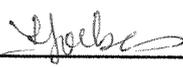


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Este exemplar corresponde a redação final da tese,
defendida por EWELIN MONICA PATURI NAVARRO CANIZARES, e aprovada
pela comissão julgadora.

Campinas, 15 de outubro de 1993.



Prof^a Dr^a Inés Joekes

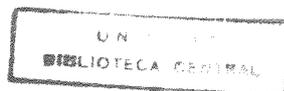
ESTUDO DA ADSORÇÃO DE ESPÉCIES QUIRAIS
EM CRISOTILA BRASILEIRA

Tese de Mestrado

Ewelín Monica Paturi Navarro Canizares 762

Orientadora: Prof^a Dr^a Inés Joekes

Co-Orientador: Prof Dr Paulo J. S. Morant



Ao Rudi, por todo seu amor, compreensão, incentivo e auxílio.

À nossa filha que em breve nascerá, marcando, junto com a finalização deste trabalho, um novo ciclo em minha vida.

AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais, pelo apoio, amor e carinho;

- À Inés, que além de orientadora e educadora foi e sempre será grande amiga;

- À Bel pela grande contribuição, sugestões e amizade;

- Ao Paulo Moran, pela co-orientação do trabalho;

- À Claudia e à Sonia pela ajuda nas medidas experimentais;

- A todos amigos e colegas de grupo;

- Ao pessoal da APG-UNICAMP;

- Ao CNPq pelo apoio financeiro;

- A todos que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

ÍNDICE

Resumo

Abstract

I-Introdução.....	1
I.1-Adsorção em Crisotila.....	2
I.1.1-Características da Crisotila.....	2
I.2-Resolução de Enantiômeros.....	7
I.2.1-Enantiomeria e Quiralidade.....	7
I.2.2-Resolução.....	10
I.2.3-Cromatografia com Colunas Quirais.....	11
I.3-Objetivo.....	16
II-Parte Experimental.....	18
II.1-Materiais e Reagentes.....	18
II.2-Characterização da Superfície da Crisotila.....	19
II.3-Preparação da Crisotila.....	20
II.3.1-Lavagem.....	20
II.3.2-Ultra-sonificação.....	20
II.3.3-Lixiviamento.....	20
II.4-Curvas de Calibração.....	21
II.5-Obtenção dos Reagentes Suportados.....	25
II.5.1-Deposição a Partir de Adsorção por Equilíbrio em Solução.....	25
II.5.2-Deposição a Partir de Solução.....	25
II.6-Preparação de Colunas.....	26
II.6.1-Para Ensaios de Adsorção.....	26
II.6.2-Para Cromatografia Preparativa em Escala Laboratorial.....	27

II.6.3-Para CLAE Analítica.....	27
II.7-Síntese do 1-(p-nitrofeniletanol).....	28
II.7.1-Método I.....	28
II.7.2-Método II.....	29
II.8-Eluição do Par Racêmico Sobre a Fase Estacionária Quiral Desenvolvida.....	31
II.8.1-Em Coluna Preparativa.....	31
II.8.2-Em Coluna de HPLC Analítica.....	31
III-Resultados.....	32
III.1-Adsorção de Efedrina Sobre Crisotila.....	32
III.1.1-Crisotila Ultra-sonificada.....	32
III.1.2-Crisotila Lixiviada.....	36
III.2-Adsorção de DNFBG Sobre Crisotila.....	36
III.2.1-Crisotila Ultra-sonificada.....	36
III.2.2-Crisotila Lixiviada.....	37
III.3-Eluição de Paranitro Fenil Etanol em Coluna Preparativa, Preenchida com Fase Estacionária de Efedrina/Crisotila.....	38
III.4-Modelo de Adsorção da Efedrina Sobre Crisotila....	45
III.4.1-Método I.....	45
III.4.2-Método II.....	52
IV-Discussão.....	56
IV.1-Adsorção das Espécies Quirais Sobre Crisotila.....	56
IV.1.1-Adsorção de Efedrina.....	57
IV.1.2-Adsorção de DNFBG.....	59
IV.2-Eluição de Paranitrofenil Etanol em Coluna Preparativa, Preenchida com Fase Estacionária de Efedrina/Crisotila.....	61

IV.2.1-Síntese do Paranitro Fenil Etanol.....	62
IV.2.2-Modelo de Interação Entre a Efedrina Suportada e o Par Racêmico.....	62
IV.3-Eluição de Paranitro Fenil Etanol em Coluna Cromatográfica Analítica.....	68
V-Conclusões.....	72
Bibliografia.....	74

ESTUDO DA ADSORÇÃO DE ESPÉCIES QUIRAIS EM CRISOTILA BRASILEIRA

Por : EWELIN MONICA PATURI NAVARRO CANIZARES

Orientação : Prof^a. Dr^a. INÉS JOEKES

Co-Orientação: Prof. Dr. PAULO JOSÉ SAMENHO MORAN

RESUMO

Crisotila é um argilo mineral, com cela unitária $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$, de estrutura lamelar serpentizada em fibrilas cilíndricas, e potencial zeta positivo. Tem se observado um alto grau de adsorção de várias espécies sobre a crisotila, assim como sua alta atividade superficial. Este mineral foi utilizado para suportar duas espécies óticamente ativas: o hemissulfato de (-) efedrina (1R, 2S) e a (R)-(-)-N(3,5-dinitrobenzoilfenilglicina). Sendo a primeira um conhecido intermediário de síntese orgânica e a segunda uma das substâncias mais usadas no desenvolvimento de fases estacionárias quirais para cromatografia, estudou-se sua adsorção em crisotila, em diversos solventes. Estudou-se a capacidade de separação enantiomérica a partir de colunas cromatográficas recheadas com as crisotilas adsorvidas. Com isto, procurou-se estabelecer um modelo da interação das espécies orgânicas em estudo, que são fracamente ácidas ou básicas com a crisotila, e da interação da espécie adsorvida com um par enantiomérico sintetizado, paranitrofeniletanol.

Em coluna preparativa de vidro obteve-se a resolução do par. Em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando-se hexano/diclorometano (2:1) como fase móvel, obtiveram-se picos com perfil cromatográfico razoável. Com estes resultados foi possível propor um modelo de interação da efedrina e da dinitrobenzoilfenilglicina com a crisotila, consistente, e coerente, com as forças importantes no processo de adsorção e com a natureza das espécies.

ADSORPTION OF CHIRAL SPECIES IN BRASILIAN CHRYSOTILE

By: EWELIN MONICA PATURI NAVARRO CANIZARES

Advisor: INÉS JOEKES

Co-Advisor: PAULO JOSÉ SAMENHO MORAN

ABSTRACT

Chrysotile is a clay mineral, with unitary cell $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$, structured on spiral layers forming tubular fibrils, with positive zeta potential. It has been observed that several chemical species are efficiently adsorbed in chrysotile due to its great surface activity. In this work, chrysotile was used to support two optically active species: the hemisulphate of (-) ephedrine (1R, 2S) and the (R)-(-)-N(3,5-dinitrobenzoyl-phenylglycine) (DNBPG). Ephedrine is frequently used to intermediate organic syntheses, and DNBPG is one of the most common substances employed in chiral stationary phases of the Pirkle type. The adsorption of ephedrine and DNBPG on chrysotile using several solvents and the ability of enantiomeric separation from chromatographic columns filled with the adsorbed chrysotile were studied. From the results, a model for the interaction of weakly acid or basic organic structures with the chrysotile, and for the interaction of the adsorbed species with a synthesised enantiomeric mixture, the paranitrophenylethanol, is proposed.

The resolution of racemates in liquid chromatography was obtained in preparative scale. In high performance liquid chromatography, chromatographic peaks were found using hexane/methylene chloride (2:1) as mobile phase. These results allow the proposal of a model for the interaction between ephedrine/DNBPG and chrysotile, which is coherent and consistent with the very nature of the species and with the relevant processes that take place during adsorption.

I - INTRODUÇÃO

I.1 - ADSORÇÃO EM CRISOTILA

Já há muito tempo os químicos vêm se utilizando de sólidos minerais de grande área superficial com várias finalidades, por exemplo na hidrogenação catalítica. Recentemente, suas aplicações vêm sendo estendidas a suportar reagentes inorgânicos com atividade potencial como catalisadores heterogêneos em substratos orgânicos. Estes novos reagentes apresentam algumas vantagens sobre as técnicas convencionais em soluções homogêneas, entre elas a facilidade de manipulação e de isolamento do produto final de reação, condições experimentais brandas e o aumento de rendimento de reação e/ou seletividade do reagente.^{1,2} Na década de 80, Lazlo e Cornnellis⁵⁻⁷ introduziram o uso de CLAYFEN e CLAYCOP, que são catalisadores versáteis para reações orgânicas heterogêneas, constituídos, respectivamente, de nitrato férrico e nitrato cúprico dispersos em argila montmorrilonita K10. Esta argila é um derivado de hidrossilicato de alumínio, contendo um certo número de cátions interconversíveis.⁵⁻⁷

Os chamados minerais asbestiformes são silicatos fibrosos encontrados na natureza e dividem-se em duas classes: os anfibólios e as serpentinas.⁹ Os termos amianto e asbestos, que significam respectivamente incorruptível e incombustível, são nomes comerciais atribuídos a esses minérios. A crisotila,

pertencente à classe das serpentinas, é a variedade mais importante comercialmente, e é utilizada neste trabalho.

Em tese de mestrado defendida em 1989, Parizzoto⁴ calculou a área superficial da crisotila ($S = 31,5\text{m}^2/\text{g}$), usando medidas com azul de metileno. Observou as propriedades adsorventes da crisotila, suportando *Saccharomyces Cerevisiae*. Ensaio efetuado com este material, mostraram que o fermento de pão suportado apresentou alta reatividade e facilidade de manipulação. Em razão deste sucesso iniciou-se um estudo de aproveitamento das propriedades intrínsecas da crisotila, tentando dispersar sais inorgânicos neste material. Imobilizou-se nitrato férrico sobre a crisotila obtendo-se material semelhante ao CLAYFEN e com este efetuou-se um ensaio inicial de nitração de 2-naftol, isolando-se o 1-nitro-2-naftol com 50% de rendimento, sendo que Lazlo obteve 63% de rendimento após vários ensaios com CLAYFEN.⁵⁻⁷ Reagentes oxidantes como óxido de manganês, óxido crômico e permanganato de potássio também foram adsorvidos e tiveram suas reatividades testadas.

I.1.1 - CARACTERÍSTICAS DA CRISOTILA

A crisotila é um argilo mineral de estrutura lamelar serpentizada em fibras cilíndricas, cuja cela unitária é $\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$. Esta é, na verdade, um complexo de caráter polar formado por camadas de Si_2O_5 tetraédrico (tridimita) e por $\text{Mg}_3(\text{OH})_4$ octaédrico (brucita). As diferenças entre as dimensões das camadas de tridimita e brucita são responsáveis pelo

encurvamento do complexo, sendo que os componentes tetraédricos encontram-se do lado interno da curvatura.⁴

Cada fibrila possui de 8 a 12 camadas de brucita/tridimita, variando de acordo com a procedência, com diâmetro externo que varia de 15 a 50nm. O lado externo das fibrilas é constituído por $Mg(OH)_2$.

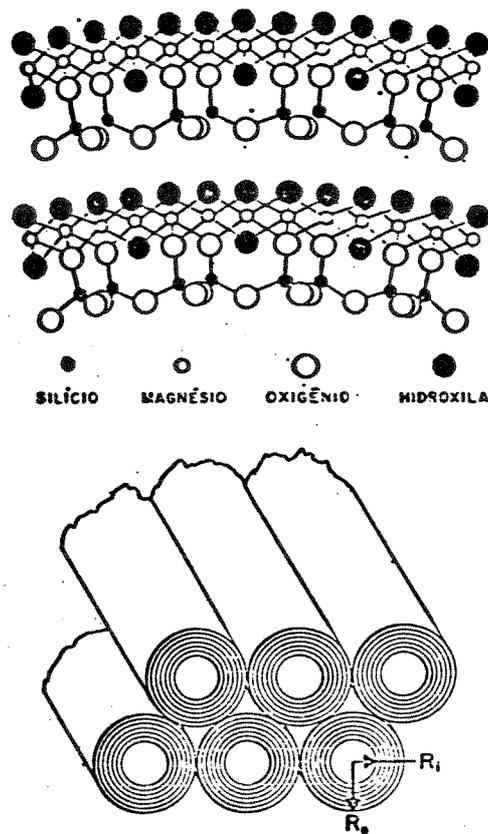


FIGURA 1 - ESQUEMA DE PARTE DA CAMADA DA PAREDE DE UMA FIBRILA DE CRISOTILA

Tem sido observado o aparecimento de descontinuidades na superfície de crisotilas com quebra de ligações químicas entre os átomos constituintes, destas quebras podem surgir átomos com baixa coordenação contendo carga residual, que normalmente

constituem os sítios ativos da superfície. Estes sítios podem ser classificados como doadores ou receptores de eletrons, sendo então denominados como sítios básicos ou ácidos. Investigações sobre a presença de sítios básicos e ácidos na crisotila já foram iniciadas.⁸⁻¹⁰ Bonneau e Pezerat⁸ determinaram qualitativamente e quantitativamente os sítios ácidos e básicos presentes na superfície de crisotilas.

- SÍTIOS ÁCIDOS

Os sítios ácidos são geralmente estudados por adsorção de piridina, que é investigada por mudanças no seu espectro de infra-vermelho. Bonneau e Pezerat⁸ observaram o aparecimento de bandas quando da comparação de espectros de infra-vermelho da crisotila, piridina e crisotila + piridina. Através dessa comparação concluiu que nenhuma das bandas caracterizava uma adsorção em sítios ácidos na superfície, pois elas desapareciam quando a amostra era submetida a vácuo a 150 °C, confirmando assim o caráter físico da adsorção da piridina.

-SÍTIOS BÁSICOS

Quanto à presença de sítios básicos, esta foi observada em uma densidade variada, mas relativamente alta ($0,2 - 3,8 \times 10^{18}$ moléc/m²).⁸ Na investigação de sítios básicos se requer o uso de várias moléculas de prova, com maior ou menor caráter ácido. De acordo com a molécula utilizada o número de sítios será maior ou menor, permitindo uma avaliação de sua densidade. Bonneau e Pezerat⁸ estudaram a adsorção de fosfato, de CO₂ e dos ácidos benzóico e acetilsalicílico.

- A adsorção de fosfato foi realizada em dois valores de pH (7 e 11,5). Em pH = 7 a quantidade adsorvida foi de $8,0 \times 10^{17}$ moléc/m², enquanto que em pH = 11,5 foi de $4,0 \times 10^{17}$ moléc/m².

- A isoterma de adsorção do CO₂ sobre crisotila pré-aquecida a 100°C revela uma característica irreversível, que ocorre um pouco depois do processo alcançar 25torr, correspondendo a $8,0 \times 10^{17}$ moléculas de CO₂/m². Sobre crisotila seca à vácuo e à temperatura ambiente, o CO₂ adsorvido a 140torr foi de $3,0 \times 10^{17}$ moléculas de CO₂/m², valor bastante próximo ao obtido para a adsorção de fosfato, o que é coerente com o fato do CO₂ ser um ácido fraco que reage somente com bases fortes.

- Vários autores têm notado a grande afinidade da crisotila por ácidos orgânicos.⁸⁻¹⁰

A adsorção de ácido benzóico foi estudada por Bonneau e Pezerat⁸. A 80°C, em fase gasosa, são adsorvidas $3,8 \times 10^{18}$ moléculas/m². Já na adsorção de ácido acetilsalicílico, realizou-se o experimento à temperatura ambiente, resultando em $9,0 \times 10^{17}$ moléculas/m². Este autor propõe que a molécula de ácido benzóico, adsorvida sobre superfície pode apresentar duas configurações, uma onde o grupo fenila estaria horizontal à superfície da crisotila e outra onde estaria vertical, sendo esta última a mais concordante com o número de sítios obtidos.

A crisotila possui um sistema capilar de dimensões de poro específicas, sabe-se ainda que este sistema capilar encontra-se preenchido por moléculas de água quimicamente ligadas à superfície da crisotila.¹¹ Estas moléculas funcionam como um

bloqueio a substâncias químicas não polares e permitem o acesso de moléculas polares. Com vistas a estas características, este material possui potencial para ser utilizado como fase estacionária em cromatografia líquida, onde um fator importante na separação dos solutos é a competição entre fase móvel e fase estacionária.

Além dessas características a crisotila apresenta outras também muito importantes como:

- Boa resistência química, exceto frente a ácidos fortes;

- Resistência à luz solar, ao ozônio e altas temperaturas;

- Alta resistência a esforços mecânicos;

- Boa flexibilidade;

- Potencial zeta positivo numa larga faixa de pH (3-10). Define-se potencial zeta como o potencial elétrico no plano de cisalhamento de uma dada superfície, que depende em maior ou menor grau do método de medida.

Sob o ponto de vista físico-químico, o alto grau de adsorção e a estabilidade dos sistemas imobilizados são consequência da elevada atividade superficial da crisotila e necessitam de estudo detalhado. Inicialmente, a atividade superficial das fibras é devida à natureza iônica da superfície, mas para melhor entender e caracterizar a superfície da crisotila e os tipos de interação que ocorrem quando da adsorção de espécies sobre ela, estudos têm lançado mão de recursos cromatográficos.^{12,13} Papirer¹⁴ utiliza-se de cromatografia

gasosa.

Devido às seguidas observações de que as espécies suportadas em crisotila mantiveram ou aumentaram suas atividades de interesse, ou seja, a aproximação de outras moléculas não foi impedida ou sequer dificultada, acredita-se que na adsorção de espécies orgânicas quirais ocorra o mesmo. Estas, graças à especificidade de sua interação, podem fornecer detalhes importantes à compreensão do mecanismo de adsorção em crisotila.

I.2 - RESOLUÇÃO DE ENANCIÔMEROS

I.2.1 - ENANCIOMERIA E QUIRALIDADE

Entre os vários tipos de isomeria dos compostos de carbono, existe uma muito particular que é a estereoisomeria, onde a diferença entre as moléculas encontra-se no seu arranjo espacial, e que é de grande importância nas reações orgânicas, bioquímicas e biológicas. Entre as espécies que a apresentam, destacam-se os diastereoisômeros e os enantiômeros.

Enantiômeros são compostos que possuem estruturas não superponíveis a suas imagens especulares, eles relacionam-se estruturalmente como a mão esquerda e a direita. Na ausência de outras espécies opticamente ativas, os enantiômeros apresentam propriedades físicas idênticas tais como ponto de ebulição, de fusão e densidade, assim como suas propriedades espectroscópicas, com a única exceção sendo a direção do desvio da luz plano

polarizada. Neste caso a luz polarizada sofrerá uma determinada rotação, para cada enantiômero, em igual extensão, mas em direções opostas. Devido a isto eles recebem o nome de isômeros óticos.¹⁵ Um enantiômero é dito dextrorrotatório quando desvia a luz plano polarizada para a direita (sentido horário) e levorrotatório quando desvia para a esquerda (sentido anti-horário).

Estas moléculas são ditas quirais (do grego cheiral = mão). Quiralidade é condição necessária e suficiente para a enantiomeria. Todas as moléculas opticamente ativas são quirais. A presença de um carbono assimétrico (átomo de carbono ligado a quatro ligantes diferentes) indica normalmente uma molécula quiral. A maior parte das moléculas quirais é constituída pelos enantiômeros nos quais a assimetria molecular (quiralidade) é devida à coordenação tetraédrica. Quiralidade também pode existir em moléculas que não possuam centros quirais. A quiralidade de uma molécula é descrita especificando-se sua configuração. As convenções que alcançaram maior uso são: a de Fischer (D ou L), e a de Cahn-Ingold-Prelog (R ou S).¹⁵⁻¹⁷ Na nomenclatura R (Rectus) - S (Sinistrus), atribui-se aos quatro substituintes ligados ao carbono, quiral, prioridades decrescentes com o número atômico, por exemplo Br > N > C > H, portanto Br = 1, N = 2, C = 3 e H = 4, e então procede-se como descrito na Figura 2.

