

## ESTUDO DA TERMODINÂMICA DA ADSORÇÃO DOS ENANTIÔMEROS DO FÁRMACO SECNIDAZOL

B. S. SOUSA<sup>1</sup>, W. M. FERRARI<sup>1</sup>, A. C. NASCIMENTO<sup>1</sup>, M. A. CREMASCO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química

**RESUMO** – O secnidazol (1-(hidroxipropil)-2-metil-5-nitroimidazol) é um fármaco que possui espectro de atividade contra microorganismos anaeróbicos e pode ser utilizado no tratamento de doenças como amebíase, giardíase e tricomoniase. Por ser rapidamente e completamente absorvido pelo organismo e por possuir tempo de meia vida maior, acarreta menos efeitos colaterais, podendo ser utilizado em doses mais baixas que do que outros 5-nitroimidazóis para os mesmos propósitos. O secnidazol é comercializado na forma racêmica, no entanto estudos apontam que apenas o isômero R apresenta maior atividade biológica em relação ao isômero S. Dessa forma, é necessária uma separação dos isômeros de modo a obter o fármaco de interesse. Tal separação pode ser realizada por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Para tanto, torna-se fundamental o conhecimento de parâmetros termodinâmicos que viabilizem tal separação, como o fator de retenção,  $k$ , e informações sobre as diferenças de entalpia e de entropia ( $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) para cada um dos enantiômeros. A obtenção de tais parâmetros é o objetivo do presente artigo, o qual apresenta valores para  $k$ , para a faixa de temperatura entre 20 °C e 35 °C. A partir de tais valores, foi possível estimar os valores de  $\Delta H$  e  $\Delta S$  tanto para o (-)-(S)-secnidazol quanto para o (+)-(R)-secnidazol, utilizando-se tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de amilose como fase estacionária quiral e fase móvel contendo 40 % de acetonitrila e 60 % de isopropanol.

### 1. INTRODUÇÃO

O secnidazol corresponde à formulação 1-(hidroxipropil)-2-metil-5-nitroimidazol, com fórmula molecular  $C_7H_{11}N_3O_3$  e massa molar de 185,18 g/mol e é um dos derivados nitroimidazólicos e possui espectro de atividade contra microorganismos anaeróbicos e eficácia no tratamento de amebíase, giardíase, tricomoniase e vaginose bacteriana. O secnidazol é comercializado na forma racêmica, todavia estudos mostram que o fármaco é quiral, ou seja, é constituído por (-)-(S)-secnidazol e (+)-(R)-secnidazol (NASCIMENTO, 2012). Dentro deste contexto, existe uma série de vantagens relativas à administração de enantiômeros puros sobre a de mistura racêmica, podendo-se citar: redução da dose e da carga no metabolismo; ampliação do uso do fármaco; redução da variabilidade da resposta dos pacientes; aumento da atividade e redução na dosagem; aumento de especificidade e redução de efeitos colaterais. Sob este aspecto, torna-se fundamental a obtenção de enantiômeros a partir da mistura racêmica na qual estão presentes.

Uma das propriedades presentes nos enantiômeros é o fato de algumas forças intermoleculares, que agem sobre moléculas enantioméricas, serem idênticas. Deste modo, não é possível separar enantiômeros por métodos tradicionais, feito a destilação fracionada, cristalização fracionada ou cromatografia clássica (SOLOMONS, 1996). Todavia, os métodos de separação quiral utilizando-se técnicas de cromatografia líquida (de fase estacionária) mostram-se eficientes na separação enantiomérica. Sob este aspecto, a cromatografia é um processo de separação em que a mistura da amostra é distribuída entre duas fases no leito cromatográfico, particularmente na forma de coluna. Uma fase mantém-se estacionária enquanto a outra, a líquida na presente situação, atravessa o leito cromatográfico. A separação, propriamente dita, além das características da coluna, é governada pelo fenômeno da adsorção. Torna-se, portanto, fundamental, para o estudo da adsorção e por via de consequência da própria separação quiral, a compreensão da termodinâmica da adsorção. Sob este aspecto, a análise termodinâmica pode iniciar-se a partir do método cromatográfico, no intuito de expressar a energia de Gibbs em termos do fator de retenção,  $k$ , e da razão de fase na coluna  $\phi$  (volume da fase estacionária pelo volume da fase móvel) na forma (NASCIMENTO, 2012)

