

***Influência do Solvente no Desempenho de
Separações Quirais em Leito Móvel Simulado***



Universidade do Porto
Faculdade de Engenharia
FEUP

Influência do Solvente no Desempenho de Separações Quirais em Leito Móvel Simulado

Dissertação apresentada à
FACULDADE DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO
Para a obtenção do grau de Doutor em
Engenharia Química e Biológica

por

António Manuel Esteves Ribeiro

Orientador: Professor Doutor **Alírio Egídio Rodrigues**
Co-Orientador: Professor Doutor **Luís Manuel Santos Pais**



Laboratório de Processos de Separação e Reacção
Departamento de Engenharia Química
Faculdade de Engenharia
Universidade do Porto
Porto, Portugal

Financiamento FCT/POCTI



União Europeia
FEDER

FCT

Fundação para a Ciência e a Tecnologia



Governo da
República Portuguesa

Setembro 2010

Agradecimentos

Os primeiros agradecimentos vão para os meus dois orientadores. Agradeço ao Professor Doutor Luís Pais, pela oportunidade que me concedeu, pela sua constante disponibilidade e por me fazer sentir que esta tese era fruto do meu trabalho. Na verdade, com o seu apoio e constantes orientações, a tese que apresento é muito mais do que a tese que sozinho seria capaz de apresentar. Agradeço ao amigo Luís Pais por me ter dado a oportunidade de incorporar um pouco da sua metodologia de trabalho e pela paciência que demonstrou comigo. Agradeço também ao Professor Doutor Alírio Rodrigues, pelos meios que disponibilizou no Departamento de Engenharia Química através das instalações do LSRE. A ambos, pelas correcções, sugestões e orientações que me deram para que fosse possível apresentar o presente trabalho.

Devo agradecer também à FCT e à União Europeia através do FEDER, pelo financiamento concedido através dos projectos POCTI/EQU/38811/2001 e POCI/EQU/59738/2004. Agradeço também à FCT pelo financiamento concedido através do programa PROTEC através da bolsa SFRH/BD/49466/2009 (dispensa do serviço docente no 1º semestre do ano lectivo 2009/10).

Agradeço também à Escola Superior de Tecnologia e de Gestão do Instituto Politécnico de Bragança (ESTiG), na pessoa do Professor Doutor Albano Alves, Director da Escola, pelas instalações disponibilizadas através do LSRE-IPB e na pessoa do Professor Doutor Rolando Dias, Coordenador do DTQB, pelo semestre de dispensa do serviço docente (2º semestre do ano lectivo 2006/07).

Os agradecimentos não deixariam de contemplar os colegas Professor Doutor Simão Pinho, pela orientação na determinação de solubilidades; Professor Doutor Rufino Amaro, pela disponibilização e ajuda na utilização do *Cluster* existente no Laboratório de Informática da ESTiG; Doutor Pedro Sá Gomes, pela orientação impecável na operação do FlexSMB-LSRE® e pelo amigo que ganhei.

A todos aqueles que me ajudaram, com palavras de apoio e coragem, nos momentos menos bons que tive que atravessar, em especial aos colegas de Departamento, José António Silva, Filomena Barreiro e Rolando Dias.

Um agradecimento muito especial à minha esposa Ana e ao meu filho Rui Pedro, com um pedido de desculpas, pelo tempo e atenção que lhes retirei.

Finalmente, a todos os elementos do Júri, pela disponibilidade demonstrada para a apreciação da minha tese.

Para a Ana e o Rui Pedro
Para os meus pais

"Shaking the present, Shaping the future"

Alírio Egídio Rodrigues

Resumo

O trabalho desenvolvido pretende contribuir para o aprofundar do conhecimento do processo cromatográfico preparativo de adsorção relativo à separação de misturas quirais que tem vindo a ser realizado nos últimos 15 anos no LSRE. O estudo apresentado baseia-se na separação por cromatografia líquida preparativa de duas misturas racémicas de profenos (cetoprofeno e flurbiprofeno). Estes fármacos pertencem à classe dos anti-inflamatórios não esteróides sendo frequentemente prescritos em todo o mundo no alívio da dor e principalmente no tratamento de inflamações associadas ao aparelho locomotor. A sua separação, de acordo com diversos estudos recentes, potencia o aparecimento de fármacos com perfis terapêuticos mais seguros e/ou com princípios activos novos.

O principal objectivo deste trabalho baseia-se no estudo da influência da composição do solvente no desempenho de separação cromatográfica dos enantiómeros de profenos utilizando a tecnologia de leito móvel simulado. A fase estacionária utilizada neste trabalho (Chiralpack AD) é actualmente o adsorvente mais utilizado na separação deste tipo de compostos quirais quer ao nível das publicações científicas (HPLC) como ao nível industrial.

Realizou-se a montagem de uma instalação experimental para determinação de isotérmicas (LSRE-IPB). Para a selecção da composição da fase móvel, procedeu-se à medição de solubilidades, experiências de cromatografia de eluição e determinaram-se experimentalmente as isotérmicas de equilíbrio de adsorção em diferentes solventes e misturas de solventes (metanol, etanol e misturas etanol/n-hexano). Realizou-se a modelização das isotérmicas de adsorção e fez-se a sua validação através da comparação entre experiências de cromatografia frontal em leito fixo e a sua previsão obtida utilizando o modelo de força motriz linear (modelo LDF).

Após selecção da composição da fase móvel a utilizar na separação de cada uma das misturas racémicas (100%etanol/0.01%TFA para o cetoprofeno e

10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA para o flurbiprofeno) procedeu-se à separação experimental utilizando o sistema de leito móvel simulado à escala laboratorial existente no Laboratório de Separação e Reacção (FlexSMB-LSRE®). Paralelamente à parte experimental foram desenvolvidas ferramentas de modelização e simulação as quais permitiram reproduzir bastante bem o desempenho experimental.

Na separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando uma corrente de alimentação de 40.2 g/L obtiveram-se purezas de 98.6% para a corrente de extracto e de 99.8% para a corrente de refinado. A produtividade obtida foi de 3.84 g/(L.hr) com um consumo de solvente de 0.78 L/g. Na separação da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando uma corrente de alimentação de 40.0 g/L obtiveram-se purezas de 99.4% para a corrente de extracto e de 99.8% para a corrente de refinado. A produtividade obtida foi de 13.1 g/(L.hr) com um consumo de solvente de 0.41 L/g.

Abstract

The present work is intended to add some knowledge of the adsorption process on the preparative chromatographic separation of chiral mixtures that has been accomplished during the last 15 years in the LSRE. The study developed is based on the preparative liquid chromatographic separation of profen racemic mixtures (ketoprofen and flurbiprofen). These drugs belong to the class of anti-inflammatory drugs that are often prescribed worldwide for the relief of pain and especially in the treatment of the inflammation associated with arthritis diseases. Their separation, according to numerous recent studies, encourages the emergence of new therapeutic drugs with safer profiles and/or new active principles.

The main objective of this work is based on the study of the influence of solvent composition on the performance of chromatographic separation of profen enantiomers using the simulated moving bed technology. The adsorbent chosen (Chiralpack AD) is currently the most widely used in the separation of chiral compounds at both analytical (HPLC) and preparative/industrial scale.

A laboratorial installation to perform experimental determination of adsorption equilibrium isotherms has been built (LSRE-IPB). Selection of mobile phase composition was done through the combination of several experiments such as measurement of solubility, elution chromatography experiments (pulses), experimental determination of the equilibrium adsorption isotherms, frontal chromatography experiments in fixed bed (breakthroughs) under different solvents (ethanol, methanol, or mixtures of ethanol/n-hexane). Models selected by adsorption isotherm data fitting were validated by comparing the adsorption behaviour predicted using the linear driving force model (LDF model) in fixed bed system and the obtained experimental behaviour data.

After selection of the mobile phase composition for the separation of each of the racemic mixtures (100%ethanol/0.01%TFA for ketoprofen and 10%ethanol/90%n-hexane/0.01%TFA for flurbiprofen) preparative separation were performed using the laboratory scale simulated moving bed system (FlexSMB-LSRE[®]) recently built at the LSRE-Porto. Alongside the experimental work, several tools were developed for modelling and simulation. These tools were used for proper validation of the models used to describe the experimental SMB performance.

The separation of racemic mixture of ketoprofen using a feed solution of 40.2 g/L was performed with purities of 98.6% on the extract and 99.8% on the raffinate. The yield obtained was 3.84 g/(L.hr) with a solvent consumption of 0.78 L/g. Separation of the flurbiprofen racemic mixture using a feed solution of 40.0 g/L was performed and purities of 99.4% in the extract and 99.8% in the raffinate were achieved. The separation yield obtained was 13.1 g/(L.hr) with a solvent consumption of 0.41 L/g.

Résumé

Ce travail consiste à approfondir la connaissance du comportement d'adsorption sur la séparation chromatographique de mélanges chiraux qui est en train de être accompli au cours des 15 dernières années dans le LSRE. L'étude ici présentée est basée sur la séparation par chromatographie liquide préparatoire des mélanges racémiques de deux profens (ketoprofen et le flurbiprofen). Ces médicaments qui appartiennent à la classe des anti-inflammatoires sont souvent prescrits dans le monde entier pour le soulagement de la douleur et surtout dans le traitement de l'inflammation associées à l'appareil locomoteur. Leur séparation, selon de nombreuses études récentes, favorise l'émergence des médicaments thérapeutiques plus inoffensifs et/ou avec de nouveaux principes actifs.

L'objectif principal de ce travail est basé sur l'étude de l'influence de la composition du solvant sur le rendement de la séparation chromatographique des énantiomères de profens utilisant la technologie à lit mobile simulé. L'absorbant utilisé (Chiralpack AD) est actuellement le plus utilisée dans la séparation des composés chiraux tant à l'échelle d'analyse (HPLC) comme à l'échelle préparatif/industriel.

A été effectué le montage d'une installation pour la détermination expérimental des isothermes d'adsorption (LSRE-IPB). Pour la sélection de la composition de la phase mobile, on été mesurées des solubilités, accompli des expériences de chromatographie d'élution et de la détermination expérimental des isothermes d'équilibre d'adsorption dans différents solvants ou mélanges de solvants (méthanol, l'éthanol et/ou n-hexane). A été accompli la modélisation des isothermes d'adsorption ayant été confirmé sa validation en comparant les expériences de chromatographie frontale en lit fixe et sa prédiction obtenu avec le modèle de force motrice linéaire (modèle LDF).

Après le choix de la composition de la phase mobile à utiliser pour la séparation de chacun des mélanges racémiques (100%éthanol/0.01%TFA pour le ketoprofen et 10%éthanol/90%n-hexane/0.01%TFA pour le flurbiprofen) on a procédé à la séparation expérimental utilisant le system de lit mobile simulé, le FlexSMB-LSRE®. A côté de la partie expérimentale ont été élaborés des outils de modélisation et de simulation qui ont permis de reproduire assez bien le comportement d'adsorption expérimentale.

La séparation du mélange racémique de ketoprofen en utilisant une solution d'alimentation de 40.2 g/L a permis obtenir une pureté de 98.6% pour la ligne de extrait et de 99.8% pour le raffiné. Le rendement obtenu a été de 3.84 g/(L.hr) avec une consommation de solvant de 0.78 L/g. La séparation du mélange racémique de flurbiprofen avec une solution d'alimentation de 40.0 g/L a permis obtenir une pureté de 99.4% pour le extrait et de 99.8% pour le raffiné. Le rendement obtenu a été de 13.1 g/(L.hr) avec une consommation de solvant de 0.41 L/g.

Índice Geral

	Pág.
Lista de Figuras	III
Lista de Tabelas	XXI
Lista de Símbolos	XXVII
Capítulo 1 Introdução	1
1.1 Enquadramento e motivação	1
1.2 Objectivos	3
1.3 Organização	4
Capítulo 2 Anti-Inflamatórios Não Esteróides e Separação por Cromatografia Preparativa e de Leito Móvel Simulado	7
2.1 Os anti-inflamatórios não esteróides	8
2.2 Os profenos	10
2.3 Obtenção de enantiómeros de profenos	12
2.4 A tecnologia de leito móvel simulado (SMB)	16
2.5 Conclusões	22
2.6 Referências	23
Capítulo 3 Separação de Enantiómeros por Cromatografia Líquida Preparativa: Ferramentas Experimentais, de Modelização e Simulação	31
3.1 Ferramentas experimentais	32
3.2 Modelização das isotérmicas de adsorção competitivas	38
3.3 Modelização e simulação de experiências de cromatografia frontal	40
3.4 Modelização e simulação de processos de leito móvel simulado	42
3.5 Previsão do desempenho de separação em leito móvel simulado	55
3.6 Metodologia Numérica	59
3.7 Equipamento e metodologia experimental para a separação preparativa de leito móvel simulado	62
3.8 Conclusões	69
3.9 Referências	70
Capítulo 4 Separação Preparativa dos Enantiómeros de Cetoprofeno: Estudos em coluna de leito fixo	75
4.1 Introdução	76
4.2 Apresentação e análise de resultados	82
4.3 Conclusões	107
4.4 Referências	108

Capítulo 5	Separação Preparativa dos Enantiômeros de Flurbiprofeno: Estudos em coluna de leito fixo	115
5.1	Introdução	116
5.2	Apresentação e análise de resultados	120
5.3	Conclusões	154
5.4	Referências	156
Capítulo 6	Separação Preparativa dos Enantiômeros de Cetoprofeno: Estudos em coluna de SMB	163
6.1	Introdução	164
6.2	Apresentação e análise de resultados	166
6.3	Conclusões	189
6.4	Referências	192
Capítulo 7	Separação Preparativa dos Enantiômeros de Flurbiprofeno: Estudos em coluna de SMB	195
7.1	Introdução	196
7.2	Apresentação e análise de resultados	198
7.3	Conclusões	218
7.4	Referências	221
Capítulo 8	Conclusões e Sugestões para Trabalho Futuro	223
8.1	Conclusões	223
8.2	Sugestões para trabalho futuro	227
Anexos		
A	O valor da porosidade interparticular e o modelo de partícula homogênea	A.1
B	Utilização de TFA na fase móvel para separação cromatográfica	B.1
C	Pesquisa de um padrão para determinar a porosidade interparticular	C.1
D	Utilização de correlações para estimar o valor de Peclet e o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa	D.1
E	Resultados experimentais resumidos de todas as experiências de leito móvel simulado	E.1
F	Especificações do adsorvente Chiralpack AD	F.1
G	Identificação dos enantiômeros R e S dos profenos	G.1

Lista de Figuras

	Pág.
Capítulo 2	
Figura 2.1 Resultado da pesquisa do número de publicações por ano, desde 1990 a 2010 (Maio), com o critério título=SMB ou título=SMB AND título=Chiral. [Fonte: ISIS Web of Knowledge, 2010]	18
Figura 2.2 Diagrama esquemático de um leito móvel verdadeiro (TMB): (a) representação das direcções dos dois componentes em cada secção e (b) perfis típicos das concentrações internas (A: componente menos retido e B: componente mais retido).	19
Figura 2.3 Diagrama esquemático de um leito móvel simulado (SMB).	21
Capítulo 3	
Figura 3.1 Instalação experimental para determinação de isotérmicas (LSRE-IPB).	32
Figura 3.2 Representação esquemática da estrutura do adsorvente utilizado (Chiralpack AD: <i>Amylose Tris (3,5-Dimethylphenylcarbamate) on a 10 or 20 μm Silica Support</i>). [Fonte: Daicel Catalogue, 2010]	33
Figura 3.3 Esquema da instalação experimental para determinação de isotérmicas (LSRE-IPB).	37
Figura 3.4 Gráficos $\gamma_{II} \times \gamma_{III}$ para a operação em TMB: (a) gama linear e (b) não-linear.	56
Figura 3.5 A instalação FlexSMB-LSRE® (LSRE-FEUP) (a) e a respectiva representação esquemática em operação clássica [1,2,2,1] (b). As linhas a negrito representam o percurso activo durante a primeira rotação. [Adaptado da Fig. 7 da Fonte: Sá Gomes, 2010]	64
Figura 3.6 Controlo manual do caudal e pressão na secção I através de um balanço material.	68
Capítulo 4	
Figura 4.1 Enantiómeros do cetoprofeno: (a) R-(-)-cetoprofeno e (b) S-(+)-cetoprofeno.	76

Figura 4.2	Coluna "leito fixo" utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno (Chiralpack AD 20 μm ; 250 mm L x 4.6 mm ID).	81
Figura 4.3	Efeito do teor de álcool na composição do solvente (etanol/n-hexano) na solubilidade dos enantiómeros de cetoprofeno a 25°C, expressa em g de cetoprofeno/kg de solvente numa base livre de soluto.	83
Figura 4.4	Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel etanol/n-hexano: 5/95; 10/90; 20/80; 40/60; 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 100 μL .	85
Figura 4.5	Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel etanol/n-hexano: 5/95; 10/90; 20/80; 40/60; 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 1 mL.	86
Figura 4.6	Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel metanol/n-hexano: 5/95, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 100 μL .	87
Figura 4.7	Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel metanol/n-hexano: 5/95, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 1 mL.	88
Figura 4.8	Comparação entre o modelo (BLG6) e os resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção do cetoprofeno em diferentes composições de etanol em n-hexano da fase móvel: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0. Círculos abertos para concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas contínuas para o modelo da isotérmica de adsorção.	92

Figura 4.9	Comparação entre modelo e resultados experimentais para a isotérmica de adsorção do cetoprofeno numa fase móvel de metanol puro utilizando o modelo bi-Langmuir (BLG6). Círculos abertos para as concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas para o modelo da isotérmica de adsorção.	93
Figura 4.10	Comparação entre os quatro modelos das isotérmicas de adsorção dos dois enantiómeros de cetoprofeno para cada composição etanol/n-hexano da fase móvel: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4; Linha ponteadada: LLG5 e Linha tracejada-ponteadada: BLG6.	94
Figura 4.11	Comparação entre os quatro modelos das isotérmicas de adsorção dos dois enantiómeros de cetoprofeno para uma composição de metanol puro da fase móvel. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4; Linha ponteadada: LLG5 e Linha tracejada-ponteadada: BLG6.	94
Figura 4.12	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de 10%etanol/90%n-hexano, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	95
Figura 4.13	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de 20%etanol/80%n-hexano, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	95
Figura 4.14	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de 40%etanol/60%n-hexano, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	96
Figura 4.15	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de etanol puro, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	96
Figura 4.16	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de metanol puro, modelo Langmuir (LG3). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	96
Figura 4.17	Influência da concentração dos enantiómeros de cetoprofeno no factor de selectividade, utilizando o modelo bi-Langmuir (BLG6) para as composições %etanol/n-hexano: 10/90; 20/80; e 100/0.	98
Figura 4.18	Influência da concentração dos enantiómeros de cetoprofeno no factor de selectividade, utilizando uma fase móvel de metanol puro e o modelo Langmuir (LG3).	98

Figura 4.19	Comparação entre selectividades experimentais (pontos) e previsão da selectividade obtida com o modelo BLG6 (linhas) em composições diferentes da fase móvel, para misturas racémicas de cetoprofeno. Quadrados para 20%etanol/80%n-hexano, triângulos fechados para etanol puro e triângulos abertos para metanol puro.	99
Figura 4.20	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e a simulação (linhas) numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo bi-Langmuir (BLG6) (ver Tabela 4.2).	100
Figura 4.20 (Cont.)	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e a simulação (linhas) numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo bi-Langmuir (BLG6) (ver Tabela 4.2).	101
Figura 4.21	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 4.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5.	103
Figura 4.21 (Cont.)	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 4.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5.	103

Figura 4.22	Regiões de separação para operação em SMB, considerando a Teoria de equilíbrio (dispersão axial e resistência à transferência de massa desprezáveis) para diferentes composições de fase móvel, em função da concentração de alimentação ($C_1^F + C_2^F$): 0.1 g/L (gama linear), 5, 10 e 20 g/L. As regiões de separação para 20%etanol/80%n-hexano encontram-se localizadas no canto superior direito; as regiões de separação para etanol puro (regiões de separação maiores) e para metanol puro (regiões de separação menores) estão localizadas no canto inferior esquerdo.	105
Figura 4.23	Previsão da produtividade da operação em SMB admitindo resistências à transferência de massa desprezáveis, em função da concentração de alimentação: razão entre a produtividade obtida com etanol puro e a produtividade obtida com 20%etanol/80%n-hexano (linha contínua) e a razão entre a produtividade obtida com etanol puro e a obtida com metanol puro (linha a tracejado).	106
Figura 4.24	Previsão do consumo de solvente na operação em SMB sob condições de transferência de massa desprezáveis em função da concentração de alimentação: razão entre o consumo de solvente com 100%etanol e o consumo de solvente com 20%etanol/80%n-hexano (linha contínua) e a razão entre o consumo de solvente com etanol puro e o consumo de solvente com metanol puro (linha a tracejado).	107

Capítulo 5

Figura 5.1	Enantiómeros do flurbiprofeno: (a) S-(+)-flurbiprofeno e (b) R-(-)-flurbiprofeno.	116
Figura 5.2	Coluna "leito fixo" utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno (Chiralpack AD 20 μ m; 250 mm L x 4.6 mm ID).	120
Figura 5.3	Influência da composição alcoólica da fase móvel etanol/n-hexano na solubilidade dos enantiómeros de flurbiprofeno a duas temperaturas diferentes (círculos fechados para T=35°C; círculos abertos para T=23°C) expressa em g/kg solvente numa base livre de soluto.	121
Figura 5.4	Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em seis composições de etanol em n-hexano: 5/95, 10/90, 20/80, 40/60, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μ m); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 100 μ L; temperatura de 23°C.	123

- Figura 5.5 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em seis composições de etanol em n-hexano: 5/95, 10/90, 20/80, 40/60, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; Coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 1 mL; temperatura de 23°C. 124
- Figura 5.6 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em duas composições de metanol em n-hexano: 70/30 e 100/0. Concentrações de mistura racémica de flurbiprofeno utilizadas: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 100 μL ; temperatura de 23°C. 125
- Figura 5.7 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em duas composições de metanol em n-hexano: 70/30 e 100/0. Concentrações de mistura racémica de flurbiprofeno utilizadas: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 1 mL; temperatura de 23°C. 126
- Figura 5.8 Comparação entre o modelo e os resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção a 23°C, do flurbiprofeno na coluna "leito fixo" utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para as fases móveis: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0 de etanol em n-hexano. Círculos abertos para concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas para o modelo da isotérmica de adsorção. 128
- Figura 5.9 Comparação entre o modelo e os resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção a 23°C, do flurbiprofeno na coluna "leito fixo" numa fase móvel de metanol puro utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5). Círculos abertos para as concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas para o modelo da isotérmica de adsorção. 129
- Figura 5.10 Comparação entre os três modelos das isotérmicas de adsorção a 23°C, dos dois enantiómeros de flurbiprofeno na coluna "leito fixo" para cada composição etanol/n-hexano da fase móvel: 10/90 20/80, 40/60 e 100/0. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4 e Linha pontuada: LLG5. 130

Figura 5.11	Comparação entre os três modelos das isotérmicas de adsorção a 23°C, dos dois enantiómeros de flurbiprofeno na coluna "leito fixo" para uma composição de metanol puro da fase móvel. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4 e Linha pontilhada: LLG5.	131
Figura 5.12	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para diferentes composições de etanol em n-hexano: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0. Modelo linear+Langmuir modificado (LLG5). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	131
Figura 5.12 (Cont.)	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para diferentes composições de etanol em n-hexano: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0. Modelo isotérmica LLG5. Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	132
Figura 5.13	Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de metanol puro, modelo Langmuir (LG3). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.	133
Figura 5.14	Influência da concentração dos enantiómeros de flurbiprofeno no factor de selectividade utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para as composições da fase móvel: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0.	134
Figura 5.15	Influência da concentração dos enantiómeros de flurbiprofeno no factor de selectividade, utilizando uma fase móvel de metanol puro e o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5).	134
Figura 5.16	Comparação entre valores de selectividade experimentais (pontos) e valores de selectividade obtidos com o modelo LLG5 (linhas) em quatro composições de etanol em n-hexano da fase móvel, a uma temperatura de 23°C. Círculos fechados para 10/90, círculos abertos para 20/80, triângulos fechados para 40/60 e triângulos abertos para etanol puro. Coluna "leito fixo".	135
Figura 5.17	Comparação entre valores de selectividade experimentais (pontos) e valores de selectividade obtidos com o modelo LLG5 (linha) numa composição da fase móvel de metanol puro, a uma temperatura de 23°C. Coluna "leito fixo".	136
Figura 5.18	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para uma concentração total de 40 g/L (mistura racémica) para uma temperatura de 23°C em três composições diferentes de etanol em n-hexano da fase móvel: 10/90, 40/60 e 100/0. Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas). Círculos fechados e círculos abertos para os enantiómeros menos e mais retido, respectivamente. Coluna "leito fixo". $Q=0.5$ mL/min. Parâmetros do modelo utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (Tabela 5.2).	137

- Figura 5.19 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10/90. T=23°C. Coluna "leito fixo". Q=0.5 mL/min. Parâmetros: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (Tabela 5.2). 138
- Figura 5.19 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Temperatura: 23°C. Coluna "leito fixo". Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizado: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (Tabela 5.2). 139
- Figura 5.20 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 1, 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano; Coluna "leito fixo". Q=0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizado: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 5.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5. 140
- Figura 5.20 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 1, 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano; Coluna "leito fixo". Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 s^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 5.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5. 141
- Figura 5.21 Regiões de separação completa em SMB previstas com a Teoria de Equilíbrio para as quatro composições da fase móvel %etanol/%n-hexano: 10/90; 20/80, 40/60 e 100/0, e para duas concentrações da alimentação ($C_1^F + C_2^F$): 0.1 g/L (gama linear) e 25 g/L. As regiões de separação para 10/90 (regiões de separação maiores) estão localizadas no canto superior direito; as regiões de separação para etanol puro (regiões de separação menores) estão localizadas no canto inferior esquerdo. Temperatura: 23°C. 142

Figura 5.22	Previsão da produtividade da operação SMB, utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida para as quatro composições da fase móvel %etanol/%n-hexano.	143
Figura 5.23	Previsão do consumo de solvente da operação SMB, utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida para as quatro composições da fase móvel %etanol/%n-hexano (linhas contínuas para 10/90; linhas tracejadas para 20/80; linhas ponteadas para 40/60 e linhas semi-ponteadas para etanol puro).	143
Figura 5.24	Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano para duas composições de modificador ácido diferentes: 0.01%TFA e 0.1%TFA Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; Q=1 mL/min; T=23°C; volume de injeção de 100 μL .	145
Figura 5.25	Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano para duas composições de modificador ácido diferentes: 0.01%TFA e 0.1%TFA Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal: 1 mL/min; temperatura: 23°C; volume de injeção de 1 mL.	145
Figura 5.26	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para uma concentração total da alimentação de 20 g/L (mistura racémica de flurbiprofeno) e uma temperatura de 23°C em duas composições de TFA numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Círculos para 0.01%TFA e quadrados para 0.1%TFA. Círculos e quadrados fechados para o enantiómero menos retido e círculos e quadrados abertos para o enantiómero mais retido. Coluna "leito fixo". Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizado: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo LIG5.	146
Figura 5.27	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para uma concentração total da alimentação de 40 g/L (mistura racémica de flurbiprofeno) a uma temperatura de 23°C em duas composições de TFA numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Círculos para 0.01%TFA e quadrados para 0.1%TFA. Círculos e quadrados fechados para o enantiómero menos retido e círculos e quadrados abertos para o enantiómero mais retido. Coluna "leito fixo". Q=0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizado: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $St = k\tau = 1000$, e parâmetros do modelo LIG5.	146

- Figura 5.28 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA em duas temperaturas diferentes: 23°C e 35°C. Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 100 μL . 147
- Figura 5.29 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA em duas temperaturas diferentes: 23°C e 35°C. Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna "leito fixo" (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 1 mL. 148
- Figura 5.30 Comparação entre o modelo e os resultados experimentais para as isotérmicas de equilíbrio de adsorção do flurbiprofeno na coluna "leito fixo", utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para 23°C e 35°C, numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Círculos abertos para a concentração experimental do enantiómero menos retido; círculos fechados para a concentração experimental do enantiómero mais retido e linhas para o modelo. 149
- Figura 5.31 Comparação tridimensional entre o factor de selectividade previsto utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) às temperaturas de 23°C e 35°C, em função das concentrações dos enantiómeros de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. 150
- Figura 5.32 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção), para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. $Q=0.5$ mL/min; $T=$ de 35°C. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (Tabela 5.3). Coluna "leito fixo". 150
- Figura 5.32 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção), para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. $Q=0.5$ mL/min; $T=$ de 35°C. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.3). Coluna "leito fixo". 151

Figura 5.32 (Cont.)	Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção), para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. $Q=0.5$ mL/min; $T=35^{\circ}\text{C}$. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.3). Coluna "leito fixo".	152
Figura 5.33	Regiões de separação em SMB previstas com a Teoria de Equilíbrio, numa composição da fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA para 23°C e 35°C e as concentrações da alimentação de 0.1 g/L e 25 g/L.	153
Figura 5.34	Previsão da produtividade em operação SMB utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida a duas temperaturas diferentes, a 23°C e a 35°C numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (linha contínua para 23°C e linha tracejada para 35°C).	153
Figura 5.35	Previsão do consumo de solvente em operação SMB utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida a duas temperaturas diferentes, a 23°C e a 35°C numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (linha contínua para 23°C e linha tracejada para 35°C).	154

Capítulo 6

Figura 6.1	Coluna "SMB", utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo e leito móvel simulado para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno. (Chiralpack AD $20 \mu\text{m}$; $100 \text{ mm } L \times 20 \text{ mm } ID$).	164
Figura 6.2	Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, na coluna "SMB", utilizando duas composições de fase móvel diferentes: 100/0/0.01 (Linha sólida) e 10/90/0.01 (Linha tracejada) de etanol/n-hexano/TFA. Concentração da mistura racémica de 20.70 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de $100 \mu\text{L}$. Enantiómero menos retido: R(-)Cetoprofeno; enantiómero mais retido: S(+)-Cetoprofeno.	167

