centrifugador (5 minutos a 12000 revoluciones/min) con el objetivo de que la lidocaína se depositase,

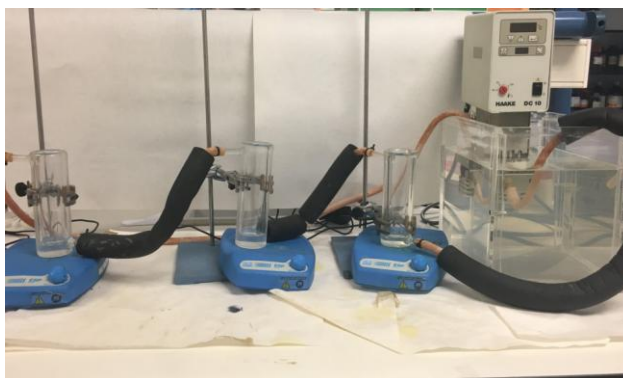


Figura 5 Montaje para la determinación de la solubilidad de la lidocaína.

y posteriormente por un filtro de jeringa PES de 0,22 μm de tamaño de poro. La medida de la concentración de lidocaína en agua se realizó por triplicado usando espectroscopia de absorción VIS-UVA a una longitud de onda de 264 nm (longitud de onda de absorción máxima para la lidocaína, $\lambda_{m\acute{a}x}$). La recta de calibrado necesaria (Fig. 6) se preparó disolviendo lidocaína en etanol a diferentes concentraciones conocidas y determinando la absorbancia a $\lambda_{m\acute{a}x}$. Para la recta de calibrado se hallaron tanto el límite de detección (mínima concentración del analito detectable por el método) como el de cuantificación (concentración más pequeña que puede ser determinada con un nivel de exactitud y precisión aceptables), comprobando así que la concentración de lidocaína en el agua se puede medir por este método. El límite de detección, LD, (ecuación 2), nos da un valor de $3,75 \cdot 10^{-6}$ $\text{g}_{\text{lidocaína}}/\text{g}_{\text{agua}}$, mientras que el límite de cuantificación, LC, (ecuación 3) es $1,25 \cdot 10^{-5}$ $\text{g}_{\text{lidocaína}}/\text{g}_{\text{agua}}$.

$$LD = \frac{x+3S}{m} \quad (2)$$

$$LC = \frac{x+10S}{m} \quad (3)$$

Siendo m la pendiente de la recta, x la media del blanco y s la desviación del blanco.

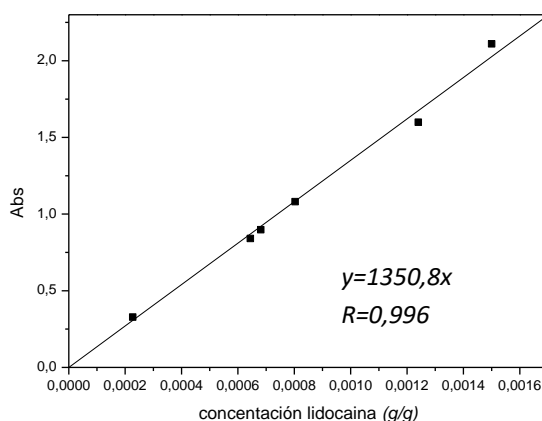


Figura 6 Recta de calibrado de lidocaína en etanol.

Debido a que el mentol y el timol también absorben a la misma longitud de onda que la lidocaína, la determinación de la solubilidad en ambos THEDESs se realizó mediante la integración de los espectros RMN correspondientes.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Estudio estructural

Las mezclas eutécticas preparadas en este trabajo han sido analizadas a 298,15 K mediante diferentes técnicas de espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear. Con los espectros

monodimensionales ^1H y ^{13}C y el bidimensional HSQC hemos podido identificar los átomos presentes en la mezcla, adjuntados en el anexo, mientras que con el espectro de 2D-NOESY hemos evaluado las interacciones establecidas entre ellos. De este modo, podremos deducir la existencia o no de una estructura supramolecular en los correspondientes THEDES.

4.1.1 *Timol:alcanfor (1:1), TC*

En la Figura A5 del anexo se encuentran los espectros ^{13}C -RMN y ^1H -RMN, donde se puede ver la asignación a cada pico su átomo correspondiente, con lo que podemos deducir que no ha existido ninguna reacción, puesto que los átomos siguen igual que los compuestos puros. Si se puede apreciar en el caso del ^{13}C -RMN una diferencia en el desplazamiento químico de los átomos, lo que nos indica que el entorno químico si se ha visto alterado. En la Figura 7 se muestra el NOESY de la mezcla TC donde se ha asignado a cada señal el hidrógeno correspondiente; destacan las interacciones entre los átomos de las moléculas. Las señales azules son interacciones positivas, son interacciones débiles que siempre existen. Las señales rojas son interacciones negativas, interacciones más fuertes que nos indican que los átomos en cuestión se encuentran muy cerca en el espacio. Alguna interacción más se puede ver provocada en todo caso por los metilos de ambas moléculas. En conclusión, no se puede hablar de una estructura supramolecular; se trata de una mezcla con interacciones básicamente hidrofóbicas.

Diferencias de desplazamientos químicos entre el ^{13}C -RMN de la mezcla y los puros:

$\Delta\delta$ [$(\delta\text{-}^{13}\text{C TC}) - (\delta\text{-}^{13}\text{C Timol})$]:

$$-0.8 C_a, -0.8 C_b, -0.8 C_c, -0.1 C_d, -0.4 C_e, -0.2 C_f, -1.4 C_g, +0.1 C_h, -0.3 C_i, +0.7 C_j$$

$\Delta\delta$ [$(\delta\text{-}^{13}\text{C TC}) - (\delta\text{-}^{13}\text{C Alcanfor})$]:

$$-0.2 C_\ell, -0.3 C_m, -0.1 C_n, -0.1 C_o, -0.1 C_p, +0.1 C_q, +0.1 C_r, 0 C_s, +0.1 C_t, +1.5 C_u$$

Respecto a la diferencia de desplazamientos podemos ver como el entorno químico del timol se ve bastante más alterado que el del alcanfor al compararlos con ellos mismos puros.

4.1.2 *Mentol:alcanfor (2:1), M2C*

En la Figura A6 del anexo podemos encontrar también los espectros ^{13}C -RMN y ^1H -RMN, en los cuales se puede ver la asignación a cada pico su átomo correspondiente, con lo que nuevamente se puede deducir que tampoco ha existido reacción alguna. En la Figura 8 se muestra el espectro NOESY de la mezcla M2C donde se ha asignado a cada señal el hidrógeno correspondiente. En este caso podemos ver como hay muchas más señales tanto azules como rojas. Centrándonos más en las señales rojas (de más intensa interacción), vemos como en este caso también son principalmente debidas a los metilos de las moléculas, por lo que llegamos a

la misma conclusión, no se puede hablar de una estructura supramolecular; sino más bien de una mezcla con interacciones hidrofóbicas.

Diferencias de desplazamientos químicos entre el ^{13}C -RMN de la mezcla y los puros:

$\Delta\delta$ [$(\delta^{-13}\text{C DES}) - (\delta^{-13}\text{C Mentol})$]:

$$+0.2 C_a, +0.2 C_b, 0 C_c, +0.1 C_d, +0.4 C_e, +0.2 C_f, +0.2 C_g, -0.2 C_h, -0.3 C_i, -0.7 C_j$$

$\Delta\delta$ [$(\delta^{-13}\text{C DES}) - (\delta^{-13}\text{C Alcanfor})$]:

$$-0.1 C_\ell, 0 C_m, 0 C_n, 0 C_o, +0.1 C_p, +0.1 C_q, 0 C_r, -0.2 C_s, -0.4 C_t, -2.0 C_u$$

En este caso, las diferencias de los desplazamientos químicos son menos acusadas, pero igualmente se puede apreciar una variación del entorno químico mayor para el caso del mentol que para el caso del alcanfor.

