

DETERMINAÇÃO DA CONSTANTE DE DISSOCIAÇÃO (K_a) DO CAPTOPRIL E DA NIMESULIDA – EXPERIMENTOS DE QUÍMICA ANALÍTICA PARA O CURSO DE FARMÁCIA

Airton Vicente Pereira*, Aline Ansbach Garabeli, Grazieli Delponte Schunemann e Patrícia Cristine Borck

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Campus Uvaranas, Av. Gal. Carlos Cavalcanti, 4748 - 84030-900 Ponta Grossa – PR, Brasil

Recebido em 24/11/10; aceito em 15/5/11; publicado na web em 4/7/11

DETERMINATION OF DISSOCIATION CONSTANT (K_a) OF CAPTOPRIL AND NIMESULIDE - ANALYTICAL CHEMISTRY EXPERIMENTS FOR UNDERGRADUATE PHARMACY. This paper presents the determination of the dissociation constant (K_a) of captopril and nimesulide as contextualized experiments to teach chemical concepts to students of Pharmacy. Captopril is an antihypertensive drug, which presents high water-solubility and weak acid properties. The pK_a of carboxylic acid group of captopril is 3.7. Nimesulide is a non-steroidal anti-inflammatory drug sparingly soluble in water. It is weakly acidic ($pK_a \approx 6.5$) because of its methanesulfonamide functional group. The pK_a of captopril was determined by potentiometric titration with NaOH 2.0×10^{-2} mol L⁻¹. The pK_a of nimesulide was determined by using spectrophotometry and photometric titration. The experimental values of pK_a of both drugs are in very good agreement with those from literature.

Keywords: captopril; nimesulide; dissociation constant (K_a).

INTRODUÇÃO

As propriedades físico-químicas dos fármacos interferem diretamente nos parâmetros farmacocinéticos (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) e na interação com o receptor.¹ Entre essas propriedades, estão a lipofilicidade e a ionização, que influenciam a absorção e a biodisponibilidade dos fármacos. O pH do fluido biológico e a ionização do fármaco exercem um papel importante na absorção, uma vez que seus efeitos regulam a lipofilicidade e a solubilidade.²

A determinação do valor do pK_a requer que a substância seja submetida a mudanças de pH, acompanhada da medida de uma propriedade específica que varie com o estado de ionização da molécula. Há vários métodos disponíveis para se determinar o valor do pK_a , incluindo técnicas como a eletroforese capilar, a cromatografia líquida, a titulação potenciométrica e a espectrofotometria UV-visível.³

A titulação potenciométrica com monitoramento da mudança do pH da solução é a técnica mais tradicional para se determinar valores de pK_a . É aplicável a valores de pK_a na faixa de 2 a 12, na presença ou ausência de um cromóforo, desde que o composto seja solúvel em água ou numa mistura com um cossolvente como metanol ou acetonitrila.⁴ Nessa técnica, durante a titulação da solução amostra, o pH é monitorado com um eletrodo de vidro e o pK_a é calculado a partir das mudanças na forma da curva de titulação.⁵

A determinação espectrofotométrica do pK_a é uma boa alternativa à potencimetria, desde que a amostra seja solúvel em água na faixa de 10^{-6} mol L⁻¹. A espectrofotometria é uma técnica analítica sensível e muitos compostos orgânicos possuem valores de absorvidade molar suficientemente elevados para serem detectados em soluções aquosas diluídas. Um aspecto importante é que o composto deve possuir um cromóforo próximo do centro de ionização, de tal modo que, com a variação do pH, as formas ionizadas e moleculares exibam diferen-

ças espectrais na região do UV-visível.³ Na prática, o que se faz é obter os espectros das soluções do composto em diferentes valores de pH que, em conjunto com os valores de absorbância, permitem o cálculo do pK_a .⁶