- Figura 6.3 Comparação entre modelos e resultados experimentais das isotérmicas de adsorção obtidas na coluna "SMB". À esquerda: sistema C10 e à direita: sistema C100, a uma temperatura de 23°C. Utilizam-se os três modelos estudados; Linha preta: Langmuir (LG3), Linha azul: linear+Langmuir (LLG4), Linha vermelha: linear+Langmuir modificado (LLG5). Círculos abertos e linhas a tracejado para as concentrações experimentais e modelos do enantiómero menos retido; círculos fechados e linhas sólidas para as concentrações experimentais e modelos do enantiómero mais retido. 169
- Figura 6.4 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) de selectividade para mistura racémica de cetoprofeno na coluna "SMB", em duas fases móveis distintas. À esquerda: 10/90/0.01, à direita: 100/0/0.01. Modelo Langmuir (LG3): linha pontuada, linear+Langmuir (LLG4): linha tracejada e linear+Langmuir modificado (LLG5): Linha sólida. 170
- Figura 6.5 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) das isotérmicas de equilíbrio de adsorção (à esquerda) e das selectividades (à direita), para a mistura racémica de cetoprofeno em duas fases móveis distintas. T= 23°C. Em cima: 10/90/0.01 e em baixo: 100/0/0.01. Em ambas as fases móveis utiliza-se o modelo bi-Langmuir para a coluna PREP e o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para a coluna "SMB". 171
- Figura 6.6 Curvas de saturação (adsorção, à esquerda) e regeneração (dessorção, à direita) na coluna "SMB", para uma concentração total de 10 g/L de um composto não retido, a uma temperatura de 23°C. Comparação entre a previsão obtida com o modelo LLG5 (linha tracejada) e os valores experimentais (linha sólida) para uma fase móvel de 10/90/0.01. ($\varepsilon_T=0.69$; $Pe=2500$; $Q=5$ mL/min) 173
- Figura 6.7 Curvas de saturação (adsorção, à esquerda) e regeneração (dessorção, à direita) na coluna "SMB", para uma concentração total de 10 g/L de um composto não retido, a uma temperatura de 23°C. Comparação entre a previsão obtida com o modelo LLG5 (linha tracejada) e os valores experimentais (linha sólida) para uma fase móvel de 100/0/0.01. ($\varepsilon_T=0.71$; $Pe=2500$; $Q=5$ mL/min) 173
- Figura 6.8 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção) na coluna "SMB", para uma solução de alimentação de 20.01 g/L da mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel com a composição de 10/90/0.01. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.3$ s⁻¹; $\varepsilon=0.4$; $Q=5$ mL/min) 174

- Figura 6.9 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção) na coluna "SMB", para uma solução de alimentação de 20.08 g/L da mistura racémica de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 10/90/0.01. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LIG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6\text{ s}^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5\text{ mL/min}$) 175
- Figura 6.10 Regiões de separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de eluente de 10/90/0.01, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racémica: $C=2\text{ g/L}$, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos). 179
- Figura 6.11 Regiões de separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de eluente de 1000//0.01, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racémica: $C=2\text{ g/L}$, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos). 180
- Figura 6.12 Comparação dos valores de consumo de solvente (à esquerda) e produtividade (à direita) da separação dos enantiómeros de cetoprofeno em função da concentração de alimentação, em duas fases móveis de composição diferentes; (sistema C10: 10/90/0.01, linha sólida e círculos abertos; sistema C100: 100/0/0.01, linha tracejada e círculos fechados). A previsão de produtividade é obtida utilizando o modelo SMB (com modelo de isotérmica LIG5). 182
- Figura 6.13 Pormenor da instalação experimental FlexSMB-LSRE® configurada para operar em modo convencional constituída por 6 colunas: 1 coluna nas secções I e IV e 2 colunas nas secções II e III. 183
- Figura 6.14 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de cetoprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 2 g/L . 186

- Figura 6.15 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de cetoprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 2 g/L. 187
- Figura 6.16 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo, apenas perfis) para os dois enantiómeros de cetoprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 40 g/L. 188
- Capítulo 7**
- Figura 7.1 Coluna preparativa "SMB", utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo e leito móvel simulado para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno. (Chiralpack AD 20 μ m; 100 mm L x 20 mm ID). 196
- Figura 7.2 Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de flurbiprofeno, na coluna "SMB", utilizando duas composições de fase móvel diferentes: 100/0/0.01 (Linha sólida) e 10/90/0.01 (Linha tracejada) de etanol/n-hexano/TFA. $C_1^F + C_2^F = 20.05$ g/L; detecção por UV a 260 nm; Q=5 mL/min; volume injectado 100 μ L. Enantiómero menos retido: R(-)flurbiprofeno; enantiómero mais retido: S(+)flurbiprofeno. 199
- Figura 7.3 Comparação entre modelos e resultados experimentais das isotérmicas de adsorção na coluna "SMB". A esquerda: sistema F10 e à direita: sistema F100, T= 23°C. Utilizam-se os três modelos estudados; Linha pontuada: Langmuir (LG3), Linha tracejada: linear+Langmuir (LLG4), Linha sólida: linear+Langmuir modificado (LLG5). Círculos abertos para as concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido. 201
- Figura 7.4 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) de selectividade para mistura racémica de flurbiprofeno em duas fases móveis distintas. À esquerda: 10/90/0.01 e à direita: 100/0/0.01. Modelo Langmuir (LG3): linha pontuada, linear+Langmuir (LLG4): linha tracejada e linear+Langmuir modificado (LLG5): Linha sólida. 202

- Figura 7.5 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) das isotérmicas de equilíbrio de adsorção (à esquerda) e das selectividades (à direita), para a mistura racémica de flurbiprofeno em duas fases móveis distintas e a uma temperatura de 23°C. Em cima: 10/90/0.01 e em baixo: 100/0/0.01. Em ambas as fases móveis utiliza-se o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5). 203
- Figura 7.6 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção), na coluna "SMB", para uma solução de alimentação de 20.02 g/L da mistura racémica de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 10/90/0.01. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.3s^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5$ mL/min) 205
- Figura 7.7 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção), na coluna "SMB", para uma solução de alimentação de 20.02 g/L da mistura racémica de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 100/0/0.01. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.3s^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5$ mL/min) 205
- Figura 7.8 Regiões de separação da mistura racémica de flurbiprofeno numa composição de eluente de 10/90/0.01, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racémica: $C=2$ g/L, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos). 209
- Figura 7.9 Regiões de separação da mistura racémica de flurbiprofeno numa composição de eluente de 100/0/0.01, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racémica de flurbiprofeno: $C=2$ g/L, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos). 210

- Figura 7.10 Comparação dos valores de consumo de solvente (à esquerda) e produtividade (à direita) da separação dos enantiómeros de flurbiprofeno em função da concentração de alimentação, em duas fases móveis; (sistema F10: 10/90/0.01, linha sólida e círculos abertos; sistema F100: 100/0/0.01, linha tracejada e círculos fechados). A previsão de produtividade é obtida utilizando o modelo SMB (com modelo de isotérmica LLG5). 212
- Figura 7.11 Pormenor da instalação experimental FlexSMB-LSRE® configurada para operar em modo convencional constituída por 6 colunas: 1 coluna nas secções I e IV e 2 colunas nas secções II e III. 213
- Figura 7.12 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de flurbiprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 2 g/L. 215
- Figura 7.13 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de flurbiprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 20 g/L. 216
- Figura 7.14 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de flurbiprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 40 g/L. 217

Anexos

- Figura A1 Comparação entre pontos experimentais e respectivos modelos (LLG5) das isotérmicas de equilíbrio de adsorção obtidas utilizando três valores diferentes de porosidade interparticular ($\varepsilon=0.3/0.4/0.5$), para a mistura racémica de cetoprofeno numa composição 100/0/0.01, a $T=23^{\circ}\text{C}$. A.4

Figura A2	Comparação entre pontos experimentais e respectivos modelos das selectividades obtidas para o sistema C100, com o modelo LLG5, utilizando valores diferentes de porosidade interparticular ($\varepsilon=0.3/0.4/0.5$).	A.4
Figura A3	Comparação entre valores experimentais e modelo LLG5, do comportamento de adsorção da mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA. ($Q=5.0$ mL/min; isotérmica LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6s^{-1}$; $\varepsilon=0.40$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$)	A.5
Figura A4	Comparação entre valores experimentais e modelo LLG5, do comportamento de adsorção da mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel 100/0/0.01, para valores diferentes de porosidade interparticular ($\varepsilon=0.3/0.4/0.5$). ($Q=5.0$ mL/min; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6s^{-1}$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$).	A.5
Figura A5	Comparação entre o comportamento de adsorção da mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel de 100/0/0.01, utilizando valores diferentes de porosidade interparticular ($\varepsilon=0.3/0.4/0.5$) e três valores diferentes de coeficiente de transferência de massa ($k=0.7/0.6/0.5s^{-1}$). ($Q=5.0$ mL/min; isotérmica LLG5; $Pe=2500$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$).	A.6
Figura A6	Comparação entre as previsões dos perfis internos nas colunas SMB no estado estacionário, utilizando os valores de coeficiente de resistência à transferência de massa ajustados para cada valor de porosidade interparticular. ($Q=5.0$ mL/min; isotérmica LLG5; $Pe=2500$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$).	A.7
Figura B1	Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, obtidos no procedimento de eliminação do efeito do TFA na coluna "SMB". Fases móveis (ver Tabela A1); $C_1^F+C_2^F= 20$ g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal: 5 mL/min; volume injectado: 100 μ L.	B.2
Figura B2	Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, obtidos no procedimento de eliminação do efeito do TFA na coluna "leito fixo". Fases móveis (ver Tabela A1); $C_1^F+C_2^F= 20$ g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal: 5 mL/min; volume injectado: 100 μ L.	B.2
Figura B3	Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, obtidos no procedimento de eliminação do efeito do TFA na coluna "Analítica". Fases móveis (ver Tabela A1); $C_1^F+C_2^F= 20$ g/L; detecção por UV a 260 nm; $Q=5$ mL/min; volume injectado: 100 μ L.	B.3
Figura C1	Pulso do composto não retido (1,2,3-tri-tert-butylbenzene) na coluna "SMB" numa fase móvel de 100/0/0.01; ($C=10$ g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μ L).	C.1

- Figura C2 Pulso de uma mistura de padrões de polimetilacrilato de metilona coluna "SMB" (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100/0/0.01; (Massas molares variáveis; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL). C.2
- Figura C3 Pulso de uma mistura de um padrão de polimetilacrilato de metilona com MW=3000 na coluna "SMB" (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA; (Massas molar de 3000; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL). C.2
- Figura C4 Pulso de uma mistura de padrões de poliestireno de massa molar variáveis na coluna 3 (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA; (Massas molar de 3000; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL). C.3
- Figura E1 Comparação entre os perfis internos experimentais no estado estacionário cíclico e respectiva previsão obtida por simulação da unidade de SMB para a separação da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando uma concentração da corrente de alimentação de 2 g/L, 20 e 40 g/L. E.1
- Figura E2 Comparação entre os perfis internos experimentais no estado estacionário cíclico e respectiva previsão obtida por simulação da unidade de SMB para a separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando uma concentração da corrente de alimentação de 2 g/L, 10, 20 e 40 g/L. E.3
- Figura G1 Montagem Experimental com o detector Ultravioleta em série com o detector Polarímetro. G.1
- Figura G2 Resposta do detector Ultravioleta (UV) nas experiências de cromatografia frontal da mistura racémica de cetoprofeno (à esquerda) e do padrão de S-cetoprofeno, numa fase móvel de composição 100/0/0.01, a T=25°C. G.2
- Figura G3 Resposta do detector Polarímetro (POL) nas experiências de cromatografia frontal da mistura racémica de cetoprofeno (à esquerda) e do padrão de S-cetoprofeno, numa fase móvel de composição 100/0/0.01, a T=25°C. G.3
- Figura G4 Resposta do detector Ultravioleta (UV) nas experiências de cromatografia frontal nas experiências de eluição da mistura racémica de flurbiprofeno (no topo), do padrão de R-flurbiprofeno (ao centro) e do padrão de S-flurbiprofeno (em baixo), numa fase móvel de composição 100/0/0.01, a T=25°C. G.5

Lista de Tabelas

	Pág.
Capítulo 2	
Tabela 2.1 Classificação dos anti-inflamatórios não esteróides comercializados em Portugal. [Fonte: Infarmed, <i>Prontuário Terapêutico</i> , 2010]	8
Tabela 2.2 Riscos/Benefícios associados à utilização dos anti-inflamatórios não esteróides.	10
Tabela 2.3 Estrutura geral dos profenos (misturas racémicas) e alguns exemplos representativos.	11
Tabela 2.4 Derivados do ácido propiónico (Profenos) comercializados em Portugal exclusivamente para o aparelho locomotor. [Fonte: Infarmed, <i>Prontuário Terapêutico</i> , 2010]	12
Tabela 2.5 Algumas referências de novas modificações e implementações da tecnologia de SMB.	22
Capítulo 3	
Tabela 3.1 Características das colunas de cromatografia líquida utilizadas.	33
Tabela 3.2 Características dos métodos mais utilizados na determinação de isotérmicas de equilíbrio de adsorção multicomponente. [Fonte: Seidel-Morgenstern A., 2004]	35
Tabela 3.3 Equações do modelo para cromatografia de leito fixo (cromatografia frontal), utilizando o modelo de força motriz linear (LDF).	41
Tabela 3.4 Equações dos modelos SMB e TMB em estado transiente.	43
Tabela 3.4 Equações dos modelos SMB e TMB em estado transiente. (Cont.)	44
Tabela 3.5 Equações do modelo TMB em estado estacionário.	47
Tabela 3.6 Condições de operação para separação completa de acordo com a Teoria de Equilíbrio. Isotérmicas de adsorção lineares. [Fonte: Mazzotti <i>et al.</i> , 1997]	52

Tabela 3.7	Condições de operação para separação completa, no âmbito da Teoria de Equilíbrio. Isotérmicas de Langmuir e linear+Langmuir. [Fonte: Mazzotti <i>et al.</i> , 1997]	54
Tabela 3.8	Critérios de desempenho utilizados na operação em SMB.	59

Capítulo 4

Tabela 4.1	Separação dos enantiômeros de cetoprofeno à escala analítica, utilizando uma coluna Chiralpack AD. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.	78
Tabela 4.2	Separação dos enantiômeros de cetoprofeno com um ponto de vista preparativo. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.	80
Tabela 4.2 (Cont.)	Separação dos enantiômeros de cetoprofeno com um ponto de vista preparativo. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.	81
Tabela 4.3	Solubilidade do cetoprofeno em cinco composições da fase móvel e a diferentes temperaturas, expressa em g/kg solvente (numa base livre de soluto).	83
Tabela 4.4	Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do cetoprofeno nas três composições de fase móvel utilizando a coluna "leito fixo". M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q_A , Q_B , b_1 , b_2 , b_3 e b_4 são os parâmetros estimados para os quatro modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir ($m_1 \neq m_2$); BLG6 - bi-Langmuir; SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.	90
Tabela 4.4 (Cont.)	Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do cetoprofeno nas três composições de fase móvel utilizando a coluna "leito fixo". M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q_A , Q_B , b_1 , b_2 , b_3 e b_4 são os parâmetros estimados para os quatro modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir ($m_1 \neq m_2$); BLG6 - bi-Langmuir; SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.	91

Capítulo 5

Tabela 5.1	Separação dos enantiômeros de flurbiprofeno à escala analítica, utilizando uma coluna Chiralpack AD. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.	119
Tabela 5.2	Solubilidade da mistura racémica de flurbiprofeno em três composições puras de solvente e para duas temperaturas diferentes, expressa em g/kg solvente em base livre de soluto.	120
Tabela 5.3	Parâmetros estimados do modelo para as isotérmicas de adsorção do flurbiprofeno para as cinco composições da fase móvel estudadas. M é o número de pontos experimentais; N é o número de parâmetros estimados; m_1 , m_2 , Q, b_1 e b_2 são os parâmetros correspondentes para os três modelos de isotérmicas: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definido nas Equações 3.7 e 3.8, respectivamente.	127
Tabela 5.4	Parâmetros estimados do modelo para as isotérmicas de adsorção do flurbiprofeno para a composição da fase móvel 10/90/0.01 para as temperaturas de 23°C e 35°C. M é o número de pontos experimentais; N é o número de parâmetros estimados; m_1 , m_2 , Q, b_1 e b_2 são os parâmetros correspondentes para os três modelos de isotérmicas: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definido nas Equações (3.6) e (3.7), respectivamente.	149

Capítulo 6

Tabela 6.1	Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do cetoprofeno, na coluna "SMB", para uma temperatura de 23°C, nas duas composições de fase móvel. M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q, b_1 , e b_2 são os parâmetros estimados para os três modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.	168
------------	--	-----

Tabela 6.2	Condições operatórias e parâmetros utilizados nos modelos Teoria de Equilíbrio (TE), Leito Móvel Verdadeiro (TMB) e Leito Móvel Simulado (SMB) para determinar as regiões de separação dos enantiômeros de cetoprofeno, em duas composições de fase móvel diferentes.	177
Tabela 6.3	Condições operatórias experimentais obtidas na separação de uma mistura racêmica de cetoprofeno para as concentrações de alimentação de 2, 20 e 40 g/L, utilizando a instalação de Leito Móvel Simulado.	184

Capítulo 7

Tabela 7.1	Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do flurbiprofeno, para uma temperatura de 23°C, nas duas composições de fase móvel. M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q, b_1 , b_2 e b_3 são os parâmetros estimados para os três modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.	200
Tabela 7.2	Condições operatórias e parâmetros utilizados nos modelos Teoria de Equilíbrio (TE), Leito Móvel Verdadeiro (TMB) e Leito Móvel Simulado (SMB) para determinar as regiões de separação dos enantiômeros de flurbiprofeno, em duas composições de fase móvel diferentes.	208
Tabela 7.3	Condições operatórias experimentais obtidas na separação de uma mistura racêmica de flurbiprofeno para as concentrações de alimentação de 2, 20 e 40 g/L, utilizando a instalação de Leito Móvel Simulado.	214

Anexo A

Tabela A1	Valores calculados para a porosidade da partícula, obtidos para diferentes valores de porosidade interparticular utilizando o valor experimental da porosidade total na fase móvel com a composição de 100/0/0.01.	A.3
Tabela A2	Parâmetros estimados para o modelo LLG5, obtidos pela modelização das isotérmicas de adsorção da mistura racêmica de cetoprofeno numa composição de fase móvel de 100/0/0.01, a uma temperatura de 23°C e para três valores de porosidade interparticular.	A.3

Anexo B

Tabela B1	Fases móveis iniciais e fases móveis utilizadas na limpeza das colunas "analítica", "leito fixo" e "SMB".	B.1
-----------	---	-----

Anexo D

Tabela D1	Parâmetros obtidos experimentalmente (por ajuste) e estimados (por correlações) para as misturas racêmicas de cetoprofeno e de flurbiprofeno.	D.3
Tabela D2	Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema C100.	D.4
Tabela D3	Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema C10.	D.5
Tabela D4	Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema F100.	D.6
Tabela D5	Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema F10.	D.7

Anexo E

Tabela E1	Valores Experimentais obtidos em todas as experiências de SMB realizadas para a separação da mistura racêmica de flurbiprofeno.	E.1
Tabela E2	Valores Experimentais obtidos em todas as experiências de SMB realizadas para a separação da mistura racêmica de cetoprofeno.	E.2

Lista de Símbolos

A	Componente menos retido	
B	Componente mais retido	
b	Parâmetro da isotérmica de adsorção	L_{fluido}/g
C	Concentração na fase líquida	g/L
D_{ax}	Coefficiente de dispersão axial	cm^2/s
D_C	Diâmetro da coluna	cm
D_m	Coefficiente de difusão molecular	cm^2/s
D_{pe}	Coefficiente de difusão efectiva	cm^2/s
e	Erro relativo entre a quantidade do componente que entra e a quantidade do componente que sai do sistema	(%)
ID	Diâmetro interno da coluna	mm
k	Coefficiente de resistência à transferência de massa	s^{-1}
K	Declive inicial da isotérmica de adsorção	
L	Comprimento	mm
L_C	Comprimento da coluna	cm
m	Massa	g
m	Parâmetro da isotérmica de adsorção	
m	Razão de caudais volumétricos (Equação 3.83)	
M	Número de pontos experimentais da isotérmica de adsorção	
N	Número de parâmetros do modelo da isotérmica de adsorção	
P	Pressão	bar
Pe	Número de Peclet mássico	
pr	Produtividade do adsorvente	$g/(hr.L_{\text{leito}})$
PUR	Pureza da corrente de refinado	(%)
PUX	Pureza da corrente de extracto	(%)
q	Concentração média adsorvida na fase sólida	$g/L_{\text{sólido}}$
Q	Parâmetro da isotérmica de adsorção	$g/L_{\text{sólido}}$
Q	Caudal volumétrico de líquido no TMB	mL/min
q^*	Concentração adsorvida na fase sólida	$g/L_{\text{sólido}}$

Q^*	Caudal volumétrico de líquido no SMB	mL/min
Q_S	Caudal de sólido	mL _{sólido} /min
Q_T	Caudal total de entrada ou saída	mL/min
RCR	Recuperação na corrente de refinado	(%)
RCX	Recuperação na corrente de extracto	(%)
R_s	Resolução	
S	Solubilidade	g/kg solvente
SC	Consumo de solvente	L/g alimentação
St	Número de Stanton mássico	
t	Variável tempo	s
T	Temperatura	°C
t^*	Tempo de rotação	s
u_i	Velocidade superficial de líquido na coluna	cm/s
u_S	Velocidade intersticial de sólido na operação TMB	cm/s
V	Volume	mL
V_C	Volume da coluna	mL
x	Coordenada axial adimensional	
z	Coordenada axial	cm

Símbolos Gregos

Γ	Parâmetro adimensional (Equação 3.65)
α	Factor de selectividade
α_K	Número de unidade de transferência de massa
β	Margem de segurança (modelo linear)
ε	Porosidade interparticular
ε_p	Porosidade da partícula
ε_T	Porosidade total
γ	Razão entre as velocidades intersticiais de líquido e de sólido na operação TMB
γ^*	Razão entre as velocidades intersticiais de líquido e de sólido na operação SMB
λ	Parâmetro da isotérmica de adsorção (Equação 3.104)

π	Produtividade do leite (Equação 3.111)	g/L
θ	Tempo adimensional	
τ	Tempo de passagem	s
v	Velocidade intersticial de líquido na operação TMB	cm/s
v^*	Velocidade intersticial de líquido na operação SMB	cm/s
ω	Raízes da equação quadrática (Equação 3.103)	

Subscritos e Sobrescritos

A	Componente menos retido
B	Componente mais retido
<i>d</i>	dessorvido
E	Eluente
<i>E</i>	Experimental
F	Alimentação
<i>i</i>	Componente ($i=A,B$)
<i>j</i>	Secção ($j=I,II,III,IV$)
<i>j</i>	Ponto experimental da isotérmica de adsorção ($j=1,\dots,M/2$)
<i>k</i>	Coluna ($k=1,2,\dots,6$)
R	Refinado
R	Enantiómero menos retido
REC	Reciclo
S	Enantiómero mais retido
<i>T</i>	Teórico
V	Frasco vazio
VR	Conjunto frasco e resíduo
VS	Conjunto frasco e solução saturada
X	Extracto

Lista de Abreviaturas

AINEs	Anti-inflamatórios não esteróides
BLG6	Modelo de isotérmica de adsorção tipo bi-Langmuir
C10	Separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA
C100	Separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA
COX	Enzimas ciclo-oxigenases
CP	Mistura racémica de cetoprofeno
CSP	Fase estacionária quiral
DEA	Dietilamina
EU	União Europeia
EUA	Estados Unidos da América
F10	Separação da mistura racémica de flurbiprofeno numa composição de fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA
F100	Separação da mistura racémica de flurbiprofeno numa composição de fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA
FP	Mistura racémica de flurbiprofeno
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
LDF	Modelo de força motriz linear
LG3	Modelo de isotérmica de adsorção tipo Langmuir
LLG4	Modelo de isotérmica de adsorção tipo linear+Langmuir
LLG5	Modelo de isotérmica de adsorção tipo linear+Langmuir modificado
MtBE	Éter metil-tert-butílico
ODEs	Sistema de equações diferenciais ordinárias
PDEs	Sistema de equações às derivadas parciais
SD	Desvio padrão
SMB	Leito móvel simulado (<i>Simulated Moving Bed</i>)
SQ	Soma dos quadrados dos resíduos
TE	Teoria de Equilíbrio
TFA	Ácido trifluoracético
TMB	Leito móvel verdadeiro (<i>True Moving Bed</i>)
UOP	<i>Universal Oil Products</i>
UV	Detector Ultra-Violeta

Capítulo 1

Introdução

1.1 Enquadramento e motivação

As questões da quiralidade constituem uma das maiores preocupações da indústria farmacêutica dos nossos dias, tendo as técnicas de separação de compostos quirais sido alvo de um notável desenvolvimento nas duas últimas décadas. Neste campo, a separação directa de enantiómeros por cromatografia líquida preparativa, utilizando fases estacionárias quirais, tem sido reconhecida como uma importante alternativa às técnicas convencionais, tais como, a síntese enantio-selectiva e a via enzimática.

O sistema de enantiómeros proposto nesta tese é a separação de profenos, mais especificamente o cetoprofeno e o flurbiprofeno, utilizando uma fase estacionária quiral derivada da amilose. Os dois compostos referidos são ambos exemplos de profenos, a classe mais relevante dos Anti-Inflamatórios Não Esteróides (AINEs). Estes fármacos são extensivamente utilizados no alívio da dor e no tratamento das diversas formas de estados inflamatórios, sendo especialmente vocacionados para o tratamento das doenças articulares, como sejam a artrite reumatóide, a osteoartrite e a espondilite anquilosante. A utilização de fármacos baseados em enantiómeros apresenta claras vantagens relativamente à utilização de misturas racémicas. Por um lado, a dose administrada é significativamente reduzida, pelo que os possíveis efeitos secundários indesejáveis serão consequentemente menores. Por outro, a utilização do enantiómero biologicamente activo puro aumenta a eficiência do efeito terapêutico, sendo as propriedades farmacológicas e metabólicas mais fáceis de definir. Actualmente, observa-se um declínio significativo no desenvolvimento de misturas racémicas e um importante incremento da comercialização de fármacos na forma enantiomérica. Na

literatura recente encontram-se vários estudos que indicam diferentes propriedades farmacológicas para os enantiómeros R e S dos profenos.

Partindo destes pressupostos, a resolução quiral dos enantiómeros dos profenos pode contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos com aplicações terapêuticas distintas e acções farmacológicas mais seguras. Os métodos de separação disponíveis para a separação de misturas racémicas de profenos incluem a resolução por formação de um sal (cristalização), a resolução enzimática, a separação por membranas e a resolução cromatográfica. Esta última ocupa actualmente uma posição de destaque, não apenas como técnica analítica, mas também à escala preparativa para a obtenção de enantiómeros a partir de misturas racémicas. O seu campo de aplicação está a alargar-se a novas áreas e a tecnologia associada procura o desenvolvimento de sistemas mais eficazes, nomeadamente, através da introdução do conceito de Leito Móvel Simulado (*Simulated Moving Bed*, SMB).

A tecnologia de SMB constitui um processo contínuo de cromatografia, ultrapassando as limitações usuais da cromatografia preparativa clássica, em particular, as necessidades elevadas de solvente e adsorvente e a significativa diluição dos produtos. Nas duas últimas décadas, várias foram as contribuições para a compreensão desta tecnologia, bem como para o desenvolvimento de técnicas mais avançadas de operação em sistemas cíclicos multi-coluna.

A optimização de um processo de separação em leito móvel simulado é uma tarefa complexa que requer uma selecção criteriosa da composição da fase móvel e das condições de operação da unidade. Nesta selecção, e ao contrário do que regularmente ocorre a nível analítico, não é suficiente ter em vista apenas a obtenção de uma resolução (selectividade) elevada. Outros objectivos, tais como a obtenção de solubilidades elevadas e reduzidos tempos de retenção, são aspectos cruciais a ter em conta na optimização do processo de separação.

1.2 Objectivos

Os objectivos principais da tese são:

(i) Projectar e montar uma instalação experimental para a determinação de dados de equilíbrio e cinéticos, baseado na adaptação de um sistema de HPLC;

(ii) Desenvolver métodos experimentais de caracterização do processo cromatográfico, nomeadamente:

Medição de solubilidades (método gravimétrico);

Caracterização hidrodinâmica da(s) coluna(s) cromatográfica(s) (dispersão axial);

Determinação experimental de isotérmicas de adsorção competitivas;

Estimativa das resistências à transferência de massa, através de experiências de cromatografia de leito fixo (cromatografia frontal);

(iii) Implementar experimentalmente o processo de separação em leito fixo e em leito móvel simulado (SMB);

(iv) Desenvolver ferramentas de optimização, modelização e simulação, nomeadamente:

Para estimativa de parâmetros de equilíbrio e cinéticos (modelos de equilíbrio de adsorção, dispersão axial e resistência à transferência de massa);

Para simulação dos processos de cromatografia de leito fixo e de SMB.

Pretende-se que estes objectivos sejam aplicados no estudo dos dois sistemas quirais (cetoprofeno e flurbiprofeno). Será dado especial relevo ao estudo da optimização da composição da fase móvel, tendo como objectivo a performance do processo de separação a nível preparativo (leito fixo e leito móvel simulado). Nesse sentido, será estudada pormenorizadamente a influência da composição da fase móvel em parâmetros fundamentais para a optimização da separação a nível preparativo, tais como, a solubilidade, a selectividade e a retenção.

A operação experimental em leito móvel simulado terá em conta os resultados obtidos nesse processo de optimização. As ferramentas de modelização e simulação serão também utilizadas na comparação entre os resultados experimentais e os previstos tendo em conta os parâmetros dos modelos obtidos pelos métodos experimentais independentes referidos anteriormente.

1.3 Organização

A tese encontra-se dividida em oito capítulos, incluindo o presente, no qual se realiza o enquadramento e motivação do tema a desenvolver, os principais objectivos e qual a organização utilizada para apresentar os estudos desenvolvidos.

No capítulo 2 apresentam-se os anti-inflamatórios não esteróides e dentro desta importante classe de fármacos os profenos, os compostos utilizados na tese. Neste capítulo referem-se os processos de separação tradicionalmente utilizados na obtenção de enantiómeros dos profenos e introduz-se a tecnologia de leito móvel simulado, uma técnica alternativa cujo desenvolvimento nas últimas duas décadas lhe permite ser competitiva para a separação de compostos quirais.

No capítulo 3 descrevem-se as ferramentas utilizadas na optimização do processo de separação por cromatografia líquida preparativa: o método gravimétrico para determinação de solubilidades, o método de adsorção-desorção para a determinação experimental de isotérmicas de adsorção multicomponente, os modelos utilizados na tese para descrever o equilíbrio de adsorção competitivo (misturas binárias), os modelos para simular os processos de cromatografia líquida em leito fixo e em leito móvel simulado. Finalmente, descreve-se a metodologia experimental adoptada para operar a instalação experimental à escala laboratorial de leito móvel simulado utilizada na tese.

No capítulo 4 e no capítulo 5, e utilizando a metodologia apresentada no capítulo 3, apresentam-se e discutem-se os principais resultados obtidos para a separação da mistura racémica de cetoprofeno e flurbiprofeno, respectivamente. Nestes dois capítulos realizam-se experiências em leito fixo, nas quais se utiliza uma coluna de dimensões analíticas cujo adsorvente possui um tamanho de partícula de 20 μm , tamanho que normalmente é usado com fins preparativos. São também apresentadas as previsões dos principais parâmetros de performance do processo de separação preparativo utilizando diferentes composições de eluente. O principal objectivo destes dois capítulos consiste em escolher qual a composição da fase móvel a utilizar na corrente de eluente

aquando da separação experimental das misturas racémicas dos profenos através da operação em leito móvel simulado.