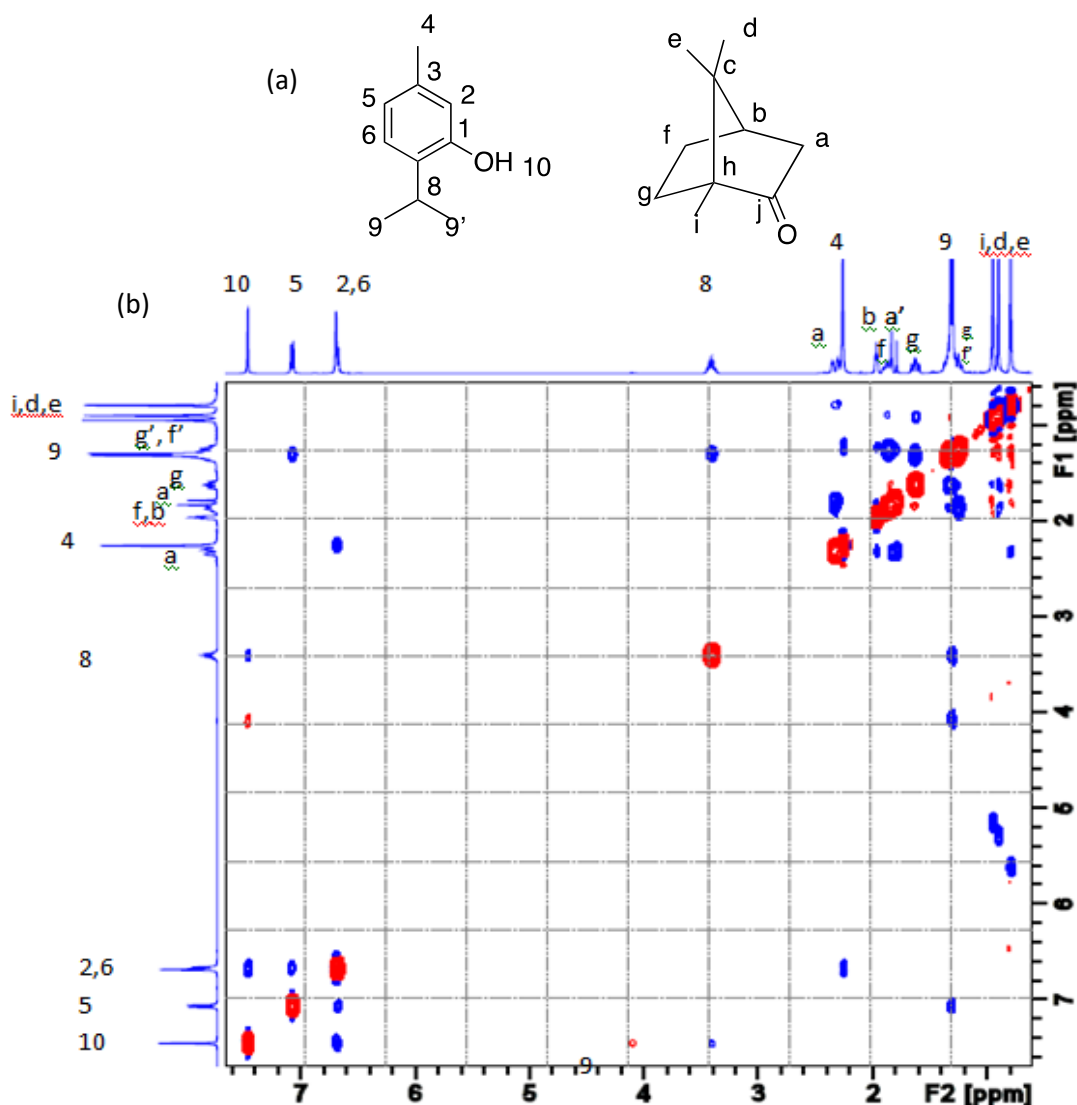


Figura 7. (a) Moléculas timol y alcanfor con los hidrógenos nombrados. (b) Espectro NOESY de la mezcla TC, cada pico tiene asignado su hidrógeno correspondiente

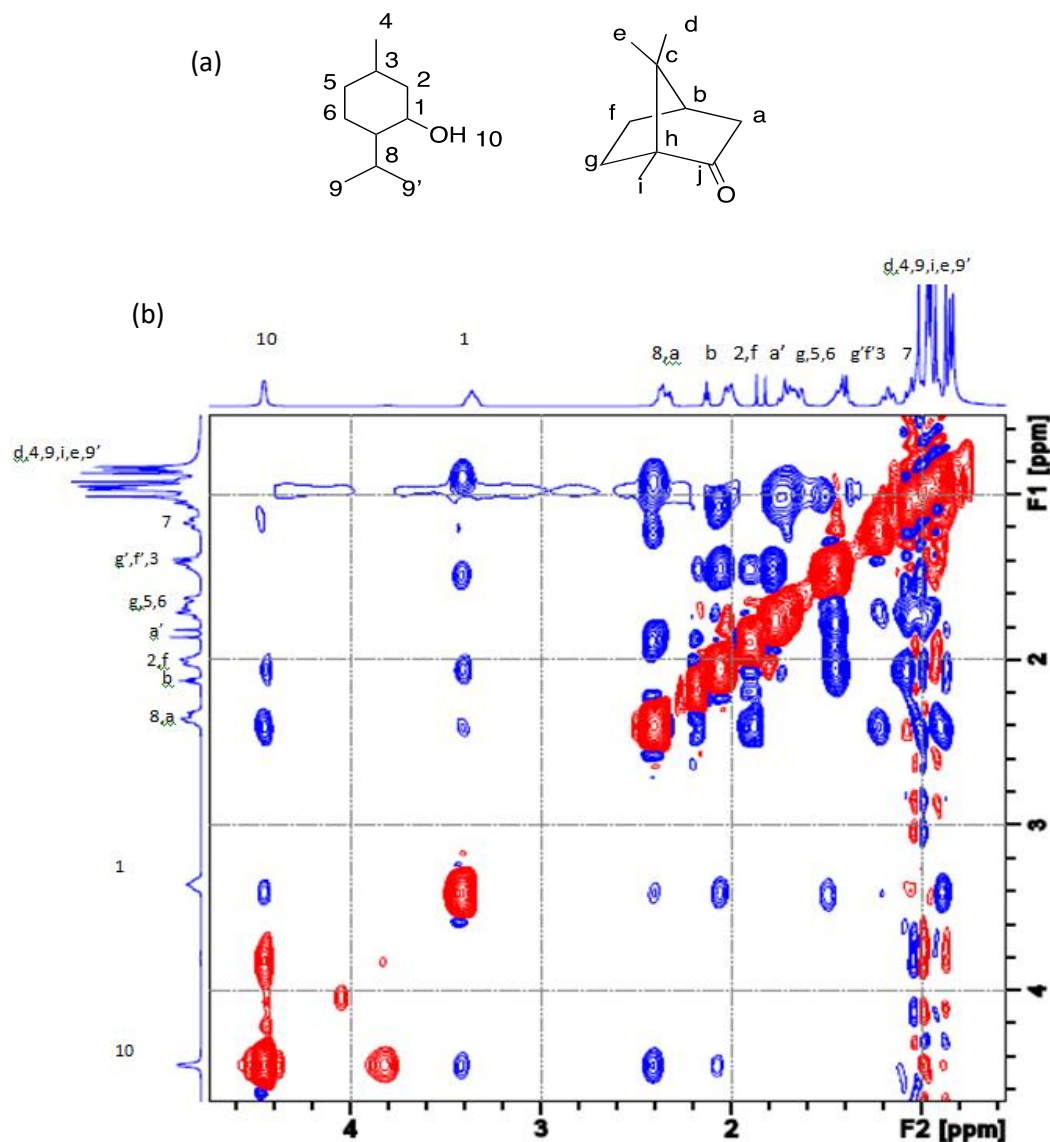


Figura 8. (a) Moléculas mentol y alcanfor, con todos los hidrógenos nombrados. (b) Espectro NOESY de la mezcla M2C, cada pico tiene asignado su hidrógeno correspondiente

4.2 Estudio termofísico

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en la caracterización termofísica de ambos THEDESs. Se han determinados experimentalmente las siguientes propiedades: densidad, ρ , velocidad del sonido, u , índice de refracción, n_D , tensión superficial, γ , y viscosidad cinemática, ν . Las medidas fueron realizadas a presión atmosférica, $p=0,1$ MPa, en el rango de temperaturas de 278,15 (283,15 para n_D) a 338,15K, en intervalos de 2,5K. A partir de estos datos, se han calculado diferentes propiedades derivadas.