O captopril (Figura 1) é um anti-hipertensivo inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA). É muito solúvel em água e possui um grupo ácido carboxílico com pK_a 3,7. Na literatura, não há a descrição experimental da determinação do pK_a do captopril. No entanto, pode-se determinar esse pK_a utilizando-se a titulação potenciométrica com uma solução de NaOH, de modo semelhante ao aplicado para ácidos orgânicos, como o ácido benzoico.⁷

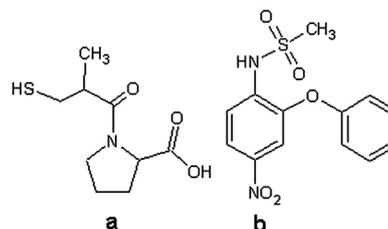


Figura 1. Estruturas do captopril (a) e nimesulida (b)

A nimesulida (Figura 1) é um anti-inflamatório não esteroidal (AINE) com propriedades analgésica e antitérmica. Diferentemente da maioria dos AINEs que possuem um grupo ácido carboxílico, o caráter ácido fraco da nimesulida é atribuído à presença do grupo metanossulfonamida.

A nimesulida é praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em etanol e muito solúvel em acetona.⁸ Fallavena e Schapoval⁹ realizaram a determinação do pK_a da nimesulida pelo método potenciométrico, solubilizando-a em misturas metanol:água em diferentes proporções. O valor experimental médio do pK_a da nimesulida foi 6,46.

O método espectrofotométrico é considerado ideal para a determinação do pK_a de compostos pouco solúveis em água e apresenta como vantagens maior precisão e exatidão.^{10,11} A determinação

*e-mail: airtonvp@uepg.br

espectrofotométrica do pK_a da nimesulida foi realizada previamente por Singh *et al.*,¹² dissolvendo-se o fármaco em metanol e diluindo em soluções de tampão de fosfato para uma concentração da ordem de $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Na perspectiva do ensino de Química, é essencial a abordagem contextualizada desses temas, particularmente para a compreensão de conceitos físico-químicos. As disciplinas de Química podem ser consideradas pouco atrativas para os alunos de áreas correlatas, principalmente quando o conteúdo é ministrado apenas com destaque para a teoria e apresentação de experimentos descontextualizados. No contexto pedagógico, os docentes das disciplinas de Química devem reconhecer a necessidade da inserção de práticas de laboratório voltadas para motivação dos alunos como, no caso aqui específico, dos cursos de Farmácia.

No presente trabalho, estão apresentadas as determinações dos valores de pK_a do captopril e da nimesulida como propostas de experimentos didáticos de Química destinados a alunos de cursos de Farmácia. Os experimentos apresentados podem ser realizados nas aulas práticas de Química Analítica ou, opcionalmente, na de Química Farmacêutica, especialmente quando se discute a importância do pK_a e da lipofilicidade na atividade biológica.

O pK_a do captopril foi determinado potenciométricamente com uma solução diluída de NaOH e da nimesulida, utilizando a espectrofotometria UV-visível, conforme descrito na literatura. Adicionalmente, propusemos o procedimento de titulação espectrofotométrica para a determinação do pK_a da nimesulida.

PARTE EXPERIMENTAL

O captopril (Shenyang Fine Chemical, China) e a nimesulida (Henrifarma) foram adquiridos e utilizados sem purificação adicional. Os sais utilizados no preparo das soluções tampão e os demais reagentes foram de grau analítico. Água purificada Milli-Q (Millipore Corporation, USA) foi utilizada em todos os experimentos.

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se um medidor de pH Digimed modelo DMPH-2, equipado com um eletrodo de vidro combinado com eletrodo de prata-cloreto de prata (Ag/AgCl/KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$). O eletrodo foi calibrado com soluções tampão (Quimis) pH 4,00 e 7,00 e as titulações foram realizadas à temperatura ambiente.

As leituras de absorbância e os espectros de absorção foram obtidos com um espectrofotômetro Genesys 10S, utilizando-se uma cubeta de quartzo de 1 cm e a temperatura controlada com um banho termostático Fanem modelo 100. A titulação espectrofotométrica foi realizada com um espectrofotômetro Biosystems BTS 330.