Devido ao facto de se ter optado por efectuar a separação preparativa no sistema de leito móvel simulado existente no LSRE-Porto (FlexSMB-LSRE®), decidiu-se revalidar os modelos escolhidos para prever o comportamento global do processo de adsorção assim como confirmar as previsões efectuadas dos parâmetros de performance, mas utilizando agora uma coluna com dimensões preparativas (uma coluna igual às colunas montadas na instalação de leito móvel simulado). Nestas novas previsões, foram utilizados em conjunto com o modelo baseado na Teoria de Equilíbrio, dois novos modelos: o modelo de leito móvel verdadeiro e o modelo de leito móvel simulado. As previsões efectuadas são, deste modo, bastante mais próximas do comportamento real. Estes estudos são apresentados nos capítulos 6 e 7. O objectivo primordial destes dois capítulos consiste em escolher definitivamente a composição da fase móvel e realizar a separação das duas misturas racémicas de profenos (cetoprofeno no capítulo 6 e flurbiprofeno no capítulo 7).

Por último, no capítulo 8, realiza-se uma apresentação dos principais resultados obtidos na tese assim como as principais conclusões retiradas do trabalho efectuado. Apresentam-se ainda algumas sugestões de trabalho futuro, com as quais se pretende melhorar e/ou complementar os estudos realizados nesta tese.

Anti-Inflamatórios Não Esteróides e Separação por Cromatografia Preparativa e de Leito Móvel Simulado

A cromatografia líquida é um método cada vez mais utilizado na separação de misturas racêmicas de compostos quirais à escala preparativa. A sua utilização pela indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos fármacos tem ultrapassado, em alguns casos, os métodos tradicionais de cristalização ou de síntese assimétrica. Na última década, o contínuo desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas de separação por cromatografia líquida, permitiu a algumas delas, como é o caso da tecnologia de leito móvel simulado, uma melhoria significativa das suas performances, tornando-as comercialmente mais competitivas relativamente a outras técnicas.

Neste capítulo apresentam-se os profenos como a classe mais representativa dos anti-inflamatórios não esteróides, actualmente os fármacos mais prescritos mundialmente. Contudo, e apesar de uma legislação cada vez mais exigente, os profenos continuam a ser, na sua maioria, comercializados na forma racémica. Apresentam-se as principais vantagens da separação dos enantiómeros dos profenos, referindo-se as vantagens da utilização de um método preparativo de cromatografia líquida relativamente aos métodos clássicos. No final do capítulo descreve-se, resumidamente, o funcionamento da tecnologia de leito móvel simulado para a separação preparativa de uma mistura binária.

2.1 Os anti-inflamatórios não esteróides

Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) são fármacos extensivamente utilizados em todo o mundo no alívio da dor e no tratamento das diversas formas de estados inflamatórios, sendo especialmente vocacionados para o tratamento das doenças articulares, como sejam a artrite reumatóide, a osteoartrite e a espondilite anquilosante (Panico *et al.*, 2003).

Desde a Antiguidade (1500 AC) existem referências à utilização de plantas contendo salicilatos. Estas plantas eram capazes de fazer diminuir a febre, aliviar os estados inflamatórios e a dor associada às doenças reumáticas. Contudo, a utilização de AINEs na Era Moderna começou com a introdução da aspirina (ácido acetilsalicílico) em 1899, tendo-se tornado rapidamente no principal medicamento para o tratamento dos estados inflamatórios (Vane, 2003). Apenas a partir do início de 1960 surge uma classe diferente de AINEs, possuidora de um perfil de segurança superior, designada de ácidos 2-arilpropiónicos ou profenos. Um dos fármacos desta classe, o ibuprofeno, foi introduzido no Reino Unido em 1969, e é considerado como um protótipo dos fármacos desta importante subclasse.

Actualmente existe uma vasta gama de fármacos pertencentes à classe dos AINEs que são comercializados em Portugal (Infarmed, Prontuário Terapêutico). As principais classes destes fármacos estão apresentadas na Tabela 2.1, de entre as quais se destaca a classe dos derivados do ácido propiónico ou profenos.

Tabela 2.1 Classificação dos anti-inflamatórios não esteróides comercializados em Portugal. [Fonte: Infarmed, Prontuário Terapêutico, 2010]

<i>i. Derivados do ácido antranílico</i>	<i>vi. Oxicans</i>
<i>ii. Derivados do ácido acético</i>	<i>vii. Derivados sulfanilamídicos</i>
<i>iii. Derivados do ácido propiónico</i>	<i>viii. Compostos não acídicos</i>
<i>iv. Derivados pirazolónicos</i>	<i>ix. Inibidores específicos da COX-2</i>
<i>v. Derivados do indol e do indeno</i>	<i>x. AINEs para uso tópico</i>

Apesar dos inúmeros estudos já realizados, o mecanismo de acção terapêutica dos AINEs ainda não é completamente conhecido. Actualmente sabe-se que as

prostaglandinas são as substâncias causadoras dos processos de febre, aumentam a sensibilidade à dor, promovem os estados inflamatórios, inibem a secreção gástrica e provocam insuficiência renal. A terapia implícita aos AINEs baseia-se na inibição da actividade de um grupo de enzimas denominado de ciclo-oxigenases (COX), as quais são as principais responsáveis pela biossíntese das prostaglandinas. De facto, podem considerar-se pelo menos dois tipos principais (isomorfos) de enzimas ciclo-oxigenases: a primeira, designada por COX-1, possui claramente funções fisiológicas protectoras; a segunda, designada por COX-2, é libertada nos processos inflamatórios. Ao inibir simultaneamente estes dois tipos de enzimas, os AINEs promovem simultaneamente dois efeitos fisiológicos distintos (Vane e Botting, 1998). Por um lado, ao inibir a actividade da enzima COX-1, provocam uma série de efeitos tóxicos indesejados, maioritariamente gastrointestinais e renais (Cryer e Kimmey, 1998; Fendrick *et al.*, 2002; Silverstein *et al.*, 2000). Por outro lado, a inibição da actividade da enzima do tipo COX-2 é responsável pela eficácia clínica do fármaco (i.e., pela sua acção fisiológica).

Deste modo, um AINE ideal deveria inibir selectivamente apenas a enzima COX-2. Com base neste pressuposto, o desenvolvimento de drogas específicas para a inibição das enzimas COX-2, introduzidas em 1999, representou um avanço significativo no tratamento de pacientes com doenças reumáticas e no tratamento da dor. Estas substâncias específicas para a inibição das enzimas COX-2, como o celecoxib e o rofecoxib, fornecem uma significativa acção anti-inflamatória e alívio da dor, semelhante à fornecida pelos AINEs convencionais mas sem a toxicidade associada à inibição da enzima COX-1 (Cannon e Breedveld, 2001). Em Portugal são comercializados os AINEs celecoxib, o etoricoxib, o lumaricoxib, o parecoxib, o fecoxib e o valdecoxib (Infarmed, [Prontuário Terapêutico on-line](#)).

Infelizmente, a inibição da actividade das enzimas COX-2, diminuindo a biossíntese das prostaglandinas, promove o aumento da pressão renal e, conseqüentemente, a insuficiência renal (Brater, 1999). Recentemente, têm também sido relatados casos em que a utilização dos inibidores selectivos das enzimas do tipo COX-2 está relacionada com o aumento do risco de falha cardíaca quando comparado com a utilização de AINEs convencionais, não

existindo ainda uma explicação lógica para este facto (Bennet *et al.*, 2005; Moskowitz *et al.*, 2005; Kearney *et al.*, 2006; Shaughnessy e Gordon, 2006; Moskowitz *et al.*, 2007). Na Tabela 2.2 apresenta-se um resumo dos principais riscos e benefícios da utilização dos AINEs. A gravidade de alguns destes casos tem aumentado a preocupação das entidades reguladoras nacionais e internacionais ao ponto de retirarem alguns fármacos do mercado e simultaneamente contra-indicarem o uso prolongado de outros (Infarmed, 2005, 2006 e 2007; European Medicines Agency, 2006).

Tabela 2.2 Riscos/Benefícios associados à utilização dos anti-inflamatórios não esteróides.

Benefícios	Riscos
Efeito analgésico: Dor moderada e dor aguda, dismenorreia.	Toxicidade Gástrica
Anti-inflamatório (doenças articulares): Artrite reumatóide, osteoartrite, artrite da gota, espondilite anquilosante.	Falha cardíaca Falha renal
Anti-cancerígeno: Cancro do cólon, do esófago, dos ovários, da próstata.	Falha hepática

Contudo, o balanço efectuado pelas entidades farmacêuticas reguladoras continua, de longe, a minimizar os efeitos secundários inerentes à utilização dos AINEs em favor dos seus benefícios. Este comportamento tem sido ainda mais justificado com alguns importantes benefícios que foram descobertos recentemente, como sejam a diminuição da progressão da doença de Alzheimer (Szekely *et al.*, 2004; Levites *et al.*, 2006; Wilcok, 2006; McGeer e McGeer, 2007) e a acção anti-cancerígena que alguns AINEs demonstram (Méric *et al.*, 2006; Cheng *et al.*, 2007; Groot *et al.*, 2007).

2.2 Os profenos

A subclasse de AINEs mais utilizada continua a ser a dos derivados do ácido 2-arilpropiónico, ou “profenos” (ver Tabela 2.3). Os profenos são considerados

ácidos orgânicos fortes ($pK_a = 3$ a 5), formando sais solúveis em água quando em contacto com reagentes alcalinos. Estes ácidos, apresentam-se ionizados a um valor de pH fisiológico sendo mais lipofílicos que o ácido acetilsalicílico ou o ácido salicílico (DeRuiter, 2002).

Os profenos possuem um carbono assimétrico central (quiral) ligado a um grupo carboxílico, a um grupo metilo e a um grupo alquilo (R) de estrutura variável.

A maioria dos profenos é comercializada na forma racémica, sendo o naproxeno uma excepção (Ghezzi *et al.*, 1998). Actualmente são comercializados em alguns países o ibuprofeno e o cetoprofeno na forma de enantiómero puro (dexibuprofeno ou S-(+)-ibuprofeno e dexcetoprofeno ou S-(+)-cetoprofeno, respectivamente) combinados com outros princípios activos (Bonabello *et al.*, 2003; Burke e Bannister, 2003; Kaehler *et al.*, 2003).

Tabela 2.3 Estrutura geral dos profenos (misturas racémicas) e alguns exemplos representativos.

Estrutura geral dos profenos		
<p>R =</p>	<p>R =</p>	<p>R =</p>
Ibuprofeno	Flurbiprofeno	Cetoprofeno

Estes fármacos proporcionam um perfil terapêutico mais eficaz e também mais seguro, uma vez que estão associados a efeitos secundários reduzidos, ao contrário das misturas racémicas, as quais estão geralmente associadas a um número significativo de efeitos secundários, tais como irritações gástricas e insuficiências hepáticas. O ibuprofeno, o flurbiprofeno e o cetoprofeno são alguns dos profenos comercializados em Portugal e que são apresentados na Tabela 2.4. Os profenos apresentados referem-se apenas aos prescritos para o aparelho

locomotor, contudo, a sua gama de aplicação é mais extensa, como sejam as afecções oculares, o aparelho digestivo, entre outros.

Tabela 2.4 Derivados do ácido propiónico (Profenos) comercializados em Portugal exclusivamente para o aparelho locomotor. [Fonte: Infarmed, Prontuário Terapêutico, 2010]

Profeno	Nome comercial
Ibuprofeno (<i>Ibuprofen</i>)	Trifene / Ozonol / Moment / Brufen
Dexibuprofeno (<i>Dexibuprofen</i>)	Seractil
Naproxeno (<i>Naproxen</i>)	Momendol / Naprozyn / Momendol
Flurbiprofeno (<i>Flurbiprofen</i>)	Strepfen / Froben
Cetoprofeno (<i>Ketoprofen</i>)	Profenid
Dexcetoprofeno (<i>Dexketoprofen</i>)	Kettese
Fenbufeno (<i>Fenbufen</i>)	Basifen
Ácido tiaprofénico (<i>Tiaprofenic acid</i>)	Surgam

2.3 Obtenção de enantiómeros dos profenos

A utilização de fármacos baseados em apenas um enantiómero apresenta claramente algumas vantagens relativamente à utilização das misturas racémicas. Em primeiro lugar, a dose administrada é significativamente reduzida, pelo que os possíveis efeitos secundários indesejáveis serão conseqüentemente menores. Por outro lado, a utilização do enantiómero biologicamente activo puro, aumenta a eficiência do efeito terapêutico, sendo as propriedades farmacológicas e metabólicas mais fáceis de definir.

Antes da década de 90 (Evans *et al.*, 1989; Young *et al.*, 1991; Blanco *et al.*, 2003), o enantiómero S dos profenos era considerado como o eutómero (o enantiómero biologicamente activo) dos profenos e a forma R como o diasteómero (o enantiómero biologicamente inactivo). Contudo, a partir dessa data foram surgindo diversos estudos que associam alguns efeitos terapêuticos ao enantiómero R de diversos profenos. Este conhecimento potenciou e continua a potenciar fortemente o interesse pela separação dos enantiómeros dos

profenos, já que promove o aparecimento de fármacos mais eficazes e menos tóxicos, e fundamentalmente o aparecimento de fármacos com princípios terapêuticos novos.

Por outro lado, e simultaneamente no início da mesma década, surgem as primeiras regulações internacionais específicas quanto à produção e comercialização de fármacos estritamente constituídos por um único enantiómero. Em primeiro, nos EUA e logo de seguida na UE (Branch, 2001). A pressão crescente das autoridades reguladoras contra a comercialização de misturas racémicas, baseada em critérios de maior eficácia clínica e de maior segurança para o consumidor, provocou um redireccionamento de esforços por parte da indústria em geral no aperfeiçoamento de técnicas analíticas e no desenvolvimento de processos de separação de enantiómeros de AINEs (Brown, 1994).

A disponibilidade de enantiómeros individuais é fundamental, por exemplo, na indústria farmacêutica, para a realização de ensaios clínicos que possibilitem uma mais eficaz e mais rápida identificação dos perfis terapêuticos (benéficos, inactivos ou nocivos) de cada enantiómero. Actualmente, observa-se um declínio significativo no desenvolvimento de misturas racémicas e um importante crescimento da quantidade de fármacos compostos por apenas um enantiómero (Caner *et al.*, 2004). Em 2002, dos 500 fármacos mais vendidos em todo o mundo, 269 eram enantiómeros (Rekoske, 2001) e em 2005, do conjunto dos 7 mais comercializados, 6 foram enantiómeros (Van Arnum, 2006).

Podem considerar-se dois métodos principais para a obtenção de enantiómeros, em grande escala: utilizando técnicas de síntese enantioselectiva ou fazendo uso de um método de resolução do racemato (Francotte, 2001).

No que se refere à produção de drogas enantioméricas, a síntese enantioselectiva é bastante útil quando são necessárias grandes quantidades de enantiómero puro. Contudo, esta baseia-se em técnicas que requerem um tempo elevado para a sua obtenção, para além de serem especialmente direccionadas para a produção de um único enantiómero. A resolução racémica é uma boa opção quando se necessita, num curto espaço de tempo, de quantidades não

muito elevadas de ambos os enantiómeros, como acontece geralmente nas etapas iniciais de desenvolvimento de um novo fármaco (Andersson e Allenmark, 2002).

No caso específico dos profenos, os métodos maioritariamente utilizados são: a resolução dos diastémeros por formação de um sal (cristalização), a resolução (cinética) enzimática, as separações baseadas em membranas e a resolução cromatográfica (Rekoske, 2001). A cristalização e a resolução enzimática são técnicas de separação bastante utilizadas em processos de larga escala e para uma grande variedade de compostos, especialmente se o principal objectivo é obter maioritariamente um dos enantiómeros presentes na mistura racémica. Actualmente, as separações baseadas em membranas estão bastante limitadas devido à instabilidade das membranas líquidas utilizadas. Contudo, com um desenvolvimento adequado, prevê-se um futuro promissor para esta técnica.

A resolução enantioselectiva utilizando a cromatografia líquida ocupa actualmente uma posição de destaque, não apenas como técnica de análise quiral, mas também como técnica preparativa para a obtenção de enantiómeros a partir de racematos. A resolução dos enantiómeros de um composto quiral por cromatografia líquida pode ser realizada através de um método indirecto ou através de um método directo (Bojarski *et al.*, 2005).

No método indirecto, utilizam-se reagentes derivatizantes quirais, resultando a formação de diastémeros, os quais são separados posteriormente em colunas aquirais. Este método tem os inconvenientes de necessitar de reagentes derivatizantes, por vezes muito específicos, e o processo de derivatização em si, muitas vezes bastante lento, requerendo um controlo rigoroso do tempo e da temperatura. De entre os reagentes derivatizantes quirais encontram-se a L-cisteína, o grupo isocianato, a etilamina ou a L-leucinamida.

No método directo, a resolução quiral pode ser feita utilizando duas formas alternativas, utilizando uma fase móvel quiral, com um solvente quiral ou um aditivo quiral ou alternativamente utilizando uma fase estacionária quiral, sendo este último o método mais utilizado em cromatografia líquida e o mais atractivo para fins preparativos. Quando se utiliza uma fase móvel quiral, provoca-se uma

derivatização aquiral do grupo carboxílico dos enantiómeros transformando-os normalmente em ésteres ou amidas resultando numa melhoria significativa da qualidade da separação ou numa diminuição dos limites de detecção. Na separação directa dos enantiómeros utilizando colunas com fases estacionárias quirais, estas podem ser constituídas por pequenas moléculas como algumas derivadas de aminoácidos, como as fases tipo "Pirkle", até macromoléculas estéreo-selectivas, incluindo biopolímeros, como a celulose, as proteínas, as ciclodextrinas, ou macromoléculas de antibióticos. O aperfeiçoamento contínuo, ao longo dos últimos 20 anos, das propriedades das fases estacionárias quirais faz com que a cromatografia líquida preparativa seja actualmente uma alternativa bastante atraente do ponto de vista industrial para a produção de enantiómeros através da separação directa da mistura racémica.

Apesar da comercialização de um elevado número de fases estacionárias quirais possibilitando a separação directa por cromatografia líquida de uma vasta gama de compostos, é importante referir que a sua grande maioria apenas tem utilidade para fins analíticos, sendo muito poucas as que são satisfatoriamente utilizadas para fins preparativos. Actualmente, as fases estacionárias comercializadas com as referências Chiralcel OD e Chiralpack AD (*Chiral Technologies Europe*, 2010) baseadas em derivados de polissacarídeos de celulose e de amilose, respectivamente, são de longe as fases estacionárias mais versáteis e disponíveis no mercado. Este tipo de fase estacionária possui a capacidade de saturação estimada mais elevada de entre os diversos tipos de fases estacionárias quirais disponíveis para aplicações preparativas (5-150 mg soluto/g fase estacionária quiral) (Zhang *et al.*, 2005). Recentemente, foram introduzidos no mercado, pela mesma empresa, dois novos tipos de enchimento para separações quirais com as designações de Chiralpack IA, Chiralpack IB e Chiralpack IC. O selector quiral utilizado neste novo tipo de enchimento, apesar de ser o mesmo utilizado nas colunas Chiralcel OD e Chiralpack AD, está agora imobilizado através de ligações químicas covalentes ao suporte de sílica, enquanto nas primeiras está disperso fisicamente pelo suporte. A imobilização do selector quiral no suporte de sílica aumentou consideravelmente a compatibilidade do enchimento com a fase móvel, possibilitando a utilização de solventes mais favoráveis (que possibilitam valores de solubilidades mais elevados) sem comprometer a sua estabilidade. Nas colunas Chiralcel OD e

Chiralpack AD são recomendadas, pelo fabricante, fases móveis como misturas alcano/álcool, álcool puro ou acetonitrilo. A utilização de outro tipo de solventes pode danificar ou mesmo destruir o revestimento do enchimento. Nas colunas Chiralpack IA, IB e IC, é possível a utilização de misturas de praticamente todos os tipos de solventes orgânicos, como sejam o clorofórmio, acetato de etilo, tetrahidrofurano (THF), éter metil-tert-butílico (MtBE) e tolueno, entre outros. Em relação a separações quirais à escala preparativa (Zabkova, *et al.*; 2009), estas novas fases estacionárias, alargando a gama de solventes que pode ser utilizada, potenciam valores mais elevados de performance dos processos de separação.

2.4 A tecnologia de leito móvel simulado (SMB)

A separação cromatográfica à escala preparativa pode ser dividida em duas grandes categorias: através da operação cíclica em modo descontínuo, na qual a fase sólida é alternadamente saturada/regenerada; ou através da operação contínua na qual se promove o contacto em contracorrente entre a fase sólida e a fase líquida. A utilização do modo descontínuo, apesar da sua simplicidade de construção/operação e controlo, representa uma escolha pouco atractiva já que significa baixos valores de produtividade e elevados consumos de solvente. Pelo contrário, um processo em contracorrente maximiza a força motriz requerida para transferência de massa entre a fase sólida e a fase líquida, otimizando a utilização da mesma quantidade de sólido/líquido relativamente à mesma separação mas utilizando o modo descontínuo. Contudo, a operação em contracorrente, geralmente designada por leito móvel verdadeiro (TMB) pressupõe o movimento não só do líquido mas também do sólido, o que em termos práticos possui enormes desvantagens. O atrito provocado pelo movimento do sólido que por sua vez aumenta o seu desgaste com consequências em termos de perda de eficiência faz com que o processo seja de implementação bastante difícil.

A solução prática para a resolução deste problema foi desenvolvida no início dos anos 60 (Broughton e Gerhold, 1961) sob a designação de operação em leito móvel simulado (SMB) e implementada pela *Universal Oil Products*, UOP (USA)

através do processo "Sorbex[®]" em 1964. A tecnologia foi inicialmente utilizada na indústria petroquímica, na separação em larga escala de compostos particularmente difíceis de separar com os processos convencionais como a destilação (Rajendran *et al.*, 2009). Alguns exemplos de sucesso da implementação desta tecnologia são, de entre outros, o processo "Parex[®]" para a separação do *p*-xileno de uma mistura dos seus isómeros em zeólitos, o processo "Molex[®]" para a separação de parafinas lineares de uma mistura de hidrocarbonetos ramificados e de cadeia cíclica, o processo "Olex[®]" para a separação de olefinas das parafinas (Pais, 1999; Sá Gomes *et al.*, 2006).

Desde então, esta tecnologia tem sido progressivamente implementada em novos sectores da indústria: na separação de carboidratos, na indústria alimentar, e mais tarde, na indústria da química fina, na separação de compostos quirais, onde ocupa actualmente uma posição de destaque. O sucesso da tecnologia deveu-se em grande parte ao desenvolvimento significativo de fases estacionárias mais estáveis e mais eficientes. A implementação definitiva da tecnologia de leito móvel simulado na indústria farmacêutica, pela companhia *Novasep* (França) na indústria farmacêutica e química fina (início da década de 90), levou outras companhias a desenvolver e a instalar novas unidades de SMB para a produção de enantiómeros. Actualmente, a lista de empresas possuidoras de métodos de SMB, está rapidamente a crescer, incluindo as empresas *AMPAC Fine Chemicals* (USA), *Chiral Technologies* (USA), *Pharm-Eco* (USA), *Honeywell Specialty Chemicals* (Irlanda), *Bayer* (Alemanha), *Merck* (Alemanha), *UCB Pharma* (Bélgica), *H. Lundbeck* (Dinamarca), *Novartis* (Suíça), *CarboGen AMCIS* (Suíça) e *GlaxoSmithKline* (Reino Unido), entre outras (McCoy, 2000; Stinson, 2001; McCormick, 2006). O aumento da importância da tecnologia reflecte-se igualmente no aumento significativo de publicações entre as décadas de 90 e seguinte, como se pode confirmar pela Figura 2.4 obtida por uma pesquisa na *ISIS Web of Knowledge* em Maio de 2010.

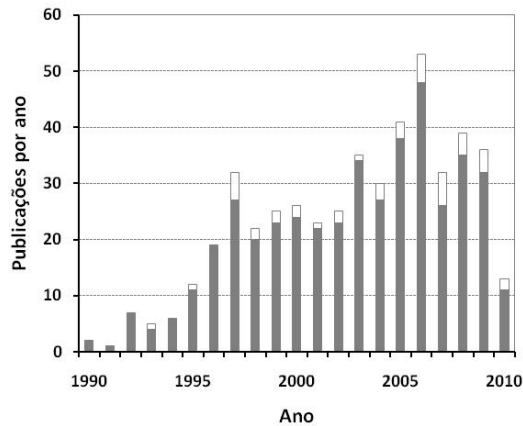


Figura 2.1 Resultado da pesquisa do número de publicações por ano, desde 1990 a 2010 (Maio), com o critério título=SMB ou título=SMB AND título=Chiral. [Fonte: ISIS Web of Knowledge, 2010]

O conceito básico de um sistema de leito móvel simulado baseia-se em promover um contacto em contracorrente entre uma fase sólida (adsorvente) e uma fase líquida (solvente), maximizando a força motriz para a transferência de massa. Comparativamente à cromatografia clássica de eluição, a tecnologia de SMB permite ganhos significativos, nomeadamente, valores de produtividade elevados e menor consumo de solvente. Por outro lado, também permite a recuperação do produto com elevado grau de pureza, mesmo em situações em que a selectividade ou a eficiência da fase estacionária é baixa (Juza *et al.*, 2000).

O princípio do SMB pode ser mais facilmente compreendido através da equivalência com a operação em leito móvel verdadeiro (*True Moving Bed*, TMB). Na operação ideal em TMB, as fases líquida e sólida movimentam-se em direcções opostas (Figura 2.2a). Na unidade de TMB existem quatro linhas externas de líquido; duas linhas de entrada (alimentação e eluente) e duas linhas de saída (extracto e refinado), sendo, por isso, a unidade dividida em quatro secções distintas. O líquido que sai da secção IV é reciclado para o início da secção I, enquanto o sólido que sai da secção I é reciclado de volta para a secção IV.

Em ambos os tipos de operação (SMB e TMB), a zona I encontra-se localizada entre a entrada de eluente e a saída do extracto, a zona II encontra-se entre a

saída do extracto e a entrada da alimentação, a zona III entre a entrada da alimentação e a saída do refinado e, finalmente, a zona IV situa-se entre a saída do refinado e a entrada de eluente. Considerando uma alimentação constituída por uma mistura binária (mistura racémica), o componente menos retido no adsorvente (espécie A) é recuperado na corrente de refinado, enquanto o componente mais retido (espécie B) é recuperado na corrente de extracto.

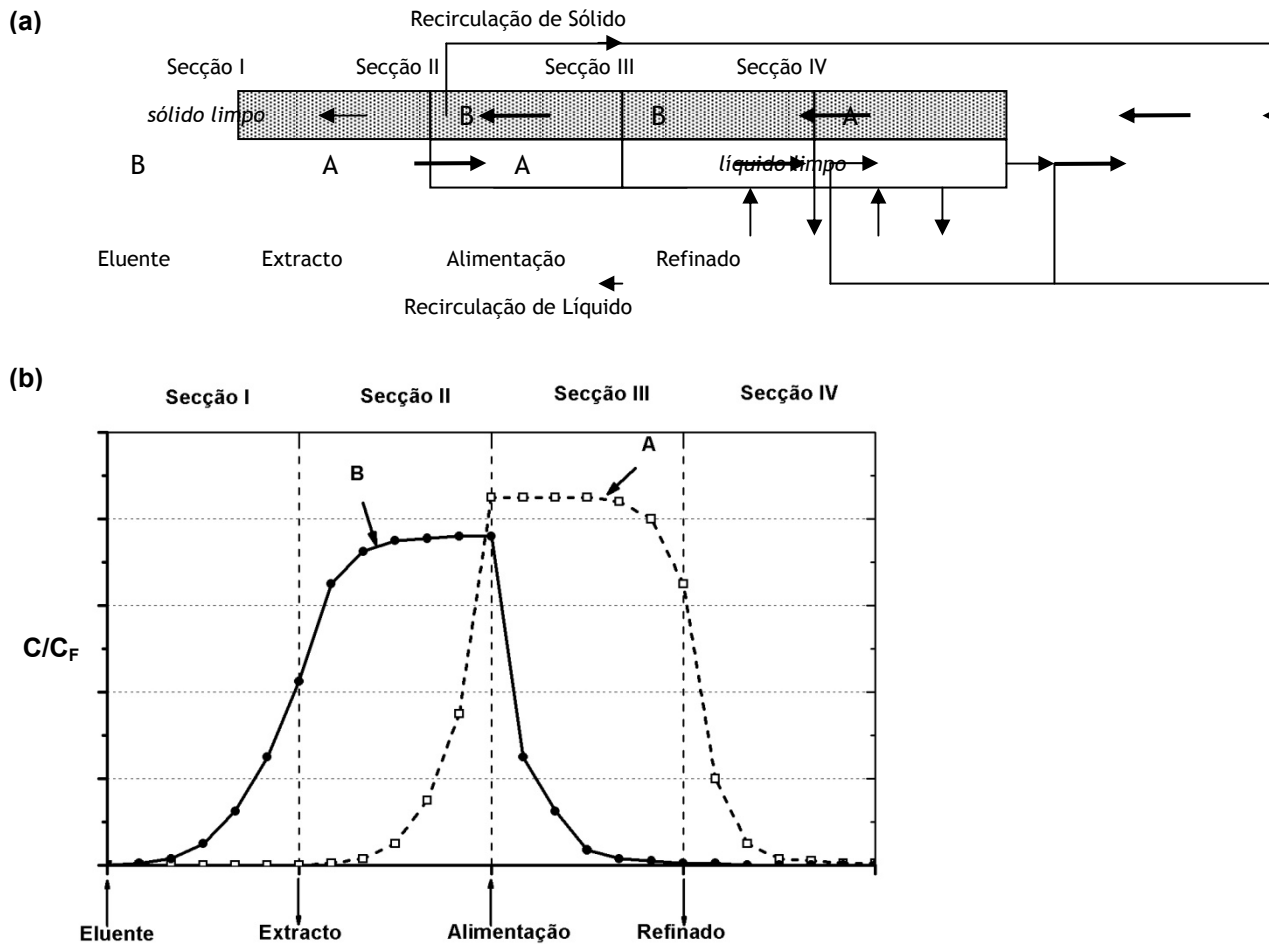


Figura 2.2 Diagrama esquemático de um leito móvel verdadeiro (TMB): (a) representação das direcções dos dois componentes em cada secção e (b) perfis típicos das concentrações internas (A: componente menos retido e B: componente mais retido).

Na prática, o movimento da fase estacionária é irrealista uma vez que originaria obviamente problemas de atrito. Assim, o movimento em contracorrente do

adsorvente sólido com a fase líquida é simulado (Figura 2.3), movendo periodicamente as posições de entrada e de saída de líquido no mesmo sentido do movimento da fase líquida (Nicoud e Chartron, 1995; Juza *et al.*, 2000). Este processo de simulação, obtido pelo movimento discreto e periódico das posições de entrada e saída, pode ser feito, geralmente, de duas formas alternativas principais. A primeira forma, implementada no processo *Sorbex*[®], desenvolvido pela *UOP*, utiliza uma válvula única cuja operação permite que num dado instante, apenas linhas entre a válvula e as colunas de leito fixo estejam activas. Na forma alternativa, como é exemplo o processo desenvolvido pela *NovaSep*, utiliza-se um conjunto de válvulas "on-off", colocadas entre cada duas colunas de leito fixo.