Todos los valores experimentales se pueden encontrar en las tablas A1 y A2 del Anexo. Con el fin de facilitar el seguimiento del trabajo, en la Tabla 3 se recogen los valores de las distintas propiedades estudiadas a 298,15 K, para ambos THEDESs.

Tabla 3. Propiedades químico-físicas de las mezclas estudiadas a $T=298,15$ y $p=0.1$ MPa.

Densidad, ρ ; coeficiente de expansión isobárico, α_p ; velocidad del sonido, u ; compresibilidad isentrópica, κ_S ; distancia libre intermolecular, L_f ; índice de refracción, n_D ; refractividad molar, R_m ; volumen libre, f_m ; tensión superficial, γ ; entropía de superficie, ΔS_S ; entalpía de superficie, ΔH_S ; viscosidad dinámica, η y energía de activación de flujo viscoso, $E_{a,\eta}$.

Propiedades	TC	M2C
$\rho / \text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$	966,98	912,41
α_p / K^{-1}	0,786	0,833
$u / \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	1410,46	1362,28
$\kappa_S / \text{TPa}^{-1}$	519,83	590,58
$L_f / \text{Å}$	0,451	0,480
n_D	1,496537	1,461653
$R_m / \text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$	45,73	46,65
$f_m / \text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$	110,66	123,14
$\gamma / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$	32,3	29,22
$\Delta S_S / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$	0,0754	0,0641
$\Delta H_S / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$	54,78	48,33
$\eta / \text{mPa} \cdot \text{s}$	20,817	21,359
$E_{a,\eta} / \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	1818,94	1710,02

a) Densidad

Las densidades son similares entre ellas y similares también a otros DES⁸ empleados como disolventes de extracción verdes. En la Tabla 3 se encuentran los valores correspondientes a 298,15 K para cada THEDE, el rango de valores medidos es 982,21-936,46 para el TC y 927,25-881,66 kg/m³ para el M2C. En la bibliografía, se ha encontrado un valor para la densidad de la mezcla TC a temperatura ambiente: 987,3 kg/m³. Este valor puede ser consistente con nuestros datos pero no es comparable ya que los autores no han especificado la temperatura.

La densidad nos proporciona información acerca de las interacciones intermoleculares ya que representa el número de moléculas presentes en un volumen dado. Un mayor valor de densidad está relacionado con un mayor número de interacciones intermoleculares, por lo que se podría decir que existen más interacciones en la mezcla del TC que en la del M2C.

La densidad, igual que el resto de las propiedades termodinámicas determinadas, presenta la siguiente relación lineal con la temperatura, T :

$$Y = A_Y + B_Y \cdot T \quad (4)$$

Los valores de los parámetros de ajuste se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros de ajuste (A_Y , B_Y , C_Y) y coeficientes de regresión (R^2) para las propiedades químico-físicas de las mezclas estudiadas.

THEDES	Propiedad	A_Y	B_Y	C_Y	R^2
TC	$\rho / \text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$	1193,8	-0,7605		1,0000
	$u / \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	2459,9	-3,519		0,9999
	n_D	1,6234	$-4 \cdot 10^{-4}$		0,9999
	$\gamma / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$	54,937	-0,0762		0,9977
	$\eta / \text{mPa} \cdot \text{s}$	0,03901	734,061	181,223	1
M2C	$\rho / \text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$	1138,9	-0,7599		0,9999
	$u / \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	2391,5	-3,4493		0,9998
	n_D	1,472	$-4 \cdot 10^{-4}$		0,9999
	$\gamma / \text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$	48,561	-0,065		0,9981
	$\eta / \text{mPa} \cdot \text{s}$	0,01853	764,599	189,7932	0,9999

En concreto, la densidad disminuye al aumentar la temperatura debido a que la agitación térmica aumenta la movilidad de las moléculas y en consecuencia el espacio entre las moléculas es mayor y las interacciones más débiles.⁹ Esta variación que podemos ver en la Figura 9 (a), se cuantifica a través del coeficiente de expansión isobárico, α_p , calculado con la siguiente ecuación¹⁰:

$$\alpha_p = -\frac{1}{\rho} \left(\frac{\delta \rho}{\delta T} \right) \quad (5)$$

Para el caso del TC los valores de α_p van desde 0,774 hasta 0,812 kK^{-1} , mientras que para la mezcla M2C van desde 0,820 hasta 0,862 kK^{-1} . El mayor valor de α_p obtenido para M2C significa una capacidad mayor de expansión, lo que indica que en esta mezcla las fuerzas intermoleculares son más débiles.

b) Velocidad del sonido

La velocidad del sonido, u , es un indicador del estado y estructura molecular del compuesto. Dado que el sonido se propaga a través de un medio elástico, valores elevados de u , nos indican que las ondas sonoras viajan más rápido a través del material, esto sucederá cuando el material sea más compacto. Los valores obtenidos han sido 1481,26-1268,97 y 1434,04-1226,47 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ para TC y M2C respectivamente. Se puede deducir que la mezcla TC tiene una estructura más compacta que la mezcla M2C, podría ser debido a la existencia de más interacciones como se ha deducido en el apartado anterior. El estudio de la velocidad del sonido con la temperatura nos da una relación nuevamente inversa, al aumentar la temperatura disminuye u . Este descenso es debido a que al aumentar el espacio intermolecular por la agitación térmica, la transmisión del sonido se dificulta. El descenso podemos verlo en la Figura 9 b.

Con los datos de la densidad y la velocidad del sonido se puede calcular la compresibilidad isentrópica, k_S , así como la distancia libre intermolecular de la relación de Jacobson, L_f :

$$k_S = \frac{1}{\rho u^2} \quad (6)$$

$$L_f = K \sqrt{k_S} \quad (7)$$

Donde $K = (91,368 + 0,3565T) \cdot 10^{-8}$, es la constante de Jacobson dependiente de la temperatura. Los valores calculados de k_S para la mezcla TC van desde 464,02 hasta 663,15 TPa^{-1} , mientras que para la mezcla M2C van desde 524,43 hasta 754,03 TPa^{-1} . Esta propiedad nos indica la capacidad de compresión que tiene el fluido, por lo que nos permite evaluar la fortaleza de las interacciones intermoleculares. Valores pequeños indican que el fluido es poco compresible mientras que valores altos, que el fluido presenta alta capacidad de compresión. Vemos que la

mezcla M2C presenta valores algo superiores, esto es debido a que tiene una red de interacciones menos estructurada en comparación con la otra mezcla. Esta capacidad aumenta con la temperatura al debilitarse las interacciones intermoleculares.

Los valores de L_f , que indican la distancia libre entre moléculas son 0,410-0,547 y 0,436-0,582 Å para TC y M2C respectivamente. Como se puede ver los rangos de valores son bastante parecidos entre ambos.

c) Índice de refracción

El índice de refracción, n_D , está relacionado con la velocidad de transmisión de la luz en un medio. Nos proporciona información útil sobre la estructura de las moléculas y sobre las fuerzas existentes entre ellas. El valor de esta propiedad es mayor cuanto mejor es el empaquetamiento en un material ya que éste dificulta la transmisión de la luz. De acuerdo con los resultados anteriores obtenemos valores más mayores para la mezcla TC (Tabla A1 y A2 de los anexos). Los valores de n_D decrecen al incrementar la temperatura, podemos ver esta relación en la Figura 9c.