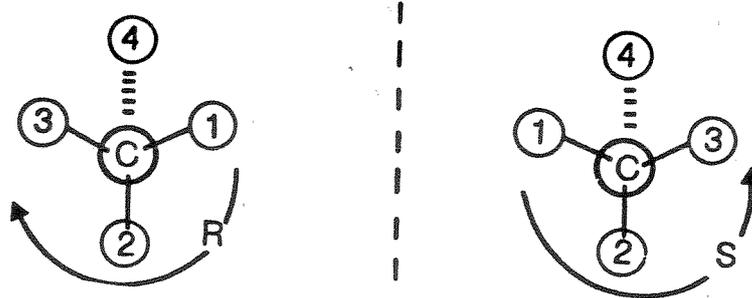
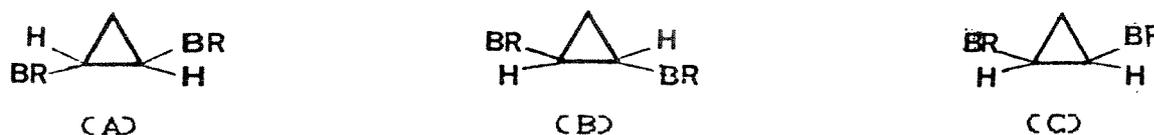


FIGURA 2 - Sistema Cahn-Ingold-Prelog para definição das configurações R e S. ¹⁸

Diastereoisômeros são estereoisômeros que não são enantiômeros, ou seja, isômeros espaciais que não são imagens especulares um do outro. Eles possuem propriedades físicas e físico-químicas, tais como solubilidade, diferentes. Vejamos o exemplo a seguir: ¹⁹



A e B são enantiômeros
 C é diastereoisômero de A
 C é diastereoisômero de B

FIGURA 3 - ESTEREISÔMEROS DO 1,2 DIBROMO-CICLOPROPANO

I.2.2 - RESOLUÇÃO

A obtenção de substâncias opticamente puras é de suma importância na Química e Bioquímica atuais, pois isômeros óticos ocorrem amplamente na natureza e são utilizados com fins farmacêuticos, para estudos bioquímicos experimentais e como intermediários na síntese de produtos ativos biologicamente. O reconhecimento quiral é fator determinante em processos bioquímicos (enzimáticos, farmacêuticos), onde se sabe bem que diferentes antípodas têm efeitos diferentes.^{20,21}

Para se obter compostos quirais para estudo em laboratório pode-se:²²

i - Comprar o produto de catálogo, o que às vezes é excessivamente caro, além de servir apenas como padrão para uma suposta rota de síntese a ser desenvolvida e necessitar de testes quanto à pureza química e/ou à pureza enantiomérica, pois às vezes os fornecedores especificam somente a primeira.

ii - Isolar compostos quirais de partida de fontes naturais; mas nem sempre os produtos naturais são 100% opticamente puros.

iii - Realizar transformações assimétricas, que envolvem variações de equilíbrio entre enantiômeros e epímeros (diastereoisômeros com diferença de configuração em um só centro quiral).

iiii - Fazer síntese assimétrica - esta baseia-se na conversão de grupos pró-quirais em quirais e teve seus princípios estabelecidos por Morrison e Mosher.²³

iiii - Efetuar a resolução dos enantiômeros - esta

consiste na conversão de uma mistura racêmica a um par de diastereoisômeros, que possuem propriedades físicas e químicas diferentes e podem ser separados por técnicas convencionais (cristalização, destilação) ou mais modernas (cromatografia).

Técnicas de resolução às vezes são combinação de arte e ciência e têm sido o único meio de se isolar diversos compostos quirais. Desde o começo dos anos 70, graças a esforços de Wilen, Jacques et al.²¹, a teoria e a prática dos métodos de resolução vêm sendo expandidos e explicados.

O custo de um agente de resolução perfeitamente adequado com a necessária pureza ótica pode ser bastante elevado, o que é justificável quando não se possui outra alternativa.

Vários estudos mais recentes levam na direção da resolução via métodos cromatográficos. Métodos cromatográficos aquirais podem ser bem utilizados para separar um par de diastereoisômeros, entretanto grandes esforços vêm sendo devotados a métodos cromatográficos de resolução direta, com destaque aqueles que usem fase estacionária quiral (Chiral Stationary Phase - CSP).²⁹⁻³² Estes serão descritos no item a seguir.

1.2.3 - CROMATOGRAFIA COM COLUNAS QUIRAIS

A cromatografia de coluna foi a forma original de cromatografia, inventada por Tsvet no fim do século passado. Esta invenção foi virtualmente ignorada por aproximadamente 50 anos,

até que em 1931 Kuhn e Lederer repetiram alguns experimentos de Tsvet e a partir daí a técnica começou a ser investigada.^{92,99}

Observou-se um sensível aumento na solução de problemas estereoquímicos por meio de cromatografia líquida (LC) devido ao seu baixo custo e simplicidade de operação^{18,94}. O desenvolvimento de uma metodologia estereoquímica necessária para a solução destes problemas é realmente importante por seu alto e amplo potencial de aplicação. O advento da moderna técnica de CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), que tornou possível uma cromatografia líquida rápida, e adicionada da compreensão do mecanismo de interação em fases estacionárias quirais, proposto por Pirkle et al.^{29,24,95,97-40}, tem-se notado um número crescente de soluções via cromatografia líquida para resolução de enantiômeros.

A separação de enantiômeros requer a intervenção de um agente quiral, quer como agente derivante transformando-os em diastereoisômeros, quer na forma de uma interação de curta duração dos enantiômeros com o agente quiral, gerando "complexos diastereoisoméricos". O primeiro meio é chamado de resolução indireta enquanto o segundo é chamado de resolução direta.²³ Se durante a resolução o agente quiral é a própria coluna cromatográfica (ou seja, uma coluna empacotada com uma fase estacionária quiral), então o efeito é que os complexos diastereoisoméricos terão estabilidades diferentes e assim os enantiômeros eluirão em tempos diferentes. (Fig. 4⁹⁶)

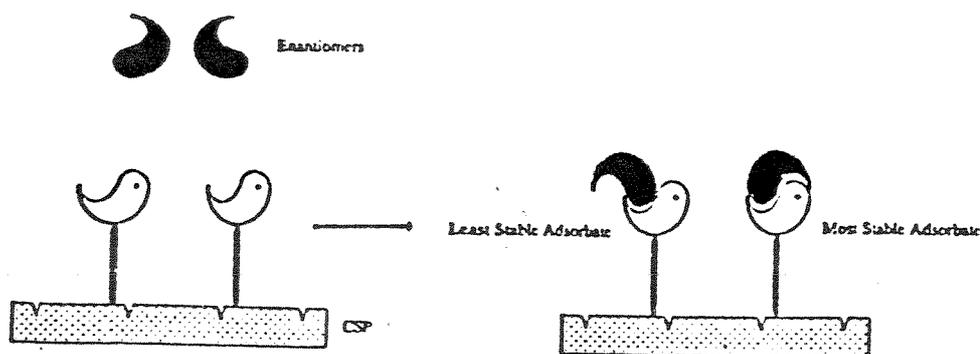


FIGURA 4 - FORMAÇÃO DE ADSORBATOS DIASTEREODISOMÉRICOS, QUE COM DIFERENTES ENERGIAS LIVRES PERMITEM A SEPARAÇÃO ENANCIOMÉRICA EM FASES ESTACIONÁRIAS QUIRAIS

A cromatografia de resolução direta está livre de várias restrições que atuam sobre a indireta. A maior diferença é que os métodos diretos não necessitam de padrão externo de pureza enantiomérica para determinar a pureza da amostra com precisão, pois a pureza enantiomérica é determinada pelas áreas relativas dos picos obtidos. Do ponto de vista preparativo, a resolução direta pode oferecer rendimentos maiores devido ser desnecessário derivar e rederivar o par enantiomérico.

As fases estacionárias quirais podem ser de dois tipos²⁹:

1 - De ocorrência natural - quartzo, lactose, amido de batata, celulose triacetilada. Obteve-se algum pequeno sucesso, mas nunca se compreendeu o mecanismo quiral.

2 - Sintéticas - Dividem-se em 2 categorias:

i - cooperativa - Aquela na qual uma montagem de subunidades atuam concentradamente alcançando o reconhecimento quiral. Embora as subunidades possam ser quirais ou não, a montagem deve ser. Por exemplo um polímero que possua um esqueleto quiral é uma fase estacionária cooperativa.

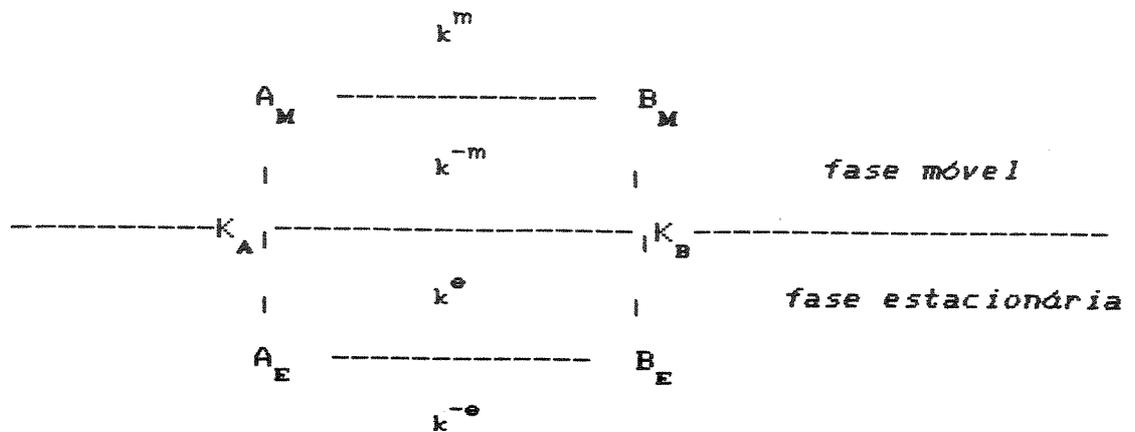
ii - independente - aquela na qual moléculas quirais, cada uma capaz de reconhecimento quiral, estão ligadas a um suporte e operam independentemente na distinção entre os enantiômeros.

A separação de enantiômeros sobre uma fase estacionária quiral envolve a formação de complexos diastereoisoméricos transitórios, com energias livres diferentes,⁹⁵ de acordo com a Figura 5. Sabe-se que a conversão de A em B envolve a quebra de uma ligação, na maioria dos casos, enquanto a formação de A_E, ou B_E a partir de A_M ou B_M, segundo o modelo exposto a seguir, deve envolver interações dipolares, pontes de hidrogênio e interações de nuvens Π , razoavelmente estabilizadoras.

Para que a resolução enantiomérica ocorra deve haver três interações simultâneas entre a fase estacionária quiral e os três grupos particulares no soluto quiral.^{29,24,96-40} O uso desta hipótese, primeiramente sugerida por Dalgliesh⁴¹ que é conhecida como regra de interação a "três pontos", levou ao planejamento e construção de toda uma classe de fases estacionárias quirais altamente efetivas,⁹⁶ pois uma única fase estacionária quiral

$$K_A = [A_E]/[A_M]$$

$$K_B = [B_E]/[B_M]$$



- onde:
- A e B são um par de enânciômeros;
 - A_M e A_E , B_M e B_E são pares de diastereoisômeros;
 - os índices M e m relacionam-se com a fase móvel;
 - os índices E e e relacionam-se com a fase estacionária;
 - K é a constante de equilíbrio envolvida no processo da passagem da espécie da fase móvel para a fase estacionária;
 - k é a constante de velocidade da reação de conversão de A em B.

FIGURA 5 - EQUILÍBRIOS QUÍMICOS POSSÍVEIS NUMA CONVERSÃO ENANCIOMÉRICA ENVOLVENDO FASE MÓVEL E FASE ESTACIONÁRIA.

nunca será suficiente para separar todos tipos diferentes de pares enancioméricos, mas baseando-se neste princípio torna-se possível planejar fases estacionárias para cromatografia líquida que separe uma boa variedade de solutos.

A produção de uma fase estacionária quiral envolve a participação de um composto que possua os três (ou mais) sítios

necessários para a diferenciação do par enantiomérico presente no soluto a ser resolvido. Este composto é então ligado a um suporte sólido (os mais usuais são sílica, celulose e alumina)^{42,43}.

Tem-se na figura abaixo um esquema representativo do modelo de interação de três pontos para dois enantiômeros sobre uma mesma fase estacionária quiral. As interações são A-A', B-B' e C-C'.

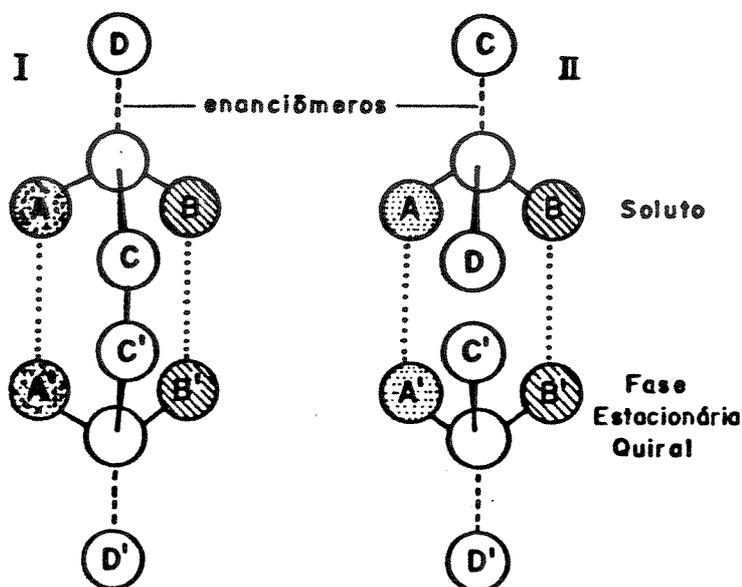


FIGURA 6 - DEMONSTRAÇÃO DO MODELO DE INTERAÇÃO DE "TRÊS PONTOS"¹⁸

I.3 - OBJETIVO

Inicialmente, tendo em vista as excelentes características adsorventes da crisotila, tem-se neste trabalho como objetivo o estudo da adsorção de duas espécies quirais sobre

a crisotila. São elas hemissulfato de (-) efedrina (1R, 2S) e (R)-(-)-N-(3,5-dinitrobenzoil fenilglicina), doravante nomeada DNBF. A primeira é um conhecido intermediário de diversas sínteses orgânicas com aplicações farmacêuticas, enquanto a segunda é um dos derivados dinitrobenzoílicos mais utilizados por Pirkle et al. na construção de fases estacionárias quirais.^{24,98,44-46}

Ao adsorver-se estas substâncias sobre crisotila, busca-se melhorar a compreensão do mecanismo de adsorção sobre esta superfície, inferindo um modelo para as moléculas em estudo que possuem fraco caráter ácido-base. Com o material obtido, pretende-se estudar a interação das espécies adsorvidas com pares enantioméricos, visando a obtenção de um material de possível aplicação como fase estacionária quiral para cromatografia. Esta constituição tem por finalidade a obtenção de um material muito aplicável à síntese orgânica com uma enorme redução de custos, uma vez que se encontram no mercado somente colunas quirais importadas e a crisotila é um material abundante.

II - PARTE EXPERIMENTAL

II.1 - MATERIAIS E REAGENTES

CRISOTILA - Tipo 5RL, extraída em Goiás - BR.

EFEDRINA e DNBFG - Grau de pureza enantiomérica.

REAGENTES - Grau P.A.

SOLVENTES - Hexano: 1) P.A., submetido a destilação.

2) Grau espectroscópico

3) Grau cromatográfico

Diclorometano: 1) P.A.

2) Grau cromatográfico

Etanol: 1) Destilado

2) P.A.

Água: destilada.

As estruturas da efedrina e da DNBFG são as seguintes:

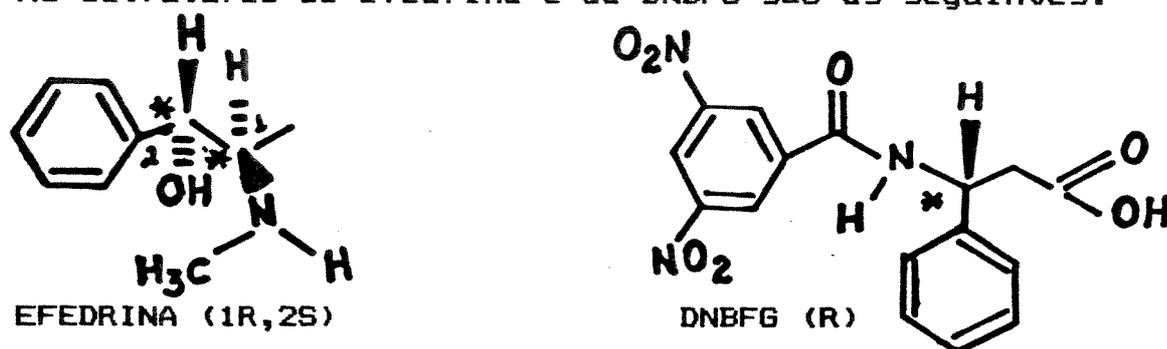


FIGURA 7 - ESTRUTURA DAS ESPÉCIES EM ESTUDO

A efedrina utilizada encontra-se na forma combinada

($C_{10}H_{15}ON \times 1/2H_2SO_4$).

II.2 - CARACTERIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DA CRISOTILA

A crisotila utilizada é proveniente da mina de Uruaçu, no estado de Goiás, que de acordo com o "Padrão de classificação Canadense" para asbestos pertence ao grupo SR. O material pertencente a este grupo é usado principalmente na confecção de papéis e papelões. Como foram escolhidas somente as fibras longas a crisotila utilizada é do tipo SRL.⁴ Possui área superficial específica de $S = 14,9 \text{ m}^2/\text{g}$ (BET-adsorção de N_2), coloração branca a creme acinzentado, densidade de 2,4 a 2,6g/cm³, pH 10,3 e potencial zeta em água positivo.⁴⁷ Sua composição média é a seguinte:⁴⁸

- 40% de SiO_2
- 38% de MgO
- 13% de H_2O
- 4% de Fe_2O_3
- 2 % de Al_2O_3

Amostras de crisotila in natura e crisotila lixiviada, tanto na forma normal quanto seus pós, foram coladas sobre o porta amostra e receberam uma cobertura de ouro super aquecido numa câmara de vácuo (sputerring). As amostras assim preparadas foram então observadas no microscópio eletrônico de varredura Carl Zeiss. Dessas observações efetuou-se uma série de fotos, que foram reveladas e analisadas, onde se observa as características fibrosas do material a nível microscópico, tanto na crisotila in natura, quanto na lavada e na lixiviada.

II.3 - PREPARAÇÃO DA CRISOTILA

II.3.1 - Lavagem

Parte-se de 5g de crisotila in natura e lava-se por 20min. sob jato forte de água corrente sobre peneira Tyler 250mesh (dimensão de poro = 0,0062mm). Coloca-se em placas de vidro e seca-se na estufa a 120°C por 8 horas.

II.3.2 - Ultra-sonificação

Parte-se de 3g de crisotila previamente lavada e coloca-se num béquer de 400ml, com 300ml de água destilada. Agita-se eventualmente e deixa-se sob ultra-som por 30min. Utilizou-se aparelho Ultra-sonifier B-12/25 kHz, do tipo ponta. Retira-se e filtra-se, em funil de Büchner, sobre papel de filtro comum. Leva-se para secar na estufa, a 120°C por 8 horas. Este tratamento é feito para se eliminar quaisquer tipos de impurezas da superfície da crisotila e para efetuar a soltura das fibrilas.