Cada secção de uma unidade SMB possui um papel específico na separação. Na zona I, o componente mais retido (B) deve ser completamente dessorvido, de forma a assegurar que o sólido, no início desta zona, seja um adsorvente isento dos dois componentes. Na zona II, o componente menos retido (A) deve ser completamente dessorvido, evitando que contamine o extracto. Na zona III, o componente mais retido (B) deve ser completamente adsorvido, evitando que contamine o refinado. Na zona IV, o componente menos retido (A) deve ser completamente adsorvido, para que o líquido que chega ao fim desta secção esteja limpo dos dois componentes e possa ser reciclado para a zona I, como eluente puro.

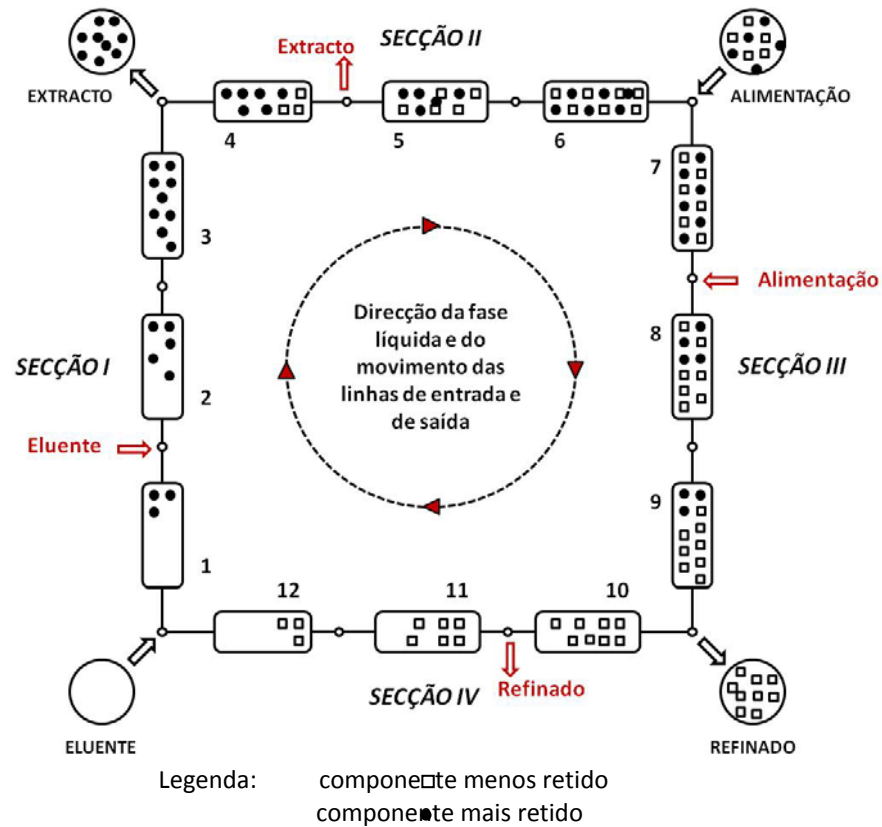


Figura 2.3 Diagrama esquemático de um leito móvel simulado (SMB).

A optimização das condições de operação de uma unidade de SMB envolve, entre outras tarefas, a selecção do número de colunas a utilizar em cada uma das 4 zonas. É também necessária uma escolha dos caudais (alimentação, eluente, refinado, extracto e reciclo) e o tempo de rotação. Devido aos tempos discretos dos pontos de entrada e de saída, a unidade de SMB não chega a atingir um estado estacionário, mas sim um estado estacionário cíclico ou periódico.

Este modo de operação da unidade de SMB, dito "convencional" ou "clássico", caracteriza-se pela utilização de um número fixo de colunas nas 4 zonas e não existe variação dos caudais das correntes de entrada/saída da unidade nem do tempo de rotação. Contudo, nos últimos anos apareceram diversos estudos que utilizando outros modos de operação, ditos "não convencionais", conseguem unidades mais flexíveis capazes de aumentar a performance de separação e alargar a gama de aplicação da tecnologia. Alguns destes modos de operação e

modificações pela combinação com outros processos estão descritos nas referências apresentadas na Tabela 2.5 (Rajendran *et al.*, 2009; Sá Gomes *et al.*, 2006; Seidel-Morgenstern *et al.*, 2008). Não se pretende uma descrição de cada um destes modos de operação, convida-se o leitor a consultar as referências sugeridas.

Tabela 2.5 Algumas referências de novas modificações e implementações da tecnologia de SMB.

1. Condições Operatórias com Gradiente	Referências
1.1 Gradiente de temperatura	Migliorini <i>et al.</i> , 2001
1.2 Gradiente de solvente	Antos <i>et al.</i> , 2001; Aumman <i>et al.</i> , 2007
1.3 Fluido supercrítico	Rajendran <i>et al.</i> , 2005; Welch <i>et al.</i> , 2005
2. Condições Operatórias não constantes	
2.1 Modificação da configuração das colunas (<i>Varicol</i>)	Lundemann <i>et al.</i> , 2000; Pais <i>et al.</i> , 2003; Zhang <i>et al.</i> , 2009
2.2 Modificação dos caudais <i>Partial Feed, Partial withdrawal</i>	Khan <i>et al.</i> , 2009; Kearney <i>et al.</i> , 1992
<i>PowerFeed</i>	Kim <i>et al.</i> , 2005
<i>Partial Discard</i>	Bae <i>et al.</i> , 2006
<i>Outlet Streams Swing (OSS)</i>	Sá Gomes <i>et al.</i> , 2007
2.3 Modelização das concentrações <i>Modicon</i>	Schramm <i>et al.</i> , 2002
<i>M3C</i>	Abdelmoumen <i>et al.</i> , 2007
3. Combinação com a cromatografia gasosa	Quattrini <i>et al.</i> , 1999
4. Combinação com a cristalização	Ströhlein <i>et al.</i> , 2007

2.5 Conclusões

Os profenos são anti-inflamatórios não esteróides, uma classe de fármacos bastante utilizada em todo o mundo, maioritariamente na terapia de doenças articulares. Contudo, e apesar da legislação internacional impor cada vez mais limites a este tipo de fármacos, devido a considerações de segurança, os profenos continuam a ser comercializados na forma de uma mistura racémica. Por outro lado, alguns estudos apontam para diversas vantagens da separação

dos enantiómeros dos profenos, como os do cetoprofeno e do flurbiprofeno, entre as quais o aparecimento de princípios terapêuticos novos. A acção anti-cancerígena e a diminuição da progressão da doença de Alzheimer são dois exemplos de possíveis benefícios terapêuticos que, só por si, justificariam a separação dos enantiómeros do flurbiprofeno. Neste sentido, propõe-se a utilização de um método de separação como a cromatografia líquida de leito móvel simulado para a separação dos enantiómeros dos profenos. O desenvolvimento adquirido por esta tecnologia permite obter performances de separação mais vantajosas que as obtidas com os métodos tradicionalmente utilizados. Para além de permitir a obtenção simultânea de ambos os enantiómeros com um elevado grau de pureza, possibilita igualmente obter valores de produtividade elevados e menor consumo de solvente.

2.6 Referências

- Abdelmoumen, S.; Muhr, L.; Bailly, M.; Ludemman, O.; "The M3C Process: A New Multicolumn Chromatographic Process Integrating a Concentration Step. I—The Equilibrium Model", **Sep. Sci. Technol.** 41 (2006) 2639-2663.
- Andersson, S.; Allenmark, S.; "Preparative chiral chromatographic resolution of enantiomers in drug discovery", **J. Biochem. Biophys. Meth.** 54 (2002) 11-23.
- Antos, D.; Seidel-Morgenstern, A.; "Application of gradients in the simulated moving bed process", **Chem. Eng. Sci.** 56 (2001) 6667-6682.
- Aumman, L.; Morbidelli, M.; "A Continuous Multicolumn Countercurrent Solvent Gradient Purification (MCSGP) Process", **Biotech. Bioeng.** 98 (2007) 1043-1055.
- Bae, Y.; Lee, C.; "Partial-discard strategy for obtaining high purity products using simulated moving bed chromatography", **J. Chromatogr. A** 1122 (2006) 161-173.

- Bennett, J.; Daugherty, A.; Herrington, D.; Greenland, P.; Roberts, H.; Taubert, K.; "The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)", **Circulation** **111** (2005) 1713-1716.
- Blanco, M.; Gonzáles, J.; Torras, E.; "Enantiomeric purity determination of ketoprofen by capillary electrophoresis: development and validation of the method", **Anal. Bioanal. Chem.** 375 (2003) 157-163.
- Bojarski, J.; Aboul-Enein, H.; Ghanem; "What's New in Chromatographic Enantioseparations", **Cur. Anal. Chem.** 1 (2005) 59-77.
- Bonabello, A.; Galmozzi, M.; Canaparo, R.; Isaia, G.; Serpe, L.; Muntoni, E.; Zara, G.; "Dexibuprofen (S(+)-Isomer Ibuprofen) Reduces Gastric Damage and Improves Analgesic and Antiinflammatory Effects in Rodents", **Anesth. Analg.** 97 (2003) 402-408.
- Brater, D.; "Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on renal function: Focus on cyclooxygenase-2-Selective inhibition", **Am. J. Med.** 107 (1999) 65S-71S.
- Branch, S.; in G. Subramanian (Editor), in "International Regulation of Chiral Drugs", Wiley-VCH, Weinheim, 2001, Chapter 13, p. 317-341.
- Brown, J.; in G. Subramanian (Editor), in "A Practical Approach to Chiral Separations by Liquid Chromatography", Wiley-VCH, Weinheim, 1994, Chapter 3, p. 57.
- Broughton, D.; Gerhold, C.; "Continuous sorption process employing fix beds of sorbent and moving inlets and outlets", **US Patent** 2,985,589 (1961).
- Burke, D.; Bannister, J.; "Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management", **Acute Pain** 5 (2003) 57-62.
- Caner, H.; Groner, E.; Levy, L.; "Trends in the development of chiral drugs", **Drug Discov. Today** 9, 3 (2004) 105-110.

Cannon G.; Breedveld, F.; "Efficacy of cyclooxygenase-2-Specific inhibitors", **Am. J. Med.** 110 (2001) 6S-12S.

Chiral Technologies Europe, *Daicel Catalogue* 2010.

Cheng, I.; Liu, X.; Plummer, S.; Krumroy, L.; Casey, G.; Witte, J.; "COX2 genetic variation, NSAIDs, and advanced prostate cancer risk", **Br. J. Cancer** 97 (2007) 557-561.

Christopher J. Welch, C.; Leonard, W.; Da Silva, J.; Biba, M.; Walker, A., Henderson, W.; Laing, B.; Mathre, D.; "Preparative Chiral SFC as a Green Technology for Rapid Access to Enantiopurity in Pharmaceutical Process Research", **LCGC North Amer.** 23 (2005) 16-29.

Cryer, B.; Kimmey, M.; "Gastrointestinal Side Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs", **Am. J. Med.** 105 (1998) 20S.

DeRuiter, J.; "Principles of Drug Action 2", Fall 2002
(www.duc.auburn.edu/~deruija/nsaids_2002.pdf).

European Medicines Agency, Press Release, "European Medicines Agency update on review of non-selective NSAIDs", Doc. Ref. EMEA/378695/2006, Press office, London, 26 September 2006 (www.emea.europa.eu).

Evans, A.; Nation, R.; Sansom, L.; "Lack of effect of cimetidine on the pharmacokinetics of R(-)- and S(+)-ibuprofen", **Br. J. Clin. Pharmac.** 28 (1989) 143-149.

Fendrick, A.; Bandekar, R.; Chernew, M.; Sheiman, J.; "Role of initial NSAID choice and patient risk factors in the prevention of NSAID gastropathy: A decision analysis", **Arthritis Rheum.** 47 (2002) 36-43.

Francotte, E.; "Enantioselective chromatography as a powerful alternative for the preparation of drug enantiomers", **J. Chromatogr. A** 906 (2001) 379-397.

Ghezzi, P.; Melillo, G.; Meazza, C.; Sacco, S.; Pellegrini, L.; Asti, C.; Porzio, S.; Marullo, A.; Sabbatini, V.; Caselli, G.; Bertini, R.; "Differential Contribution of R and S Isomers in Ketoprofen Anti-inflammatory Activity: Role of Cytokine Modulation", **J. Pharmacol. Exper. Ther.** 287 (1998) 969-974.

Groot, D.; Vries, E.; Groen, H.; Jong, S.; "Non-steroidal anti-inflammatory drugs to potentiate chemotherapy effects: From lab to clinic", **Crit. Rev. Oncol./Hematol.** 61 (2007) 52-69.

Infarmed, Departamento de Farmacovigilância, Ministério da Saúde, "Atualização da informação de segurança relativa aos anti-inflamatórios não esteróides", Circular Informativa, Nº109/CA, 17 Outubro 2005.

Infarmed, Departamento de Farmacovigilância, Ministério da Saúde, "Ponto de situação sobre a avaliação de segurança relativa aos anti-inflamatórios não esteróides não selectivos", Ministério da Saúde, Infarmed, Circular Informativa, Nº102/CA, 26 Setembro 2006.

Infarmed, Departamento de Farmacovigilância, Ministério da Saúde, "Recomendações relativas à restrição de utilização de nimesulida", Circular Informativa, Nº163/CD, 21 Setembro 2007.

Infarmed, Ministério da Saúde, "Prontuário Terapêutico on-line" (www.infarmed.pt: acesso em Maio de 2010).

ISI Web of Knowledge (<http://apps.isiknowledge.com>: acesso em Maio 2010).

Juza, M.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; "Simulated moving bed chromatography and its application to chirotechnology", **Trends in Biotechnol.** 18 (2000) 108-118.

Kaehler, S.; Phleps, W.; Hesse, E.; "Dexibuprofen: pharmacology, therapeutic uses and safety", **Inflammopharmacol.** 11 (2003) 371-383.

- Khan, H.; "Simulation Assessment of Continuous Simulating Moving Bed Chromatography Process with Partial Feed and New Strategy With Partial Feed", **Braz. J. Chem Eng.** 26 (2009) 595-610.
- Kearney, M.; Hieb, K.; "Time Variable Simulated Moving Bed Process", **US Patent 5,102,553** (1992).
- Kearney, P.; Baigent, C.; Godwin, J.; Halls, H.; Emberson, J.; Patrono, C.; "Do selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomized trials", **Br. Med. J.** 332 (2006) 1302-1308.
- Kim, J.; Abunasser N.; Wankat, P.; "Use of Two Feeds in Simulated Moving Beds for Binary Separations", **Korean J. Chem. Eng.** 22(4) (2005) 619-627.
- Levites, Y.; Das, P.; Price, R.; Rochette, M.; Kostura, L.; McGowan, E.; Murphy, M.; Golde, T.; "Anti- $A\beta_{42}$ - and anti- $A\beta_{40}$ -specific mAbs attenuate amyloid deposition in an Alzheimer disease mouse model", **J. Clin. Invest.** 116 (2006) 193-201.
- Ludemman, O.; Nicoud, R.; Bailly, M.; "The "VARICOL" Process: A New Multicolumn Continuous Chromatographic Process", **Sep. Sci. Technol.** 35(12) (2000) 1829-1862.
- McCoy, M.; "SMB emerges as chiral technique", **C&EN** June 19, 25 (2000) 17-19.
- McCormick, D.; "In the Loop: Continuous Chromatography for Chiral (and other) Separations", **Pharm. Technol.** May 2 (2006).
- McGeer, P.; McGeer, E.; "NSAIDs and Alzheimer disease: Epidemiological, animal model and clinical studies", **Neurobiol. Aging** 28 (2007) 639-647.

Méric, J.; Rottey, S.; Olausson, K.; Soria, J.; Khayat, D.; Rixe, O.; Spano, J.; "Cyclooxygenase-2 as a target for anticancer drug development", **Crit. Rev. Oncol./Hematol.** 59 (2006) 51-64.

Migliorini, C.; Wendlinger, M.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; "Temperature Gradient Operation of a Simulated Moving Bed Unit", **Ind. Eng. Chem. Res.** 40 (2001) 2606-2617.

Moskowitz, R.; Abramson, S.; Berenbaum, F.; "Coxibs and NSAIDs – clearing the air", **Osteoarthritis and Cartilage** 13 (2005) 545-547.

Moskowitz, R.; Abramson, S.; Berenbaum, F.; Simon, L.; Hochberg, M.; "Coxibs and NSAIDs – Is the air any clear? Perspectives from the OARSI/International COX-2 Study group workshop 2007", **Osteoarthritis and Cartilage** 15 (2007) 849-856.

Nicoud, R.; Chartron, F.; "Complete design of a simulated moving bed", **J. Chromatogr. A** 702 (1995) 97-112.

Panico, A.M.; Cardile, V.; Vittorio, F.; Ronsisvalle, G.; Scoto, G.M.; Parenti, C.; Gentile, B.; Morrone, R.; Nicolosi, G.; "Different in vitro activity of flurbiprofen and its enantiomers on human articular cartilage", **Il Farmaco** 58 (2003) 1339-1344.

Pais, L.; "Chiral Separation by Simulated Moving Bed Chromatography", **PhD Thesis**, University of Porto, 1999.

Pais, L.; Rodrigues, A.; "Design of simulated moving bed and Varicol processes for preparative separations with a low number of columns", **J. Chromatogr. A** 1006 (2003) 33-44.

Quattrini, F.; Biressi, G.; Juza, M.; Mazzotti, M.; Fuganti, C.; Morbidelli, M.; "Enantiomer separation of α -ionone using gas chromatography with cyclodextrin derivatives as chiral stationary phases", **J. Chromatogr. A** 865 (1999) 201-210.

- Rajendran, A.; Peper, S.; Johanssen, M.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; Brunner, B.; "Enantioseparation of 1-phenyl-1-propanol by supercritical fluid-simulated moving bed chromatography", **J. Chromatogr. A** 1092 (2005) 55-64.
- Rajendran, A.; Paredes, G.; Mazzotti, M.; "Simulated moving bed chromatography for the separation of enantiomers", **J. Chromatogr. A** 1216 (2009) 709-738.
- Rekoske, J.; "Chiral Separations", **AIChE J.** 47, 1 (2001) 2-5.
- Sá Gomes, P.; Minceva, M.; Rodrigues, A.; "Simulated moving bed technology: old and new", **Adsorption** 12 (2006) 375-392.
- Sá Gomes, P.; Rodrigues, A.; "Outlet Streams Swing (OSS) and MultiFeed Operation of Simulated Moving Beds", **Sep. Sci. Technol.** 42 (2007) 223-252.
- Seidel-Morgenstern, A.; Keßler, L.; Kaspereit, M.; "New Developments in Simulated Moving Bed Chromatography", **Chem. Eng. Technol.** 31 (2008) 826-837.
- Shaughnessy, A.; Gordon, A.; "Life without COX 2 inhibitors", **Br. Med. J.** 332 (2006) 1287-1288.
- Schramm, H.; Kaspereit, M.; Kienle, A.; Seidel-Morgestern, A.; "Improving Simulated Moving Bed Processes by Cyclic Modulation of the Feed Concentration", **Chem. Eng. Technol.** 25 (2002) 1152-1155.
- Silverstein, F.; Faich, G.; Goldstein, J.; Simon, L.; Pincus, T.; Whelton, A.; Makuch, R.; Eisen, G.; Agrawal, N.; Stenson, W.; Burr, A.; Zhao, W.; Kent, J.; Lefkowitz, J.; Verburg, K.; Geis, G.; "Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis", **JAMA** 284 (2000) 1247-1255.
- Stinson, S.; "Chiral Chemistry", **C&EN** May 14, 20 (2001) 45-57.

- Ströhlein, G.; Shulte, M.; Strube, J.; "Hybrid Processes: Design Method for Optimal Coupling of Chromatography and Crystallization Units", **Sep. Sci. Technol.** 38(14) (2003) 3353-3383.
- Szekely, C.; Thorne, J.; Zandi, P.; Ek, M.; Messias, E.; Breitner, J.; Goodman, S.; "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: a systematic review", **Neuroepidemiology** 23 (2004) 159-169.
- Van Arnum, P.; "Single-Enantiomer Drugs Drive Advances in Asymmetric Synthesis", **Pharm. Technol.** April 2 (2006).
- Vane, J.; "The mechanism of action of anti-inflammatory drugs", **Inter. J. Clin. Pharmacol.** Supplement 135, April (2003) 2.
- Vane, J.; Botting, R.; "Mechanism of action of anti-inflammatory drugs", **Am. J. Med.** 104 (1998) 2S-8S.
- Wilcock, G.; "Dementia: where has 2005 taken us?", **Neurology** 5 (2006) 11-12.
- Zabkova, M.; Zabka, M.; Rodrigues, A.; "Separation of Racemic Chiral Drugs Using Immobilized CHIRALPACK IA: Methodology for Preparative Scale Development", **Sep. Sci. Technol.** 44 (2009) 275-303.
- Young, M.; Aarons, L.; Toon, S.; "The pharmacokinetics of the enantiomers of flurbiprofen in patients with rheumatoid arthritis", **Br. J. Clin. Pharmac.** 31 (1991) 102-104.
- Zhang, Y.; Wu, D.; Wang, D.; Tymiak, A.; "Enantioselective chromatography in drug discovery", **Drug Discov. Today** 10 (2005) 571-577.
- Zhang, Y.; Hidajat, K.; Ray, A.; "Multi-objective optimization of simulated moving bed and Varicol processes for enantio-separation of racemic pindolol", **Sep. Pur. Technol.** 65 (2009) 311-321.

Separação de Enantiómeros por Cromatografia Líquida Preparativa: Ferramentas Experimentais, de Modelização e Simulação

Na primeira parte deste capítulo descrevem-se as ferramentas experimentais utilizadas na optimização da separação de enantiómeros por cromatografia líquida preparativa. Nesta secção apresenta-se o método gravimétrico para a determinação da solubilidade dos dois sistemas de enantiómeros estudados (cetoprofeno nos capítulos 4 e 5, e flurbiprofeno nos capítulos 5 e 7) em diferentes solventes, assim como o método de adsorção-dessorção utilizado na obtenção das isotérmicas de equilíbrio de adsorção.

Na segunda parte do capítulo apresentam-se alguns dos modelos mais utilizados para a descrição do equilíbrio de adsorção competitivo em cromatografia líquida de misturas binárias: os modelos Langmuir, linear+Langmuir, linear+Langmuir modificado e Bi-Langmuir.

Na terceira parte do capítulo, descrevem-se as ferramentas utilizadas na modelização e simulação de processos de cromatografia de leito fixo e de leito móvel simulado. Apresentam-se as estratégias adoptadas na previsão do desempenho de separação de misturas quirais binárias utilizando a tecnologia de leito móvel simulado e finalmente a metodologia experimental utilizada para arrancar e operar a instalação de leito móvel simulado utilizada para separar as misturas racémicas dos profenos (a unidade FlexSMB-LSRE®).

3.1 Ferramentas experimentais

A optimização de separações quirais por cromatografia líquida torna-se frequentemente numa tarefa complexa, a qual requer, à escala preparativa, uma selecção criteriosa das condições de operação. No caso de misturas binárias ou multicomponente, uma complexidade adicional resulta da competição entre os diferentes componentes e a fase estacionária. Um dos primeiros passos do estudo preliminar do processo de separação cromatográfica consiste na determinação das isotérmicas de equilíbrio de adsorção competitivas dos dois enantiómeros. Este passo inicial contribui decisivamente para uma melhor compreensão do mecanismo de retenção e permite igualmente uma previsão das taxas de produção e dos custos de separação. Por outro lado, a solubilidade do racemato, a selectividade e os tempos de retenção são parâmetros de separação bastante sensíveis a alterações na composição da fase móvel. De facto, a utilização de processos contínuos de separação, como seja a tecnologia de Leito Móvel Simulado (SMB), consegue elevados valores de produtividade quando se utilizam elevados valores de concentração da alimentação e pequenos tempos de ciclo (Pais, 1999).

3.1.1 Reagentes, Material e Equipamento

Todas as análises cromatográficas necessárias à realização deste estudo foram efectuadas num sistema de HPLC Jasco, equipado com um detector de UV-1575 (Figura 3.1) a um comprimento de onda de 260 nm. O detector é constituído por uma célula preparativa (comprimento óptico de 1.0 mm). O sistema de injeção, Rheodyne 7725(i), foi utilizado com um conjunto de três *loops* de diferentes volumes: 20 μ L, 100 μ L e 1 mL.



Figura 3.1 Instalação experimental para determinação de isotérmicas (LSRE-IPB).

Utilizaram-se três colunas quirais com o mesmo tipo de material adsorvente (Chiralpak AD, Daicel Chemical Industries Ltd., Japão). A coluna 1, designada por “analítica”, (enchimento com tamanho de partícula de 10 μm) foi utilizada apenas com fins analíticos (determinação da concentração de cada um dos enantiómeros). A coluna 2, designada por “leito fixo” e 3, designada por “SMB” (enchimento com tamanho de partícula de 20 μm) foram utilizadas com fins preparativos (passos de saturação-dessorção para a determinação de isotérmicas de adsorção, pulsos utilizando concentrações e volumes elevados e experiências de cromatografia frontal). A coluna “leito fixo” é utilizada nos capítulos 4 e 5, enquanto a coluna “SMB” é utilizada nos capítulos 6 e 7. As características das colunas utilizadas encontram-se resumidas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 Características das colunas de cromatografia líquida utilizadas.

Fase Estacionária	Diâmetro de partícula	Dimensões (mm L x mm ID)	Designação
Chiralpak® AD	10 μm	250 x 4.6	“analítica”
amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate)	20 μm	250 x 4.6	“leito fixo”
Daicel, Chiral Technologies Europe, France	20 μm	100 x 20	“SMB”

Deve ser salientado que o material com tamanho de partícula de 20 μm é normalmente utilizado em separações preparativas, incluindo a operação em leito móvel simulado (Francotte e Richert, 1997; Grill *et al.*, 2004; Juza, 1999; Wang e Ching, 2004; Zhang *et al.*, 2005). Na Figura 3.2 encontra-se representada a estrutura da fase estacionária utilizada.

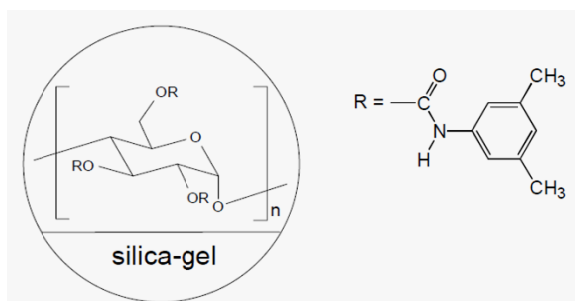


Figura 3.2 Representação esquemática da estrutura do adsorvente utilizado (Chiralpak AD: amylose tris (3,5-Dimethylphenylcarbamate) on a 10 or 20 μm Silica Support). [Fonte: Chiral Technologies Europe, 2010]

Nas experiências de pulsos, rampas e isotérmicas, a temperatura foi mantida constante através da utilização de um forno de colunas Eldex CH-150 e de um

banho de água termostático, onde foram introduzidos os reservatórios de solvente. Nas experiências de leito móvel simulado, manteve-se a temperatura constante utilizando um sistema de ar condicionado. Como solventes utilizou-se metanol +99.9%, etanol +99.9% e n-hexano +99.5% (Panreac, Barcelona, Espanha) com pureza para HPLC. O ácido trifluoracético (TFA), o composto não retido (1,3,5-Tri-*tert*-butilbenzeno) possuem ambos pureza para espectrofotometria, e as misturas racémicas de cetoprofeno e de flurbiprofeno possuem pureza analítica (Sigma, Madrid, Espanha).

3.1.2 Determinação de solubilidades

A determinação de solubilidades foi realizada recorrendo ao método gravimétrico proposto por Gracin e Rasmunson (2002). Este método consiste em preparar uma solução saturada da mistura racémica, a qual é colocada num banho de água termoestático, a uma temperatura constante de 25°C. Depois de equilibrada a solução, transfere-se um volume de 5 cm³ da solução sobrenadante para um frasco de vidro, de massa m_V , previamente determinada. A massa do conjunto (frasco de vidro + solução saturada, m_{VS}) é então determinada. De seguida, o conjunto é colocado numa estufa a 30°C para evaporação do solvente, até que a massa do conjunto (frasco de vidro + resíduo) não varie com o tempo. Finalmente, a massa do frasco e do resíduo, m_{VR} , é medida e a solubilidade determinada, expressa em gramas de soluto por quilograma de solvente (numa base livre de soluto), utilizando a equação seguinte:

$$S \left(\frac{g \text{ soluto}}{kg \text{ solvente}} \right) = \frac{m_{VR} - m_V}{m_{VS} - m_{VR}} 10^3 \quad (3.1)$$

3.1.3 Determinação de isotérmicas de adsorção competitivas pelo método da adsorção-dessorção

Existem descritos na literatura diversos métodos para a determinação de isotérmicas de adsorção (Guiochon, G. *et al.*, 1994; Seidel-Morgenstern, A., 2004). Na Tabela 3.2 encontram-se descritos aqueles que são geralmente utilizados para misturas binárias.

Tabela 3.2 Características dos métodos mais utilizados na determinação de isotérmicas de equilíbrio de adsorção multicomponente. [Fonte: Seidel-Morgenstern A., 2004]

Método/Caracterização	Vantagens	Desvantagens
Batch/ estático	---	Moroso, impreciso
Adsorção-dessorção/ estático	Exacto	Moroso
Análise Frontal/ dinâmico, amostras grandes	Fácil automatização	---
Perturbação/ dinâmico, amostras pequenas	Não necessita de calibração do detector	Requer modelo de isotérmica
Ajuste pelo cromatograma/ dinâmico	Pouca quantidade de amostra Reduzido número de experiências	Requer modelos da isotérmica e para a simulação de cromatogramas

De entre os métodos geralmente utilizados para a determinação de isotérmicas multicomponente, apesar de ser um método bastante tedioso e moroso, escolheu-se o método de adsorção-dessorção (Nicoud e Seidel-Morgenstern, 1993) por ser aquele que confere uma maior exactidão aos resultados experimentais. Este é um aspecto fundamental para uma selecção mais criteriosa da fase móvel a utilizar e da previsão do desempenho do processo de separação global. Neste método, a coluna preparativa é saturada (Figura 3.3a) com uma quantidade elevada de solução de alimentação de concentração conhecida nos dois enantiómeros, C_i^F , até que se atinja o equilíbrio. A coluna é então completamente regenerada (Figura 3.3b) com eluente puro. O volume eluído, resultante do passo de dessorção, é recolhido e analisado para se medir a concentração de cada enantiómero (Figura 3.3c). O balanço de massa:

$$C_i^d V^d = \varepsilon V_c C_i^F + (1 - \varepsilon) V_c q_i^* \quad (3.2)$$

permite determinar a concentração de cada componente retida na partícula, q_i^* , em equilíbrio com a concentração da alimentação, C_i^F . A concentração q_i^* representa a concentração total retida no adsorvente, tendo em conta a massa de enantiómero retida no adsorvente e a massa de enantiómero contida nos poros da partícula. Este procedimento é consistente com a simulação do processo cromatográfico, o qual se baseia num modelo de partículas homogéneas. Na equação (3.2), C_i^d representa a concentração de cada componente na solução

regenerada a qual foi recolhida no passo de dessorção, V^d é o volume eluído, V_c é o volume da coluna e ε representa a porosidade interparticular do leito para a qual se assumiu um valor igual a $\varepsilon=0.4$. Este valor é geralmente utilizado para este tipo de adsorvente (Zabka e Rodrigues, 2007; Sá Gomes P., 2009). O procedimento possibilita a determinação de um único ponto da isotérmica de adsorção para cada componente (C_i^F, q_i^*).