La refracción molar, R_m , es una propiedad relacionada con el volumen ocupado por un mol de moléculas¹¹ y se puede calcular a partir del índice de refracción y la densidad mediante la relación de Lorentz-Lorenz.

$$R_m = \frac{N_A \alpha_e}{3\epsilon_0} = \frac{M \cdot (n_D^2 - 1)}{\rho \cdot (n_D^2 + 2)} \quad (8)$$

Donde M es la masa molar que es calculada a partir de la relación molar de cada componente, i : $M = \sum_i M_i x_i$. Se sabe que cuanto mayor es la polarizabilidad electrónica, α_e de un solvente, mayor es su capacidad para disolver compuestos altamente polarizables. Ambas mezclas tienen valores similares de R_m , mostrados en las Tablas A1 y A2 de los anexos). Conociendo R_m es posible calcular el volumen libre, f_m , calculando la diferencia $V_m - R_m$, siendo V_m el volumen molar. Los datos calculados en este trabajo para cada mezcla van desde 108,89 hasta 115,66 $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ para TC y de 121,13 a 128,96 $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ para M2C. Son mayores para M2C que tendría mayor volumen libre, por lo que sería menos compacto como hemos deducido anteriormente.

d) Tensión superficial

El ambiente químico de una molécula dentro del líquido es diferente del que tiene cuando está en la superficie de una interfase. En el seno del líquido, la molécula se somete a las fuerzas de cohesión, mientras que en la superficie se encuentra bajo la influencia de las fuerzas de adhesión. La diferencia entre ambos tipos de fuerzas es el origen de la tensión superficial, γ . Se obtienen valores mayores para la mezcla TC, debido a que al existir más interacción entre las moléculas, nos cuesta más energía pasarlas del seno del líquido a la interfase. Esta propiedad disminuye también linealmente al aumentar la temperatura, podemos apreciarlo en la Figura 9 d.

Dos funciones termodinámicas, entropía de superficie, ΔS_s y entalpía de superficie, ΔH_s pueden calcularse con los valores obtenidos de la tensión superficial y su dependencia con la temperatura:

$$\Delta S_s = -(\delta\gamma/\delta T)_p \quad (9)$$

$$\Delta H_s = \gamma - (\delta\gamma/\delta T)_p \quad (10)$$

La entropía de superficie es una propiedad que nos indica el cambio en el orden que sufren las moléculas cuando se forma la interfase, como se puede ver en la Figura 9 d, la relación de γ con la temperatura es lineal, por lo que ΔS_s es constante para cada THEDES: 0,0754 y 0,0641 mN·m⁻¹·K⁻¹ para TC y M2C respectivamente. Las entalpías de superficie calculadas a 298,15 K para las mezclas TC y M2C son: 54,78 y 48,33 mN·m⁻¹, estos valores no son muy altos, por lo que podemos deducir que las fuerzas de cohesión no son extremadamente fuertes, aunque vemos que son mayores para la mezcla de TC, como se ha deducido anteriormente con otras propiedades. Que los valores no sean especialmente altos nos indica que son líquidos algo estructurados, sin llegar a serlo especialmente.

e) Viscosidad

Se podría decir que una de las características de los DES es que presentan viscosidades dinámicas, η , mucho mayores que las que pueden poseer otros disolventes. Esto es debido, principalmente, al tamaño de las moléculas que componen el disolvente y a la red de interacciones intermoleculares que se establece entre ellas, sin embargo, los THEDES son *clasificados* como DES hidrofóbicos de baja viscosidad, por lo que las mezclas estudiadas en este trabajo no presentan viscosidades tan altas como lo harían los hidrofílicos. El rango de valores obtenidos para las viscosidades dinámicas para las mezclas TC y M2C fueron respectivamente: 75,84-4,24 y 105,82-3,32 mPa·s. En la bibliografía se ha encontrado a una *temperatura ambiente* el dato de la viscosidad dinámica para la mezcla TC: 25,8 mPa·s el cual puede ser consistente con nuestros datos, pero no comparable puesto que el autor no especifica la temperatura exacta. En la figura 9 e podemos observar como varía la viscosidad de ambos THEDESs con la temperatura.

Un aumento de la temperatura facilita mucho la fluidez de las moléculas, por lo que decrece exponencialmente con T (ecuación 11). Está relacionado con las interacciones entre las moléculas ya que a mayor temperatura las interacciones intermoleculares son menores lo que provoca una mayor facilidad de movimiento para las moléculas.

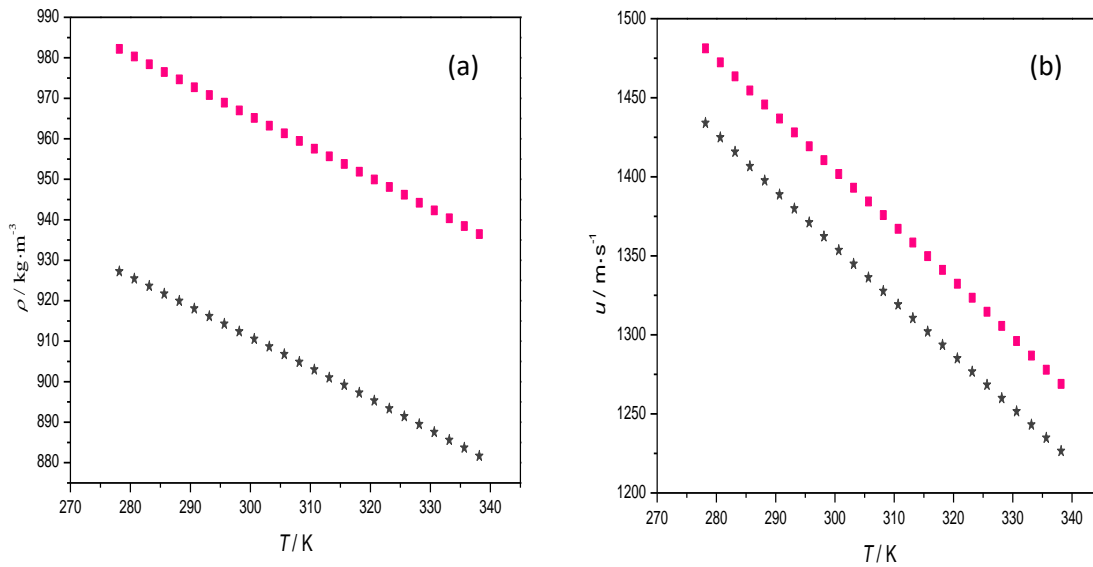
$$\eta = A_\eta \cdot \exp\left(\frac{B_\eta}{T - C_\eta}\right) \quad (11)$$

El parámetro A_Y representa la viscosidad a temperatura infinita, es decir, la contribución a la viscosidad debida sólo al tamaño y forma de las moléculas, estos parámetros se recogen en la Tabla 4 y son: 0,03901 y 0,01853 mPa·s para TC y M2C respectivamente. Encontramos un mayor valor para TC.

Los parámetros B_Y, C_Y nos proporcionan información acerca de las interacciones intermoleculares que ocurren en el seno del fluido y que también juegan un papel importante en el comportamiento viscosimétrico. La ecuación 12 nos permite el cálculo de la energía de activación para la viscosidad:

$$E_{\alpha, \gamma} = R \cdot \frac{\delta(\ln \gamma)}{\delta\left(\frac{1}{T}\right)} = R \cdot \frac{B_Y}{\left(\frac{C_Y^2}{T^2} - \frac{2C_Y}{T} + 1\right)} \quad (12)$$

Los valores calculados a 298,15 K para las mezclas TC y M2C son respectivamente: 1818,94 y 1710, 24 kJ·mol⁻¹. Un mayor número de interacciones va a suponer una mayor barrera energética que superar para que una molécula pueda moverse a través de las capas del fluido, por eso el dato obtenido para TC es mayor que para M2C.