II.3.3 - Lixiviamento

Partindo-se da crisotila lavada e seca em estufa, pesa-se 25,00g da mesma, coloca-se em balão de 500ml, adiciona-se com uma proveta, 250ml de ácido clorídrico concentrado, e adapta-se ao balão um condensador de refluxo. Deixa-se o sistema

em refluxo, por três dias, no interior de uma capela. Após o refluxo, filtra-se o material com filtro de placa de vidro sinterizado, lavando-se continuamente com água destilada, resultando num sólido de coloração branca e aspecto fibroso.

II.4 - CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Prepara-se solução a $1,00 \times 10^{-4}$ M de efedrina e DNBFG em água destilada. Com esta solução fizeram-se diluições e construíram-se as curvas de calibração efetuando-se medidas na região de UV nos aparelhos Perkin Elmer Lâmbda 3A e Carl Zeiss. Procede-se da mesma forma para as soluções preparadas com tampões pH = 7 e pH = 9, assim como para as preparadas em etanol destilado e etanol P.A.. A solução tampão pH = 7 é preparada no próprio balão de 100ml, com 50ml de solução 0,1M de dihidrogenofosfato de sódio e 29,1ml de solução 0,1M de hidróxido de sódio. A solução tampão pH = 9 foi preparada da mesma forma, com 50ml de solução 0,025M de bórax e 4,6ml de solução 0,1M de ácido clorídrico.

As curvas obtidas são apresentadas nas Figuras 8, 9 e 10. Os espectros de absorção, na região de 190 a 400nm, das espécies em estudo são apresentados nas Figuras 11 e 12.

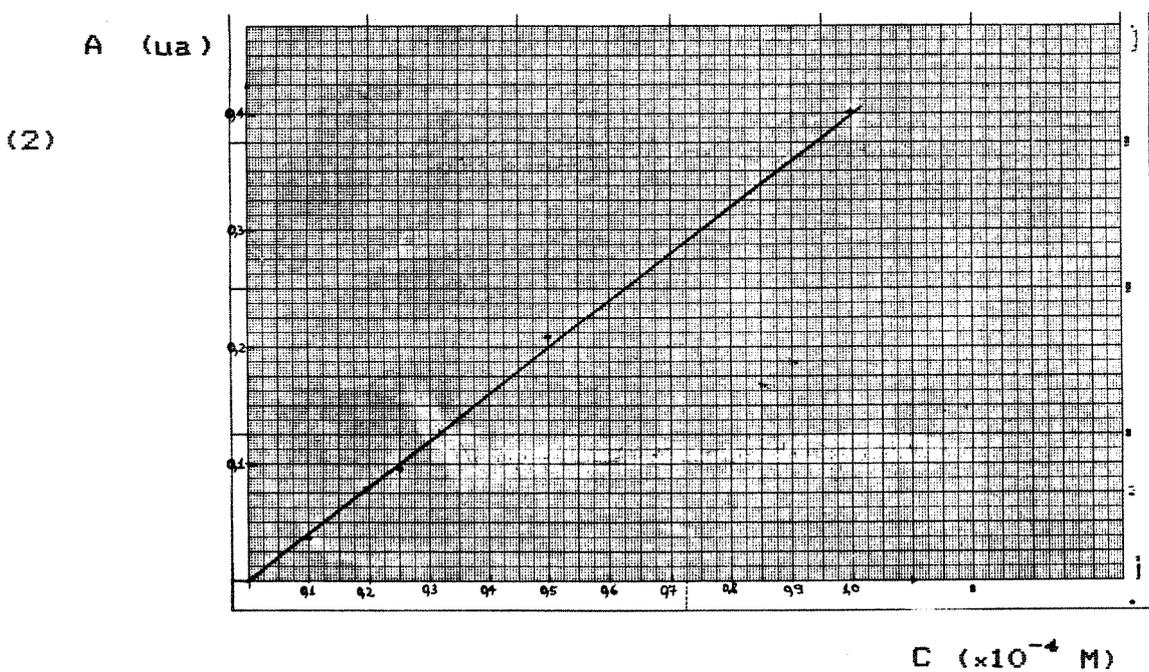
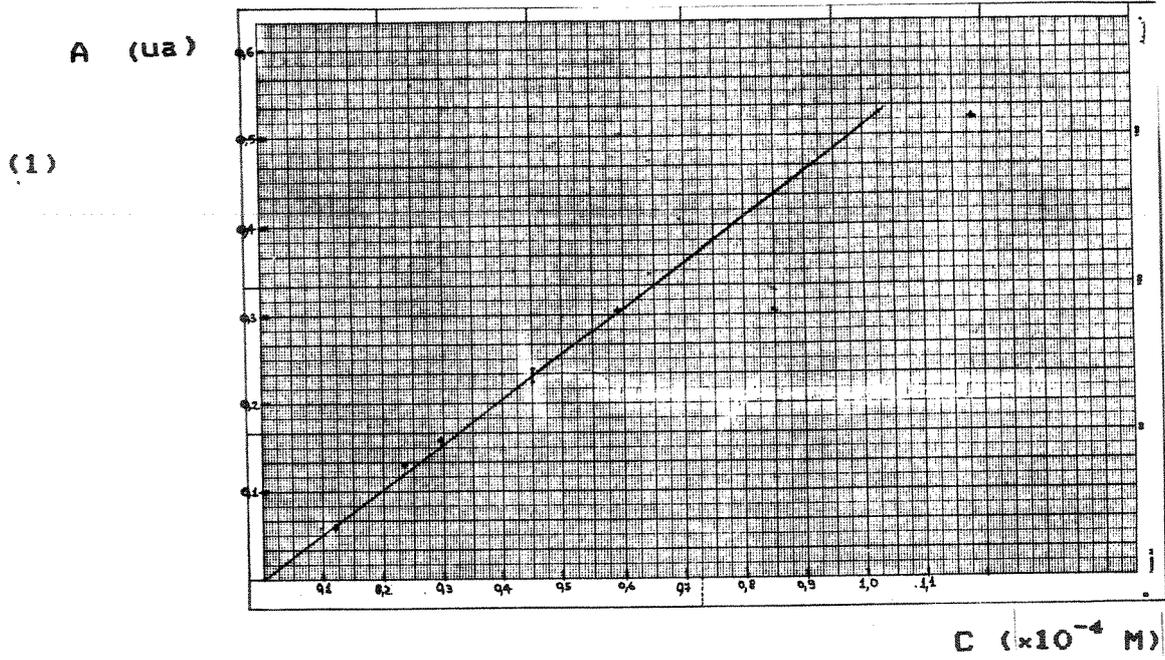


FIGURA 8 - CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA A EFEDRINA EM TAMPÕES pH=7 (1) E pH=9 (2). ABCISSA: C (0-1,2 $\times 10^{-4}$ M), ORDENADA: A (0-0,6ua)

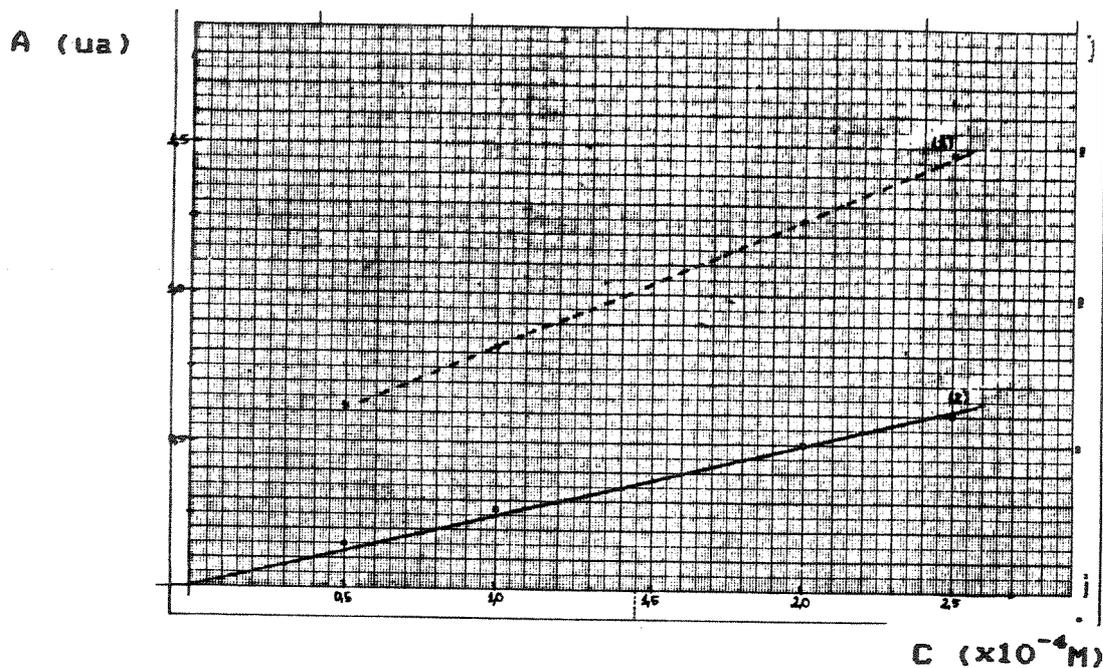


FIGURA 9 - CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA A DNBFG EM TAMPÃO pH= 9, EM DOIS COMPRIMENTOS DE ONDA: (1) 205 nm E (2) 236 nm. ABCISSA: C (0-2,5x10⁻⁴M); ORDENADA: A (0-1,5ua).

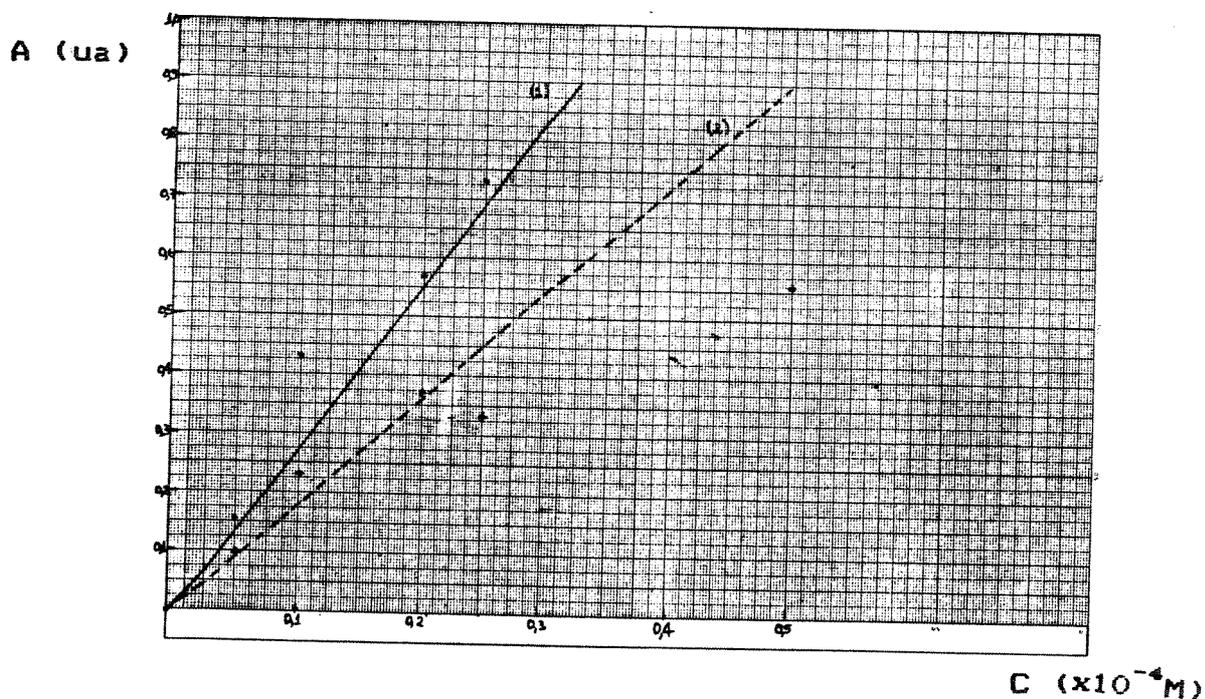


FIGURA 10 - CURVAS DE CALIBRAÇÃO DA DNBFG (1) E DA EFEDRINA (2) EM ETANOL P.A. ABCISSA: C (0-6,0x10⁻⁵M); ORDENADA: A (0-1,0ua).

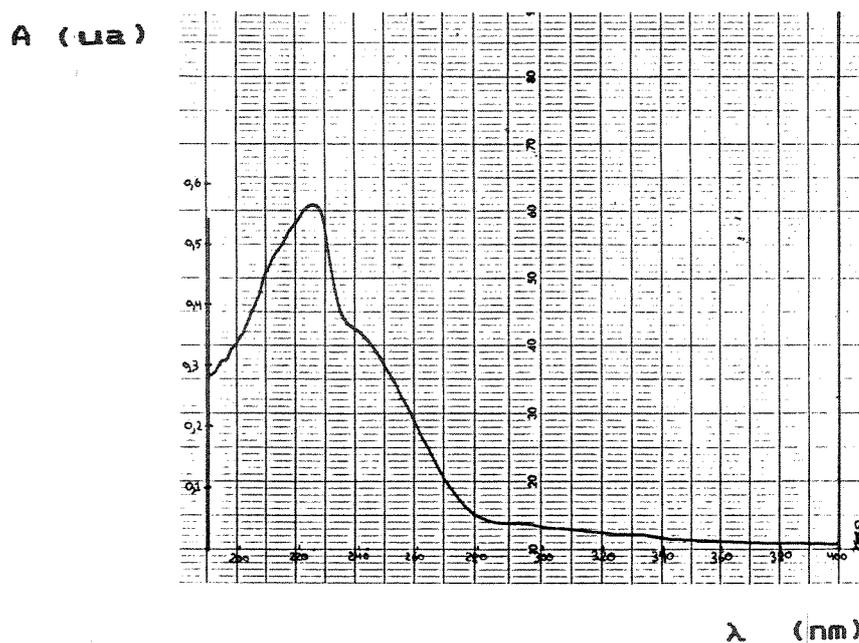


FIGURA 11 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO NO UV/VISÍVEL DA DNBFG, OBTIDO EM APARELHO DMS100. $\lambda_{\text{máx1}} = 225 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{máx2}} = 240 \text{ nm}$.

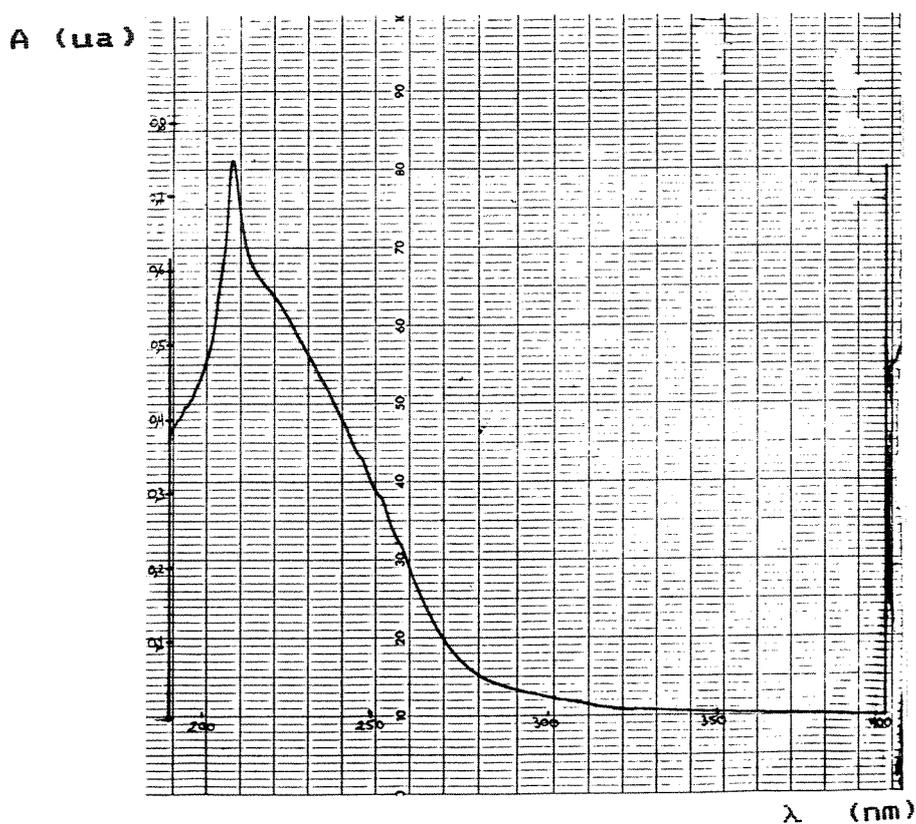


FIGURA 12 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO NO UV/VISÍVEL DA EFEDRINA, OBTIDO EM APARELHO λ 3A. ABCISSA: λ (190-400nm), ORDENADA: A (0 - 0,95 μ a). VELOCIDADE DO PAPEL 10 nm/CM. $\lambda_{\text{máx}} = 209 \text{ nm}$.

II.5 - OBTENÇÃO DOS REAGENTES SUPORTADOS

II.5.1 - Deposição a partir de adsorção por equilíbrio em solução

Prepara-se solução a $1,00 \times 10^{-4}M$ de efedrina ou DNBFG em água destilada, adiciona-se então 1g de crisotila, ultrassonificada ou lixiviada. Deixa-se sob agitação termostaticada por 30min. Filtra-se sob funil de placa porosa e analisa-se o filtrado em espectrofotômetro Carl Zeiss no comprimento de onda de 215nm para a efedrina e 236nm para a DNBFG. Procede-se da mesma forma para soluções com tampões pH = 7 e pH = 9, preparadas como no ítem II.4, assim como para as preparadas em etanol destilado e etanol P.A..

Optou-se por método de cálculo da quantidade de espécie adsorvida pelo balanço de massa. Utilizaram-se medidas na região de UV devido a sua conhecida rapidez e precisão.

II.5.2 - Deposição a partir de solução

Prepara-se solução com 6-7 micromoles, ou 0,2mmoles, da substância em 20ml, ou 100ml, de metanol, adiciona-se 1g, ou 15g, de crisotila, deixa-se 15min com agitação eventual. Evapora-se o metanol em rotaevaporador e deixa-se sob vácuo por 1-3 horas (até seca). A crisotila assim preparada é usada para enchimento de colunas. Para determinar o grau de adsorção, em alguns ensaios o

material é submetido a três lavagens sucessivas com 50ml de etanol destilado ou P.A. sobre funil de placa porosa. O filtrado é transferido para balão volumétrico de 100ml e tem seu volume completado. As medidas são feitas em triplicata. O espectro de absorção na região de UV (190-400nm) é feito no espectrofotômetro Perkin Elmer λ3A.

II.6 - PREPARAÇÃO DE COLUNAS

II.6.1 - Para Ensaios de Adsorção

Com a crisotila preparada como indicado em II.5.2, usando-se efedrina, preenche-se uma coluna de vidro de 45cm de comprimento e 2,5cm de diâmetro interno, usando-se etanol como eluente. Elui-se com etanol P.A., retirando-se alíquotas de 100ml da coluna em balão volumétrico, que são analisadas no espectrofotômetro Perkin Elmer λ3A. Colunas feitas em três conjuntos de duplicatas. Elui-se com o solvente até que o balanço de massa apresentasse resultados constantes.

O mesmo procedimento foi seguido utilizando-se como solventes de eluição hexano, diclorometano, isopropanol, e éter.

II.6.2 - Para Cromatografia Preparativa em Escala Laboratorial

Partindo-se de 10g de crisotila, previamente adsorvida de efedrina pelo processo do ítem II.5.2, preencheu-se, à seco, uma coluna cromatográfica de vidro. Coluna com reservatório para eluente e dimensões de 1cm de diâmetro interno e 25cm de comprimento. Esta coluna foi escolhida devido a suas dimensões, e a presença do reservatório faz-se necessária a fim de diminuir a evaporação do eluente, visto que o fluxo na coluna é lento e a sua secagem deve ser evitada. A parte superior da coluna foi conectada à saída de ar comprimido. Elui-se cerca de 50ml da fase móvel (hexano/diclorometano 2:1).