A determinação da isotérmica global requer a realização de uma série de experiências de adsorção-dessorção, variando a concentração da solução de alimentação. Neste trabalho, determinaram-se várias isotérmicas de adsorção, para uma mistura racémica de cetoprofeno (capítulo 4) e de flurbiprofeno (capítulo 5), utilizando composições diferentes de fase móvel: misturas de etanol em n-hexano, metanol em n-hexano e dois solventes puros: etanol e metanol. Todas as fases móveis foram preparadas de forma a conter uma composição constante (0.01% ou 0.1%, em volume) de modificador ácido (ácido trifluoracético, TFA). Todas as composições apresentadas representam composições volumétricas. Por exemplo, para preparar 1000 mL de uma composição 20/80/0.01 de etanol/n-hexano/TFA, adiciona-se 200 mL de etanol com 800 mL de n-hexano e 100 μ L de TFA. Na medição dos volumes dos solventes utilizaram-se balões volumétricos e na medição dos volumes de modificador ácido utilizaram-se micropipetas automáticas.

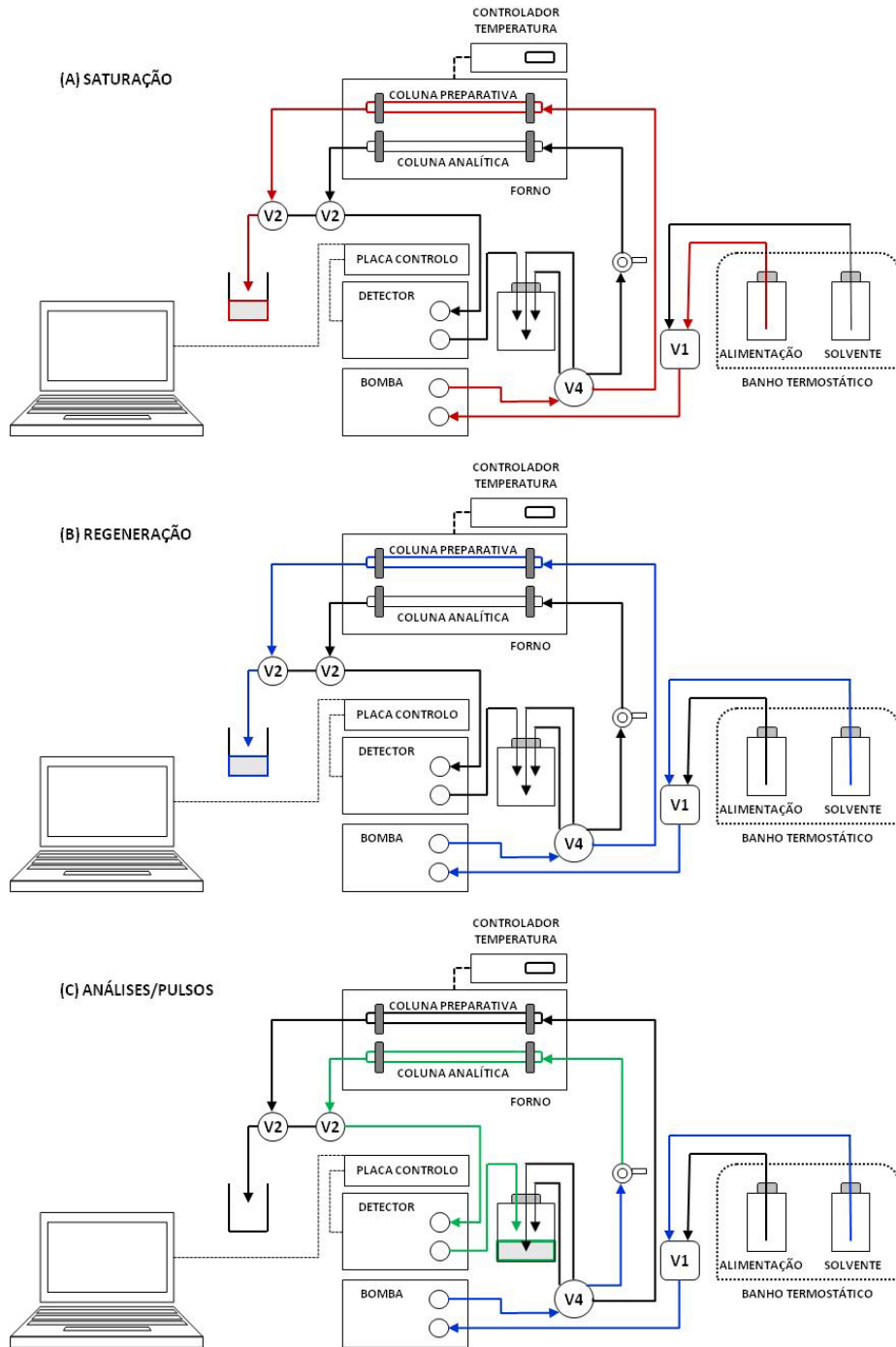


Figura 3.3 Esquema da instalação experimental para determinação de isotérmicas (LSRE-IPB).

3.2 Modelização das isotérmicas de adsorção competitivas

A proposta de um modelo de isotérmica de equilíbrio de adsorção é um passo decisivo, o qual permite simular o comportamento de adsorção e o processo cromatográfico global de separação. Nos casos de separação de misturas binárias quirais, o modelo de Langmuir (LG3), é o mais utilizado traduzindo-se pela equação seguinte em que os subscritos 1 e 2 representam o composto menos e mais retido, respectivamente:

$$q_1^* = \frac{Qb_1C_1}{1 + b_1C_1 + b_2C_2} \quad ; \quad q_2^* = \frac{Qb_2C_2}{1 + b_1C_1 + b_2C_2} \quad (3.3)$$

O modelo de Langmuir utiliza 3 parâmetros, o factor de capacidade da coluna, Q , e os coeficientes numéricos b_1 e b_2 . Contudo, este modelo geralmente falha na previsão do processo cromatográfico de separação. Sabe-se que, para a generalidade dos sistemas quirais, o factor de selectividade, α , diminui com o aumento da concentração das espécies quirais, facto este que não é assumido pelo modelo de Langmuir, onde α é constante e independente da concentração:

$$\alpha = \frac{q_2^*/C_2}{q_1^*/C_1} = \frac{b_2}{b_1}. \text{ Uma forma de ultrapassar esta limitação passa pela utilização do}$$

modelo linear + Langmuir (LLG4) com a introdução de um termo linear comum aos dois enantiómeros:

$$q_1^* = mC_1 + \frac{Qb_1C_1}{1 + b_1C_1 + b_2C_2} \quad ; \quad q_2^* = mC_2 + \frac{Qb_2C_2}{1 + b_1C_1 + b_2C_2} \quad (3.4)$$

Este modelo, assume que o material adsorvente quiral contém sítios não selectivos (representados pelo termo linear, m , para ambos os componentes) e contém igualmente sítios selectivos, representados pelo termo de Langmuir para misturas binárias. Ao contrário do primeiro modelo, o factor de selectividade é agora dependente da concentração dos dois enantiómeros,

$$\alpha = \frac{q_2^*/C_2}{q_1^*/C_1} = \frac{Qb_2 + m(1 + b_1C_1 + b_2C_2)}{Qb_1 + m(1 + b_1C_1 + b_2C_2)}$$

Assume-se, desta forma, que ambos os componentes presentes na mistura binária possuem o mesmo termo linear não selectivo (igual m). Contudo, podem-se utilizar modelos mais complexos, considerando valores diferentes para m (LLG5):

$$q_1^* = m_1 C_1 + \frac{Q b_1 C_1}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} \quad ; \quad q_2^* = m_2 C_2 + \frac{Q b_2 C_2}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} \quad (3.5)$$

Podem ainda ser utilizados outros modelos, os quais resultam da extensão da equação de Langmuir, para dois termos de Langmuir competitivos (BLG6):

$$q_1^* = \frac{Q_A b_1 C_1}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} + \frac{Q_B b_3 C_1}{1 + b_3 C_1 + b_4 C_2} \quad ;$$

$$q_2^* = \frac{Q_A b_2 C_2}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} + \frac{Q_B b_4 C_2}{1 + b_3 C_1 + b_4 C_2} \quad (3.6)$$

Os parâmetros das isotérmicas foram estimados através de um algoritmo de Levenberg-Marquardt, desenvolvido em linguagem de programação FORTRAN, *LMDER.f* (Garbow *et al.*, 1980). O algoritmo necessita da introdução de uma subrotina (*FCN*) na qual se calculam as funções e o respectivo Jacobiano. A função objectivo do algoritmo consiste na localização do mínimo de uma função que é definida como a soma dos quadrados dos resíduos, SQ , de funções não lineares:

$$SQ = \sum_{j=1}^{M/2} \left[(q_{1j}^{*T} - q_{1j}^{*E})^2 + (q_{2j}^{*T} - q_{2j}^{*E})^2 \right] \quad (3.7)$$

em que M é o número de pontos experimentais ($M/2$ para cada enantiómero), q_{1j}^{*T} e q_{2j}^{*T} são as concentrações de equilíbrio na fase estacionária previstas pelo modelo (para os enantiómeros 1 e 2, respectivamente) e q_{1j}^{*E} e q_{2j}^{*E} , são as concentrações de equilíbrio na fase estacionária determinadas experimentalmente. Alternativamente, de forma a realizar uma comparação entre modelos com um número de parâmetros diferente, pode-se utilizar o desvio padrão, SD , definido como,

$$SD = \sqrt{\frac{1}{M - N} SQ} \quad (3.8)$$

em que N representa o número de parâmetros do modelo.

3.3 Modelização e simulação de experiências de cromatografia frontal

Em cromatografia preparativa não-linear, a modelização dos perfis cromatográficos pode ser efectuada utilizando o modelo de força motriz linear (*Linear Driving Force*, LDF) para a cromatografia de leito fixo. Este modelo considera que as partículas de adsorvente são homogéneas, o fluxo é composto pela soma de um termo convectivo com um termo dispersivo e a resistência à transferência de massa é descrita por um modelo de força motriz linear. Na Tabela 3.3 apresentam-se as equações do modelo para as experiências de cromatografia frontal de misturas binárias, as quais incluem as equações de balanço de massa, o modelo para as isotérmicas de adsorção, as condições iniciais e as condições fronteira.

Tabela 3.3 Equações do modelo para cromatografia de leito fixo (cromatografia frontal), utilizando o modelo de força motriz linear (LDF).

Equações de balanço de massa:	
$\frac{\partial C_i}{\partial \theta} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} - \frac{\partial C_i}{\partial x} - \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} St(q_i^* - q_i)$	(3.9)
$\frac{\partial q_i}{\partial \theta} = St(q_i^* - q_i) \quad \text{com } i = 1, 2 \text{ (componente)}$	(3.10)
Isotérmicas de equilíbrio:	
$q_i^* = f_i(C_1, C_2)$	(3.11)
Condições iniciais (saturação):	Condições iniciais (regeneração):
$\theta = 0, \quad \forall x, \quad C_i = q_i = 0 \quad (3.12)$	$\theta = 0, \quad \forall x, \quad C_i = C_i^F \quad (3.13)$
	$q_i = q_i^{*F}$
Condições fronteira (saturação):	Condições fronteira (regeneração):
$x = 0, \quad C_i - \frac{1}{Pe} \frac{dC_i}{dx} = C_i^F \quad (3.14)$	$x = 0, \quad C_i - \frac{1}{Pe} \frac{dC_i}{dx} = 0 \quad (3.15)$
$x = 1, \quad \frac{dC_i}{dx} = 0 \quad (3.16)$	$x = 1, \quad \frac{dC_i}{dx} = 0 \quad (3.17)$
Nomenclatura:	
$x = z/L_C$	Coordenada axial adimensional
$\theta = t/\tau$	Variável de tempo adimensional
$Pe = \frac{u_i L_C}{D_{ax}}$	Número de Peclet
ε	Porosidade interparticular do leito
$\tau = L_C/u_i$	Tempo de passagem (s)
k	Coefficiente de resistência à transferência de massa (s^{-1})
$St = k\tau$	Número de Stanton mássico

A modelização e simulação foram realizadas recorrendo a uma rotina numérica (PDECOL), desenvolvida em linguagem de programação FORTRAN (Sincovec e Madsen, 1979). O pacote PDECOL consiste num conjunto de subrotinas desenvolvidas para resolver sistemas de equações às derivadas parciais (PDEs) não lineares em duas dimensões (tempo e espaço). Na discretização espacial a rotina utiliza métodos de colocação em elementos finitos baseados em polinómios ortogonais. Para a integração do domínio do tempo utiliza uma subrotina (GEAR), a qual resolve sistemas de equações diferenciais ordinárias

fornecidas de uma forma implícita. A rotina PDECOL necessita apenas que o utilizador forneça um conjunto de três subrotinas nas quais se definem, as funções (balanços de massa), as condições fronteira, e as condições iniciais do modelo.

3.4 Modelização e simulação de processos de leito móvel simulado

O conceito de leito móvel simulado encontra-se descrito no capítulo anterior. A simulação de um processo de separação deste tipo pode ser analisado adoptando duas estratégias distintas. A primeira, que representa a operação real (modelo SMB) é feita através da simulação directa do sistema, considerando a sua dinâmica periódica e discreta. Este modelo tem em conta o movimento periódico das correntes de entrada e de saída da unidade de separação. A segunda consiste em considerar a equivalência com o leito móvel verdadeiro (TMB), no qual se considera que o líquido e o sólido se movimentam em sentidos opostos. Ambos os modelos matemáticos baseiam-se nos seguintes pressupostos: o movimento da fase líquida é descrito por um modelo de fluxo pistão com dispersão axial; o movimento da fase sólida no modelo TMB é descrito por um modelo de fluxo pistão; as partículas de adsorvente são assumidas como material homogéneo e a transferência de massa entre as fases líquida e sólida é descrita por um modelo de força motriz linear. Em ambos os modelos, as isotérmicas de adsorção podem ser descritas por qualquer tipo de modelo, tais como sejam os modelos, linear, Langmuir, linear+Langmuir, ou Bi-Langmuir, apresentados anteriormente (Pais *et al.*, 1998a).

As equações que caracterizam o estado transiente dos modelos SMB e TMB encontram-se sumariadas na Tabela 3.4. Estas equações incluem um balanço de massa a um elemento de volume de leito fixo, uma lei cinética para a velocidade de adsorção na partícula sólida, condições iniciais e de fronteira, balanços globais em cada nodo entre as colunas e isotérmicas de equilíbrio de adsorção. Deve-se salientar que cada coluna de SMB desempenha funções diferentes durante um único ciclo completo de operação.

Tabela 3.4 Equações dos modelos SMB e TMB em estado transiente.

Modelo SMB	
Balanco de massa a um elemento de volume da coluna k:	
$\frac{\partial C_{ik}}{\partial \theta} = \gamma_k^* \left\{ \frac{1}{Pe_k} \frac{\partial^2 C_{ik}}{\partial x^2} - \frac{\partial C_{ik}}{\partial x} \right\} - \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} \alpha_k (q_{ik}^* - q_{ik})$	(3.18)
Lei cinética da velocidade de adsorção na partícula:	
$\frac{\partial q_{ik}}{\partial \theta} = \alpha_k (q_{ik}^* - q_{ik})$	(3.19)
Isotérmicas de equilíbrio de adsorção multicomponente:	
$q_{1k}^* = f_1(C_{1k}, C_{2k}); \quad q_{2k}^* = f_2(C_{1k}, C_{2k})$	(3.20)
Condições iniciais para a coluna k:	
$\theta = 0: \quad C_{ik} = q_{ik} = 0$	(3.21)
Condições fronteira para a coluna k:	
$x = 0: \quad C_{ik} - \frac{1}{Pe_k} \frac{dC_{ik}}{dx} = C_{ik,0}$	(3.22a)
onde $C_{ik,0}$ é a concentração de entrada da espécie i na coluna k	
$x = 1: \quad \frac{dC_{ik}}{dx} = 0$	(3.22b)
Balancos aos nodos entre colunas	
Para colunas interiores e para o nodo do extracto e do refinado:	$C_{ik} = C_{ik+1,0} \quad (3.23)$
Para o nodo do eluente:	$C_{ik} = \frac{v_I^*}{v_{IV}^*} C_{ik+1,0} \quad (3.24)$
Para o nodo da alimentação:	$C_{ik} = \frac{v_{III}^*}{v_{II}^*} C_{ik+1,0} - \frac{v_F}{v_{II}^*} C_i^F \quad (3.25)$
Balancos globais:	
Nodo do eluente:	$v_I^* = v_{IV}^* + v_E \quad (3.26)$
Nodo do extracto:	$v_{II}^* = v_I^* - v_X \quad (3.27)$
Nodo da alimentação:	$v_{III}^* = v_{II}^* + v_F \quad (3.28)$
Nodo do refinado:	$v_{IV}^* = v_{III}^* - v_R \quad (3.29)$
Parâmetros do modelo SMB:	
Razão entre volumes de sólido e de líquido:	$\frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} \quad (3.30)$
Razão entre as velocidades intersticiais de líquido e de sólido:	$\gamma_k^* = \frac{v_k^*}{u_s} = \frac{v_k^*}{L_c/t^*} \quad (3.31)$
Número de Peclet: onde D_{axk} representa o coeficiente de dispersão axial.	$Pe = \frac{v_k^* L_k}{D_{axk}} \quad (3.32)$
Número de unidades de transferência de massa	$\alpha_k = \frac{k L_k}{u_s} = kt^* \quad (3.33)$
onde, k é o coeficiente de transferência de massa intraparticular e u_s a velocidade intersticial do sólido no modelo equivalente TMB. Devem-se considerar ainda os parâmetros dos modelos das isotérmicas de equilíbrio de adsorção.	

Tabela 3.4 (Cont.) Equações dos modelos SMB e TMB em estado transiente.

Modelo TMB	
Balço de massa a um elemento de volume da secção j:	
$\frac{\partial C_{ij}}{\partial \theta} = \gamma_j \left\{ \frac{1}{Pe_j} \frac{\partial^2 C_{ij}}{\partial x^2} - \frac{\partial C_{ij}}{\partial x} \right\} - \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \alpha_j (q_{ij}^* - q_{ij})$	(3.34)
Lei cinética da velocidade de adsorção na partícula:	
$\frac{\partial q_{ij}}{\partial \theta} = \frac{\partial q_{ij}}{\partial x} + \alpha_j (q_{ij}^* - q_{ij})$	(3.35)
Isotérmicas de equilíbrio de adsorção multicomponente:	
$q_{1j}^* = f_1(C_{1j}, C_{2j}); \quad q_{2j}^* = f_2(C_{1j}, C_{2j})$	(3.36)
Condições iniciais para a secção j:	
$\theta = 0: \quad C_{ij} = q_{ij} = 0$	(3.37)
Condições fronteira para a secção j:	
$x = 0: \quad C_{ij} - \frac{1}{Pe_j} \frac{dC_{ij}}{dx} = C_{ij,0}$	(3.38a)
onde $C_{ij,0}$ é a concentração de entrada da espécie i na secção j	
$x = 1: \quad \frac{dC_{ij}}{dx} = 0$	(3.38b)
Balanços aos nodos entre secções	
Para o nodo do eluente:	$C_{iIV} = \frac{v_I}{v_{IV}} C_{iI,0} \quad (3.39)$
Para o nodo do extracto:	$C_{iI} = C_{iIII,0} \quad (3.40)$
Para o nodo da alimentação:	$C_{iIII} = \frac{v_{III}}{v_{II}} C_{iIII,0} - \frac{v_F}{v_{II}} C_i^F \quad (3.41)$
Para o nodo do refinado:	$C_{iIII} = C_{iIV,0} \quad (3.42)$
e	$q_{iIV} = q_{iI,0}, \quad q_{iI} = q_{iIII,0}, \quad q_{iIII} = q_{iIII,0}, \quad q_{iIII} = q_{iIV,0} \quad (3.43)$
Balanços globais:	
Nodo do eluente:	$v_I = v_{IV} + v_E \quad (3.44)$
Nodo do extracto:	$v_{II} = v_I - v_X \quad (3.45)$
Nodo da alimentação:	$v_{III} = v_{II} + v_F \quad (3.46)$
Nodo do refinado:	$v_{IV} = v_{III} - v_R \quad (3.47)$
Parâmetros do modelo TMB:	
Razão entre volumes de sólido e de líquido:	$\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \quad (3.48)$
Razão entre as velocidades intersticiais de líquido e de sólido:	$\gamma_j = \frac{v_j}{u_s} \quad (3.49)$
Número de Peclet: onde D_{axj} representa o coeficiente de dispersão axial.	$Pe_j = \frac{v_j L_j}{D_{axj}} \quad (3.50)$
Número de unidades de transferência de massa	$\alpha_j = \frac{kL_j}{u_s} = kt^* \quad (3.51)$
onde, k é o coeficiente de transferência de massa intraparticular e u_s a velocidade intersticial do sólido. Devem-se considerar ainda os parâmetros dos modelos das isotérmicas de equilíbrio de adsorção.	

Este facto deve-se a que durante um ciclo existe a mudança periódica dos pontos de entrada e saídas das correntes de líquido tendo como consequência imediata uma modificação das condições fronteira de cada coluna em cada instante de avanço. Devido a existir uma dependência temporal das condições fronteira o SMB opera num estado estacionário cíclico, em oposição ao verdadeiro estado estacionário obtido na operação utilizando o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB). Assim, torna-se importante referir que, assim que se atinge um estado estacionário cíclico, os perfis de concentração internos variam ao longo de um dado ciclo, sendo contudo idênticos para o mesmo instante de tempo em dois ciclos consecutivos.

No modelo TMB, assume-se que o sólido se desloca, em sentido contrário ao movimento do líquido, enquanto as linhas de entrada e de saída da unidade permanecem fixas. Os dois modelos (SMB e TMB) apresentam equações semelhantes, contudo no modelo TMB, inclui-se um termo adicional que representa o movimento da fase sólida em contracorrente com a fase líquida.

A equivalência entre os modelos SMB e TMB estabelece-se impondo a mesma velocidade para líquido relativamente à velocidade do sólido. Ou seja, a velocidade intersticial de líquido na unidade de SMB é igual à soma das velocidades intersticiais de líquido e de sólido no modelo equivalente de TMB, $v_j^* = v_j + u_s$. Por outro lado, a velocidade do sólido no modelo TMB deve ser determinada através do valor o tempo de rotação t^* do modelo SMB, a partir de $u_s = \frac{L_c}{t^*}$, onde L_c representa o comprimento de uma coluna no SMB.

A equivalência entre os dois modelos poderá igualmente ser feita em termos de caudais, $Q_j^* = Q_j + \frac{\varepsilon V_c}{t^*}$, onde Q_j^* e Q_j são os caudais internos de líquido nos modelos SMB e TMB, respectivamente e V_c é o volume de uma coluna no SMB.

Apesar da evolução em estado transiente do SMB ser diferente do TMB, os dois modelos possuem desempenhos de estado estacionário similares, desde que todas as secções tenham um número plural de colunas cromatográficas, num mínimo total de 8 colunas (Pais *et al.*, 1998a e Pais *et al.*, 2003). Nos casos em que se utilize um menor número de colunas dever-se-á utilizar o modelo mais

preciso do SMB, o qual será sempre utilizado para caracterizar o comportamento dinâmico e cíclico dos perfis de concentração no interior da unidade de SMB.

Uma vez que o principal objectivo consiste na caracterização do desempenho do sistema em estado estacionário, pode-se simular e obter as condições óptimas de operação em SMB utilizando o modelo de TMB em estado estacionário. Deste modo, um problema constituído por um sistema de equações às derivadas parciais (PDEs) pode ser reduzido para um sistema de equações diferenciais ordinárias (ODEs), o qual requer um tempo computacional de resolução significativamente menor (Pais *et al.*, 2000). Na Tabela 3.5 encontram-se as equações que caracterizam o modelo TMB em estado estacionário.

O projecto de um TMB (ou o seu equivalente SMB) consiste em estabelecer os fluxos em cada secção de forma a possibilitar uma desejada separação. Na secção I (Figura 2.2) ambas as espécies, 1 e 2, devem-se mover para a direita; nas secções II e III, a espécie menos retida (1) deve mover-se para a direita enquanto a espécie mais retida (2) deve mover-se para a esquerda; e, na secção IV, ambas as espécies devem-se mover para a esquerda. Neste sentido, podem-se definir restrições, em termos dos fluxos de cada componente nas várias secções da unidade:

$$\frac{Q_I C_{2I}}{Q_S q_{2I}} > 1 \quad ; \quad \frac{Q_{II} C_{1II}}{Q_S q_{1II}} > 1 \quad \text{e} \quad \frac{Q_{II} C_{2II}}{Q_S q_{2II}} < 1$$

$$\frac{Q_{III} C_{1III}}{Q_S q_{1III}} > 1 \quad \text{e} \quad \frac{Q_{III} C_{2III}}{Q_S q_{2III}} < 1 \quad ; \quad \frac{Q_{IV} C_{1IV}}{Q_S q_{1IV}} < 1 \quad (3.52)$$

onde Q_I , Q_{II} , Q_{III} e Q_{IV} são os caudais volumétricos de líquido em cada uma das secções do TMB, Q_S é o caudal da fase sólida, C_{1j} e C_{2j} são as concentrações das espécies 1 e 2 na fase líquida, e q_{1j} e q_{2j} são as concentrações de 1 e 2 na fase sólida, na secção j .

Tabela 3.5 Equações do modelo TMB em estado estacionário.

Modelo TMB: estado estacionário		
Balanço de massa a um elemento de volume da secção j:		
$D_{axj} \frac{d^2 C_{ij}}{dz^2} - v_j \frac{dC_{ij}}{dz} - \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} k(q_{ij}^* - q_{ij}) = 0$	(3.53)	
Lei cinética da velocidade de adsorção na partícula:		
$u_s \frac{dq_{ij}}{dz} + k(q_{ij}^* - q_{ij}) = 0$	(3.54)	
Isotérmicas de equilíbrio de adsorção multicomponente:		
$q_{1j}^* = f_1(C_{1j}, C_{2j}); \quad q_{2j}^* = f_2(C_{1j}, C_{2j})$	(3.55)	
Condições fronteira para a secção j:		
$z = 0: \quad C_{ij} - \frac{D_{axj}}{v_j} \frac{dC_{ij}}{dz} = C_{ij,0}$	(3.56)	
onde $C_{ij,0}$ é a concentração de entrada da espécie i na secção j		
$z = L_j:$		
Para os nodos do extracto e do refinado:	$C_{ij} = C_{ij+1,0}$	(3.57)
Para o nodo do eluente:	$C_{ij} = \frac{v_I}{v_{IV}} C_{ij+1,0}$	(3.58)
Para o nodo da alimentação:	$C_{ij} = \frac{v_{III}}{v_{II}} C_{ij+1,0} - \frac{v_F}{v_{II}} C_i^F$	(3.59)
	$q_{ij} = q_{ij+1,0}$	(3.60)
Balancos globais:		
Nodo do eluente:	$v_I = v_{IV} + v_E$	(3.61)
Nodo do extracto:	$v_{II} = v_I - v_X$	(3.62)
Nodo da alimentação:	$v_{III} = v_{II} + v_F$	(3.63)
Nodo do refinado:	$v_{IV} = v_{III} - v_R$	(3.64)

As restrições anteriores podem, alternativamente, ser expressas em termos das velocidades intersticiais de líquido e sólido. Definindo o parâmetro adimensional:

$$\Gamma_{ij} = \frac{\varepsilon}{(1-\varepsilon)} \frac{C_{ij}}{q_{ij}} \gamma_j \quad (3.65)$$

Onde $\gamma_j = v_j/u_s$, é a razão entre as velocidades intersticiais no líquido e no sólido na secção j ; e $\varepsilon/(1-\varepsilon)$ é a razão entre os volumes de líquido e de sólido; as restrições definidas anteriormente podem ser rescritas por:

$$r_{2I} > 1 \quad ; \quad r_{1II} > 1 \quad \text{e} \quad r_{2II} < 1 \quad ; \quad r_{1III} > 1 \quad \text{e} \quad r_{2III} < 1 \quad ; \quad r_{1IV} < 1 \quad (3.66)$$

Para o caso particular de um sistema binário com isotérmicas de adsorção lineares e considerando o modelo de equilíbrio, $q_{ij} = q_{ij}^* = K_i c_{ij}$ e $q_{ij}^*/c_{ij} = K_i$ é constante, conduzindo à fácil dedução de um conjunto de fórmulas que possibilitam a determinação dos caudais óptimos para a operação em TMB (Ching e Ruthven, 1985; Ruthven e Ching, 1989):

$$\frac{Q_I}{Q_S K_2} > 1 \quad ; \quad \frac{Q_{II}}{Q_S K_1} > 1 \quad ; \quad \frac{Q_{III}}{Q_S K_2} < 1 \quad ; \quad \frac{Q_{IV}}{Q_S K_1} < 1 \quad (3.67)$$

onde K_1 e K_2 representam os coeficientes das isotérmicas lineares dos compostos menos e mais retidos, respectivamente. Se todas estas restrições forem satisfeitas pela mesma margem β (com $\beta > 1$), as Equações 3.67 podem ser reescritas como:

$$\frac{Q_I}{Q_S K_2} = \beta \quad ; \quad \frac{Q_{II}}{Q_S K_1} = \beta \quad ; \quad \frac{Q_{III}}{Q_S K_2} = \frac{1}{\beta} \quad ; \quad \frac{Q_{IV}}{Q_S K_1} = \frac{1}{\beta} \quad (3.68)$$

Atendendo a que

$$Q_E = Q_I - Q_{IV} \quad ; \quad Q_X = Q_I - Q_{II} \quad ; \quad Q_F = Q_{III} - Q_{II} \quad ; \quad Q_R = Q_{III} - Q_{IV} \quad (3.69)$$

em que Q_E , Q_X , Q_F e Q_R representam, respectivamente, os caudais volumétricos de eluente, extracto, alimentação e refinado. Considerando que o caudal volumétrico da secção IV é o caudal volumétrico de reciclo, $Q_{REC} = Q_{IV}$, os caudais volumétricos de operação em TMB podem ser determinados por:

$$Q_E = (\alpha\beta^2 - 1)Q_{REC} \quad (3.70a)$$

$$Q_X = (\alpha - 1)\beta^2 Q_{REC} \quad (3.70b)$$

$$Q_F = (\alpha - \beta^2)Q_{REC} \quad (3.70c)$$

$$Q_R = (\alpha - 1)Q_{REC} \quad (3.70d)$$

com

$$Q_{REC} = \frac{K_1 Q_S}{\beta} \quad (3.70e)$$

e onde $\alpha = K_2/K_1$ é o factor de selectividade do sistema linear binário.