$$\Delta G = -RT \ln \left( \frac{k}{\phi} \right) \quad (1)$$

com

$$\phi = \frac{1 - \varepsilon_T}{\varepsilon_T} \quad (2)$$

em que  $\varepsilon_T$  é a porosidade total da coluna cromatográfica, possível de ser obtida por meio da técnica do pulso cromatográfico (CREMASCO *et al.*, 2001),

$$\frac{L}{t_R} = \frac{u_0}{\varepsilon_T} \quad (3)$$

na qual  $L$  é o comprimento característico da coluna cromatográfica;  $u_0$ , velocidade superficial da fase móvel,  $u_0 = 4Q/\pi D^2$ , sendo  $Q$  a vazão volumétrica do líquido e  $D$ , o diâmetro da coluna cromatográfica;  $t_R$  é o tempo de retenção, obtido de  $t_R = t_{\text{exp}} - t_0$ , sendo  $t_{\text{exp}}$  o tempo de retenção total na coluna,  $t_0$  o tempo associado ao volume morto da coluna. A obtenção de  $\varepsilon_T$  resulta da inclinação da reta  $L/t_R$  vs.  $u_0$ , para distintas vazões.

Para a obter as variações de entalpia,  $\Delta H$ , e de entropia,  $\Delta S$ , recorre-se à relação de Gibbs-Helmholtz, ,

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (4)$$

Deste modo, retoma-se a Equação 1, considerando-se a Equação 4, segundo

$$\ln \left( \frac{k}{\phi} \right) = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (5)$$

sendo

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (6)$$

em que  $t_M$  é o tempo de retenção de um componente não retido pela fase estacionária. Na Equação 5,  $T$  refere-se à temperatura absoluta e  $R$ , à constante universal dos gases.

Ressalte-se que  $\Delta H$  e  $\Delta S$  representam a diferença de entalpia e de entropia na situação em que certo enântiômero (R ou S) é transferido da fase móvel para a fase estacionária. Quando a superfície cromatográfica e as propriedades do eluente e do analito não variam significativamente com a temperatura,  $\Delta H$  e  $\Delta S$  também são invariantes com a temperatura e o gráfico de  $\ln(k/\phi)$  vs.  $1/T$ , reconhecido como gráfico de van't Hoff, será linear (FORNSTEDT *et al.*, 1997). Desse modo, do ajuste da Equação 5, para o gráfico experimental de van't Hoff, pode-se obter  $\Delta H$  por meio do coeficiente angular da reta, e o valor de  $\Delta S$  da intersecção de tal reta com o eixo da ordenada.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O secnidazol racêmico foi cedido pela empresa EMS® (S. Bernardo dos Campos, SP). Para a fase estacionária quiral, utilizou-se coluna cromatográfica de aço inoxidável, recheadas com a fase estacionária quiral tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) de amilose, do tipo coluna analítica Chiralpak® AD (150 x 3,9 mm, 10  $\mu$ m), adquirida da empresa Chiral Technologies®.

Os experimentos foram realizados em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), constituído por uma bomba Modelo LC-20AT, por um detector UV-VIS Modelo SPD-20A e por uma controladora Modelo CBM-20A/UFCL, todos da marca Shimadzu Corporation®. No sistema estão presentes uma válvula injetora do tipo Rheodyne Modelo 7725i (EUA) e um detector baseado em dicroísmo circular Modelo CD-2095 Plus da Jasco® (Japão). As amostras foram injetadas manualmente com o auxílio de uma seringa de 250  $\mu$ L Modelo Microliter™ 725 (Hamilton Co., EUA).