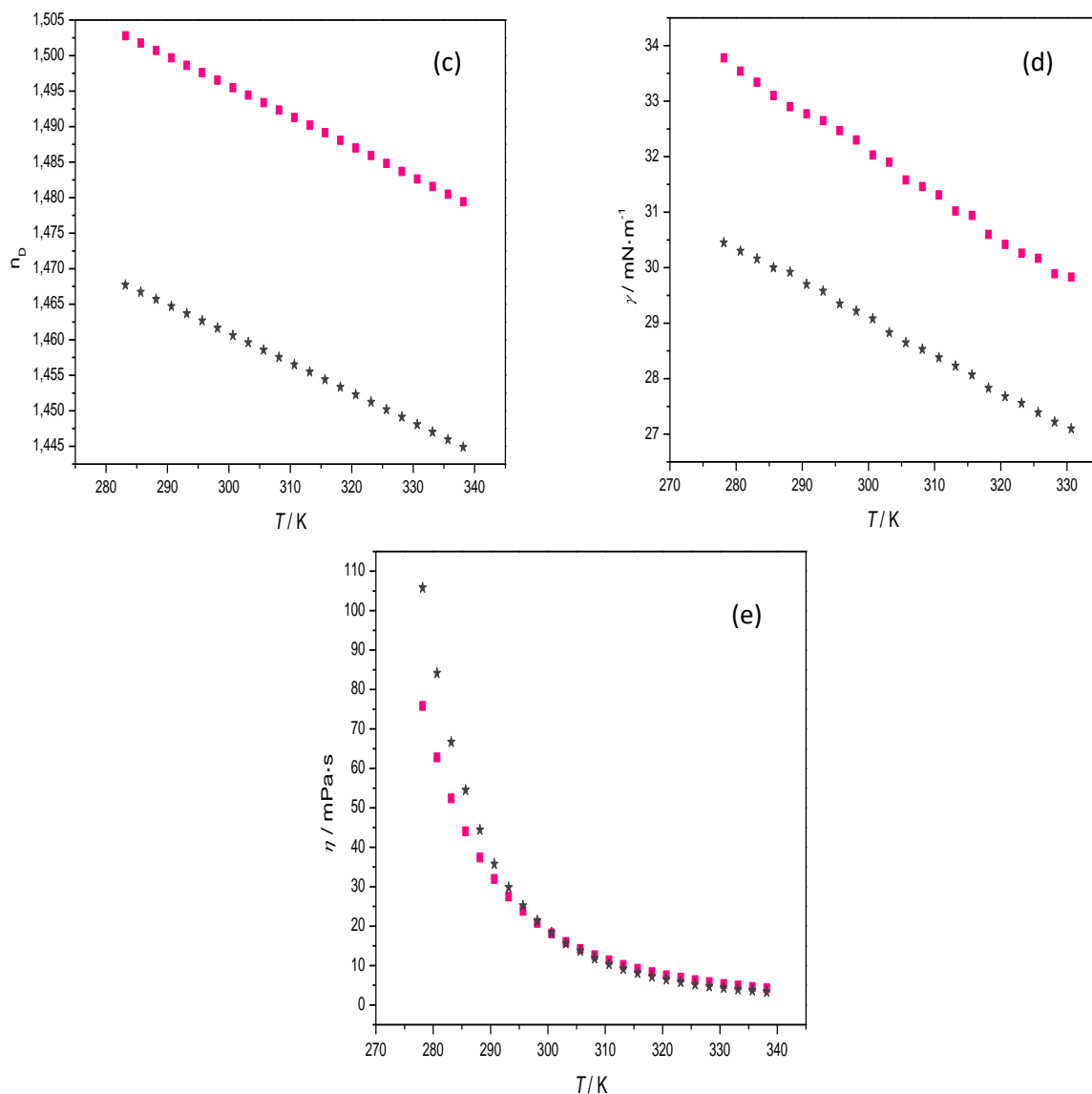


Figura 9. Propiedades termofísicas del estudio de los THEDES: (■), TC; (★), M2C. (a) Densidad, ρ ; (b) velocidad del sonido, u ; (c) índice de refracción, n_D ; (d) tensión superficial, γ ; (e) viscosidad dinámica, η . Los puntos corresponden con los valores experimentales.

4.3 Estudio de solubilidad

Como se ha comentado en la introducción, una de las principales aplicaciones de los THEDESs es su uso como vehículos de fármacos, sobre todo APIs poco solubles en medio acuoso. En este trabajo se evalúa la capacidad de los dos THEDESs de disolver lidocaína en comparación al agua. Por sus aplicaciones específicas sobre todo en anestesiología, la lidocaína en su formulación líquida es especialmente interesante.

4.3.1. Solubilidad en agua.

Siguiendo el procedimiento explicado en la sección 3.5, se ha determinado mediante espectroscopía VIS-UVA (y por triplicado) la solubilidad de lidocaína en agua a 298,15 K. El valor obtenido, $(3,62 \cdot 10^{-3} \pm 0,14 \cdot 10^{-3}) \text{ g}_{\text{lidocaína}}/\text{g}_{\text{agua}}$, es muy similar al encontrado en la bibliografía:¹² 3,63mg/ml. Esta baja solubilidad es esperable si tenemos en cuenta la baja polaridad de la lidocaína.

4.3.2. Solubilidad en la mezcla TC

El valor de la solubilidad de lidocaína en esta mezcla eutéctica, calculada a partir del análisis del espectro correspondiente (Figura 10 a), se recoge en la Tabla 5. Se trata de un valor muy elevado, sobre todo si lo comparamos con el que presenta en medio acuoso. Esto puede explicarse debido a que la solubilización de un compuesto poco polar está favorecida por las interacciones hidrofóbicas.

Tabla 5. Resumen de la disolución de lidocaína para ambos THEDESs expresadas en relación molar, fracción molar y mg/ml.

THEDES	Relación molar alcanfor:timol:mentol:lidocaína	Fracción molar lidocaína	$\text{mg}_{\text{lidocaína}}/\text{ml}_{\text{THEDES}}$
TC	(1:1,00;2,44)	0,55	1954,47
M2C	(1:1,97:2,73)	0,48	1523,45

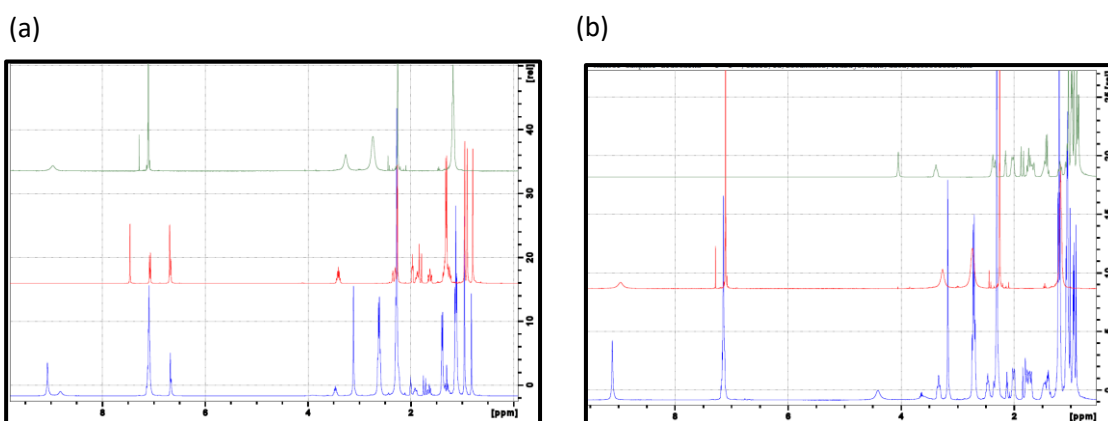


Figura 10. Comparación de espectros $^1\text{HMRN}$, de arriba abajo cada uno son el THEDES, lidocaína pura y el THEDES saturado de lidocaína. (a) Mezcla TC. (b) Mezcla M2C.

Con el propósito de estudiar las posibles interacciones entre el API y el THEDES, se ha realizado el correspondiente espectro NOESY (Fig. 11). Se puede observar que aparecen muchas señales negativas intramoleculares de lidocaína y timol, e intermoleculares entre ellos. El alcanfor da señales positivas intramoleculares, y sus metilos dan señales negativas intermoleculares, especialmente con la lidocaína, y en menor intensidad, con el timol. Los

protones de los anillos del alcanfor también dan nOe intermolecular con señales de la lidocaína, de baja intensidad, y todavía de menor intensidad con el timol.

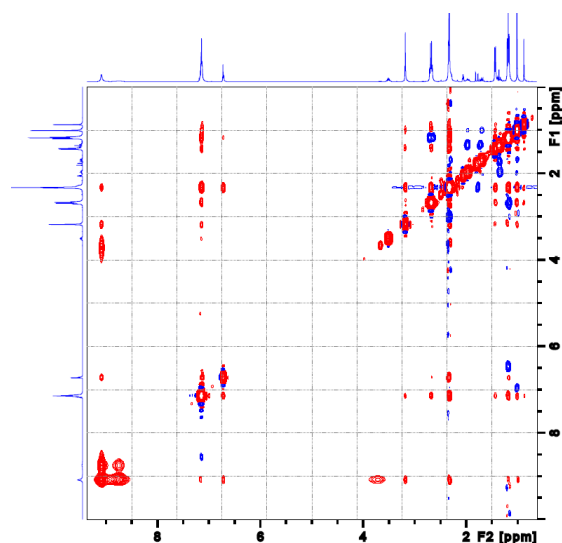


Figura 11. Espectro NOESY de la mezcla timol:alcanfor:lidocaína

4.3.3 Solubilidad en la mezcla M2C

El valor determinado para esta mezcla (Tabla 5) es ligeramente inferior que el encontrado para TC, lo que está de acuerdo con las conclusiones obtenidas del estudio termofísico. En el NOESY de esta mezcla (Fig. 12) vemos que mentol y lidocaína dan señales negativas tanto intra- como inter-moleculares. Las señales más intensas corresponden a los metilos del mentol (isopropilo y metilo) con los metilos del grupo aromático de la lidocaína. Con menor intensidad, aparecen señales entre los metilos del mentol con todos los protones de la lidocaína. El alcanfor da señales intramoleculares positivos por lo que parece que tiene un papel secundario en la estructura supramolecular. No se observan señales entre el alcanfor y los otros componentes de la mezcla.