O caudal volumétrico total de entrada ou de saída é dado por

$$Q_E + Q_F = Q_X + Q_R = (\alpha - 1)(1 + \beta^2)Q_{REC} \quad (3.71)$$

Deste modo, a especificação do parâmetro β e do caudal volumétrico de sólido (ou alternativamente, do caudal volumétrico de reciclo de líquido) define todos os caudais volumétricos no sistema de TMB. Deve-se ter em atenção que o parâmetro β possui também um valor máximo. De facto, uma vez que o caudal volumétrico de alimentação é superior a zero, a Equação 3.70c conduz a:

$$\beta < \sqrt{\alpha} \quad (3.72)$$

e, portanto,

$$1 < \beta < \sqrt{\alpha} \quad (3.73)$$

é o intervalo de valores possíveis para o parâmetro β . De notar que o caso limite em que $\beta = 1$ corresponde a uma situação em que a diluição das espécies é mínima e as concentrações de extracto e de refinado são próximas das concentrações de alimentação. De facto, das Equações 3.70 e para $\beta = 1$, resulta que

$$Q_E = Q_X = Q_F = Q_R = (\alpha - 1)Q_{RF} = (K_2 - K_1)Q_S \quad (3.74)$$

Contudo, nestas condições, torna-se necessário um número infinito de andares em cada secção (Ruthven e Ching, 1989; Nicoud, 1992). Para $\beta > 1$ resulta das Equações 3.68,

$$Q_I > Q_{III} > Q_{II} > Q_{IV} \quad (3.75)$$

Ou, alternativamente, das Equações 3.69,

$$Q_E > Q_X > Q_R > Q_F \quad (3.76)$$

Considerando a situação de separação completa, a concentração da espécie menos retida no refinado e a concentração da espécie mais retida no extracto são, respectivamente

$$C_1^R = \frac{Q_F}{Q_R} C_1^F = \frac{\alpha - \beta^2}{\alpha - 1} C_1^F \quad (3.77)$$

e

$$C_2^X = \frac{Q_F}{Q_X} C_2^F = \frac{\alpha - \beta^2}{(\alpha - 1)\beta^2} C_2^F \quad (3.78)$$

Das Equações 3.77 e 3.78, conclui-se que as concentrações de extracto e de refinado em operação TMB em condições lineares nunca serão superiores às concentrações da alimentação (Ruthven e Ching, 1989; Zhong e Guiochon, 1996).

Os correspondentes caudais volumétricos para a operação em SMB podem ser facilmente determinados através da equivalência dos caudais volumétricos internos:

$$Q_j^* = Q_j + \frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} Q_S \quad (3.79)$$

com

$$Q_S = \frac{(1 - \varepsilon)V_C}{t^*} \quad (3.80)$$

e onde Q_j^* e Q_j são os caudais volumétricos de líquido na secção j de um SMB e TMB, respectivamente, V_C é o volume de uma coluna de SMB e t^* representa o período de rotação em SMB. Assim, atendendo à equivalência de caudais volumétricos apresentada na Equação 3.79 os caudais volumétricos de entrada e de saída são os mesmos nos dois modos de operação (Equações 3.70a-e), e

$$Q_{REC}^* = Q_{REC} + \frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} Q_S = \left[\frac{K_1}{\beta} + \frac{\varepsilon}{(1 - \varepsilon)} \right] Q_S = \left[1 + \frac{(1 - \varepsilon) K_1}{\varepsilon \beta} \right] \frac{\varepsilon V_C}{t^*} \quad (3.81)$$

onde Q_{REC}^* representa o caudal volumétrico de reciclo na operação em SMB.

Contudo, é importante salientar que, para sistemas não lineares, a determinação das condições óptimas de operação não é directa. É bem conhecido que o fenómeno de adsorção requer, habitualmente, a utilização de modelos mais complexos, incluindo modelos de isotérmicas de adsorção não lineares competitivas. Para estes sistemas, a concentração de um componente no adsorvente em equilíbrio com a sua concentração na fase líquida depende, não apenas da sua, mas igualmente das concentrações das outras espécies presentes. Significa que a razão entre as concentrações nas fases sólida e líquida que influencia o fluxo dos componentes na operação TMB (Equações 3.52) deixa de ser constante para se tornar dependente da concentração.

Mazzotti e colaboradores estenderam a determinação das condições óptimas de operação a situações onde as isotérmicas de equilíbrio de adsorção são descritas pelos modelos de linear, Langmuir (LG3) ou linear+Langmuir (LLG4). Esta análise foi efectuada igualmente no âmbito da Teoria de Equilíbrio, assumindo que a resistência à transferência de massa e dispersão axial são desprezáveis e considerando a equivalência com a operação em contracorrente (Mazzotti *et al.*, 1997).

Nestas condições, a região de separação completa é definida em termos de razões de caudais volumétricos nas quatro secções da operação equivalente de

uma unidade TMB que no trabalho de Morbidelli e colaboradores (Mazzotti *et al.*, 1997) são definidas por:

$$m_j = \frac{Q_j^* t^* - \varepsilon V_C}{(1 - \varepsilon)V_C} \quad (3.82)$$

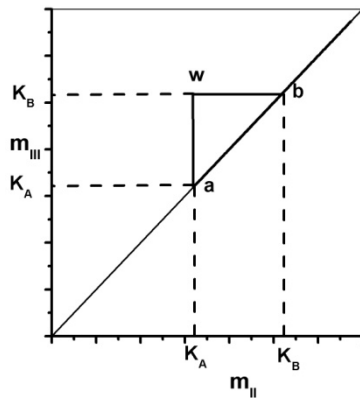
as quais se relacionam facilmente com as razões γ_j apresentadas anteriormente por:

$$\gamma_j = \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} m_j \quad (3.83)$$

A Tabela 3.6 apresenta as condições necessárias e suficientes para a separação completa para isotérmicas lineares:

$$q_i^* = K_i C_i \quad \text{com } i=1,2 \quad (3.84)$$

Tabela 3.6 Condições de operação para separação completa de acordo com a Teoria de Equilíbrio. Isotérmicas de adsorção lineares. [Fonte: Mazzotti *et al.*, 1997]



$$K_2 < m_I < \infty \quad (3.85)$$

$$K_1 < m_{II} < m_{III} < \infty \quad (3.86)$$

$$K_2 < m_I < \infty \quad (3.87)$$

$$0 < m_{IV} < K_1 \quad (3.88)$$

A Tabela 3.7 apresenta as condições necessárias e suficientes para obter separação completa, no âmbito da Teoria de Equilíbrio e considerando isotérmicas de Langmuir (LG3).

$$q_i^* = \frac{Qb_iC_i}{1 + b_1C_1 + b_2C_2} \quad \text{com } i=1,2 \quad (3.89)$$

As mesmas condições podem ser utilizadas para isotérmicas linear+Langmuir (LLG4).

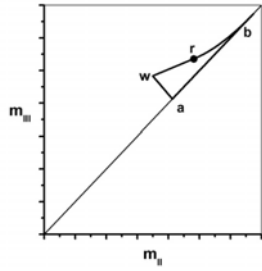
$$q_i^* = mC_i + \frac{Qb_iC_i}{1 + b_1C_1 + b_2C_2} \quad \text{com } i=1,2 \quad (3.90)$$

Neste caso, a região de separação fornecida pelas equações da Tabela 3.6 deverá ser submetida a uma translação, através de:

$$m_j^L = m_j + m \quad (3.91)$$

onde m_j^L é o valor obtido considerando isotérmicas linear+Langmuir, m_j é o valor obtido considerando isotérmicas Langmuir e m é o coeficiente linear na isotérmica linear+Langmuir (Equação 3.90).

Tabela 3.7 Condições de operação para separação completa, no âmbito da Teoria de Equilíbrio. Isotérmicas de Langmuir e linear+Langmuir. [Fonte: Mazzotti *et al.*, 1997]



$$\lambda_2 = m_{I,min} < m_I < \infty \quad (3.92)$$

$$m_{II,min}(m_{II}, m_{III}) < m_{II} < m_{III,max}(m_{II}, m_{III}) \quad (3.93)$$

$$\begin{aligned} 0 < m_{IV} < m_{IV,max}(m_{II}, m_{III}) \\ &= \frac{1}{2} \left\{ \lambda_1 + m_{III} + b_1 C_1^F (m_{III} - m_{II}) \right. \\ &\quad \left. - \sqrt{[\lambda_1 + m_{III} + b_1 C_1^F (m_{III} - m_{II})]^2 - 4\lambda_1 m_{III}} \right\} \end{aligned} \quad (3.94)$$

Fronteiras da região de separação completa no plano m_{II}, m_{III} :

Linha recta wa:

$$[\lambda_2 - \lambda_1(1 + b_2 C_2^F)]m_{II} + b_2 C_2^F \lambda_1 m_{III} = \lambda_1(\lambda_2 - \lambda_1) \quad (3.95)$$

Linha recta wr:

$$[\lambda_2 - \omega_G(1 + b_2 C_2^F)]m_{II} + b_2 C_2^F \omega_G m_{III} = \omega_G(\lambda_2 - \omega_G) \quad (3.96)$$

Curva rb:

$$m_{III} = m_{II} + \frac{(\sqrt{\lambda_2} - \sqrt{m_{II}})^2}{b_2 C_2^F} \quad (3.97)$$

Linha recta ab:

$$m_{II} = m_{III} \quad (3.98)$$

Coordenadas dos pontos de intersecção:

$$\text{Ponto a:} \quad (\lambda_1, \lambda_1) \quad (3.99)$$

$$\text{Ponto b:} \quad (\lambda_2, \lambda_2) \quad (3.100)$$

$$\text{Ponto w:} \quad \left(\frac{\lambda_1 \omega_G}{\lambda_2}, \frac{\omega_G [\omega_F (\lambda_2 - \lambda_1) + \lambda_1 (\lambda_1 - \omega_F)]}{\lambda_1 (\lambda_2 - \omega_F)} \right) \quad (3.101)$$

$$\text{Ponto r:} \quad \left(\frac{\omega_G^2}{\lambda_2}, \frac{\omega_G [\omega_F (\lambda_2 - \omega_G) (\lambda_2 - \lambda_1) + \lambda_1 \omega_G (\lambda_2 - \omega_F)]}{\lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \omega_F)} \right) \quad (3.102)$$

Com $\omega_G > \omega_F > 0$, raízes da seguinte equação quadrática:

$$(1 + b_1 C_1^F + b_2 C_2^F)\omega^2 - [\lambda_1(1 + b_2 C_2^F) + \lambda_2(1 + b_1 C_1^F)]\omega + \lambda_1 \lambda_2 = 0 \quad (3.103)$$

e

$$\lambda_i = Q b_i \quad (i=1,2) \quad (3.104)$$

3.5 Previsão do desempenho de separação em leito móvel simulado

Como vimos anteriormente as condições de operação de um SMB podem ser obtidas pela definição das regiões de separação completa. Uma região de separação completa é representada graficamente por uma área na qual os caudais internos de SMB permitem a obtenção de correntes de produtos com 100% de pureza (extracto puro, contendo apenas o enantiómero mais retido; refinado puro, contendo apenas o enantiómero menos retido).

A Figura 3.4 mostra dois gráficos no plano $\gamma_{II} \times \gamma_{III}$ (obtidos, por exemplo, a partir dos parâmetros m_j apresentados nas Tabelas 3.6 e 3.7 e utilizando a relação estabelecida pela Equação 3.83), habitualmente encontrados para situações de isotérmicas lineares e não lineares. Dependendo dos valores de γ_{II} e γ_{III} , podemos identificar quatro regiões: uma, onde nenhuma das linhas de produto, extracto e refinado, é pura; duas regiões onde apenas uma das linhas é pura; e uma região onde ambos os produtos são puros. Como é óbvio, as condições de operação da unidade devem encontrar-se no interior desta última região, denominada de região de separação, uma vez que o objectivo natural é obter simultaneamente extracto puro e refinado puro. As equações que definem os limites desta última região foram apresentadas anteriormente nas Tabelas 3.6 e 3.7 para a situação ideal da Teoria de Equilíbrio. Contudo, para além disso, devemos escolher as condições de operação o mais perto possível do vértice desta região de separação. O vértice é o ponto na fronteira da região de separação mais distante da diagonal $\gamma_{II} = \gamma_{III}$ (ver Figura 3.4) e representa as condições óptimas de operação, em termos de produtividade do sistema e de consumo de solvente para uma dada concentração de alimentação.

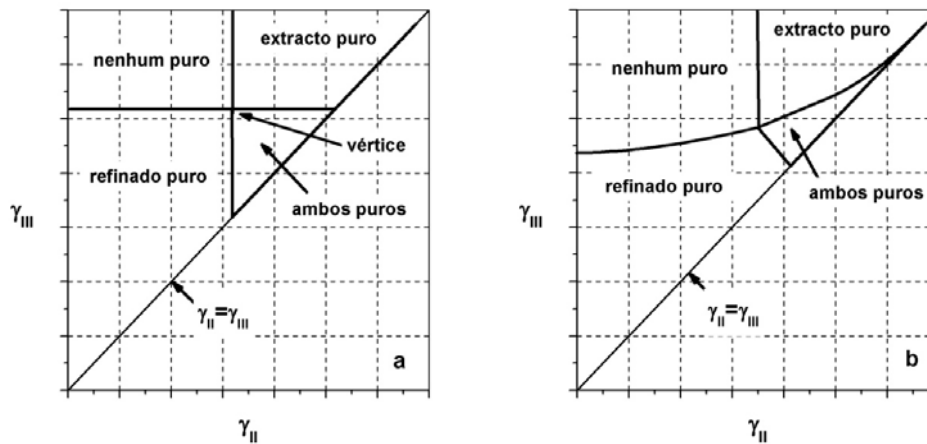


Figura 3.4 Gráficos $\gamma_{II} \times \gamma_{III}$ para a operação em TMB: (a) gama linear e (b) não-linear.

De facto, a produtividade pode ser definida como a quantidade de alimentação introduzida no sistema por unidade de volume de adsorvente e por unidade de tempo, sendo proporcional a $\gamma_{III} - \gamma_{II}$. Esta metodologia, originalmente proposta por Ruthven e Ching (1989) para isotérmicas de adsorção lineares e por Morbidelli e seus colaboradores (Mazzoti *et al.*, 1997) para isotérmicas de adsorção de Langmuir ou linear+Langmuir, constitui uma ferramenta útil para a determinação das condições de operação de um SMB, desde que, adicionalmente, se certifique que as restrições referentes às secções 1 e 4 são cumpridas, ou seja, que as razões de velocidades nas secções 1 e 4, γ_I e γ_{IV} , são escolhidas longe dos seus valores críticos.

A região de separação, originalmente estabelecida assumindo a Teoria de Equilíbrio, pode igualmente ser determinada numericamente através do recurso a modelos mais precisos que têm em consideração a existência de resistência à transferência de massa (Pais *et al.*, 1997; Pais *et al.*, 1998b; Migliorini *et al.*, 1999; Biressi *et al.*, 2000). A presença de resistência à transferência de massa pode afectar significativamente o desempenho de um SMB, reduzindo o tamanho da região de separação e modificando as condições óptimas de operação (Pais *et al.*, 1997, 1998b, 2000 e 2005). Por outro lado, considerando a resistência à transferência de massa desprezável, a Teoria de Equilíbrio estabelece que os

valores críticos das razões de velocidade, γ_j , necessários para se obter uma separação completa, dependem unicamente dos parâmetros das isotérmicas de adsorção. No entanto, na presença de resistência à transferência de massa, estes valores críticos tornam-se mais restritivos e devem ser determinados por simulação numérica (Azevedo e Rodrigues, 1999a-b; Rodrigues e Pais, 2004).

As regiões de separação determinadas com base na Teoria de Equilíbrio consideram desprezáveis as resistências à transferência de massa e a dispersão axial. Todavia, nas situações em a resistência à transferência de massa seja significativa, a região de separação será comparativamente menor e a separação completa dos enantiómeros não será possível. Ou seja, não será possível obter uma corrente de refinado com 100% de pureza no enantiómero menos retido e uma corrente de extracto com a pureza de 100% no enantiómero mais retido. Nestas situações, é comum propor um critério de pureza para definir a separação, no qual a região de separação será obtida para pelo menos esse valor de pureza, quer no extracto, quer no refinado. Realiza-se deste modo uma previsão numérica das regiões de separação para as quais se considera que as resistências à transferência de massa não possam ser desprezáveis (Pais *et al.*, 2000).

A previsão do desempenho de separação de uma forma mais rigorosa, que considere os efeitos da dispersão axial e das resistências à transferência de massa, é feita utilizando o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB) e o modelo de leito móvel simulado (SMB). O modelo TMB em estado estacionário considera o contacto ideal em contracorrente entre a fase líquida e a fase sólida. O modelo SMB em estado transiente é mais realista uma vez que considera a natureza cíclica e a rotação periódica das correntes de entrada e de saída numa unidade real.

A caracterização do desempenho em estado estacionário de um SMB é efectuada frequentemente através da determinação de quatro parâmetros: pureza, recuperação, consumo de solvente e produtividade. Estes parâmetros são definidos para o caso de uma mistura binária (mistura racémica) na qual o componente menos retido (espécie A) é recuperado no refinado e o componente mais retido (espécie B) é recuperado no extracto.

Os parâmetros de recuperação e de pureza são definidos para ambas as linhas de produto, extracto e refinado. A pureza do extracto é definida como a razão entre a concentração do componente mais retido e a concentração total das duas espécies no extracto. A pureza do refinado é definida como a razão entre a concentração do componente menos retido e a concentração total das duas espécies no refinado. A recuperação é definida como a quantidade da espécie obtida na respectiva linha de produto dividida pela quantidade total da mesma espécie alimentada no sistema.

Os parâmetros consumo de solvente e produtividade podem ser, por exemplo, definidos em termos da quantidade total da mistura racémica introduzida no sistema. O consumo de solvente é definido, assim, como a quantidade total de solvente utilizado (no eluente e na alimentação) por unidade de quantidade racémica tratada. A produtividade é, deste modo, definida como a quantidade de mistura racémica tratada por volume total de leite e por unidade de tempo. A Tabela 3.8 resume e define os parâmetros de desempenho utilizados. Deve ser referido que os parâmetros consumo de solvente e produtividade assim definidos, são independentes da separação conseguida, dependendo apenas dos caudais volumétricos de eluente e de alimentação utilizados, pelo que, devem ser analisados em conjunto com as restrições de purezas pretendidas (nesta tese, assumida em pelo menos 99.0%).

Tabela 3.8 Critérios de desempenho utilizados na operação em SMB.

Parâmetro de Desempenho	Extracto	Refinado
Pureza (%)	(3.105) $PUX = \frac{\bar{C}_B^X}{\bar{C}_A^X + \bar{C}_B^X} 100$	(3.106) $PUR = \frac{\bar{C}_A^R}{\bar{C}_A^R + \bar{C}_B^R} 100$
Recuperação (%)	(3.107) $RCX = \frac{Q_X \bar{C}_B^X}{Q_F C_B^F} 100$	(3.108) $RCR = \frac{Q_R \bar{C}_A^R}{Q_F C_A^F} 100$
Consumo de Solvente, SC (L/g alimentação)	(3.109) $SC = \frac{Q_E + Q_F}{Q_F (C_A^F + C_B^F)} = \frac{1}{(C_A^F + C_B^F)} \left[1 + \frac{\gamma_I - \gamma_{IV}}{\gamma_{III} - \gamma_{II}} \right]$	
Produtividade, PR (g alimentação/(hr.L _{leito}))	(3.110) $PR = \frac{Q_F (C_A^F + C_B^F)}{V_T} = \frac{\varepsilon}{N_C t^*} (\gamma_{III} - \gamma_{II}) (C_A^F + C_B^F)$	
	(3.111) $\pi = PR \frac{N_C t^*}{\varepsilon} = (\gamma_{III} - \gamma_{II}) (C_A^F + C_B^F)$	

3.6 Metodologia Numérica

No estudo de separação preparativa das misturas racémicas quirais de cetoprofeno e flurbiprofeno, fez-se recurso a diferentes metodologias numéricas.

Como já foi referido, após a obtenção experimental dos dados de equilíbrio de adsorção multicomponente, utilizou-se a subrotina *LMDER.f* (Garbow *et al.*, 1980) desenvolvida em linguagem de programação FORTRAN para estimar os parâmetros do modelo de isotérmica que melhor descrevesse o comportamento dos dados experimentais (ver secção 3.2).

Para confirmar a qualidade do modelo de isotérmica de adsorção escolhido (e respectivos parâmetros) procedeu-se à realização de experiências de cromatografia frontal em leito fixo. Os dados experimentais obtidos com estas experiências foram então comparados com simulações do comportamento do sistema em leito fixo. Estas simulações utilizaram a rotina numérica PDECOL

(Sincovec e Madsen, 1979) desenvolvida em linguagem de programação FORTRAN (ver secção 3.3).

Para a previsão do desempenho de separação (região de separação, consumo de solvente e produtividade) em condições lineares e preparativas, utilizou-se ordenadamente a metodologia que se descreve de seguida.

Inicialmente, considerou-se o modelo da Teoria de Equilíbrio (separação completa, 100%), resolvendo o conjunto de equações algébricas utilizando uma folha de Microsoft Excel. Recorde-se que esta metodologia depende unicamente dos parâmetros dos modelos das isotérmicas de adsorção.

De seguida, utilizou-se o modelo de TMB em estado estacionário de forma a estudar o efeito da introdução da resistência à transferência de massa e da dispersão axial no comportamento de adsorção. Para estas simulações utilizou-se a rotina numérica COLNEW (Bader e Asher, 1987) a qual utiliza a implementação da técnica de colocação em elementos-finitos para a resolução de sistemas de diferentes ordens que possuam condições fronteiras definidas por equações diferenciais ordinárias. Cada secção do modelo TMB é composta por 4 equações diferenciais ordinárias (EDO): para cada componente existe uma EDO resultante do balanço de massa a um elemento de volume do leito, e outra resultante a um balanço de massa na partícula. Como a Unidade de TMB é dividida em 4 secções, e por outro lado, considerando uma separação binária, o modelo de TMB em estado estacionário é caracterizado por um conjunto de 16 EDOs.

Considera-se que se atinge o estado estacionário sempre que a soma total dos erros relativos entre a quantidade total de cada componente que entra no sistema (na corrente de alimentação) e a que sai do sistema (no extracto e na refinado), determinado num ciclo completo, em iterações sucessivas, seja menor do que um dado valor definido pelo utilizador ($e_T < 0.01$). Este erro é definido da forma que se descreve de seguida:

$$e_T = e_X + e_R + e_A + e_B \quad (3.112)$$

em que,

$$e_X = \frac{|\bar{C}_{X(i)}^A - \bar{C}_{X(i-1)}^A|}{\bar{C}_{X(i)}^A} + \frac{|\bar{C}_{X(i)}^B - \bar{C}_{X(i-1)}^B|}{\bar{C}_{X(i)}^B} \quad (3.113)$$

$$e_R = \frac{|\bar{C}_{R(i)}^A - \bar{C}_{R(i-1)}^A|}{\bar{C}_{R(i)}^A} + \frac{|\bar{C}_{R(i)}^B - \bar{C}_{R(i-1)}^B|}{\bar{C}_{R(i)}^B} \quad (3.114)$$

$$e_A = \frac{|Q_F C_F^A - (Q_X \bar{C}_X^A + Q_R \bar{C}_R^A)|}{Q_F C_F^A} \quad (3.115)$$

$$e_B = \frac{|Q_F C_F^B - (Q_X \bar{C}_X^B + Q_R \bar{C}_R^B)|}{Q_F C_F^B} \quad (3.116)$$

Para simular de uma forma mais precisa o desempenho de separação com o modelo SMB em estado transiente, utilizou-se uma rotina desenvolvida em linguagem de programação FORTRAN juntamente com a rotina PDECOL, à semelhança das simulações efectuadas para prever o comportamento do sistema em leito fixo. Em todas as simulações, considerou-se que o sistema atingiu o estado estacionário cíclico ao fim de 40 ciclos completos.

Tanto as simulações do modelo TMB em estado estacionário como da unidade SMB em modo transiente foram realizadas de forma a definir regiões de separação nas quais a pureza das corrente de extracto e refinado fossem de pelo menos 99.0% e utilizando uma margem de segurança de 25% para estabelecer os valores críticos de γ_I e γ_{IV} .

As simulações relativas dos perfis de concentração nas correntes de extracto e de refinado, assim como os perfis internos de extracto e refinado nas colunas foram obtidos recorrendo ao pacote de simulação gPROMS (versão 3.0.4, *Process System Enterprise*, UK). Este pacote realiza a integração numérica, utilizando um modelo desenvolvido no LSRE especificamente para a instalação FlexSMB-LSRE®. Este modelo tem como principal objectivo, contabilizar os volumes mortos da unidade para que os perfis traduzam de uma forma mais aproximada o comportamento dos valores experimentais (Sá Gomes, 2010).

3.7 Equipamento e metodologia experimental para a separação preparativa de leito móvel simulado

3.7.1 Descrição da instalação experimental (FlexSMB-LSRE®)

A instalação experimental utilizada (ver Figura 3.5a) para a separação das misturas racémicas de cetoprofeno e flurbiprofeno foi projectada e recentemente instalada no LSRE (Sá Gomes, 2009). Na Figura 3.5b apresenta-se a representação esquemática de toda a unidade quando esta opera de modo clássico [1,2,2,1]. A instalação do LSRE caracteriza-se pela sua flexibilidade, nomeadamente em termos da diversidade de modos de operação para a maior gama possível de misturas quirais. A configuração adoptada para a sua construção é semelhante à utilizada na patente US Patent 5,456,825 de 1995 (Negawa *et al.*, 1995).

A unidade possui duas válvulas SD (*Select-Dead-end flow path* da Vici-Valco, Suíça) na linha de extracto (SD2 e SD5) e outras duas na linha de refinado (SD4 e SD6), uma válvula (SD3) na linha de alimentação e outra válvula (SD1) na linha de eluente/dessorvente e ainda uma válvula de duas vias para cada coluna (da Vici-Valco, Suíça). Apesar de neste trabalho se ter operado a instalação com 6 colunas é possível operar a unidade com até 12 colunas.

Na configuração utilizada e que está apresentada na Figura 3.5b, existe apenas uma única bomba de HPLC dentro da linha principal e sempre colocada na mesma posição: na linha de refinado, no início da secção IV ("*Recycle pump*"). Existe uma configuração alternativa, podendo ser colocada na linha de extracto, no início da secção II (ver Sá Gomes, 2009).

A corrente que sai da base da coluna 1 (fim da secção I) é toda retirada através da válvula SD2, sendo uma parte retirada como corrente de saída de extracto, utilizando a bomba de extracto, e a outra fracção é enviada através da válvula SD5 para o topo da coluna 2 (início da secção II). De uma forma idêntica, a corrente que sai da base da coluna 5 é toda retirada através da válvula SD4. Esta corrente sofre então uma divisão, sendo parte retirada como corrente de refinado e parte é enviada com a bomba de reciclo ("*Recycle pump*") através da

válvula SD6 para o topo da coluna 6 (início da secção IV). A corrente de alimentação é puxada através do desgaseificador com a bomba de alimentação e enviada através da válvula SD3 para o topo da coluna 4 (início da secção III). A corrente de eluente/dessorvente é puxada através do desgaseificador com a bomba de eluente e enviada através da válvula SD1 para o topo da coluna 1 (início da secção I). Entre cada coluna existe uma válvula de duas vias (actuando como válvulas "on-off"), direccionando toda a corrente de saída de cada coluna para a linha de extracto ou de refinado.

Foram utilizadas 4 bombas de HPLC (VWR P130, VWR International, USA), 3 bombas com cabeças de 50 mL/min (extracto, eluente e reciclo) e uma com cabeça de 10 mL/min (alimentação), auxiliadas por dois medidores de caudal (*Coriolis flow meter* M53-ABD-22-0-B, Bronkhorst B.V., Netherlands) de forma a reduzir as flutuações de caudal dentro da unidade. Existem 4 válvulas de segurança (*Purge valves*, Swagelok, USA) instaladas após cada bomba de forma a proteger as cabeças das bombas evitando pressões demasiado elevadas durante o passo de rotação. Existe ainda uma válvula de segurança adicional colocada após a válvula SD4 e na saída da corrente de refinado, que juntamente com a válvula colocada na bomba de extracto servem não só como válvulas de segurança mas também como forma de regular manualmente a pressão total do sistema.

Todo o sistema é operado, automaticamente através de uma interface desenvolvida em *LabView* (National Instruments, USA) a qual utiliza 5 placas USB de aquisição de dados (DAQ) ligadas a um computador portátil que gere o controlo de toda a instalação (válvulas, bombas e medidores de caudal).

Neste estudo, utilizaram-se 6 colunas com o comprimento de 10.0 cm e o diâmetro de 2.0 cm (*Grom*, Alemanha, agora designada por *Grace*, USA) em aço inox. As colunas encontravam-se previamente empacotadas com a fase estacionária *Chiralpack AD 20 μm* (*amylose tris-(3,5 dimethylphenylcarbamate* revestido em sílica-gel) fornecida pela *Chiral Technologies Europe* (França). As especificações do adsorvente encontram-se descritas no Anexo F.

(a)



(b)

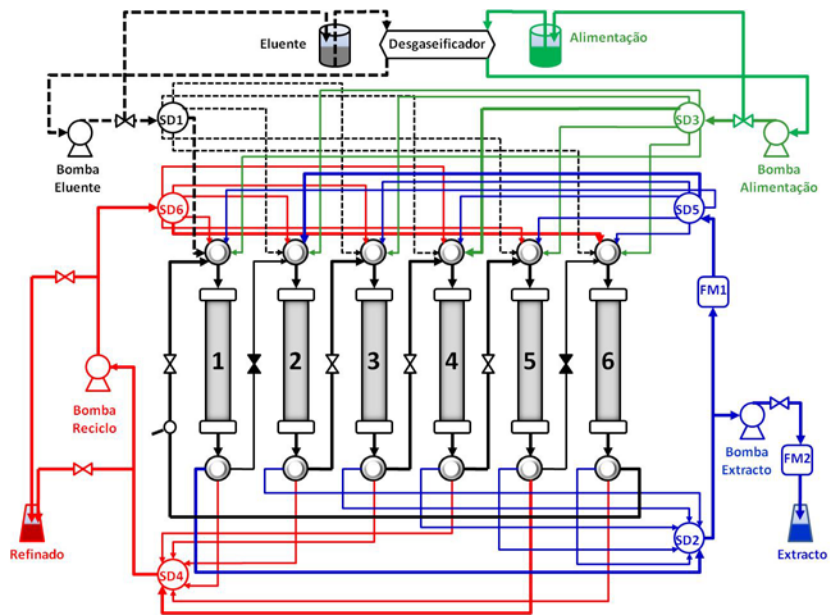


Figura 3.5 A instalação FlexSMB-LSRE® (LSRE-FEUP) (a) e a respectiva representação esquemática em operação clássica [1,2,2,1] (b). As linhas a negro representam o percurso activo durante a primeira rotação. [Adaptado da Fig. 7 da Fonte: Sá Gomes, 2010]

3.7.2 Arranque inicial da instalação

De acordo com as indicações do fabricante, não é recomendável operar a fase estacionária a pressões superiores a 50 bar. Esta limitação de pressão impõe a utilização de uma margem de segurança, assumida aquando da construção da unidade de forma que a pressão total no sistema não ultrapasse 35 a 40 bar. Devido à especificidade da instalação do LSRE (a qual não possui um medidor directo de pressão na secção I), a pressão do sistema é lida na bomba de extracto, colocada à saída da secção I (secção na qual se atinge a maior pressão).

