



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS
BIOTECNOLÓGICOS**

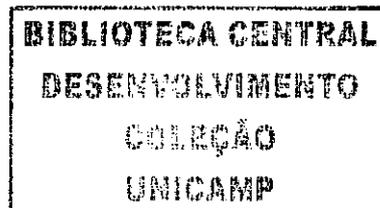
**CROMATOGRAFIA CONTÍNUA EM LEITO MÓVEL SIMULADO
PARA A PURIFICAÇÃO DOS ENANTIÔMEROS DO N-BOC-
BACLOFENO-LACTAMA**

Autor: Eng. Vinicius de Veredas

Orientador: Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP,
como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em
Engenharia Química.

**Campinas – São Paulo
Abril de 2005**



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA:	T/UNICAMP
	V585c
V. _____	Ed. _____
TOMBO BCI	71943
PROC.	16.145-07
C <input type="checkbox"/>	D <input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	4-4-07
BIB-ID	406503

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

V585c	Veredas, Vinicius de Cromatografia continua em leito móvel simulado para a purificação dos enantiômeros do <i>N</i> -Boc-baclofeno-lactama / Vinicius de Veredas.--Campinas, SP: [s.n.], 2005.
	Orientador: Cesar Costapinto Santana Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.
	1. Cromatografia contracorrente. 2. Quiralidade. 3. Enantiômeros. 4. Cromatografia líquida. 5. Adsorção. 6. Quiralidade - Aplicações industriais. I. Santana, Cesar Costapinto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Titulo em Inglês: Continuous chromatographic in simulated moving bed to purification of enantiomers *N*-Boc-baclofen-lactan

Palavras-chave em Inglês: Simulated moving bed, Chiral resolution, Preparative chromatography, *N*-Boc-baclofen-lactam

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos

Titulação: Doutor em Engenharia Química

Banca examinadora: Elcimar da Silva Nóbrega, Sergio Pérsio Ravagnani, Quésia Bezerra Cass e Brás Heleno de Oliveira

Data da defesa: 18/04/2005

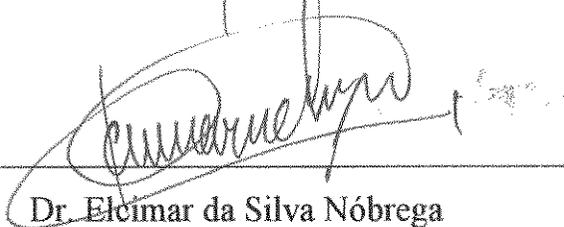
Tese de Doutorado defendida por Vinicius de Veredas e aprovada em 18 de abril de 2005 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana



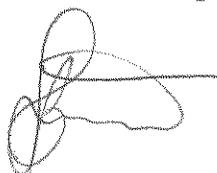
Profa. Dra. Quézia Bezerra Cass



Dr. Elcimar da Silva Nóbrega



Prof. Dr. Sergio Persio Ravagnani



Prof. Dr. Brás Heleno de Oliveira

20071454L

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado em Engenharia Química defendida pelo Engenheiro Químico Vinicius de Veredas e aprovada pela comissão julgadora em 18 de abril de 2005.



Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana (Orientador)

*Dedico este trabalho a minha amada esposa Ana Carolina, a
minha querida mãe Flauzina, ao meu irmão Ernesto Guevara e a
memória de meu amado pai Francisco de Assis Pinheiro.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que nos deu sabedoria para descobrirmos nossa vocação, força para superarmos os obstáculos tornando um sonho realidade.

À minha Mãe Flauzina, pelo amor, incentivo, dedicação constante e pelo exemplo de força e coragem que tenho recebido em todos os momentos de minha vida.

Ao meu irmão Ernesto Guevara de Veredas, sempre me apoiando nos momentos mais difíceis.

À Ana Carolina, pelo amor e carinho a mim dedicado. Por estar sempre ao meu lado na elaboração deste trabalho, sempre confiante, não deixando que eu esmoreça.

Ao Prof. Cesar Costapinto Santana, que se revelou mais que um orientador, um grande amigo, sempre prestativo, me ajudando nas várias etapas deste trabalho sugerindo e orientando.

Ao Marco A. Garcia dos Santos, pela amizade e pelas valiosas dicas na conclusão deste trabalho.

Ao colega Marcos José Souza Carpes, pela amizade e pelo suporte constante a este projeto, na busca de soluções para as adversidades do cotidiano do laboratório.

Ao meu primo Wilson D. J. Coimbra, pela amizade, acolhida generosa em Campinas e a paciência a mim dispensada ao longo deste 6 anos de convivência.

Ao José Martins Neto, que muito vem ajudando a mim e a minha família em Campinas.

Prof. Carlos Roque do IQ, pelo apoio e cooperação a este projeto.

Ao meu amigo Elcimar da S. Nobrega, pela amizade, contribuições e sugestões que ajudaram na elaboração deste trabalho.

Ao engenheiro Luís Tadeu Furlan, pela cooperação a este projeto.

Aos meus grandes amigos do Laboratório de Propriedades Reológicas e Coloidais, Marco Torres, Paulo Rosa, Ivanildo, João Paulo, Tatiana, Alessandra, Raquel e Amaro pela força, carinho e por me proporcionar momentos de muita alegria.

Aos amigos, Amós; Sérgio Bernardo; Gilson; Elaine; Luciana; Antenor; Rodrigo; que fizeram os dias na UNICAMP serem mais agradáveis.

Aos demais alunos e funcionários do DPB.

A Profª. Quésia B. Cass do Departamento de Química da UFSC, por gentilmente fornecer seu conhecimento no preparo de colunas cromatográficas quirais.

A todos os Professores do Departamento de Processos Biotecnológicos, pelo que aprendi nos últimos anos, contribuindo em muito para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Lisboa da FEQ, pelas valiosas dicas apresentadas ao longo do doutorado e no exame de qualificação.

Ao Prof. Sérgio da FEQ, pela orientação no programa de estágio a docência.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – pelo apoio financeiro na concessão da bolsa de doutorado e na manutenção do projeto de pesquisa.

Aos órgãos de fomento FINEP, CNPq e CAPES, pelo indispensável apoio financeiro.

E a todos que de alguma forma, direta ou indireta colaboram e possibilitaram a realização deste trabalho.

“Descobri como é bom chegar quando se tem paciência. E para se chegar, onde quer que seja, aprendi que não é preciso dominar a força, mas a razão. É preciso, antes de mais nada, querer. (Amyr Klink)”

SUMÁRIO

RESUMO	xxiii
ABSTRACT	xxv
CAPÍTULO 1	
1.1 - INTRODUÇÃO	01
1.2 – OBJETIVO	08
CAPÍTULO 2	
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	09
2.1 - O Processo de Leito Móvel Simulado	09
2.2 - Aspectos do Sistema Enantiomérico para Separação	26
2.2.1 - Características dos Enantiômeros	26
2.2.2 - Aspectos do Sistema Enantiomérico para Separação (Resolução)	29
CAPÍTULO 3	
3 - MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 - Descrição da Unidade	35
3.2 - Sistema de Análise	45
3.3 - O Adsorvente	49
3.3.1 – Avaliação do adsorvente tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose na resolução de racêmicos	50
3.3.2 – Síntese da fase estacionária tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose	52
3.4 - A Mistura Racêmica	56
3.5 - Curvas de Calibração	57

3.6 – Determinação da Porosidade do Leito	58
3.7 – Avaliação da Queda de Pressão das Colunas Semipreparativas	60
3.8 - Determinação das Isotermas de Equilíbrio de Adsorção	61
3.8.1 - O Modelo de Langmuir competitivo	61
3.8.2 - O Modelo bi-Langmuir competitivo	62
3.8.3 - Método para a Determinação das Isotermas Competitivas	63
3.9 – Medição das Constantes de Henry dos Enantiômeros	64
3.10 - Projeto das Condições Operacionais do LMS, para Sistemas Lineares	65

CAPÍTULO 4

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1 – Caracterização da fase tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose e dos seus constituintes.	69
4.2 - Empacotamento das Colunas Cromatográficas	74
4.3 - Determinação das Porosidades das Colunas Semipreparativas	79
4.4 – Análise da Que de Pressão nas Colunas Semipreparativas	81
4.5 - Curvas d Calibração	82
4.6 - Isotermas Competitivas	85
4.7 – Determinação das condições operacionais do LMS com as colunas TDFC	87

CAPÍTULO 5

5 - CONCLUSÕES E SUGESTÕES	109
----------------------------	-----

CAPÍTULO 6

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
--------------------------------	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1:	Distribuição de medicamentos em desenvolvimento no mundo. (1) Exceto antibióticos. (*) Valores estimados. (Adaptado de REKOSKE, 2001).	04
Figura 1.2:	Evolução das vendas de medicamentos comercializados com um único enantiômero (Adaptado de REKOSKE, 2001).	04
Figura 2.1:	Diagrama esquemático de uma unidade de adsorção de operação contínua LMV, com movimento real em contracorrente do sólido e do líquido, contendo quatro seções. É considerada a separação binária de um componente fortemente adsorvido <i>A</i> e de um componente fracamente adsorvido <i>B</i> (MAZZOTTI et al., 1997).	10
Figura 2.2:	Comparação humorada clássica entre a cromatografia tradicional em leito fixo e a cromatografia com sólidos em contracorrente. (a) A lenta “tartaruga” e a espécie mais fortemente adsorvida, espécie <i>A</i> , se move mais vagarosamente que o veloz “gato” que é mais fracamente adsorvido, espécie <i>B</i> . (b) O separador “gato-tartaruga” contínuo. A velocidade da correia transportadora é oposta e intermediária entre as velocidades do gato e da tartaruga (JUZA et al., 2000).	12
Figura 2.3:	Esquema de uma unidade de leito móvel simulado para a separação contínua por adsorção, com distribuição de duas colunas por seção.	13
Figura 2.4:	Regiões do plano ($m_2 - m_3$) com diferentes regimes de separação em termos da pureza das correntes de saída, para um sistema descrito pela isoterma linear com $H_A = 3$, $H_B = 1$ (MAZZOTTI et al., 1997).	23
Figura 2.5:	Fluxograma da estereoquímica e a designação dos enantiômeros	26
Figura 2.6:	Estereoquímica e designação dos enantiômeros da molécula de gliceraldeído (LOUGH, 1989).	28
Figura 2.7:	Sistema CAHN-INGOLD-PRELOG para definição das configurações R e S, onde Br = 1, N = 2, C = 3 e H = 4 (LOUGH, 1989).	28
Figura 2.8	Estereoisômeros do 1,2 Dibromo-Ciclopropano.	29
Figura 2.9:	Abordagens empregadas para a resolução de enantiômeros.	31

- Figura 3.1: Diagrama esquemático da unidade de LMS montada no Departamento de Processos Biotecnológicos na Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP. 36
- Figura 3.2: Esquema de funcionamento das válvulas multiposição. Em “A” tem-se as engrenagens que constituem uma válvula multiposição. Em “B” o esquema de direcionamento do fluxo pela válvula multiposição. 37
- Figura 3.3: Detalhes da estrutura desenvolvida para realizar o direcionamento do fluxo na unidade LMS. Nó entre a coluna (n - 1) e a coluna n. Cada um dos nós entre colunas da unidade tem um arranjo idêntico a esse, que se localiza abaixo de cada coluna. 40
- Figura 3.4: Esquema da unidade LMS , operando na posição 1. As tubulações utilizadas nesta posição estão representadas pelas linhas mais grossas, em negrito. As linhas mais finas representam tubulações que não são utilizadas nesta posição. 42
- Figura 3.5: Esquema da unidade LMS, operando na posição 2. As tubulações utilizadas nesta posição estão representadas pelas linhas mais grossas, em negrito. As linhas mais finas representam tubulações que não são utilizadas nesta posição. 43
- Figura 3.6: Fotografia da unidade LMS. Observa-se as quatro bombas, o aparelho de UV entre as mesmas, as colunas, tubulações e válvulas multiposição. 44
- Figura 3.7: Fotografia da unidade LMS. Detalhe das válvulas multiposição (que contém estruturas retangulares de cor negra) e dos nós entre as colunas. 44
- Figura 3.8: Sistema de análise na posição A (analisa o extrato e descarta o refinado). 46
- Figura 3.9: Sistema de análise na posição B (analisa o refinado e descarta o extrato). 46
- Figura 3.10: Esquema da Unidade LMS com sistema de análise. 47
- Figura 3.11: Fotografia da unidade LMS. Detalhe para a válvula de amostragem, empregada para a coleta de material ao longo de um ciclo completo no estado estacionário, para a determinação do perfil interno de concentração em todas as colunas da unidade LMS. 48
- Figura 3.12: Esquema reacional da derivação da celulose com isocianato de 3,5-dimetilfenila formando o tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose. 53
- Figura 3.13: Sistema desenvolvido para a redução de partículas finas, existentes na fase estacionária. (1)-Adição do adsorvente; (2) – Solução de hexano/isopropanol (70/30 %_{v/v}); (3)– bomba peristáltica e (4) – material precipitado. 54

Figura 3.14:	Sistema desenvolvido para o enchimento das colunas cromatográficas a altas pressões. (1)-Cilindro de gás comprimido para o impulsionamento da bomba hidro-pneumática; (2)-Bomba hidro-pneumática de alta pressão; (3)-Reservatório da lama de adsorvente; (4)-Conector em aço para união da coluna cromatográfica ao reservatório e (5)-Coluna cromatográfica a ser preparada.	55
Figura 3.15:	Estrutura química do <i>N</i> -Boc-baclofeno-lactama.	56
Figura 3.16:	Gráfico esquemático do ensaio para a obtenção da isoterma de equilíbrio, empregando um coluna cromatográfica quiral, com destaque para a etapa de saturação da coluna em azul e a etapa de eluição em vermelho.	63
Figura 4.1:	Espectro do Infra Vermelho obtido para o TDFC.	69
Figura 4.2:	Laudo da análise elementar do TDFC.	70
Figura 4.3:	Análise granulométrica das partículas de sílica Luna, adquirida comercialmente, realizada através da técnica de espalhamento de luz laser (Light-scattering).	71
Figura 4.4:	Microscopia de varredura eletrônica da sílica Luna.	72
Figura 4.5:	Distribuição de tamanho de partícula para o TDFC, utilizando a técnica do espalhamento da luz laser (light-scattering), para a nova fase estacionária sintetizada.	72
Figura 4.6:	Cromatogramas obtidos para a molécula do <i>N</i> -Boc-baclofeno-lactama utilizando a coluna comercial Chiralcel OD à esquerda e a coluna de TDFC analítica confeccionada no laboratório à direita, com vazão da fase móvel de 1,0 mL.min ⁻¹ .	74
Figura 4.7:	Cromatogramas obtidos para a molécula do <i>N</i> -Boc-rolipram utilizando a coluna comercial Chiralcel OD à esquerda e a coluna de TDFC analítica confeccionada no laboratório à direita, com vazão da fase móvel de 1,0 mL.min ⁻¹ .	75
Figura 4.8:	Cromatograma obtido para a molécula <i>p</i> -nitrolactama com a coluna analítica desenvolvida, sendo utilizado hexano 96 %/ isopropanol 4% como fase móvel e fluxo de 1,0 mL.min ⁻¹ .	76

- Figura 4.9: Cromatograma obtido para a 3,4-dimetóxilactama com a coluna analítica, sendo utilizado a mistura hexano 92% /isopropanol 8% como fase móvel a um fluxo de 1,0 mL.min⁻¹. 76
- Figura 4.10: Cromatograma obtido para a cetamina na coluna analítica, empregando a mistura de hexano 85% / isopropanol 15% como fase móvel e com fluxo de 0,4 mL.min⁻¹. 77
- Figura 4.11: Conjunto dos cromatogramas da resolução dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama com a fase estacionária TDFC empacotada nas 8 colunas semipreparativas desenvolvidas, empregando como fase móvel a mistura de hexano/etanol (70:30 %_{v/v}) com vazão de 1,0 mL.min⁻¹. 78
- Figura 4.12: Cromatogramas da injeção do inerte TTBB na coluna semipreparativa com TDFC confeccionada no laboratório, empregando o metanol como fase móvel. 79
- Figura 4.13: Cromatogramas da injeção do TTBB com sistema CLAE e sem a coluna semipreparativa, empregando o metanol como fase móvel para a determinação do volume morto existente. 80
- Figura 4.14: Relação da queda de pressão por comprimento do leito cromatográfico em função da velocidade superficial do fluido de operação (etanol) na coluna. 81
- Figura 4.17: Cromatograma obtido com a coluna analítica TDFC, empregando uma concentração de 3mg.mL⁻¹ de *N*-Boc-baclofeno-lactama. 82
- Figura 4.18: Curva de Calibração da área dos picos dos cromatogramas da *N*-Boc-baclofeno-lactama em função da concentração da *N*-Boc-baclofeno-lactama injetada na coluna TDMFC. ___ Concentração da mistura racêmica; ___ Concentração do enantiômero (-), ___ concentração do enantiômero (+). 83
- Figura 4.19: Variação da tensão do sistema UV/VIS em função do tempo, para a *N*-Boc-baclofeno-lactama. 84
- Figura 4.20: Calibração da Tensão (volts) fornecida pelo sistema UV/VIS em função da Concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama (mg.mL⁻¹). 84
- Figura 4.21: Curvas de rupturas seguidas da etapa de eluição para diferentes valores de concentração do racemato *N*-Boc-baclofeno-lactama, empregando uma coluna preparativa de TDFC existentes na unidade LMS. 86

- Figura 4.22: Isoterma de adsorção competitiva para a *N*-Boc-baclofeno-lactama (Baclofeno Lactama) empregando uma das colunas de TDFC (15 cm x 0,8 cm) empregadas na unidade LMS. 86
- Figura 4.23: Região no plano (m_2 - m_3) que define a completa separação dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama em termos da pureza das correntes de saída, para um sistema descrito pela isoterma linear. Os valores médios das constantes de Henry, para os isômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama foram: $(H_D)_{média} = 5,663$; $(H_L)_{média} = 4,216$. 89
- Figura 4.24: Evolução do perfil de concentração da corrente na refinado, obtido através do monitoramento sistema UV a 280 nm, visando à obtenção do isômero “(-)” que apresenta menor interação com a fase estacionária TDFC. 90
- Figura 4.25: Evolução do perfil de concentração da corrente no extrato obtido através do monitoramento sistema UV a 280 nm, visando à obtenção do isômero “D” que apresenta maior interação com a fase estacionária TDFC. 91
- Figura 4.26: Perfil da corrente de refinado obtido através do polarímetro. 92
- Figura 4.27: Perfil da corrente de extrato obtido através do polarímetro. 92
- Figura 4.28: Cromatogramas resultantes da injeção de amostras de refinado, coletadas durante cada um dos sete ciclos da corrida experimental para a *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando um sistema CLAE e a coluna analítica de TDFC. 94
- Figura 4.29: Cromatogramas resultantes da injeção de amostras de extrato, coletadas durante cada um dos sete ciclos da corrida experimental para a *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando um sistema CLAE e a coluna analítica de TDFC. 95
- Figura 4.30: Cromatogramas resultantes da injeção de amostras do dessorvente saída (DS), coletadas durante cada um dos sete ciclos da corrida experimental para a *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando um sistema CLAE e a coluna analítica de TDFC. 96
- Figura 4.31: Perfil de Concentração da corrente de refinado obtido para a *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg.mL}^{-1}$. 97
- Figura 4.32: Perfil de Concentração da corrente de refinado obtido para a *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg.mL}^{-1}$. 98

- Figura 4.33: Perfis de concentrações na série de colunas do LMS, para amostras coletadas em tempos de 25% de cada período, na corrida com o *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo LMS e com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a 3,0 mg.mL⁻¹. 99
- Figura 4.34: Perfis de concentrações na série de colunas do LMS, para amostras coletadas em tempos de 50% de cada período, na corrida com o *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo LMS e com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a 3,0 mg.mL⁻¹. 99
- Figura 4.35: Perfis de concentrações na série de colunas do LMS, para amostras coletadas em tempos de 75% de cada período, na corrida com o *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo LMS e com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a 3,0 mg.mL⁻¹. 100
- Figura 4.36: Perfil de concentração da corrente de extrato obtido para os enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a 3,0 mg.mL⁻¹. Corrente rica no enantiômero (+). 101
- Figura 4.37: Perfil de concentração da corrente de refinado obtido para os enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a 3,0 mg.mL⁻¹. corrente rica no enantiômero (-). 102
- Figura 4.38: Perfil de concentração da corrente de extrato obtido para a molécula de *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a 2,0 mg.mL⁻¹. Corrente rica no enantiômero (+). 103
- Figura 4.39: Perfil de concentração da corrente de refinado obtido para a molécula de *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a 2,0 mg.mL⁻¹. Corrente rica no enantiômero (-). 103

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1:	Alguns pares de enantiômeros com suas aplicações e diferenças de atividades biológicas (CHING-JOE, 2002).	02
Tabela 1.2:	Possíveis benefícios do uso de enantiômeros puros nas aplicações farmacêuticas (CHING –JOE, 2002).	03
Tabela 1.3:	Comparação entre o método químico e biológico com o processo LMS.	07
Tabela 2.1:	Comparação entre a unidade LMS e a LMV correspondente (CHARTON & NICOUD, 1995).	17
Tabela 3.1:	Misturas racêmicas empregadas para a resolução enantiomérica.	51
Tabela 4.1:	Imagens da microscopia da fase quirál TDFC.	73
Tabela 4.2:	Avaliação cromatográfica das colunas semipreparativa com o TDFC.	80
Tabela 4.3:	Parâmetros do modelo Langmuir Competitivo, no ajuste dos experimentais dos enantiômeros da <i>N</i> -Boc-baclofeno-lactama.	87
Tabela 4.4:	Determinação das constantes de Henry dos isômeros “(+)” e “(-)” da <i>N</i> -Boc-baclofeno-lactama com fase móvel hexano/etanol (70/30 % _{v/v}). Onde “(+)” é o isômero mais retido e “(-)” é o isômero menos retido.	88
Tabela 4.5:	Pureza e enriquecimento enantiomérico das correntes extrato e refinado.	96
Tabela 4.6:	Resumo dos ensaios com a unidade LMS em diferentes condições operacionais, realizadas com o sistema <i>N</i> -Boc-baclofeno-lactama e TDFC.	104
Tabela 4.7:	Pureza e excesso enantiomérico obtidos nas diferentes corridas experimentais realizadas com a unidade LMS.	105
Tabela 4.8:	Consumo total de dessorvente, taxa de alimentação de racêmico e a produtividade por massa, obtidos nos três últimos ensaios.	107

RESUMO

A separação de misturas enantioméricas na indústria farmacêutica é uma tarefa fundamental na produção de medicamentos, na sua forma enantiomericamente pura. Dentre os processos empregados para esta finalidade que tem merecido destaque é o sistema contínuo de cromatografia líquida denominado de leito móvel simulado (LMS). A sua vantagem se deve por proporcionar redução, tanto no tempo quanto, no custo de produção de fármacos, em sua forma enantiomericamente pura.

Neste trabalho foi utilizada mistura racêmica de *N*-Boc-baclofeno-lactama, precursora do medicamento Baclofeno que é um relaxante muscular e antispástico. É um fármaco importante utilizado na espasticidade em pessoas com esclerose múltipla, geralmente notada como tensão e rigidez muscular, acompanhada de dor e espasmos flexores.

Os enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama foram separados na unidade LMS, empregando oito colunas cromatográficas com a fase estacionária quiral tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose adsorvida em sílica e utilizando como fase móvel uma mistura de hexano/etanol (70/30 %v/v). As condições operacionais da unidade LMS foram obtidas a partir da determinação das isotermas de equilíbrio sob condições lineares, representadas pelas constantes de Henry, para cada um dos enantiômeros. As correntes de refinado e extrato apresentaram purezas enantioméricas de 95% e 92% respectivamente, com uma produtividade de 15 g de racêmico-dia⁻¹/[kg de adsorvente].

Palavras-chave: Leito Móvel Simulado, Resolução de Quirais, Cromatografia Preparativa, *N*-Boc-baclofeno-lactama.

ABSTRACT

The separation of enantiomeric mixtures in the pharmaceutical industry is a fundamental task in the production of pharmaceutical drugs in its form optically pure. One of the processes employed for this purpose that has received attention in the last decades is the continuous system of liquid chromatography called simulated moving bed (SMB or LMS), especially because of the reduction in production costs of these substances in its enantiomeric purified form.

In this work the enantiomers of *N*-Boc-baclofen-lactam, precursory molecule of the medication Baclofen that is a muscle relaxant and an antispastic agent. It is an important drug used to relieve the muscle spasms, pain, and muscular rigidity associated with multiple sclerosis.

The enantiomers of *N*-Boc-baclofen-lactam were separate in the SMB unit, using 8 chromatographic columns with the chiral stationary phase cellulose tris (3,5-dimethylphenylcarbamate), using as mobile phase a hexane/ethanol mixture (70:30 v/v). The operational conditions of the SMB unit were obtained from the determination of the linear isotherms, represented by Henry's constants, for each one of the enantiomeric. The refined currents and extract presented purities of 95% and 92%, respectively. The unit processed 15 g of racemic per day /[kg of adsorbent].

Keywords: Simulated Moving Bed, Chiral Resolution, Preparative Chromatography, *N*-Boc-baclofen-lactam.

CAPÍTULO 1

1.1- INTRODUÇÃO

A separação e purificação de enantiômeros é uma tarefa fundamental em muitas rotas de produção de fármacos, principalmente das substâncias que atuam nos sistemas nervoso central, cardiovascular e anticancerígenas. Em 1997, o volume das vendas, em todo mundo, de fármacos comercializados com um único enantiômero atingiu a cifra de 90 bilhões de dólares. Dos 100 fármacos mais vendidos neste ano, 50 são elaborados com um único enantiômero, gerando um cifra de 42,8 bilhões de dólares (STINSON, 1998).

A importância da obtenção de um enantiômero puro vem da estreita relação existente entre a sua configuração, ou seja, a maneira como seus átomos ou grupos de átomos estão orientados no espaço, e a sua atividade biológica. Uma vasta gama de compostos, como fármacos, aditivos alimentares, fragrâncias e agroquímicos, podem ser citados como exemplos onde a propriedade biológica é fortemente relacionada a uma determinada configuração. Sabe-se que os dois enantiômeros presentes em uma mistura racêmica geralmente apresentam atividades farmacológicas diferentes, uma vez que os receptores e enzimas interagem seletivamente às diferenças configuracionais. Na Tabela 1.1 são exemplificadas algumas destas diferenças.

Ao analisar especificamente produtos farmacêuticos, ressalta-se que em alguns casos, somente um dos enantiômeros apresenta propriedades biológicas, como é o caso da cloromicetina, onde só um dos estereoisômeros atua como antibiótico. Em outros casos, um estereoisômero além de não apresentar atividade ainda interfere na ação terapêutica do outro, como é o caso da (+)-epinefrina (MORRISON & BOYD, 1992). Recordar-se aqui o caso dramático da utilização da mistura racêmica talidomida há alguns anos atrás. Neste caso, a (R)-talidomida possui uma ação terapêutica positiva como medicamento sedativo, mas a (S)-talidomida apresenta graves efeitos teratogênicos, levando a má formação do feto quando

receitado à gestantes. A prometazina é um exemplo raro de fármaco que apresenta a mesma atividade biológica e potência para ambos os enantiômeros, no que concerne a sua atividade anti-histamínica (CASS & DEGANI, 2001).

Tabela 1.1: Alguns pares de enantiômeros com suas aplicações e diferenças de atividades biológicas (CHING-JOE, 2002).

Enantiômero	Propriedade biológica
(S) – asparagina.	Amargo.
(R) – asparagina.	Doce.
(S) – glutamato.	Realçador de sabor.
(R) – glutamato.	Sem sabor
(S) – carvona.	Alcaravia.
(R) – carvona.	Menta.
(S) – dopa.	Agente anti-Parkinson.
(R) – dopa.	Sérios efeitos colaterais.
(S) – alpha – metil – dopa.	Agente anti-hipertensão.
(R) – alpha – metil – dopa.	Sem atividade anti-hipertensão.
(S) – propanolol, (S) – atenolol, (S) – metropolol.	Bloqueadores beta (anti-hipertensão).
(R) – enantiômeros.	Sem atividade como bloqueadores beta.
(2R, 3S) – propoxifeno.	Agente analgésico.
(2S, 3R) – propoxifeno.	Inibidor da tosse.
(S) – cetamina.	Anestésico.
(R) – cetamina.	Agente alucinógeno.
(S, S) – etambutol.	Atividade antituberculose.
(R, R) – etambutol.	Degeneração do nervo ótico (cegueira).

Em decorrência das diferentes propriedades biológicas que cada enantiômero exerce nos processos bioquímicos, a obtenção de substâncias enantiopuras tornou-se um grande desafio para pesquisadores e para a indústria farmacêutica, adicionado ao fato que as autoridades reguladoras da agência de saúde nos Estados Unidos, o FDA (Food and Drug Administration) têm imposto exigências mais rigorosas quanto à concessão de novas patentes de medicamentos racêmicos, exigindo estudos completos quanto ao perfil farmacológico e fármaco-cinético dos enantiômeros individuais e de suas combinações. De fato, a

comercialização de enantiômeros puros apresenta uma série de vantagens sobre a comercialização do racêmico, como mostra a Tabela 1.2 (CHING – JOE, 2002). Na indústria farmacêutica, contudo, estima-se que a proporção de fármacos comercializados como mistura racêmica é de aproximadamente 40% do total de fármacos quirais opticamente ativos. Assim sendo, a indústria da química fina e farmacêutica tem sido desafiada a utilizar novos processos tecnológicos que permitam a obtenção desses compostos, podendo atender assim às pressões governamentais. Estes fatores impulsionaram uma forte concorrência entre as empresas farmacêuticas, constituindo-se no ponto principal para a pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos quirais.

Tabela 1.2: Possíveis benefícios do uso de enantiômeros puros nas aplicações farmacêuticas (CHING –JOE, 2002).

Propriedades do fármaco quiral	Possíveis vantagens do fármaco enantiomericamente puro
Apenas um dos enantiômeros é ativo.	Redução da dose e da carga no metabolismo
Um dos enantiômeros é tóxico.	Restrições menos rígidas na dosagem. Ampliação do uso do fármaco.
Enantiômeros têm diferentes propriedades farmacocinéticas.	Melhor controle da cinética e da dosagem.
Enantiômeros são metabolizados a diferentes taxas em uma mesma pessoa.	Redução da variabilidade da resposta dos pacientes.
Enantiômeros são metabolizados a diferentes taxas na população.	Redução da variabilidade da resposta dos pacientes.
Um dos enantiômeros tem tendência de intromissão em rotas de desintoxicação.	Maior confiança na padronização da dosagem. Redução nas interações com outros fármacos comuns
Um enantiômero é agonista, o outro é antagonista.	Aumento da atividade e redução na dosagem.
Enantiômeros variam no espectro de ação farmacológica e especificidade de tecido.	Aumento de especificidade e redução de efeitos colaterais.

A comercialização de fármacos enantiomericamente puros ou enriquecidos tem indicado um crescimento contínuo ao redor do mundo. De 1995 para 1997 ocorreu um incremento de 21% nas vendas, e entre os 500 fármacos mais vendidos no mundo, 269 já são comercializados como um único enantiômero (STINSON, 1998). A Figura 1.1 demonstra a evolução do desenvolvimento de fármacos nos últimos anos, onde se observa que a maioria destes compostos apresenta centros quirais e que o desenvolvimento como um único enantiômero vem aumentando significativamente. Na Figura 1.2 é apresentado a evolução da venda de fármacos quirais nos últimos anos, chegando no ano de 2000 próximo de 100 bilhões de dólares (REKOSKE, 2001).

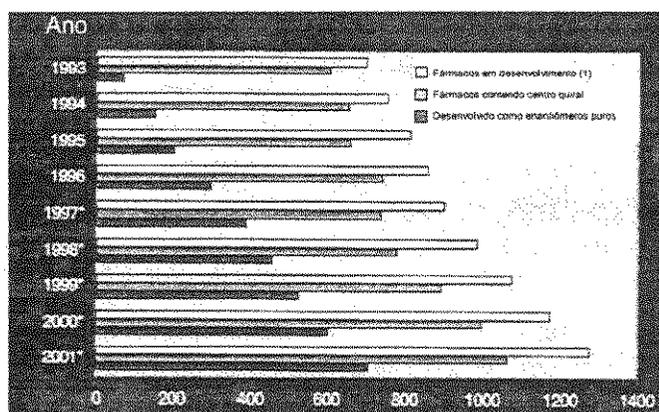


Figura 1.1: Distribuição de medicamentos em desenvolvimento no mundo. (1) Exceto antibióticos. (*) Valores estimados. (Adaptado de REKOSKE, 2001).

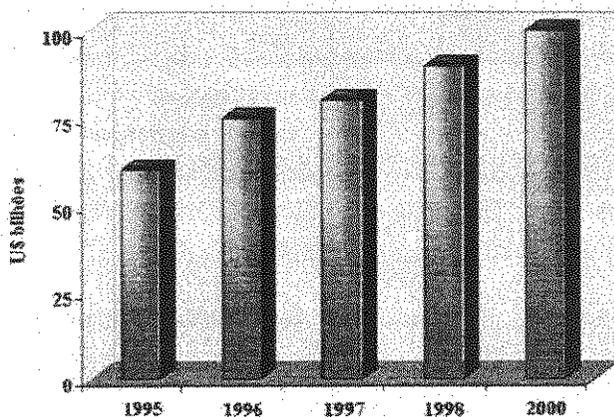


Figura 1.2: Evolução das vendas de medicamentos comercializados com um único enantiômero (Adaptado de REKOSKE, 2001).

Em química orgânica, a separação dos dois enantiômeros, também conhecida como a resolução de mistura racêmica é uma tarefa complexa, devido ao alto grau de semelhança entre os mesmos. Os principais métodos de obtenção de enantiômeros puros são: a síntese assimétrica, a cristalização diastereoisomérica, e a separação por cromatografia.

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), tradicionalmente utilizada em regime descontínuo, tem sido amplamente utilizada pelas indústrias farmacêuticas, de química fina e de bioprodutos, tanto como uma ferramenta analítica quanto em escala preparativa. Devido a esta ampla utilização da CLAE, possibilitou o desenvolvimento de adsorventes específicos (fase estacionária), com base, por exemplo, em matrizes de polissacarídeos como a celulose e a amilose e em ciclodextrinas, que são seletivas para misturas de enantiômeros.

A descontinuidade do processo, o baixo rendimento e a diluição do produto tem sido as principais desvantagens das separações cromatográficas convencionais, e neste contexto se insere a separação e purificação de enantiômeros principalmente na medida em que se aumenta a escala de produção. Para se ter uma idéia, apenas uma pequena percentagem (~0,1%) das moléculas desenvolvidas em laboratório preenche os requisitos necessários de bioatividade para poderem ser utilizadas na denominada “Fase 1” do desenvolvimento dos processos, quando quantidades mais elevadas, 100 a 1000 gramas de dois enantiômeros, necessitam ser preparadas para testes farmacológicos e toxicológicos em grande escala. Desse modo, a pureza enantiomérica e a produção em quantidades adequadas são uma plataforma chave a ser atingida no desenvolvimento do processo, especialmente quando se tem como meta os estágios subseqüentes denominados de “Fase 2” e “Fase 3”, quando os testes clínicos e a produção para o mercado implicam no uso como uma mistura racêmica ou como um enantiômero puro. Para superar estas desvantagens, foram desenvolvidos sistemas cromatográficos contínuos, processos que visam ampliar o emprego da cromatografia em escala industrial.

A origem dos processos cromatográficos contínuos teve início na década de 40 com o desenvolvimento do primeiro processo de adsorção em contracorrente conhecido como processo Hypersorption, desenvolvido pela Union Oil Co, para a recuperação de etileno de uma corrente de gás leve, contendo principalmente metano e hidrogênio (BERG, 1946). BROUGHTON & GERHOLD idealizaram o sistema conhecido como Leito Móvel Simulado (“Simulated Moving Bed – SMB”) com a tecnologia desenvolvida, principalmente a partir dos

anos 70, pela Universal Oil Products (UOP) com o nome genérico de Sorbex (CAVALCANTE JR., 1998). Este processo era destinado à separação e recuperação de compostos petroquímicos, processos conhecidos como PAREX, OLEX e EBEX e a recuperação de frutose de misturas glicose e frutose, processo conhecido como SAREX (RUTHVEN, 1984; RUTHVEN & CHING, 1989). A partir de então, a utilização destes processos têm sido amplamente utilizados nas indústrias petroquímicas, de processamento de açúcares (BARKER E ABUSABAH, 1985) e de química fina (GANETSOS E BARKER, 1993).

Há dois tipos principais de leitos móveis: o Leito Móvel Verdadeiro e o Leito Móvel Simulado. No leito móvel verdadeiro há um escoamento real da fase sólida adsorvente que é efetuado numa direção contrária ao escoamento da fase líquida. No entanto, promover um escoamento uniforme da fase sólida é uma tarefa difícil, onde gera problemas de retro-misturas e também a degeneração das partículas do adsorvente devido ao atrito. É possível superar estes problemas relativos ao escoamento entre a fase sólida e líquida simulando o movimento da fase sólida através de uma adequada e periódica troca nas posições das entradas e saídas do sistema ao longo do leito, que passa a ser composto por várias colunas conectadas na forma de um circuito. Essas trocas são efetuadas em intervalos regulares e, dessa forma, acabam por promover um movimento relativo, contracorrente dando origem ao leito móvel simulado. O uso de válvulas rotativas especiais permite efetuar as trocas das correntes de forma simultânea e eficiente, controladas por um sistema computacional.

Atualmente, as indústrias de biotecnologia, farmacêuticas e de cosméticos vêm apresentando um interesse crescente pelos sistemas cromatográficos contínuos, como o leito móvel simulado (CHARTON E NICOUD, 1995), principalmente por esse sistema vencer algumas das barreiras existentes nos processos de purificação de compostos que requer alta pureza, como por exemplo: a redução no tempo para um novo produto atingir o mercado; produção de substâncias de qualidade em quantidade mais elevadas para testes clínicos e a redução no custo de produção incluindo a pesquisa e o desenvolvimento.