Titulação potenciométrica do captopril

Realizou-se um procedimento semelhante ao descrito por Ribeiro *et al.*¹³ Uma alíquota de 15 mL da solução aquosa de captopril $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi transferida para bécquer de forma alta e adicionaram-se 5 mL de NaCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A solução de captopril foi titulada com NaOH $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, previamente padronizada com biftalato de potássio. Os dados da titulação potenciométrica foram tratados com o programa Excel CurTiPot Versão 3.5.4, obtendo-se as curvas de primeira e segunda derivadas.¹⁴

Análise espectrofotométrica da nimesulida

O procedimento experimental e o cálculo do pK_a foram descritos por Singh *et al.*¹² As soluções tampão foram preparadas pela mistura de volumes apropriados das soluções de NaH_2PO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e Na_2HPO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Soluções de NaCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e água foram utilizadas para ajuste da concentração final do tampão para

$0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e da força iônica para $0,02 \text{ mol L}^{-1}$. Alíquotas de 5 mL de cada solução tampão foram distribuídas em tubos de ensaio e a cada tubo adicionaram-se 50 μL da solução metanólica de nimesulida 2 mg mL^{-1} . As soluções foram misturadas e os tubos mantidos em banho a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Os espectros de absorção das soluções foram obtidos na região de 200 a 500 nm e os valores de absorbâncias em 393 nm foram utilizados no cálculo do pK_a .

Os espectros e as absorbâncias das formas ionizadas e não ionizadas da nimesulida foram determinados de forma idêntica ao descrito para as soluções tampão, empregando-se HCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. A força iônica das soluções também foi ajustada para 0,02 pela adição de NaCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Titulação espectrofotométrica da nimesulida

O sistema de titulação espectrofotométrica foi montado utilizando-se um espectrofotômetro contendo uma bomba peristáltica para aspiração de soluções e uma cubeta de fluxo de 18 μL . O percurso analítico convencional do espectrofotômetro foi modificado utilizando-se conexões com tubos de polietileno (0,8 mm d.i). A solução, que originalmente iria para o descarte após a passagem pela cubeta de fluxo, retorna para o recipiente de titulação (Figura 2).

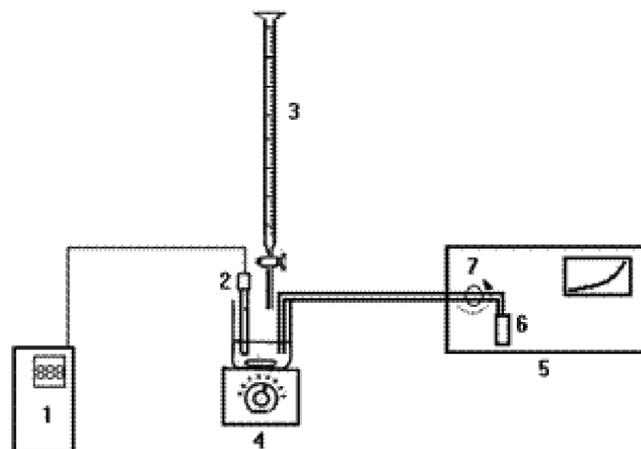


Figura 2. Diagrama do sistema de titulação espectrofotométrica: 1) pHmetro, 2) eletrodo de vidro, 3) bureta, 4) agitador magnético, 5) espectrofotômetro, 6) célula de fluxo e 7) dispositivo de aspiração (bomba peristáltica)

Na determinação do pK_a , transferiram-se 10 mL de uma solução de ácido cítrico $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ para um frasco de titulação, adicionaram-se 50 μL da solução metanólica de nimesulida $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ e ajustou-se a força iônica com de NaCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A solução foi titulada com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o pH monitorado de modo semelhante ao descrito na titulação potenciométrica. A cada adição da solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, 1 mL da solução amostra era aspirado para preencher o percurso analítico e a célula de fluxo (18 μL) e o excesso reconduzido ao recipiente de titulação. Os valores de absorbância em 393 nm foram utilizados no cálculo do pK_a . A curva de titulação foi construída plotando-se os valores das absorbâncias corrigidas versus pH.