De forma a iniciar a instalação, realizou-se uma limpeza em modo manual e de seguida em modo SMB clássico [1,2,2,1] (automático) com etanol puro, tendo-se gradualmente ajustado os caudais de forma a verificar as quedas de pressão obtidas nas quatro bombas utilizadas (reciclo, eluente, extracto e alimentação) até que a pressão lida na bomba de extracto fosse aproximadamente 35 bar. Após se ter feito a limpeza da unidade, confirmada por análises das amostras das correntes de saída, fez-se passar a fase móvel necessária para cada separação, contendo 0.01% de modificador ácido (TFA).

Destes ensaios iniciais, verificou-se que para uma composição de eluente de 100/0/0.01 uma pressão de 35 bar na bomba de extracto correspondia a um caudal interno na secção I de cerca de 20 mL/min (ou seja, na coluna 1) e que com uma composição de eluente de 10/90/0.01 era possível operar um caudal na secção I de aproximadamente 30 mL/min. Estes valores de caudais internos na secção I, $Q^*_{I}=20$ mL/min para a composição 100/0/0.01 e $Q^*_{I}=30$ mL/min para a composição 10/90/0.01 foram o primeiro parâmetro de operação imposto nas simulações realizadas para estimar as regiões de separação.

3.7.3 Determinação das estimativas das regiões de separação e parâmetros de desempenho

Na determinação das regiões de separação foram fixados os valores de γ_I e de γ_{IV} (razões entre velocidades intersticiais na operação TMB nas secções adjacentes I e IV), bem como o tempo de rotação da operação em SMB (t^*). Para tal, foram

utilizados os valores críticos de γ_I e de γ_{IV} nas condições de linearidade da isotérmica de adsorção (isto é, a baixas concentrações), acrescidas de um factor de segurança, β , de 25%:

$$\gamma_I = \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}(m_2 + Qb_2)\beta \quad (3.117)$$

$$\gamma_{IV} = \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}(m_1 + Qb_1)/\beta \quad (3.118)$$

o tempo de rotação da operação em SMB foi de seguida fixado por:

$$t^* = \frac{\varepsilon V_C}{Q_I^*}(\gamma_I + 1) \quad (3.119)$$

onde Q_I^* representa o caudal interno máximo admissível da secção I e referido anteriormente para cada composição de solvente ($Q_I^* = 20 \text{ mL/min}$ e $Q_I^* = 30 \text{ mL/min}$ para, respectivamente, as composições de 100/0/0.01 e 10/90/0.01).

A previsão das regiões de separação e dos parâmetros de desempenho (produtividade e consumo de solvente) foi efectuada utilizando o modelo de Teoria de Equilíbrio (modelo isotérmica LLG4; separação completa 100%), bem como os modelos de operação em TMB e SMB através de resolução numérica com modelo de isotérmica LLG5 e impondo uma pureza de pelo menos 99.0% para extracto e refinado. As equações dos modelos utilizados foram apresentadas anteriormente na secção 3.4. utilizando o modelo TMB em estado transiente (isotérmica: modelo LLG5) com purezas de 99.0% e utilizando o modelo SMB em estado transiente (isotérmica: modelo LLG5) com purezas de 99.0%. A metodologia numérica utilizada, para a simulação destes três modelos, encontra-se previamente descrita na secção 3.6.

3.7.4 Metodologia utilizada no cálculo das condições operatórias

Analogamente ao realizado para estimar as regiões de separação e os parâmetros de desempenho, foram fixados os valores de γ_I e γ_{IV} bem como o tempo de rotação da operação em SMB (t^*). Para tal foram utilizados os valores

críticos de γ_I e γ_{IV} nas condições de linearidade da isotérmica de adsorção, acrescidas de um factor de segurança, β , de 25% (Eq. 3.117 e Eq. 3.118) Os valores de γ_{II} e γ_{III} são escolhidos dentro da região de separação. As estimativas dos valores das razões entre a velocidade intersticiais de sólido e de líquido nas quatro secções do SMB são determinadas através dos correspondentes valores de operação TMB:

$$\gamma_j^* = (\gamma_j + 1) \quad \text{com } j = I, II, III \text{ e } IV \quad (3.120)$$

De seguida, determina-se uma estimativa do tempo de rotação da operação em SMB (t^*) com base numa pressão máxima na bomba de extracto de 35 bar (à saída da secção I) a qual corresponde a um caudal Q_{I}^* de 30 mL/min para a composição de 10/90/0.01 e a um caudal Q_{I}^* de 20 mL/min para a composição de 100/0/0.01 (Equação 3.119).

A partir do valor do tempo de rotação e dos valores de γ_j^* estimam-se os restantes valores dos caudais internos da operação em SMB, nas secções II, III e IV.

$$Q_j^* = \frac{\varepsilon V_C}{t^*} \gamma_j^* \quad \text{com } j = II, III, IV \quad (3.121)$$

Finalmente, calculam-se os caudais de entrada, saída e de reciclo da operação em SMB, através dos balanços materiais.

$$Q_E = Q_I^* - Q_{IV}^* \quad (3.122)$$

$$Q_F = Q_{III}^* - Q_{II}^* \quad (3.123)$$

$$Q_X = Q_I^* - Q_{II}^* \quad (3.124)$$

$$Q_R = Q_{III}^* - Q_{IV}^* \quad (3.125)$$

$$Q_{REC} = Q_{IV}^* \quad (3.126)$$

Na fase inicial, realiza-se a purga das bombas de eluente e alimentação, a pesagem dos frascos de eluente e alimentação e dos frascos de recolha das correntes de extracto e de refinado. Após isto, a instalação é colocada a operar com a introdução dos valores estimados de massa volúmica do eluente, do tempo de rotação, e dos caudais de eluente, extracto, alimentação e reciclo. Com

o auxílio das leituras realizadas pelos medidores de caudal de extracto e caudal à entrada da secção II (ver Figura 3.6) e pela recolha no final de um ciclo completo ($6t^*$) das amostras das duas correntes de saída e da sua pesagem para determinação experimental dos respectivos caudais procede-se à correcção dos valores de caudais introduzidos quando necessário.

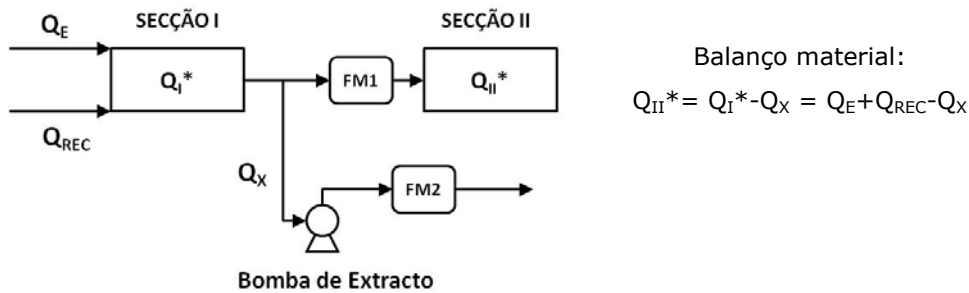


Figura 3.6 Controlo manual do caudal e pressão na secção I através de um balanço material.

Simultaneamente, realiza-se a análise das amostras recolhidas em cada ciclo das correntes de extracto e refinado no mesmo sistema de HPLC utilizado para determinar as isotérmicas de adsorção, previamente descrito. Neste caso, utilizou-se o sistema com uma configuração analítica, ou seja, um *loop* de 20 μL e a coluna "analítica" (Chiralpack AD com um tamanho de partícula de 10 μm). As concentrações obtidas neste passo serviram para observar o comportamento dos perfis de concentração dos dois enantiómeros no refinado e no extracto. Considerou-se que se atingiu o estado estacionário quando após pelo menos 5 ciclos completos, as purezas das correntes de extracto (*PUX*) e de refinado (*PUR*) fossem no mínimo, e em média, de 99.0%, e que a variação da concentração do componente mais retido no extracto e do componente menos retido no refinado fosse no máximo, e em média, de 3%. Nesta altura, iniciou-se o processo de recolha das amostras dos perfis internos nas seis colunas, utilizando uma válvula de seis vias, colocada à saída da secção IV. Este procedimento foi realizado em ciclos alternados para minimizar perturbações no sistema e também continuar a ser possível monitorizar os perfis de concentração nas correntes de saída. Foram recolhidas no mesmo ciclo, seis amostras (uma para cada coluna) em tempos correspondentes a 25%, 50%, 75% e 95% do tempo de uma rotação (t^*). De

uma forma geral, prolongou-se por mais dois/três ciclos a operação tendo-se finalmente parado a instalação. A separação seguinte realizou-se na maior parte dos casos sem realizar a limpeza das colunas. Ou seja, a posição inicial de uma experiência corresponde à posição final da experiência que a precedeu.

3.8 Conclusões

Neste capítulo apresentam-se as ferramentas experimentais utilizadas na caracterização e optimização da separação de enantiómeros por cromatografia líquida preparativa. Estas ferramentas são aplicadas nos capítulos 4 e 6 para o cetoprofeno e nos capítulos 5 e 7 para o flurbiprofeno.

As ferramentas utilizadas são descritas pela seguinte ordem:

- (i) Descrição do método gravimétrico, utilizado na determinação de dados de solubilidade das misturas racémicas em vários solventes e temperaturas;
- (ii) Descrição do método de adsorção-dessorção, para a obtenção das isotérmicas de equilíbrio de adsorção, nas fases móveis cuja solubilidade seja vantajosa para fins preparativos (valores de solubilidade elevados);
- (iii) Metodologia utilizada na modelização e ajuste dos dados de equilíbrio obtidos experimentalmente através de modelos geralmente utilizados em cromatografia líquida para misturas binárias;
- (iv) Apresentação das equações utilizadas na modelização e simulação das experiências de cromatografia de leito fixo (cromatografia frontal), de forma a comparar as previsões com os resultados obtidos experimentalmente;
- (v) Apresentação das equações utilizadas na modelização e simulação das experiências de separação preparativa com a tecnologia de leito móvel simulado;
- (vi) Apresentação das equações utilizadas nas previsões do desempenho de separação obtida num sistema de leito móvel simulado;
- (vii) Descrição da metodologia numérica utilizada em todas as modelizações e simulações;
- (viii) Finalmente, faz-se a apresentação da metodologia seguida na operação da instalação experimental de leito móvel simulado (descrição da instalação, arranque inicial, determinação das regiões de separação e parâmetros de desempenho e cálculo das condições operatórias utilizadas para cada separação).

3.9 Referências

- Azevedo, D.; Rodrigues, A.; "Design of a simulated moving bed unit in the presence of mass-transfer resistances", **AIChE J.** 45 (1999a) 956-966.
- Azevedo, D.; Rodrigues, A.; "Bilinear driving force approximation in the modeling of a simulated moving bed using bidisperse adsorbents", **Ind. Eng. Chem. Res.** 38 (1999b) 3519-3529.
- Bader, G.; Asher, U.; SIAM, **J. Sci. Stat. Comput.** 8 (1987) 483.
- Biressi, G.; Ludemann, O.; Mazzotti, M.; Nicoud, R.; Morbidelli, M.; "Design and optimisation of a simulated moving bed unit: role of deviations from equilibrium theory", **J. Chromatogr. A** 876 (2000) 3-15.
- Broughton, D.; Gerhold, C.; "Continuous sorption process employing fix beds of sorbent and moving inlets and outlets", **US Patent** 2,985,589 (1961).
- Chiral Technologies Europe, *Daicel Catalogue* 2010.
- Ching, C.; Ruthven M.; "An Experimental study of a simulated counter-current adsorption system –I. Isothermal steady state operation", **Chem. Engng Sci.** 40 (1985) 877-885.
- Francotte, E.; Richert, P.; "Applications of simulated moving bed chromatography to the separation of enantiomers of chiral drugs", **J. Chromatogr. A** 769 (1997) 101-107.
- Garbow, B.; Hillstrom, K.; More, J.; MINPACK subroutine LMDER, double precision version, Argonne National Laboratory, March 1980, disponível em "Netlib Repository at UTK and ORNL", (<http://www.netlib.org/minpack/>).
- Gracin, S.; Rasmunson, A.C.; "Solubility of Phenylacetic Acid, p-Hydroxyphenylacetic Acid, p-Aminophenylacetic Acid, p-Hydroxybenzoic Acid, and Ibuprofen in Pure Solvents", **J. Chem. Eng. Data** 47 (2002) 1379-1383.

- Grill, C.; Miller, L.; Yan, T.; "Resolution of a racemic pharmaceutical intermediate. A comparison of preparative HPLC, steady state recycling, and simulated moving bed", **J. Chromatogr. A** 1026 (2004) 101-108.
- Guiochon, G.; Shirazi, S.; Katti, A.; "Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography", **Academic Press, Inc.** (1994) Chapter IV.
- Juza, M.; "Development of an high-performance liquid chromatographic simulated moving bed separation from an industrial perspective", **J. Chromatogr. A** 865 (1999) 35-49.
- Mazzotti, M.; Storti, G.; Morbidelli, M.; "Optimal operation of simulated moving bed units for nonlinear chromatographic separations", **J. Chromatogr. A** 769 (1997) 3-24.
- Migliorini, C.; Gentilini, A.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; "Design of simulated moving bed units under nonideal conditions", **Ind. Eng. Chem. Res.** 38 (1999) 2400-2410.
- Negawa, M.; Fumihko, S.; "Simulated moving bed separation system", **US Patent** 5,456,825 (1995).
- Nicoud, R.; "The simulated moving bed: A powerful chromatographic process", **LC-GC Intl.** 5 (1992) 43-47.
- Nicoud, R.; "Simulated moving bed in preparative chromatography: Basics, limitations and use" in "Simulated Moving Bed: Basics and Applications", **Institut National Polytechnique de Lorraine**, Nancy, France (1993) 54-64.
- Nicoud, R.; Seidel-Morgenstern, A.; "Adsorption Isotherms: Experimental Determination and application to preparative chromatography" in "Simulated Moving Bed: Basics and Applications", **Institut National Polytechnique de Lorraine**, Nancy, France (1993) 4-34.

- Pais, L.; Loureiro, J.; Rodrigues, A.; "Modeling, simulation and operation of a simulated moving bed for continuous chromatographic separation of 1,1'-bi-2-naphthol enantiomers", **J. Chromatogr. A** 769 (1997) 25-35.
- Pais, L.; Loureiro, J.; Rodrigues, A.; "Modeling Strategies for Enantiomers Separation by SMB chromatography", **AIChE J.** 44 (1998a) 561-569.
- Pais, L.; Loureiro, J.; Rodrigues, A.; "Separation of enantiomers of a chiral epoxide by simulated moving bed chromatography", **J. Chromatogr. A** 827 (1998b) 215-233.
- Pais, L.; "Chiral Separation by Simulated Moving Bed Chromatography", FEUP-UP, **PhD Thesis**, Chapter 5, May 1999.
- Pais, L.; Loureiro, J.; Rodrigues, A.; "Chiral separation by SMB chromatography", **Sep. Purif. Technol.** 20 (2000) 67-77.
- Pais, L.; Rodrigues, A.; "Design of simulated moving bed and Varicol processes for preparative separations with a low number of columns", **J. Chromatogr. A** 1006 (2003) 33-44.
- Pais, L.; Mata, V.; Rodrigues, A.; "Simulated moving bed and related techniques", in G. Cox (Editor), **Preparative Enantioselective Chromatography**, Blackwell Publishing, Oxford, UK, 2005, Chapter 7, p. 176.
- Rodrigues, A.; Pais, L.; "Design of a SMB chiral separations using the concept of separation volume", **Sep. Sci. Technol.** 39 (2004) 241-266.
- Ruthven M.; Ching, C.; "Counter-current and simulated counter-current adsorption separation processes", **Chem. Engng Sci.** 44 (1989) 1011-1038.
- Sá Gomes, P.; "Advances in Simulated Moving Bed: New Operating Modes; New Design Methodologies; and Product (FlexSMB-LSRE®) Development", **PhD Thesis**, University of Porto, 2009.

- Sá Gomes, P.; Zabkova, M.; Zabka, M.; Minceva, M.; Rodrigues, A.; "Separation of Chiral Mixtures in Real SMB Units: The FlexSMB-LSRE[®]", **AIChE J.** 56 (2010) 125-142.
- Schulte, M.; Ditz, R.; Devant, R.; Kinkle, J.; Charton, F.; "Comparison of the specific productivity of different chiral stationary phases used for simulated moving-bed chromatography", **J. Chromatogr. A** 769 (1997) 93-100.
- Seidel-Morgenstern, A.; "Experimental determination of single solute and competitive adsorption isotherms", **J. Chromatogr. A** 1037 (2004) 255-272.
- Sincovec, F.; Madsen, K.; "Algorithm 540. PDECOL, general collocation software for partial differential equation", **ACTM Trans. Math. Softw.** 5 (1979) 326-351.
- Storti, G.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; Carrà, S.; "Robust Design of Binary Countercurrent Adsorption Separation Processes", **AIChE J.** 39 (1993) 471-492.
- Wang, X.; Ching, C.; "Chiral separation and modelling of the tree-chiral-center β -blocker drug nadolol by simulated moving bed chromatography", **J. Chromatogr. A** 1035 (2004) 167-176.
- Zabka, M.; Rodrigues, A.; "Thermodynamic and Kinetic Study of Adsorption of R,S- α -Tetralol Enantiomers on the Chiral Adsorbent CHIRALPAK AD", **Sep. Sci. Technol.** 42 (2007) 739-768.
- Zhang, T.; Schaeffer, M.; Franco, P.; "Optimization of the chiral separation of a Ca-sensitizing drug on an immobilized polysaccharide-based chiral stationary phase. Case study with a preparative perspective", **J. Chromatogr. A** 1083 (2005) 96-101.
- Zhong, G.; Guiochon, G.; "Analytical solution for the linear ideal model of simulated moving bed chromatography", **Chem. Engng Sci.** 51 (1996) 4307-4319.

Capítulo 4

Separação Preparativa dos Enantiómeros de Cetoprofeno: *Estudos em coluna de leito fixo.*

Neste capítulo apresentam-se e discutem-se os resultados obtidos na determinação das isotérmicas de adsorção competitivas dos dois enantiómeros de cetoprofeno, utilizando o método de adsorção-dessorção, em diferentes composições da fase móvel. São apresentados e analisados os estudos relativos a experiências de solubilidade, cromatografia de eluição e de cromatografia frontal em diferentes composições da fase móvel. A modelização dos dados de adsorção e a simulação da operação num sistema de cromatografia de leito fixo e num sistema de cromatografia de leito móvel simulado é apresentada como forma de justificar a selecção da composição da fase móvel para separação preparativa dos enantiómeros de cetoprofeno.

O trabalho desenvolvido e apresentado neste capítulo conduziu à seguinte publicação: António E. Ribeiro, Nuno S. Graça, Luís S. Pais, Alírio E. Rodrigues; "Preparative separation of ketoprofen enantiomers: Choice of mobile phase composition and measurement of competitive adsorption isotherms"; Separation and Purification Technology 61 (2008) 375-383.

4.1 Introdução

O cetoprofeno, ácido (*R,S*)-2-(3-benzilfenil propiónico) [*ketoprofen*, (*R,S*)-2-(3-benzoylphenylpropionic acid)], é um anti-inflamatório não esteróide, AINE (*Non Steroidal Anti-Inflammatory Drug*, NSAID) com efeito analgésico e anti-inflamatório (Figura 4.1). Possui propriedades antipiréticas, sendo efectivo no tratamento da artrite reumatóide, da osteoartrite e da espondilite anquilosante.

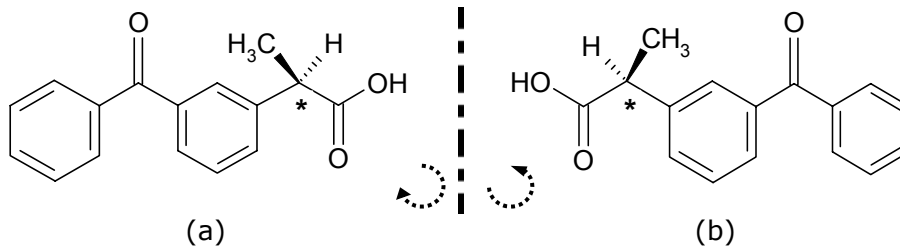


Figura 4.1 Enantiómeros do cetoprofeno: (a) S-(+)-cetoprofeno e (b) R-(-)-cetoprofeno. (ver anexo G)

À semelhança de outros AINEs, o seu efeito terapêutico principal foi inicialmente atribuído ao enantiómero S, enquanto os efeitos secundários indesejados, frequentemente relatados, foram associados ao enantiómero R (Panico *et al.*, 2005; Landoni e Soraci, 2001). Esta associação deveu-se ao facto de, nos estudos iniciais de desenvolvimento destes fármacos, se ter constatado que o enantiómero R era consideravelmente menos potente do que o respectivo isómero S e que possivelmente se acumularia nos tecidos, provocando diversos efeitos tóxicos.

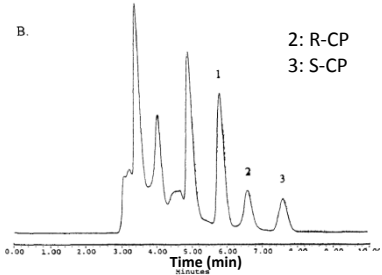
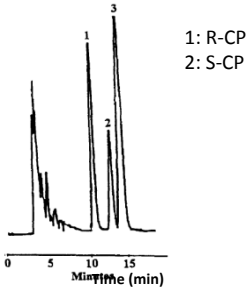
Os profenos são tradicionalmente comercializados sob a forma de uma mistura racémica, com a excepção do naproxeno que foi inicialmente comercializado como enantiómero puro, S-naproxeno. Recentemente, foi introduzido no mercado o dexcetoprofeno trometamol, enantiómero S do cetoprofeno, na forma de um sal de trometamina (Burke e Bannister, 2003). A utilização do enantiómero puro facilita o mecanismo de acção do fármaco, além de possibilitar a redução de 50% da quantidade de dosagem, relativamente à mistura racémica. Por outro lado, permite também um efeito terapêutico mais potente e minimiza os possíveis efeitos secundários inerentes ao enantiómero inactivo R. Contudo,

estas considerações têm sido postas em causa uma vez que existem cada vez mais estudos que referem alguns efeitos terapêuticos para os enantiómeros R dos AINEs. Em relação ao cetoprofeno, têm sido referidos efeitos terapêuticos distintos (Ossipov *et al.*, 2000). Enquanto o enantiómero S do cetoprofeno é referido como tendo actividade anti-inflamatória e analgésica, o seu enantiómero R pode ser utilizado como aditivo em pastas dentífricas para prevenção de doenças periodontais (Ong *et al.*, 2006; Ju *et al.*, 2003).

Torna-se, assim, cada vez mais clara a necessidade de realizar estudos individualizados a cada um dos enantiómeros dos AINEs de forma a poder avaliar-se as respectivas potencialidades terapêuticas. Desta forma, têm tido um importante desenvolvimento tanto as técnicas analíticas que possibilitam a detecção e a quantificação destes compostos em variadas amostras, como os processos de separação à escala preparativa, que permitem a disponibilidade dos enantiómeros para os diversos estudos farmacológicos.

De entre os inúmeros métodos instrumentais de análise utilizados para a separação e/ou a quantificação dos enantiómeros de cetoprofeno, como sejam a electroforese (Blanco *et al.*, 2003; Sádecká e Čakrt, 2005), a cromatografia gasosa (Shah *et al.*, 1996), a extracção com fluidos supercríticos (Svensson e Owens, 2000; Maftouh *et al.*, 2005), a cromatografia em camada fina (Aboul-Enein *et al.*, 2003; Sajewicz *et al.*, 2007a-b) e a cromatografia líquida acoplada com a espectrometria de massa (Marchese *et al.*, 2003), a mais utilizada continua a ser a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Mullangi *et al.*, 2003; Fiori *et al.*, 2004; Zhuang e Song, 2007). De entre as várias fases estacionárias utilizadas à escala analítica para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno apresentam-se na Tabela 4.1 apenas os estudos em que se utilizou uma coluna Chiralpack AD.

Tabela 4.1 Separação dos enantiômeros de cetoprofeno à escala analítica, utilizando uma coluna Chiralpack AD. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.

Composição da Fase Móvel	α	R_s	Cromatograma	Referência
Hex/IPA/TFA (80/19.9/0.1)	1.17	2.35		Carr <i>et al.</i> , 1995
Hex/IPA/TFA (95/5/1)	1.12	ND	ND	Booth <i>et al.</i> , 1996
n-Hex/IPA/TFA (95/5/1)	ND	ND	ND	Jamali <i>et al.</i> , 1997
n-Hex/IPA/TFA (90/10/0.1)	ND	ND		Lovlin <i>et al.</i> , 1996
n-Hex/IPA/TFA	ND	2.33	ND	Hoke <i>et al.</i> , 2000
Hex/EtOH/TFA (90/10/0.1)	ND	1.46	ND	Perrin <i>et al.</i> , 2002
Hex/IPA/TFA (90/10/0.1)	ND	1.56	ND	

À escala preparativa, a obtenção dos enantiómeros de cetoprofeno pode ser realizada através de processos de síntese assimétrica (Ramminger *et al.*, 2000), de cristalização enantioselectiva (Wu *et al.*, 2006 e 2007), de resolução enzimática (Gong *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2002; Xi *et al.*, 2005; Ong *et al.*, 2005 e 2006; Long *et al.*, 2007; Yoon *et al.*, 2007) e de cromatografia líquida (Yoon *et al.*, 2004; Yoon e Kim, 2004; Park *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2008; Khattabi e Cox, 2009). Apesar de actualmente a resolução cinética (enzimática) ser o método mais utilizado para a produção de enantiómeros de cetoprofeno, a cromatografia líquida tem vindo a ocupar um lugar de destaque na separação de compostos quirais, pelo que poderá ser um dos processos mais utilizados no futuro, também para a separação de misturas racémicas de cetoprofeno e dos AINEs em geral. Na Tabela 4.2, apresenta-se o valor de selectividade e resolução obtidos nos poucos estudos realizados, que foram publicados sobre a separação dos enantiómeros de cetoprofeno sob o ponto de vista preparativo. A ordem de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno, segundo as figuras apresentadas, varia de acordo com o tipo de fase sólida. Sobre este ponto apresenta-se no anexo G um estudo realizado com a mistura racémica e o enantiómero S de cetoprofeno utilizando o enchimento Chiralpack AD. Nos estudos referidos na Tabela 4.2, nenhum utiliza um enchimento do tipo Chiralcel OD ou Chiralpack AD. Recentemente, foi apresentado em conferência internacional (Khattabi e Cox, 2009) um estudo em que se utiliza o enchimento Chiralpack AD para separar os enantiómeros de cetoprofeno por cromatografia líquida preparativa utilizando a tecnologia de SMB.

Tabela 4.2 Separação dos enantiômeros de cetoprofeno com um ponto de vista preparativo. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.

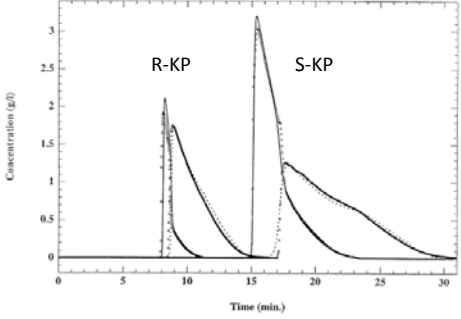
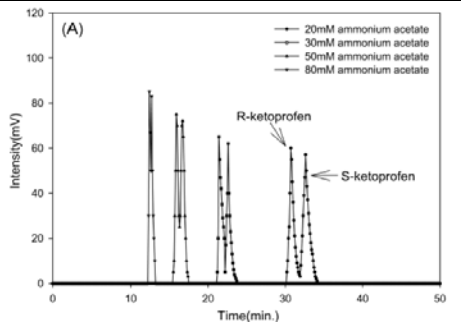
Coluna; Composição da Fase Móvel	α	R_s	Cromatograma	Referência
Chiralcel OJ n-Hex/IPA (90/10)	1.33	ND		François <i>et al.</i> , 1999
Chirex 3005 Hex/IPA/TFA (95/5/1)	1.09	1.16		Yoon e Kim, 2004

Tabela 4.2 (Cont.) Separação dos enantiómeros de cetoprofeno com um ponto de vista preparativo. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.

Coluna; Composição da Fase Móvel	α	R_s	Cromatograma	Referência
Kromasil CHI-II Hex/MtBE/HAc (80/20/0.1)	1.21	7.20		Yoon e Kim, 2004
Kromasil TTB Hex/MtBE/HAc (85/15/0.1)	ND	ND		Yoon et al., 2004

Na secção seguinte apresentam-se e analisam-se os resultados obtidos em coluna de leito fixo cujo objectivo principal consiste na selecção da composição do solvente para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno por cromatografia líquida preparativa. Estes estudos foram realizados numa coluna (ver Figura 4.2), designada por coluna “leito fixo” de dimensões analíticas (250 mm L x 4.6 mm ID) e com um enchimento Chiralpack AD cujo tamanho de partícula é de 20 μm .



Figura 4.2 Coluna “leito fixo” utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno (Chiralpack AD 20 μm ; 250 mm L x 4.6 mm ID).

4.2 Apresentação e análise de resultados

4.2.1 Solubilidade da mistura racémica de cetoprofeno

A solubilidade da mistura racémica de cetoprofeno foi determinada para várias composições da fase móvel e diferentes temperaturas, utilizando o método gravimétrico descrito na secção 3.1.2. Foi igualmente estudada a dependência da solubilidade de cetoprofeno com o teor de álcool numa mistura etanol/n-hexano.

Os resultados apresentados na Tabela 4.3 mostram que, como era de esperar, a solubilidade aumenta com o aumento de temperatura. Estes resultados também mostram que, para uma temperatura de 25°C, os enantiómeros de cetoprofeno possuem uma solubilidade crescente em fases móveis de 20%etanol/80%n-hexano, 100%acetonitrilo, 100%isopropanol, 100%etanol e 100%metanol.

Tabela 4.3 Solubilidade do cetoprofeno em cinco composições da fase móvel e a diferentes temperaturas, expressa em g/kg solvente (numa base livre de soluto).

<i>Composição da fase móvel</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Solubilidade, S (g cetoprofeno/kg solvente)</i>
100%metanol	15	932.9
	20	1270
	25	1463
100%etanol	15	645.2
	20	813.3
	25	836.9
100%isopropanol	25	604.3
100%acetonitrilo	25	220.5
20%etanol/80%n-hexano	25	101.3

Estes resultados também confirmam que as misturas racémicas de cetoprofeno possuem valores de solubilidade consideravelmente mais elevados em fases móveis polares do que em fases móveis combinadas de álcool-hidrocarboneto com uma elevada composição em hidrocarboneto (Miller *et al.*, 1999). Esta conclusão é reforçada pelos resultados experimentais obtidos no estudo da influência da solubilidade do cetoprofeno com a variação da composição de álcool numa fase móvel de etanol/n-hexano, apresentado na Figura 4.3. Os

enantiómeros de cetoprofeno, insolúveis em n-hexano puro, apresentam valores de solubilidade crescentes com o aumento da composição em etanol. Para etanol puro, a uma temperatura de 25°C, a solubilidade dos enantiómeros de cetoprofeno é de 836.9 g/kg solvente numa base isenta de soluto. Este resultado é da mesma ordem de grandeza dos resultados obtidos por Gracin e Rasmuson (2002) para a solubilidade dos enantiómeros de ibuprofeno em etanol e metanol puros.