Particularmente na área da farmacêutica, nos últimos dez anos houve um interesse muito grande no emprego da tecnologia do leito móvel simulado, para a separação de enantiômeros. Isto se deve ao fato de que, quando comparado com o processo cromatográfico convencional, utilizado para o mesmo fim, o leito móvel simulado apresenta uma maior

produtividade em relação à quantidade de adsorvente empregado, no mesmo intervalo de tempo, com um baixo consumo de dessorvente, e maior concentração do produto na corrente de saída, preservando a pureza enantiomérica (NEGAWA & SHOJI, 1992). A Tabela 1.3 mostra uma comparação entre três metodologias que se competem para a produção de enantiômeros. (McCOY, 2000)

Tabela 1.3: Comparação entre o método químico e biológico com o processo LMS.

	Químico	Biológico	LMS
Mecanismo	Cat. Assimétrica	Enzima	Cromatográfico
Produtividade	Alta	Baixa	Moderada
Seletividade	Variada	Alta	Alta
Rendimento	Variado	Alto	Alto
Processo	Variável	Complexo	Complexo
Condições de. Operação	Alta temp./Pressão	Ambiente	Ambiente
Tempo de desenvolvimento	3-5 anos	2-3 anos	Meses
Custo de desenvolvimento	\$3-5 milhões	\$2-3 milhões	\$500.000-700.000

Com vista nas circunstâncias acima explicitadas, relativas às crescentes exigências, tanto por parte dos órgãos de fiscalização quanto do mercado por fármacos enantiomericamente puros, nasceu a idéia de se montar uma unidade de leito móvel simulado, nas dependências do Departamento de Processos Biotecnológicos da Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP. A tecnologia do leito móvel simulado está disponível comercialmente através de uma firma francesa “NOVASEP”, que fornece uma planta montada, na escala que se pretende, com assistência técnica, por 250 mil dólares no ano de 2000. Esta quantia inviabilizaria de pronto o projeto, e por isso optou-se por fazer a montagem do equipamento por meio da compra das peças constituintes, e contratação de profissionais qualificados. O custo da montagem do processo, envolvendo a compra de cada uma das peças constituintes, “software” de controle, e mão-de-obra especializada, ficou na ordem de 100 mil dólares. Esta é a primeira unidade de leito móvel simulado montada no Brasil, por uma equipe de técnicos brasileiros, para a separação e purificação de compostos enantioméricos.

1.2 - OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo o estudo da técnica do processo contínuo Leito Móvel Simulado na separação dos enantiômeros da molécula racêmica *N*-Boc-baclofeno-lactama, empregando colunas cromatográficas preenchidas com a fase estacionária quiral tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose suportada em sílica - TDFC. O Trabalho foi desenvolvido conforme as seguintes fases:

- Montagem da unidade Leito Móvel Simulado;
- Síntese da fase estacionária quiral TDFC;
- Empacotamento das colunas cromatográficas com a fase TDFC;
- Caracterização das colunas produzidas;
- Resolução dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama empregando unidade Leito Móvel Simulado.

CAPÍTULO 2

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O presente capítulo tem como objetivo apresentar uma revisão da Literatura sobre o tema da separação dos enantiômeros, constituintes de mistura racêmica, empregando o processo contínuo cromatográfico conhecido como leito móvel simulado (LMS).

2.1 - O Processo de Leito Móvel Simulado

Uma revisão recente foi realizada por JUZA et al. (2000) sobre a aplicação de cromatografia contínua para a separação de enantiômeros. São destacados nessa revisão os aspectos operacionais do Leito Móvel Simulado e a sua utilização na separação de compostos quirais. Em geral, processos contínuos em contracorrente são muito atrativos para a ampliação de escala de processos de separação, devido à sua capacidade intrínseca de atingir altos desempenhos de separação.

A tecnologia dos “Leitos Móveis Simulados” - LMS também conhecidos como SMB (“Simulated Moving Bed”), implica na simulação do movimento em contracorrente entre as fases sólida e fluida, que é mais eficiente em termos de desempenho de separação e consumo de eluente quando comparada à CLAE. Esta tecnologia foi desenvolvida para a separação de hidrocarbonetos em grande escala na indústria de petróleo e petroquímica e, somente nos últimos anos, ela tem sido aplicada em separações em outras áreas, tais como farmacêutica e química fina. Para a separação de isômeros de xilenos, por exemplo, um trabalho de natureza experimental foi desenvolvido por FURLAN et al., 1992.

Um sistema em contracorrente, denominado de Leito Móvel Verdadeiro (LMV), do inglês “True Moving Bed - TMB” também conhecido como “True Counter-Current - TCC”, utilizado para separações contínuas, é mostrado no diagrama da Figura 2.1. Neste sistema as

fases fluida e sólida se movem em direções opostas e ambas são recicladas, para a base e para o topo da unidade. A vantagem desse tipo de movimento está na sua propriedade de aumentar a força motriz da separação, como acontece em um trocador de calor, aumentando assim a eficiência de utilização do adsorvente (LERCH & RATKOWSKI, 1967).

Quatro correntes externas de fluido são também observadas na Figura 2.1: a alimentação a ser separada, o dessorvente, assim como as duas correntes de produtos, extrato e refinado. O extrato é rico no componente mais fortemente adsorvido enquanto que o refinado é rico no componente menos fortemente adsorvido. As correntes de entrada e saída dividem a unidade em quatro seções. A separação ocorre nas duas seções centrais da unidade, isto é, seções 2 e 3. Na primeira seção ocorre a regeneração do sólido adsorvente (Fase Estacionária) através da dessorção do componente mais fortemente adsorvido, enquanto que na quarta seção ocorre a regeneração do dessorvente (Fase Móvel) pela adsorção das espécies com menor força de adsorção. O estudo do sistema LMV é de fundamental importância para a compreensão do sistema LMS.

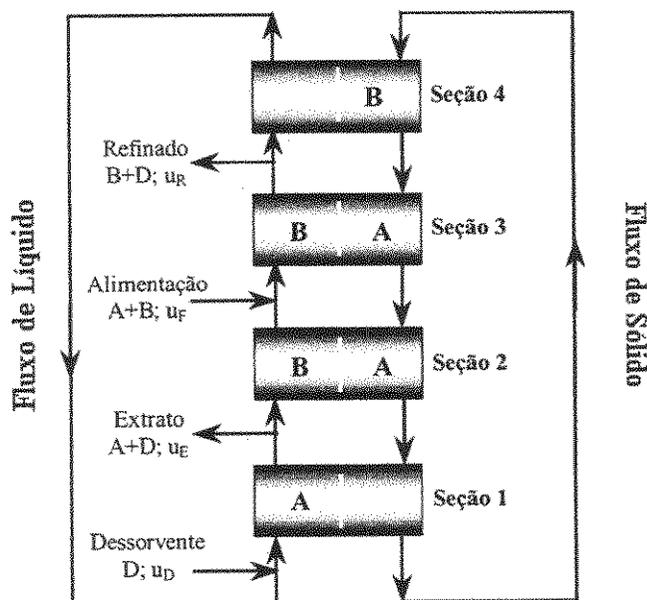


Figura 2.1: Diagrama esquemático de uma unidade de adsorção de operação contínua LMV, com movimento real em contracorrente do sólido e do líquido, contendo quatro seções. É considerada a separação binária de um componente fortemente adsorvido *A* e de um componente fracamente adsorvido *B* (MAZZOTTI et al., 1997).

No LMV é geralmente aplicado na separação de misturas binárias, onde os componentes apresentam diferentes forças de interações com o adsorvente. Por exemplo, a alimentação de uma mistura “ $A+B$ ” é feita na posição central do sistema da Figura 2.1, onde o componente A , com maior afinidade pelo adsorvente será coletado na corrente de extrato, e o componente B , com menor afinidade pelo adsorvente será coletado na corrente de refinado. Na seção 1, a substância A , mais fortemente adsorvida, deve ser deslocada da fase adsorvida proveniente da seção 2 pelo eluente que ingressa no sistema no início da seção 1. Assim, haverá mais A na fase fluida que se moverá mais rapidamente em direção à interface das seções 1-2, que é o ponto de retirada de extrato, rico em A . Da mesma forma, caso haja alguma molécula de B presente na seção 1, deseja-se que a mesma também se desloque em direção à seção 2 com vistas a atingir a interface 3-4, ponto de retirada de refinado. Na seção 2, qualquer molécula de A ali existente deve ser transportada pelo sólido em direção a seção 1, enquanto que as moléculas de B devem ser transportadas pelo fluido em direção à seção 3. Já na seção 3, as moléculas de A devem seguir com o sólido em direção à seção 2, e as moléculas de B são conduzidas pelo líquido em direção à interface 3-4, que corresponde ao ponto de retirada de refinado, rico em B . Finalmente, na seção 4, ambos A e B , caso estejam presentes na seção 4, são conduzidos pelo sólido em direção à interface 4-3 (CAVALCANTE JR., 1998).

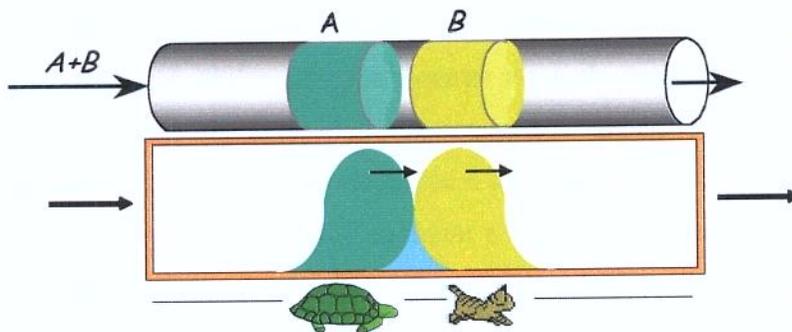
Assim a separação é efetuada nas duas seções centrais, e com vazões apropriadas, tanto para a fase sólida quanto para fase líquida, permitirá que o componente A seja levado para baixo, para a corrente de extrato, enquanto que o componente B é levado para cima, para a corrente de refinado, separando assim os compostos em duas partes. O dessorvente, que geralmente também exerce o papel de solvente, é alimentado na base da seção 1, de modo a dessorver o componente A e regenerar o sólido adsorvente, que é reciclado para o topo da seção 4. O componente B é adsorvido na seção 4, de forma a regenerar o dessorvente, que é reciclado para a base da unidade, onde é misturado à corrente de adsorvente que é alimentado ao sistema na seção 1.

A Figura 2.2, de forma humorada, ilustra muito didaticamente o princípio de funcionamento dos processos em sistema contracorrente (JUZA et al., 2000). Na parte superior (a) da Figura 2.2, tem-se uma situação em um leito fixo que visa separar dois compostos, uma “tartaruga” que pode se deslocar a uma velocidade “imaginária” de 3,0 km/h, espécie A , e um “gato” que se desloca a uma velocidade de 7,0 km/h, espécie B . Na separação

cromatográfica tradicional, ambos os componentes seguem na mesma direção, separando-se ao longo da coluna cromatográfica. Já no leito móvel, parte inferior (b), representado pela esteira rodando com uma velocidade de 5,0 km/h, os dois componentes se separam completamente, nas duas extremidades da “esteira”, caindo o “gato” em um lado e a “tartaruga” no outro lado.

Os problemas de uma unidade LMV estão relacionados com a movimentação da fase sólida a qual causa fortes retro-misturas (“back-mixing”) e rupturas das partículas sólidas. Para que se aproveite as vantagens de um escoamento em contracorrente, que maximiza a força motriz da separação, é necessário que o sólido flua de forma ordenada, ou seja, num fluxo aproximadamente empistonado (MAZZOTTI, PEDEFERRI, MORBIDELLI, 1996).

(a) Separação em Leito Fixo



(b) Separação em Contracorrente

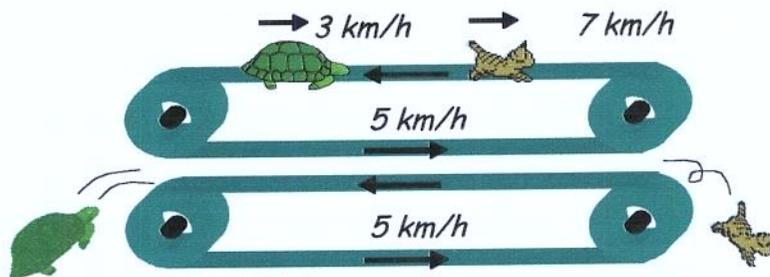


Figura 2.2: Comparação humorada clássica entre a cromatografia tradicional em leito fixo e a cromatografia com sólidos em contracorrente. (a) A lenta “tartaruga” e a espécie mais fortemente adsorvida, espécie A, se move mais vagarosamente que o veloz “gato” que é mais fracamente adsorvido, espécie B. (b) O separador “gato-tartaruga” contínuo. A velocidade da correia transportadora é oposta e intermediária entre as velocidades do gato e da tartaruga (JUZA et al., 2000).

É possível superar estes problemas circulando a fase fluida através de uma série de colunas com leitos fixos do sólido adsorvente e, simular o movimento contracorrente da fase estacionária através de deslocamentos periódicos de todos os pontos de alimentação e retiradas da unidade ao longo do eixo das colunas e na mesma direção do fluxo de fluido. Um esquema de uma unidade a LMS é mostrado na Figura 2.3, sendo constituído por um conjunto de leitos fixos ligados em série, com retiradas e alimentação em nós distintos ao longo do conjunto.

Na Figura 2.3, cada seção da unidade LMS é dividida em subseções contendo duas colunas por seção, de forma a imitar o movimento em contracorrente do sólido. Cada subseção corresponde a uma coluna cromatográfica (MAZZOTTI et al., 1997). Quanto ao número de colunas, o LMS pode apresentar um número total de, no mínimo, 4, passando por 8, 12, 14 ou 24, sendo a sua distribuição ao longo das seções não necessariamente em igual número (CAVALCANTE JR., 1998). Cada coluna individual continua sofrendo os mesmos efeitos transientes que um leito fixo tradicional, porém o conjunto se comporta como um LMV, que doravante chamar-se-á leito móvel simulado por não haver qualquer movimento de sólido.

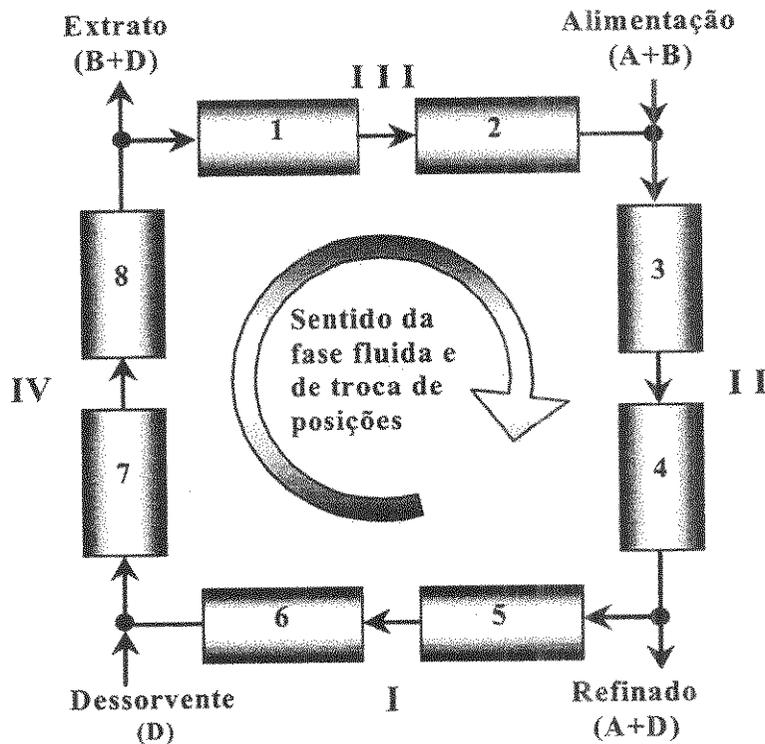


Figura 2.3: Esquema de uma unidade de leito móvel simulado para a separação contínua por adsorção, com distribuição de duas colunas por seção.

Devido à natureza contínua dos processos LMV, logo após a partida da unidade segue-se uma fase transiente, e depois desta o processo opera no regime estacionário. O processo LMS, em contraste, apresenta um regime estacionário cíclico, no qual o comportamento da unidade, dependente do tempo, se repete após a troca de posições ter completado um ciclo. Por isso, para se modelar o regime estacionário de uma unidade LMS, é necessário um modelo dependente do tempo, enquanto que para uma unidade LMV, um modelo independente do tempo é suficiente. Esta é uma das razões pelas quais costuma-se recorrer à unidade LMV para se modelar o estado estacionário cíclico da unidade LMS, valendo-se da equivalência entre os dois processos. Este recurso é mais freqüentemente explorado na etapa de projeto das condições operacionais da unidade LMS (MAZZOTTI et al., 1997).

O desempenho da unidade LMS é o mesmo da LMV desde que algumas regras quanto às condições operacionais sejam obedecidas. Uma delas se refere à velocidade relativa entre o sólido e o líquido, que deve ser a mesma nos dois tipos de processo, em cada uma das zonas. Como no LMV o sólido se movimenta no sentido contrário ao do líquido, e no LMS o sólido é estacionário, é necessário que a velocidade do líquido neste último seja maior que no primeiro, para que a velocidade relativa entre sólido e líquido seja a mesma nas duas unidades (PAIS, LOUREIRO, RODRIGUES, 1997). Equacionando:

$$(\text{Veloc. relativa sólido - líquido})_{LMS, \text{ seção } j} = (\text{Veloc. relativa sólido - líquido})_{LMV, \text{ seção } j}$$

$$(v_j)_{LMS} = (v_j)_{LMV} + (u_s) \quad (2.1)$$

Na Equação 2.1 v_j é a velocidade do líquido na seção j , u_s é a velocidade do sólido, só existente na unidade LMV.

A velocidade do líquido multiplicada pela área que o mesmo atravessa resulta na vazão volumétrica de líquido. Esta é a área intersticial, dada por:

$$(A)_{\text{int}} = A \cdot \varepsilon \quad (2.2)$$

Na Equação 2.2 ε é a porosidade relacionada aos espaços vazios entre as partículas do leite, e A é a área da seção transversal da coluna.

A velocidade do sólido multiplicada pela área que o mesmo atravessa resulta na vazão

volumétrica de sólido. Esta área é dada pela área da secção transversal da coluna multiplicada por $(1 - \varepsilon)$:

$$(A)_{\text{sólido}} = A \cdot (1 - \varepsilon) \quad (2.3)$$

A vazão volumétrica de sólido Q_s é então dada por:

$$Q_s = u_s \cdot A \cdot (1 - \varepsilon)$$

Em que
$$u_s = Q_s / [A \cdot (1 - \varepsilon)] \quad (2.4)$$

Multiplicando-se a equação (2.1) pela área intersticial, tem-se:

$$(Q_j)_{\text{LMS}} = (Q_j)_{\text{LMV}} + u_s \cdot (A)_{\text{int}} \quad (2.5)$$

Na Equação 2.5, $(Q_j)_{\text{LMS}}$ é a vazão volumétrica de líquido na seção j do LMS e $(Q_j)_{\text{LMV}}$ é a vazão volumétrica de líquido na seção j do LMV.

Substituindo as equações (2.2) e (2.4) na equação (2.5), obtém-se:

$$(Q_j)_{\text{LMS}} = (Q_j)_{\text{LMV}} + \frac{\varepsilon}{(1 - \varepsilon)} \cdot Q_s \quad (2.6)$$

Outra regra de equivalência entre o LMV e o LMS se refere ao movimento do sólido. Na unidade LMV, as posições das entradas (alimentação, dessorvente) e das saídas (refinado, extrato) são fixas, e o sólido se movimenta. Na unidade LMS da Figura 2.3, o sólido é fixo e as posições das entradas e das saídas se movimentam. A troca de posições se dá periodicamente, aqui se define o tempo de troca, ou "switch time" por t^* , na direção do escoamento do líquido, simulando-se assim o movimento do sólido.

Um observador que estivesse parado em um ponto de entrada ou saída de fluido na unidade LMV (por exemplo, na saída de refinado), veria o sólido se mover. Na unidade LMS, um observador não poderia estar parado na posição de saída de refinado, porque a mesma

não é fixa. No entanto, se o observador se movesse junto com o ponto de saída do refinado, ou seja, acompanhando as mudanças de posição, teria a impressão de que os leitos de sólido estariam se movendo, em contracorrente ao líquido.

Nesse raciocínio, no tempo decorrido entre duas trocas de posições t^* , o volume de sólido que se “move” na unidade LMS corresponde ao volume de sólido contido em uma coluna. A razão entre este volume de sólido e o tempo t^* deve ser igual à vazão real de sólido que existe na unidade LMV:

$$\frac{V \cdot (1 - \varepsilon)}{t^*} = Q_s \quad (2.7)$$

Na Equação 2.7, V é o volume total ocupado pelo leito na coluna.

As equações (2.6) e (2.7) são as relações de equivalência entre as unidades LMV e LMS que devem ser obedecidas no projeto das condições operacionais do LMS. A Tabela 2.1 fornece uma comparação entre as duas unidades, mostrando as semelhanças e diferenças entre uma e outra (CHARTON & NICLOUD, 1995).

Ao tentar dar partida em uma unidade LMS, o operador deparar-se-á necessariamente com uma série de questões. A primeira se refere às vazões nas bombas. Supondo que se queira processar uma quantidade pré-determinada de material por dia, ou por hora, tem-se então a vazão na bomba de alimentação. Definida esta vazão, restam ainda: a vazão de entrada de dessorvente, as vazões de extrato e de refinado, e a vazão de saída de dessorvente. Como fixar estas vazões? Qual a proporção entre as mesmas? Quais critérios devem ser seguidos para fixá-las? Outra questão surgirá ainda: qual o tempo de troca t^* das posições das correntes de fluido na unidade?

A resposta para estas questões tem sido fornecida pela Teoria do Equilíbrio. Tal teoria fornece, a partir de um modelo matemático simplificado, cada um dos parâmetros de operação em questão, a partir dos dados de isotermas equilíbrio do sistema, e das concentrações na alimentação.

Tabela 2.1: Comparação entre a unidade LMS e a LMV correspondente (CHARTON & NICLOUD, 1995).

LMV	LMS
Estado estacionário	Estado estacionário cíclico
Movimento real do sólido	Troca periódica dos pontos de coleta/injeção
Q_s	$t^* = [V \cdot (1-\varepsilon)] / Q_s$
Fluxos internos	Fluxos internos
$(Q_j)_{LMV}$	$(Q_j)_{LMS} = (Q_j)_{LMV} + \frac{\varepsilon}{(1-\varepsilon)} \cdot Q_s$
$j = 1, 2, 3, 4$	$j = 1, 2, 3, 4$
Fluxos de dessorvente, alimentação, extrato, refinado	Fluxos de dessorvente, alimentação, Extrato, refinado
$(Q_{dcss})^{LMV}, (Q_{alim})^{LMV}, (Q_{cx})^{LMV}, (Q_{raf})^{LMV}$	$(Q_{dcss})^{LMS}, (Q_{alim})^{LMS}, (Q_{cx})^{LMS}, (Q_{raf})^{LMS}$

A Teoria do Equilíbrio é uma estratégia para modelar o LMS que recorre à equivalência entre este e o processo LMV, dada pelas Equações (2.6) e (2.7). Aplica-se o balanço material para um componente i em uma dada seção j da unidade LMV, e as conclusões tiradas da resolução do balanço podem ser estendidas à unidade LMS, por meio das referidas equações de equivalência.

As simplificações assumidas pela Teoria do Equilíbrio são listadas abaixo (RHEE et al, apud STORTI et al, 1989):

- 1- As vazões volumétricas de cada fase e a porosidade da fase sólida são constantes;
- 2- O efeito da dispersão axial é desprezível;
- 3- O equilíbrio termodinâmico é atingido em todos os pontos da coluna, em todos os instantes;
- 4- O processo de adsorção é isotérmico.

O balanço de massa do componente i na seção j da unidade LMV leva à seguinte

equação (MAZZOTTI et al., 1997):

$$\frac{\partial}{\partial \tau} [\varepsilon^* \cdot c_i^j + (1 - \varepsilon^*) \cdot n_i^j] + (1 - \varepsilon_p) \cdot \frac{\partial}{\partial \xi} [m_j \cdot c_i^j - n_i^j] = 0 \quad (2.8)$$

Na Equação (2.8), $\tau = t \cdot Q_S / V$ e $\xi = Y / V$ são as coordenadas adimensionais de tempo e de espaço, respectivamente, sendo Y o produto entre a seção da coluna e a coordenada axial; $\varepsilon^* = \varepsilon + \varepsilon_p \cdot (1 - \varepsilon)$ é a fração global de vazios no leito; ε_p é a porosidade intrapartícula e c_i^j e n_i^j são as concentrações do soluto i na seção j , nas fases fluida e sólida, respectivamente.

O parâmetro m_j é definido como a razão entre as vazões efetivas de líquido e de sólido na seção j da unidade LMV. A definição de uma vazão "efetiva" $(Q_j)_{ef}$ para o líquido leva em conta que uma fração do líquido se encontra no interior dos poros do adsorvente, sendo transportada pelas partículas. Assim na seção j , tem-se então (MAZZOTTI et al., 1997):

$$(Q_j)_{ef} = Q_j - Q_S \cdot \varepsilon_p \quad (2.9)$$

A definição de uma vazão "efetiva" $(Q_S)_{ef}$ para o sólido leva em conta a sua porosidade, ou seja, é descontado o volume de vazios dentro do mesmo (MAZZOTTI et al., 1997):

$$(Q_S)_{ef} = Q_S \cdot (1 - \varepsilon_p) \quad (2.10)$$

A equação para o parâmetro m_j é obtida fazendo-se a razão entre $(Q_j)_{ef}$ e $(Q_S)_{ef}$:

$$m_j = \frac{Q_j - Q_S \cdot \varepsilon_p}{Q_S \cdot (1 - \varepsilon_p)} \quad (2.11)$$

A Teoria do Equilíbrio considera que o equilíbrio termodinâmico é atingido em todos

os pontos do sistema, em todos os instantes. Com isso, o termo transiente da Equação (2.8) se anula, obtendo-se então:

$$\frac{\partial}{\partial \xi} [m_j \cdot c_i^j - n_i^j] = 0 \quad (2.12)$$

Na equação acima observa-se que no estado estacionário os parâmetros de importância decisiva para o sucesso do projeto são as razões de fluxo mássico m_j . Isso pode ser ainda melhor compreendido através da observação de um outro parâmetro, f_{ij} , que corresponde à diferença entre a vazão molar de um dado componente i com o líquido $(n_i)_L$ e a vazão molar do mesmo com o sólido adsorvente $(n_i)_S$, em uma dada seção j :

$$f_{i,j} = (n_i)_L^j - (n_i)_S^j = c_i^j \cdot (Q_j)_{ef} - n_i^j \cdot (Q_S)_{ef} \quad (2.13)$$

Substituindo-se as Equações (2.9) e (2.10) na equação (2.13) obtém-se:

$$f_{i,j} = c_i^j \cdot (Q_j - Q_S \cdot \varepsilon_p) - n_i^j \cdot [Q_S \cdot (1 - \varepsilon_p)] \quad (2.14)$$

Combinando-se as equações (2.11) e (2.14) obtém-se:

$$f_{i,j} = Q_S \cdot (1 - \varepsilon_p) \cdot [c_i^j \cdot m_j - n_i^j] \quad (2.15)$$

É fácil de se compreender que se f_{ij} for maior que zero na seção j , o componente i terá um deslocamento para cima, acompanhando o líquido, e se f_{ij} for menor que zero, seu deslocamento será para baixo, acompanhando o sólido.

Como $\varepsilon_p < 1$, $(1 - \varepsilon_p) > 0$, e a análise do sinal de f_{ij} se restringem à análise do sinal do termo entre colchetes. Então, para que i se desloque para cima, tem-se:

$$f_{ij} > 0 \Rightarrow [c_i^j \cdot m_j - n_i^j] > 0 \Rightarrow m_j > \frac{n_i^j}{c_i^j} \quad (2.16)$$

E para que i se desloque para baixo:

$$f_{ij} < 0 \Rightarrow [c_i^j \cdot m_j - n_i^j] < 0 \Rightarrow m_j < \frac{n_i^j}{c_i^j} \quad (2.17)$$

Observando-se a unidade LMV mostrada na Figura 2.1, em função do papel que cada uma das seções da unidade deve exercer na separação, pode-se dizer, para cada componente em cada seção, qual deve ser a direção que o mesmo deve tomar, ou seja, se deve subir acompanhando o líquido ou se deve descer, acompanhando o sólido.

A seção 1 é a única da unidade na qual o componente mais fortemente adsorvido A deve subir com o líquido, para ser extraído na corrente de extrato, entre as seções 1 e 2, e também para que ocorra a regeneração do adsorvente, que é reciclado para o topo da seção 4. Quanto ao componente fracamente adsorvido B, em princípio este deve se encontrar em uma quantidade muito pequena nesta seção, para não poluir a corrente de extrato devendo ser arrastado pelo sólido na seção 4. Aplica-se então a Inequação (2.16) para o componente A:

$$m_1 > \frac{n_A^1}{c_A^1} \quad (2.18)$$

Na seção 2, o componente A deve descer com o sólido, rumo à seção 1, onde é desorvido para sair na corrente de extrato. Por sua vez, o componente B deve subir com o líquido, rumo à saída do refinado, entre as seções 3 e 4. Tem-se então:

$$m_2 < \frac{n_A^2}{c_A^2} \quad \text{e} \quad m_2 > \frac{n_B^2}{c_B^2}$$

Combinando-se as duas inequações acima, obtém-se:

$$\frac{n_B^2}{c_B^2} < m_2 < \frac{n_A^2}{c_A^2} \quad (2.19)$$

Na seção 3, o componente A deve descer com o sólido, sendo adsorvido a partir do ponto de injeção da alimentação, entre as seções 2 e 3, e o componente B deve subir com o líquido, para ser retirado na corrente de refinado, entre as seções 3 e 4. As exigências quanto à direção que cada componente deve tomar são então idênticas às da seção 2, levando a:

$$\frac{n_B^3}{c_B^3} < m_3 < \frac{n_A^3}{c_A^3} \quad (2.20)$$

A seção 4 é a única da unidade na qual o componente fracamente adsorvido B deve descer com o sólido, para que ocorra a regeneração do dessorvente, que é reciclado para a base da seção 1. Quanto ao componente A, este também deve descer com o sólido. Tem-se então:

$$m_4 < \frac{n_B^4}{c_B^4} \quad \text{e} \quad m_4 < \frac{n_A^4}{c_A^4}$$

Como o componente B é mais fracamente adsorvido que A, se a primeira Inequação acima for atendida, a segunda também será, podendo-se então omiti-la:

$$m_4 < \frac{n_B^4}{c_B^4} \quad (2.21)$$

A teoria do equilíbrio considera que as concentrações C_i^j e n_i^j são concentrações do equilíbrio da adsorção. Se a adsorção seguir a lei de Henry, ou seja, se a isoterma do equilíbrio for linear (válido para soluções diluídas), tem-se:

$$n_i = H_i \cdot c_i \quad (2.22)$$

Substituindo-se a equação (2.22) nas inequações (2.18) - (2.21), obtém-se:

$$m_1 > H_A \quad (2.23)$$

$$H_B < m_2 < H_A \quad (2.24)$$

$$H_B < m_3 < H_A \quad (2.25)$$

$$m_4 < H_B \quad (2.26)$$

Ressalta-se que as condições acima foram desenvolvidas para a unidade LMV. No entanto, são válidas também para a unidade LMS, desde que as regras de equivalência dadas pelas Equações (2.6) e (2.7) sejam seguidas. Combinando estas duas equações, mais a Equação (2.11), que define o parâmetro m_j , obtém-se para uma unidade LMS:

$$m_j = \frac{Q_j^{LMS} \cdot t^* - V \cdot \varepsilon^*}{V \cdot (1 - \varepsilon^*)} \quad (2.27)$$

Na Equação (2.27) t^* é o tempo de troca das posições das correntes da unidade LMS.

As condições de (2.23) a (2.26) definem uma região no espaço de quatro dimensões cujas coordenadas são os parâmetros m_1 , m_2 , m_3 , m_4 , e cujos pontos representam condições operacionais correspondentes à completa separação dos componentes A e B, significando que na corrente de refinado só se encontra dessorvente + o composto B, e na corrente de extrato só se encontra dessorvente + o composto A, ou seja, a pureza de ambas as correntes é de 100%. As purezas destas correntes são definidas por:

$$P_E = \frac{100 \cdot c_A^E}{c_A^E + c_B^E} \quad (2.28)$$

$$P_R = \frac{100 \cdot c_B^R}{c_A^R + c_B^R} \quad (2.29)$$

É válido lembrar que estas condições não dependem da composição da alimentação. Como as isotermas de equilíbrio lineares se aplicam somente quando as espécies presentes se

apresentam muito diluídas, a exigência de condições de diluição infinita está implícita nas condições (2.23) - (2.26).

Considerando as seções 2 e 3 da unidade LMV, que exercem um papel fundamental na separação, observa-se na Figura 2.1 que se a alimentação injetada entre estas duas zonas se movimentar para cima, rumo à zona 3, então $m_3 > m_2$ e as condições (2.24) e (2.25) podem ser agrupadas em uma só:

$$H_B < m_2 < m_3 < H_A \quad (2.30)$$

A condição expressa na Inequação (2.30) define a projeção da região de completa separação, contida em um espaço de quatro regiões, sobre o plano (m_2, m_3) , mostrado na Figura 2.4 (MAZZOTTI et al., 1997). É válido ressaltar que o gráfico mostrado nesta figura só tem validade se não forem desrespeitadas as condições (2.23) e (2.26).

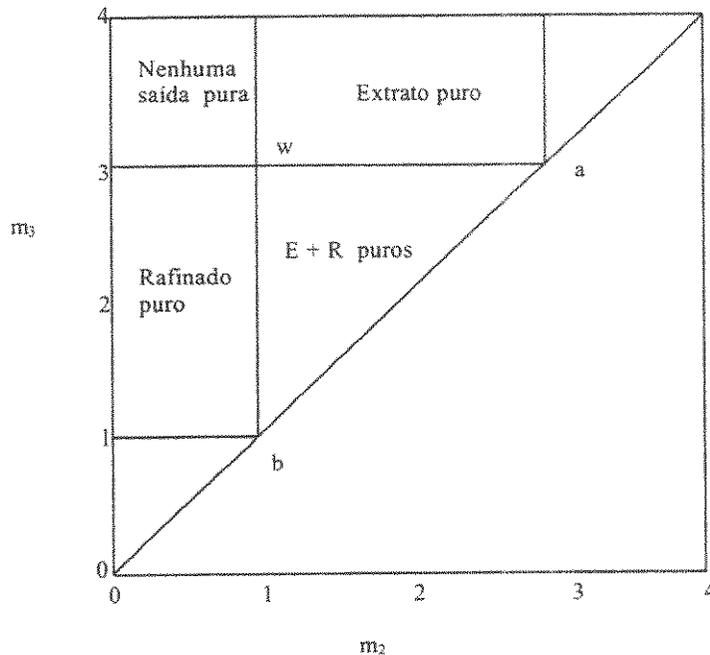


Figura 2.4: Regiões do plano $(m_2 - m_3)$ com diferentes regimes de separação em termos da pureza das correntes de saída, para um sistema descrito pela isoterma linear com $H_A = 3$, $H_B = 1$ (MAZZOTTI et al., 1997).

Estes resultados revelam que, com base na teoria do equilíbrio e considerando a isoterma linear descrita pela lei de Henry, se as vazões m_1 e m_4 satisfizerem as restrições (2.23) e (2.26), pode-se prever o desempenho da unidade LMS (ou LMV) com base na posição que o ponto determinado pelas condições operacionais ocupa no plano (m_2, m_3).

Quando se tem uma mistura que não atende às condições de diluição necessárias para se aplicar a isoterma linear, a aplicabilidade da Equação (2.22) é limitada, porque a mesma não considera a presença de dois fenômenos (STORTI et al., 1993):

-A competição entre os componentes da mistura pelos sítios de adsorção. Na Equação (2.22), vê-se que as concentrações dos demais componentes da mistura não influenciam no equilíbrio de adsorção do componente i , simplificação esta que advém da suposição de que as concentrações de soluto na mistura são muito baixas;

-A saturação do adsorvente. Os sítios de adsorção em um dado adsorvente não são infinitos em número. Quando todos eles estiverem ocupados, o adsorvente estará saturado, e por mais concentrada que seja a mistura, a concentração de equilíbrio no sólido não mais aumentará. Para levar em consideração este fenômeno, na equação do modelo n_i deve tender a um limite finito quando c_i tende ao infinito, e esta característica não está presente na Equação (2.22).

No caso de uma mistura que não atenda às condições de diluição necessárias para se aplicar a isoterma linear, deve-se aplicar outro modelo de isoterma, que leve em consideração os dois fenômenos descritos acima.

Um modelo que tem apresentado grande aplicabilidade consiste na isoterma não-estequiométrica competitiva de Langmuir (MAZZOTTI et al., 1997).

$$n_i = \frac{N_i \cdot K_i \cdot c_i}{1 + K_A \cdot c_A + K_B \cdot c_B} \quad (2.31)$$

Na Equação (2.31), K_i e N_i são a constante de equilíbrio e a capacidade de adsorção na saturação, respectivamente. Aqui se define também a "adsortividade" de

um componente i como:

$$\gamma_i = N_i \cdot K_i.$$

É interessante observar que a Equação (2.31), no caso em que as concentrações c_A e c_B são muito baixas, ou seja, o sistema é diluído, reduz-se a $n_i = (N_i \cdot K_i) \cdot C_i$, que corresponde à Equação (2.22) com $H_i = (N_i \cdot K_i)$.