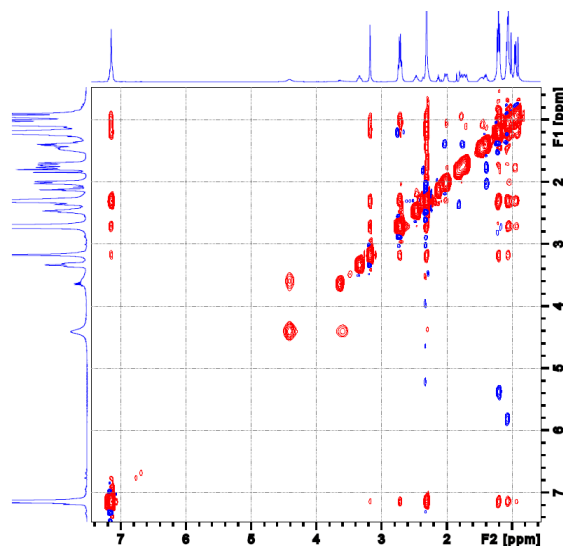


Figura 12. Espectro NOESY de la mezcla mentol:alcanfor:lidocaina

En general, se podría resumir en que lidocaína tiene una gran tendencia a formar mezclas eutécticas, presentando interacciones intensas con timol y mentol, mientras que la relación de éstos con el alcanfor es diferente. Dada la naturaleza química de los componentes, y los de las señales más intensas observadas en los NOESY, todo parece apuntar a que las interacciones intermoleculares que dan lugar a la formación del THEDES y que favorecen la solubilización de lidocaína son de tipo hidrofóbico (entre metilos muy apolares de los componentes). En estos casos, los enlaces por puente de hidrógeno no se observan.

En la bibliografía¹² se ha estudiado la capacidad de eutécticos hidrofílicos para disolver este API. Así, para las mezclas ChCl:glycolic acid (1:2) y ChCl:glycolic acid:oxalic acid (1:1,7:0,3), la solubilidad medida fue: $(100,6 \pm 2,3)$ mg/ml y $(295,4 \pm 6,8)$ mg/ml, respectivamente. Como era de esperar, estos valores son menores que los obtenidos con las mezclas hidrofóbicas.

5 CONCLUSIONES

- Se ha realizado la preparación de dos mezclas eutécticas profundas terapéuticas (THEDESs) mediante el proceso de agitación con ligero calentamiento. Las mezclas obtenidas son timol:alcanfor (1:1), TC y mentol:alcanfor(2:1).
- Se ha realizado el estudio estructural de ambos THEDES mediante espectroscopia de RMN, con los que se ha deducido la existencia de interacciones hidrofóbicas en lugar de una estructura supramolecular.
- Se han medido diferentes propiedades termofísicas en ambos THEDES (densidad, velocidad del sonido, índice de refracción, tensión y viscosidad) en los rangos de T de 278,15 a 338,15K con los que se ha procedido a calcular las correspondientes propiedades derivadas. Con la discusión de estos resultados se obtiene una estructura más compacta para el caso de la mezcla TC.
- En la determinación de la solubilidad se obtiene una mayor concentración para los THEDES que para el agua, como era de esperar. La solubilidad es 1977 veces mayor para el THEDES TC y 1723 veces más grande para M2C. Tras un estudio estructural de ambas mezclas saturadas con lidocaína se observa una mayor interacción de lidocaína con la mezcla TC (especialmente con el componente timol).

6 Bibliografía

- [1] P.J. Dunn. The importance of Green Chemistry in Process Research and Development. *Chem. Soc. Rev.*, **2012**,*41*, 1452-146.24
- [2] J.S. Wilkes. A short history of ionic liquids- from molten salts to neoteric solvents. *Green Chem.*, **2002**,*4*, 73-80.

- [3] M.A.R. Martins, S.P. Pinho, J.A.P. Coutinho. Insights into the Nature of Eutectic and Deep Eutectic Mixtures. *J. Solution Chem.*(**2018**).
- [4] A. Paiva, R. Craveiro, I. Aroso, M. Martins, R.L. Reis, A.R.C. Duarte. Natural Deep Eutectic Solvents- Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering.*, **2014** 2 (5), 1063-107.
- [5] A. Abri, N. Babajani, A. M. Zonouz, H. Shekaari. Spectral and thermophysical properties of some novel deep eutectic solvent based on l-menthol and their mixtures with ethanol. *J. Mol. Liq.*, **2019**, 285, 477–487.
- [6] I. M. Aroso. Dissolution enhancement of active pharmaceutical ingredients by therapeutic deep eutectic systems, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2016**, 98, 57–66.
- [7] Dong, Q., Chirico, R. D., Yan, X., Hong, X. & Frenkel, M. Uncertainty reporting for experimental thermodynamic properties. *J. Chem. Eng. Data.*, **2005**, 50, 546–550.
- [8] P. Makoś, A. Przyjazny, G. Boczkaj. Hydrophobic deep eutectic solvents as ‘green’ extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *J. Chromatogr.*, **2018**, 1570, 28–37.
- [9] H. Ghaedi, M. Ayoub, S. Sufian, B. Lal, A.M Shariff. Measurement and correlation of physicochemical properties of phosphonium-based deep eutectic solvents at several temperatures (293.15 K–343.15 K) for CO₂ capture. *J. Chem. Thermodynamics.*, **2017**, 113, 41–51.
- [10] N. López, I. Delso, D. Matute, C. Lafuente. M.Artal. Structure and properties of (xylitol or citric acid:choline chloride:water) mixtures. Influence on quercetin solubility. *The Royal Society of Chemistry.*,(enviado)
- [11] P. Brocos, A. Piñeiro, R. Bravo, A. Amigo. Refractive índices, molar volumes and molar refractions of binary liquid mixtures: concepts and correlations. *Chem. Phys.*, **2003**, 5, 550-557.
- [12] Z. Li, P. I. Lee. Investigation on drug solubility enhancement using deep eutectic solvents and their derivatives. *Int. J. Pharm.*, **2016**,50, 283–288.

7 ANEXOS

7.1 Descripción de los equipos utilizados para la caracterización de los THEDES.

1) Analizador de densidad y velocidad de propagación del sonido.

El equipo utilizado para la medición de la densidad, ρ , a presión atmosférica y la velocidad de propagación del sonido, u , fue un Anton Paar DSA-5000 (Figura A1). Este equipo se encuentra termostatzado mediante un dispositivo Peltier. El equipo incluye un densímetro de tubo vibrante y un analizador de velocidad del sonido cuya frecuencia



de trabajo es de 3 MHz. El principio de medida de la densidad se basa en la determinación electrónica del periodo de oscilación de un tubo en forma de U

Figura A1: Analizador de densidad y velocidad de propagación del sonido Anton Paar DSA-5000.

(borosilicato) con la muestra introducida en él. De esta manera la densidad, ρ , es calculada por el equipo. Este equipo corrige de forma automática la influencia de la viscosidad de la muestra en la determinación de la densidad

Por otro lado, la obtención de la velocidad de propagación del sonido también se basa en la determinación del periodo de oscilación de los pulsos ultrasónicos en la cavidad de medida.

Para realizar la medida se toma el líquido con una jeringuilla de plástico convencional y se introduce en el instrumento con cuidado de que no queden burbujas en el interior de éste, posteriormente se selecciona el método elegido. Antes de realizar la medida hay que asegurarse de que el equipo está limpio, podemos asegurarnos con la medida que el propio equipo da del aire (entorno a 0,0011g/ml), en el caso de que no diese esa medida se debe proceder a la limpieza de este para ello la limpieza se realiza con acetona que posteriormente se elimina bombeando aire durante aproximadamente 10 minutos.