II.6.3 - Para CLAE Analítica

Dispôs-se de uma coluna de aço inox 316, com dimensões 25cm de comprimento e 0,46cm de diâmetro interno. Em suas extremidades foram adaptados filtros de aço poroso, fixos à coluna por conexões de aço inox.

Tomando-se 5g das partículas que passam por uma peneira Tyler de 60 mesh e ficam retidas numa peneira de 250 mesh, da crisotila adsorvida com efedrina, procede-se ao enchimento da coluna. O material seco é colocado com o auxílio de uma espátula, submetendo-se a coluna a ligeiras vibrações durante o procedimento. Esta coluna é acoplada diretamente à bomba de empacotamento Haskel e, sob fluxo de hexano, é submetida à pressão de 3000 psi. Após alguns minutos cessa-se a operação,

desacopla-se a coluna, abrindo-a e completando-a com mais material. Tal procedimento é repetido até que a coluna esteja totalmente preenchida com a fase estacionária. Segue-se um período de condicionamento no cromatógrafo HP 1090, por 8 horas, utilizando-se hexano como solvente de eluição.

II.7 - Síntese do 1-(p-nitrofenil)etanol

II.7.1 - Método I⁴⁹

Paranitroacetofenona (2,2g = 13,3 mmol) é dissolvida em etanol por aquecimento, em um balão de 100ml. A solução assim obtida é resfriada sobre gelo a fim de produzir uma suspensão fina do sólido. Adiciona-se, pouco a pouco e durante 20 minutos, borohidreto de sódio (0,6g), sob agitação constante, acompanha-se a evolução da reação com cromatografia em camada delgada. Adiciona-se então, água (20ml) e a mistura é aquecida à fervera, a fim de eliminar qualquer excesso de borohidreto. Depois disso, elimina-se o etanol em rotaevaporador. Após resfriamento, a mistura é extraída com duas porções (30ml) de éter. Seca-se os extratos combinados sobre sulfato de sódio anidro. Elimina-se o éter em rotaevaporador, obtendo-se um óleo marrom médio. O produto teve seu caráter e pureza determinados por RMN-H, infravermelho e espectrofotometria UV/visível. Cujos espectros encontram-se nas Figuras 13, 14 e 15, e apresenta $\alpha_D = 0$. Encontra-se conservado sob refrigeração. A reação apresenta rendimento de 74,5%.

II.7.2 - Método II⁵⁰

Paranitroacetofenona (1mmol) é adicionada, sob agitação a 30°C, a uma mistura de fermento de pão (35g) e água (20ml). Mantém-se sob agitação por 24 horas, seguida de mais 24 horas. Depois desse período, a mistura reacional é saturada com cloreto de sódio e o produto é extraído com clorofórmio num extrator líquido-líquido, durante 48 horas. O extrato assim obtido é destilado para eliminação do clorofórmio, e em seguida seco sob rotaevaporador e bomba de vácuo. O produto é isolado por cromatografia de coluna sobre sílica gel usando diclorometano/hexano (proporções variando de 0 de hexano a 5:1).

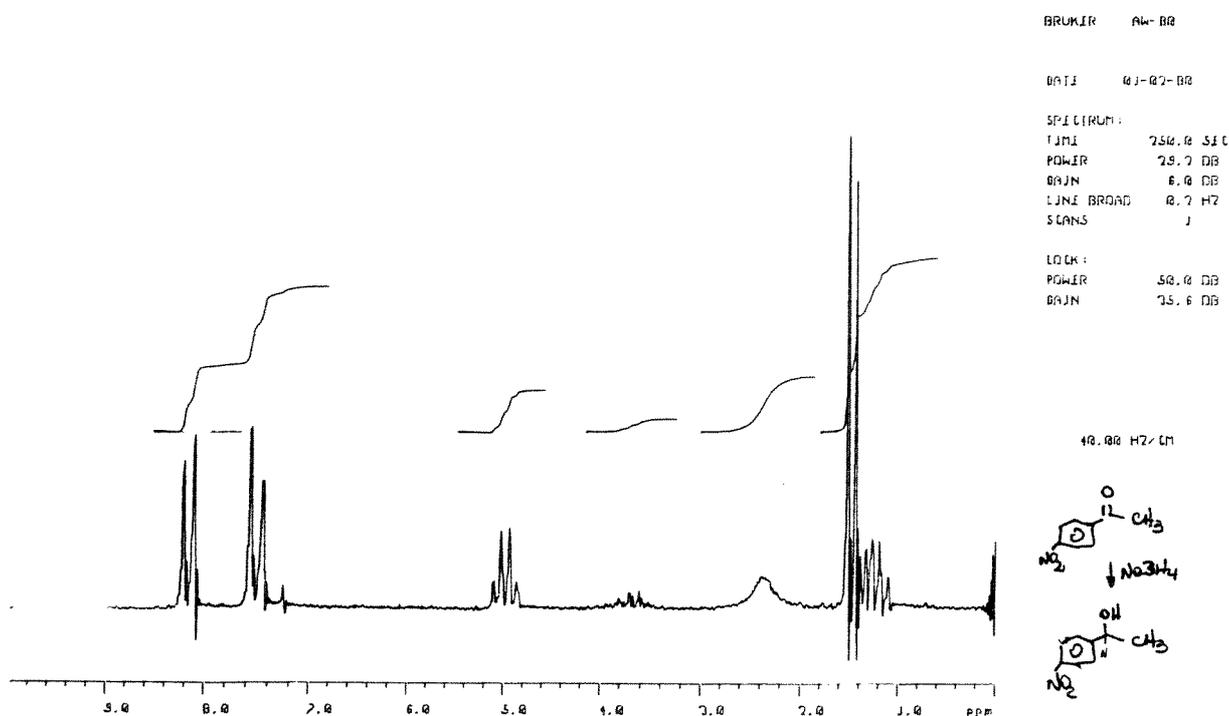


FIGURA 13 - ESPECTRO DE RMN-H DO PARANITROFENILETANOL SINTETIZADO

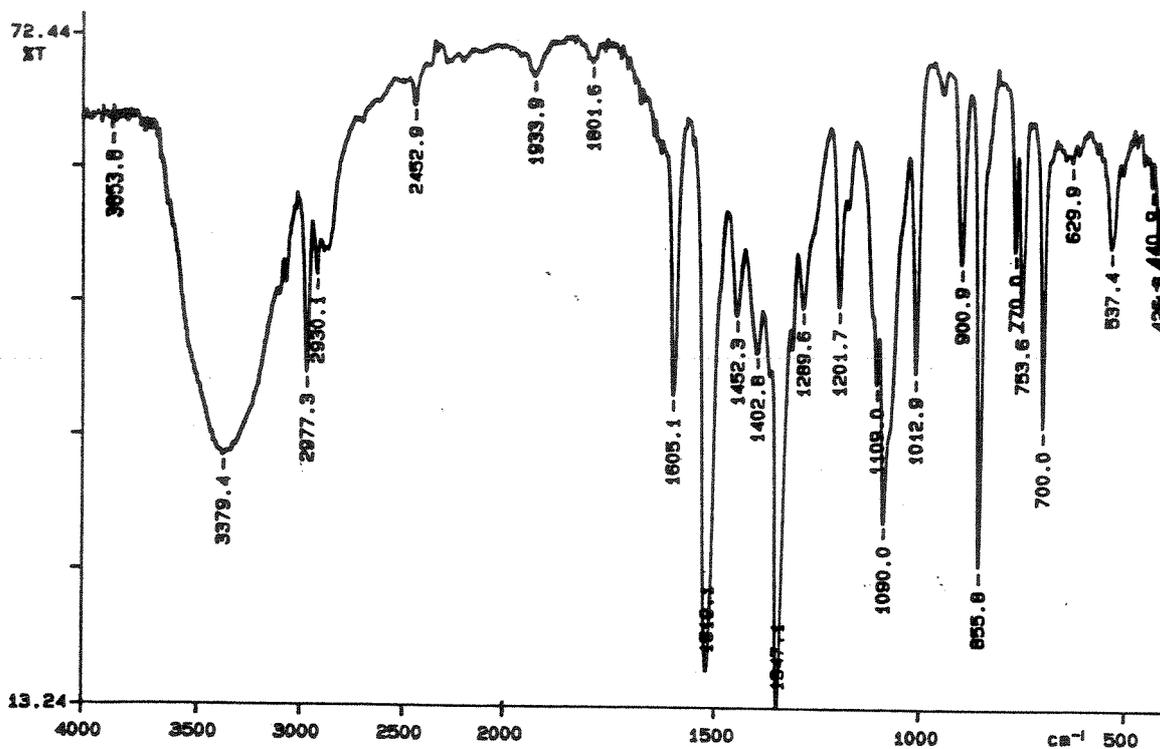


FIGURA 14 - ESPECTRO NA REGIÃO DE INFRAVERMELHO OBTIDO PARA O PARANITROFENILETANOL SINTETIZADO. A $3379,4\text{cm}^{-1}$ NOTA-SE BANDA LARGA CARACTERÍSTICA DE $-\text{OH}$, DEMONSTRANDO A REDUÇÃO DA P-NITRO ACETOFENONA.

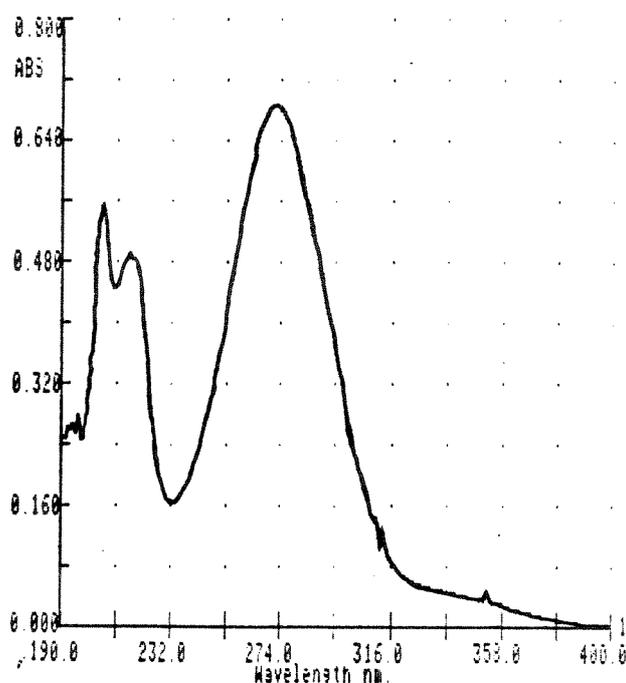


FIGURA 15 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV/VÍSEL DO PARANITROFENILETANOL SINTETIZADO. $\lambda_{\text{máx1}} = 205,4\text{nm}$; $\lambda_{\text{máx2}} = 272,3\text{nm}$.

II.8 - ELUIÇÃO DO PAR RACÊMICO SOBRE A FASE ESTACIONÁRIA QUIRAL DESENVOLVIDA

II.8.1 - Em Coluna Preparativa

Utilizando-se a coluna preparada no item II.6.2, aplica-se 0,10g de produto obtido no item II.7.1, e fluxo contínuo da fase móvel iniciando-se a corrida. Coleta-se alíquotas de 2ml, e deixa-se evaporar o solvente. A amostra é então transferida para balão volumétrico de 1,0ml, tem o solvente eliminado sob rotaevaporador e bomba de vácuo, tendo a seguir sua massa determinada. Cada amostra assim obtida é analisada em polarímetro Carl Zeiss POLAMAT A, numa cela de 5dm de comprimento, utilizando-se clorofórmio como solvente ($\alpha = 0$) e lâmpada de mercúrio.

II.8.2 - Em Coluna de CLAE Analítica

Com a coluna preparada no item II.6.3, efetua-se corridas num cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, marca Hewlett Packard modelo HP1090/ M série II, constituído de auto injetor, detector UV/Vísivel com conjunto de fotodiodos, acoplado a um microcomputador. Injetando-se inicialmente naftaleno, depois solução $7,3 \times 10^{-4}M$, em hexano/diclorometano (2:1), do produto racêmico obtido no item II.7.1.

III - RESULTADOS

III.1 - ADSORÇÃO DE EFEDRINA SOBRE CRISOTILA

III.1.1 - Crisotila Ultrassonificada

Aproveitando-se das características polares das substâncias, iniciaram-se os testes de adsorção em água, pois tinha-se certeza da dissolução das espécies em estudo. Entretanto, por estar-se lidando com espécies que contém grupo amino, a forma de ressonância e, com ela, a região de máximo de absorção, é dependente do pH. Sendo assim os primeiros ensaios usando água como solvente não ofereceram resultados coerentes devido à significativa variação de pH do meio, como se pode observar na Tabela I.

TABELA I : Variação de pH com o tempo, da solução de efedrina em contato com 1g de crisotila

TEMPO (h)	pH
0	7,0
2	9,5
4	11,5

Passou-se então a trabalhar em meio tamponado, partindo-se de um volume de solução de efedrina em meio tampão pH = 7, (50ml K_2HPO_4 a 1M / 1ml NaOH a 0,1M) e continuou-se não se obtendo resultados coerentes. Pensou-se que a disponibilidade de moléculas de soluto no meio, em relação ao número de moléculas de tampão, era muito baixa. Sendo assim, seria difícil haver troca de moléculas de tampão próximas à superfície da crisotila com as escassas moléculas de soluto.

Mudou-se outra vez de método, adicionando-se agora o soluto dissolvido na mínima quantidade de água sobre a crisotila, e completando-se o volume com a solução tampão. Mudou-se também o método de ativação da crisotila. Inicialmente utilizava-se o método patenteado⁵¹ de ativação da superfície da crisotila, no qual, após lavagem sobre peneira Tyler 250 mesh, a mesma é submetida a ultra-som em solução tampão de ácido acético. Mas devido à grande quantidade de tampão acetato (que absorve em região muito próxima à das espécies em estudo) utilizada, passou-se a usar crisotila somente lavada e ultrassonificada em água destilada.

Com todos estes cuidados obtiveram-se os resultados, em triplicata, que constam da Tabela II.

A efedrina é um composto comumente estudado em química orgânica, e como procura-se que o material em estudo seja de possível aplicação na separação de produtos obtidos em sínteses orgânicas, achou-se pertinente trabalhar com solventes de uso mais freqüente nesse meio. Efetuou-se um teste rápido de solubilidade, no qual se obteve melhor solubilização da efedrina

em metanol, etanol e isopropanol. Inicaram-se estudos em etanol e obteve-se os resultados da Tabela III. Dados obtidos com três conjuntos de triplicata.

TABELA II : Adsorção de efedrina sobre crisotila, a partir de soluções aquosas tamponadas de efedrina (vide Ensaio II.5.1)

$C_o (M) 10^{-4}$		Nº DE μ MOLES ADSORVIDOS /g DE CRISOTILA	10^{18} MOLÉCULAS ADSORVIDAS /g DE CRISOTILA
pH = 7	1,0	5,7	3,4
		5,5	3,3
		5,4	3,2
pH = 9	1,0	7,2	4,3
		6,9	4,1
		6,5	3,9

Com os dados obtidos passou-se a objetivar o nosso estudo, na direção de se testar a utilidade do material obtido como fase estacionária para cromatografia líquida. Com o preenchimento de coluna com crisotila adsorvida de efedrina, pelo ensaio II.5.2, realizou-se o ensaio II.6.1, e obteve-se os resultados da Tabela IV.

TABELA III : Adsorção de efedrina sobre crisotila, a partir de soluções de efedrina em etanol P.A. (vide Ensaio II.5.1)

N ^o μMOLES		10 ¹⁸ MOLÉCULAS
ADICIONADOS	ADSORVIDOS	/g DE CRISOTILA
/g DE CRISOTILA	/g DE CRISOTILA	
7,5	4,9	2,9
7,0	4,8	2,9
6,5	5,2	3,1

Desses dados nota-se que a quantidade de efedrina que fica na crisotila tende a uma constante, e que para este estudo o número de moles adsorvido por grama de crisotila é de $8,6 \times 10^{-6}$ moles que correspondem a $5,2 \times 10^{18}$ moléculas de efedrina por grama de crisotila.

Eluíram-se outros solventes orgânicos (hexano, diclorometano, isopropanol e éter) e, em repetidos experimentos, todos à temperatura ambiente, não se verificou nenhuma solubilização da efedrina adsorvida sobre a crisotila, o que nos incentivou a partir para o passo seguinte, realizar um teste de eluição e resolução de uma mistura racêmica padrão.

III.1.2 - CRISOTILA LIXIVIADA

Em nenhuma das tentativas realizadas observou-se adsorção da efedrina sobre a crisotila lixiviada.

TABELA IV : Adsorção de efedrina sobre crisotila. Ensaio de eluição com etanol, em coluna preparativa de efedrina depositada em metanol (vide II.5.2 e II.6.1)

ALÍQUOTA N°	N° μMOLES ELUÍDOS		N° μMOLES ADSORV/g
	NA ALÍQUOTA	TOTAL	
1	30	30	11,10
2	26	56	9,30
3	35	60	9,10
4	19	62	8,90
5	26	65	8,70
6	25	67	8,60
7	15	69	8,50

III.2 - ADSORÇÃO DE DNBFG SOBRE CRISOTILA

III.2.1 - CRISOTILA ULTRASSONIFICADA

Com a DNBFG, até a execução da curva de calibração com medidas de ponto fixo tornou-se difícil, pois qualquer pequena

variação no solvente resultava em medidas incoerentes. Passou-se então a trabalhar com espectros de absorção, considerando-se sempre sua linha base, na região de 190 a 400nm (baixo UV), o que se mostrou suficiente, tendo em vista o espectro de absorção das espécies, nas Figuras 11, 12.

Com a finalidade de otimizar o preenchimento dos sítios ativos da crisotila, mudou-se o método para o ensaio II.5.1, com o qual obteve-se os resultados da Tabela V. Dados obtidos em três conjuntos de triplicatas.

TABELA V : Adsorção de DNFBG sobre crisotila, a partir de soluções de DNFBG em etanol P.A. (vide II.5.1)

	Nº μ MOLES	10^{18} MOLÉCULAS
ADICIONADOS	ADSORVIDOS	ADSORVIDAS
/g DE CRISOTILA	/g DE CRISOTILA	/g DE CRISOTILA
7,8	2,1	1,3
6,1	1,3	0,8
6,7	1,3	0,8

III.2.2 - CRISOTILA LIXIVIADA

Em nenhuma das tentativas realizadas observou-se adsorção da DNFBG sobre a crisotila lixiviada.

III.3 - ELUIÇÃO DE PARANITRO FENIL ETANOL EM COLUNA PREPARATIVA, PREENCHIDA COM FASE ESTACIONÁRIA DE EFEDRINA/CRISOTILA

O composto foi sintetizado pelo método do item II.7.1, no qual se obteve o rendimento médio de 75 %. Após a realização de alguns ensaios (item II.8.1) obtiveram-se os dados da Tabela VI. A rotação específica ($[\alpha]^T$), foi calculada segundo a Lei de Biot,¹⁸ sendo todos os dados normalizados para a temperatura de 25°C.

- Lei de Biot: $[\alpha] = 100 \alpha / lc$

onde: α = rotação ótica observada;

c = concentração da espécie em g/100ml

l = comprimento ótico da cela em dm.

As colunas A, B e C foram eluidas de acordo com o ensaio II.8.1. A única diferença entre elas é a vazão do ar comprimido, que depende da pressão da linha, por isso, não se obtiveram as mesmas condições de fluxo para cada experimento. Na coluna C temos o fluxo mais lento da fase móvel. Para a coluna A temos a alíquota 20 com $\alpha=0$, ou seja, os dois enantiômeros em igual quantidade. Daí pode-se dizer que o enantiômero (-) estava terminando de eluir enquanto o (+) iniciava sua eluição, processo que, como dito, levou de 20 a 25 minutos. Na coluna B pode-se observar a separação do par enantiomérico pela mudança do sinal da rotação específica. Como temos as alíquotas 17(B) e 18(B) com massa nula de p-nitrofeniletanol, pode-se estimar uma separação

de 40-50 minutos entre os enantiômeros. Nas colunas A e C, observou-se o enriquecimento, inicialmente do enantiômero (-), seguido do (+).