RESULTADOS

Os procedimentos aqui descritos podem ser realizados em laboratórios de Química experimental que disponham de medidores de pH e espectrofotômetro de varredura. Como pré-requisitos, os alunos devem conhecer fundamentos de potenciometria e espectrofotometria.

Os experimentos foram executados em 2 aulas práticas de 3 h, com turmas de 12 alunos, divididos em 3 grupos. Durante as aulas, foram utilizados três medidores de pH e um espectrofotômetro UV-Vis de varredura. Na determinação potenciométrica do pK_a , cada grupo utilizou um *notebook* e os dados experimentais foram digitados diretamente na planilha CurTiPot.

As soluções (tampão, HCl $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ e NaOH $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) utilizadas na determinação espectrofotométrica do pK_a da nimesulida foram previamente preparadas. A titulação espectrofotométrica foi realizada de maneira demonstrativa pela disponibilidade de apenas um espectrofotômetro com sistema de aspiração de amostra. Os alunos elaboraram relatórios contendo fundamentos teóricos, descrição experimental e os cálculos de pK_a com as figuras e tabelas ilustrativas, conforme apresentadas adiante.

Na determinação potenciométrica do pK_a do captopril, a força iônica foi ajustada com a adição de NaCl $0,5$ mol L⁻¹ para se igualar o coeficiente de atividade das espécies em solução. Em solução aquosa com força iônica controlada, um ácido monoprótico se dissocia conforme a equação:



A constante de equilíbrio (K_a) da equação é expressa por:

$$K_a = \frac{(aH^+) \times (aA^-)}{aHA} = \frac{[H^+] \times [A^-]}{[HA]} \times \frac{\gamma_{H^+} \times \gamma_{A^-}}{\gamma_{HA}} \quad (2)$$

onde a e γ representam a atividade e o coeficiente de atividade, respectivamente. Como o pH é definido como $-\log aH^+$, aplicando-se o logaritmo em ambos os lados da equação temos:

$$pK_a = pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]} \times \frac{\gamma_{A^-}}{\gamma_{HA}} \quad (3)$$

O coeficiente de atividade pode ser estimado pela equação de Guntelberg:¹⁴

$$\log \gamma = -Az^2 \frac{\sqrt{I}}{(1 + \sqrt{I})} \quad (4)$$

onde $A \approx 0,5$ para H₂O a 25 °C, Z é a carga iônica e I a força iônica, que equivale a $\frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$. Substituindo-se na equação anterior, obtém-se a equação utilizada para corrigir o efeito da força iônica na determinação do pK_a do captopril:¹⁵

$$pK_a = pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]} + \frac{0,5 (Z_{HA}^2 - Z_{A^-}^2) \sqrt{I}}{(1 + \sqrt{I})} \quad (5)$$

A determinação potenciométrica do pK_a do captopril baseia-se na determinação das mudanças do pH com a adição do titulante para se obter uma curva de titulação.

O método da segunda derivada permite calcular o valor exato do ponto final a partir de uma curva de titulação potenciométrica. Na curva sigmoideal (pH versus V), o ponto de inflexão é a parte onde se observa a variação mais acentuada, ou seja, onde a alteração resultante da adição de NaOH é máxima. A primeira derivada ($\Delta pH/\Delta V$, onde V é o volume do titulante e ΔV é a variação do volume) tem um máximo no ponto de inflexão da curva de titulação, partindo de próximo de zero antes do ponto final até atingir o máximo no ponto final, voltando a quase zero após o ponto final. Na segunda derivada, plota-se $\Delta^2 pH/\Delta V^2$ versus V e o ponto final é onde a derivada é igual a zero.⁷ Uma vez determinado o ponto final, calcula-se o pK_a pela equação de Henderson-Hasselbalch para compostos ácidos:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (6)$$