Um fator merecedor de atenção no projeto das condições operacionais do LMS consiste na presença de volumes mortos nas linhas da unidade. A presença de volumes mortos nas tubulações e conexões entre as colunas deve ser devidamente levada em consideração no projeto das condições operacionais, principalmente no caso de unidades em pequena escala, nas quais o volume morto é comparável ao volume das colunas. Isto pode ser feito através da definição da razão de fluxos generalizada m_j^* (MIGLIORINI, MAZZOTTI, MORBIDELLI, 1998; PEDEFERRI et al., 1999):

$$m_j^* = (Q_j \cdot t^* - V \cdot \varepsilon - V_j^D) / [V \cdot (1 - \varepsilon)] \quad (2.32)$$

onde V_j^D é o volume morto na seção j da unidade LMS, obtido dividindo-se o volume morto total na seção j pelo número de colunas na mesma.

Para se levar em conta o efeito do volume morto, basta traçar a região de completa separação no plano $(m_2^* - m_3^*)$, ao invés de fazê-lo no plano $(m_2 - m_3)$. As mesmas equações que definem a região de completa separação são utilizadas; para isso, a única modificação consiste em substituir m_2^* onde aparecer m_2 e m_3^* onde aparecer m_3 , nas Equações (2.23) – (2.26), para o caso de isoterma linear. Traçado o gráfico, determina-se um ponto $(m_2^* - m_3^*)$ dentro da região de completa separação, e emprega-se a Equação (2.32) para se projetar as vazões nas bombas e o tempo de troca t^* . É válido observar que a Equação (2.32) se reduz à equação (2.27) no caso em que $V_j^D = 0$. Este parâmetro deve ser cuidadosamente medido ou estimado através do estudo das linhas da unidade LMS em questão.

2.2 - ASPECTOS DO SISTEMA ENANTIOMÉRICO PARA SEPARAÇÃO

2.2.1 - Características dos Enantiômeros

Estereoisômeros são moléculas compostas pelos mesmos átomos, contendo a mesma fórmula estrutural plana, diferindo unicamente na forma como seus átomos ou grupos estão orientados no espaço. Podem ser isômeros ópticos compostos por enantiômeros e diastereoisômeros ou isômeros geométricos. O diagrama da Figura 2.5 ilustra as divisões da estereoquímica nas diferentes isomerias espaciais.

Dentre os tipos de estereoisomeria podemos destacar os enantiômeros que são isômeros ópticos - compostos constituídos por moléculas assimétricas, em que geralmente um átomo de carbono (carbono assimétrico) está ligado a quatro radicais diferentes entre si. Os isômeros ópticos se comportam um em relação ao outro como objeto e sua respectiva imagem num espelho plano tal como a mão direita e a mão esquerda, ou seja, não são sobrepostos. Importante ressaltar que a assimetria molecular não é exclusiva do átomo de carbono, existem casos de assimetria molecular em compostos que não tem o carbono assimétrico.

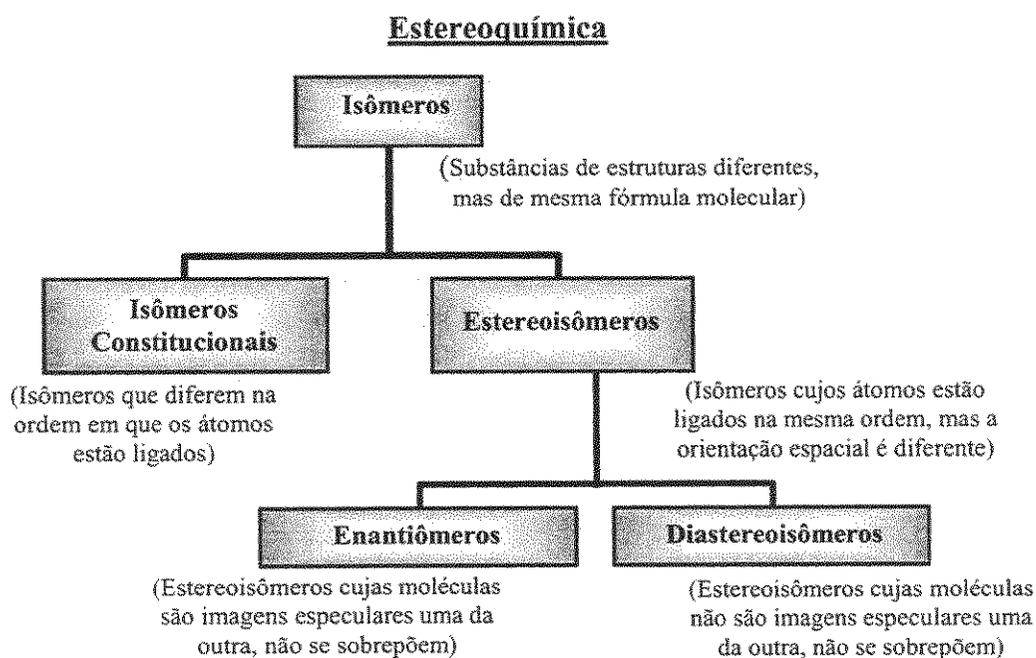


Figura 2.5: Classificação da estereoquímica.

A mistura formada por quantidades equimolares dos enantiômeros (estereoisômeros) é chamada de racemato ou mistura racêmica. A maior parte das rotas sintéticas da química orgânica leva à produção de mistura racêmica, no caso do composto de interesse possuir um elemento assimétrico, e não somente de um dos enantiômeros.

Devido a esta particularidade, o estudo destes compostos é de fundamental importância nas reações orgânicas e biológicas, uma vez que cada uma destas moléculas costuma interagir de forma diferente com os receptores biológicos, fato que os leva a apresentar diferentes características quando empregados como fármacos (HAGINAKA, 2002).

Portanto, podemos deduzir que a tridimensionalidade terá um papel determinante no fenômeno do reconhecimento molecular entre a molécula do fármaco e a biomolécula receptora. Esse fenômeno é fundamental para que a bioatividade se manifeste, com isto a existência especialmente da estereoisomeria, proporcionará implicações na atividade de um fármaco. Esta influência pode ser encontrada em várias famílias de compostos existentes na terapêutica, com aplicações tão importantes e variadas como agentes antidepressores, antiarrítmicos, antihipertensivos, antiinflamatórios, antihistamínicos, antitumorais, psicotrópicos, antibióticos, antifúngicos, antitrombóticos, entre outros.

Na ausência de outras espécies opticamente ativas, os enantiômeros apresentam geralmente propriedades físicas idênticas tais como ponto de ebulição, de fusão e densidade, bem como suas propriedades espectroscópicas, sendo a única exceção 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 este fenômeno eles recebem o nome de isômeros ópticos. Um enantiômero é denominado dextrorrotatório (D) quando desvia a luz plano polarizada para a direita (sentido horário) e levorotatório (L) quando desvia para a esquerda (sentido anti-horário), como mostra na Figura 2.6 os enantiômeros da molécula de gliceraldeído (LOUGH, 1989).

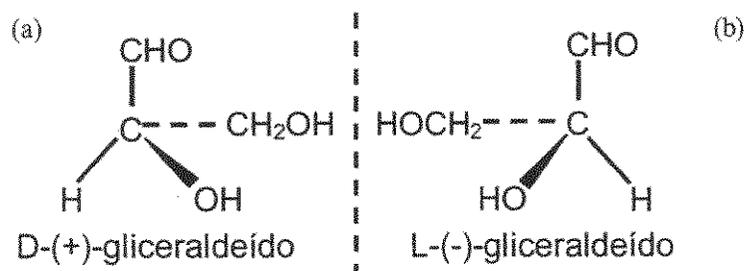


Figura 2.6: Estereoquímica e designação dos enantiômeros da molécula de gliceraldeído (LOUGH, 1989).

As duas moléculas de gliceraldeído da Figura 2.6 são ditas quirais, do grego “*cheir*” significa mão, onde uma é a imagem especular da outra. Quiralidade é condição necessária para a isomeria óptica. Todas as moléculas opticamente ativas são quirais, e a maioria delas é constituída pelos enantiômeros nos quais a assimetria molecular é devida à coordenação tetraédrica (ALLINGER *et al.*, 1978).

A quiralidade de uma molécula é descrita, principalmente, especificando-se sua configuração. As convenções mais usuais são as de FICHER (D ou L), e a de CAHN-INGOLD-PRELOG, (R ou S). Na nomenclatura R (Rectus) e S (Sinister), atribui-se aos quatro substituintes ligados ao centro quiral, prioridades decrescentes com o número atômico, por exemplo, $\text{Br} > \text{N} > \text{C} > \text{H}$, portanto $\text{Br} = 1$, $\text{N} = 2$, $\text{C} = 3$ e $\text{H} = 4$, e então se procede como o descrito na Figura 2.7 (LOUGH, 1989).

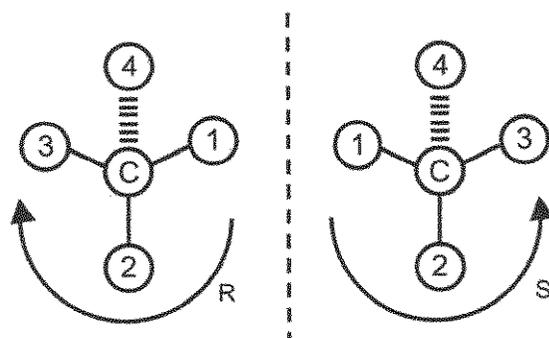


Figura 2.7: Sistema CAHN-INGOLD-PRELOG para definição das configurações R e S, onde $\text{Br} = 1$, $\text{N} = 2$, $\text{C} = 3$ e $\text{H} = 4$ (LOUGH, 1989).

Os 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 diferentes, tais como solubilidade, ponto de fusão e ebulição (ALLINGER,

1978), permitindo assim que estas moléculas sejam separadas mais facilmente por meio de técnicas convencionais. Na Figura 2.8, temos os estereoisômeros do 1,2 dibromo-ciclopropano, onde *A* e *B* são enantiômeros e *C* é um diastereoisômero de *A* e de *B*.

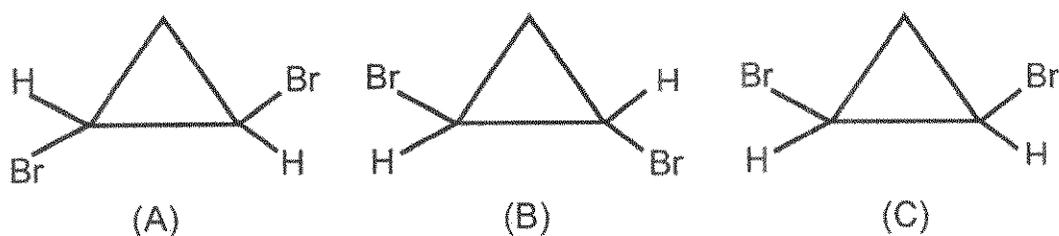


Figura 2.8: Estereoisômeros do 1,2 Dibromo-Ciclopropano

2.2.2 - Aspectos do Sistema Enantiomérico para Separação (Resolução)

A compreensão da estrutura tridimensional das moléculas possibilitou o estudo da estereoquímica e, conseqüentemente, a avaliação da importância da quiralidade das substâncias bioativas. Nos sistemas biológicos, enzimas e receptores de membrana realizam um reconhecimento seletivo dos isômeros configuracionais, interagindo diferentemente com ambos os enantiômeros, provocando na maioria das vezes, diferentes respostas biológicas (STINSON, 1998).

O impacto da quiralidade das moléculas repercute profundamente nos processos farmacológicos e biológicos, apresentando grande importância em diversos campos de interesse social e econômico, tais como: desenvolvimento de medicamentos, produtos agroquímicos, componentes alimentares, fragrâncias, novos materiais e catálise.

A obtenção de produtos opticamente puros tem sido de suma importância na química e bioquímica atuais, uma vez que os isômeros ópticos são empregados para fins farmacêuticos, nos estudos bioquímicos e como intermediários na síntese de produtos ativos farmacologicamente. O reconhecimento quiral é fator determinante em processos bioquímicos (enzimáticos, farmacêuticos), onde sabe-se bem que diferentes estruturas enantioméricas podem apresentar diferentes efeitos.

A resolução de dois enantiômeros ou o processo de separação destes é realizado através de uma seqüência de operações convencionais tais como a cristalização, por meio de

técnicas reacionais como a síntese enantioselectiva ou através de técnicas mais modernas como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As técnicas convencionais geralmente exigem um grande número de etapas operacionais, gerando um processo longo, complexo, caro, ineficiente e com baixos valores de seletividade e de rendimento, em relação à mistura inicial de enantiômeros (PRYDE, 1989).

As principais metodologias para a obtenção de um único enantiômero seguem basicamente duas abordagens, representadas na Figura 2.9. A primeira abordagem apresenta um enfoque quiral, denominada síntese estereosseletiva. Neste método empregam-se “synthons”, auxiliares ou catalisadores quirais, para induzir seletividade na formação de novos centros assimétricos. Esta estereosseletividade pode ser resultado de uma indução química (moléculas quirais), ou através de reações em meios biológicos utilizando-se microorganismos, ou ainda na presença de enzimas isoladas. Nestes casos, se ambos os enantiômeros são importantes será necessário desenvolver duas sínteses independentes. A segunda abordagem é inversa a anterior, isto é, focaliza uma síntese racêmica. Nesta abordagem ambos os enantiômeros são obtidos e subsequentemente resolvidos aos respectivos enantiômeros. Este método geralmente apresenta uma complexidade menor e um decréscimo na dificuldade para a obtenção do racemato, além de um custo relativamente inferior (FRANCOTTE, 2001).

A resolução dos racematos ocorre via separação de um intermediário diastereoisomérico, através da cristalização de um sal, por cromatografia dos diastereoisômeros ou ainda por cromatografia direta dos enantiômeros, por meio de fases estacionárias quirais. O método de resolução de racematos por cromatografia, geralmente fornece os enantiômeros em alta pureza óptica, possibilitando a realização de testes biológicos com ambos os enantiômeros.

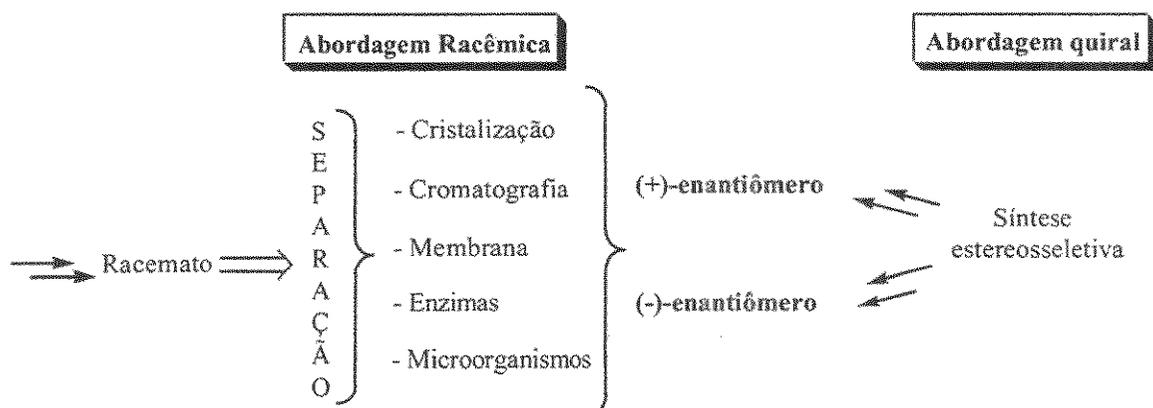


Figura 2.9: Abordagens empregadas para a resolução de enantiômeros.

A cristalização diastereoisomérica é um processo muito empregado para a obtenção de enantiômeros puros. Neste processo a mistura racêmica é submetida a uma reação com moléculas enantiopuras, onde estas moléculas irão reagir de forma diferente com os enantiômeros da mistura racêmica, levando a formação de um par de diastereoisômeros, podendo assim ser separados por técnicas convencionais. Este método requer grandes quantidades de reagentes enantiomericamente puros, e a presença de grupos funcionais adequados nos enantiômeros. Após a reação com o agente de resolução, os enantiômeros devem retornar à sua forma original, gerando mais uma etapa reacional, elevando assim o custo do processo (PRYDE, 1989).

A CLAE é o método mais recente aplicado à resolução de enantiômeros presentes em uma mistura racêmica, utilizando para isto uma fase estacionária quiral. Com a modernização dos sistemas de cromatografia, dada pelo avanço da tecnologia, o desenvolvimento de fases estacionárias quirais também foi intenso. Atualmente conta-se com uma vasta variedade de materiais disponíveis comercialmente, que diferem entre si na sua estrutura, na forma com que ocorre o reconhecimento quiral, na profundidade com que se conhece os mecanismos de reconhecimento, nas propriedades mecânicas, no custo, etc. (JUZA et al., 2000).

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 complexo de resolução indireta, enquanto o segundo é chamado de resolução direta (MORRISON & MOSHER, 1971). Se durante a resolução o agente quiral

é a própria coluna cromatográfica, ou seja, uma coluna empacotada com uma fase estacionária quiral, então como efeito os complexos diastereoisoméricos terão estabilidades diferentes e assim os enantiômeros eluirão em tempos diferentes.

Para que enantiômeros sejam separados cromatograficamente em uma fase estacionária quiral, duas condições devem ser atendidas: os adsorbatos diastereoisoméricos devem ser formados pela fase estacionária quiral e pelo menos um dos enantiômeros (analitos) tem de diferir em suas energias livres de formação. Adsorbatos diastereoisoméricos são formados como resultado de uma ou mais interações atrativas entre a fase estacionária quiral e o enantiômero analito, pela exclusão do enantiômero analito pela fase móvel ou por difusão passiva do enantiômero analito em uma matriz quiral (PIRKLE & POCHAPSKY, 1989). As diferenças na estabilidade destes adsorbatos diastereoisoméricos levam a diferentes tempos de retenção dos enantiômeros na coluna. O enantiômero que forma o complexo menos estável eluirá primeiro. A diferença de energia livre de formação dos adsorbatos diastereoisoméricos formados deverá ter um valor satisfatório para que ocorra separação (CASS & DEGANI, 2001).

O reconhecimento quiral requer um mínimo de três interações simultâneas entre a fase estacionária quiral e pelo menos um dos enantiômeros, com pelo menos uma destas interações sendo estereoquimicamente dependente, hipótese conhecida como a regra de interação a três pontos "*three point rule*". O uso desta hipótese levou ao planejamento e construção de toda uma família de fases estacionárias quirais altamente seletivas, pois uma única fase estacionária quiral nunca será suficiente para separar todos os tipos diferentes de pares enantioméricos, mas baseando-se neste princípio torna-se possível planejar fases estacionárias para cromatografia líquida que separem uma boa variedade de solutos (LOUGH, 1989). O entendimento de como e onde ocorre o reconhecimento quiral por uma molécula seletor quiral pode prover importante informação com respeito à estimativa da magnitude qualitativa da enantioseparação, tipos de analitos separáveis em um determinado seletor, previsibilidade de ordem de eluição e condições cromatográficas apropriadas (MAIER et al., 2001).

A produção de uma fase estacionária quiral deve envolver a participação de um composto que possua 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, sendo os mais usuais a sílica, celulose e alumina.

Na cromatografia com fase estacionária quiral não há necessidade de padrão externo de pureza enantiomérica para determinar a pureza da amostra com precisão, pois a pureza enantiomérica é determinada pelas áreas relativas aos picos obtidos nos cromatogramas de eluição. O rendimento deste processo é maior, uma vez que não é necessário derivar e rederivar o par enantiomérico como no método de cristalização diastereoisomérica.

Os principais fatores negativos atribuídos ao sistema CLAE na resolução de enantiômeros estão no fato do leito de adsorvente não ser totalmente aproveitado, levando a necessidade de se utilizar grandes volumes de dessorvente, resultando em uma diluição dos produtos finais e a operação ser descontínua, em batelada, o que torna o processo difícil de ser integrado a processos contínuos (CHING et al., 1993).

A aplicação do processo cromatográfico de leito móvel simulado à resolução de enantiômeros surge de forma a superar todas estas desvantagens associadas aos processos descontínuos da CLAE. Desde o sistema LMS desenvolvido para a separação de compostos petroquímicos na década de 50, até o momento, aproximadamente 115 unidades foram construídas e licenciadas para processar derivados de petróleo, e a aplicação deste processo tem sido estendida também à separação de compostos solúveis em água, como misturas glicose/frutose, em escala comercial (JUZA et al., 2000).

A primeira resolução de enantiômeros por LMS foi realizada por NEGAWA & SHOJI (1992), sendo que o LMS obteve maior desempenho em termos de rendimento e pureza dos enantiômeros, quando comparado com um processo de CLAE convencional utilizado para o mesmo fim, utilizando mesmo intervalo de tempo.

O processo LMS tem atraído atenção de várias companhias farmacêuticas, e muitas delas têm planos de adquirir unidades para incorporar às suas plantas de fabricação. Em particular, duas companhias, a UCB Pharma, na Bélgica, e a Daicel Chemical, no Japão, têm operado unidades LMS desde 1998, com capacidade para produzir grandes quantidades de enantiômeros puros (JUZA et al., 2000).

As unidades de LMS, instaladas para efetivar a resolução de racêmicos, assim como aquelas montadas para realizar outros tipos de separação envolvendo produtos farmacêuticos, mesmo quando operadas com fins comerciais, apresentam escalas bem menores que as unidades que fazem o processamento de derivados de petróleo, e apresentam ainda algumas modificações consideráveis de projeto (JUZA et al., 2000).

CAPÍTULO 3

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Descrição da Unidade

A unidade de LMS instalada no Laboratório de Biosseparação do Departamento de Processos Biotecnológicos na Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP, possui oito colunas cromatográficas confeccionadas em aço inox 316, também desenvolvidas no próprio laboratório. São colunas preparativas para CLAE, que resistem a pressões de até 500 bar, com 0,80 cm de diâmetro interno e 15 cm de comprimento de leito. Estas colunas são instaladas em série na unidade LMS. A unidade possui 4 seções e cada seção é composta por 2 colunas cromatográficas.

Um diagrama esquemático da unidade LMS que foi projetada é mostrado na Figura 3.1. Observa-se que, em relação ao diagrama da unidade mostrado anteriormente na Figura 2.3, nesta unidade projetada a malha formada pelas colunas é aberta, ou seja, o dessorvente tem uma posição de entrada e outra de saída, sendo este reciclado fora da malha da unidade LMS. As duas formas de operação, malha fechada e malha aberta são equivalentes, em princípio com o mesmo desempenho, no entanto apresentam diferenças significativas principalmente nos custos do projeto. Uma unidade em malha fechada requer uma bomba a mais para proporcionar o reciclo do líquido dessorvente que sai da unidade, mantendo-o circulando dentro do circuito. Na malha aberta, tem-se uma bomba a menos, porém uma saída a mais, que é a saída de dessorvente, inexistente na malha fechada.

As trocas de posições, das correntes de entrada e saída da unidade LMS são realizadas por meio de válvulas multiposição, adquiridas da Valco Instruments VICI. Em cada uma das cinco correntes existentes na unidade, há uma válvula multiposição. Estas válvulas possuem

12 vias, possibilitando assim, que um fluxo que entra na válvula se posicione de 12 maneiras diferentes podendo direcionar para 12 colunas diferentes, uma de cada vez. O mesmo também é válido, receber fluxos procedentes de 12 diferentes posições, ou seja, 12 colunas diferentes, um de cada vez e destiná-los sempre para a mesma tubulação de saída. No caso da unidade LMS montada, somente 8 posições das válvulas são utilizadas, já que a unidade possui 8 colunas. As 4 posições adicionais podem vir a ser utilizadas no futuro, com o acoplamento de mais 4 colunas, totalizando em 1 coluna a mais por seção.

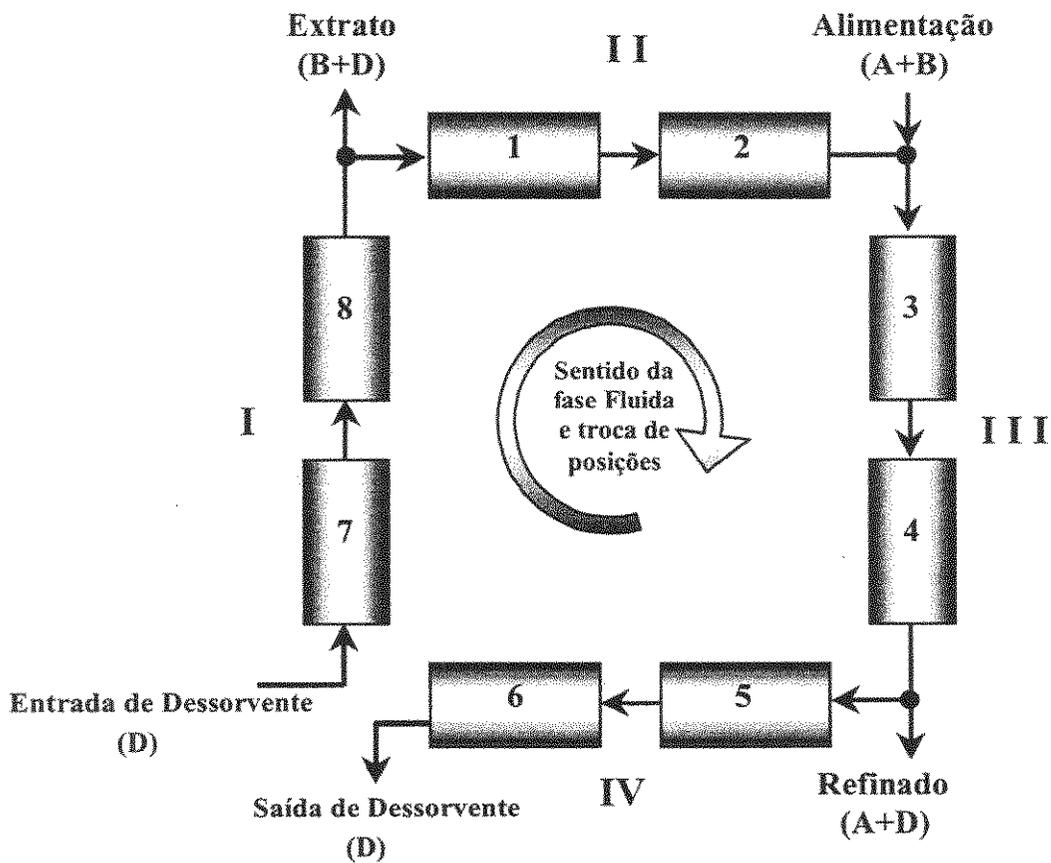


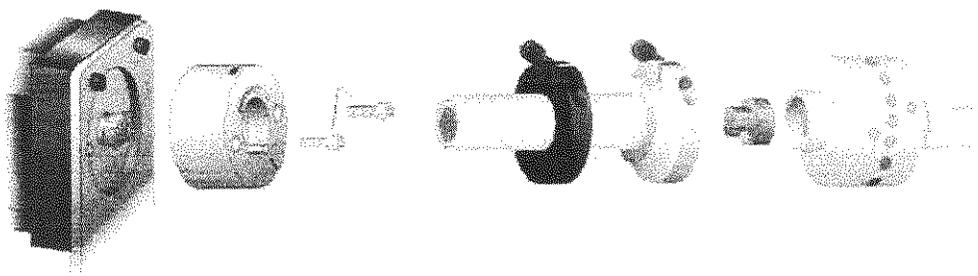
Figura 3.1: Diagrama esquemático da unidade de LMS montada no Departamento de Processos Biotecnológicos na Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP.

As válvulas multiposição são atuadas eletronicamente e seus atuadores são ligados a um computador por meio de uma placa de aquisição de dados. O controle de cada válvula é

realizado de forma automatizada por meio de um programa computacional desenvolvido através do “software” LabView. Este programa permite também o ajuste do tempo de troca em cada válvula. Desta forma, a operação da unidade se dá de forma automática, uma vez selecionado os parâmetros de operação.

Um esquema da engrenagem existente nas válvulas multiposição é mostrado na Figura 3.2, assim como a forma com que se dá o direcionamento do líquido no interior destas válvulas.

A



B

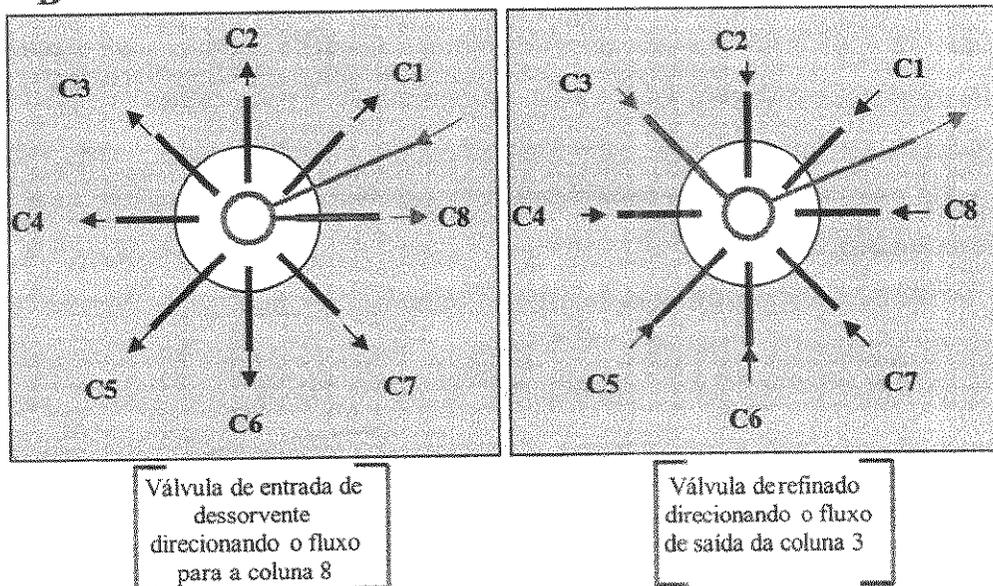


Figura 3.2: Esquema de funcionamento das válvulas multiposição. Em “A” tem-se as engrenagens que constituem uma válvula multiposição. Em “B” o esquema de direcionamento do fluxo pela válvula multiposição.

A unidade LMS possui 4 bombas de CLAE, da Shimadzu, modelo LC – 6AD que operam com valores de vazão de $0,01 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e pressões de até 500 kgf/cm^2 . Estas bombas estão posicionadas nas correntes de entrada (alimentação e dessorvente entrada) e nas correntes de retiradas de produtos (extrato e refinado). Estas bombas possuem em sua parte frontal um visor indicativo do fluxo de líquido bombeado, da pressão na descarga, pressão máxima e a pressão mínima, que permite por exemplo fixar a pressão máxima de operação.

A unidade do LMS possui um degaseificador da Shimadzu, de modelo DGU – 14, instalado nas correntes de entrada da unidade. Este equipamento tem a função de remover o gás dissolvido nas soluções que entram nas bombas e nas colunas existentes, de forma contínua prevenindo assim a formação de bolhas no sistema, evitando problemas de funcionamento do sistema. Este degaseificador possui quatro linhas que podem tratar ao mesmo tempo, quatro diferentes correntes de líquido, independentemente.

Para melhor compreensão do funcionamento da unidade LMS deve-se considerar a entrada da corrente de alimentação conforme a Figura 3.1. Na posição em que se encontra, a alimentação está sendo feita entre as colunas 2 e 3 e assim depois de um certo tempo t^* , que é o tempo de troca, ou "switch time", deseja-se que a alimentação passe a entrar no ponto entre as colunas 3 e 4; decorrido mais um intervalo de tempo de troca t^* , quer-se que a alimentação entre no ponto entre as colunas 4 e 5, e assim sucessivamente. Esta troca de posições acontece com todas as correntes, ou seja, alimentação, refinado, entrada de dessorvente, saída de dessorvente, e extrato, no mesmo sentido para todas essas corrente, que é o sentido do fluxo de líquido na unidade.

Abordando primeiramente as correntes de entrada, ou seja, alimentação e entrada de dessorvente, o trajeto da alimentação é o seguinte: a bomba puxa o líquido do recipiente de origem, o mesmo passa pelo degaseificador antes de entrar na bomba, para que seja retirado o gás dissolvido no fluido, e após a bomba, segue para uma válvula multiposição que contém acopladas nove tubulações, uma de entrada e oito de saída. Esta válvula é atuada eletronicamente, e pode-se escolher o destino do fluxo, dentre oito possibilidades. Cada possibilidade corresponde a um nó entre as colunas, e desta forma pode-se fazer a troca de posições da alimentação. As tubulações ligadas à válvula são: uma de entrada, que vem da bomba da alimentação, e oito de saída, cada uma ligada a um nó entre as colunas.

A troca de posições da entrada de dessorvente é realizada de forma similar da alimentação, utilizando, porém outro sistema de bombeamento e de válvula multiposição.

Considerando as correntes de saída, ou seja, refinado, extrato, e saída de dessorvente, o refinado pode sair de oito posições diferentes, ou seja, de oito nós diferentes, situados entre as oito colunas. Cada nó possui uma tubulação que o liga a uma válvula multiposição, que pode então receber corrente de refinado de oito nós diferentes, um de cada vez. Depois da válvula, o destino da corrente de refinado é sempre o mesmo, independente do nó de origem, segue para uma bomba, que envia o líquido para o sistema de análise, para medir a concentração e pureza da corrente, e verificar se a unidade LMS está operando da forma que se deseja.

Para a corrente de extrato, ocorre o mesmo que para a corrente de refinado, utilizando outro sistema de bomba e de válvula multiposição.

Na corrente de saída de dessorvente, ocorre quase da mesma maneira, com a diferença que, após a válvula multiposição, a corrente segue direto para um frasco de coleta, sem passar por bomba.

Considerando então as cinco correntes, ou seja, entrada e saída de dessorvente, alimentação, extrato e refinado, têm-se cinco válvulas de multiposição. À exceção da saída de dessorvente, cada uma destas correntes requer uma bomba, contabilizando quatro bombas na unidade.

O projetista de uma unidade LMS deve dedicar muito de sua atenção aos nós de corrente existentes entre as colunas. Cada um deles deve ter tubulações para cinco linhas, ou seja, alimentação, entrada e saída de dessorvente, refinado e extrato, o que requer um complicado arranjo de conexões. A forma como se fez este arranjo na unidade é mostrado na Figura 3.3.

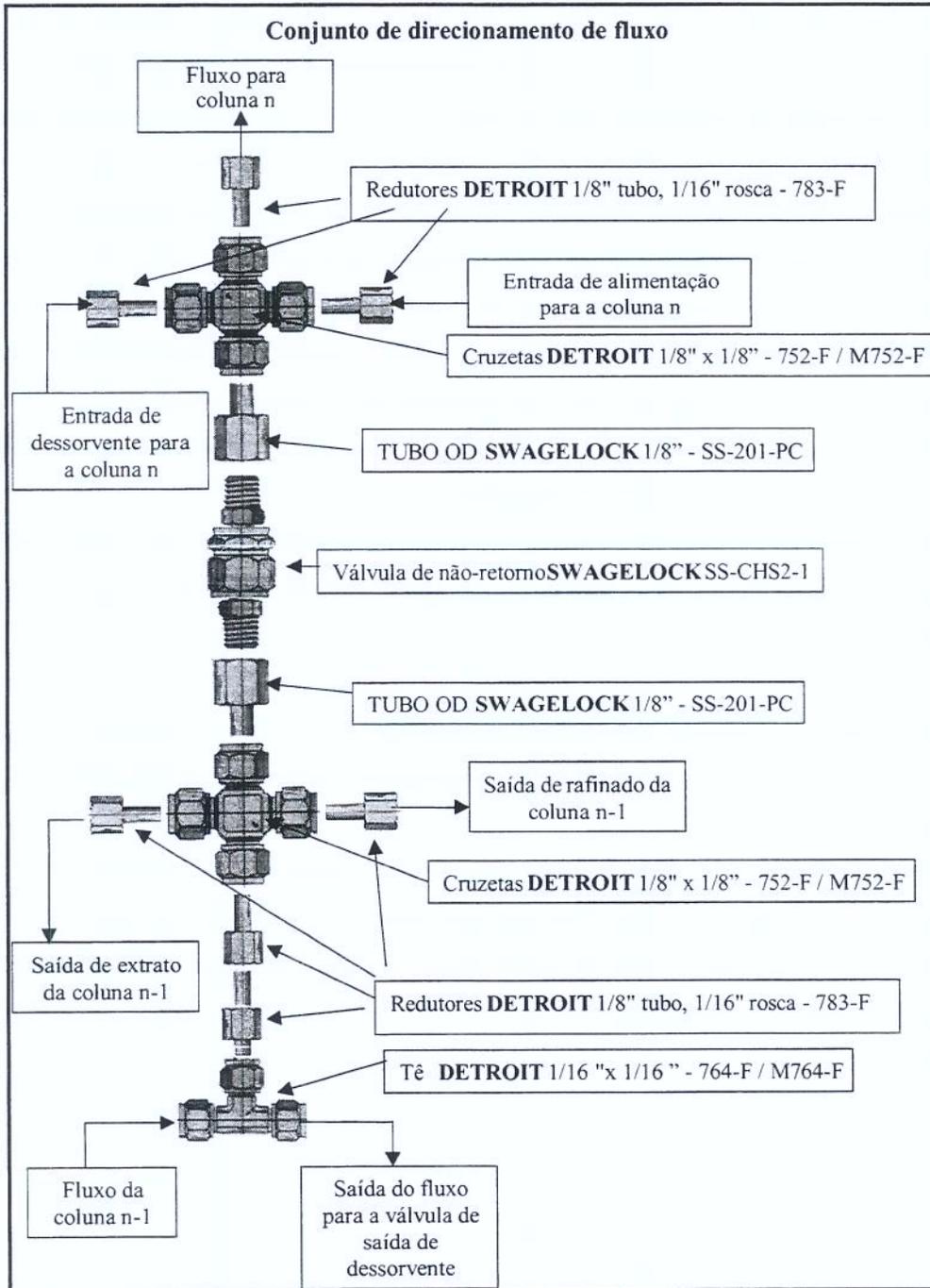


Figura 3.3: Detalhes da estrutura desenvolvida para realizar o direcionamento do fluxo na unidade LMS. Nó entre a coluna (n - 1) e a coluna n. Cada um dos nós entre colunas da unidade tem um arranjo idêntico a esse, que se localiza abaixo de cada coluna.

Segundo esta configuração a unidade LMS instalada pode operar com oito posições diferentes, empregando oito colunas cromatográficas. Convencionou-se denominar de posição 1 a posição na qual a entrada de dessorvente se dá na coluna 1, posição 2 quando o dessorvente entra na coluna 2, e assim por diante. Desta forma, na Figura 3.1 tem-se a unidade operando na posição 7.