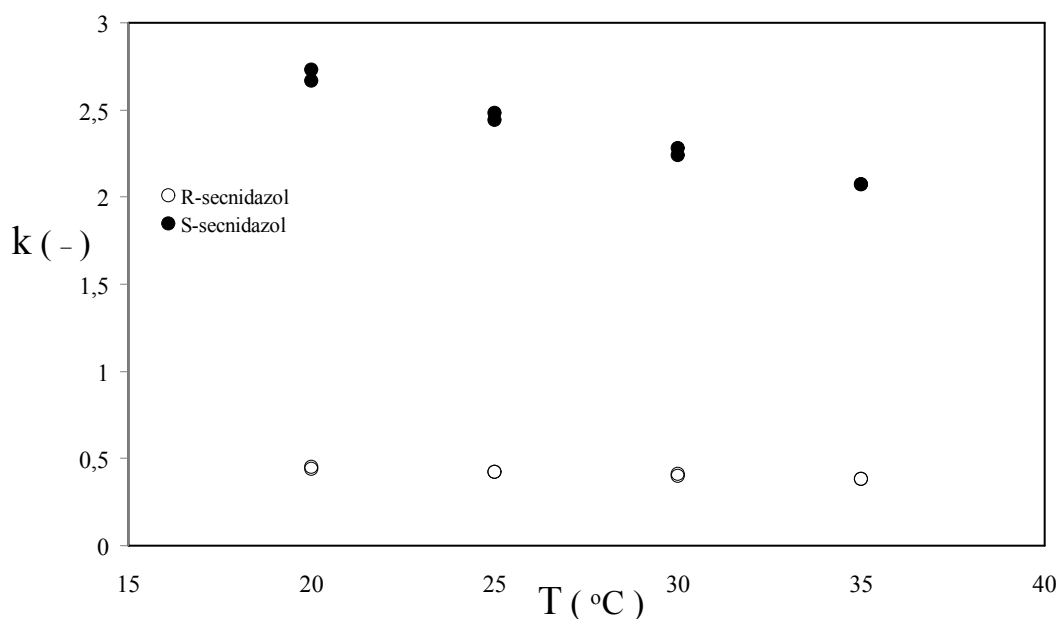
Para a obtenção do valor da porosidade total utilizou-se uma solução de TTBB em isopropanol com concentração 0,5 g.L<sup>-1</sup> e vazões 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 mL.min<sup>-1</sup> à 25°C. A amostra foi injetada com uma seringa de 250  $\mu$ L no CLAE e para cada vazão registrou-se o tempo de retenção. No caso dos parâmetros termodinâmicos foram injetadas amostras de solução contendo secnidazol com concentração 0,5 g.L<sup>-1</sup> diluído em fase móvel contendo 40% de acetonitrila e 60 % de isopropanol à 20 °C, 25 °C, 30 °C e 35 °C à vazão de 1 mL.L<sup>-1</sup>. Ressalte-se que o volume morto encontrado foi  $V_D = 0,10$  cm<sup>3</sup> e o  $t_M = 1,0$  min. Todos os ensaios foram feitos em duplicata.

## 3. RESULTADOS

O valor da porosidade total adveio da Equação 3. Para tanto foram realizados ensaios, cujo gráfico  $L/t_R$  vs.  $u_0$ , forneceu uma reta de coeficiente de determinação,  $R^2$ , igual a 0,999. A partir do coeficiente angular, encontrou-se o valor de 0,57 para a porosidade total, a partir

do qual e de posse da Equação 2, chegou-se no valor  $\phi = 0,754$ . Para os fatores de retenção do enantiômero  $i$  ( $i = R$  ou  $S$ ), foram utilizados os cromatogramas, obtendo-se os tempos de retenção e, destes, os valores de  $k$ . A Figura 1 apresenta os resultados para tais grandezas.

Figura 1 – Fatores de retenção,  $k$ , para os enantiômeros do secnidazol.