onde $[A^-]$ e $[HA]$ são as concentrações das espécies ionizadas e não ionizadas, respectivamente. Quando o volume de NaOH neutraliza a metade dos grupos carboxílicos do captopril, a seguinte relação é válida:

$$\frac{[A^-]}{[HA]} = 1 \quad (7)$$

Portanto, na metade do volume final temos $pH = pK_a$.⁷

O captopril é um ácido diprótico com duas constantes de dissociação: $pK_{a1} = 3,7$ (ácido carboxílico) e $pK_{a2} = 9,8$ (grupo sulfidril).¹⁶ Na curva de titulação potenciométrica (Figura 3), verifica-se apenas um ponto de inflexão referente ao grupamento ácido carboxílico, pois o segundo hidrogênio não apresenta ponto de inflexão perceptível, em consequência da fraca acidez.¹³

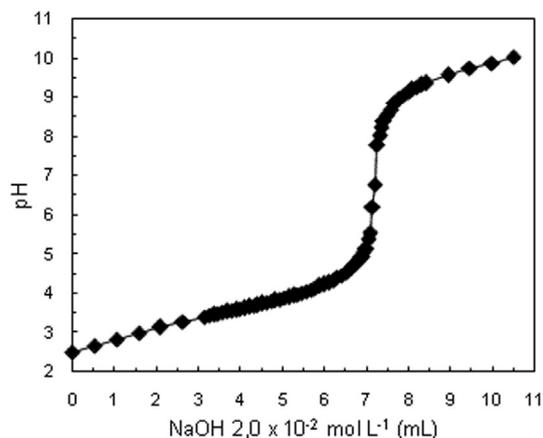


Figura 3. Curva de titulação potenciométrica do captopril com NaOH $2,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹

Utilizando-se o Programa CurTiPot obteve-se a primeira e a segunda derivadas da curva de titulação, conforme apresentado na Figura 4.

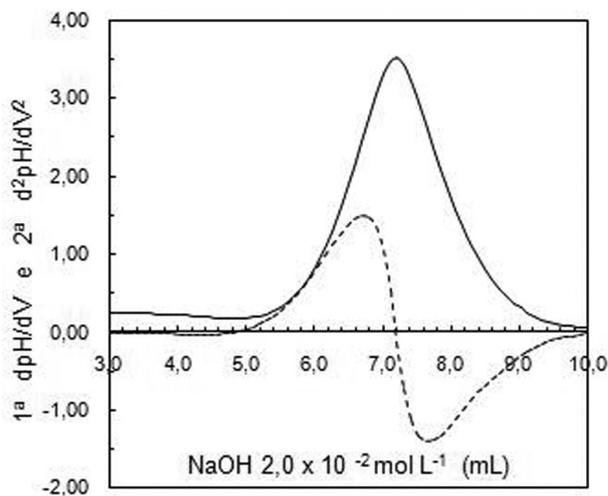


Figura 4. Curvas de primeira (—) e segunda (----) derivadas da titulação potenciométrica do captopril com NaOH $2,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹

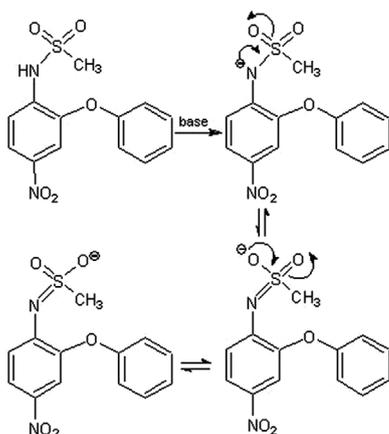
O valor experimental do pK_a do captopril, apresentado na Tabela 1, concorda com aquele apresentado na literatura, evidenciando a exatidão do procedimento potenciométrico.