A unidade conta ainda com uma estratégia de segurança, que permite que o funcionamento das bombas seja interrompido em caso de aumento excessivo da pressão nas linhas. Na saída da bomba de entrada de dessorvente, encontra-se um manômetro acoplado à linha. Este manômetro, possibilita a fixação de um limite para a pressão: se a pressão na linha exceder este limite, o manômetro envia um sinal para o “software” de controle, que retorna um sinal para as bombas, interrompendo imediatamente seu funcionamento, a fim de que não ocorram danos no equipamento, como rompimento das colunas. O posicionamento do manômetro, na descarga da bomba de dessorvente, ou seja, na seção 1 da unidade, é estratégico, pois esta é a seção com maior vazão de líquido e, portanto, com maior perda de carga.

Um esquema da unidade, mostrando disposição das colunas, as conexões entre elas, as válvulas multiposição, as bombas e o sistema de análise é mostrado na Figura 3.4. Nesta figura, a unidade está operando na posição 1. Para ilustrar a forma de como se dá a troca de posições na unidade, mostra-se a mesma operando na posição 2 na Figura 3.5.

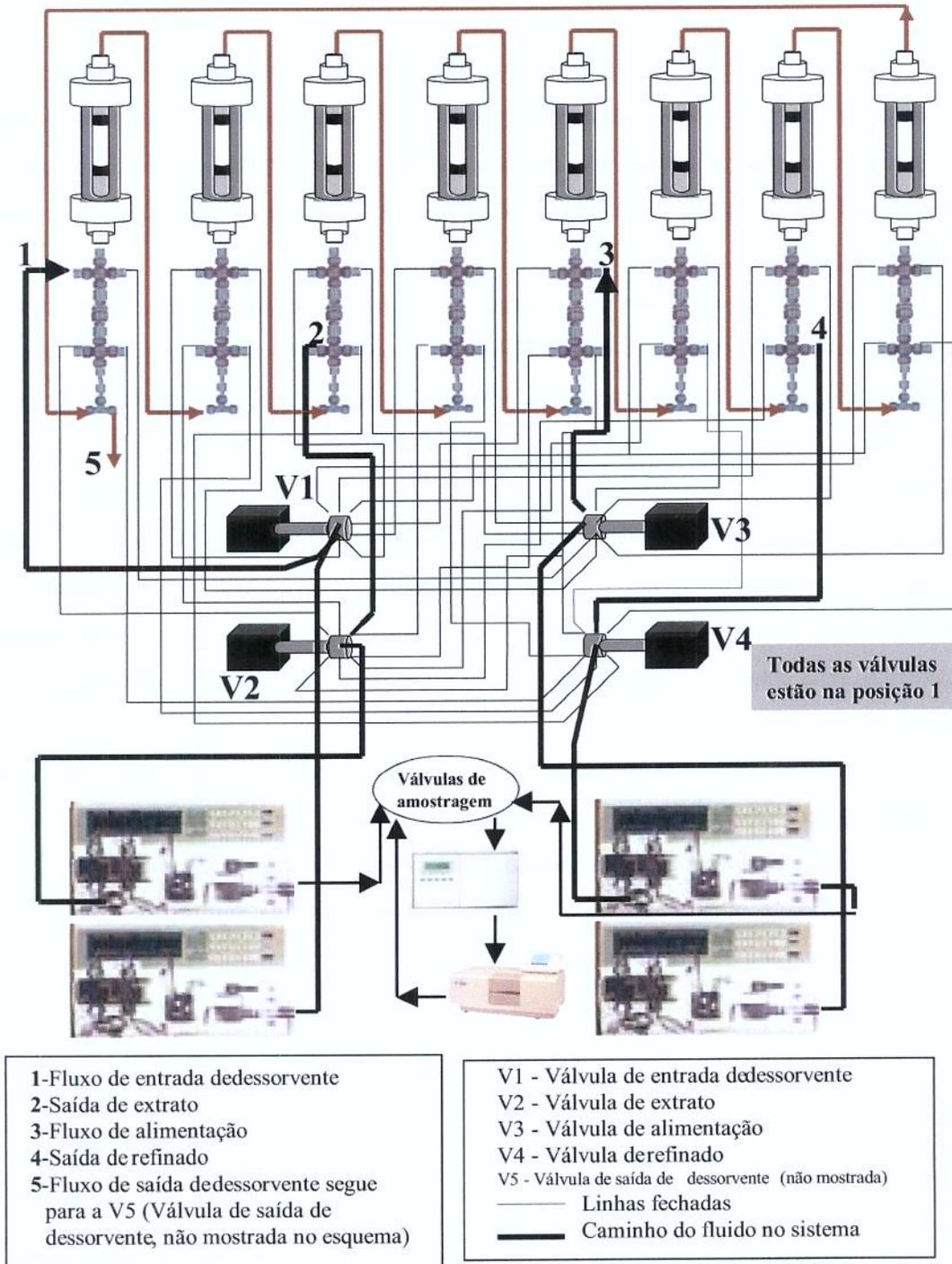


Figura 3.4: Esquema da unidade LMS , operando na posição 1. As tubulações utilizadas nesta posição estão representadas pelas linhas mais grossas, em negrito. As linhas mais finas representam tubulações que não são utilizadas nesta posição.

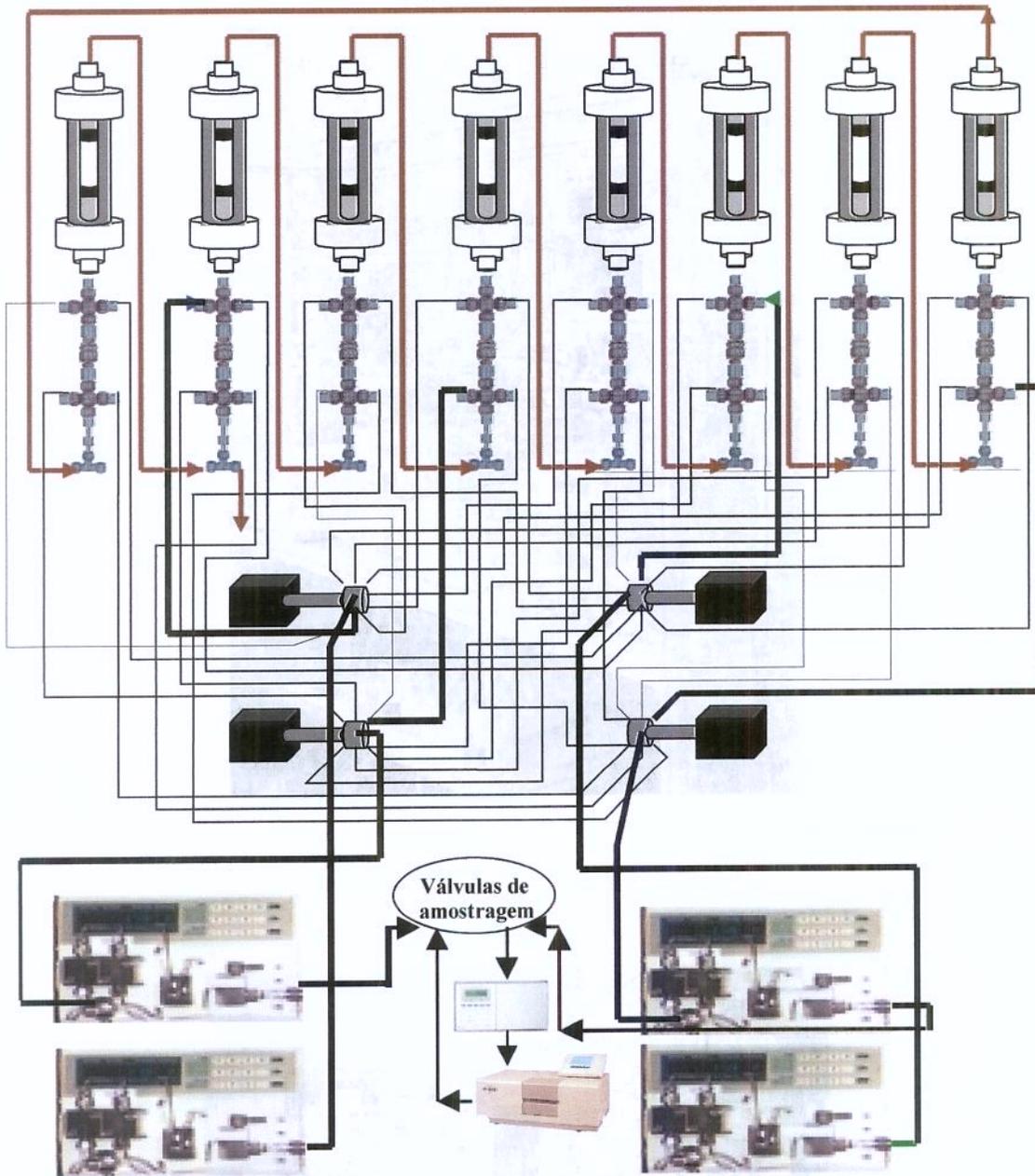


Figura 3.5: Esquema da unidade LMS, operando na posição 2. As tubulações utilizadas nesta posição estão representadas pelas linhas mais grossas, em negrito. As linhas mais finas representam tubulações que não são utilizadas nesta posição.

As Figuras 3.6 e 3.7, mostram fotografias da unidade LMS que foi instalada nas dependências do Laboratório de Biosseparação da Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP.

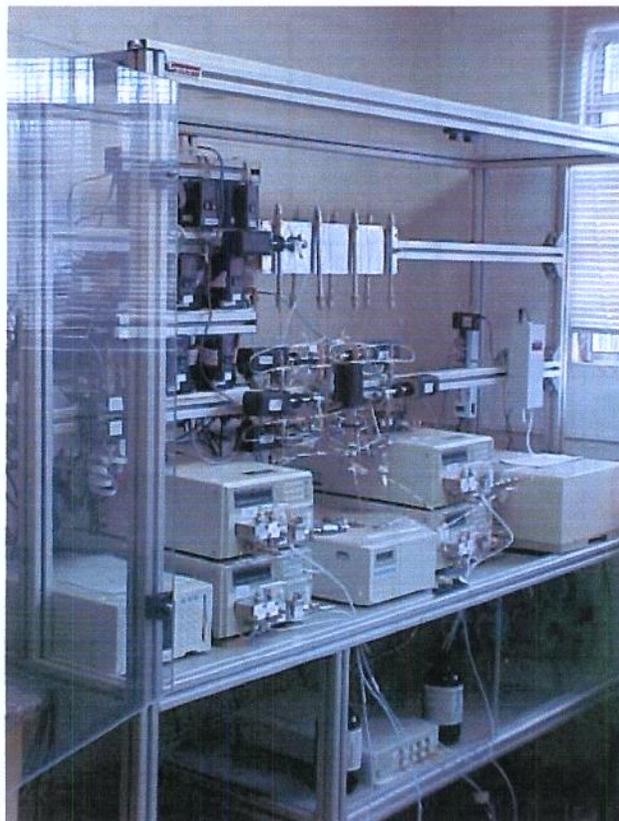


Figura 3.6: Fotografia da unidade LMS. Observa-se as quatro bombas, o aparelho de UV entre as mesmas, as colunas, tubulações e válvulas multiposição.

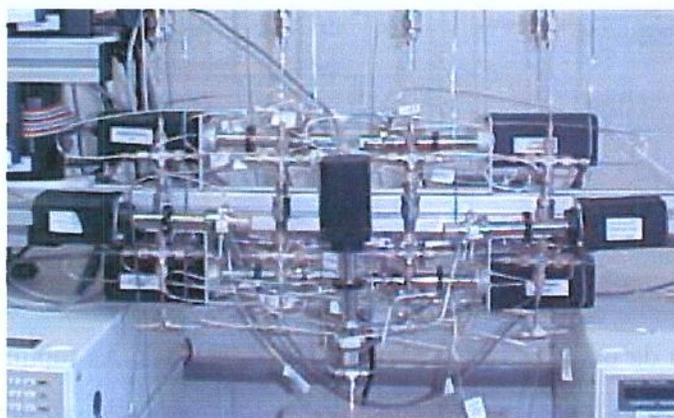


Figura 3.7: Fotografia da unidade LMS. Detalhe das válvulas multiposição (que contém estruturas retangulares de cor negra) e dos nós entre as colunas.

3.2 - Sistema de Análise

Para testar o desempenho da unidade LMS, é preciso analisar a pureza das correntes de extrato e de refinado, definidas pelas equações (2.28) e (2.29), respectivamente. O refinado deve apresentar a maior pureza possível no componente menos retido no adsorvente, e o extrato, no componente mais retido.

A análise do extrato e do refinado se dá através da passagem destas correntes por um detector espectrofotômetro de radiação ultravioleta (UV), que mede a concentração total da corrente, ou seja, a concentração de (A + B), e em seguida por um polarímetro, que mede a diferença entre a concentração de A e B (A - B), em cada uma das correntes, ou seja, a pureza de cada um dos componentes obtidos. Estas medições são efetuadas em linha.

O detector espectrofotômetro de UV foi adquirido da Shimadzu, modelo SPD-10 Avp, utiliza uma lâmpada de deutério como fonte de luz, e é adequado para análise na região de espectro ultravioleta. Os resultados das análises podem ser visualizados em um computador.

O polarímetro utilizado foi adquirido da Jasco Corporation, de modelo P-1010, e realiza a medição da rotação óptica de substâncias opticamente ativas, da rotação óptica específica, das concentrações, da escala de açúcar, da pureza Brix e da pureza óptica. Também informa se um enantiômero é destrógiro ou levógiro. Os dados resultantes da análise podem ser visualizados em um computador.

O processamento dos sinais obtidos pelo detector UV e pelo polarímetro requer a solução do seguinte sistema de equações lineares (ZENONI et al., 2000):

$$R_{UV}(t) = \alpha.[c_A(t) + c_B(t)] \quad (3.1)$$

$$R_{POL}(t + \Delta t) = \beta.[c_A(t) - c_B(t)] \quad (3.2)$$

onde R_{UV} e R_{POL} são os sinais medidos no detector UV e no polarímetro, respectivamente, e α e β são constantes a serem determinadas através da calibração destes dois equipamentos. As incógnitas do sistema são as concentrações dos enantiômeros c_A e c_B .

As concentrações c_A e c_B são funções do tempo. Na realidade, um elemento de fluido que atinge o UV em um tempo t , atingirá o polarímetro somente no tempo $t + \Delta t$, sendo Δt o tempo que a corrente leva para atravessar o volume da tubulação que interliga os dois equipamentos, sendo calculado pela divisão deste volume pela vazão da corrente.

O sistema de análise tem como função de analisar duas correntes (extrato e refinado), sendo que tanto o aparelho de UV quanto o polarímetro só podem analisar uma corrente de cada vez. Assim sendo, as corridas experimentais deverão ser realizadas sempre em duplicata, para que se possa analisar o extrato em uma corrida e depois o refinado em outra, ou vice-versa (ZENONI et al., 2000).

O revezamento das correntes de refinado e extrato no sistema de análise é possível através de um arranjo de três válvulas de duas posições. Este arranjo pode analisar o extrato e descartar o refinado (posição A) ou analisar o refinado e descartar o extrato (posição B).

O arranjo de válvulas do sistema de análise é mostrado na posição A na Figura 3.8 e na posição B na Figura 3.9.

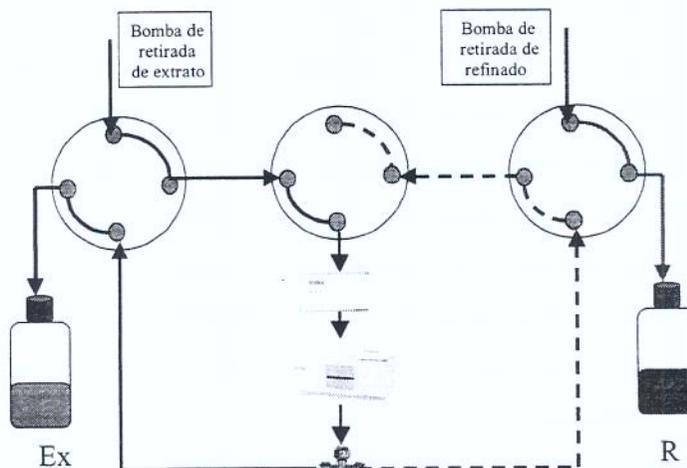


Figura 3.8: Sistema de análise na posição A (analisa o extrato e descarta o refinado).

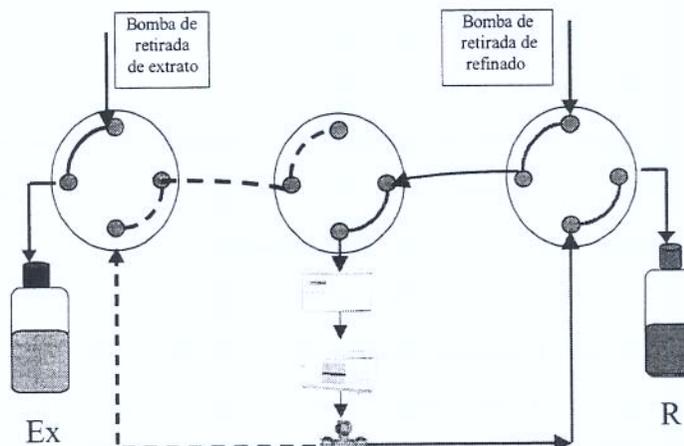


Figura 3.9: Sistema de análise na posição B (analisa o refinado e descarta o extrato).

O esquema do sistema LMS, junto com o sistema de análise, é mostrado na Figura 3.10.

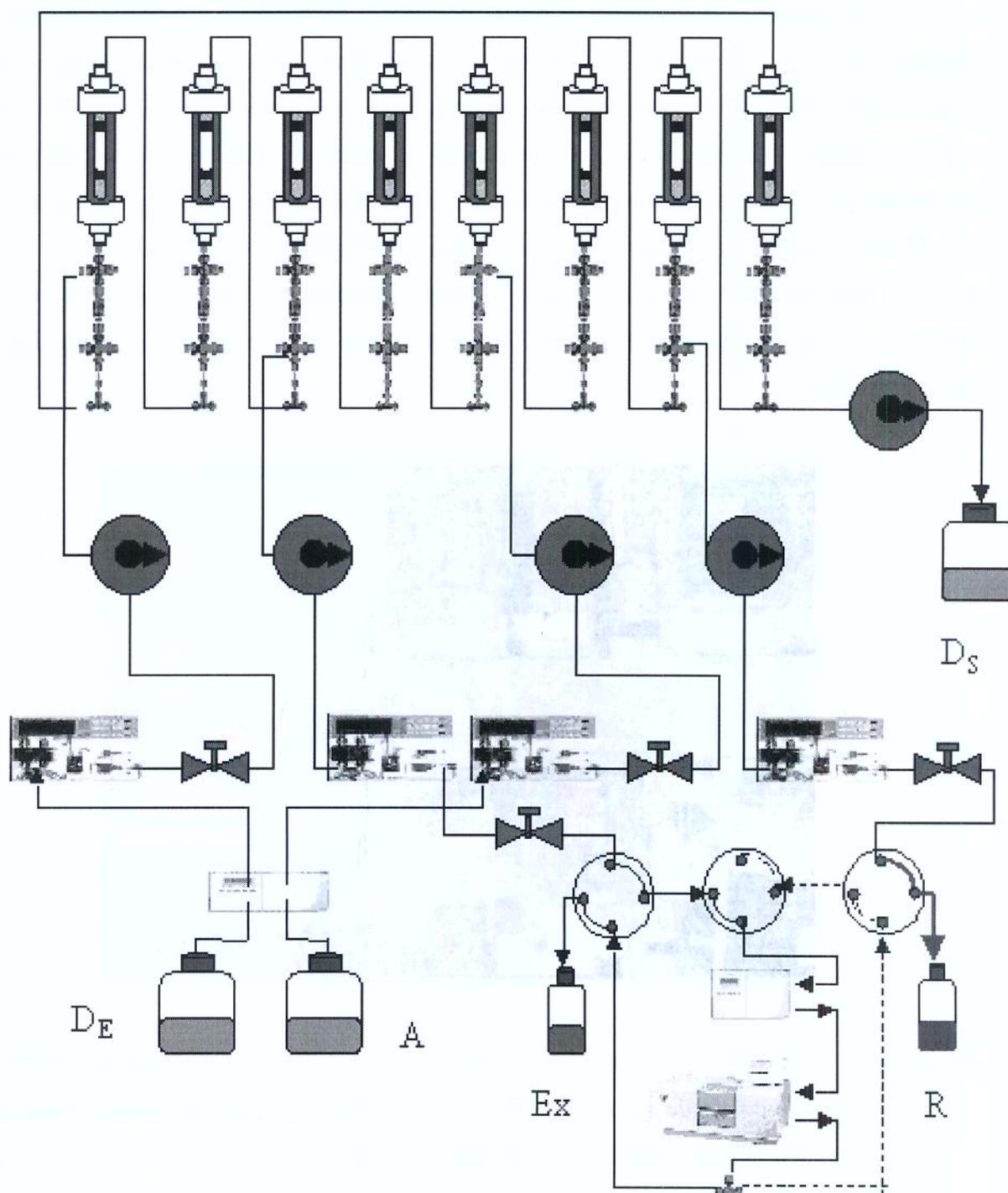


Figura 3.10: Esquema da Unidade LMS com sistema de análise.

A unidade é dotada também uma válvula de amostragem instalada conforme a Figura 3.11, conectada ao topo de uma das colunas, para a coleta de amostras para a determinação do perfil interno de concentrações, na série de colunas da unidade LMS. Nesta válvula há um “loop” de 200 μL , através do qual amostras do fluido que passa pela coluna são coletadas. No momento em que se deseja fazer a coleta, atua-se manualmente na válvula para se fazer a mudança de posição, o fluido deixa de passar por dentro do “loop”, e o conteúdo do mesmo é retirado do loop através de uma seringa, e armazenado para posterior análise, para a determinação das concentrações de cada enantiômero. As amostras são coletadas na medida em que ocorre o rodízio de posições das correntes, apesar de originarem fisicamente sempre do mesmo ponto, na verdade representam cada um dos nós entre colunas mostrados na Figura 3.1, já que a função das colunas adjacentes ao ponto de coleta varia de acordo com a troca de posições das correntes. A análise dessas amostras possibilita à determinação de um perfil interno de concentrações dos enantiômeros D e L, o que ilustra a dinâmica da separação na série de colunas.

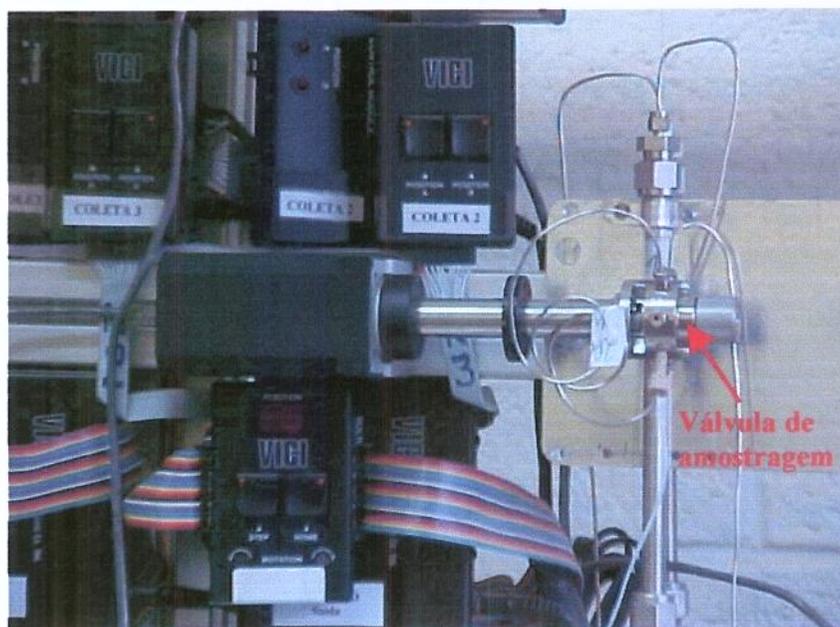


Figura 3.11: Fotografia da unidade LMS. Detalhe para a válvula de amostragem, empregada para a coleta de material ao longo de um ciclo completo no estado estacionário, para a determinação do perfil interno de concentração em todas as colunas da unidade LMS.

3.3 - O Adsorvente

Na literatura encontram-se inúmeras fases estacionárias quirais empregadas em processos cromatográficos, sendo que as derivadas de polissacarídeos são as que apresentam maior capacidade adsorptiva, isto é, necessitam de quantidades maiores de substrato para que haja a saturação do adsorvente. Este aspecto é importante principalmente quando se almeja um aumento de escala nos processos de separações, possibilitando assim uma maior produtividade. Estas fases estacionárias também apresentam boa estabilidade química com diferentes condições operacionais (FRANCOTTE, 2001).

Dentre as fases estacionárias derivadas de polissacarídeos, os carbamatos são os que apresentam maiores ocorrências na Literatura, destacando-se a fase baseada em tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose que é adsorvida (suportada) em sílica (TDFC) encontrada comercialmente com o nome de Chiralcel OD. Este adsorvente possui ampla aplicação na resolução de racematos sendo citado em um vasto número de artigos científicos. Para exemplificar, uma pesquisa realizada na base de dados bibliográficos “Web of Science” com as palavras-chave em inglês “chromatography and Chiralcel od” foram encontrados cerca de 218 artigos publicados entre os anos de 1990 a 2004, empregando esta fase estacionária em pesquisas relacionadas com a separação enantiomérica, tanto em escala analítica, quanto preparativa.

Este adsorvente apresenta características muito favoráveis para seu emprego na unidade LMS, principalmente por apresentar a resolução de um grande número de misturas racêmicas e de suportar altas pressões sem que ocorra a compactagem do leito adsorvente e danos em suas partículas, possibilitando um ganho adicional no tempo de vida útil. No entanto, a aquisição de oito colunas comerciais com este adsorvente apresentou um alto custo para o projeto, principalmente por se tratar de um produto importado de alto valor agregado. A compra somente da fase estacionária também não foi possível devido a dificuldades por parte dos fabricantes deste produto, de comercializar pequenas quantidades deste material, 100 a 200g para posterior enchimento das colunas no próprio laboratório.

A utilização deste adsorvente no processo LMS, só foi possível com o desenvolvimento da síntese do tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose pelo Laboratório de Síntese Orgânica do Instituto de Química, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos R. D. Correia e

realizada pelo Químico Dr. Marco J. S. Carpes. Após a síntese o adsorvente foi então caracterizado, padronizado e submetido ao empacotamento em colunas cromatográficas de aço inox 316, realizado no próprio laboratório, para os ensaios em batelada com o sistema CLAE e com o leito móvel simulado.

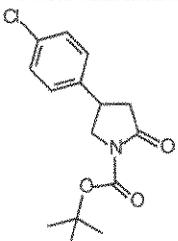
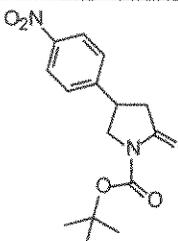
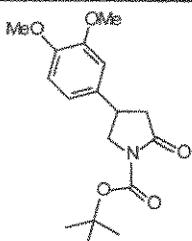
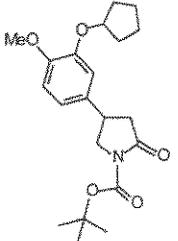
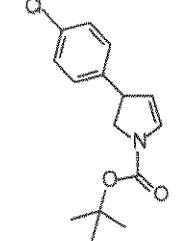
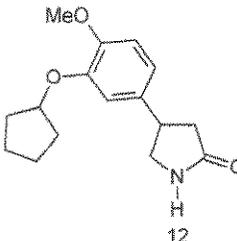
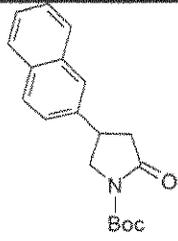
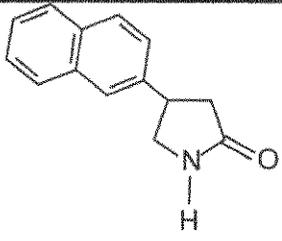
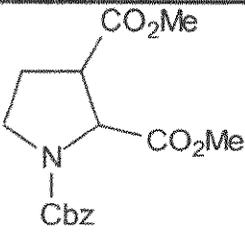
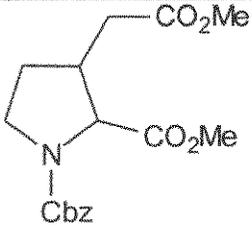
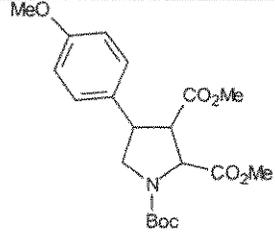
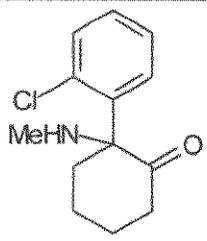
3.3.1 – Avaliação do Adsorvente Tris (3,5-Dimetilfenilcarbamato) de Celulose na Resolução de Racêmicos

Antes de realizar a síntese da fase estacionária tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose para a confecção de colunas cromatográficas preparativas, ensaios experimentais em batelada foram realizados utilizando um sistema de CLAE, empregando uma coluna cromatográfica analítica comercial Chiralcel OD, adquirida da Daicel[®]. Esta coluna analítica possui 0,4 cm de diâmetro interno e 25 cm de comprimento e 4000 Å de diâmetro de poro. Neste ensaio inicial foram empregadas diferentes misturas racêmicas, visando assegurar um número de moléculas disponíveis em laboratório que apresentassem a separação de seus enantiômeros nesta fase estacionária quiral, uma vez que a aquisição comercial destas misturas racêmicas também requer um alto custo.

Na Tabela 3.1 são apresentadas algumas das moléculas de racematos empregadas neste ensaio para a separação dos seus enantiômeros, juntamente com suas estruturas químicas. Todas estas moléculas foram sintetizadas no laboratório de Síntese Orgânica do Instituto de Química da UNICAMP, com exceção da cetamina que foi adquirida junto a empresa farmacêutica Cristália – Itapira-SP.

A fase móvel empregada nesta etapa do trabalho foi composta de uma mistura binária, em diferentes proporções, de hexano e isopropanol, solventes ultrapuros de grau cromatográfico. Em alguns ensaios, também foi utilizado o etanol em substituição ao isopropanol.

Tabela 3.1: Misturas racêmicas empregadas para a resolução enantiomérica.

		
N-Boc-baclofeno lactama	p-nitrolactama	3,4-dimetóxilactama
		
N-Boc-rolipram	Enecarbamato arilado	rolipram
		
2-naftil-Boc-lactama	2-naftil-lactama	Análogo ao aspartato ⁽¹⁾
		
Análogo ao glutamato ⁽²⁾	Análogo ao arilaspartato ⁽³⁾	cetamina

(1) ⇒ Dimetil-N-benziloxicarbonil-2,3-dicarboxi-pirrolidina

(2) ⇒ Dimetil-N-benziloxicarbonil-2-carboxi-3-carboximetil-pirrolidina

(3) ⇒ N-(*t*-butoxicarbonil)-4-(4-metoxifenil)-2,3-pirrolinodicarboxilato de dimetila

A grande maioria destas moléculas, apresentadas na Tabela 3.1, tiveram seus enantiômeros separados com a coluna Chiralcel OD comercial, a exceção das moléculas dos análogos ao aspartato, análogo ao glutamato, análogo ao arilaspartato e cetamina. Os

cromatogramas da separação serão mostrados mais adiante na seção de resultados e discussões.

3.3.2 – Síntese da Fase Estacionária Tris (3,5-Dimetilfenilcarbamato) de Celulose

Os ensaios com a coluna analítica Chiralcel OD, demonstraram que o adsorvente TDFC foi eficiente na separação das moléculas empregadas, motivando o desenvolvimento da síntese deste adsorvente para a preparação das colunas cromatográficas que foram empregadas no LMS em escala semipreparativa. Obtendo assim o domínio de todo o processo, desde a montagem da unidade LMS até a preparação e caracterização das colunas cromatográficas utilizadas na resolução de racematos.

A preparação de uma fase estacionária quirál é um processo bastante laborioso que necessitou de várias etapas de reação e de caracterização, visando a obtenção de colunas cromatográficas que apresentassem boa estabilidade e reprodutibilidade na separação de enantiômeros. Esta experiência na confecção de colunas foi adquirida junto ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, nos laboratórios coordenados pela Profa.Dra. Quêzia B. Cass, que possui larga experiência na preparação de colunas quirais (CASS et al, 1996; CASS et al, 1997; CASS et al, 2001).

A confecção da fase estacionária pode ser dividida em três etapas principais:

- 1º Derivação da celulose;
- 2º Adsorção do carbamato ao suporte;
- 3º Empacotamento da coluna cromatográfica quirál.

A primeira etapa consistiu na derivação da celulose ao tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose para a preparação de uma coluna semelhante a Chiralcel OD. No esquema reacional da Figura 3.12, a celulose foi derivatizada através da reação com o isocianato de 3,5-dimetilfenila, formando o tris(3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose.

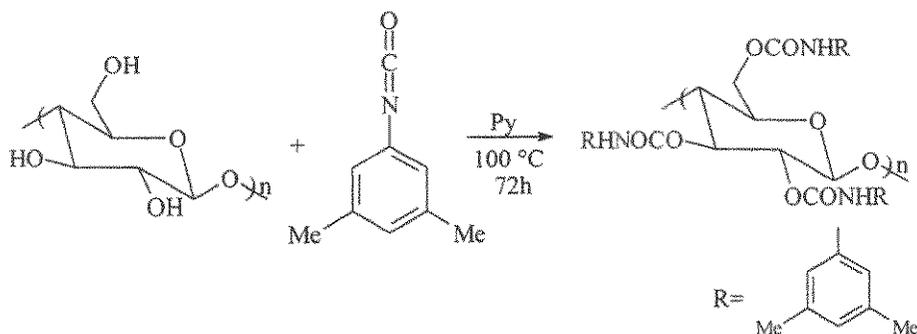


Figura 3.12: Esquema reacional da derivação da celulose com isocianato de 3,5-dimetilfenila formando o tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose.

Procedimento da Síntese

Em um balão com agitação magnética, contendo 2,0 g (12,3 mmol) de celulose (seca) foi adicionado 100 mL de piridina anidra e aquecido a 100 °C por 24 h. Depois de resfriado, a temperatura ambiente, foram adicionados 6,0 mL (43,2 mmol) de isocianato de 3,5-dimetilfenila, permanecendo por mais 72 h a 100 °C. Após este período a reação foi resfriada a temperatura ambiente e o produto precipitado com 600 mL de metanol sob agitação. A mistura foi mantida em agitação por 1,0 h, filtrada a vácuo em funil sinterizado e o produto lavado repetidas vezes com metanol, para eliminação total da piridina. O produto foi seco a 60 °C em estufa a vácuo por 24 h, resultando em 6,5 g (88% de rendimento) de um sólido branco caracterizado como o carbamato. Nesta etapa o carbamato, substrato quiral, foi preparado, sendo o principal agente responsável pela discriminação quiral dos enantiômeros.

A segunda etapa consistiu em adsorver o carbamato a um suporte, sendo utilizado comumente sílica gel que confere uma maior estabilidade mecânica à celulose carbamoilada. Atualmente tem se empregado sílica gel derivatizada, o que acarreta em uma diminuição na polaridade e da acidez da sílica, levando a uma fase mais estável, eficiente e reprodutível. A sílica utilizada foi a 3-aminopropilsílica (LUNA) de 10 µm de diâmetro de partícula e 300 Å de diâmetro de poro, já derivatizada. Esta sílica derivatizada é distinta da utilizada na Chiralcel OD comercial apresentando um menor custo comercial e freqüentemente fornece separações semelhantes.

Foi realizado o recobrimento do carbamato à sílica utilizando um balão especialmente adaptado, preparado através de um afundamento externo da superfície do balão em quatro

posições transversais, visando melhorar a superfície interna de contato do balão e assim melhorar a adsorção do carbamato à sílica.

Cobertura do suporte sílica pelo carbamato:

No balão para revestimento de sílica adicionou-se 8,0 g de sílica e 150 mL de THF e refluxou-se a suspensão por 30 minutos. Depois de resfriar a suspensão a temperatura ambiente adicionou-se 2,0 g carbamato solubilizado em 30 mL de uma mistura contendo THF:CH₂Cl₂: DMA (5:4:1 v/v). Os solventes foram evaporados lentamente em rota-evaporador e o produto seco em estufa a vácuo a 60 °C. O sólido obtido foi removido do balão e peneirado em uma peneira de orifício de 38 µm, para a uniformização do tamanho das partículas.

A terceira etapa realizada foi o empacotamento das colunas cromatográficas, tanto em dimensões analíticas quanto semipreparativas.

Para esta etapa preparou-se uma suspensão de 8,0 g da fase estacionária quiral em 150 mL de uma mistura de hexano/isopropanol 50% (v/v). Em seguida a suspensão foi adicionada no aparato experimental da Figura 3.13, que foi desenvolvido para minimizar a quantidade de partículas muito finas, com diâmetros menores que 3 µm. A eliminação destas partículas é de fundamental importância no preparo de uma coluna cromatográfica, uma vez que elas contribuem muito para o aumento da queda de pressão na coluna.

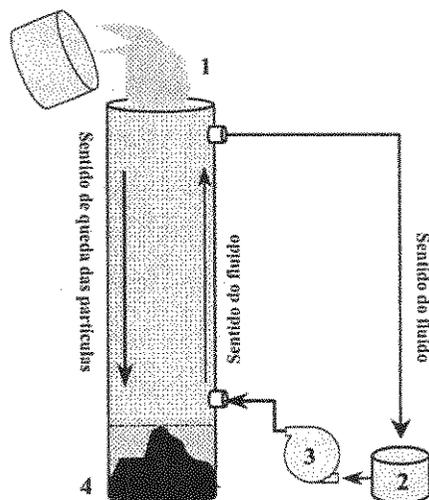


Figura 3.13: Sistema desenvolvido para a redução de partículas finas, existentes na fase estacionária. (1)-Adição do adsorvente; (2) – Solução de hexano/isopropanol (70/30 % v/v); (3)– bomba peristáltica e (4) – material precipitado.