2) Refractómetro.

La determinación del índice de refracción, n_D , se realizó con un refractómetro Abbemat HP del Dr. Kernchen (Figura A2).

Éste también se encuentra termostatzado gracias a un dispositivo Peltier. La medición se realiza colocando la muestra, con la ayuda de un cuentagotas sobre la superficie pulida de un prisma de zafiro sintético. La muestra es iluminada por un rayo cónico de luz amarilla de $\lambda=589,3 \pm 0,1$ nm (línea D del sodio).



Figura A2: Refractómetro Abbemat HP del Dr. Kernchen.

Una vez realizada la medida, la limpieza se efectúa con acetona, usando una trompa de vacío para retirarla después.

3) Tensiómetro

Se utilizó un tensiómetro de volumen de gota Lauda TVT-2 para la determinación de la tensión superficial (Figura A3).

Se coloca una jeringa en una cámara de metacrilato, que cuenta con dos orificios por los que circula el agua con la cual se termostatiza la muestra. El agua procede de un baño de agua que está a la temperatura que nos interesa. El agua termostatizada nos la proporciona un termostato Lauda E-200.

Para la medida se llena la jeringa con la muestra, con cuidado de que no se introduzcan burbujas que puedan falsear los datos obtenidos.

Para el cálculo de las tensiones superficiales se necesita conocer la densidad de la muestra a la temperatura que se realiza la determinación.

La limpieza de la jeringuilla se realiza con abundante isopropanol, secando después con un secador.

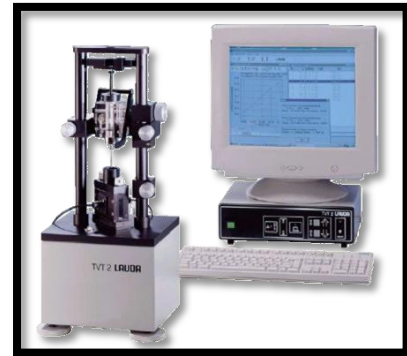


Figura A3: Tensiómetro de gota Lauda TVT-2

4) Viscosímetro capilar.

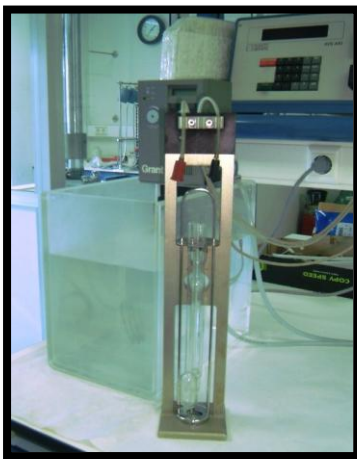


Figura A4: Viscosímetro capilar Ubbelohde Schott Geräte.

La viscosidad cinemática de la muestra se determina con un viscosímetro capilar tipo Ubbelohde de Schott Geräte conectado a una unidad automática AVS-440 de Schott Geräte (Figura A4).

La viscosidad cinemática se obtiene a partir de las medidas de tiempo haciendo uso de la siguiente ecuación:

$$\nu = k \cdot (t - \Delta_{HC}) = k \cdot \left(t - \frac{E}{k \cdot t^2} \right) \quad (1)$$

donde k es la constante del viscosímetro, la cual nos la proporciona el propio fabricante o puede ser determinada por calibración, E es otra constante que depende del tipo de viscosímetro. En este estudio se utilizó un capilar con $k =$

$0,02981 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^2$ para ambos THEDES. Δ_{HC} es la denominada corrección de Hagenbach cuyo significado físico está relacionado con las pérdidas de energía cinética en el proceso de flujo.

El viscosímetro consiste en un tubo en forma de U con tres ramas de diferentes tamaños. Por una de ellas se introduce la muestra, la cual asciende por la segunda rama para posteriormente descender por gravedad por un capilar que posee dos marcas definidas. La tercera rama sirve como elemento de seguridad.

El viscosímetro se encaja en un soporte metálico, el cual se introduce el baño termostático Haake D8, que mantiene la temperatura de la muestra constante.

La limpieza del viscosímetro se realiza con acetona de alta pureza después de cada uso. Periódicamente también se realizan limpiezas con mezcla crómica para eliminar cualquier tipo de residuo que pueda quedarse en él.