Este resultado estimulou a realizar-se o preenchimento de uma coluna de CLAE com o material em estudo e estudarmos medidas cromatográficas, pois estas lidam com menor quantidade de amostra e dariam uma nova dimensão à utilização do material em estudo como Fase Estacionária Quiral. Após a preparação da coluna, de acordo com o item II.6.3, injetou-se naftaleno e eluiu-se com hexano, sendo obtidos os cromatogramas da Figura 16, de onde se calculou o número de pratos teóricos por metro (N/m) pela largura da base a meia altura do pico,¹⁸ e mediu-se o tempo de retenção de uma espécie que não interage com os centros quirais presentes na coluna. Estes encontram-se na Tabela VII. Em todos os experimentos o solvente de eluição é o hexano. O volume injetado de amostra de naftaleno é de 5 µl, a vazão da fase móvel foi de: 0,5; 0,6 e 0,7 ml/min. Temperatura do ensaio: 27 °C. O aparelho utilizado foi um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, marca Hewlett Packard, modelo 1090/M série II. Detector UV/Vísivel espectrofotométrico por conjunto de fotodiodos. Espectros armazenados em microcomputador.

TABELA VI - Resultados obtidos com a coluna preparativa. (fase móvel: hexano/diclorometano 2:1)

COLUNA A		COLUNA B		COLUNA C	
AMOSTRA	α_D	AMOSTRA	α_D	AMOSTRA	α_D
11	-9,7	11	-10,3	3	-3,1
14	-6,6	12	-21,6	4	*
16	-6,2	13	-17,2	5	*
17	-5,9	17	*	6	+6,1
18	-5,1	18	*	7	+3,7
19	-11,2	19	+16,7	-	-
20	0	20	+17,9	-	-
21	+3,8	21	+21,4	-	-

O tempo médio de eluição de cada amostra é de 20-25 minutos.

* Nestas amostras obtiveram-se massas praticamente nulas de paranitrofeniletanol, sendo portanto impossível efetuar-se medidas de α nestes casos. Nas demais amostras com dados ausentes a massa foi determinada, e embora fossem diferentes de zero, eram insuficientes para efetuar-se medidas de α coerentes, ou seja, estavam abaixo do limite de detecção.

TABELA VII : Dados cromatográficos do ensaio com naftaleno. Fase móvel (FM) hexano.

VAZÃO FM(ml/min)	TEMP(°C)	T RETENÇÃO(min)	N/m ⁻¹
0,5	25	6,816	185,7
0,6	25	5,862	152,7
0,7	25	5,656	179,0

* $N/m = 5,545(T_R/W)^2/l$, onde:

- w_h é a largura do pico a meia altura em minutos;
- l é o comprimento da coluna em metros;
- T_R é o tempo de retenção.

Efetuararam-se então injeções de amostras do par racêmico, e obtiveram-se os cromatogramas da Figura 17. Estes cromatogramas foram todos obtidos usando-se volume de injeção da amostra constante (5µl), temperatura constante (25°C), vazão constante (1ml/min) e como fase móvel diclorometano/hexano nas respectivas proporções: 70:30(I); 60:40(II); 50:50(III); 40:60(IV).

Ao aumentar-se a temperatura do ensaio para 40°C observou-se despreendimento da efedrina adsorvida.

É importante ressaltar que o cromatógrafo HP1090 HPLC é dotado de detector espectrofotométrico por conjunto de fotodiodos que registram o espectro e possui um microcomputador acoplado que permite a visualização e a armazenagem dos espectros ecromatogramas da amostra que passa pelo detector, ponto a ponto.

Este espectro foi constantemente comparado com os espectros obtidos em aparelhagem DMS100 e Perkin Elmer λ 3A, e somente na temperatura de 40°C ele se assemelhou pico a pico com o da efedrina.

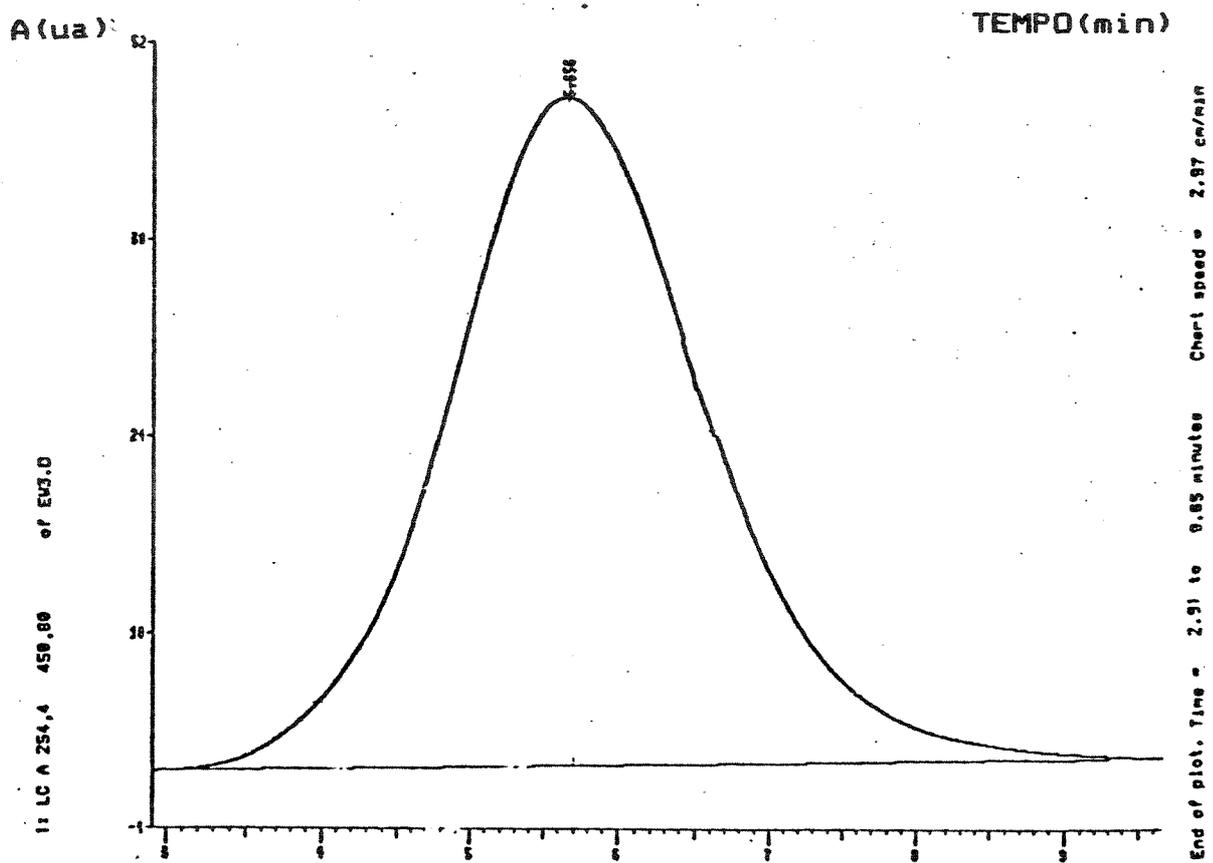
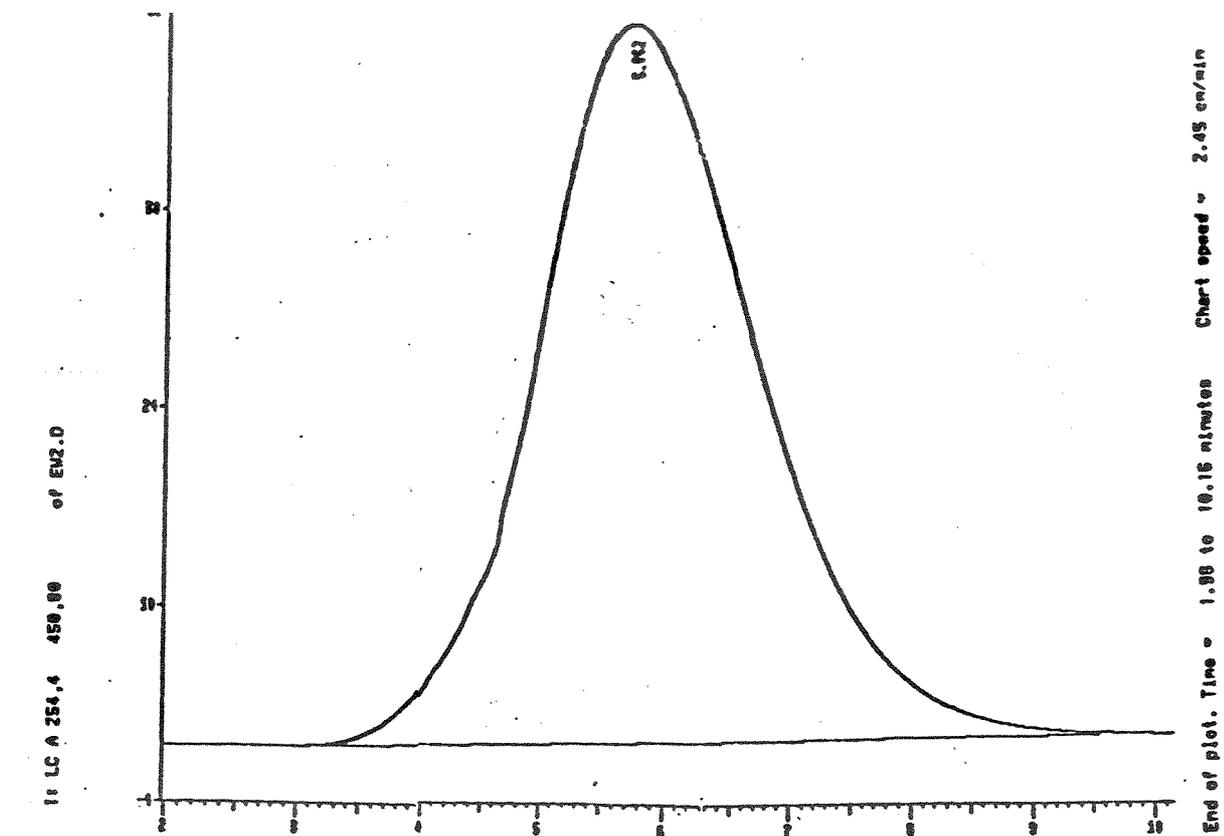


FIGURA 16 - CROMATOGRAMAS DE NAFTALENO INJETADO NA COLUNA DE COMPRIMENTO 25cm E DIÂMETRO 0,46cm. FASE ESTACIONÁRIA: CRISOTILA ADSORVIDA COM EFEDRINA. FASE MÓVEL HEXANO, VAZÃO: (1) 0,6ml/min, (2) 0,7ml/min. VOLUME INJETADO DE AMOSTRA: 5 μ l. DETECTOR UV COM ARRANJO DE DIODOS. CROMATÓGRAFO HP 1090.

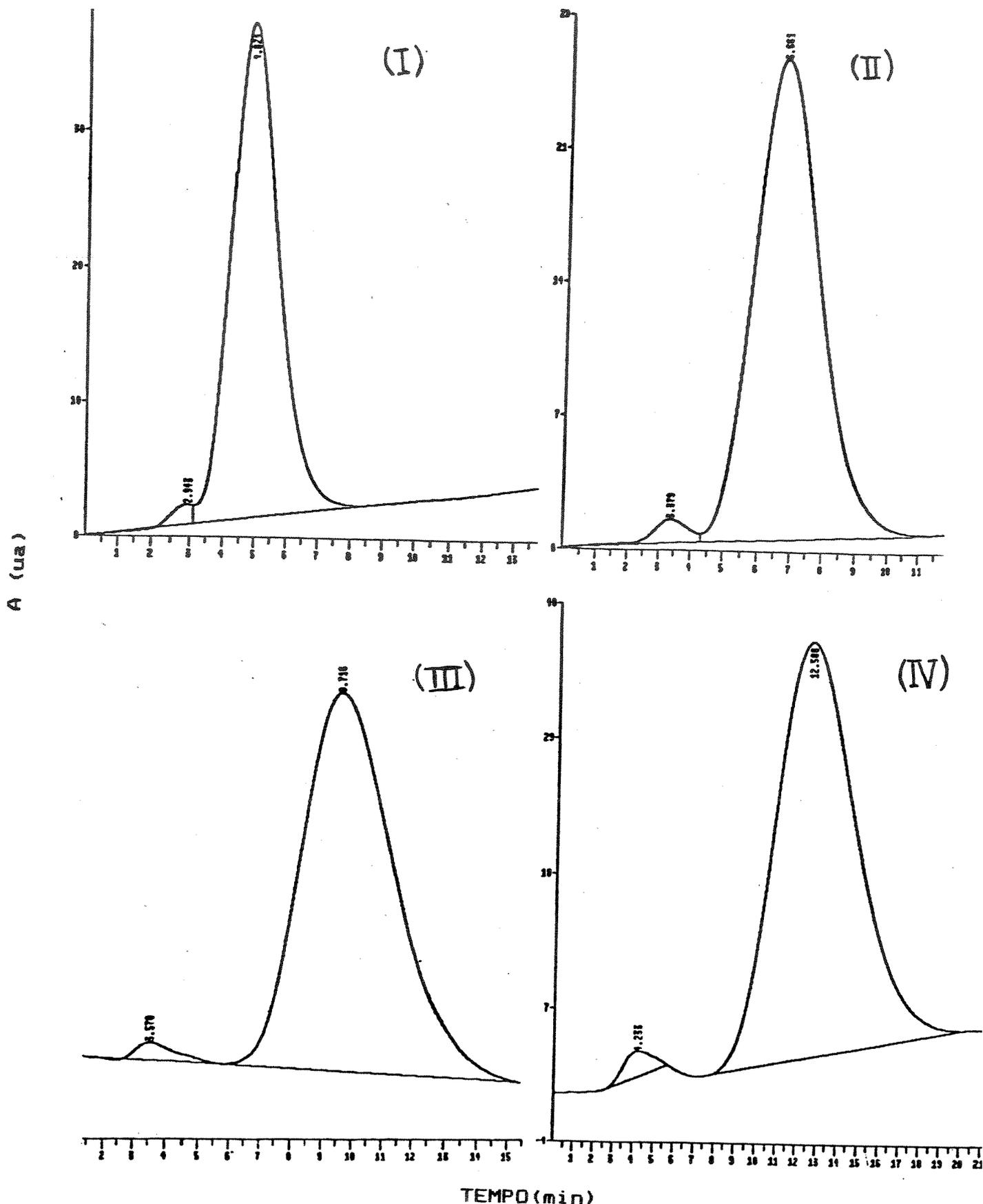


FIGURA 17 - CROMATOGRAMAS DE PAR RACÊMICO INJETADO NA COLUNA DE COMPRIMENTO 25cm E DIÂMETRO 0,46cm. FASE ESTACIONÁRIA: CRISOTILA ADSORVIDA COM EFEDRINA. FASE MÓVEL HEXANO/DICLOROMETANO: (I) 70:30, (II) 60:40, (III) 50:50 E (IV) 40:60, VAZÃO 1ml/min, VOLUME INJETADO DE AMOSTRA: 5 μ l. DETECTOR UV COM ARRANJO DE DIODOS. CROMATÓGRAFO HP1090/M SÉRIE II.

III.4 - MODELO DE ADSORÇÃO DAS ESPÉCIES SOBRE A CRISOTILA

III.4.1 - MÉTODO I

Na tentativa de se estabelecer um modelo de adsorção da efedrina sobre a crisotila, montaram-se, em modelos moleculares, três prováveis conformações da efedrina. Nelas procurou-se minimizar as interações desestabilizadoras (repulsivas, gauche, etc.). Estas conformações foram denominadas P_1 , P_2 e P_3 , sendo projetadas nos planos x-z, y-z e x-y, sobre papel quadriculado, que foi recortado e teve sua massa determinada. As projeções x-z, y-z e x-y para cada conformação P_1 , P_2 e P_3 estão representadas nas Figuras 18, 19 e 20, respectivamente. A seguinte metodologia foi seguida:

- utilizou-se sempre de papel quadriculado do mesmo bloco, marca Romitec. Determinou-se inicialmente a massa de 1 a 10 quadrados de 1cm, em balança analítica. Estas constam na Tabela VIII

TABELA VIII : Determinação da massa do papel quadriculado utilizado

QUADRADOS DE 1cm	MASSA (g)	MASSA ESPERADA (g)	ERRO RELATIVO
1	0,0080		
2	0,0148	0,0160	7,5%
3	0,0235	0,0240	2,1%
4	0,0313	0,0320	2,2%
5	0,0392	0,0400	2,0%
10	0,0787	0,0800	1,6%

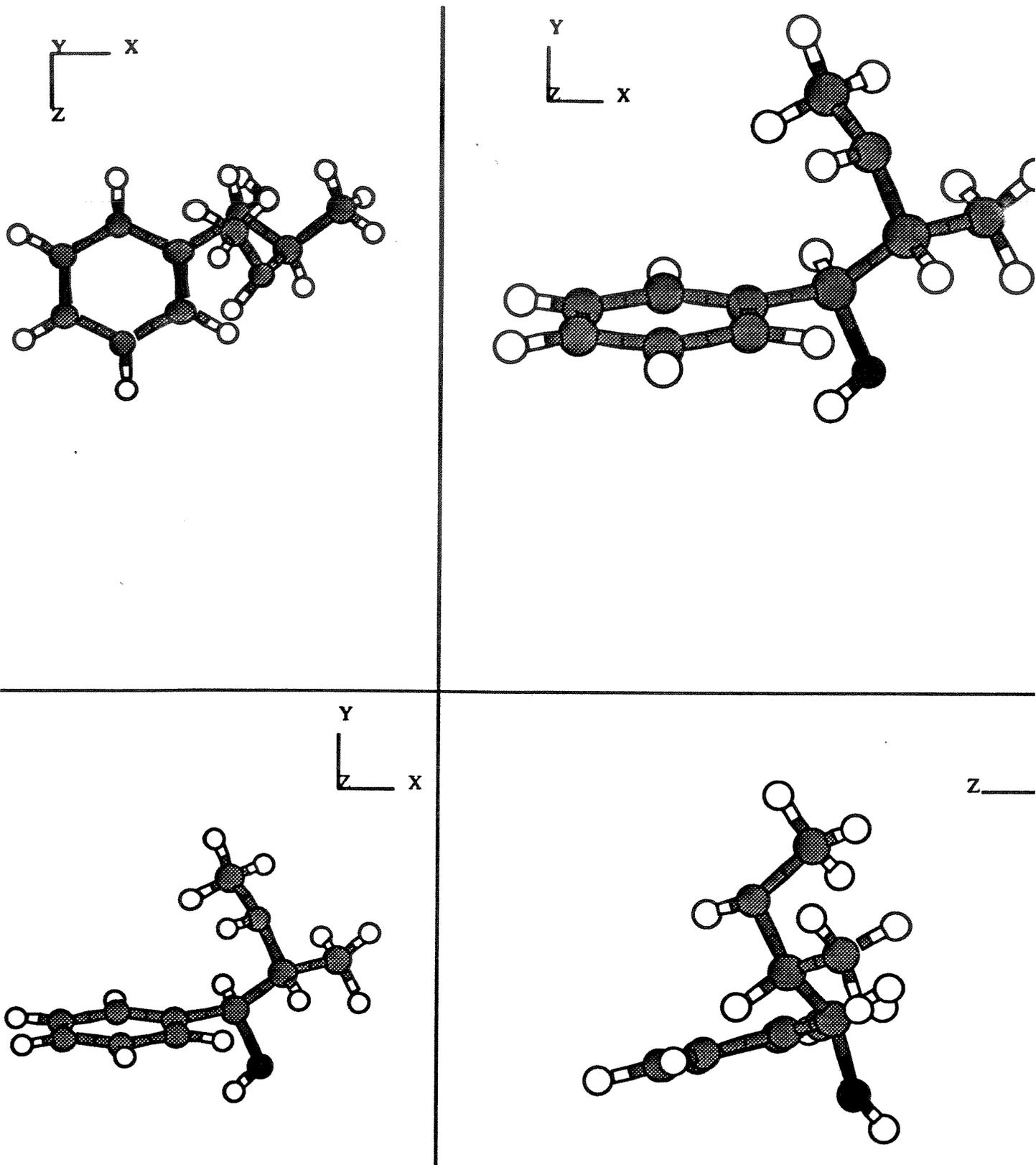


FIGURA 18 - PROJEÇÕES NOS PLANOS x-y, x-z E y-z DA CONFORMAÇÃO P_1 DA MOLÉCULA DE EFEDRINA. O ÁTOMO DE OXIGÊNIO ESTÁ EM NEGRITO, E OS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO ESTÃO EM BRANCO.