No aparato desenvolvido na Figura 3.13, tem-se uma coluna de vidro com volume de 100 mL preenchida inicialmente com uma solução de hexano/isopropanol (70:30), no topo desta coluna em (1), a suspensão homogênea é adicionada. Neste sistema as partículas mais grossas tendem se a precipitar mais rapidamente que as partículas mais finas, e um artifício utilizado para fazer com que as partículas finas se mantivessem em suspensão foi adaptar uma bomba peristáltica (3) de forma a proporcionar um fluxo com sentido contrário à queda das partículas. As partículas finas podem ser então coletadas em um outro reservatório externo em (2) após a precipitação das partículas mais grossas em (4). As partículas precipitadas em (4) são então coletadas, mantidas em banho ultra-sônico por 3 min e empacotadas em uma coluna de aço inoxidável.

No laboratório foram preparadas colunas na escala analítica e na escala semipreparativa. As colunas analíticas possuem dimensões semelhantes à coluna Chiralcel OD vendida comercialmente e descrita na seção 3.3.1. As colunas semipreparativas desenvolvidas para a unidade LMS possuem 20 cm de comprimento e 0,77 cm de diâmetro interno sendo todas empacotadas com uma pressão de 7500 psi, utilizando uma mistura de hexano/isopropanol 20% como fase móvel, empregando o aparato de enchimento da Figura 3.14, também desenvolvido no laboratório.

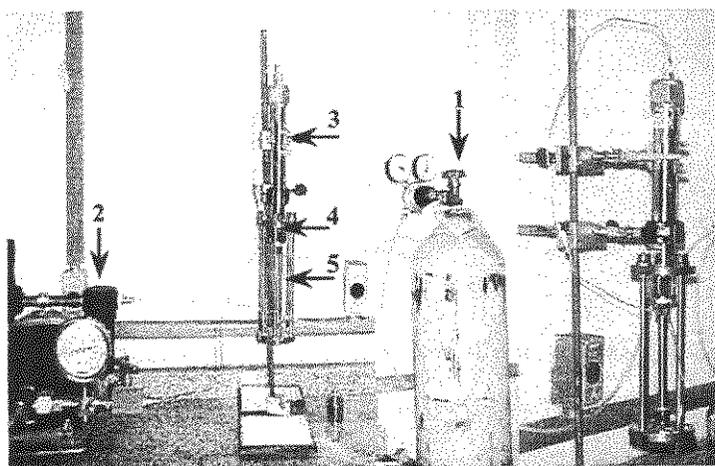


Figura 3.14: Sistema empacotamento das colunas cromatográficas a altas pressões. (1)- Cilindro de gás comprimido para o impulsionamento da bomba hidro-pneumática; (2)-Bomba hidro-pneumática de alta pressão; (3)-Reservatório da lama de adsorvente; (4)-Conector em aço para união da coluna cromatográfica ao reservatório e (5)-Coluna cromatográfica a ser preparada.

Após o empacotamento cada coluna foi condicionada em um sistema de CLAE empregando como fase móvel uma mistura de hexano/isopropanol 10% durante 12 h com fluxo de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e posteriormente avaliada.

Todos os compostos que haviam sido testados na seção 3.3.1 com a coluna Chiralcel OD comercial, também foram testados com estas colunas desenvolvidas no laboratório empregando um sistema de CLAE.

3.4 - A Mistura Racêmica

O racemato selecionado para o estudo da separação, dos seus enantiômeros no processo LMS, foi o *N*-Boc-(4-clorofenil)-2-pirrolidinona também conhecido como *N*-Boc-baclofeno-lactama, cuja estrutura é apresentada na Figura 3.15. O *N*-Boc-baclofeno-lactama é um precursor do fármaco baclofeno, comercialmente encontrado nas marcas Lioresal[®] e Baclon[®].

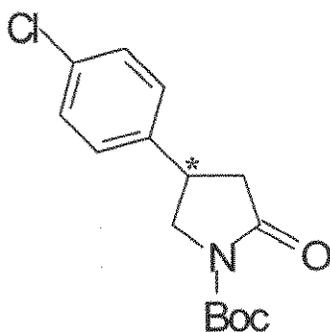


Figura 3.15: Estrutura química do *N*-Boc-baclofeno-lactama.

O baclofeno na forma racêmica é empregado clinicamente como um relaxante muscular e agente antiespástico de ação medular. É um dos fármacos mais importantes utilizado na espasticidade em pessoas com esclerose múltipla, sendo também aplicado em traumas, compressões ou paralisia espinal. Os pacientes que utilizam este medicamento geralmente apresentam quadro de tensão e rigidez muscular, acompanhada de dor e espasmos flexores. A espasticidade é um dos sintomas mais comuns da esclerose múltipla, atingindo cerca de 80% das pessoas com esta doença.

Estudos farmacológicos indicam que a sua atividade biológica reside principalmente sobre o enantiômero (R), enquanto que o enantiômero (S) apresenta baixa atividade (CHÊNEVERT & DESJARDINS, 1994).

O *N*-Boc-baclofeno-lactama racêmico foi produzido no Laboratório de Síntese Orgânica no Instituto de Química da UNICAMP, coordenado pelo Prof. Carlos Roque Duarte Correia, e gentilmente fornecido em quantidade suficiente para as análises no sistema CLAE e para o desenvolvimento do processo de separação de seus enantiômeros com o sistema LMS.

3.5. Curvas de Calibração

Para a análise experimental da mistura racêmica *N*-Boc-baclofeno-lactama foram desenvolvidas duas curvas de calibração empregando um sistema de CLAE. Uma foi realizada para a obtenção da variação da concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama em função da área dos picos de cada um dos enantiômeros, constituintes na mistura, empregando uma coluna analítica preenchida com o adsorvente quirais TDFC. Outra curva foi determinada para a verificar a variação da concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama em função da absorbância no detector UV/VIS existente na unidade LMS.

A primeira curva foi realizada com a injeção de soluções de *N*-Boc-baclofeno-lactama em diferentes concentrações no sistema CLAE equipado com a coluna analítica e um sistema integrador de área. Sabe-se que em uma mistura racêmica seus enantiômeros coexistem na proporção de 50%, assim sendo para uma solução de $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ da mistura racêmica tem-se $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ de cada um dos seus enantiômeros.

A curva de calibração foi montada com os valores de concentração em função das áreas conseguidas para cada um dos enantiômeros. Esta curva de calibração é importante para a quantificação dos compostos coletados nos experimentos de isotermas e equilíbrio e a análise das correntes de extrato e refinado nos experimentos na unidade LMS.

A segunda curva foi realizada para a determinação da variação da concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama em função da absorbância do sistema UV/VIS, possibilitando a quantificação na unidade LMS. Uma solução de *N*-Boc-baclofeno-lactama foi preparada com alta concentração e bombeada através de uma célula de UV/VIS existente no sistema LMS por um determinado tempo até que o sinal fornecido pelo sistema se estabilizasse, e em seguida

esta solução foi diluída a um determinado valor conhecido, pela aplicação da fase móvel sem o *N*-Boc-baclofeno-lactama, utilizando uma outra bomba do sistema, formando assim diferentes “degraus” de concentração ao longo do tempo. Esta curva é utilizada para a quantificação da mistura racêmica e para os enantiômeros isolados, uma vez que ambos possuem a mesma capacidade de absorção na mesma concentração. A média dos valores de tensão (volts) cada degrau foi calculada sendo construído o gráfico de tensão em função da respectiva concentração.

3.6 – Determinação da Porosidade do Leito

Experimentos de pulsos cromatográficos com o tri-terc-butil benzeno (TTBB) foram realizados com a finalidade de se verificar a homogeneidade do empacotamento e determinar a porosidade total da coluna (ϵ^*) e do leito (ϵ), respectivamente. O TTBB é uma molécula relativamente pequena (M.M.= 264,44 g.gmol⁻¹) e inerte ao adsorvente, sendo capaz de se difundir não somente através do leito mas também nos interstícios das partículas do sólido poroso (KOLLER, RIMBÖCK, MANNSCHRECK, 1983).

O TTBB foi previamente dissolvido em metanol, formando uma solução com concentração de 0,5 mg.mL⁻¹. Pequenos pulsos cromatográficos (20 μ L) desta solução foram injetados na coluna sob condições isocráticas utilizando um sistema de CLAE. Após o período de tempo necessário para a estabilização do sistema e a diferentes vazões de alimentação da fase móvel, com valores na faixa de 0,4 a 1,0 mL.min⁻¹. A temperatura do sistema foi mantida constante e igual à 25°C \pm 1°C. As respostas dos pulsos foram monitoradas pelo detector UV no comprimento de onda a 254 nm. Este detector emite um sinal de frequência que é captado por uma placa de aquisição de dados (Aqdados da Linx), sendo este sinal convertido em tensão (v) possibilitando assim construir um gráfico da tensão em função do tempo de residência do TTBB na coluna.

O tempo que o pulso com a solução do inerte leva para atravessar o leito é diretamente proporcional à sua porosidade (PEDEFERRI et al., 1999) representado pela Equação 3.3.

$$\varepsilon^* = \frac{t_0 \cdot Q}{V} \quad (3.3)$$

Na Equação 3.3, ε^* é a porosidade total do leito, ou seja, a fração de vazios referente aos espaços entre as partículas e aos poros do adsorvente, t_0 é o tempo de residência do inerte no leito de adsorvente, Q é a vazão da fase móvel no caso específico de metanol, V é o volume total do leito cromatográfico.

É válido destacar que o tempo de residência do inerte t_0 na Equação 3.3 refere-se ao tempo que o mesmo leva para atravessar somente o leito de adsorvente; por isso, o tempo de residência gasto no volume morto, deve ser descontado do tempo de residência total. Tem-se então na Equação 3.4, a correção do valor do tempo de residência no leito adsorvente.

$$t_0 = t_{total} - t_{VM} \quad (3.4)$$

Na Equação 3.4, t_{total} é o tempo de residência total no leito e no volume morto, t_{VM} é o tempo de residência no volume morto.

A medida do tempo de residência no volume morto é feita através do seguinte procedimento: remove-se a coluna do sistema, mantendo toda a tubulação, válvulas e conexões responsáveis pela formação do volume morto, e repete-se a injeção do inerte; o pico resultante refere-se ao tempo que o inerte leva no volume morto.

O valor da porosidade do leito pode ser obtido pela correlação proposta por RUTHVEN (1984), representada pela Equação 3.5. A porosidade da partícula foi estimada utilizando a Equação 3.6.

$$\varepsilon^* = 0,45 + 0,55.\varepsilon \quad (3.5)$$

$$\varepsilon^* = \varepsilon + (1 - \varepsilon).\varepsilon_p \quad (3.6)$$

3.7 – Avaliação da Queda de Pressão das Colunas Semipreparativas

Com a determinação do valor da porosidade as colunas também foram avaliadas quanto ao comportamento da queda de pressão em função da velocidade superficial do fluxo de líquido, empregando um sistema CLAE.

Na Literatura encontram-se equações e correlações que representam o comportamento do leito poroso para determinadas faixas de vazões. Para baixas vazões, onde se considera o escoamento monofásico lento, através de um meio poroso de comprimento L , a queda de pressão ΔP , depende linearmente da vazão Q , visto através da Equação (3.7) clássica designada como a Lei de DARCY:

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{\mu}{K} q = \frac{\mu \cdot Q}{K \cdot A} \quad (3.7)$$

Na Equação (3.7), μ é a viscosidade da fase fluida que percola a coluna, q é a velocidade superficial; “ A ” é área da seção transversal da coluna, Q é a vazão de líquido que passa através da coluna e K é o coeficiente de permeabilidade do leito.

Expressões que relacionam a permeabilidade K , com a porosidade do meio e o tamanho das partículas d_p são encontradas na literatura. Entre as mais conhecidas tem-se a correlação de CARMAN – KOZENY (KUNII E LEVENSPIEL, 1962), Equação (3.6).

$$K = \frac{\varepsilon^3 \phi^2 d_p^2}{36\beta(1-\varepsilon)^2} \quad (3.8)$$

Na Equação (3.8) ϕ é a esfericidade e no caso de partículas esféricas este valor é igual a 1 e β é um parâmetro de ajuste com valores entre 4,5 a 5. Observa-se nesta equação a dependência da queda de pressão com o quadrado do diâmetro médio de partícula, ou seja, a presença de partículas finas afetaria muito a permeabilidade do leito levando a um incremento considerável da pressão para uma da vazão de operação.

Neste ensaio empregou-se o etanol como fase móvel e com vazões variando de 0,2 a 1,0 mL.min⁻¹.

3.8- Determinação das Isotermas de Equilíbrio de Adsorção

Ensaio para a determinação das isotermas não lineares foram realizados com a mistura racêmica visando a verificação da competitividade dos enantiômeros presentes na mistura racêmica *N*-Boc-baclofeno-lactama pelo sítios de ligação com o adsorvente TDFC, e para verificar em qual faixa de concentração se aplica as isotermas lineares.

A isoterma de equilíbrio é a condição prévia mais importante para modelar processos de separação em cromatografia líquida (SEIDEL-MORGENSTERN et al., 1993) e descreve quantitativamente a distribuição de equilíbrio de um soluto entre as duas fases envolvidas no processo cromatográfico sob uma larga faixa de concentração. A cromatografia preparativa, por razões econômicas, geralmente é realizada a altas concentrações e, nestas condições, as isotermas de equilíbrio raramente são lineares (GUIOCHON & LIN, 2003). As conseqüências do comportamento não-linear para os perfis das bandas cromatográficas são bem conhecidas (SEIDEL-MORGENSTERN et al., 1993; SEIDEL-MORGENSTERN E GUIOCHON, 1993a). Foi demonstrado que a termodinâmica controla perfis de bandas, particularmente a altas concentrações e quando a cinética de transferência de massa é rápida (GUIOCHON et al., 1994).

Para misturas de multicomponentes, a complexidade na determinação de isotermas competitivas resulta da competição que há entre os diferentes componentes por interações com a fase estacionária. O aumento da concentração de um componente adsorvido implica geralmente na redução da quantidade de outro componente adsorvido em equilíbrio quando os dois componentes estão presentes na solução, o que ilustra o caráter competitivo da adsorção (GUIOCHON et al., 1994).

3.8.1 - O Modelo de Langmuir competitivo

O modelo de Langmuir competitivo considera que o processo de adsorção acontece em uma superfície composta de um número fixo de sítios de adsorção de igual energia, uma molécula sendo adsorvida por sítio até que a cobertura da monocamada seja alcançada (JAMES, 1994). Este modelo é o mais freqüentemente utilizado para descrever adsorção não-linear, embora seja assumido que é um modelo muito simples para informar a adsorção em



fases estacionárias quirais. A isoterma de Langmuir corresponde a uma cinética de adsorção homogênea e é expressa matematicamente na Equação 3.9 (FELINGER et al., 2003).

$$q_i = q_s \frac{b_i C_i}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2}; \quad i = 1, 2 \quad (3.9)$$

Na Equação (3.9) q_s é a capacidade de saturação da monocamada do adsorvente e b_i é a constante de equilíbrio de adsorção ou coeficiente de distribuição. A constante de Henry (H_i) para o componente i é dada pelo produto $q_s \cdot b_i$.

O modelo de Langmuir tem sido amplamente utilizado para correlacionar dados experimentais obtidos em sistemas de adsorção sólido-líquido, possuindo limitações devido à restrição a superfícies homogêneas e cobertura da monocamada. A isoterma de Langmuir é, no entanto, conveniente para análise quantitativa de processos de adsorção e têm uma base física, distintamente de tais equações empíricas como o modelo de Freundlich que não tem nenhuma justificativa teórica significativa (JACOBSON et al., 1984). A grande vantagem deste modelo é o pequeno número de parâmetros requeridos e a simplicidade de sua derivação. De fato, somente três parâmetros são necessários para descrever adsorção competitiva: duas constantes de equilíbrio e a capacidade de saturação (CAVAZZINI et al., 2002).

3.8.2 - O Modelo bi-Langmuir competitivo

Quando enantiômeros são separados em uma fase estacionária quiral, é esperado que a fase estacionária seja heterogênea, com uma distribuição de energia bimodal. O modelo de isoterma bi-Langmuir assume que a superfície da estacionária quiral contém dois diferentes tipos de sítios. Sítios não-seletivos retêm ambos os enantiômeros com a mesma energia de adsorção, enquanto que os sítios enantioseletivos interagem diferentemente com estes dois enantiômeros, ligando-se a eles com diferentes energias (com igual ou diferente capacidade de saturação). Assim, as constantes de equilíbrio dos dois enantiômeros nos sítios não-seletivos são iguais e o modelo bi-Langmuir possui apenas cinco parâmetros neste caso. Este modelo pode ser considerado como uma extensão do modelo competitivo de Langmuir quando estes

dois tipos de sítios coexistem na superfície da fase estacionária, sendo descrita através da Equação 3.10:

$$q_i^* = q_{ns} \frac{b_{ns,i} C_i}{1 + b_{ns,i} (C_1 + C_2)} + q_s \frac{b_{s,i} C_i}{1 + b_{s,1} C_1 + b_{s,2} C_2}; i = 1, 2 \quad (3.10)$$

Na Equação (3.10), $b_{ns,i}$ é a constante de equilíbrio para a adsorção nos sítios não-seletivos, $b_{s,i}$ é a constante de equilíbrio para a adsorção nos sítios enantioseletivos, q_{ns} é a capacidade de saturação dos sítios não-seletivos e q_s é a capacidade de saturação dos sítios enantioseletivos (FELINGER et al., 2003; ZHOU et al., 2003; CAVAZZINI et al., 2002).

3.8.3 - Método para a Determinação das Isotermas Competitivas

A isoterma de adsorção competitiva foi determinada seguindo o método descrito por PAIS et al. (1998). Nesta metodologia, a coluna cromatográfica previamente equilibrada com fase móvel eluente foi alimentada com uma solução de racemato com concentração conhecida C_F até que o equilíbrio entre a fase sólida e a fase líquida, fosse atingido. Em seguida, a coluna foi completamente eluída com a fase móvel, a Figura 3.16 ilustra estas etapas do experimento.

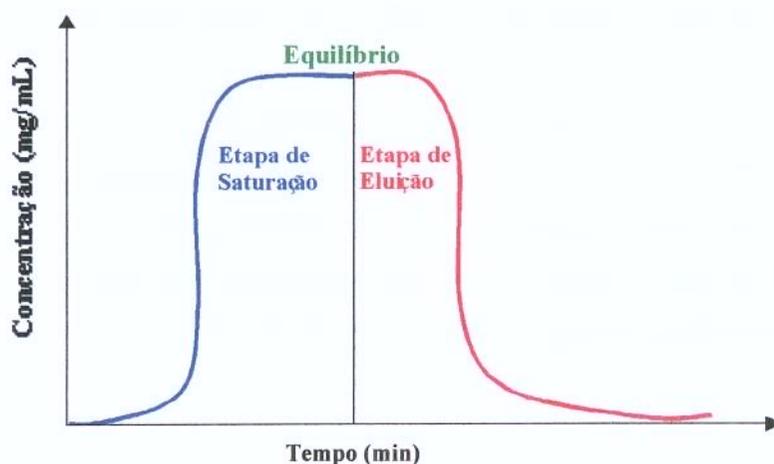


Figura 3.16: Gráfico esquemático do ensaio para a obtenção da isoterma de equilíbrio, empregando um coluna cromatográfica quiral, com destaque para a etapa de saturação da coluna em azul e a etapa de eluição em vermelho.

O volume eluído resultante da etapa de dessorção foi coletado e analisado em uma coluna analítica previamente calibrada, de forma, a conhecer a proporção de cada um dos enantiômeros. Este procedimento fornece um ponto na isoterma de adsorção para cada dos enantiômeros constituintes do racemato ($C_{F,i}, q_i^*$) sendo o índice i referente a cada um dos enantiômeros. O balanço de massa na condição de equilíbrio é descrito pela Equação 3.11 e fornece o valor da concentração de cada componente retido na partícula, q_i^* , em equilíbrio com a concentração alimentada, $C_{F,i}$. A concentração na fase de sólido q_i^* inclui tanto a concentração na fase adsorvida quanto a concentração no fluido no interior dos poros do adsorvente. Neste balanço de massa, $C_{d,i}$, é a concentração de cada componente no volume eluído obtido no passo de dessorção, V_d é o volume eluído, V_c é o volume da coluna, e ϵ é a porosidade do leito.

$$q_i^* = \frac{V_d C_{d,i} - \epsilon V_c C_{F,i}}{(1 - \epsilon) V_c} \quad i=1,2 \quad (3.11)$$

3.9 – Medição das Constantes de Henry dos Enantiômeros

Conforme visto na seção 2.1, para se projetar às condições operacionais da unidade LMS, é necessário conhecer os parâmetros das isotermas lineares do sistema adsorvente e adsorbato. Como uma primeira aproximação, pode-se medir os parâmetros das isotermas lineares, válidas para sistemas diluídos. Estes parâmetros consistem nas constantes de Henry, que podem ser obtidas pela seguinte fórmula (PEDEFERRI et al., 1999):

$$H_i = \frac{(t_i^R - t_0)}{t_0} \cdot \frac{\epsilon^*}{1 - \epsilon^*} \quad (3.12)$$

Na Equação 3.12, t_i^R é o tempo de retenção do enantiômero i na coluna. Este tempo é medido através da injeção da mistura racêmica na coluna empacotada com a fase estacionária quiral TDFC.

Ao se injetar a amostra do racêmico, esta atravessa o leito, e se os enantiômeros da mistura apresentarem diferentes afinidades pelo adsorvente, sairão da coluna em tempos diferentes, passarão por um medidor espectrofotômetro UV em tempos diferentes, e gerarão um cromatograma com dois picos, com áreas praticamente iguais, indicando a presença de dois compostos que apresentam a mesma concentração na amostra. Os tempos t_i^R são os tempos relativos a cada um destes dois picos. Se os enantiômeros puros estiverem disponíveis, pode-se fazer injeções dos mesmos, o que leva a uma maior precisão em t_i^R .

3.10 - Projeto das Condições Operacionais do LMS, para Sistemas Lineares

Para sistemas lineares (diluídos), detalhou-se na seção 2.1 que as condições operacionais da unidade LMS, para que se obtenha a completa separação dos enantiômeros, vêm das inequações (2.23) – (2.26), que levam à construção de um gráfico no plano ($m_2 - m_3$), com a região de completa separação, mostrado na Figura 2.4.

No gráfico da Figura 2.4, deve-se escolher um ponto (m_2, m_3) que se localize dentro da região triangular que corresponde à completa separação de A e B, ou seja, a região de extrato e refinado puros. Tem-se então, da Equação (2.27):

$$m_2 = \frac{Q_2^{LMS} \cdot t^* - V \cdot \varepsilon^*}{V \cdot (1 - \varepsilon^*)} \quad (3.13)$$

$$m_3 = \frac{Q_3^{LMS} \cdot t^* - V \cdot \varepsilon^*}{V \cdot (1 - \varepsilon^*)} \quad (3.14)$$

Nas duas equações acima, têm-se ao todo, sete parâmetros ($m_2, m_3, Q_2, Q_3, t^*, V, \varepsilon^*$). Destes sete, quatro são conhecidos ($V, \varepsilon^*, m_2, m_3$), sobrando assim três incógnitas (Q_2, Q_3 e t^*) para somente duas equações. Mas sabe-se que, da observação da Figura 3.1:

$$Q_3 = Q_2 + F \quad (3.15)$$

Supondo que se queira processar uma quantidade já fixada de material por dia, (ou por qualquer outra unidade de tempo), ou seja, estabelecendo-se a vazão que se deseja na alimentação, e juntando a equação acima às outras duas anteriores, calcula-se Q_2 , Q_3 e t^* .

Na unidade LMS tem-se cinco correntes, duas de entrada (alimentação F e entrada de dessorvente D_{ent}) e três de saída (extrato Ex , refinado R e saída de dessorvente $D_{saída}$), como mostrado na Figura 3.1.

Na Figura 3.1, vê-se que a vazão na seção 1 (nas colunas 7 e 8) é igual à vazão de entrada de dessorvente. Sabe-se que m_1 deve ser maior que H_A , ou seja:

$$\frac{Q_1^{LMS} \cdot t^* - V \cdot \varepsilon^*}{V \cdot (1 - \varepsilon^*)} > H_A \quad (3.16)$$

Escolhe-se Q_1 que satisfaça à inequação acima, e com isso, fixa-se a vazão de entrada de dessorvente.

Sabe-se também que $m_4 < H_B$, ou seja:

$$\frac{Q_4^{LMS} \cdot t^* - V \cdot \varepsilon^*}{V \cdot (1 - \varepsilon^*)} < H_B \quad (3.17)$$

Escolhe-se Q_4 que satisfaça a equação acima, e com isso se fixa a vazão de saída de dessorvente, pois $Q_4 = D_{saída}$, como se vê no esquema mostrado da unidade.

Até este ponto foram fixadas as vazões nas bombas de alimentação, entrada de dessorvente e saída de dessorvente. Restam ainda fixar as vazões nas bombas de extrato e de refinado.

Observando-se o esquema da unidade, vê-se que:

$$Ex = D_{ent} - Q_2 \quad (3.18)$$

Fixa-se então a vazão na bomba de extrato, já que D_{ent} e Q_2 já são conhecidos.

No esquema da unidade observa-se também que

$$R = Q_3 - D_{saída} \quad (3.19)$$

Como Q_3 e $D_{\text{saída}}$ já são conhecidos, obtém-se então a vazão na bomba de refinado.

Tem-se então projetadas as vazões nas quatro bombas da unidade, e o tempo de troca nas válvulas multiposição.

Depois de selecionadas as condições de operação, deve-se verificar se as mesmas satisfazem a algumas restrições físicas da unidade. A primeira delas se refere ao balanço de massa global, que deve ser obedecido:

$$D_{\text{ent}} + F = E_x + \text{Ref} + D_{\text{saída}} \quad (3.20)$$

Outras restrições se referem a: um limite superior nas vazões, pois a partir de um certo valor, a perda de carga nas colunas fica muito elevada, causando o aumento da pressão, que pode levar a vazamentos e a danos nos equipamentos; e um limite inferior no tempo de troca das posições, pois um tempo de troca muito baixo levaria a um mal funcionamento das válvulas de multiposição.

Se as condições operacionais não satisfizerem a Equação 3.20 ou, apresentarem valores de vazão e de tempo de troca que não sejam compatíveis com as restrições físicas do sistema, os cálculos devem ser refeitos.

Para um projeto mais rigoroso, pode-se aplicar a Equação (2.45), que leva em consideração a presença do volume morto nas linhas, no lugar da equação (2.27). O procedimento é similar ao que foi mostrado aqui. A única etapa adicional consistiria na medição do volume morto V_j^D .

CAPÍTULO 4

4- RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Caracterização da Fase Tris (3,5-Dimetilfenilcarbamato) de Celulose e dos Seus Constituintes

O carbamato obtido a partir da derivação da celulose com o isocianato na seção 3.3.2 foi submetido a diferentes análises para a sua caracterização. Estas análises foram realizadas empregando as técnicas de análise elementar (CHN) e infravermelho (IV).

Na Figura 4.1 é apresentado o espectro obtido na região do infravermelho (IV) para o carbamato onde se pode verificar, principalmente, a presença dos estiramentos C=O do carbamato em 1726 cm^{-1} e N-H em 3294 cm^{-1} , do C-N em 1549 cm^{-1} e C-O em 1221 cm^{-1} .

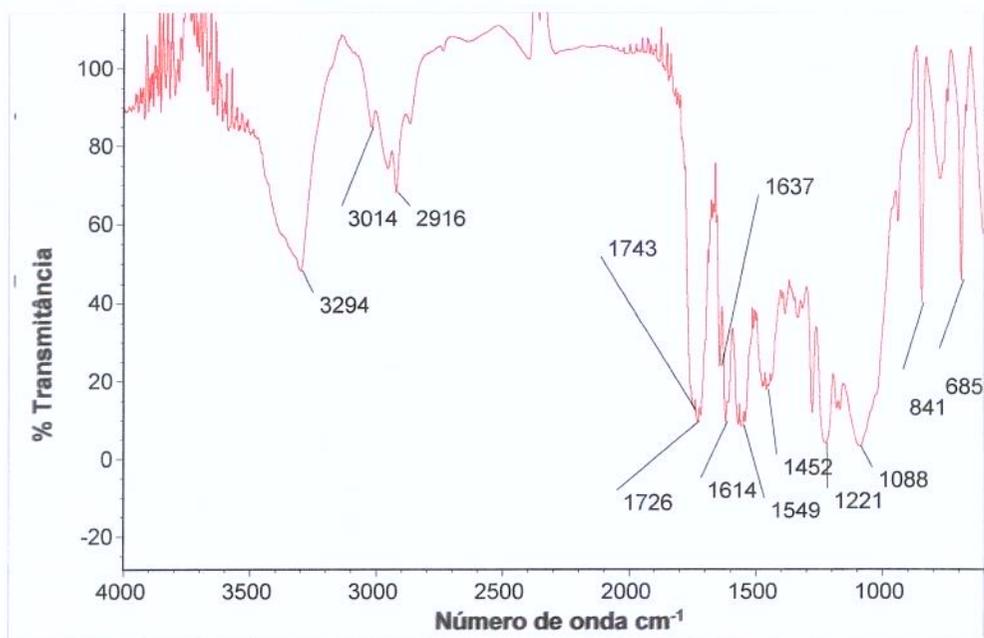


Figura 4.1: Espectro no Infra Vermelho obtido para o TDFC.

A análise elementar (CHN) do carbamato forneceu as seguintes composições de carbono, hidrogênio e nitrogênio, análise em duplicata: %C= 64,67 e 64,57; %H= 5,83 e 5,57; %N=7,24 e 7,30; sendo que os valores teóricos são: %C= 65,66; %H= 6,18; %N= 6,96. Esta análise foi realizada pelo Instituto de Química da UNICAMP, como mostra o laudo na Figura 4.2.

As análises do IV e CHN são importantes para a caracterização e padronização do carbamato, a fim de facilitar nas futuras preparações deste material que é constituinte da fase quiral e que irá recobrir as partículas de sílica.

DATE 26 08 02	TIME 12 44 59	OPERATOR ID FABIANA
RUN 16	ID CARB NOVO	WEIGHT .641
SIGNALS		
CARBON 64.67%	ZR 8990	
HYDROGEN 5.83%	NR 9475	
NITROGEN 7.24%	CR 14627	
	HR 16214	
DATE 26 08 02	TIME 12 49 45	OPERATOR ID FABIANA
RUN 17	ID CARB NOVO	WEIGHT .570
SIGNALS		
CARBON 64.57%	ZR 8985	
HYDROGEN 5.57%	NR 9450	
NITROGEN 7.30%	CR 14035	
	HR 15456	

INSTITUTO DE QUÍMICA UNICAMP			
ANALISADOR ELEMENTAR PE-2400			
Amostra	Carb. novo		
% C	64,67	64,57	
% H	5,83	5,57	
% N	7,24	7,30	
Data	26	08 / 02	Análise n.º 195
Operador	Fabiana		
Responsável	Adriana		

Figura 4.2: Laudo da análise elementar do TDFC.

A sílica adquirida (Luna) foi analisada através do espalhamento de luz laser (light-scattering) para obtenção de sua distribuição granulométrica e microscopia de varredura eletrônica para avaliação quanto ao tipo de partícula, tamanho médio e uniformidade.

Através da análise com o espalhamento de luz foi possível obter o gráfico da distribuição de tamanho de partícula, onde se pode verificar que este material apresenta maior porcentagem de seu volume com diâmetro na faixa de 10 a 12 μm . Menos de 3,0 % do seu volume apresenta-se com diâmetro abaixo de 2,0 μm e que 90% do volume total tem diâmetro inferior a 15 μm como mostra a Figura 4.3.

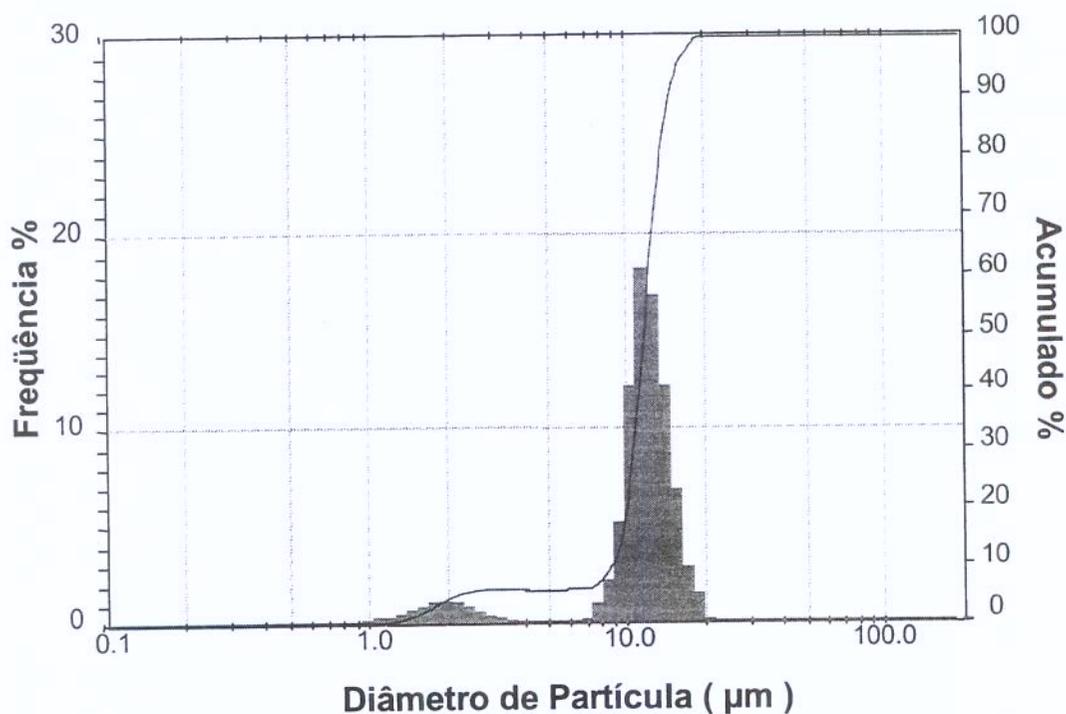


Figura 4.3: Análise granulométrica das partículas de sílica Luna, adquirida comercialmente, realizada através da técnica de espalhamento de luz laser (Light-scattering).

A microscopia de varredura eletrônica (MEV) permitiu a visualização ampliada da sílica, de acordo com a Figura 4.4, onde se verifica a predominância da forma esférica e uma boa homogeneidade do conjunto, sendo importante como padrão para comparações com outros lotes que venham ser adquiridos ou sílica de outros fabricantes.

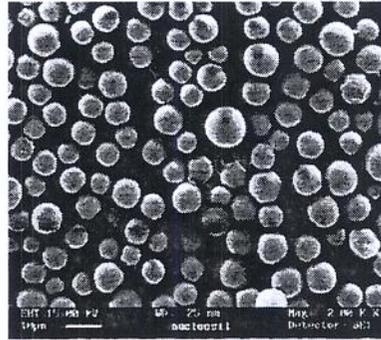


Figura 4.4: Microscopia de varredura eletrônica da sílica Luna.

A fase quiral, formada pela adsorção do carbamato à sílica, também foi analisada através do espalhamento da luz laser e microscopia de varredura eletrônica. Na Figura 4.5, tem-se análise do light-scattering para a fase estacionária quiral, mostrando que após o peneiramento da fase, que esta apresentou com uma distribuição de tamanho de partícula com diâmetro médio em torno de $13,64 \mu\text{m}$, e que 90% do seu volume apresenta diâmetro abaixo de $33 \mu\text{m}$ e que 10% apresenta diâmetro abaixo de $6 \mu\text{m}$.