7.2 Espectros adicionales ($^{13}\text{CRMN}$ y $^1\text{HRMN}$) de los compuestos TC Y M2C

Figura A.5 (a) $^{13}\text{CRMN}$ (b) $^1\text{HRMN}$ para la mezcla TC

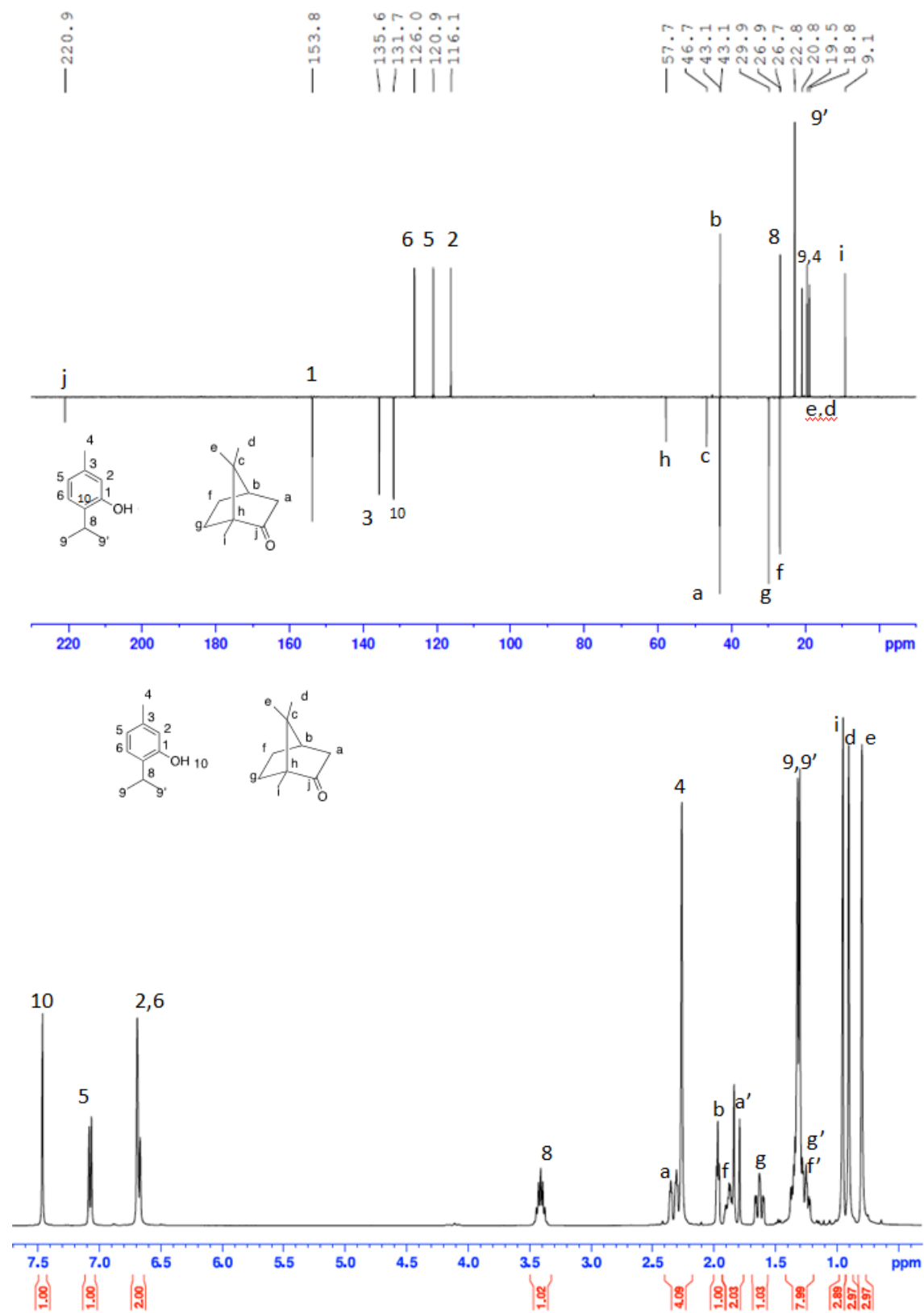
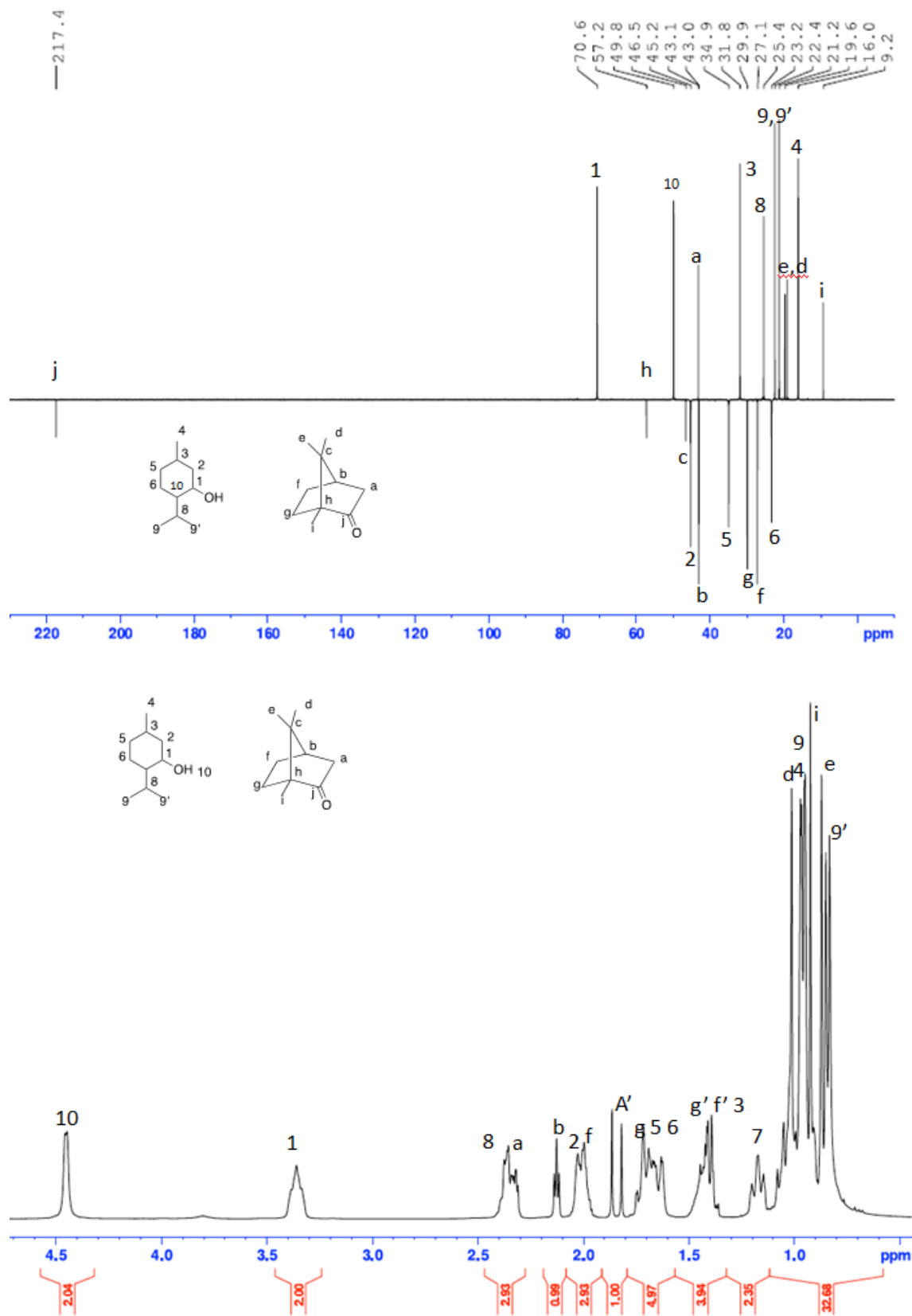


Figura A6: (a) ^{13}C RMN (b) ^1H RMN para la mezcla M2C



7.3 Tablas con todos los datos medidos de cada propiedad termofísica.

Tabla A1. Propiedades químico-físicas de la mezcla eutéctica timol:alcanfor(1:1) en función de la temperatura y a $p=0,1\text{MPa}$, Densidad, ρ ; velocidad del sonido, u ; índice de refracción, n_D ; tensión superficial, γ ; y viscosidad dinámica, η .

T / K	$\rho / \text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$	$u / \text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	n_D	$\gamma / \text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$	$\eta / \text{mPa}\cdot\text{s}$
278,15	982,21	1481,26		33,78	75,839
280,65	980,32	1472,38		33,54	62,778
283,15	978,40	1463,48	1,502794	33,34	52,395
285,65	976,47	1454,53	1,501758	33,1	44,016
288,15	974,65	1445,67	1,500721	32,9	37,409
290,65	972,70	1436,82	1,499675	32,77	31,971
293,15	970,80	1428,05	1,498625	32,65	27,517
295,65	968,90	1419,27	1,497593	32,47	23,844
298,15	966,98	1410,46	1,496537	32,3	20,817
300,65	965,16	1401,75	1,495479	32,03	18,150
303,15	963,22	1393,06	1,494435	31,9	15,990
305,65	961,34	1384,37	1,493379	31,58	14,183
308,15	959,45	1375,71	1,492325	31,46	12,634
310,65	957,56	1367,06	1,491271	31,31	11,305
313,15	955,65	1358,40	1,490215	31,02	10,161
315,65	953,77	1349,75	1,489150	30,94	9,169
318,15	951,87	1341,09	1,488071	30,6	8,309
320,65	949,95	1332,31	1,487002	30,42	7,542
323,15	948,08	1323,49	1,485931	30,26	6,890
325,65	946,17	1314,59	1,484817	30,17	6,298
328,15	944,20	1305,62	1,483686	29,89	5,817
330,65	942,30	1296,11	1,482627	29,83	5,330
333,15	940,36	1286,89	1,481559		4,924
335,65	938,45	1277,92	1,480490		4,552
338,15	936,46	1268,97	1,479431		4,246

Tabla A2. Propiedades químico-físicas de la mezcla eutéctica mentol:alcanfor(2:1) en función de la temperatura y a $p=0,1\text{MPa}$, Densidad, ρ , velocidad del sonido, u ; índice de refracción, n_D ; tensión superficial, γ , y viscosidad dinámica, η .

T / K	$\rho / \text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$	$u / \text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	n_D	$\gamma / \text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$	$\eta / \text{mPa}\cdot\text{s}$
278,15	927,25	1434,04	0,0000	30,45	105,818
280,65	925,45	1424,92	0,0000	30,3	84,165
283,15	923,63	1415,76	1,467732	30,16	66,681
285,65	921,73	1406,68	1,466729	30	54,482
288,15	919,93	1397,65	1,465724	29,92	44,427
290,65	918,06	1388,71	1,464708	29,7	35,759
293,15	916,17	1379,88	1,463685	29,58	29,826
295,65	914,28	1371,06	1,462678	29,35	25,172
298,15	912,41	1362,28	1,461653	29,22	21,359
300,65	910,56	1353,57	1,460620	29,08	18,296
303,15	908,66	1344,91	1,459604	28,83	15,610
305,65	906,78	1336,27	1,458576	28,65	13,725
308,15	904,86	1327,68	1,457539	28,53	11,825
310,65	902,97	1319,14	1,456508	28,38	10,356
313,15	901,01	1310,59	1,455475	28,23	9,152
315,65	899,20	1302,09	1,454404	28,07	8,119
318,15	897,26	1293,61	1,453344	27,83	7,198
320,65	895,30	1285,13	1,452289	27,68	6,463
323,15	893,37	1276,70	1,451231	27,56	5,818
325,65	891,44	1268,35	1,450174	27,39	5,229
328,15	889,50	1259,96	1,449128	27,22	4,726
330,65	887,56	1251,60	1,448069	27,1	4,324
333,15	885,60	1243,21	1,447009	0,00	3,949
335,65	883,67	1234,87	1,445951	0,00	3,665
338,15	881,66	1226,47	1,444891	0,00	3,321