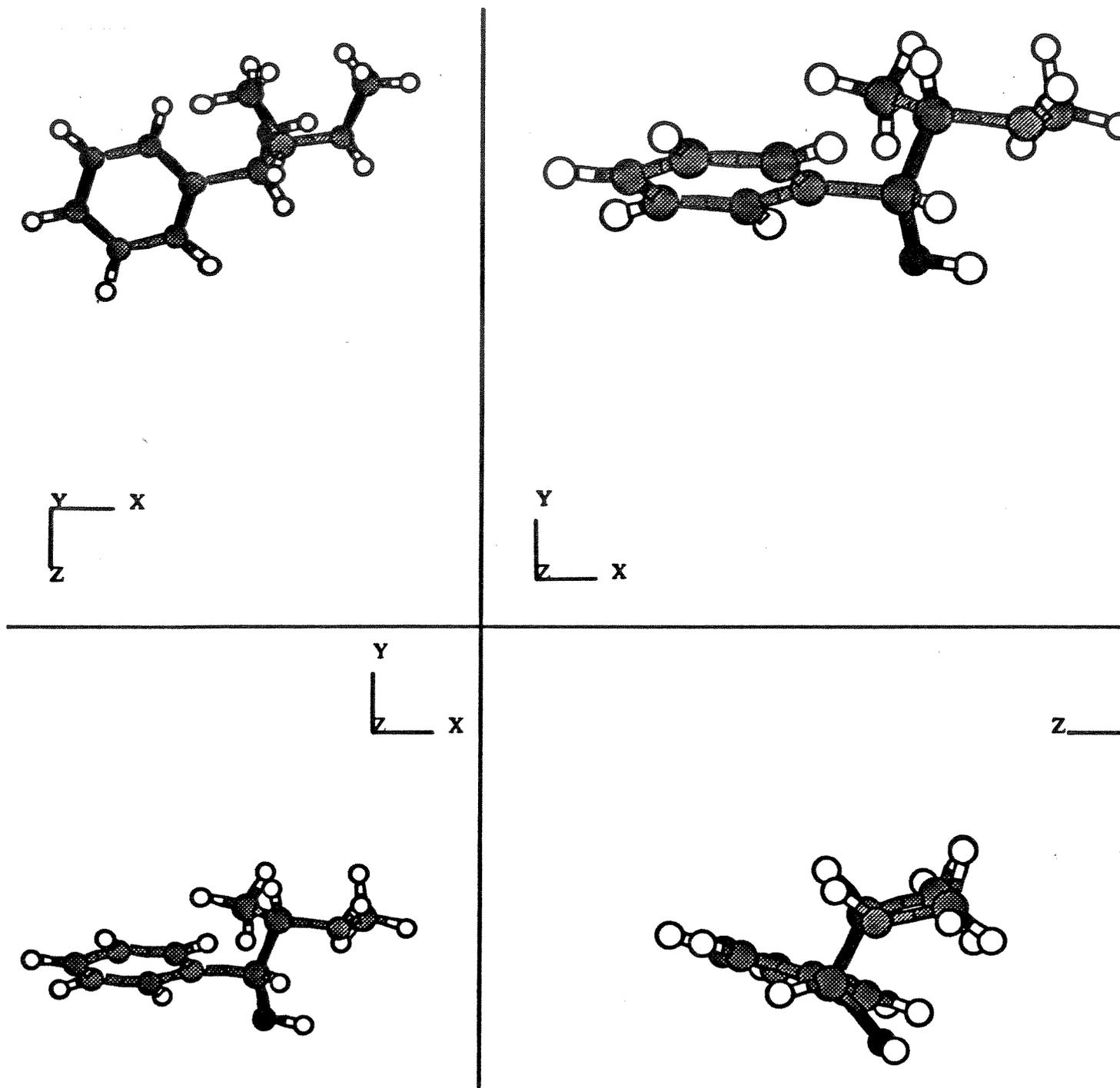


FIGURA 19 - PROJEÇÕES NOS PLANOS x-y, x-z E y-z DA CONFORMAÇÃO P₂ DA MOLÉCULA DE EFEDRINA.

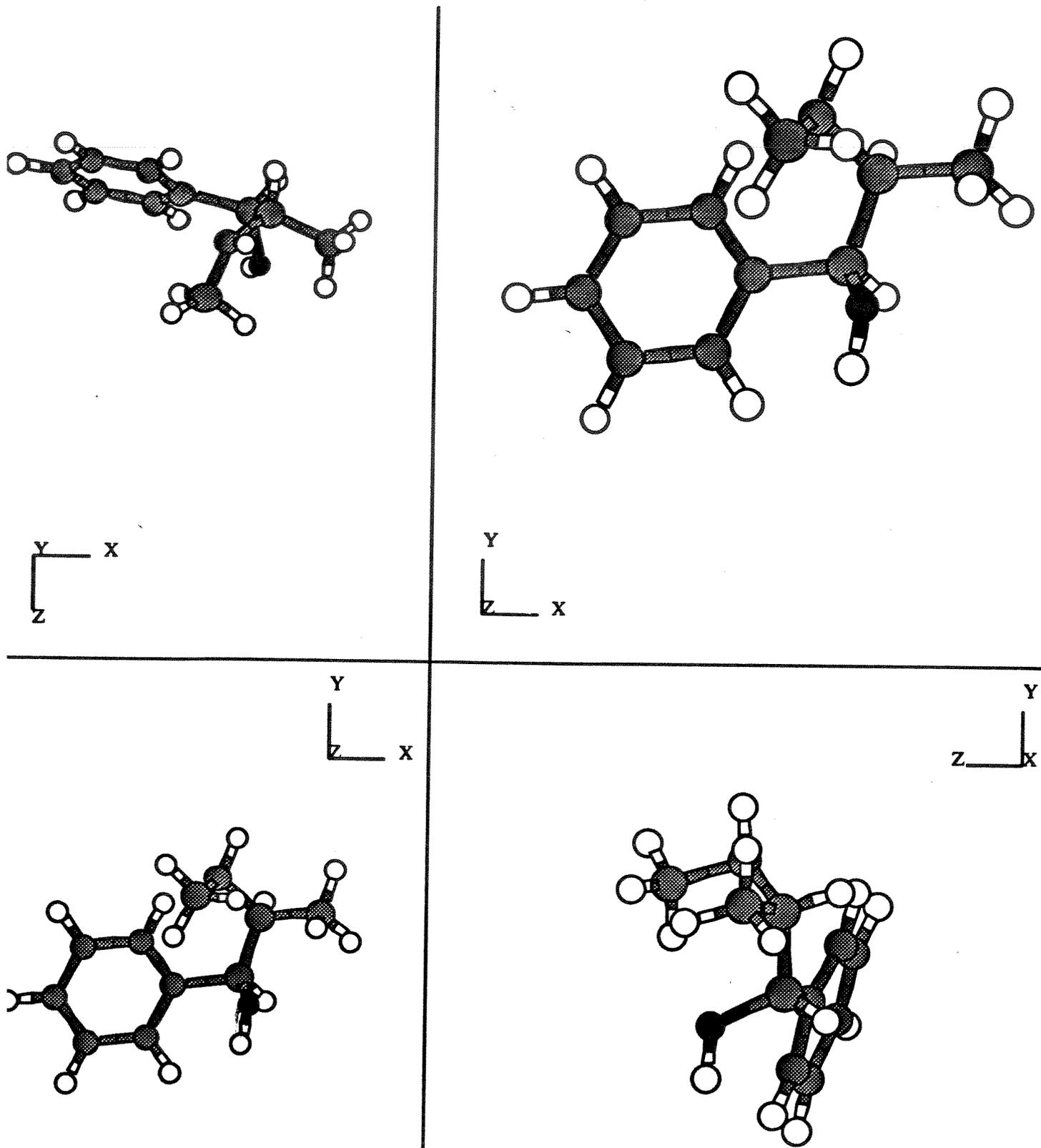


FIGURA 20 - PROJEÇÕES NOS PLANOS x-y, x-z E y-z DA CONFORMAÇÃO P₃ DA MOLÉCULA DE EFEDRINA.

- Montaram-se os modelos moleculares seguindo-se os esquemas das Figuras 18, 19 e 20 procurando-se utilizar "canudos" de comprimentos razoavelmente proporcionais aos comprimentos de ligação. Estes e os valores encontrados em literatura⁵² estão na Tabela IX, assim como a correlação entre eles, tanto para comprimento quanto para área.

TABELA IX : Comprimentos de ligação utilizados

LIGAÇÃO	TEÓRICOS (Å)	USADOS (cm)	RELAÇÃO
C-H	1,12	2,25	2,009
C-C`	1,53	2,80	1,830
C=C*	1,39	2,65	1,906
C-N	1,51	2,80	1,854
C-O	1,43	2,75	2,406
N-H	1,03	2,25	2,184
O-H	0,97	2,25	2,320

* duplas em anel aromático

CORRELAÇÃO MÉDIA PARA COMPRIMENTO 2,073 +- 0,60

CORRELAÇÃO MÉDIA PARA ÁREA 4,297 +- 2,49

- Nas projeções trabalhou-se com luz colocada exatamente sobre o modelo e o papel. Marcou-se sobre o papel sempre o contorno externo da "molécula", formando-se "elipses" ou "círculos", que em seguida foram recortados e tiveram a massa determinada em balança analítica. Para estimar a área projetada, do modelo da efedrina foram utilizados dois dos padrões de massa

de papel da Tabela VIII que apresentassem o menor erro relativo: $A_1 \Rightarrow 3 \text{ cm}^2$ e $A_2 \Rightarrow 10 \text{ cm}^2$. As áreas obtidas em cm^2 , foram então convertidas para \AA^2 (ângstrons quadrados) utilizando-se a correlação média para área da Tabela IX. Os dados obtidos encontram-se nas Tabelas X, XI e XII.

TABELA X : Estimativas de áreas projetadas para a efedrina
(Conformação P_1).

	MASSA (g)	A_1 ($\text{cm}^2/\text{\AA}^2$)	A_2 ($\text{cm}^2/\text{\AA}^2$)
x-z	1,1382	145,30/33,81	144,63/33,66
x-y	0,6101	77,89/18,13	77,52/18,04
y-z	0,6632	84,66/19,70	84,27/19,61

TABELA XI : Estimativas de áreas projetadas para a efedrina
(Conformação P_2)

	MASSA (g)	A_1 ($\text{cm}^2/\text{\AA}^2$)	A_2 ($\text{cm}^2/\text{\AA}^2$)
x-z	1,0953	139,83/32,54	139,17/32,39
x-y	0,8745	111,64/25,98	111,12/25,86
y-z	0,5117	65,32/15,20	65,02/15,17

TABELA XII : Estimativas de Áreas projetadas para a efedrina
(Conformação P_9)

	MASSA (g)	A_1 ($\text{cm}^2/\text{Å}^2$)	A_2 ($\text{cm}^2/\text{Å}^2$)
x-z	1,0377	132,47/30,83	131,86/30,69
x-y	0,8254	105,87/24,52	104,88/24,41
y-z	0,4920	65,81/15,32	62,51/14,55

- Utilizando-se estes dados e as relações colocadas na Tabela IX, e considerando-se $5,2 \times 10^{18}$ moléculas de efedrina adsorvidas para 1 grama de crisotila, estimou-se a área total ocupada para cada projeção. Os dados foram obtidos ainda em função dos dois padrões de papel A_1 e A_2 e encontram-se nas Tabelas XIII, XIV e XV.

TABELA XIII : Estimativa da área total ocupada pela efedrina
(Conformação P_1)

	ÁREA TOTAL (m^2)	
	A_1	A_2
x-z	1,7583	1,7502
x-y	0,9425	0,9381
y-z	1,0245	1,0198

TABELA XIV : Estimativa da área total ocupada pela efedrina
(Conformação P₂)

	ÁREA TOTAL (m ²)	
	A ₁	A ₂
x-z	1,6921	1,6841
x-y	1,3509	1,3447
y-z	0,7905	0,7890

TABELA XV : Estimativa da área total ocupada pela efedrina
(Conformação P₉)

	ÁREA TOTAL (m ²)	
	A ₁	A ₂
x-z	1,6031	1,5957
x-y	1,2751	1,2692
y-z	0,7964	0,7564

III.4.2 - MÉTODO II

Para se comparar os valores de área obtidos pelo método descrito no item anterior, utilizou-se de um programa computacional (software) para construção de estruturas orgânicas, o ALCHEMY. Neste, constrói-se a molécula com ângulos e

comprimentos de ligação precisos numa dada conformação e em seguida ele a minimiza, ou seja, coloca as ligações e os átomos na configuração de menor energia. A partir da molécula minimizada pode-se efetuar medidas das distâncias entre os átomos em qualquer ponto da molécula.

Utilizando esta medida, e estimando "geometrias" para as conformações, efetuou-se os cálculos de áreas para as mesmas 3 conformações P_1 , P_2 e P_3 nas projeções x-z, x-y e y-z. Os resultados estão na Tabela XVI.

TABELA XVI : Área ocupada pelas projeções da efedrina para cada conformação (em Å^2)

	Área (Å^2)		
	P_1	P_2	P_3
x-z	35,78	37,55	46,57
x-y	34,51	20,25	38,45
y-z	24,26	28,00	31,48

Utilizando os dados da Tabela XVI e a estimativa de $5,2 \times 10^{18}$ moléculas de efedrina adsorvidas por grama de crisotila, estimou-se a área total ocupada para cada projeção de uma determinada conformação da efedrina. Os resultados acham-se na Tabela XVII.

TABELA XVII : Estimativa da área total ocupada pela efedrina
(método II)

	ÁREA TOTAL (m ²)		
	P ₁	P ₂	P ₃
x-z	1,86	1,95	2,42
x-y	1,79	1,05	2,00
y-z	1,26	1,46	1,64

A distância média entre as moléculas adsorvidas de efedrina é estimada calculando-se o diâmetro de um círculo equivalente com a mesma área das projeções da Tabela XVI. Por hipótese, supõe-se que a molécula de efedrina se encontra adsorvida na crisotila preferencialmente na projeção x-z. Como se estima que $5,2 \times 10^{18}$ moléculas de efedrina se encontram adsorvidas por grama de crisotila, e como a área útil desta é de cerca de $14,87 \text{ m}^2/\text{g}$, então a ocupação da efedrina é de cerca de $3,5 \times 10^{17} \text{ moléc/m}^2$. Supondo então que a efedrina encontra-se homogeneamente distribuída sobre a crisotila, pode-se estimar a distância média entre as suas moléculas a partir dos dados da Tabela XVI, onde se considera somente a projeção x-z. Os resultados estão na Tabela XVIII.

TABELA XVIII : Distância média entre as moléculas da efedrina adsorvida para a projeção x-z

	P ₁	P ₂	P ₃
distância (Å)	10,16	10,00	9,21

IV - DISCUSSÃO

IV.1 - ADSORÇÃO DAS ESPÉCIES QUIRAIS SOBRE CRISOTILA

Na Tabela XIX tem-se um quadro resumido e comparativo dos resultados obtidos para os ensaios de adsorção.

TABELA XIX : Resultados obtidos nos ensaios de adsorção

	MOLÉC/g	MOLÉC/m ²
DNBFG		
Ensaio II.5.1 (em etanol)	$1,0 \times 10^{18}$	$0,70 \times 10^{17}$
EFEDRINA		
Tampão pH = 7	$3,3 \times 10^{18}$	$0,22 \times 10^{18}$
Tampão pH = 9	$4,1 \times 10^{18}$	$0,30 \times 10^{18}$
Ensaio II.5.1 (em etanol)	$3,0 \times 10^{18}$	$0,20 \times 10^{18}$
Ensaio II.5.2 (em metanol)	$5,2 \times 10^{18}$	$0,35 \times 10^{18}$

A discussão destes resultados será apresentada nas secções a seguir, lembrando que Bonneau e Pezerat⁸ obtiveram para adsorção de CO₂ $0,3 \times 10^{18}$ sítios básicos (moléc/m²) na crisotila.

IV.1.1 - ADSORÇÃO DE EFEDRINA

Como dito, procura-se melhorar a compreensão dos mecanismos de adsorção sobre a crisotila e de interação quiral. Sendo assim a escolha das duas espécies basearam-se em alguns aspectos importantes.

A efedrina utilizada encontra-se na forma combinada ($C_{13}H_{15}ON \times 1/2 H_2SO_4$), com isso seu grupo amino (ver Figura 7), que lhe confere certo caráter básico ($pK_b = 9,67$ [25°C]), encontra-se protegido, sendo assim, embora a substância não seja propriamente um ácido, como os já estudados⁸⁻¹⁰, possui átomos bastante eletronegativos, que lhe conferem polaridade. A efedrina apresenta afinidade por solventes próticos, sendo pouquíssimo solúvel em solventes apróticos. Este fato foi considerado vantajoso em termos de garantir uma possível boa interação da espécie com a superfície da crisotila, que possui a camada externa superficial rica em grupos OH. Outra vantagem é que se supôs, e verificou-se de acordo com a Tabela IV, que quando a efedrina está adsorvida não é facilmente retirável da crisotila, visto que em cromatografia a variação de polaridade da fase móvel é fator importante na resolução da amostra.

Bonneau e Pezerat⁸, na pesquisa de sítios básicos na superfície de crisotila utilizaram-se de 4 moléculas prova:

- 1- fosfato de sódio ($0,4 - 0,8 \times 10^{18}$ moléc/m²);
- 2- CO₂ ($0,4 \times 10^{18}$ moléc/m²);
- 3- ácido benzóico, a 80 °C ($3,0 \times 10^{18}$ moléc/m²);
- 4- ácido acetil salicílico ($0,9 \times 10^{18}$ moléc/m²).

As interações ácido-base destas moléculas podem ser de 3 tipos:

- 1- substituição - pelos íons fosfato;
- 2- adição - para o CO₂ gasoso;
- 3- condensação - para ácidos orgânicos.

Bonneau e Pezerat⁸ também calcularam por parâmetros cristalográficos o número de hidroxilas na superfície da crisotila em $1,2 \times 10^{19}$ OH/m², e estimou que somente $4,0 \times 10^{17}$ OH/m² atuam como sítios básicos fortes.

Os resultados obtidos para adsorção da efedrina são bastante próximos dos valores estabelecidos para o CO₂, como se pode ver na Tabela XIX, lembrando que o CO₂ é um ácido fraco, e deve interagir somente com sítios fortemente básicos. A efedrina na forma utilizada possui o oxigênio do grupo -OH como átomo mais eletronegativo, e portanto com possibilidade de formação de ponte de hidrogênio com a superfície da crisotila. Acredita-se, graças à comparação dos resultados de Bonneau e Pezerat⁸ e os aqui obtidos, que este tipo de interação da efedrina com a crisotila possa estar ocorrendo nos sítios básicos fortes da última, visto que Little⁵⁹ comprovou que grupos -OH são agentes de adsorção muito fortes, mesmo quando ligados a cadeias carbônicas relativamente não reativas.