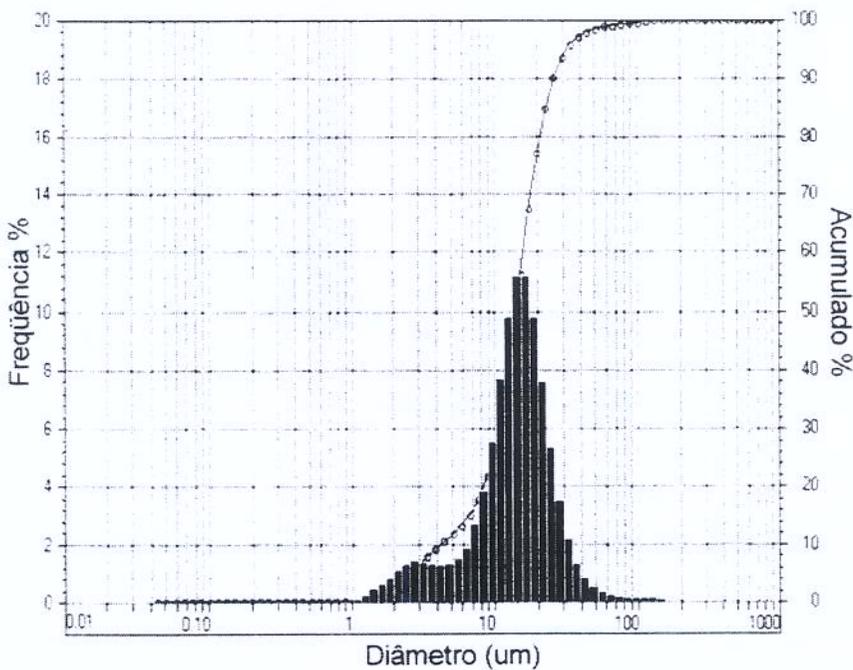
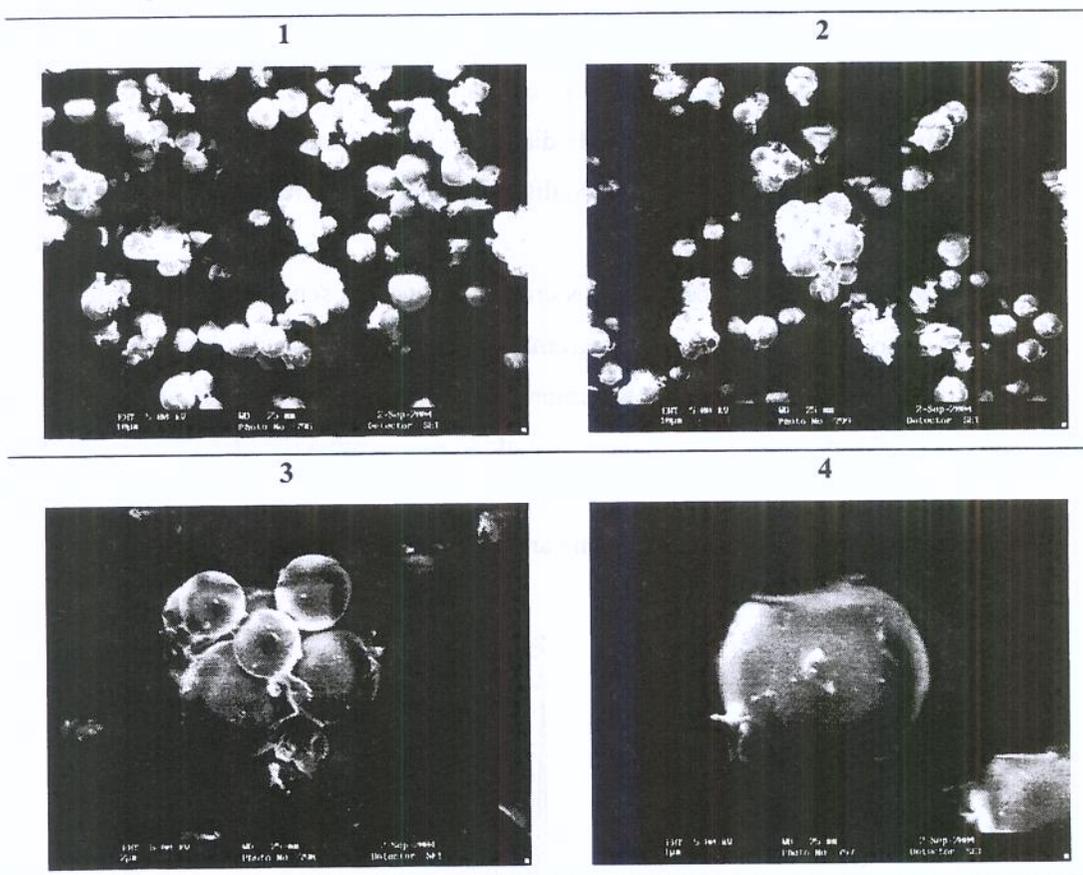


Figura 4.5: Distribuição de tamanho de partícula para o TDFC, utilizando a técnica do espalhamento da luz laser (light-scattering), para a nova fase estacionária sintetizada.

Na Tabela 4.1, tem-se as imagens obtidas com a microscopia de varredura eletrônica, realizadas já com a fase estacionária TDFC. Nesta imagem é possível visualizar o carbamato adsorvido à sílica formado blocos de partículas aglomeradas. Após o revestimento as partículas apresentam-se ainda na forma esférica.

Tabela 4.1: Imagens da microscopia de varredura eletrônica da fase quiral TDFC.



Através da microscopia de varredura eletrônica observa-se que há uma deposição do carbamato sobre a superfície das partículas de sílica. As partículas finas com diâmetro abaixo de $3 \mu\text{m}$ da Figura 4.5 são geradas do desprendimento do carbamato da sílica bem como da fragmentação das partículas de sílica. Estas partículas proporcionam uma diminuição da permeabilidade do leito adsorvente (Equação 3.8), e assim levando a um aumento da queda de pressão (Equação 3.7). Assim, cuidados devem sempre de ser tomados durante a etapa do peneiramento da fase estacionária, procurando fazer a eliminação das partículas finas antes da

etapa de pressurização no sistema de empacotamento, a fim de minimizar o desgaste das partículas que constituíram o leito das colunas cromatográficas.

4.2 - Empacotamento das Colunas Cromatográficas

A estratégia para a produção das colunas cromatográficas com o adsorvente TDFC, foi produzir primeiramente uma coluna com características analíticas próximas à da coluna Chiralcel OD adquirida comercialmente, apresentada na seção 3.3.1. Esta coluna produzida possui 15 cm de altura de leito e 0,4 cm de diâmetro interno com 300 Å de diâmetro de poro. Após o seu empacotamento esta coluna analítica foi empregada na resolução dos compostos apresentados na Tabela 3.1.

Na Figura 4.6, pode-se comparar os cromatogramas da separação dos enantiômeros da *N*-Boc-baclofeno-lactama. Estes cromatogramas foram obtidos com a coluna comercial e com a coluna produzida no laboratório, empregando como fase móvel uma mistura de hexano/etanol (70/30 %_{v/v}). O primeiro cromatograma à esquerda, foi obtido utilizando a coluna analítica Chiralcel OD comercial com uma vazão de 1,0 mL.min⁻¹ da fase móvel. O segundo cromatograma foi obtido na coluna analítica desenvolvida no laboratório, nas mesmas condições operacionais.

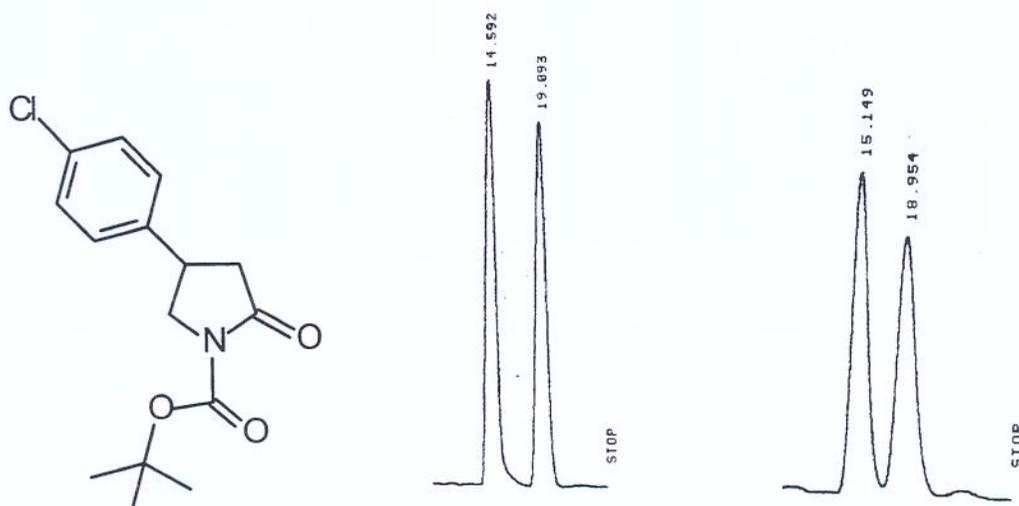


Figura 4.6: Cromatogramas obtidos para a molécula do *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando a coluna comercial Chiralcel OD à esquerda e a coluna de TDFC analítica confeccionada no laboratório à direita, com vazão da fase móvel de 1,0 mL.min⁻¹.

O racemato *N*-Boc-rolipram, precursor do fármaco rolipram, também analisado quanto a viabilidade da separação de seus enantiômeros com a coluna de TDFC. Na Figura 4.7 tem-se os cromatogramas da separação dos enantiômeros destas moléculas, obtidos nas colunas analítica comercial à esquerda, semipreparativa ao centro e na analítica confeccionada no laboratório à direita, utilizando como fase móvel e eluente a mistura de hexano/isopropanol (90/10 % *v/v*) com uma vazão de 1,0 mL.min⁻¹.

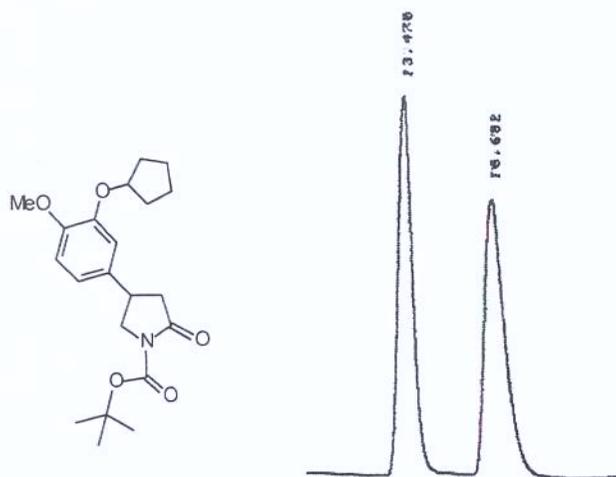


Figura 4.7: Cromatogramas obtidos para a molécula do *N*-Boc-rolipram utilizando a coluna comercial Chiralcel OD à esquerda e a coluna de TDFC analítica confeccionada no laboratório à direita, com vazão da fase móvel de 1,0 mL.min⁻¹.

As separações dos racematos realizada com a coluna analítica TDFC, preparada no laboratório foram bastante promissoras, apresentando resultados bastante semelhantes quando comparados com a coluna analítica Chiralcel OD comercial. Importante ressaltar que esta coluna analítica preparada apresenta um comprimento de 15 cm, menor do que a comercial utilizada, que é de 25 cm. Isto faz com que o número de pratos teóricos na coluna produzida seja menor em relação a comercial revelando resultados bastantes positivos.

Outras moléculas racêmicas estudadas também apresentaram boa resolução dos seus enantiômeros com esta coluna analítica quiral produzida como mostra as Figuras 4.8, 4.9 e 4.10, respectivamente para a nitrolactama, dimetoxilactama e cetamina, demonstrando que a fase estacionária produzida apresenta um grande potencial de resolução de vários os compostos racêmicos com desempenho semelhante à coluna Chiralcel OD comercial.

Das moléculas apresentadas na Tabela 3.1, apenas duas não tiveram seus enantiômeros separados, o aspartato e o glutamato. Essas moléculas não obtiveram sucesso na separação quer utilizando a coluna cromatográfica desenvolvida ou a coluna Chiralcel OD comercial, mesmo com ensaios sob diferentes condições de operação como a composição de fase móvel e temperatura.

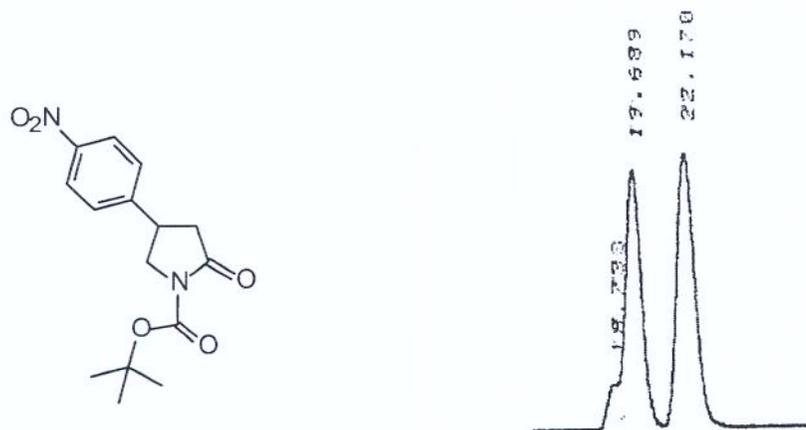


Figura 4.8: Cromatograma obtido para a molécula *p*-nitrolactama com a coluna analítica desenvolvida, sendo utilizado hexano 96 %/ isopropanol 4% como fase móvel e fluxo de $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

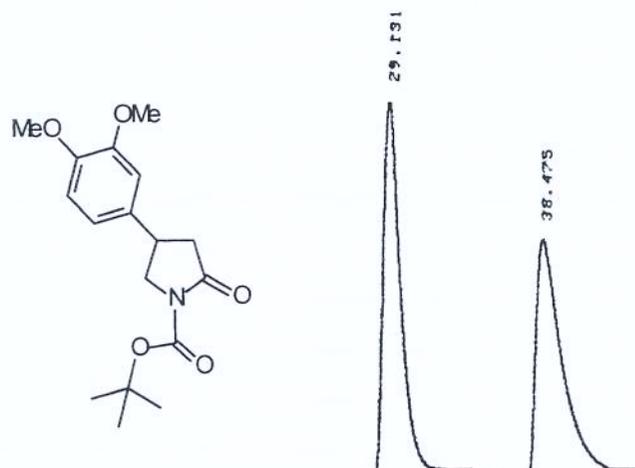


Figura 4.9: Cromatograma obtido para a 3,4-dimetóxilactama com a coluna analítica, sendo utilizado a mistura hexano 92%/isopropanol 8% como fase móvel a um fluxo de $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

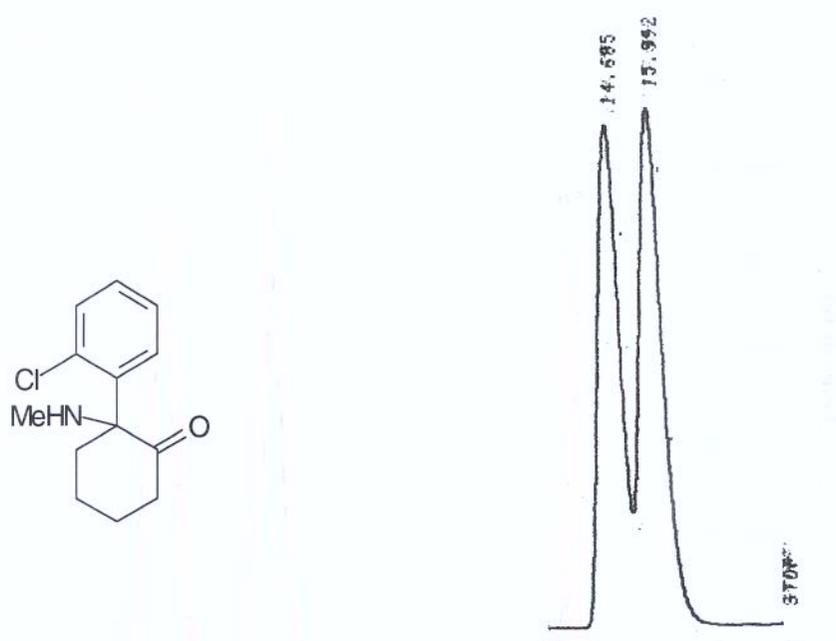


Figura 4.10: Cromatograma obtido para a cetamina na coluna analítica, empregando a mistura de hexano 85% / isopropanol 15% como fase móvel e com fluxo de $0,4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Os resultados alcançados foram decisivos para o desenvolvimento deste trabalho, em que dois pontos principais para o projeto de separação enantiomérica com o LMS estão garantidos, a saber, a obtenção da fase estacionária e um número considerável de moléculas racêmicas que apresentam interesse na resolução de seus enantiômeros. Estas moléculas são produzidas no Instituto de Química da UNICAMP, como mencionado na seção 3.3.1, sob a coordenação do Prof. Carlos R.D. Correia, e a obtenção dos enantiômeros enriquecidos em sua forma enantiomericamente pura vêm apresentar grande interesse, principalmente no desenvolvimento de testes farmacológicos em pesquisas futuras. Para o presente estudo a molécula racêmica escolhida foi o *N*-Boc-baclofeno-lactama.

Como a fase estacionária TDFC apresentou apta a resolução de enantiômeros, 8 colunas cromatográficas foram produzidas para serem instaladas na unidade LMS, seguindo o mesmo procedimento aplicado no preparo da coluna analítica. Na Figura 4.11 tem-se os cromatogramas conseguidos com as 8 colunas na separação dos enantiômeros da molécula *N*-Boc-baclofeno-lactama, empregando com fase móvel a mistura de hexano/etanol (70/30 %v/v) e uma vazão de $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

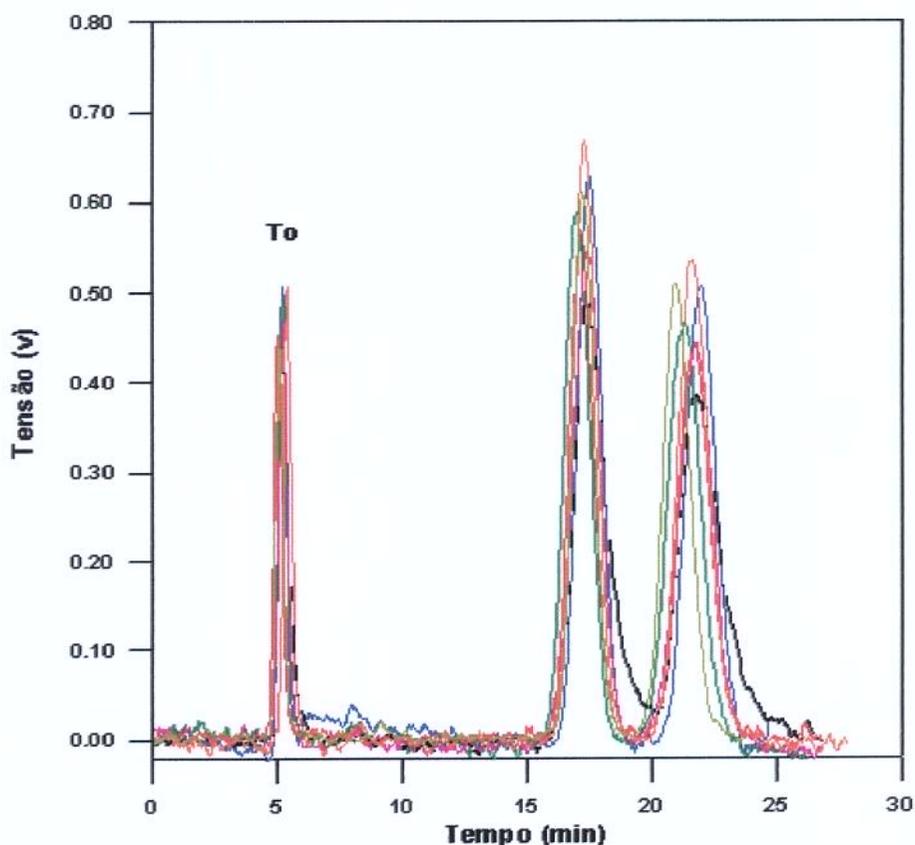


Figura 4.11: Conjunto dos cromatogramas da resolução dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama com a fase estacionária TDFC empacotada nas 8 colunas semipreparativas desenvolvidas, empregando como fase móvel a mistura de hexano/etanol (70:30 %v/v) com vazão de 1,0 mL.min⁻¹.

Na Figura 4.11 são ilustrados 8 cromatogramas, em diferentes cores, obtidos com as 8 colunas semipreparativas que foram desenvolvidas para o seu emprego na unidade LMS. Estes cromatogramas foram obtidos na resolução dos enantiômeros da molécula racêmica *N*-Boc-baclofeno-lactama empregando o sistema CLAE. Observa-se que há uma boa reprodutibilidade nos tempos de retenção dos compostos apresentados. O primeiro pico (To) é referente ao tempo de retenção do composto inerte tri-terc-butil benzeno (TTBB), e os dois picos restantes são dos enantiômeros que constituíntes da mistura racêmica. Esta reprodutibilidade é de suma importância no projeto das condições operacionais da unidade LMS, bem como crucial no sucesso do processo de separação.

De posse dos tempos de retenção de cada um dos compostos apresentados nos cromatogramas da Figura 4.11, houve a necessidade de se caracterizar cada uma das 8 colunas semipreparativas produzidas quanto a sua porosidade e queda de pressão, para o projeto das condições operacionais da unidade LMS.

4.3 - Determinação das Porosidades das Colunas Semipreparativas

A porosidade total foi determinada através do método descrito na seção 3.6, onde cada uma das colunas foi acoplada a um sistema CLAE e empregando o composto inerte 1,3,5-tri-*t*-butilbenzeno (TTBB).

A Figura 4.12 apresenta os cromatogramas da injeção do inerte obtidos para apenas uma das colunas semipreparativas produzidas, correspondente a coluna de numero 8.

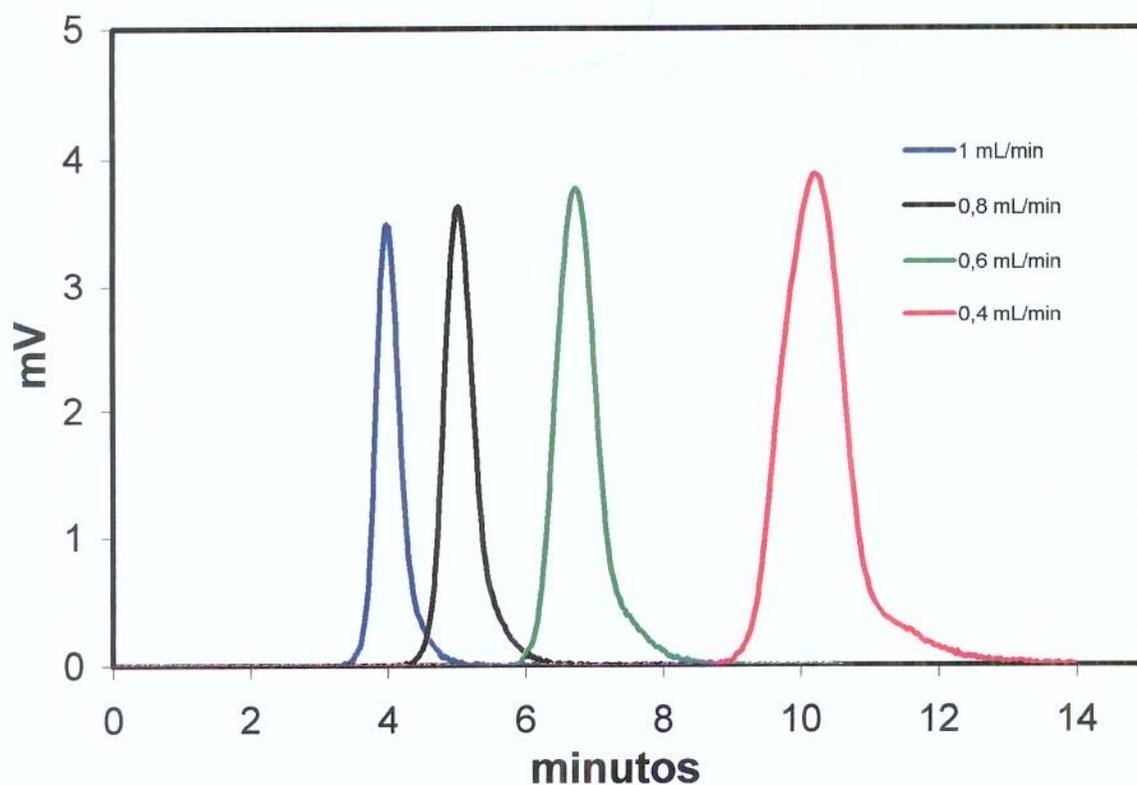


Figura 4.12: Cromatogramas da injeção do inerte TTBB na coluna semipreparativa com TDFC confeccionada no laboratório, empregando o metanol como fase móvel.

O tempo do volume morto (t_{vm}) também foi obtido em diferentes vazões, conforme mostra a Figura 4.13.

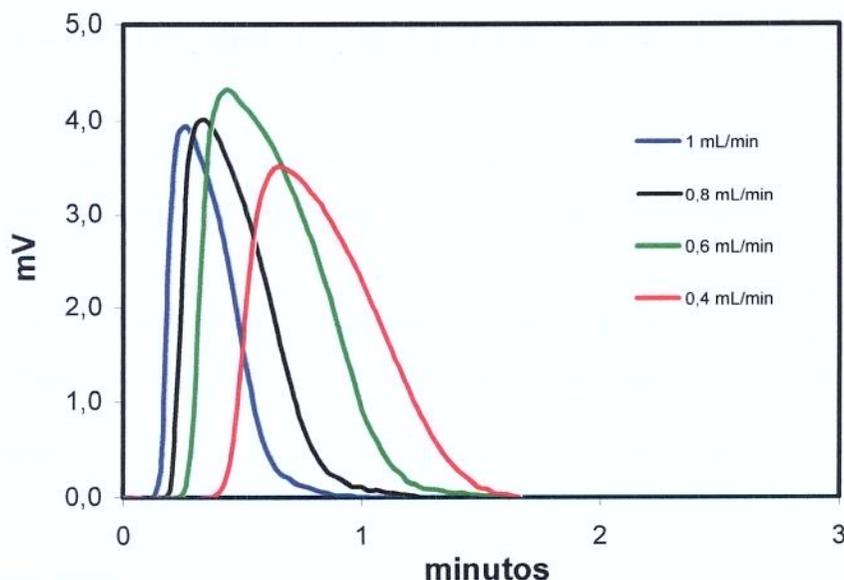


Figura 4.13: Cromatogramas da injeção do TTBB com sistema CLAE e sem a coluna semipreparativa, empregando o metanol como fase móvel para a determinação do volume morto existente.

As injeções do inerte TTBB, de acordo com a Equação 3.3, possibilitaram à determinação da porosidade total do leito em cada coluna.

Os valores das porosidades (ϵ_t) encontrados para cada uma das oito colunas de TDFC confeccionadas são apresentados na Tabela 4.2. A média das porosidades apresentadas foi de 0,663 com um desvio padrão de 0,011, confirmando assim a uniformidade das colunas quanto ao empacotamento.

Tabela 4.2: avaliação cromatográfica das colunas semipreparativa com o TDFC.

Coluna	1	2	3	4	5	6	7	8	ϵ_t (Média)	Desvio
Porosidade Total (ϵ_t)	0,661	0,660	0,672	0,665	0,649	0,660	0,660	0,655	0,663	0,007

Os valores de porosidade encontrados neste ensaio estão consonantes com os apresentados na Literatura, onde se têm relatos de valores de porosidade total na ordem de 0,63 a 0,70 para colunas de TDFC vendidas comercialmente.

4.4 - Análise da Queda de Pressão nas Colunas Semipreparativas

A queda de pressão nas colunas semipreparativas apresentou valor médio de 25,0 bar, com desvio padrão de $\pm 2,2$ bar, operando com uma vazão de $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, empregando etanol como fase móvel.

No gráfico da Figura 4.14 observa-se um bom ajuste entre os valores teóricos preditos pela Equação (3.7) aos experimentais para $\Delta P/L$ em função da velocidade superficial (q), utilizando-se $\beta = 5$, como parâmetro de ajuste.

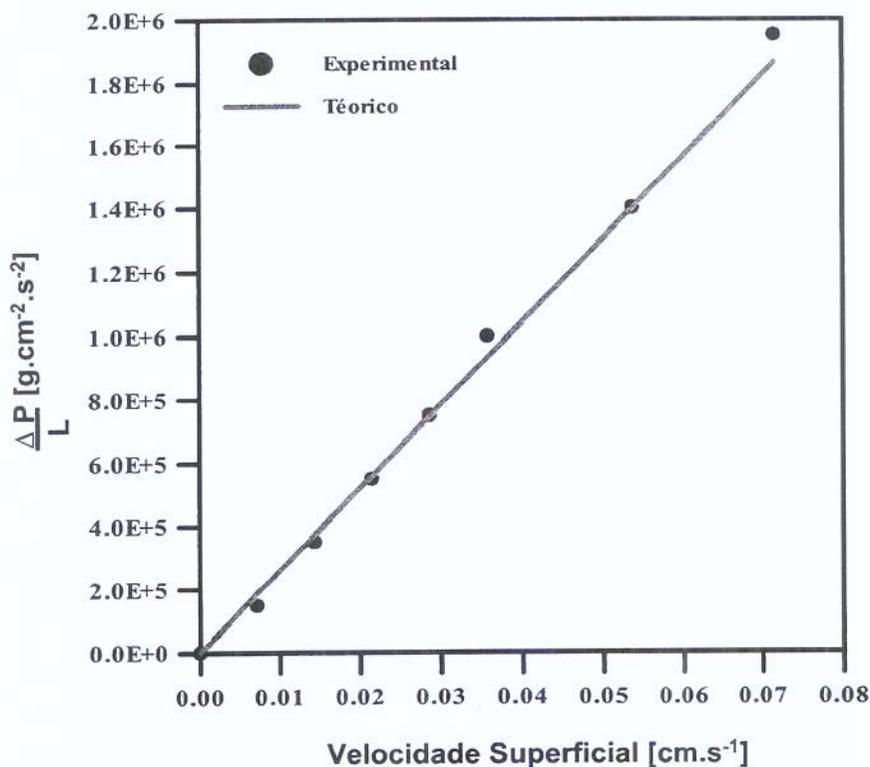


Figura 4.14: Relação da queda de pressão por comprimento do leito cromatográfico em função da velocidade superficial do fluido de operação (etanol) na coluna.

A unidade LMS pode operar com até 300 kgf.cm^{-2} empregando as 8 colunas cromatográfica. Portanto um bom ajuste do modelo matemático aos dados experimentais permitirá estimar o valor da queda de pressão quando se desejar realizar mudanças de escala, com o desenvolvimento de colunas com outras dimensões, facilitando inclusive o “scale-up”.

4.5. Curvas de Calibração

Curva de Calibração para a Coluna Analítica.

A curva de calibração da coluna analítica foi desenvolvida conforme condições detalhadas na seção 3.5. Na Figura 4.17 tem-se o cromatograma da *N*-Boc-baclofeno-lactama obtido para uma coluna analítica com o TDFC, onde $20 \mu\text{L}$ de uma solução com $3,0 \text{ g/L}$ foi injetada. As áreas dos picos de cada um dos enantiômeros foram calculadas através de um integrador acoplado ao sistema UV/VIS.

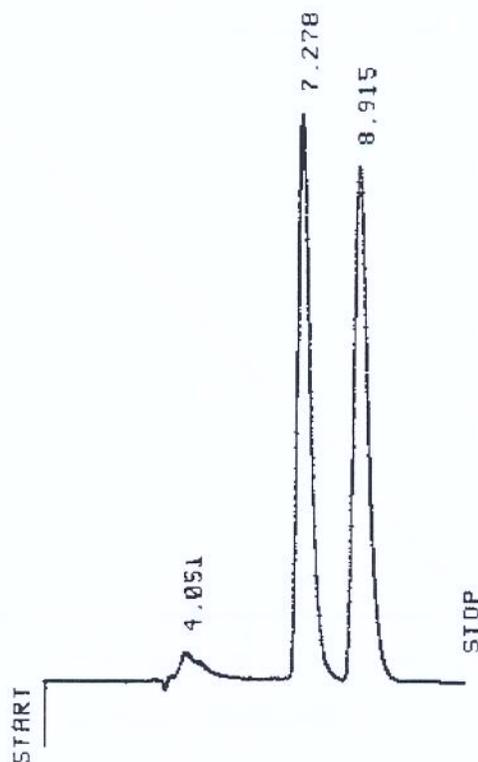


Figura 4.17: Cromatograma obtido com a coluna analítica TDFC, empregando uma concentração de 3 mg.mL^{-1} de *N*-Boc-baclofeno-lactama.

Ensaio para diferentes valores de concentração foram realizados de forma similar resultando na curva representada na Figura 4.18, onde temos o gráfico da variação das áreas em função da concentração, tanto para os enantiômeros isolados quanto para a mistura racêmica.

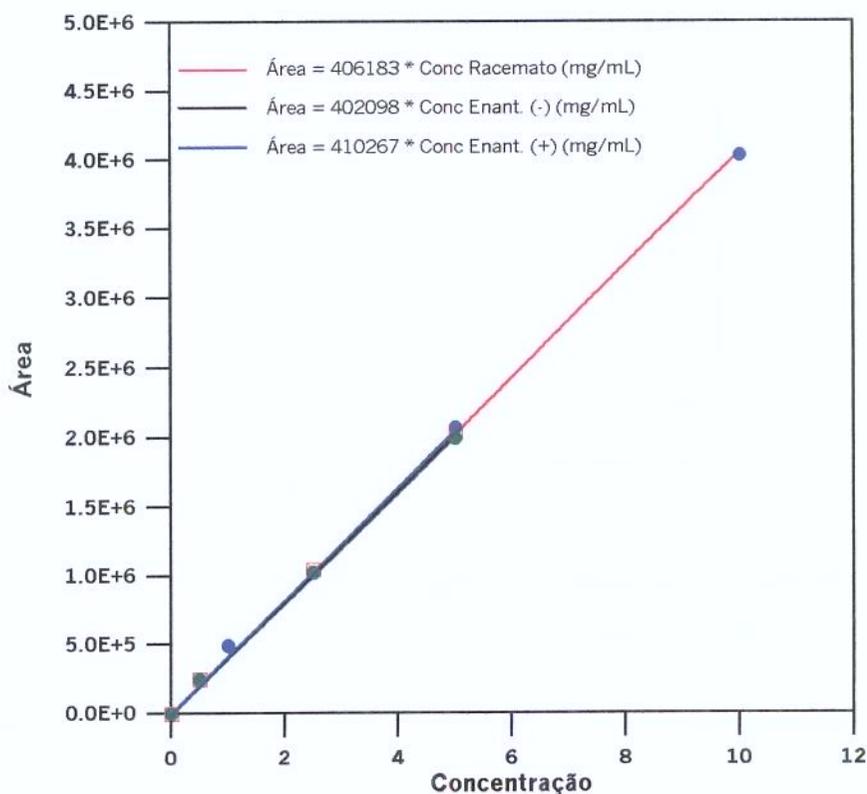


Figura 4.18: Curva de Calibração da área dos picos dos cromatogramas da *N*-Boc-baclofeno-lactama em função da concentração da *N*-Boc-baclofeno-lactama injetada na coluna TDMFC. \square Concentração da mistura racêmica; \triangle Concentração do enantiômero (-), \circ concentração do enantiômero (+).

Observa-se que tanto a concentração da mistura racêmica, quanto dos enantiômeros da *N*-Boc-baclofeno-lactama apresentam um comportamento linear praticamente com a mesma inclinação para a mesma faixa de concentração. Os coeficientes de correlação (R^2) apresentados situam-se acima de 0,9995.

Calibração no Sistema UV/VIS da unidade LMS

A Figura 4.19 ilustra a variação da tensão fornecida pelo sistema UV/VIS em função do tempo, onde cada degrau se refere a um valor de concentração de *N*-Boc-baclofeno-

lactama.

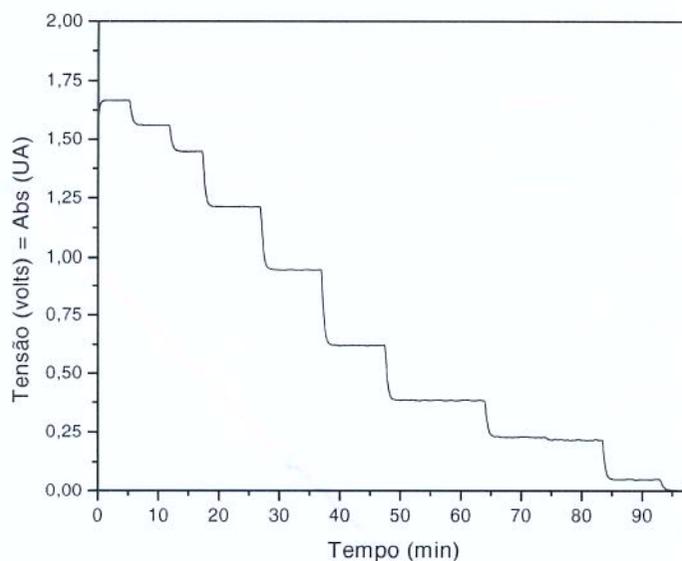


Figura 4.19: Variação da tensão do sistema UV/VIS em função do tempo, para a *N*-Boc-baclofeno-lactama.

Na Figura 4.20 tem-se o gráfico da variação de tensão em função da concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama.

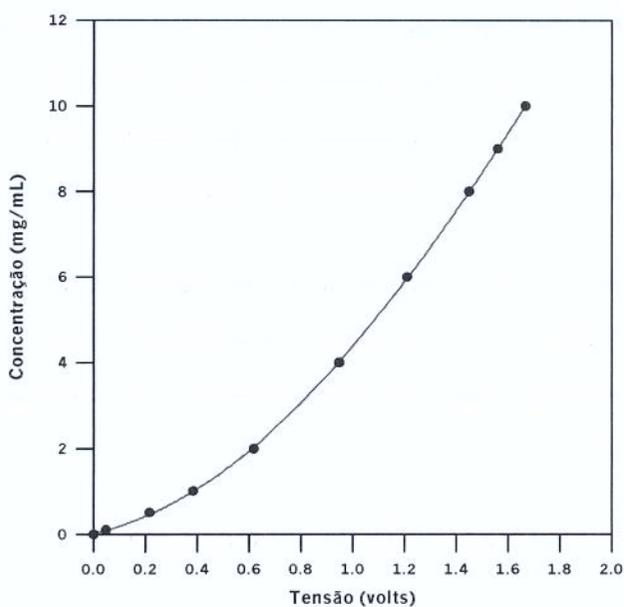


Figura 4.20: Calibração da Tensão (volts) fornecida pelo sistema UV/VIS em função da Concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Os dados foram ajustados aplicando um modelo polinomial de terceiro grau apresentado índice de correlação (R^2) igual a 0,999, resultando a Equação (4.1) que correlaciona a concentração (mg.mL^{-1}) em função do valor de tensão (volts) fornecido pelo analisador UV/VIS.

$$C = 0,0005 + 1,18724 * T + 3,58768 * T^2 - 0,424558 * T^3 \quad (4.1)$$

4.6. Isotermas Competitivas

A Figura 4.21 ilustra a série de curvas de rupturas seguidas da etapa de eluição, obtidas para diferentes valores de concentração do racemato *N*-Boc-baclofeno-lactama, empregando uma coluna semipreparativa de TDFC utilizada na unidade LMS. Todo o material eluído foi coletado e o seu volume determinado.

Amostras do material eluído foram analisadas com uma coluna cromatográfica analítica de modo a determinar a concentração de cada um dos enantiômeros, empregando a curva de calibração ilustrada na Figura 4.18.

Aplicando a Equação (3.11) obtemos o valor de q_i que é a concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama na fase sólida adsorvente. A Figura 4.22 ilustra a variação de q_i em equilíbrio com a concentração na fase de líquido para a *N*-Boc-baclofeno-lactama, representado a isoterma de adsorção para este sistema. O valor máximo de concentração empregado foi de 30 mg.mL^{-1} de racemato, o que representou 15 mg.mL^{-1} de cada um dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama. Ensaios com maiores valores de concentração não foram realizados, uma vez que a solução já se apresentava com uma viscosidade elevada podendo ocasionar a precipitação do soluto, inviabilizando sua aplicação na coluna empregada nos experimentos com o processo LMS.