Tabela 1. Valores de pKa do captopril

Fármaco	Literatura*	Experimental	Erro relativo (%)
Captopril	3,70	3,67 ± 0,02	- 0,81

*Index Merck, s = desvio padrão, n = 3

A nimesulida possui um grupo metanossulfonamida fracamente ácido que dissocia de acordo com o pH do meio. O único hidrogênio do grupo dissocia-se e a carga negativa resultante pode ser estabilizada por ressonância, conforme ilustrado na Figura 5.

**Figura 5.** Ionização da nimesulida e estruturas de ressonância

A presença do grupo nitro no anel benzênico influencia o valor do pKa da nimesulida. A exigência do grupo retirador de elétrons (NO₂) na estrutura da nimesulida para a inibição da enzima ciclooxigenase (COX-2) está provavelmente relacionada com a diminuição do pKa para valores mais próximos daqueles dos ácidos carboxílicos.¹⁷

A determinação espectrofotométrica do pKa da nimesulida está baseada nas diferenças espectrais das espécies molecular (M) e ionizada (I). Em meio alcalino (pH > 10), a forma predominante da nimesulida é a ionizada (NI); enquanto que em meio ácido (pH < 2) se encontra apenas a nimesulida na forma não ionizada (NM). Em valores intermediários de pH, existe uma mistura de ambas as espécies, de acordo com a equação:

$$pK_a = pH + \log \frac{C_{NM}}{C_{NI}} \quad (8)$$

onde, C é a concentração em mol L⁻¹.

O cálculo do pKa requer a determinação do valor da fração C_{NM}/C_{NI} em valores específicos de pH.¹⁸ Como as estruturas eletrônicas da nimesulida (ionizada e não ionizada) são diferentes, os espectros UV-visível apresentam valores de λ_{max} diferentes. Assim, uma solução de nimesulida pode ser tratada como uma mistura dessas duas espécies. Nesse tipo de mistura, considerando-se que os solutos não interagem entre si, segue-se a Lei de Lambert-Beer para cada uma das espécies.

A absorbância total (A_T) em determinado comprimento de onda representa a soma das absorbâncias da nimesulida não ionizada (A_{NM}) e nimesulida ionizada (A_{NI}), e pode ser expressa pela Equação 9:

$$A_T = A_{NM} + A_{NI} \quad (9)$$

Em todos os valores de pH, a concentração total (C_T) é a soma das concentrações das formas não ionizada (NM) e ionizada (N):

$$C_T = C_{NM} + C_{NI} \quad (10)$$

Como em pH ácido (duas unidades abaixo do pKa), C_{NM} >> C_{NI}, pode-se considerar que a nimesulida não ionizada (NM) é a única espécie presente. Portanto, a absorbância em pH 1,0 (A_{NM}) permite conhecer o valor de ε_{NM} no comprimento de onda selecionado:

$$A_{NM} = \epsilon_{NM} b c_{NM} \quad (11)$$

onde ε é a absorptividade molar, b é o caminho óptico e c a concentração em mol L⁻¹. De maneira idêntica, em pH > 12, assume-se que C_{NI} >> C_{NM} e a absorbância (A_{NI}) permitem calcular o valor de ε_{NI}:

$$A_{NI} = \epsilon_{NI} b c_{NI} \quad (12)$$

Em valores intermediários de pH, a absorbância total (A_T) é dada por:

$$A_T = \epsilon_{NM} b c_{NM} + \epsilon_{NI} b c_{NI} \quad (13)$$

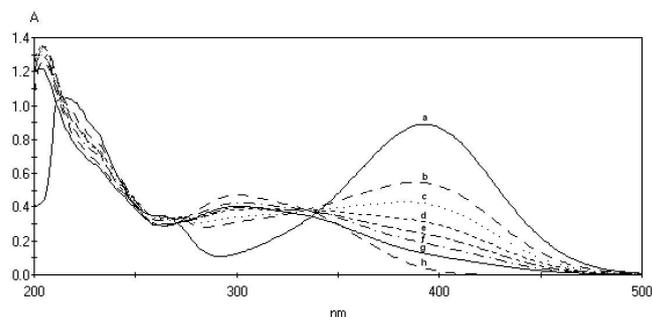
Para uma dada concentração total (C_T), as equações podem ser combinadas da seguinte forma:

$$\frac{C_{NM}}{C_{NI}} = \frac{A_{NI} - A}{A - A_{NM}} \quad (14)$$

onde A é a absorbância no pH selecionado. Substituindo-se a Equação 14 na equação do pKa (Equação 6), obtém-se a seguinte expressão:¹⁹

$$pK_a = pH + \log \frac{A_{NI} - A}{A - A_{NM}} \quad (15)$$

A Figura 6 apresenta os espectros UV-visível da nimesulida em diferentes valores de pH, evidenciando as diferenças espectrais com a variação das proporções das espécies não ionizada (NM) e ionizada (NI). A existência de dois pontos isosbéticos (270 e 340 nm), ou seja, pontos de intersecção dos espectros sobrepostos, evidencia a presença do equilíbrio das duas espécies. O valor de absorbância em 393 nm, onde ocorre a maior absorbância da espécie ionizada, foi utilizado no cálculo do pKa. A Tabela 2 apresenta os valores de pH e pKa experimentais, obtidos com a Equação 15.

**Figura 6.** Espectros da nimesulida em diferentes valores de pH: (a) NaOH 0,01 mol L⁻¹, (b) pH 6,8, (c) pH 6,6, (d) pH 6,4, (e) pH 6,2, (f) pH 6,0, (g) pH 5,8 e (h) HCl 0,01 mol L⁻¹

Com a finalidade de simplificar o procedimento espectrofotométrico e tornar a determinação do pKa da nimesulida menos trabalhosa, evitando-se o preparo de várias soluções tampão e a obtenção de espectros em cada valor de pH, foi desenvolvido um sistema de titulação espectrofotométrico.

Utilizou-se uma solução de ácido cítrico 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹ para tamponar o meio na faixa de 2,5-7,0, uma vez que se trata de um ácido triprótico com valores de pKa 3,13; 4,76 e 6,4. A solução de

Tabela 2. Valores de pK_a da nimesulida

Fármaco	Literatura	Espectrofotometria		Titulação espectrofotométrica
	pK_a	pH	pK_a	$pK_a \pm s$
Nimesulida	6,46*	5,60	6,56	6,58 \pm 0,01
	6,56 ⁺	5,80	6,58	
		6,00	6,57	
		6,20	6,57	
		6,40	6,58	
		6,60	6,57	
		6,80	6,59	

*Fallavena e Schapoval, ⁺Singh et al., s = desvio padrão, espectrofotometria (média) $pK_a = 6,57 \pm 0,01$

ácido cítrico foi utilizada para obter uma transição gradual do pH nas proximidades do pK_a da nimesulida, com a obtenção de uma curva sigmoidal (absorbância versus pH). A solução de ácido cítrico contendo nimesulida foi titulada com NaOH 0,1 mol L⁻¹, utilizando-se o sistema de titulação apresentado na Figura 2 e a absorbância foi monitorada em 393 nm.

Um gráfico típico de uma titulação espectrofotométrica (absorbância versus pH) e as respectivas 1^a e 2^a derivadas estão apresentados na Figura 7. O ponto de inflexão da curva sigmoidal, determinado pelo método das derivadas, fornece o valor de pK_a . O valor médio do pK_a da nimesulida obtido por este procedimento está apresentado na Tabela 2.