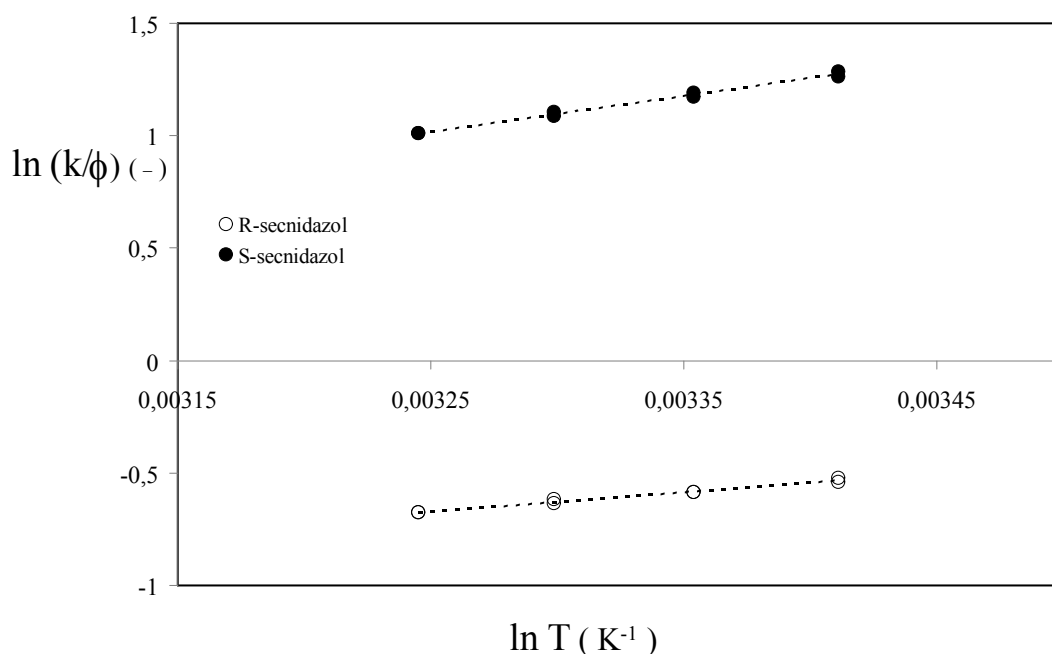
De posse dos valores apresentados na Figura 1, construiu-se o gráfico  $\ln(k/\phi)$  vs.  $1/T$ ,

Observa-se, nesta, retas que, utilizando-se a Equação 5, foram obtidos os resultados para  $\Delta H$  e  $\Delta S$ , considerando-se  $R = 8,3144 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ , conforme apresentados na Tabela 1, na qual estão os valores dos coeficientes de determinação relativos às retas.

Tabela 1 – Grandezas termodinâmicas dos enantiômeros do secnidazol.

	$\Delta S$ ( $\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ )	$\Delta H$ ( $\text{kJ.mol}^{-1}$ )	$R^2$
(+)-(R)- secnidazol	-28,98	-7,20	0,993
(-)-(S)- secnidazol	-34,38	-13,18	0,981

Figura 2 – Obtenção de parâmetros termodinâmicos para os enantiômeros do secnidazol.



#### 4. CONCLUSÃO

Tendo como objetivo o estudo da termodinâmica da adsorção do fármaco quiral secnidazol, foram obtidas grandezas essenciais para a compreensão do fenômeno adsorptivo, como também para futuras aplicações de separação enantiomérica. O modelo proposto, tendo como fundamento a equação clássica de van't Hoff, mostrou-se bastante adequado com valores de coeficientes de determinação superiores a 0,98 para as diferenças de entalpia e de entropia. Ressalte-se que os valores negativos para as grandezas termodinâmicas comprovam que é favorável energeticamente aos solutos adsorverem-se à fase estacionária e, isto ocorre com o predomínio da entropia.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CREMASCO, M. A.; WANG, N.-H. L.; HRITZKO, B. J. Parameters estimation for amino acids adsorption in a fixed bed by moment analysis. *Braz. J. Chem. Eng.*, v. 18, n. 1, p. 181, 2001.
- FORNSTEDT, T.; SAJONS, P.; GUIOCHON, G. Thermodynamic study of an unusual chiral separation. Propranolol enantiomers on an immobilized cellulase, *J. Am. Chem. Soc.*, v. 119, p. 1254, 1997.

NASCIMENTO, A. C. *Resolução enantiomérica do secnidazol*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2012. 122 p. Dissertação (Mestrado).

SOLOMONS, T. W. G. *Química orgânica*, v.1. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1996, 777 p.