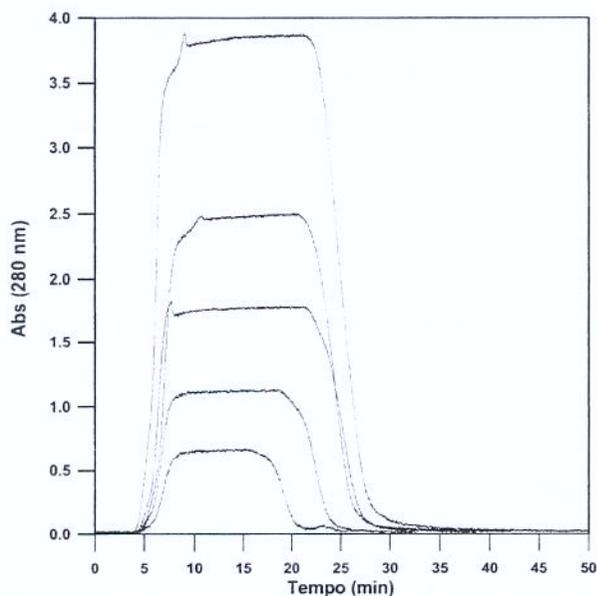


Figura 4.21: Curvas de rupturas seguidas da etapa de eluição para diferentes valores de concentração do racemato *N*-Boc-baclofeno-lactama, empregando uma coluna preparativa de TDFC existentes na unidade LMS.

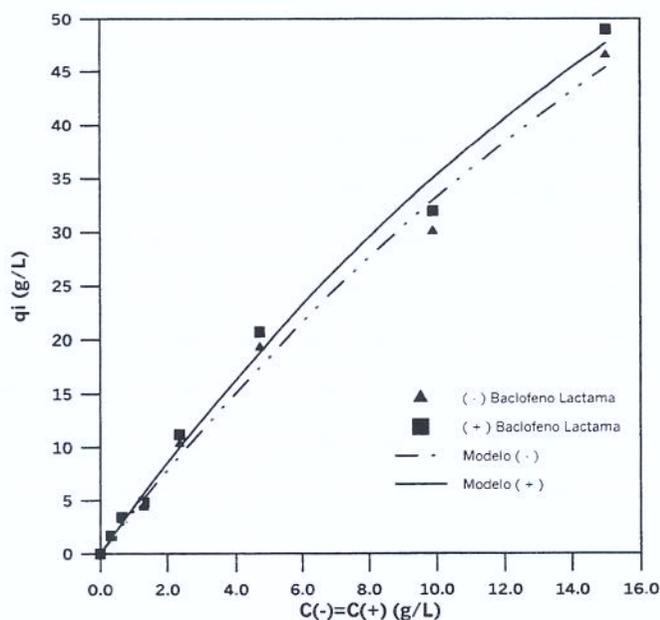


Figura 4.22: Isoterma de adsorção competitiva para a *N*-Boc-baclofeno-lactama (Baclofeno Lactama) empregando uma das colunas de TDFC (15 cm x 0,8 cm) empregadas na unidade LMS.

O modelo de Langmuir competitivo descrito na Equação 3.8 ajustou-se bem aos dados dos experimentos como pode ser observado na Figura 4.22 (linhas sólidas), utilizando software Statistica e aplicando um método de estimação não linear, para a obtenção dos parâmetros do modelo ilustrados na Tabela 4.3.

Analisando o gráfico da isoterma de adsorção observa-se que para valores de concentração da fase de líquido igual a $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ há um comportamento praticamente linear para ambos enantiômeros da *N*-Boc-baclofeno-lactama, o que representa uma concentração de 10 g.L^{-1} do racemato.

Tabela 4.3: Parâmetros do modelo Langmuir Competitivo, no ajuste dos experimentais dos enantiômeros da *N*-Boc-baclofeno-lactama.

Parâmetros do modelo	Enantiômero (-)	Enantiômero (+)
$q_s \text{ (g/L}_{fcq})$	341,67	321,48
$b_i \text{ (L/g)}$	0,0121	0,0141
R^2	0,992	0,994

4.7 – Determinação das condições operacionais do LMS com as colunas TDFC

Após a determinação da porosidade total das colunas semipreparativas de TDFC, calculou-se os parâmetros para que sejam projetadas as condições operacionais da unidade LMS. O primeiro parâmetro consiste na obtenção das constantes de Henry, descritos na seção 2.1 e 3.10. As constantes de Henry foram determinadas para ambos os enantiômeros (+) e (-) presentes na mistura racêmica do composto *N*-Boc-baclofeno-lactama, a partir dos seus respectivos tempos de retenção mostrados na Figura 4.11, obtidos nas oito colunas semipreparativas como mostra a Tabela 4.4. Nas injeções prévias com o sistema CLAE, sabe-se que o composto “(-)” apresenta menor interação pelo adsorvente TDFC e apresentando assim, menor tempo de residência que o composto (+).

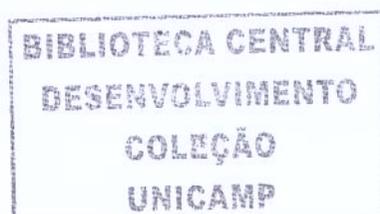


Tabela 4.4. Determinação das constantes de Henry dos isômeros “(+)” e “(-)” da *N*-Boc-baclofeno-lactama com fase móvel hexano/etanol (70/30 %v/v). Onde “(+)” e o isômero mais retido e “(-)” é o isômero menos retido.

COLUNA	T ₀ (min)	T ₍₋₎ (min)	T ₍₊₎ (min)	t _{vm} (min)	H ₍₋₎	H ₍₊₎	α *
01	4,133	13,250	16,550	0,133	4,454	6,066	1,362
02	4,067	11,700	14,300	0,133	3,772	5,057	1,341
03	4,167	13,670	17,130	0,133	4,889	6,669	1,364
04	4,100	12,850	15,830	0,133	4,374	5,863	1,340
05	4,000	13,560	16,800	0,133	4,577	6,129	1,339
06	4,200	11,867	14,367	0,133	4,008	5,315	1,326
07	4,067	11,867	14,367	0,133	3,854	5,090	1,321
08	4,000	11,866	14,600	0,133	3,798	5,118	1,348
Média	4,092	12,579	15,493	0,133	4,216	5,663	1,343
Desvio	0,058	0,754	1,085	0,000	0,358	0,518	0,015

* α é o fator de seletividade dado por H₍₊₎/H₍₋₎

De posse das constantes de Henry e da porosidade total pode-se projetar as condições operacionais da LMS, as vazões de alimentação de dessorvente e da solução de mistura racêmica, bem como, as vazões de retiradas de extrato, refinado e dessorvente saída e o cálculo do tempo de troca das posições das válvulas. Para isto foi necessário atender às restrições apresentadas pelas inequações 2.23 a 2.26, apresentadas na seção 2.1. Uma vez feito isto, foi possível construir o gráfico no plano m₂-m₃, como ilustra a Figura 4.23, onde na área do triângulo em azul no gráfico tem-se a região de completa separação para o extrato e para o refinado.

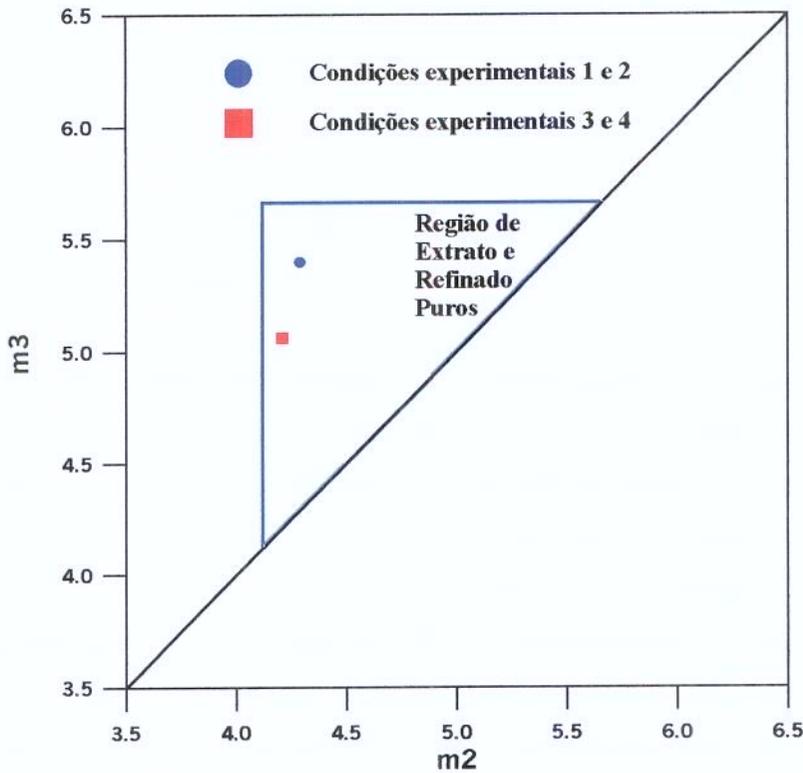


Figura 4.23: Região no plano (m_2 - m_3) que define a completa separação dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama em termos da pureza das correntes de saída, para um sistema descrito pela isoterma linear. Os valores médios das constantes de Henry, para os isômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama foram: $(H_{(+)})_{média} = 5,663$; $(H_{(-)})_{média} = 4,216$.

Uma vez obtido o gráfico do plano (m_2 - m_3), seleciona-se um ponto dentro da área do triângulo onde se tem a região de completa separação para o extrato e refinado, para a determinação dos parâmetros operacionais da unidade LMS. A partir destes valores, determinam-se todos os parâmetros operacionais, seguindo o procedimento descrito seção 3.10. Para *N*-Boc-baclofeno-lactama um primeiro ponto escolhido foi o “azul”, em destaque dentro do triângulo na Figura 4.23. Este ponto apresenta as coordenadas 5,140 e 4,565 para m_3 e m_2 , respectivamente. Com estes valores, todos os demais parâmetros operacionais foram determinados. Para facilitar o cálculo matemático destes parâmetros uma planilha eletrônica foi desenvolvida seguindo o procedimento descrito na seção 3.10.

Assim para uma alimentação de $0,1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ de solução de mistura racêmica com concentração de $3,0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, gerou as seguintes condições de operação da unidade LMS:

$$\begin{aligned}D_{\text{ent}} &= 0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1} \\A_I &= 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1} \\E_x &= 0,215 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1} \\R_{\text{af}} &= 0,285 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1} \\D_S &= 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1} \\t^* &= 25,00 \text{ min.}\end{aligned}$$

Esses valores orientaram a primeira corrida no LMS empregando o *N*-Boc-baclofeno-lactama com programação de 24 horas (1440 min), o que gerou mais de sete ciclos, cada um de 200 minutos, com tempo de troca de 25 minutos. O tempo total de 24 horas foi estipulado visando atingir o estado estacionário do processo.

Para a completa análise da corrida o experimento foi realizado em duplicata, isto por que somente uma das correntes pode ser analisada, uma vez que a unidade dispõe somente de um sistema de análise. As Figuras 4.24 e 4.25 mostram respectivamente os perfis de concentração da *N*-Boc-baclofeno-lactama conseguido para as correntes de refinado e extrato, obtido no sistema UV existente na unidade LMS.

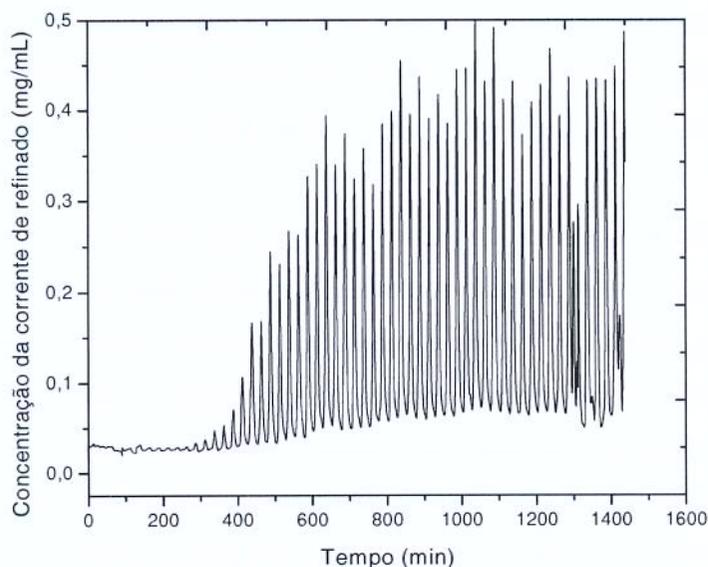


Figura 4.24: Evolução do perfil de concentração da corrente de refinado, obtido através do monitoramento sistema UV a 280 nm, visando à obtenção do isômero “(-)” que apresenta menor interação com a fase estacionária TDFC.

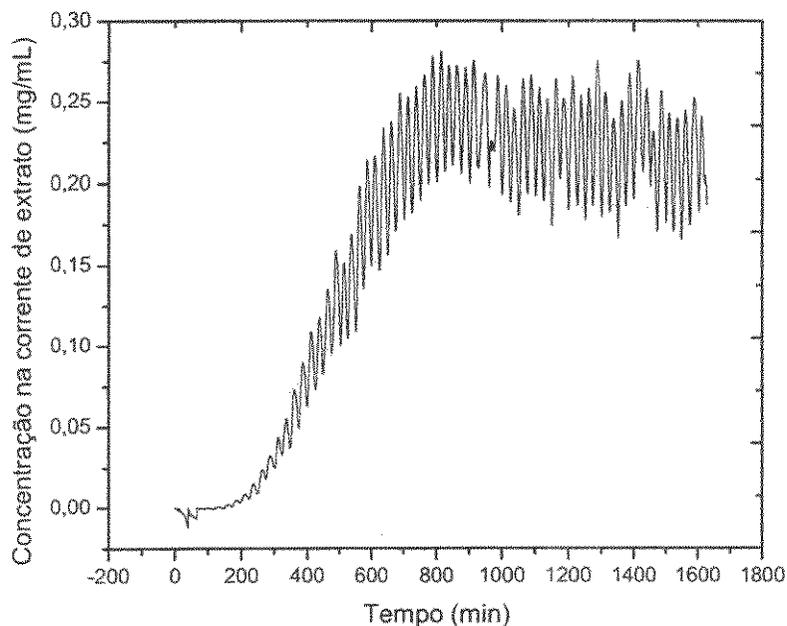


Figura 4.25: Evolução do perfil de concentração da corrente no extrato obtido através do monitoramento sistema UV a 280 nm, visando à obtenção do isômero “(+)” que apresenta maior interação com a fase estacionária TDFC.

Analisando as Figuras 4.24 e 4.25 observa-se que a condição de estado estacionário é atingida após o sexto ciclo (900 min). O comportamento oscilatório apresentado é semelhante ao obtido por PEDEFERRI et al (1999), isto se deve à dinâmica das correntes de extrato e refinado não serem constantes devido às frequentes trocas de posições.

Nas Figuras 4.26 e 4.27, tem-se respectivamente os perfis obtidos com o analisador polarimétrico, empregado para o monitoramento do desvio óptico de cada uma das correntes de refinado e extrato.

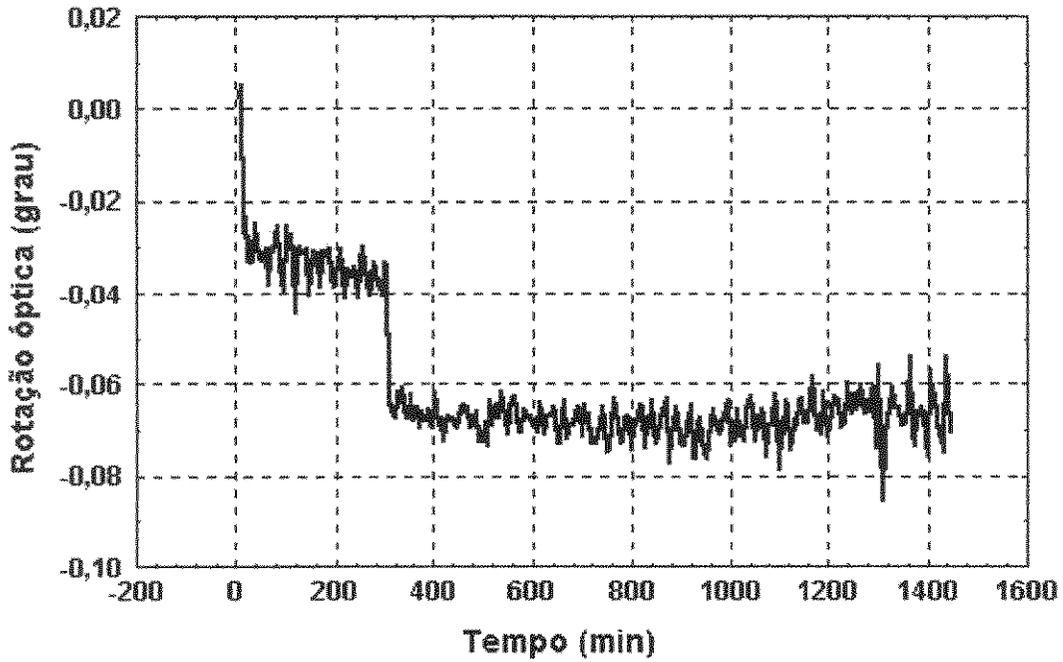


Figura 4.26: Perfil da corrente de refinado obtido através do polarímetro.

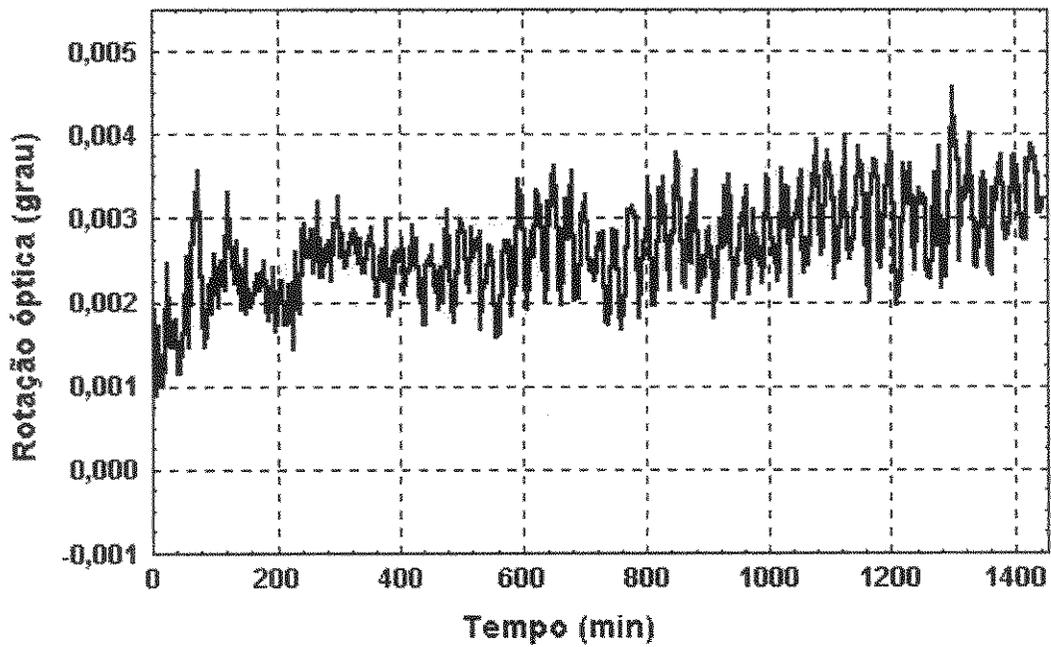


Figura 4.27: Perfil da corrente de extrato obtido através do polarímetro.

Na Figura 4.26 obtida com o polarímetro, observa-se que o comportamento da corrente de refinado teve uma queda acentuada para valores negativos, comportamento esperado uma vez que o composto (-) deve ser predominante nesta corrente resultando em um desvio óptico negativo. O contrário ocorre com a corrente de extrato, que apresenta valores de desvio óptico positivos, conseqüente desta corrente estar rica no enantiômero (+).

Não foi possível obter uma quantificação dos enantiômeros, através do polarímetro, por este equipamento não apresentar sensibilidade para a faixa de concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama empregada nos estudos. Esta baixa sensibilidade apresentada é devida principalmente pelo fato do equipamento trabalhar somente com um comprimento de onda 560 nm. Apesar desta limitação este equipamento foi de extrema valia no acompanhamento da evolução das corridas com o LMS, servindo de indicativo da separação dos enantiômeros do racêmico empregado.

Para a quantificação dos enantiômeros das correntes de extrato e refinado, amostras de todos os ciclos foram coletadas e analisadas posteriormente, utilizando o sistema CLAE equipado com uma coluna analítica de TDFC. Nas Figuras 4.28 a 4.30 obtemos os cromatogramas obtidos para cada uma das correntes de saída da unidade LMS, extrato e refinado e também da corrente de dessorvente saída, nos sete ciclos. Esta análise foi realizada utilizando a coluna analítica de TDFC.

Da análise dos cromatogramas das Figuras 4.28 e 4.29, tem-se que os tempos de retenção para os isômeros da *N*-Boc-baclofeno-lactama são de 7,25 e 8,88 mim para os compostos (-) e (+) respectivamente.

Os dois primeiros ciclos nas correntes de extrato e refinado, não apresentam nenhum dos dois isômeros. A partir do (-), que apresentando terceiro ciclo observa-se, na Figura 4.28 que a corrente de refinado está enriquecida do composto uma pureza de 97% já no sétimo ciclo e na Figura 4.29, a corrente de extrato está rica no composto (+), apresentando uma pureza de 90% também no sétimo ciclo.

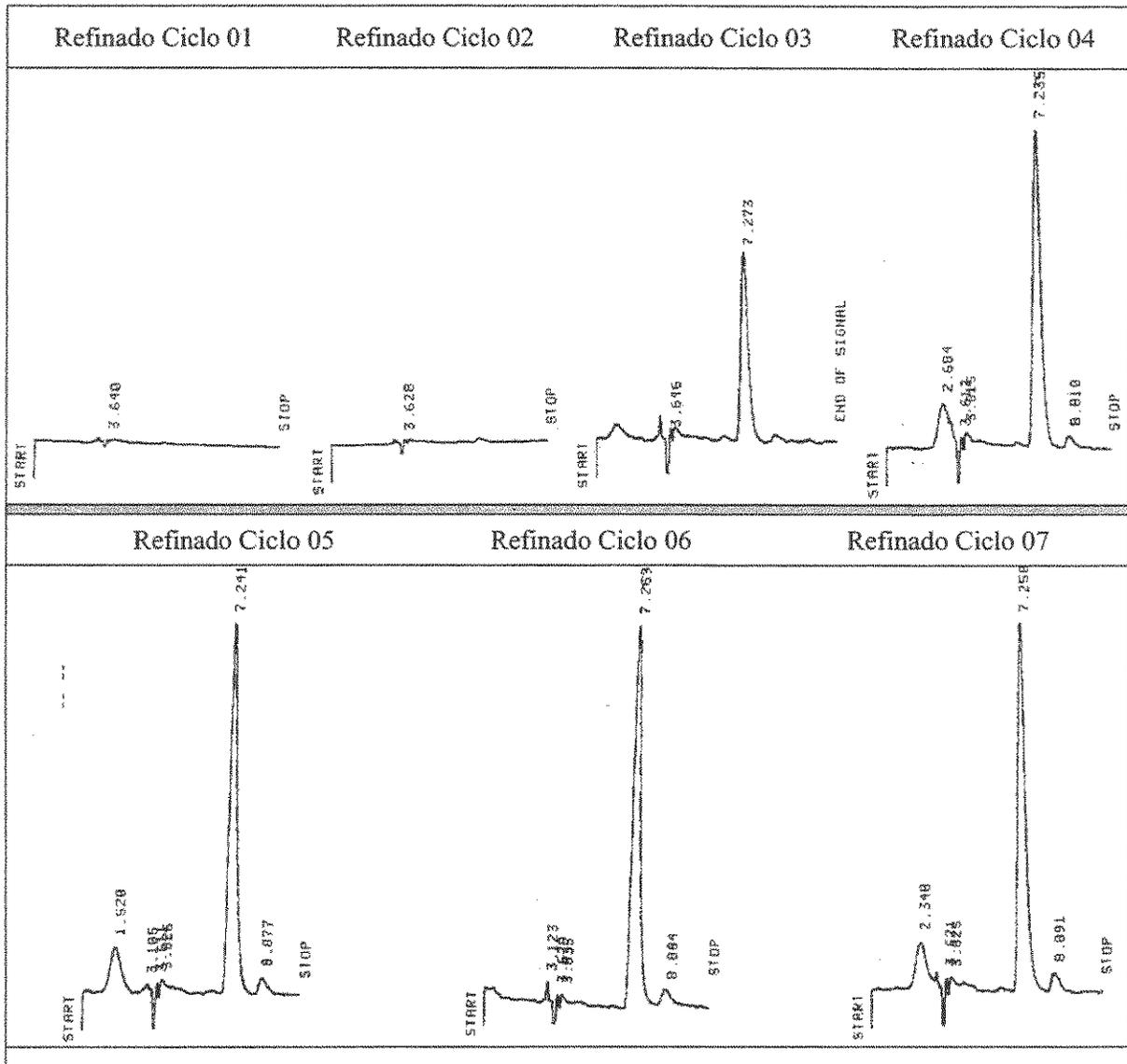


Figura 4.28: Cromatogramas resultantes da injeção de amostras de refinado, coletadas durante cada um dos sete ciclos da corrida experimental para a *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando um sistema CLAE e a coluna analítica de TDFC.

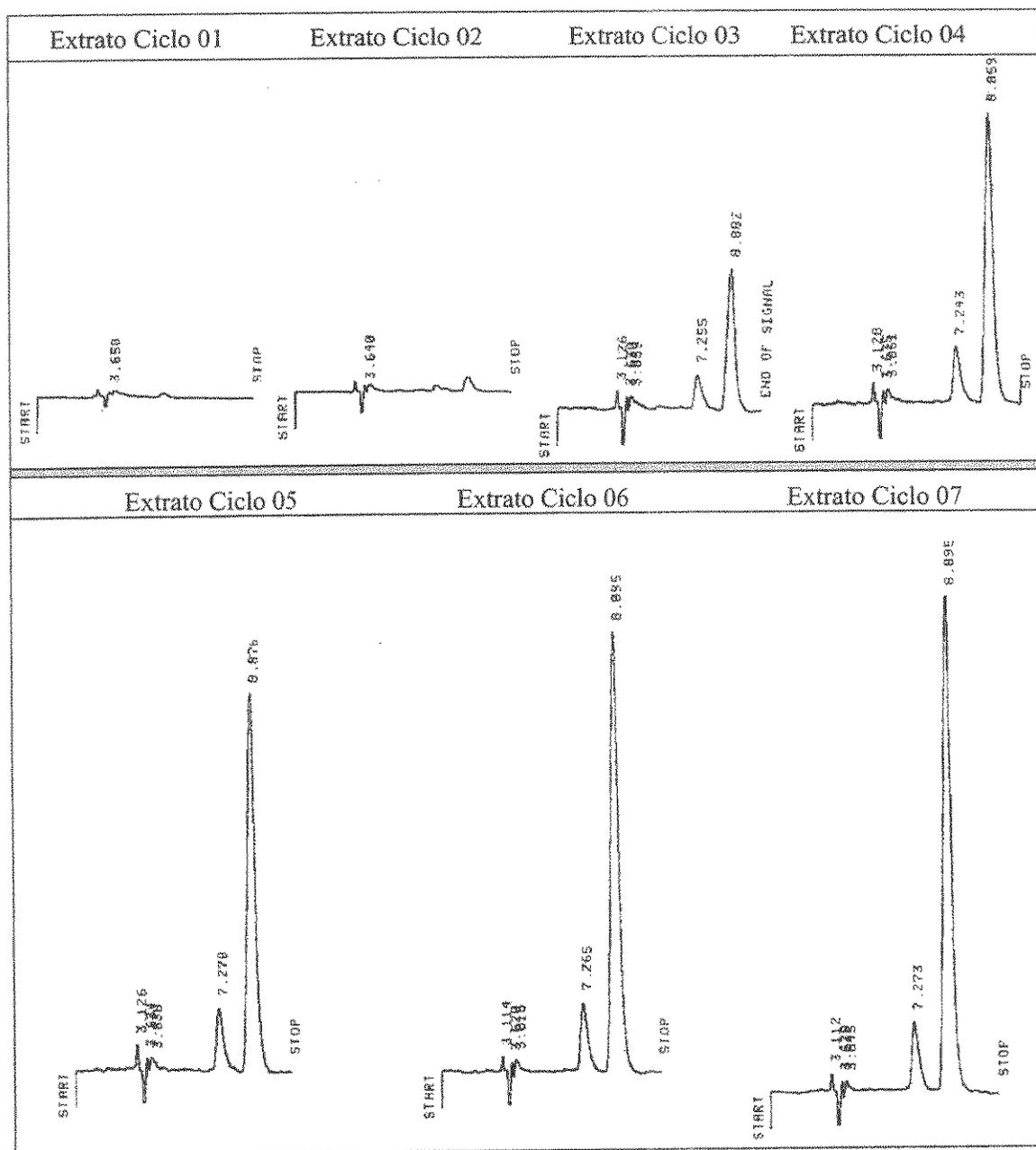


Figura 4.29: Cromatogramas resultantes da injeção de amostras de extrato, coletadas durante cada um dos sete ciclos da corrida experimental para a *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando um sistema CLAE e a coluna analítica de TDFC.

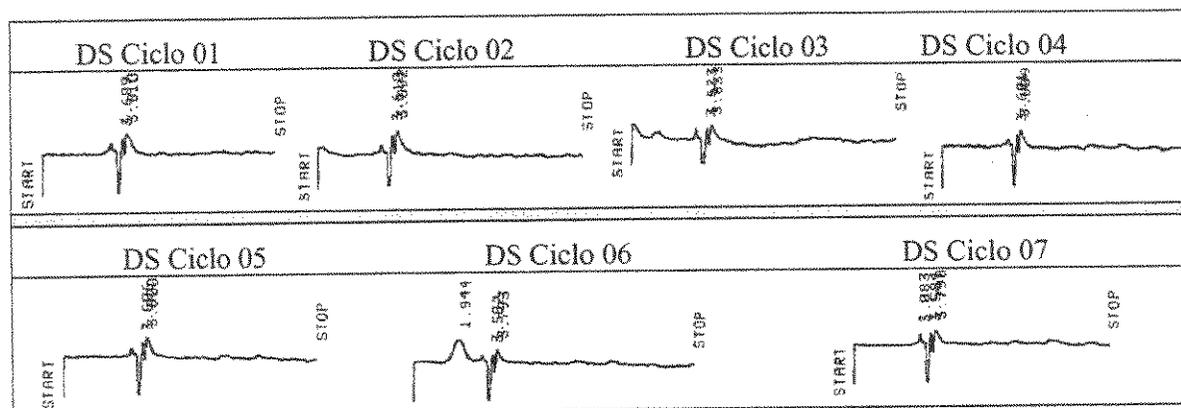


Figura 4.30: Cromatogramas resultantes da injeção de amostras do dessorvente saída (DS), coletadas durante cada um dos sete ciclos da corrida experimental para a *N*-Boc-baclofeno-lactama utilizando um sistema CLAE e a coluna analítica de TDFC.

Na Figura 4.30 os cromatogramas evidenciam que na corrente de dessorvente saída (DS), a fase móvel não apresenta nenhum dos isômeros, podendo assim, ser realimentada ao sistema.

Os resultados apresentados mostraram-se satisfatórios para a primeira corrida com a fase TDFC, obtendo bons índices quanto à pureza de cada uma das correntes. Na Tabela 4.5, são apresentados os valores de pureza e enriquecimento enantiomérico de todos os ciclos para as correntes de extrato e refinado.

Tabela 4.5: Pureza e enriquecimento enantiomérico das correntes extrato e refinado.

Ciclo	Corrente de Refinado		Corrente de Extrato	
	Pureza%	Excesso enantiomérico %	Pureza%	Excesso enantiomérico %
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	99,50*	99,50	86,34	72,67
4	99,50*	99,50	89,20	78,39
5	95,41	90,82	89,68	79,35
6	96,08	92,15	89,48	78,95
7	94,17	88,34	90,09	80,05

* Neste ciclo a análise em HPLC apresentou índices de pureza maiores que 99,50%

As purezas atingidas nas correntes foram bastante satisfatórias, principalmente para a corrente de refinado onde na condição do estado estacionário os valores de pureza da corrente chegaram a próximo de 96% de pureza enantiomérica.

Nas Figuras 4.31 e 4.32, são ilustrados os perfis de concentração para cada uma das correntes, extrato e refinado, em função do tempo de processo obtidos no sistema CLAE. Pode se observar que para ambas correntes o estado estacionário foi atingido. No gráfico da Figura 4.31 a corrente de refinado está rica no componente (-) sendo contaminada com pelo componente (+) e a na Figura 4.32 a corrente de extrato esta rica no componente (+) contaminada com o componente (-).

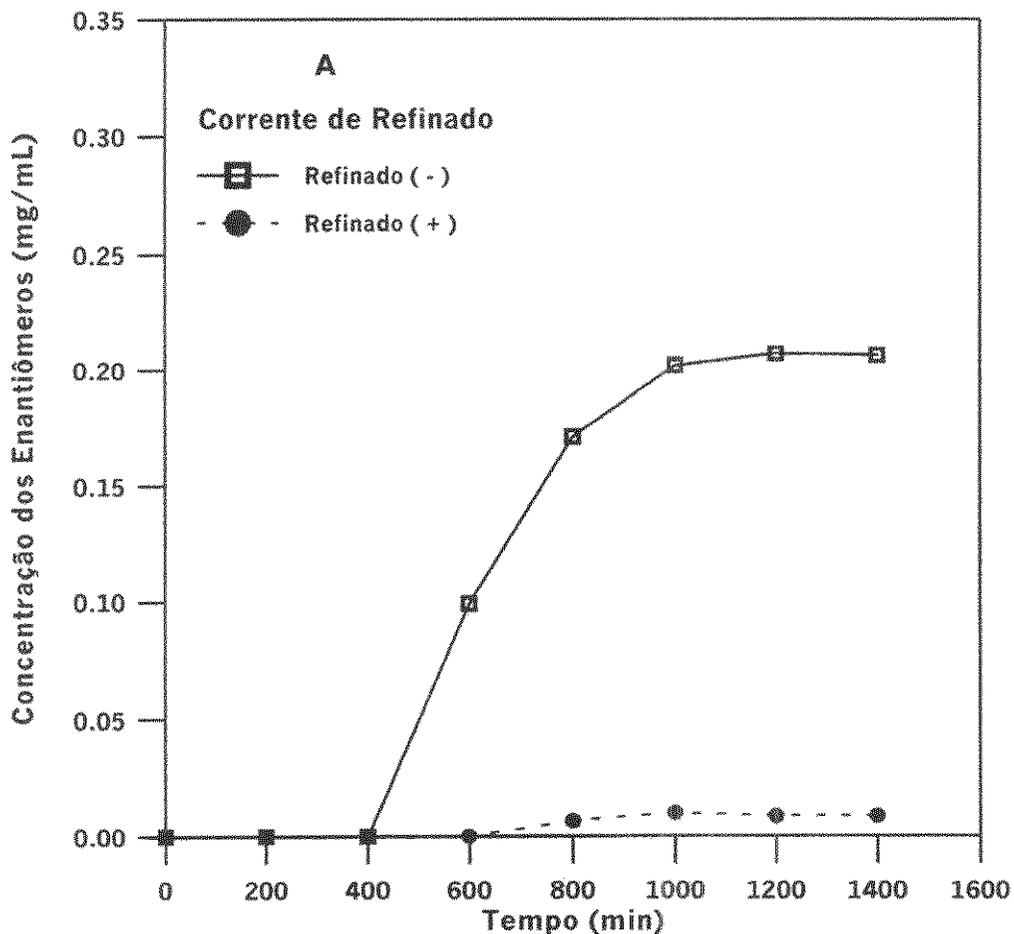


Figura 4.31: Perfil de Concentração da corrente de refinado obtido para a *N*-Boc-baclofenolactama no processo com a unidade LMS com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

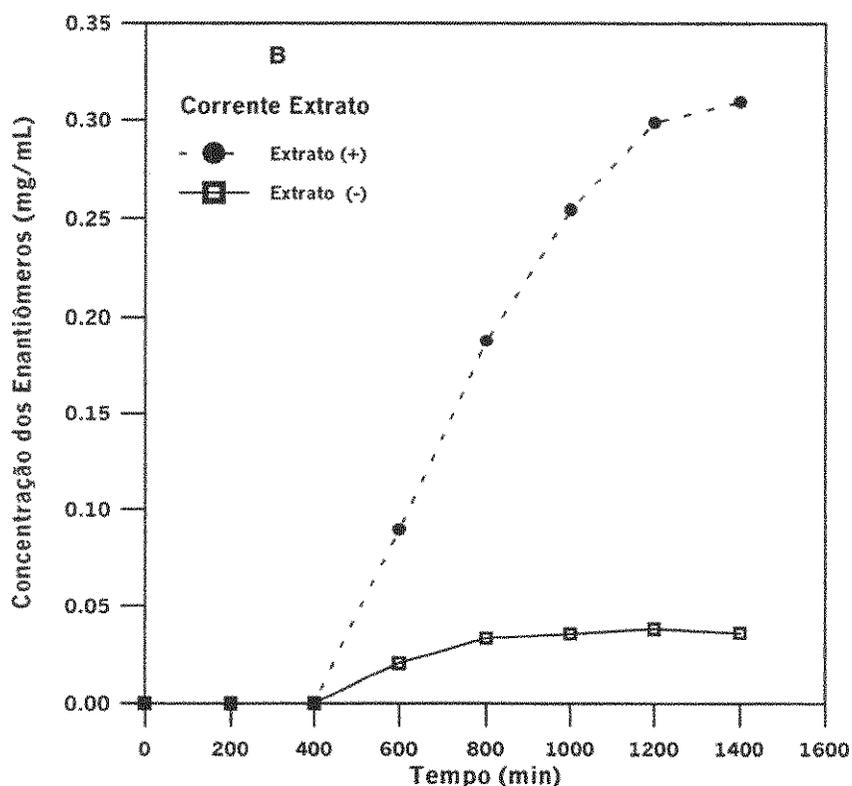


Figura 4.32: Perfil de Concentração da corrente de refinado obtido para a N-Boc-baclofenolactama no processo com a unidade LMS com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg.mL}^{-1}$.