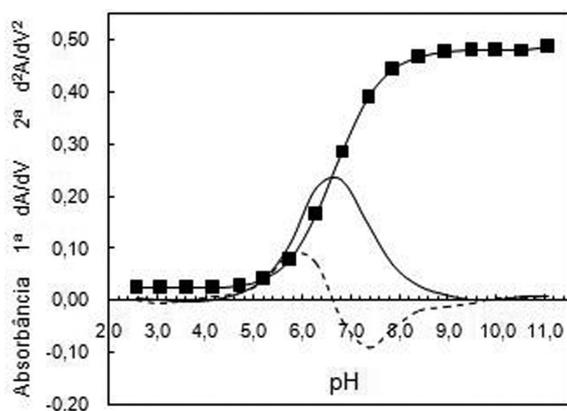


Figura 7. Curva de titulação espectrofotométrica da nimesulida (absorbâncias corrigidas versus pH) e as respectivas curvas de 1^a e 2^a derivadas

Os valores experimentais do pK_a da nimesulida obtidos neste trabalho pelos dois procedimentos espectrofotométricos estão muito próximos daquele obtido por Singh et al., indicando a aplicabilidade e a reprodutibilidade dos procedimentos.

CONCLUSÃO

O presente trabalho apresenta procedimentos simples e de fácil execução, adequados para aulas práticas de determinação da constante de dissociação de fármacos. As titulações potenciométrica e espectrofotometria mostraram-se apropriadas para as determinações dos valores de pK_a do captopril (solúvel em água) e da nimesulida (pouco solúvel em água), respectivamente. Alternativamente, a titulação espectrofotométrica com acompanhamento das mudanças de pH pode ser empregada na determinação do pK_a da nimesulida.

REFERÊNCIAS

- Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*, 2^a ed., Art Med Ltda: Porto Alegre, 2008.
- van de Waterbeemd, H.; Lennernäs, H.; Artursson, P.; *Drug Bioavailability*, Wiley-VCH: Weinheim, 2004.
- Avdeef, A.; *Absorption and Drug Development: Solubility, Permeability and Charge State*, John Wiley: New Jersey, 2003.
- Box, K. J.; Völgyi, G.; Ruiz, R.; Comer, J. E.; Takács-Novák, K.; Bosch, E.; Ràfols, C.; Rosés, M.; *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1538.
- Gonçalves, M.; *Métodos Instrumentais para Análise de Soluções: Análise quantitativa*, 4^a ed., Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 2001.
- Avdeef, A.; Box, K. J.; Comer, J. E. A.; Gilges, M.; Hadley, M.; Hibbert, C.; Patterson, W.; Tam, K. Y.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1999**, *20*, 631.
- Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; *Fundamentos de Química Analítica*, PioneiraThomson Learning: São Paulo, 2006.
- Farmacopéia Portuguesa*, 7^a ed., Imprensa Nacional: Lisboa, 2002.
- Fallavena, P. R. B.; Schapoval, E. E. S.; *Int. J. Pharm.* **1997**, *158*, 109.
- Albert, A.; Serjeant, E. P.; *The Determination of Ionisation Constants*, Chapman and Hall: London, 1971.
- Perrin, D. D.; Dempsey, B.; Serjeant, E. P.; *pK_a Prediction for Organic Acids and Bases*, Chapman and Hall: New York, 1981.
- Singh, S.; Sharda, N.; Mahajan, L.; *Int. J. Pharm.* **1999**, *176*, 261.
- Ribeiro, P. R. S.; Santini, A. O.; Pezza H, R.; Pezza L.; *Eclética Quím.* **2003**, *28*, 39.
- <http://www2.iq.usp.br/docente/gutz/Curtipot.html>, acessada em Setembro 2010.
- Caliaro, G. A.; Herbots, C. A.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2001**, *26*, 427.
- The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological*, 13th ed., Whitehouse Station: Merck & CO Inc.: New Jersey, 2001.
- Smith, D. A.; *Metabolism, Pharmacokinetics and Toxicity of Functional Groups*, RSC Publishing: Cambridge, 2010.
- Cookson, R.F.; *Chem. Rev.* **1974**, *74*, 5.
- http://www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/, acessada em Setembro 2010.