Baseando-se nisso, procurou-se estimar a área ocupada pela efedrina sobre crisotila para três conformações P₁, P₂ e P₃, projetadas nos planos x-y, x-z e y-z, conforme as Figuras 18, 19 e 20. Na projeção x-z temos o grupo -OH voltado em direção ao plano x-z, que corresponde à superfície da crisotila. Justamente nesta projeção obtém-se a maior ocupação de área de crisotila.

Supõe-se que este seja um argumento favorável ao modelo proposto, visto que se considerou o número máximo de sítios da

crisotila ocupados pela efedrina.

IV.1.2 - ADSORÇÃO DE DNBFG

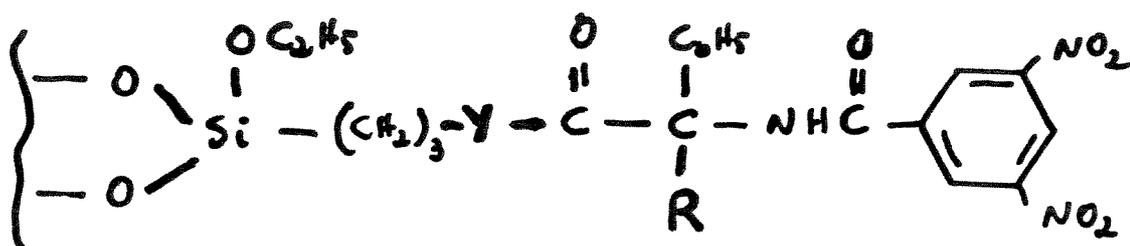
A DNBFG apresenta um grupo carboxílico, que lhe confere algum caráter ácido. Nesta, devido às substituições no anel aromático, os eletrons tornam-se menos disponíveis. Pirkle^{97,98} estabeleceu que na DNBFG, assim como em outros derivados dinitrobenzoílicos, os substituintes no anel levam a que este tenha uma configuração planar mais fixa, permitindo um melhor ajuste da molécula numa interação π doador - π aceptor, aumentando assim a interação preferencial de um dos enantiômeros, e facilitando o reconhecimento quiral.

Pirkle et al.,^{24,26,97,98,44} em vários de seus trabalhos, imobilizou a DNBFG, ou algum de seus derivados, em sílica funcionalizada como podemos ver na Figura 21, de forma covalente ou iônica, através do grupo ácido carboxílico. Dessa forma, não só o carbono quiral fica mais distante do suporte, mas também todo o resto da molécula, que pode "girar" livremente em torno de algumas ligações.

Baseando-se nisso, supõe-se que o grupo -COOH interaja de forma ácido-base com a superfície da crisotila, pois ele é o grupo mais "reativo" da molécula.

Como pode-se observar, a molécula do DNBFG possui grupos razoavelmente volumosos (dinitrobenzoil, fenil), o que implica numa considerável ocupação do espaço sobre a crisotila, e também numa maior repulsão entre duas moléculas de DNBFG adsorvidas ($P_f =$

217°C). Este fato talvez explique o menor número de sítios básicos ocupados, embora a DNBFG possua maior caráter ácido do que a efedrina.



Y: NH, $-O^-NH_3^+$

R: Fenil, i-butil, β -naftil, i-propil

FIGURA 21 - DNBFG LIGADA À SÍLICA FUNCIONALIZADA

Vale a pena ressaltar que sobre a crisotila lixiviada não se observa adsorção das espécies em estudo. Esta não possui a camada externa de brucita ($Mg_3(OH)_4$), somente Si_2O_5 de caráter ácido, e algum ácido residual, constituindo uma sílica em forma de fibrilas. Esta observação demonstra que as espécies em estudo

não se comportam como bases, pois este tipo de interação é característico da superfície da sílica, ou se houve tal interação, esta não é suficientemente estabilizadora para efetivar uma adsorção a níveis detectáveis nas condições de estudo.

IV.2 - ELUIÇÃO DE PARANITROFENIL ETANOL EM COLUNA PREPARATIVA, PREENCHIDA COM FASE ESTACIONÁRIA DE EFEDRINA/CRISÓTILA

Ao empacotar-se a coluna de vidro a seco obteve-se uma boa compactação. Observou-se a proporção 100:1 de massa entre a fase estacionária e a amostra⁵¹. Procurou-se que o caminho de eluição fosse suficiente, usando-se uma coluna de 25cm de comprimento.

Com isto obtiveram-se os promissores resultados da Tabela VI. Segundo Cervinka^{54,55}, o isômero (-) do p-nitrofeniletanol é o de configuração R. Saber isso é importante para talvez estabelecer qual centro quiral da efedrina é responsável pelo reconhecimento do par, pois há investigações no sentido de que o isômero de mesma configuração seja o mais retido (reconhecimento homoquiral).^{28,56} Pirkle e Hyun²⁸ já haviam estabelecido que o reconhecimento quiral é recíproco, e estudaram uma série de compostos com menores e maiores grupos alquil, tentando estabelecer o processo de interação predominante e a sua influência na ordem de eluição do par racêmico. Recentemente Pirkle e Welch,⁵⁶ baseando-se neste trabalho, conseguiram

estabelecer uma série de reconhecimentos homoquirais.

IV.2.1 - SÍNTESE DO PARANITRO FENIL ETANOL

Optou-se pela síntese do 1-(p-nitrofenil-etanol) pelo método I, por sua simplicidade e bom rendimento⁴⁹. O borohidreto de sódio é conhecido redutor usado em síntese orgânica e pelo seu mecanismo de reação sempre leva a mistura racêmica como produto.⁴⁹

O método II foi tentado a fim de se obter um produto não racêmico, e depois tentar-se enriquecimento em um dos enantiômeros utilizando-se o material em questão. Entretanto, embora Carvalho^{50,57} tenha utilizado este método em reduções de várias aril cetonas com sucesso, este se mostrou impróprio para a redução da p-nitroacetofenona.

IV.2.2 - MODELO DE INTERAÇÃO ENTRE A EFEDRINA SUPOSTADA E O PAR RACÊMICO

A maior e mais importante classe de colunas cromatográficas quirais, surgida na última década, baseia-se na idéia de que, quanto maior o número de interações específicas, discretas e simultâneas entre uma dada molécula quiral do soluto e um determinado sítio na fase estacionária, maior a probabilidade de uma discriminação quiral efetiva, e a consequente resolução cromatográfica dos solutos enantioméricos.

Esta classe recebe o nome de Fases Estacionárias de Múltipla Interação⁵⁸⁻⁶⁴.

Partindo desta premissa para uma dada molécula ser escolhida para constituir uma fase estacionária quiral deve possuir certas qualidades:

- possuir estrutura relativamente simples e bem definida;

- conter no mínimo um de cada dos três grupos funcionais a seguir, em proximidade ao centro quiral (para atender a regra de interação de três pontos):

i - grupos aromáticos π -ácido ou π -básico capazes de interação doador-aceptor,

ii - sítios polares capazes de interagir por pontes de hidrogênio, ou interações dipolo,

iii - grupos não polares volumosos, proporcionadores de: repulsão estérica e/ou interações de Van der Waals e/ou controle conformacional.

No mínimo uma destas interações precisa ser estereo dependente, ou seja que fixe a geometria da molécula a ser separada.

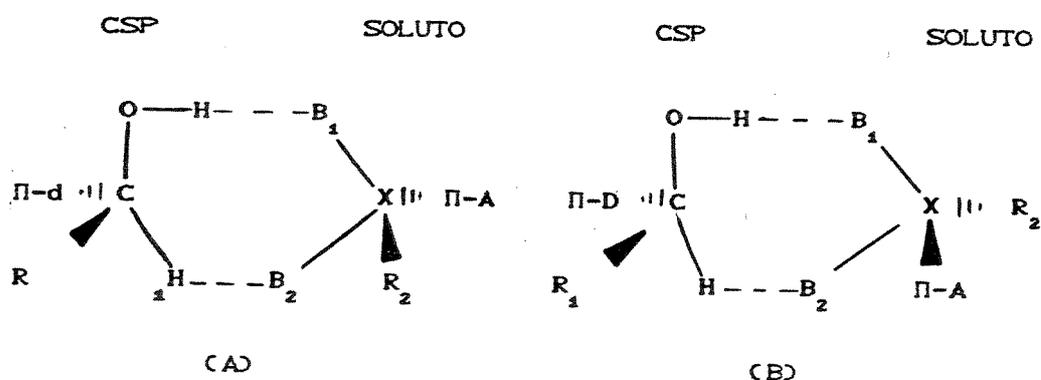
Tanto a efedrina quanto a DNBF_g se adequam as necessidades da regra de interação de "três pontos", sendo a primeira um π -doador, e a segunda um π -aceptor. A interação de "três pontos" é alcançada pela combinação das interações π - π , pontes de hidrogênio e interações dipolo - dipolo, que conjuntamente com o arranjo estrutural e estérico chegam ao reconhecimento quiral.^{29,36,44} Um esquema deste reconhecimento pode ser observado na Figura 22.⁴⁴

A escolha de um par racêmico a ser testado dependeu de alguns fatores que atendessem às exigências expostas no modelo acima, pois as fases estacionárias por ele planejadas só podem ser efetivas na resolução de compostos enantioméricos que contenham grupos similares, mas complementares aos presentes na fase estacionária⁶⁵. Procurou-se escolher um racêmico que:

- possuisse fórmula molecular razoavelmente simples, mas que atendessem às exigências da regra de três pontos expostas no modelo da Figura 22;

- possuir anel aromático com substituinte (preferencialmente NO₂, que é forte retirador de elétrons).

- possuir somente um centro quiral para facilitar a compreensão da interação com a efedrina adsorvida.



A) complexo do analito mais retido

B) complexo do analito menos retido

X = C, N, S, P

B₁ = receptor do hidrogênio mais ácido

B₂ = receptor do hidrogênio menos ácido

π-A = aceitador π (nuvem π relativamente mais pobre)

π-D = doador π (nuvem π relativamente mais rica)

FIGURA 22 - ESQUEMA HIPOTÉTICO DE INTERAÇÃO ENTRE A ESPÉCIE QUIRAL DA FASE ESTACIONÁRIA COM UM POSSÍVEL PAR ENANTIOMÉRICO

- ser de polaridade inferior à da efedrina, para possibilitar ampla escolha de solventes.

Entretanto, acredita-se que, durante o tempo de eluição o racêmico não interaja, ao menos fortemente e/ou preferencialmente com a crisotila, pois é uma espécie bem menos polar que a efedrina, onde o grupo -OH acha-se ligado a um grupo alquil próximo a um anel benzênico deficiente de elétrons. Ver a estrutura do p-nitrofeniletanol na Figura 23.

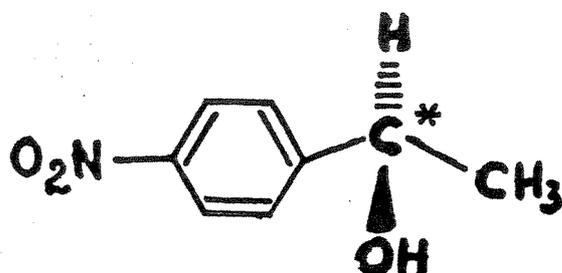


FIGURA 23 - ESTRUTURA DO P-NITROFENILETANOL

Graças a isto, o p-nitrofeniletanol é solúvel na mistura 2:1 hexano/diclorometano ou até nos mesmo solventes na proporção 1:1, e também em sistemas mais polares, como hexano/clorofórmio, ou clorofórmio .

Os espectros mostrados nas Figuras 13, 14 e 15 atestam o bom grau de pureza do produto.

Como se pode notar pelos resultados da Tabela VI, obteve-se a resolução do p-nitrofeniletanol em coluna de vidro preparativa. Sendo que, com exceção do desvio da luz plano polarizada, um par enantiomérico só se diferencia em ambientes

quirais, e como a crisotila não possui tais características, deve estar ocorrendo interação entre a efedrina suportada e o p-nitrofenil etanol racêmico.

Relacionando cada molécula com o esquema da Figura 22, temos:

- Para a efedrina

$\pi - D \equiv$ grupo fenil;

Hidrogênios + ácidos: o do grupo -OH, o do grupo Amino;

Hidrogênios - ácidos: os ligados ao C;

- Para o p-nitrofenil etanol

$\pi - A \equiv$ grupo p-nitrofenil etanol;

$B_2 \equiv$ grupo -OH;

$B_1 \equiv$ hidrogênio ligado ao carbono quiral (C^*).

Inicialmente, para que a interação efedrina/p-nitrofenil etanol possa ocorrer, é necessário que haja espaço físico para isso. Para estabelecer esta possibilidade, estimou-se a distância média entre duas moléculas de efedrina, de acordo com os valores da Tabela XIX, em 10,0 Å, colocou-se a molécula de p-nitrofenil etanol no ALCHEMY, minimizou-se e mediu-se as distâncias entre o hidrogênio da metila e o oxigênio do grupo nitro ($d_1 = 8,34 \text{ Å}$), assim como entre hidrogênios opostos do grupo fenil ($d_2 = 4,952 \text{ Å}$). Ou seja, não há dificuldades espaciais para a aproximação do racêmico com a efedrina.

Sendo assim, e supondo-se que a efedrina adsorva sobre a crisotila preferencialmente pelo grupo -OH, acredita-se que a interação se dê entre cada grupo da efedrina e do p-nitrofenil

etanol respectivamente:

- o grupo fenil (π -D) e o grupo nitro fenil (π -A);
- o carbono da metila ligado ao C* (R) e o hidrogênio do C*;
- o hidrogênio ligado ao C* R ou S e o grupo -OH;
- impedimento estérico entre o grupo metilamino e a metila ligada ao C*.

Lembrando que o grupo metilamino é volumoso e pode atuar no controle conformacional do complexo então formado.

As três interações devem ocorrer com o enantiômero mais retido do par (+), enquanto que com o menos retido (-) uma ou mais das interações não deve ocorrer, conforme esquema da Figura 24.

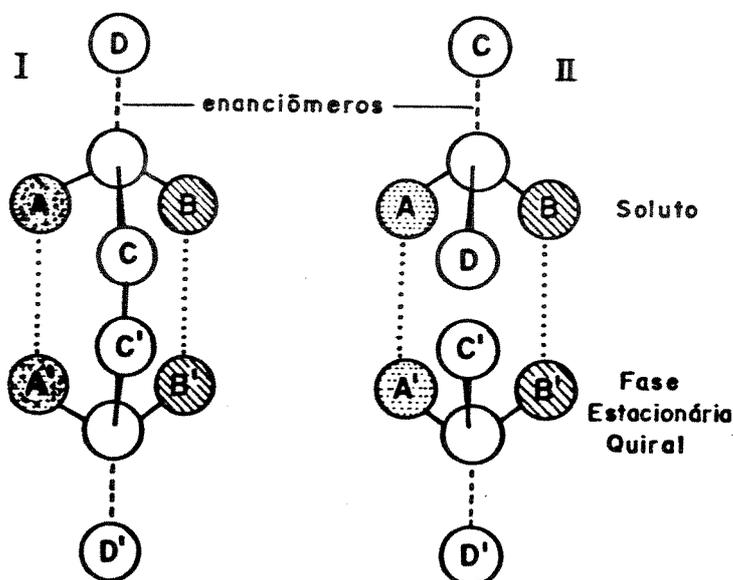


FIGURA 24 - ESQUEMA DA INTERAÇÃO DE TRÊS PONTOS. I: ENANCIÔMERO MAIS RETIDO; II: ENANCIÔMERO MENOS RETIDO⁶⁶

IV.3 - ELUIÇÃO DE PARANITRO FENIL ETANOL EM COLUNA CROMATOGRÁFICA ANALÍTICA

A baixa capacidade de carga (loadability) das colunas quirais é considerada típica, segundo Katti et al.⁶⁷ e Erlandsson et al.⁶⁸ De acordo com Katti et al.⁶⁷ esta é devida à limitação da interação enantiômero - agente quiral.

Na Figura 25 temos o cromatograma obtido por Erlandsson et al.⁶⁸ para a resolução do DL-Oxazepam numa coluna de albumina serica adsorvida sobre sílica. Na Figura 26 temos uma série de cromatogramas obtidos por Katti et al.⁶⁷, utilizando uma coluna Chiralcel DB (4,6mm x 250mm) que contém sílica recoberta com tribenzoato de celulose (Daicel Chem.). O racêmico injetado é um derivado da benzodiazopinona (Ciba-Geigy), enquanto na Figura 27 temos um cromatograma obtido em um ensaio em escala preparativa, para a mesma coluna em condições ótimas.

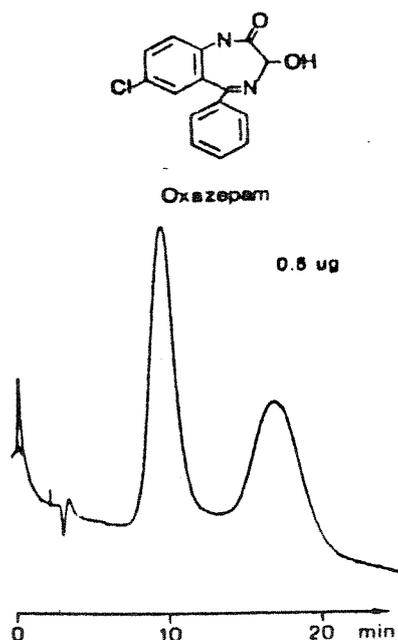


FIGURA 25 - CROMATOGRAMA OBTIDO POR ERLANDSSON ET AL.⁶⁸

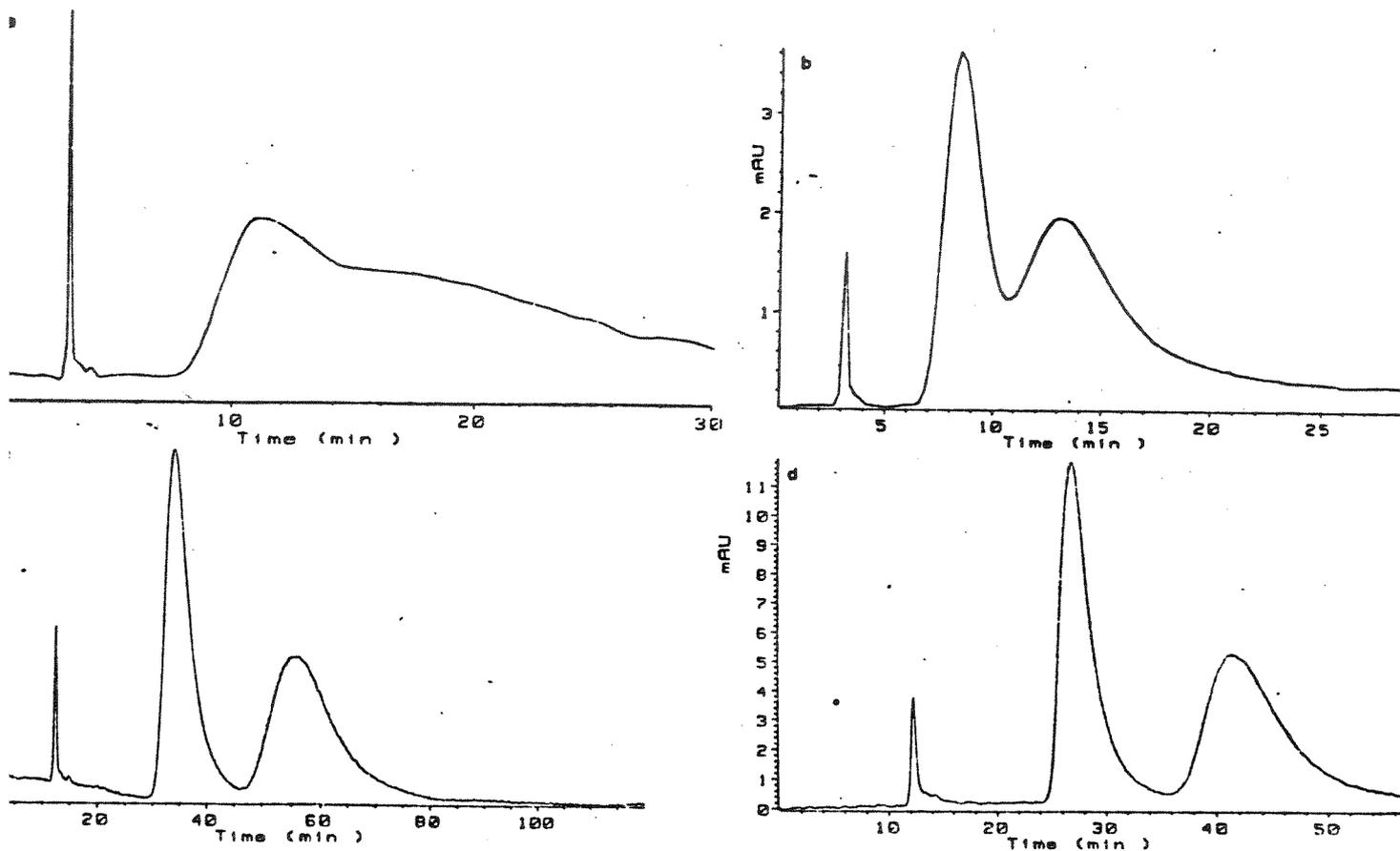


FIGURA 26 - CROMATOGRAMAS OBTIDOS POR KATTI, NA OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO, 1,0 μ g DO SOLUTO EM 10ml DE N-HEXANO/2-PROPANOL (50:50, v/v) FORAM INJETADOS À COLUNA NO SISTEMA DE HPLC. DETECTOR UV A 230nm. FASE MÓVEL: N-HEXANO/2-PROPANOL (50:50, v/v) PARA a, b E c, E (40:60, v/v) PARA d. a) FLUXO 1,0ml/min, 22 $^{\circ}$ C. b) FLUXO 1,0ml/min, 40 $^{\circ}$ C. c) FLUXO 0,25ml/min, 40 $^{\circ}$ C. d) FLUXO 0,25ml/min, 45 $^{\circ}$ C. OBSERVAM-SE AS MELHORES RESOLUÇÕES DO PAR NOS CROMATOGRAMAS c E d, MAS COMO A COLUNA DEGRADA-SE A 45 $^{\circ}$ C, OS ENSAIOS SEGUINTE, EM ESCALA PREPARATIVA, FORAM REALIZADOS A 40 $^{\circ}$ C