As Figuras 4.33, 4.34 e 4.35, ilustram os perfis internos de concentração para a série de colunas da unidade LMS, obtidos no sétimo ciclo do processo quando se atinge o estado estacionário. As amostras foram coletadas nas proporções de 25, 50 e 75% de cada tempo de troca de posições, ou seja, para um t^* igual a 25 min, três amostras foram obtidas nos intervalos de 6,25; 12,50 e 18,75 min. Um maior número maior de amostras poderia ser coletado, no entanto optou-se por esta quantidade, contando que maior número de amostras poderia ocasionar uma perturbação no sistema de análise e também gerar um número muito grande de amostras para ser analisadas no sistema CLAE.

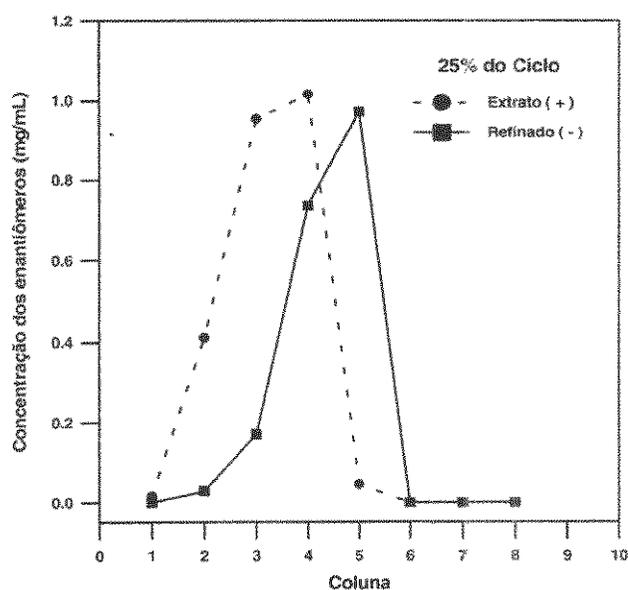


Figura 4.33: Perfis de concentrações na série de colunas do LMS, para amostras coletadas em tempos de 25% de cada período, na corrida com o *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo LMS e com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

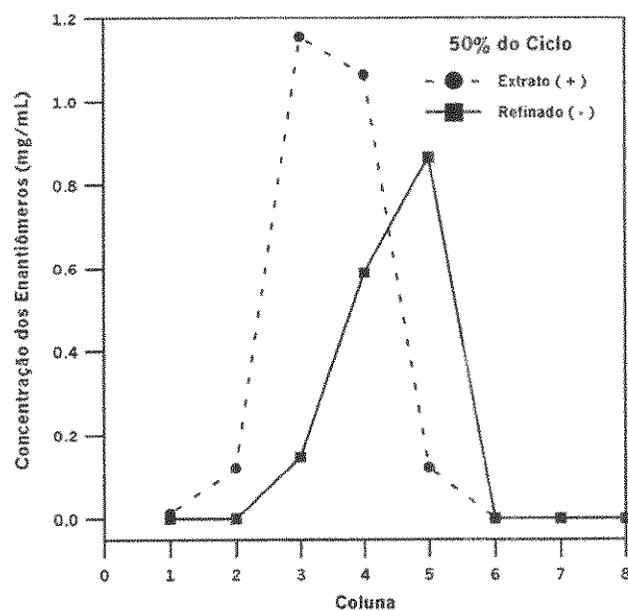


Figura 4.34: Perfis de concentrações na série de colunas do LMS, para amostras coletadas em tempos de 50% de cada período, na corrida com o *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo LMS e com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

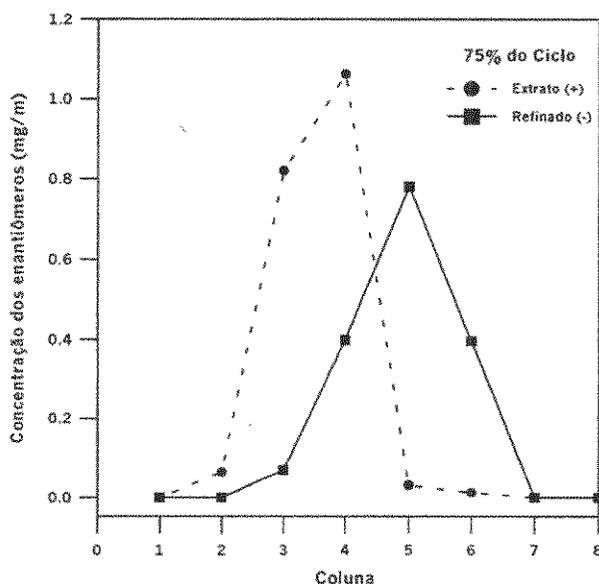


Figura 4.35: Perfis de concentrações na série de colunas do LMS, para amostras coletadas em tempos de 75% de cada período, na corrida com o *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo LMS e com concentração do racemato na corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Da análise do perfil interno para as colunas observa-se que há uma coerência entre os resultados obtidos e a teoria, com relação às posições de retirada de produtos e alimentação da unidade LMS, onde na coluna 1 tem-se a entrada de dessorvente, entre as colunas 2 e 3 tem-se a retirada de extrato, entre as colunas 4 e 5 tem-se a entrada da alimentação, entre as colunas 6 e 7 tem-se a retirada de refinado e após a coluna 8 a saída do dessorvente. Para todos os perfis internos obtidos, a unidade apresentou um bom desempenho na separação dos isômeros da *N*-Boc-baclofeno-lactama.

Para as condições operacionais estimadas nesta primeira corrida, foram processados cerca de $9,31 \text{ g}$ de racêmico / [dia * kg de ads]. Este valor foi obtido operando a unidade nas condições de isotermas lineares.

Uma segunda condição foi planejada com a vazão da corrente de alimentação igual a $0,12 \text{ mL.min}^{-1}$, almejando um aumento na escala de produção. Na Figura 4.23 o ponto em vermelho com as coordenadas iguais a 5,362 e 4,379 para m_3 e m_2 respectivamente. As demais condições operacionais da unidade LMS foram obtidas como na primeira corrida e estão listadas abaixo:

$$\begin{aligned}
 D_{\text{ent}} &= 1,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}; \\
 Ex &= 0,31 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}; \\
 Ref &= 0,31 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}; \\
 D_S &= 0,60 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}; \\
 t^* &= 18,0 \text{ min}.
 \end{aligned}$$

Uma solução de mistura racêmica com concentração de $3,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ foi empregada na alimentação do sistema LMS. Esta corrida foi programada para mais de 48 horas (2880 min), o que gerou 20 ciclos, cada um com 144 minutos. O tempo de 48 horas foi estipulado visando atingir o estado estacionário do processo.

A Figura 4.35 mostra o perfil concentração da corrente de extrato e refinado obtido com este ensaio. Observa-se que o componente de interesse representado pelo enantiômero (+) apresenta-se com concentração superior ao outro enantiômero (-). A condição de estado estacionário é atingida e a pureza apresentada pelo componente (+) foi de 92,46% em relação ao enantiômero (-).

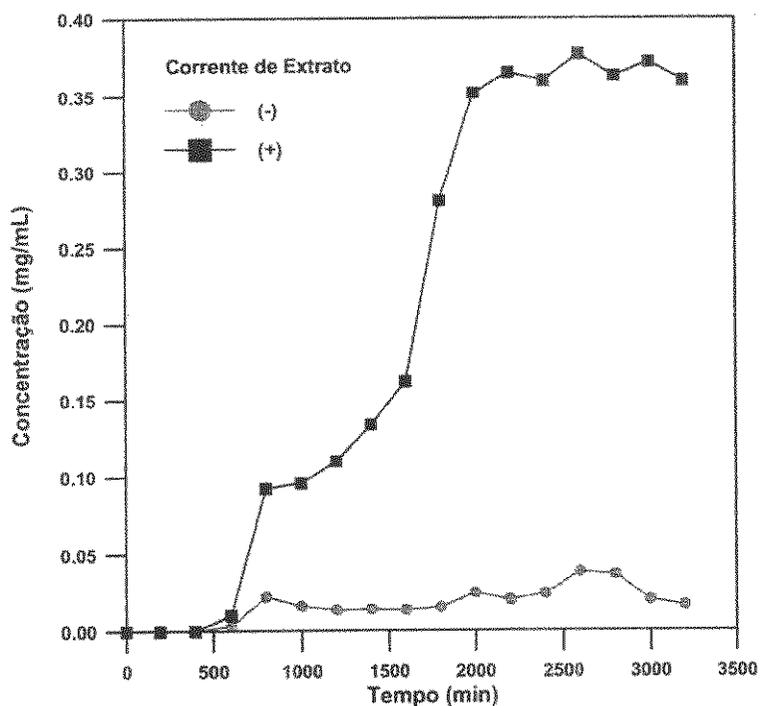


Figura 4.36: Perfil de concentração da corrente de extrato obtido para os enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Corrente rica no enantiômero (+).

Na corrente de refinado, Figura 4.37, o estado estacionário também é atingido. O enantiômero de interesse (-) apresenta-se aqui com pureza média de 94,85 % em relação ao enantiômero (+) quando atingiu o estado estacionário.

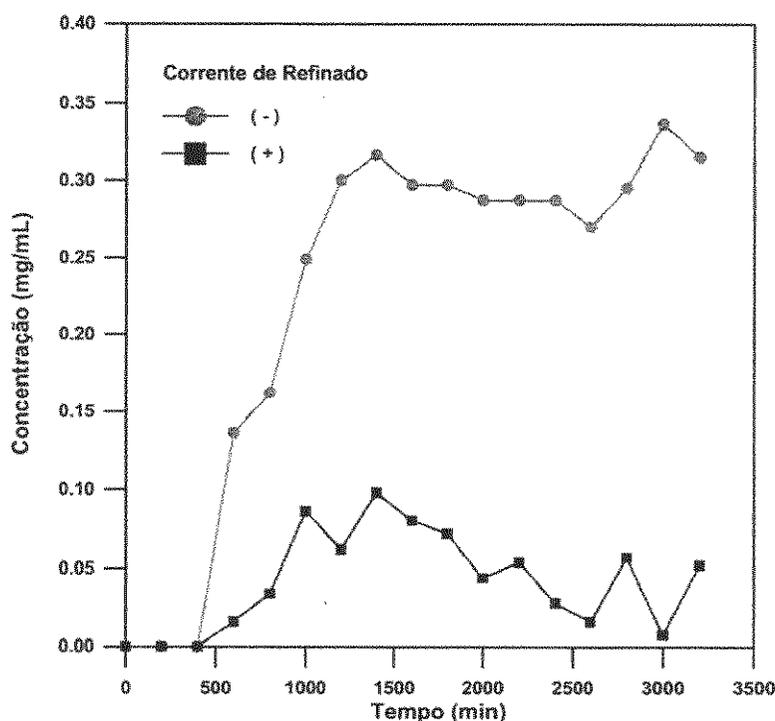


Figura 4.37: Perfil de concentração da corrente de refinado obtido para os enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a $3,0 \text{ mg.mL}^{-1}$. corrente rica no enantiômero (-).

Os valores de pureza apresentados por cada uma das correntes foram bastante satisfatórios. Valores de pureza acima de 90% são bons resultados em se tratando deste tipo de processo de produção onde os compostos foram submetidos a uma única etapa de purificação.

Outra corrida foi realizada nas mesmas condições com concentração igual a $2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$. As Figuras 4.38 e 4.39, ilustram os perfis de concentrações obtidos para as correntes de extrato e refinado. O tempo total da corrida foi de 2200 min, suficiente para atingir a condição de estado estacionário.

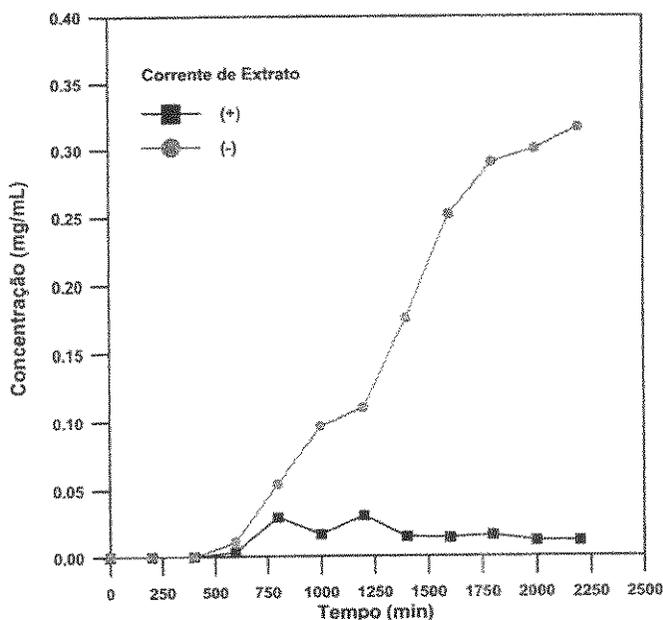


Figura 4.38: Perfil de concentração da corrente de extrato obtido para a molécula de *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a $2,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Corrente rica no enantiômero (+).

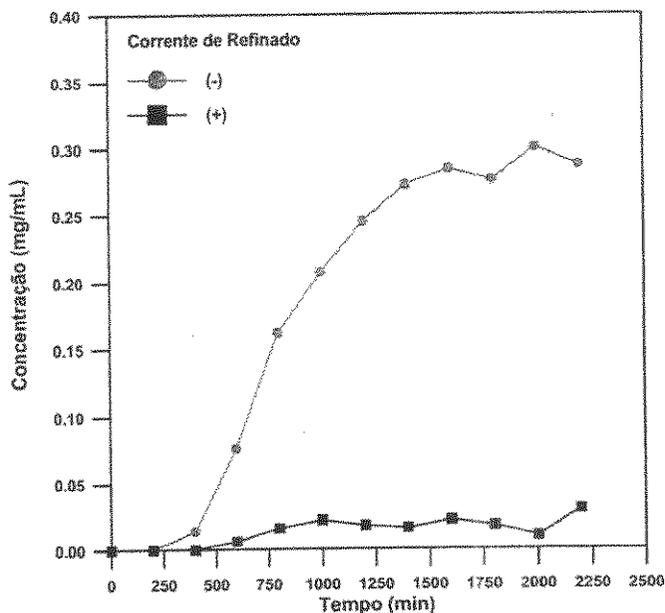


Figura 4.39: Perfil de concentração da corrente de refinado obtido para a molécula de *N*-Boc-baclofeno-lactama no processo com a unidade LMS com concentração da corrente de alimentação igual a $2,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Corrente rica no enantiômero (-).

Nos gráficos das Figuras 4.38 e 4.39, observa-se que a pureza das correntes de extrato e refinado, em seus respectivos compostos de interesse, se mantiveram elevadas. Era de se esperar que a pureza das correntes de extrato e refinado apresentassem melhorias em relação à segunda corrida, no entanto não houve alterações significativas nos valores de pureza.

A fim de complementar os dados até o momento, uma quarta corrida foi realizada com concentração de alimentação igual a $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$, empregando a primeira condição operacional gerada pelo ponto em “azul” na Figura 4.23. Nesta corrida os valores da pureza das correntes dos produtos foram comprometidos, principalmente para a corrente de extrato, como mostra no resumo das corridas listados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6: Resumo dos ensaios com a unidade LMS em diferentes condições operacionais, realizadas com o sistema *N*-Boc-baclofeno-lactama e TDFC.

Condição experimental	Vazões (mL/min)					C_F (mg/mL)	Tempo de troca (min)	Pureza	
	F	D_{Ent}	D_S	Ex	Ref			Ex	Ref
1	0,10	0,80	0,40	0,215	0,285	3,0	25	90,1	95,0
2	0,10	0,80	0,40	0,215	0,285	5,0	25	89,0	92,2
3	0,12	1,10	0,60	0,31	0,31	3,0	18	92,46	94,85
4	0,12	1,10	0,60	0,31	0,31	2,0	18	93,34	94,84

Na Tabela 4.6 observa-se que o ensaio com $5,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ houve uma redução nos valores de pureza das correntes, sendo que o produto de interesse que sai na corrente de extrato apresentou pureza de 89% e o que sai na corrente de refinado com pureza de 92,2%, evidenciando que o aumento na concentração de racêmico na corrente da alimentação ocasiona uma menor pureza dos produtos. Este fato também foi observado em outros compostos racêmicos processados.

A pureza enantiomérica é um parâmetro amplamente utilizado na literatura referente à separação de quirais, o qual apresenta uma peculiaridade que pode fazer com que o mesmo transmita uma falsa impressão do desempenho do processo. Por sua definição, a pureza

enantiomérica só pode variar dentro da faixa de 50 a 100%, sendo que o limite inferior corresponde à mistura racêmica, e o superior correspondente ao enantiômero puro.

Para superar esta confusão de interpretação se faz uso de um outro parâmetro conhecido como excesso enantiomérico (ee), que no caso do sistema cetamina – MCTA, é dado pelas Equações (4.2) e (4.3) para as correntes de extrato e refinado, respectivamente:

$$ee_{Ex} = \frac{100 \cdot [(c_R)_{Ex} - (c_S)_{Ex}]}{(c_R)_{Ex} + (c_S)_{Ex}} \quad (4.2)$$

$$ee_{Ref} = \frac{100 \cdot [(c_S)_{Ref} - (c_R)_{Ref}]}{(c_R)_{Ref} + (c_S)_{Ref}} \quad (4.3)$$

O excesso enantiomérico varia de 0 a 100%, limites correspondentes à mistura racêmica e ao enantiômero puro, respectivamente. Este parâmetro é capaz de evidenciar com maior clareza possíveis deficiências no desempenho de um processo de separação enantiomérica.

O conjunto dos valores de pureza e excesso enantiomérico obtidos com as corridas experimentais nas diferentes condições experimentais são mostrados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Pureza e excesso enantiomérico obtidos nas diferentes corridas experimentais realizadas com a unidade LMS.

Condição experimental	Pureza enantiomérica (%)		Excesso enantiomérico (%)	
	Extrato	Refinado	Extrato	Refinado
1	90,10	95,00	80,20	90,00
2	89,00	92,20	78,00	84,40
3	92,46	94,85	87,92	89,70
4	94,84	94,84	89,68	89,68

Nos ensaios com a unidade LMS, a maior concentração da mistura racêmica aplicada na alimentação foi de 5,0 mg.mL⁻¹. Para maiores valores houve um comprometimento das

purezas das correntes. Esta concentração de *N*-Boc-baclofeno-lactama com uma vazão de alimentação igual a $1,12 \text{ mg.mL}^{-1}$ chega a atingir produtividade de $15 \text{ g de racêmico / [dia} \cdot \text{kg de ads]}$.

O consumo total de dessorvente por quantidade de racêmico processada (CD_{Dess}) é outro parâmetro de importância que permite fornecer uma estimativa da economia de dessorvente ao se optar pelo processo LMS em comparação ao processo descontínuo de separação CLAE, na mesma escala. O cálculo deste parâmetro abrange também o solvente usado para solubilizar o racêmico, que consiste em hexano/ etanol (70:30 %_{v/v}), sendo dado por:

$$CD_{\text{Dess}} = \frac{(D_{\text{Ent}} + F - D_{\text{Saida}})}{F \cdot (C_T)_F} \quad (4.4)$$

Na Equação (4.4), D_{Ent} é a quantidade de dessorvente que entra na unidade LMS, F é a vazão de alimentação da mistura racêmica e $(C_T)_F$ é a concentração total da alimentação. A subtração de D_{Saida} no numerador foi feita considerando-se que a análise desta corrente indicou a ausência dos enantiômeros, podendo a mesma ser reciclada para o mesmo frasco que alimenta a corrente de entrada de dessorvente.

A produtividade (Prod) do processo LMS é dada pela taxa de racêmico processada por quantidade total de fase estacionária utilizada, neste caso são 6 g por coluna resultando em um total de 48 g de fase estacionária nas 8 colunas, podendo esta última ser dada em massa ou em volume. No primeiro caso, o cálculo é feito dividindo-se o processamento de racêmico (Proc-rac), dado em g/dia, pela massa total de fase estacionária em quilogramas, e no segundo caso, dividindo-se o processamento pelo volume total de fase estacionária em litros.

O cálculo do processamento de racêmico é simples, bastando multiplicar a concentração pela vazão da alimentação, ambos em unidades coerentes. A quantidade total de fase estacionária utilizada, quando em massa, requer o peso do adsorvente que preenche as colunas, e quando em volume, requer o conhecimento da porosidade intersticial do leito e das dimensões da coluna. No primeiro caso, na etapa de empacotamento das colunas, retirou-se a

fase estacionária de uma delas, que foi secada e pesada, fornecendo um valor de $m_C^{FE} = 6,0$ g. No segundo caso, a porosidade do leito foi calculada através de:

$$\varepsilon = \frac{(\varepsilon^* - \varepsilon_p)}{(1 - \varepsilon_p)} \quad (4.5)$$

Sendo $\varepsilon^* = 0,665$ (média das 8 colunas) e $\varepsilon = 0,39$.

A produtividade do processo, por massa e por volume de fase estacionária, é calculada pelas Equações (4.6) e (4.7), respectivamente:

$$(Prod)_{\text{por massa de FE}} = \frac{(Proc - rac)}{(8.m_C^{FE})} \quad (4.6)$$

$$(Prod)_{\text{por volume de FE}} = \frac{(Proc - rac)}{[8.V.(1 - \varepsilon)]} \quad (4.7)$$

Na Tabela 4.8 são apresentados os parâmetros consumo total de dessorvente, taxa de alimentação de racêmico e a produtividade por massa, obtidos nos três últimos ensaios.

Tabela 4.8: Consumo total de dessorvente, taxa de alimentação de racêmico e a produtividade por massa, obtidos nos três últimos ensaios.

<i>Condição</i>	<i>CD_{ess} (L/g de rac.)</i>	<i>Proc-rac (g de rac./dia)</i>	<i>(Prod)_{por massa de FE} (g de rac./[dia . kg de FE])</i>
1	1,67	0,43	9,31
2	1,00	0,72	15,00
3	1,72	0,52	10,83
4	1,72	0,35	7,30

A condição 1 pode ser considerada a melhor dentre as 4 condições testadas, por apresentar valores de produtividade e de consumo de dessorvente intermediários às demais condições estudadas e com bons valores de pureza enantiomérica em cada uma das correntes de extrato e refinado.

A observação da Tabela 4.8 sugere que para o sistema desenvolvido com as colunas de TDFC e o sistema LMS, altos valores de pureza enantiomérica só podem vir acompanhados de baixa produtividade e alto consumo de dessorvente. Por outro lado, no presente trabalho a elevação da produtividade para valores acima de 15 g de rac./ (dia . kg de FE) levou a valores insuficientes de pureza (abaixo de 80%) onde a concentração da corrente de alimentação foi de 5,0 mg.mL⁻¹ (condição 2) comprometendo a pureza das correntes de extrato e refinado, operando o sistema em condições de isotermas lineares.

Ainda na Tabela 4.8 observa-se que, quanto maior a taxa de alimentação de racêmico, menor o consumo de dessorvente, dado em litros por grama de racêmico processado. Os testes realizados pelo sistema CLAE indicaram a ausência de quantidades significativas dos enantiômeros na corrente de saída de dessorvente nas corridas efetuadas sob todas as condições experimentais, o que permitiu que se subtraísse a vazão desta corrente no numerador da Equação (4.4), tornando efetiva uma das vantagens do processo LMS quando comparado a CLAE em escala preparativa que é a economia de fase móvel.

CAPÍTULO 5

5- CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A utilização da unidade experimental do leito móvel simulado permitiu obter com sucesso dados para a separação enantiomérica do *N*-Boc-baclofeno-lactama, obtendo purezas enantioméricas de 95 % para o (-)-*N*-Boc-baclofeno-lactama e até 93 % para o (+)-*N*-Boc-baclofeno-lactama, respectivamente, nas correntes de refinado e extrato.

A aplicação das isotermas lineares, no método da teoria do equilíbrio para o projeto das condições operacionais do LMS foi eficiente para a determinação das condições operacionais e conduziram a um bom desempenho de separação. Para as condições operacionais utilizadas foi possível uma produtividade de 15 g de racêmico / [dia * kg de ads].

A fase estacionária tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de celulose adsorvida em sílica, se apresentou muito eficiente na resolução das moléculas racêmicas empregadas, principalmente a do *N*-Boc-baclofeno-lactama, tanto em escala analítica quanto na semipreparativa, operando em batelada com o sistema CLAE e com o sistema LMS. O tempo empregado para adquirir o conhecimento no desenvolvimento das colunas da unidade LMS foi muito compensador e valioso para o desenvolvimento deste trabalho, uma vez que propicia ao grupo de pesquisa uma maior independência quanto a aquisição de colunas cromatográficas.

O conjunto das 8 colunas desenvolvidas para a unidade LMS, quando instaladas, apresentaram queda de pressão elevada, o que impossibilitou o emprego de vazões maiores nas correntes de alimentação, limitando assim alcançar maiores valores de produtividade com a unidade. Assim sendo para o desenvolvimento de novas colunas para o LMS, deve-se tomar o cuidado para a aquisição de colunas com diâmetro interno superior a 1,0 cm e na aquisição de sílica com diâmetro entre 10 a 20 μm , para que na produção das colunas estas apresentem-se com quedas de pressão individual abaixo de 25 atm.

O sistema de análise existente no LMS revelou-se apto para as análises das correntes de extrato e refinado, desde que se trabalhe compostos com boa sensibilidade para o comprimento de onda no qual opera o polarímetro. Quanto ao sistema UV/Vis este se apresentou muito adequado na determinação das concentrações das correntes.

A unidade LMS apresenta-se com dificuldades no controle das vazões de saída, quando operando com pressões acima de 150 atm. A manutenção das vazões num nível constante, principalmente das correntes de extrato e de refinado é um aspecto operacional importante da unidade LMS.

Como sugestões para trabalhos futuros, tem-se:

1. A medição de isothermas competitivas não-lineares dos enantiômeros do *N*-Boc-baclofeno-lactama que representem corretamente a adsorção dos mesmos com a fase estacionária quiral TDFC até concentrações de pelo menos 30 g/L de racêmico, e a aplicação das equações ao projeto das condições operacionais do LMS;
2. Realizar um estudo da influência da temperatura na adsorção do *N*-Boc-baclofeno-lactama na fase estacionária quiral TDFC, visando um aumento da sua produtividade;
3. Equipar a unidade LMS com sistema de controle de temperatura, por exemplo, encamisando as colunas cromatográficas.
4. Modelagem matemática do LMS para prever o comportamento da unidade na obtenção de enantiômeros.

CAPÍTULO 6

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLINGER, N.L. – “QUÍMICA ORGÂNICA”. 2ª Edição. *Guanabara Dois*, Rio de Janeiro, 88-97, (1978).
- BARKER, P.E. E ABUSABAH, E.K.E., “The Separation of Synthetic Mixtures of Glucose and Fructose and also Inverted Sucrose Feedstocks Using Countercurrent Chromatographic Techniques”. *Chromatographia*, 20, 1, 9-12, (1985).
- BERG, C.. “Hypersorption Process for separation of Light Gases”. *Trans. AICHE*, 42, 665-680, (1946).
- BROUGHTON, D.B.; GERHOLD, C.G.. “Continuous Sorption Process Employing Fixed Beds of Sorbent Moving Inlets and Outlets”. *U.S.Pat.*, 2,985,589 (1961).
- CASS, Q.B. & DEGANI, A.L.G. – “Desenvolvimento de métodos por HPLC, fundamentos, estratégias e validação”. *Editores da UFSCar*. UFSCar – SP. (2001).
- CASS, Q.B.; BASSI, A.L.; MATLIN, S.A. – “Chiral discrimination by HPLC on aryl carbamate derivatives of chitin coated onto microporous aminopropyl silica”. *Chirality*. 8 (1), 131-135, (1996).
- CASS, Q.B.; FREITAS, L.G; FORESTI, E.; DAMIANOVIC, MHRZ. – “Development of HPLC method for the analysis of chlorophenols in samples from anaerobic reactors for wastewater treatment”. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 23 (7), 1089-1097, (2000).

- CASS, Q.B; TIRITAN, M.E.; BASSI, A.L.; CALAFATTI, S.A; DEGANI, A.L.G. – “Polysaccharide carbamate as chiral stationary phases for HPLC: Development, applications and perspectives”. *QUIMICA NOVA*. 20 (1), 49-57, Jan-Feb, (1997).
- CAVALCANTE JR, C.L. – “Separação de misturas por adsorção”. Fortaleza-CE, Brasil. *Tese – Prof. Titular*. UFC. (1998).
- CAVAZZINI, A., FELINGER, A., KACZMARSKI, K., SZABELSKI, P., GUIOCHON, G. – “Study of the adsorption equilibria of the enantiomers of 1-phenyl-1-propanol on cellulose tribenzoate using microbore column”. *Journal of Chromatography A*, 953, pp. 55-66. 2002.
- CHARTON, F. & NICOUD, R. M. – “Complete design of a simulated moving bed”. *J. Chromatogr. A*, 702, 97 – 112, (1995).
- CHENEVERT, R.; DESJARDINS, M. – “Chemoenzymatic enantioselective synthesis of baclofen”. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne de Chimie*. 72 (11), 2312-2317, Nov, (1994).
- CHING, C. B.; LIM, B. G.; LEE, E. J. D.; NG, S. C. – “Preparative resolution of praziquantel enantiomers by simulated counter-current chromatography. *J. Chromatogr.*, 634, 215 – 219, (1993).
- CHING – JOE, I. – “Process development of enantioselective 3-oxo-ester reductions by baker’s yeast”. Delft, The Netherlands. *Tese - Doutorado. Delft University of Technology*, (2002).
- FELINGER, A., ZHOU, D., GUIOCHON, G. – “Determination of the single component and competitive adsorption isotherms of the 1-indanol enantiomers by the inverse method”. *Journal of Chromatography A*, 1005, pp. 35-49. 2003.
- FRANCOTTE, E.R. – “Enantioselective chromatography as a powerful alternative for the preparation of drug enantiomers”. *Journal of Chromatography A*. 906 (1-2), 379-397, Jan 12, (2001).
- FURLAN, L.T., CHAVES, B.C., E SANTANA, C.C. - “Separation of Liquid Mixtures of p-Xylene and o-ylenes in X-zeolites” *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 31 (7), 1780-1784, (1992).

- GANESTSOS, C. & BARKER, P.E.. "Preparative and Production Scale Chromatography". *Marcel Dekker, Inc., New York.* (1993).
- GUIOCHON, G. & LIN, B.-"Modeling for preparative chromatography". *Academic Press, San Diego, California.* 2003.
- GUIOCHON, G., SHIRAZI, S. G., KATTI, A. M. –"Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography". *Academic Press, Boston, MA,* pp. 81-83. 1994.
- HAGINAKA, J. – "Pharmaceutical and biomedical applications of enantioseparations using liquid chromatographic techniques". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 27,* 357 – 372, 2002.
- JACOBSON, J., FRENZ, J., HORVÁTH, C. –"Measurement of adsorption isotherms by liquid chromatography". *Journal of Chromatography, 316,* pp. 53-68. 1984.
- JAMES, E.A. –"The application of multicomponent adsorption theory to an ion-exchange chromatography system for recovery of whey proteins". *PhD Thesis, The University of Queensland.* Brisbane, Australia. 1994.
- JUZA, M.; MAZZOTTI, M.; MORBIDELLI, M. - "Simulated moving bed and its application to chirotechnology". *Trends in Biotechnol., 18,* 108 - 118, (2000).
- KOLLER, H.; RIMBOCK, K. H.; MANNSCHRECK, A. – "High pressure liquid chromatography on triacetylcellulose. Characterization of a sorbent for the separation of enantiomers". *J. Chromatogr., 282,* 89 – 94, (1983).
- KUNII E LEVENSPIEL - "Fluidization Engineering", ed. John Wiley, (1962).
- LERCH, R. G. & RATKOWSKI, D. A. – "Optimal allocation of adsorbent in stagewise adsorption operations". *Ind. Eng. Chem. Fundam., 6,* 308 – 310, (1967).
- LOUGH, W.J. – "Chiral liquid chromatography". *Blackie and Son Ltd., Glasgow,* (1989).
- MAIER, N.; FRANCO, P.; LINDER, W. – "Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives". *J. Chromatogr. A, 906,* 3 – 33, 2001.

- MAZZOTTI, M.; PEDEFERRI, M. P.; MORBIDELLI, M. – “Design of optimal and robust operating conditions for chiral separations using simulated moving beds”. In: *Proceedings of the Chiral Europe, 96 Symposium*, Spring Innovations Limited, Stockport, UK, P. 103 – 112, (1996).
- MAZZOTTI, M.; STORTI, G.; MORBIDELLI, M. - "Optimal operation of simulated moving beds for nonlinear chromatographic separations". *J. Chromatogr. A*, 769, 3 - 24, (1997-a).
- MAZZOTTI, M.; STORTI, G.; MORBIDELLI, M. – “Countercurrent adsorption separation processes: 2. Multicomponent systems”. *AIChE J.*, 40, n.º 11, 1825 – 1842, (1994).
- MAZZOTTI, M.; STORTI, G.; MORBIDELLI, M. – “Robust design of countercurrent adsorption separation processes: 4. Desorbent in the feed”. *AIChE J.*, 43, n.º 1, 64 – 72, (1997-b).
- MAZZOTTI, M.; STORTI, S.; MORBIDELLI, M. – “Robust design of countercurrent adsorption separation: 3. Nonstoichiometric systems”. *AIChE J.*, 42, n.º 10, 2784 – 2796, (1996).
- MCCOY, M. - “SMB emerges as chiral technique”. *Chemical & Engineering News*. 78 (25), 17-19, Jun (2000).
- MIGLIORINI, C.; MAZZOTTI, M.; MORBIDELLI, M. – “Continuous chromatographic separation through simulated moving beds under linear and nonlinear conditions.” - *J. Chromatogr. A*, 827, 161 – 173, (1998).
- MORRISON, J.D. and MOSHER, H.S. – “Assimetric organic reactions”. *Prentice Hall*, New Jersey, USA, (1971).
- MORRISON, R.T. & BOYD, R.N. – “Organic Chemistry”. 6th Ed., *Prentice Hall International Inc.*, (1992).
- NEGAWA, M. & SHOJI, F. – “Optical resolution by simulated moving-bed adsorption technology”. *J. Chromatogr.*, 590, 113 – 117, (1992).
- PAIS, L. S.; LOUREIRO, J. M.; RODRIGUES, A. E. - "Separation of 1,1 - bi - naphtol enantiomers by continuous chromatography in simulated moving bed". *Chem. Eng. Sci.*, 52, n.º 2, 245 - 257, (1997).

- PAIS, L. S.; LOUREIRO, J. M.; RODRIGUES, A. E. – “Separation of enantiomers of a chiral epoxide by simulated moving bed chromatography”. *J. Chromatogr. A*, 827, 215 – 233, (1998).
- PEDEFERRI, M. P.; ZENONI, G.; MAZZOTTI, M.; MORBIDELLI, M. - "Experimental analysis of a chiral separation through simulated moving bed chromatography". *Chem. Eng. Sci.*, 54, 3735 - 3748, (1999).
- PRYDE, A. – “Chiral liquid chromatography: past and present”. In: LOUGH, W. J. - “*Chiral Liquid Chromatography*”. Glasgow and London, Blackie and Son Ltd., 23 – 35, (1989).
- PIRKLE, W. H.; PORCHAPSKY, T. C. – “Considerations of chiral recognition relevant to the liquid chromatographic separation of enantiomers”. *Chemical Review*, 89, (2), 347 – 362, 1989.
- REKOSKE, J.E. – “Chiral separations”. *Aiche Journal*. 47 (1), 2-5, Jan, (2001).
- RUTHVEN, D.M. & CHING, C.B. – “Counter-current and simulated counter-current adsorption separation processes”. *Chem. Eng. Sci.*, 44, (5), 1011-1038, 1989.
- SEIDEL-MORGENSTERN, A.; JACOBSON, S. C.; GUIOCHON, G. – “Study of band broadening in enantioselective separations using microcrystalline cellulose triacetate: II. frontal analysis”. *Journal of Chromatography*, 637, 19 – 28, 1993.
- SEIDEL-MORGENSTERN, A. & GUIOCHON, G. – “Modelling of the competitive isotherms and the chromatographic separation of two enantiomers”. *Chem. Eng. Sci.*, 48, (15), 2787 – 2797, 1993-a.
- STINSON, S. C. - “Counting on Chiral Drugs”. *Chemical and Engineering News*, September (21), 83-104, (1998).
- STORTI, G.; MASI, M.; CARRÀ, S.; MORBIDELLI, M. – “Optimal design of countercurrent adsorption separation processes involving nonlinear equilibria”. *Chem. Eng. Sci.*, 44, 1329, (1989).
- STORTI, G.; MAZZOTTI, M.; MORBIDELLI, M.; CARRÀ, S. – “Robust design of binary countercurrent adsorption separation process”. *AIChE J.*, 39, 471 – 492, (1993).

- ZENONI, G.; PEDEFERRI, M.; MAZZOTTI, M.; MORBIDELLI, M. – “On-line monitoring of enantiomer concentration in chiral simulated moving bed chromatography”. *Journal of Chromatography A*. 888 (1-2), 73-83, Aug 4, (2000).
- ZHOU, D., CHERRAK, D. E., KACZMARSKI, K., CAVAZZINI, A., GUIOCHON, G.- “Prediction of the band profiles of the mixtures of the 1-indanol enantiomers from data acquired with single racemic mixture”. *Chemical Engineering Science*, 58, pp. 3257-3272. 2003.