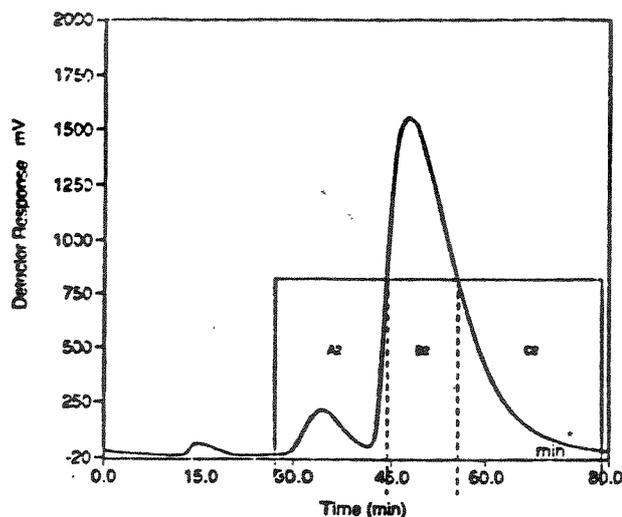


FIGURA 27 - CROMATOGRAMA OBTIDO POR KATTI ET AL⁶⁷, NO SEGUNDO PASSO DO ENSAIO EM ESCALA PREPARATIVA. FASE MÓVEL N-HEXANO/2-PROPANOL (40:40, v/v); FLUXO 0,25ml/min; 40°C; DETECTOR UV À 295nm; VOLUME INJETADO 1,5ml; CONCENTRAÇÃO DO SOLUTO 0,5mg/ml; KONTRON LC SYSTEM.

Como pode-se notar pelas Figuras 25, 26 e 27, são vários os casos de dissimilaridade entre picos obtidos por eluição de pares racêmicos. Nos cromatogramas obtidos por Katti et al.⁶⁷ (Figura 26) observa-se a otimização por variação fluxo e elevação da temperatura de trabalho, após estabelecer-se o melhor eluente e realizar-se mais de 100 injeções do par nas condições ali apresentadas. Quando Katti et al.⁶⁷ trabalharam em escala preparativa, analisando as amostras obtidas, observaram enriquecimento nas frações, ora num ora noutro enantiômero do par, e somente após várias seqüências de injeções obteve total resolução da amostra.

Na Figura 28 temos os espectros de adsorção dos picos 1 e 2 da figura 17, que apresentam picos na mesma região de máximo do p-nitrofeniletanol, comprovando a composição da

amostra. Baseando-se na análise dos cromatogramas citados e na Figura 28, acredita-se que os resultados obtidos sejam o início de uma separação, necessitando de otimização. Katti et al.⁶⁷ conseguiram otimizar a separação elevando a temperatura de trabalho para 40 °C, que era a temperatura limite para a coluna Chiralcel OB. No nosso caso ao se atingir esta temperatura observou-se a dessorção da efedrina. Pensou-se em diminuir a temperatura, pois segundo Doyle¹⁸ a enantioseletividade cresce com o decréscimo da temperatura, graças a fatores entrópicos, mas nenhum dos aparelhos disponíveis dispunha de refrigeração.

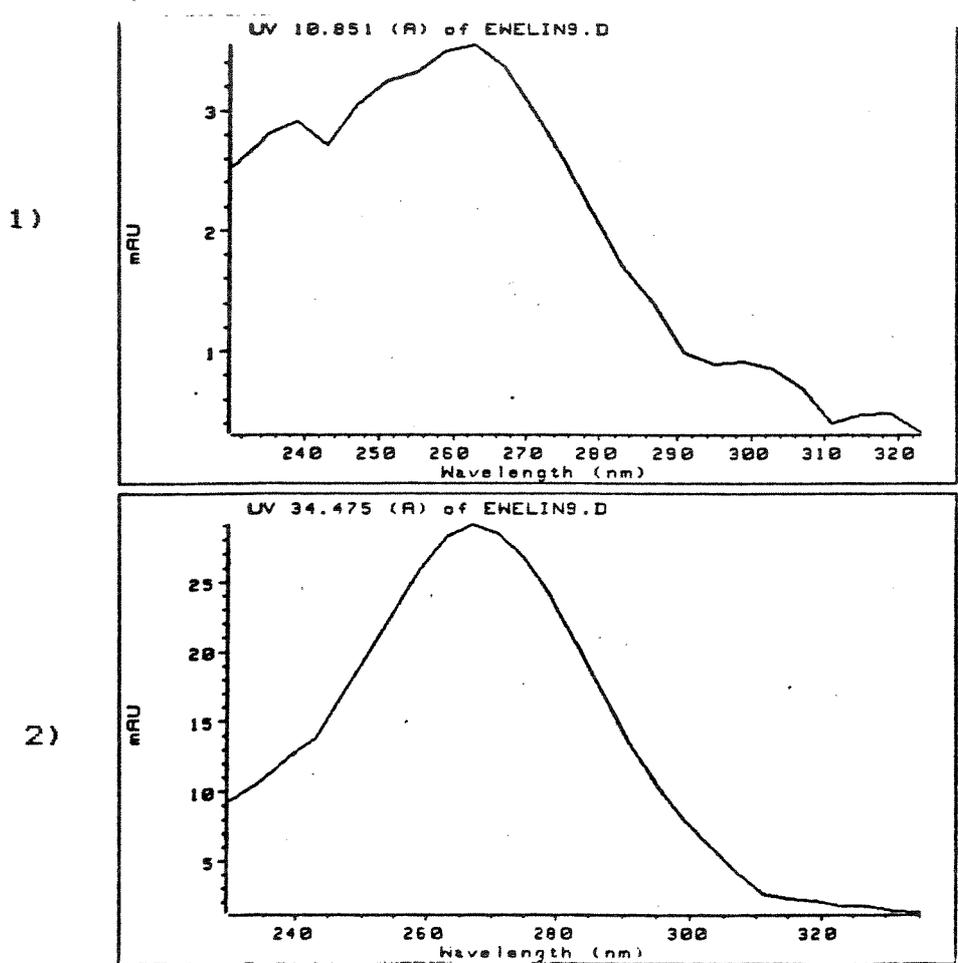


FIGURA 28 - ESPECTROS DE ADSORÇÃO DOS PICOS 1 E 2 DA FIGURA 17

V - CONCLUSÕES

Obtiveram-se resultados com boa reprodutibilidade para os ensaios de adsorção das duas espécies em estudo. Para a DNBF6, observou-se $1,0 \times 10^{17}$ moléculas adsorvidas por m^2 de crisotila. Para a efedrina, observou-se $3,5 \times 10^{17}$ moléculas adsorvidas por m^2 de crisotila, compatíveis com o número de sítios observados por Bonneau e Pezerat⁶ para adsorção do CO_2 .

Baseando-se nos dados de adsorção e na geometria da molécula, estabeleceu-se um modelo de adsorção para a efedrina na superfície da crisotila através do seu grupo -OH. Para a DNBF6, supõe-se que a adsorção se dê pelo grupo ácido carboxílico, citado em literatura como bastante reativo.

O material obtido pela adsorção mostrou boa estabilidade, observando-se somente a dessorção da efedrina a $40^\circ C$ sob alta pressão.

A fase estacionária crisotila + efedrina efetuou resolução do par racêmico em estudo, em escala preparativa por cromatografia líquida de coluna, mostrando-se útil para esta técnica. Esta constatação demonstra que a efedrina manteve sua atividade quando adsorvida, o que implica que pelo menos um dos seus centros quirais não está envolvido na interação com a crisotila. A aplicabilidade deste material pode ser ampliada pelo estudo da eluição de outros pares enantioméricos.

Procurou-se estabelecer um modelo de interação da

efedrina adsorvida com o paranitrofeniletanol racêmico baseando-se no modelo de interação de três pontos.

O estudo da interação e resolução de espécies quirais em cromatografia ainda é incipiente no Brasil. Sua importância para a síntese orgânica, a bioquímica e a farmacologia, além do seu interesse econômico, são destacados. A adsorção sobre crisotila constitui uma forma rápida, eficiente e barata de obtenção de um material com amplas possibilidades de aplicação.

Sendo assim, o trabalho aqui apresentado busca ser o início de um estudo promissor na interface de várias áreas da química, devido à amplitude do tema aqui abordado.

A otimização da aplicação em CLAE, analítica ou semi-preparativa, embora seja de certa complexidade, nos parece o desafio mais interessante.

BIBLIOGRAFIA

1. Posner, G.H.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 17, 487-496, 1978.
2. Mckillop, A.; Young, D.W.; *Synthesis*, 481-500, 1979.
3. Eitel, W.; "Silicate Science", 1, Academic Press, New York, 1964.
4. Parizotto Jr., O; "Crisotila Naturais Brasileiras, Ativação da superfície e Aplicação na Imobilização de Biocatalisadores", Tese de Mestrado, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, 1989.
5. Cornelis, A.; Laszlo, P.; *Synthesis*, 849-581, 1980.
6. Cornelis, A.; Laszlo, P.; *Synthesis*, 909-918, 1985.
7. Laszlo, P.; Cornnelis, A.; *Aldrichim. Acta*, 21, 97-103, 1988.
8. Bonneau, H. S.; Pezerat, H.; *Environ. Res.*, 41, 251, 1986.
9. Knozinger, H; *Adv. Catal.*, 25, 185, 1976.
10. Pundsack, F.; Reimeschussel, G.P.; PATENTE AMERICANA N^o 3304197.
11. Yada, K.; *Acta Cryst.*, 23, 704-707, 1967.
12. Ménard, H.; Noel, L.; Kimmerle, F.M.; Tousignant, L.; Lambert, M.; *Anal. Chem.* 56, 1240-1242, 1984.
13. Lefebvre, Y.; Lambert, M.; Khorami, J.; Ménard, H.; *Can. J. Chem.*, 66, 1596, 1988.
14. Papirer, E.; *C. A.* 107, 8063.
15. Carey, F.A. and Sundberg, R.J.; "Advanced Organic Chemistry", Plenum Press, Part A, p. 63-8, 1984.
16. Cahn, R.S.; Ingold, C.; Prelog, V.; *Angew. Chem.*, 78, 413-447, 1966.

17. Cahn, R.S.; Ingold, C.; Prelog, V.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **5**, 385-415, 1966.
18. Lough, W.J. (Editor); "Chiral Liquid Chromatography", Blackie and Son Ltd., Glasgow, 1989.
19. Allinger, N.L.; Cava, M.P.; "Química Orgânica", 2^a edição, Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 88-97, 1978.
20. Lochmuller, C.H.; Souter, R.W.; *J. Chromatogr.*, **113**, 283-302, 1975.
21. Jacques, J.; Collet, A.; Wilen, S. H.; "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley & Sons, N.Y., USA, 1981.
22. Morrison, J.D.; "Assymmetric Synthesis - V.1 - Analytical Methods", Academic Press Inc., San Diego, USA, 1983.
23. Morrison, J.D. and Mosher, H.S.; "Assymmetric Organic Reactions", Prentice Hall, New Jersey, USA, 1971.
24. Pirkle, W.H.; Hauske, J.R.; *J. Org. Chem.*, **42**, 1839-1844, 1977.
25. Mikes, F.; Boshart, G.; *J. Chromatogr.*, **149**, 455-464, 1978.
26. Pirkle, W.H.; Schreiner, J.L.; *J. Org.Chem.*, **46**, 4988-4991, 1981.
27. Okamoto, Y.; Kawashima, M.; Hatada, K.; *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 5357-5359, 1984.
28. Pirkle, W.H.; Hyun, M.H.; *J. Chromatogr.*, **328**, 1-9, 1985.
29. Erlandsson, P.; Hansson, L.; Issaksson, R.; *J. Chromatogr.*, **370**, 475-483, 1986.
30. Pirkle, W.H.; Burke, J.A.; *J. Chromatogr.*, **598**, 159-167, 1992.
31. Oliveros, L.; Minguillón, C.; Desmazières, B.; Desbène,

- P.-L.; *J. Chromatogr.*, **589**, 53-59, 1992.
32. Prevot, M.; Tod, M.; Chalom, J.; Nicolas, P.; Petitjean, D.;
J. Chromatogr., **605**, 33-39, 1992.
33. Heftmann, E. (editor); *Journal of Chromatography Library - "Chromatography, Fundamentals and Applications"*, Elsevier Scientific Publishing Company, N.Y., USA, 1983.
34. Jung, M.; Schurig, V.; *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 529-534, 1992.
35. Lourenço, W. C.F.; "Synthesis of Chiral Stationary Phases for Hplc"; Tese de doutorado, UMIST, Manchester, UK, 1989.
36. Pirkle, W.H.; Welch, C.J.; *J. Chromatogr.*, **589**, 45-51, 1992.
37. Pirkle, W.H.; House, D.W.; Finn, J.M.; *J. Chromatogr.*, **192**, 143-158, 1980.
38. Pirkle, W.H.; House, D.W.; *J. Org. Chem.*, **44**, 1957-1960, 1979.
39. Caccamese, S; Benincori, T.; Principato, G.; *J. Chromatogr.*, **623**, 159-162, 1992.
40. Pirkle, W.H.; *Tetrahedron Lett.*, **24**, 5707-5708, 1983.
41. Dalgliesh, C.E.; *J. Chem. Soc.*, 3940, 1952.
42. Isaksson, R.; Erlandsson, P.; Hansson, L; Holmberg, A.; Berner, S.; *J. Chromatogr.*, **498**, 257-280, 1990.
43. Bromley, L.A.; Davies, S.G.; Goodfellow, C.L.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2**, 2, 139-156, 1991.
44. Pirkle, W.H.; House, D.W.; Finn, J.M.; *J. Chromatogr.*, **192**, 143-158, 1980.
45. Pirkle, W.H.; Finn, J.M.; Hamper, B.C.; Schreiner, J.; Pribish, J.R.; In: "Asymmetric Reactions and Processes in Chemistry", ACS Symposium Series 185, pp. 245-260, 1982.

46. Pirkle, W.H.; Tsipouras, A.; Sowin, T.J.; J. Chromatogr., 319, 392-395, 1985.
47. Speil, S.; Leineweber, J.P.; "Asbestos Minerals in Modern Technology", Environ. Res., 2, 116, 1969.
48. Santos, P.S.; "Tecnologia de Argilas", vol. 1, Edgar Blucher, São Paulo, 1975.
49. Jones, A.G.; J. Chem. Educ., 52, N^o 2, 139-156, 1991.
50. Carvalho, M. de; Okamoto, M.T.; Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R.; Tetrahedron, 47, N^o 12/13, 2073-2080, 1991.
51. Parizotto Jr., D.; Comerlato, M.H.; Pedroso, P.R.; Moran, P.J.S.; Rodrigues, J.A.R.; Carvalho, M. de; Joekes, I.; Pedido de Privilégio, Proc. SEDA I 17.329 de 31/07/89; Proc. INPI 8.903.849 de 01/08/89.
52. Sanderson, R.T.; "Chemical Bounds and Bound Energy", Academic Press, New York, 1976. 2^a Edição, p. 93.
53. Little, L. H.; "Infrared Spectra of Adsorbed Species"; Academic Press; New York; 1966.
54. Cervinka, O.; Hub, L.; Collection Czechoslov. Chem. Commun., 31, 2614-2618, 1966.
55. Cervinka, O.; Collection Czechoslov. Chem. Commun., 30, 1684-1691, 1965.
56. Pirkle, W.H.; Welch, C.J.; Hyun, M.H.; J. Chromatogr., 591, 75-88, 1992.
57. Carvalho, M. de; "Redução Enantiosseletiva da Propiofenona, Acetofenona e Derivados α -Halogenados, Utilizando-se Fermento de Pão.", Tese de Mestrado, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, 1992.
58. Pirkle, W.H.; Finn, J.M.; Schreiner, J.L.; Hamper, B.C.; J.

- Chem. Soc., 103, 3964-3966, 1981.
59. Pirkle, W.H.; Welch, C.J.; J. Org. Chem., 49, 138-140, 1989.
 60. Pirkle, W.H.; Hochapsky, T.C.; Mahler, G.S.; Corey, D.E.; Reno, D.S.; Alessi, D.M.; J. Org. Chem., 51, 4991-5000, 1986.
 61. Pirkle, W.H.; Sowin, T.J.; J. Chromatogr., 396, 83-92, 1987.
 62. Oi, N.; Ketahara, T.; Doi, T.; Yamamoto, Japan Anal., 32, 345-346.
 63. Oi, N.; Nagase, M.; Doi, T.; J. Chromatogr., 257, 111-117, 1983.
 64. Welch, K.J.; Hoffman, D.E.; J. Chromatogr., 591, 75-88, 1992.
 65. Miller, J.M.; "Chromatography: Concepts and Contrasts", John Wiley & Sons, Inc. New York, 1988.
 66. Wainer, I.W.; Noctor, T.A.G.; Domenici, E.; Jadaud, P.; In: "Chiral Separations by Liquid Chromatography"; ACS Symposium Series 471, p. 142, 1991,
 67. Katti, A.; Erlandsson, P.; Dappen, R.; J. Chromatogr., 590, 127-132, 1992.
 68. Erlandsson, P.; Hanson, L.; Isaksson, R.; J. Chromatogr., 370, 475-483, 1986.