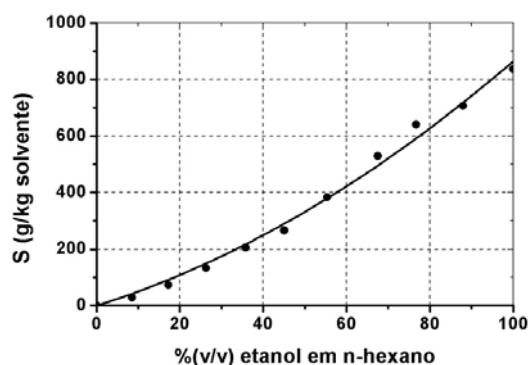


Figura 4.3 Efeito do teor de álcool na composição do solvente (etanol/n-hexano) na solubilidade (S) dos enantiómeros de cetoprofeno a 25°C, expressa em g de cetoprofeno/kg de solvente numa base livre de soluto.

Estes resultados mostram claramente a importância da utilização de uma fase móvel com um teor elevado de álcool, uma vez que, para separações preparativas, a elevada solubilidade do racemato é um factor importante. A utilização de solventes puros é também vantajosa à escala preparativa, já que simplifica os processos de evaporação e reutilização (Schulte *et al.*, 1997).

4.2.2 Cromatografia de eluição

Realizaram-se várias experiências de eluição de modo a poder estudar-se, de uma forma global, a selectividade dos enantiómeros de cetoprofeno nos diferentes tipos de solventes considerados. Nestas experiências, efectuadas em condições preparativas (ou seja, concentrações elevadas), estudaram-se dois tipos de misturas da fase móvel: misturas etanol/n-hexano e misturas metanol/n-hexano com concentrações crescentes em álcool. As misturas

etanol/n-hexano são miscíveis em toda a gama de composições tendo-se escolhido para estudo, as composições 5/95, 10/90, 20/80, 40/60, 70/30 e 100/0. Contudo, as misturas metanol em n-hexano apresentam, a uma temperatura de 23°C, uma faixa de imiscibilidade entre 6% e 60% (Sørensen e Arlt, 1979; Trejo *et al.*, 2006). Por este facto, escolheram-se para um estudo comparativo, as misturas 5/95, 70/30 e 100/0 de metanol em n-hexano. As experiências consistiram numa série de injeções (pulsos) de 6 concentrações diferentes de cetoprofeno: 0.05, 0.20, 0.50, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L (na coluna preparativa (tamanho de partícula de 20 μm), utilizando dois volumes de injeção diferentes: um *loop* de 100 μL e um *loop* de 1 mL.

Os resultados obtidos, utilizando um caudal de 1 mL/min, encontram-se apresentados na Figura 4.4 para as misturas etanol/n-hexano e um volume injectado de 100 μL , na Figura 4.5 para as misturas etanol/n-hexano e um volume injectado de 1 mL, na Figura 4.6 para as misturas metanol/n-hexano e um volume injectado de 100 μL , e na Figura 4.7 para as misturas metanol/n-hexano e um volume injectado de 1 mL. Em todas estas experiências pode ser observada uma diminuição do tempo de retenção com o aumento da concentração dos enantiómeros, a qual evidencia um comportamento típico dos sistemas descritos por isotérmicas de adsorção favoráveis. Nestes resultados pode ser observado um valor elevado do tempo de retenção para as misturas com teor elevado de hexano quando comparadas com os respectivos solventes de álcool puros (etanol e metanol).

Da análise das Figuras 4.4 a 4.7 conclui-se, igualmente, que uma fase móvel com elevada concentração de hidrocarboneto conduz à existência de uma cauda cromatográfica significativa (ver, por exemplo, as Figuras 4.5 e 4.7 para a composição de 5/95). Tal evidencia um comportamento fortemente não-linear prejudicando a eficiência da separação quiral. Pode ser ainda observado, pela análise dos resultados apresentados nas Figuras 4.3 e 4.7, que a composição de 100% metanol, apesar de possibilitar uma solubilidade elevada (Tabela 4.1), não permite obter selectividade suficiente e, conseqüentemente, impossibilita a separação dos enantiómeros de cetoprofeno.

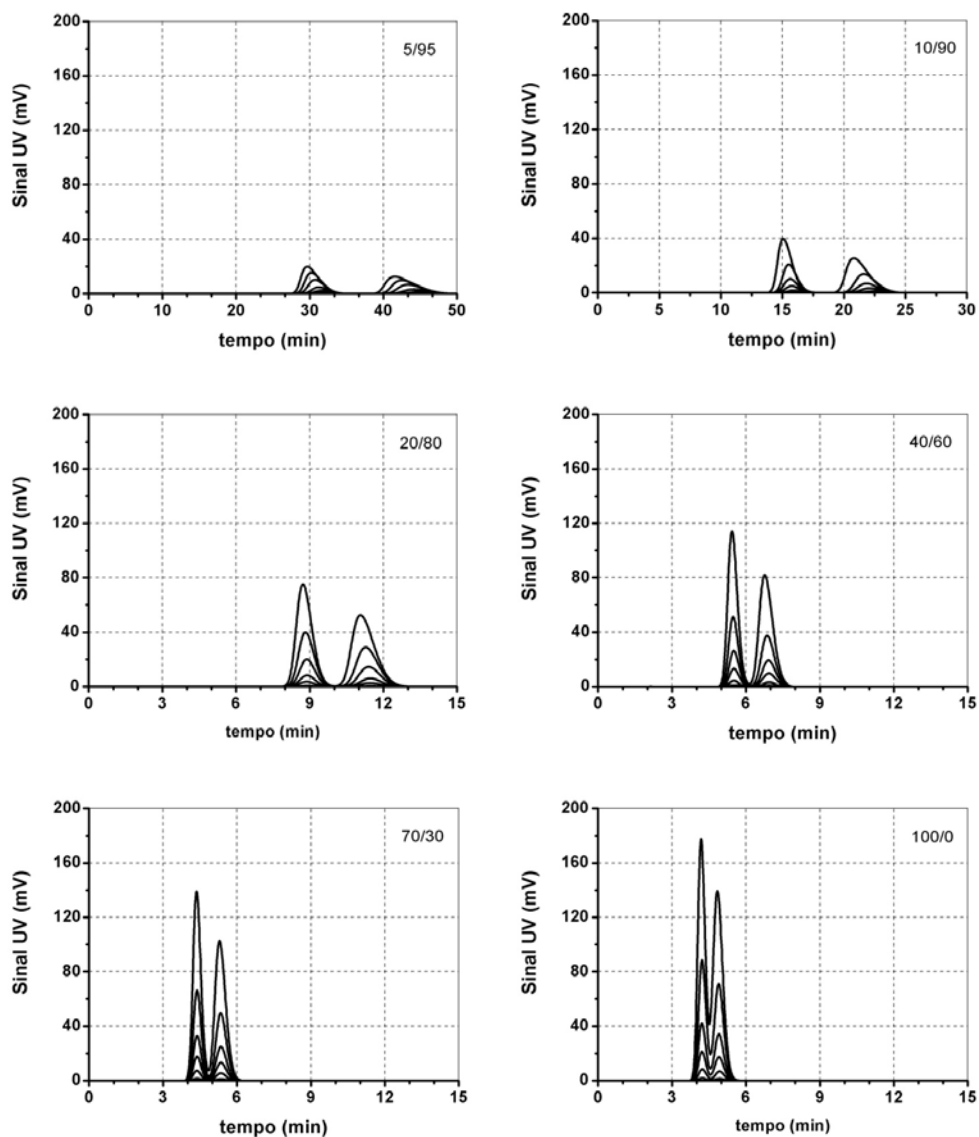


Figura 4.4 Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel etanol/n-hexano: 5/95; 10/90; 20/80; 40/60; 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 100 μL .

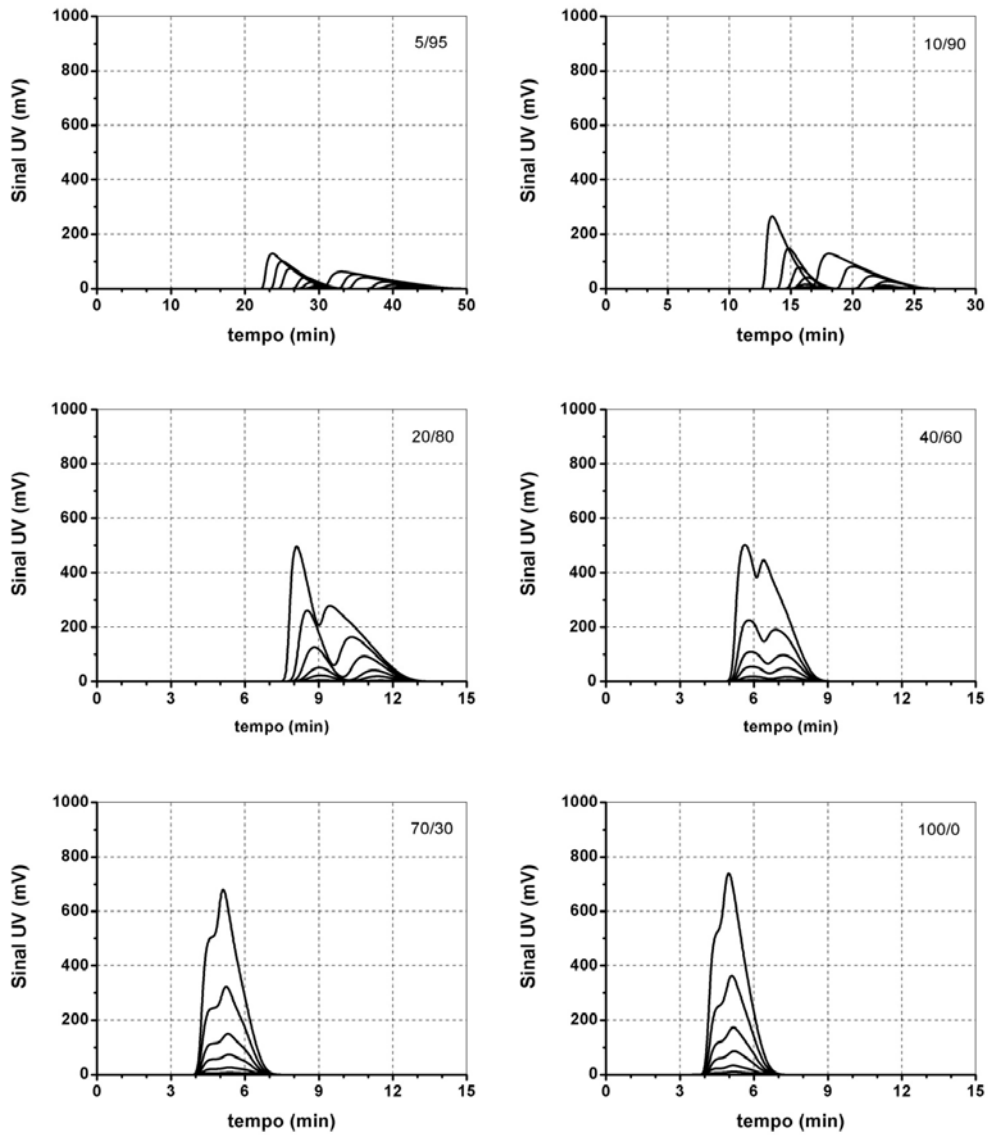


Figura 4.5 Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel etanol/n-hexano: 5/95; 10/90; 20/80; 40/60; 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μ m); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 1mL.

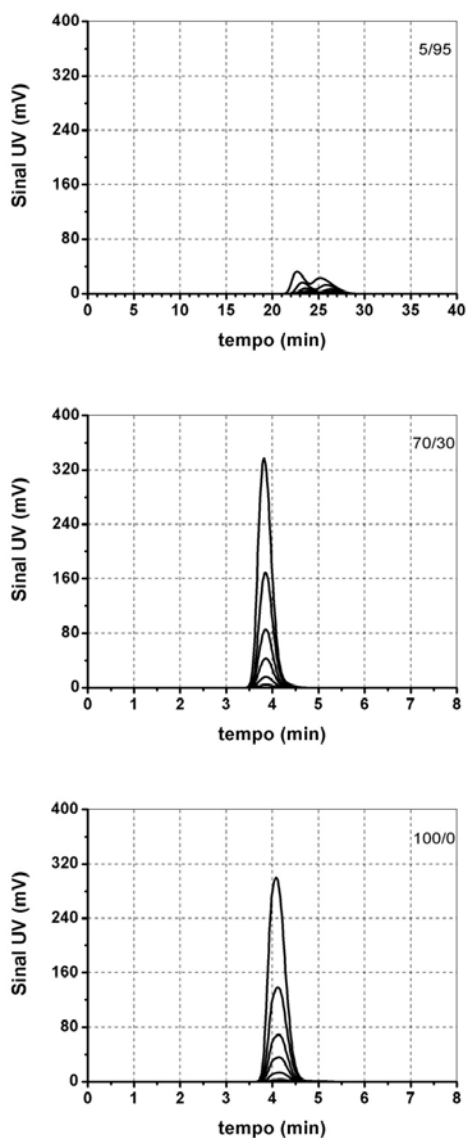


Figura 4.6 Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel metanol/n-hexano: 5/95, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 100 μL .

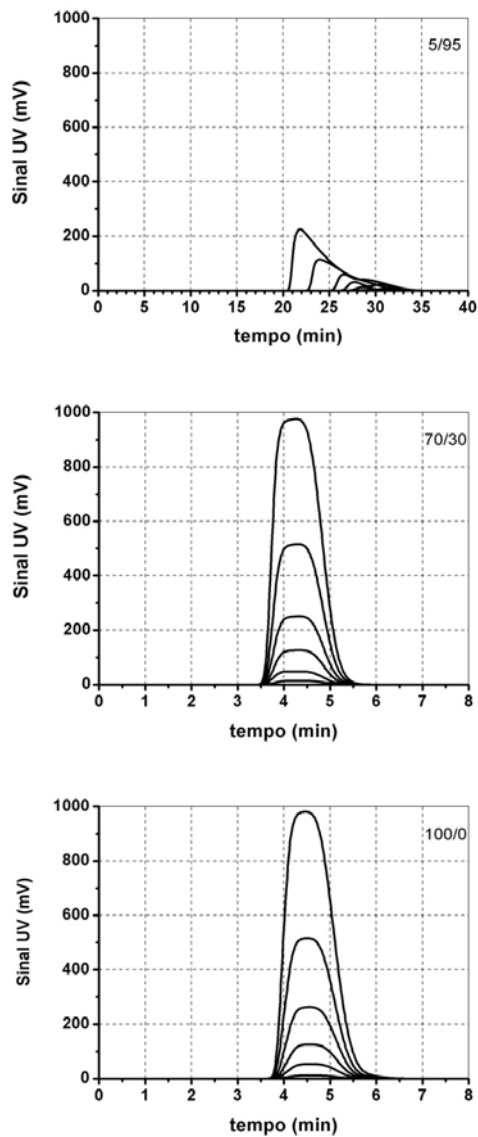


Figura 4.7 Histórias experimentais de eluição dos enantiómeros de cetoprofeno em diferentes composições da fase móvel metanol/n-hexano: 5/95, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 260 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 1mL.

4.2.3 Determinação experimental de isotérmicas de adsorção multicomponente e sua modelização

Na determinação experimental das isotérmicas de adsorção competitivas de cetoprofeno utilizou-se o método de adsorção-dessorção descrito na secção 3.1.3. Tendo em conta os resultados preliminares obtidos nas experiências de cromatografia de eluição (pulsos), estudaram-se quatro composições de etanol em n-hexano (10/90, 20/80, 40/60 e 100/0) e uma composição de metanol puro. Utilizaram-se várias soluções de misturas racémicas de cetoprofeno até 40 g/L (20 g/L de cada enantiómero), com excepção da composição 10/90 devido a ter sido atingido o limite de solubilidade da mistura racémica no solvente. Os resultados experimentais obtidos foram ajustados aos quatro modelos de isotérmicas apresentados (Equações 3.3 a 3.6). Os parâmetros das isotérmicas foram estimados através do algoritmo de Levenberg-Marquardt descrito na secção 3.2.

Na Tabela 4.4 apresentam-se os resultados numéricos obtidos, verificando-se, nas Figuras 4.8 e 4.9 um bom ajuste entre os modelos escolhidos e os respectivos resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção nas diferentes composições de fase móvel.

Tendo em consideração o desvio padrão corrigido, como parâmetro de referência para a selecção do modelo que melhor descreve o comportamento dos dados experimentais, verifica-se que para as composições 10/90 e 40/60 de etanol em n-hexano é suficiente a utilização do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) enquanto para as composições 20/80 de etanol em n-hexano e etanol puro torna-se vantajosa a utilização do modelo bi-Langmuir (BLG6), embora o modelo anterior descreva igualmente bem os resultados experimentais obtidos.

Para a fase móvel de metanol puro, o comportamento de adsorção é bem correlacionado pelo modelo de Langmuir. A utilização de modelos com um número superior de parâmetros não melhora o ajuste obtido (não diminui SD, nem SQ, ver Tabela 4.4).

Tabela 4.4 Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do cetoprofeno nas três composições de fase móvel utilizando a coluna “leito fixo”. M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q_A , Q_B , b_1 , b_2 , b_3 e b_4 são os parâmetros estimados para os quatro modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir ($m_1 \neq m_2$); BLG6 - bi-Langmuir; SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.

10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA													
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q_A	Q_B	b_1	b_2	b_3	b_4	SQ	SD	
LG3		3	-	-	77.74		5.767×10^{-2}	6.925×10^{-2}	-	-	1.432	0.3989	
LLG4	12	4	1.286		26.51		1.442×10^{-1}	2.012×10^{-1}	-	-	0.7096	0.2978	
LLG5		5	1.208	0.7771	35.99		9.285×10^{-2}	1.545×10^{-1}	-	-	0.2482	0.1883	
BLG6		6	-	-	18.77	103.9		1.166×10^{-1}	2.509×10^{-1}	2.254×10^{-2}	1.855×10^{-2}	0.2351	0.1979
20%etanol/80%n-hexano/0.01%TFA													
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q_A	Q_B	b_1	b_2	b_3	b_4	SQ	SD	
LG3		3	-	-	137.3		1.722×10^{-2}	1.875×10^{-2}	-	-	2.180	0.3388	
LLG4	22	4	0.6575		52.19		3.586×10^{-2}	4.152×10^{-2}	-	-	1.493	0.2880	
LLG5		5	0.6148	0.3772	69.50		2.508×10^{-2}	3.518×10^{-2}	-	-	0.6668	0.1981	
BLG6		6	-	-	8.355	159.3		5.190×10^{-2}	1.479×10^{-1}	1.213×10^{-2}	1.149×10^{-2}	0.5920	0.1924
40%etanol/60%n-hexano/0.01%TFA													
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q_A	Q_B	b_1	b_2	b_3	b_4	SQ	SD	
LG3		3	-	-	155.2		1.032×10^{-2}	1.167×10^{-2}	-	-	1.479	0.2790	
LLG4	22	4	0.5500		53.92		2.023×10^{-2}	2.514×10^{-2}	-	-	1.350	0.2739	
LLG5		5	0.3670	1.378×10^{-5}	116.3		1.003×10^{-2}	1.632×10^{-2}	-	-	0.7615	0.2117	
BLG6		6	-	-	2.734	168.1		6.184×10^{-8}	1.611×10^{-1}	9.157×10^{-3}	9.334×10^{-3}	0.7457	0.2159

Tabela 4.4 (Cont.) Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do cetoprofeno nas três composições de fase móvel utilizando a coluna “leito fixo”. M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q_A , Q_B , b_1 , b_2 , b_3 e b_4 são os parâmetros estimados para os quatro modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir ($m_1 \neq m_2$); BLG6 - bi-Langmuir; SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.

100%etanol/0.01%TFA												
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q_A	Q_B	b_1	b_2	b_3	b_4	SQ	SD
LG3		3	-	-	162.7		6.209×10^{-3}	7.278×10^{-3}	-	-	0.2222	0.1081
LLG4	22	4	0.4788		38.72		1.392×10^{-2}	1.951×10^{-2}	-	-	0.1650	0.09574
LLG5		5	0.5469	0.5931	24.75		1.986×10^{-2}	2.656×10^{-2}	-	-	0.1558	0.09573
BLG6		6	-	-	0.5777	192.2	2.230×10^{-1}	6.595×10^{-1}	5.015×10^{-3}	5.771×10^{-3}	0.1291	0.08982
100%metanol/0.01%TFA												
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q_A	Q_B	b_1	b_2	b_3	b_4	SQ	SD
LG3		3	-	-	177.9		5.707×10^{-3}	6.187×10^{-3}	-	-	0.4640	0.1563
LLG4	22	4	1.366×10^{-5}		177.2		5.734×10^{-3}	6.216×10^{-3}	-	-	0.4640	0.1606
LLG5		5	7.024×10^{-6}	7.210×10^{-8}	177.2		5.734×10^{-3}	6.216×10^{-3}	-	-	0.4641	0.1652
BLG6		6	-	-	87.20	90.78	1.315×10^{-4}	1.195×10^{-2}	1.103×10^{-2}	6.707×10^{-4}	0.4632	0.1701

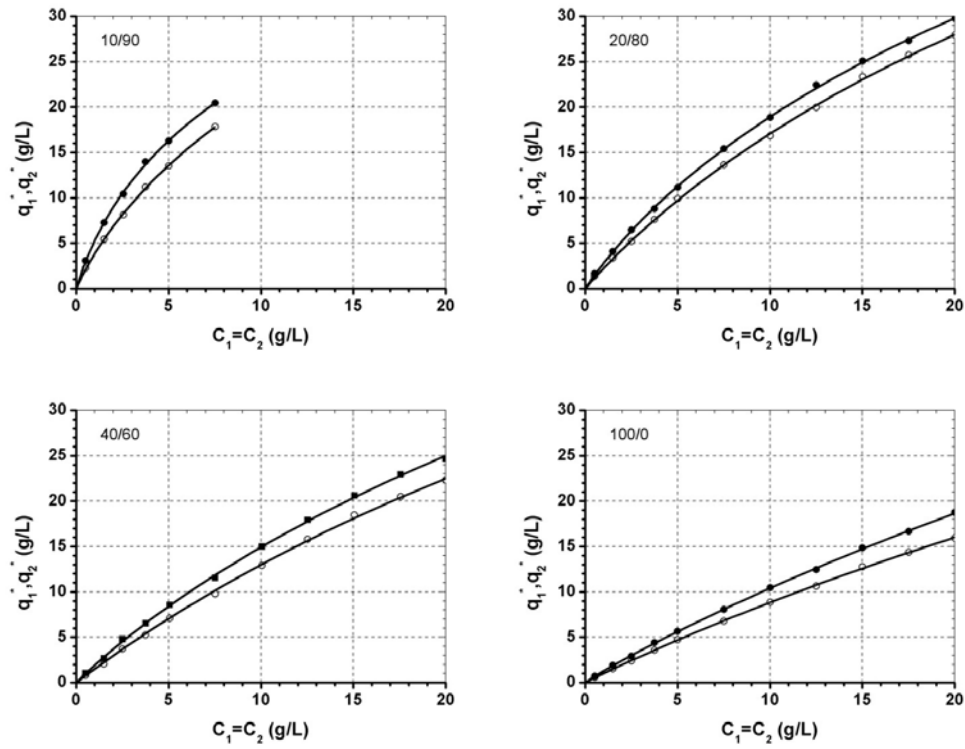


Figura 4.8 Comparação entre o modelo (BLG6) e os resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção do cetoprofeno em diferentes composições de etanol em n-hexano da fase móvel: 10/90 20/80, 40/60 e 100/0. Círculos abertos para concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas contínuas para o modelo da isotérmica de adsorção. Coluna “leito fixo”.

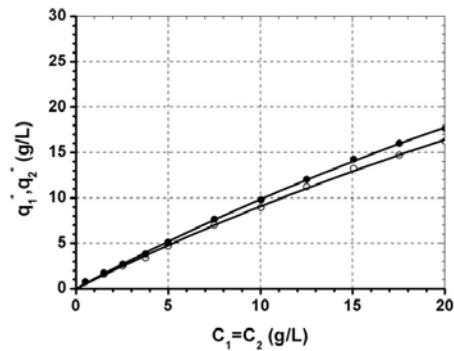


Figura 4.9 Comparação entre modelo e resultados experimentais para a isotérmica de adsorção do cetoprofeno numa fase móvel de metanol puro utilizando o modelo bi-Langmuir (BLG6). Círculos abertos para as concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas para o modelo da isotérmica de adsorção. Coluna “leito fixo”.

A comparação entre os ajustes obtidos com os vários modelos estudados (LG3, LLG4, LLG5 e BLG6) para cada composição da fase móvel encontra-se apresentada na Figura 4.10 para misturas etanol/n-hexano e na Figura 4.11 para metanol puro.

Na Figura 4.10 observa-se uma ligeira diferença, embora pouco significativa, entre o modelo LG3 e os restantes modelos para baixos teores de álcool. Pode-se também observar que à medida que o teor de álcool aumenta, as diferenças entre os vários modelos vão sendo cada vez menores, podendo-se afirmar que não existem diferenças entre os quatro modelos estudados para uma composição de etanol puro.

Na Figura 4.11, relativa a uma composição de metanol puro, observa-se também que não existem diferenças entre os quatro modelos estudados.

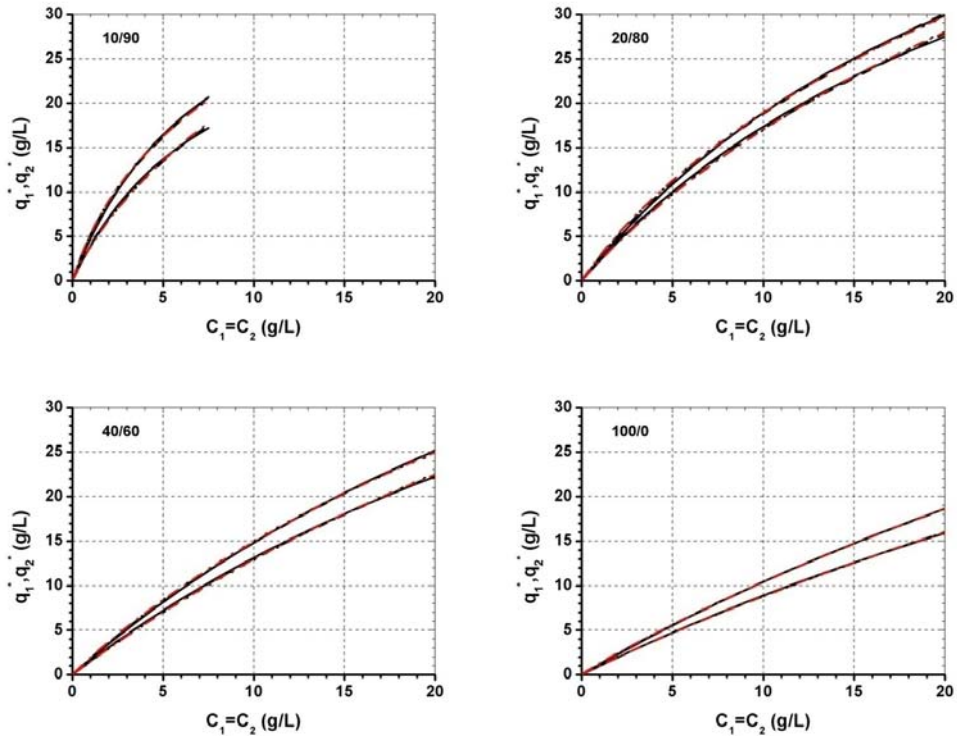


Figura 4.10 Comparação entre os quatro modelos das isotérmicas de adsorção dos dois enantiómeros de cetoprofeno para cada composição etanol/n-hexano da fase móvel: 10/90 20/80, 40/60 e 100/0. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4; Linha pontuada: LLG5 e Linha tracejada-pontuada: BLG6. Coluna “leito fixo”.

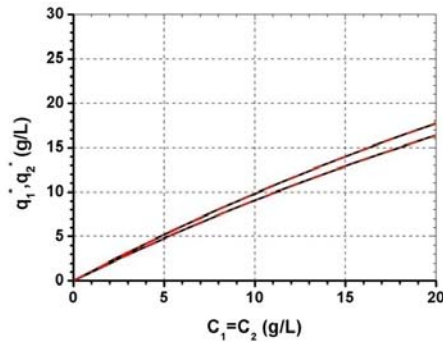


Figura 4.11 Comparação entre os quatro modelos das isotérmicas de adsorção dos dois enantiómeros de cetoprofeno para uma composição de metanol puro da fase móvel. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4; Linha pontuada: LLG5 e Linha tracejada-pontuada: BLG6. Coluna “leito fixo”.

As Figuras 4.12 a 4.16 representam a previsão das isotérmicas de adsorção multicomponente a três dimensões para as várias composições de solvente estudadas. Nas Figuras 4.12 a 4.15 apresentam-se as isotérmicas de adsorção referentes às quatro composições de etanol em n-hexano estudadas e na Figura 4.16 apresentam-se as isotérmicas de adsorção em metanol puro. Estas figuras realçam a dependência da quantidade adsorvida com a concentração de ambos enantiómeros na fase líquida.

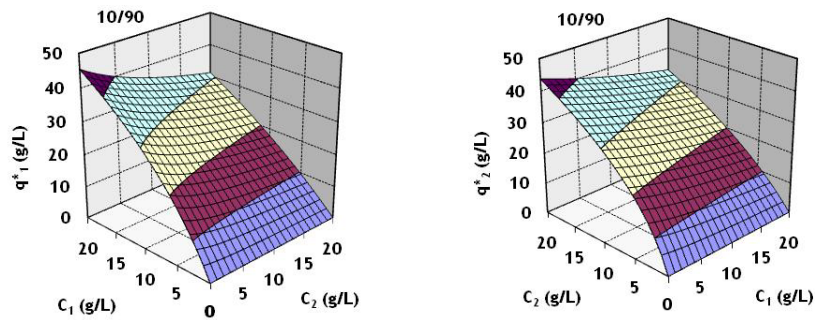


Figura 4.12 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de 10%etanol/90%n-hexano, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

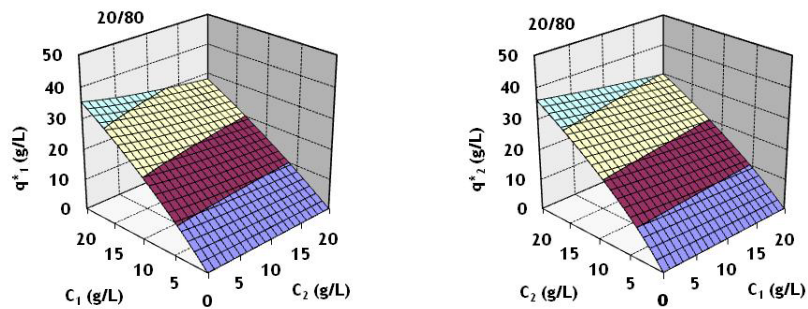


Figura 4.13 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de 20%etanol/80%n-hexano, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

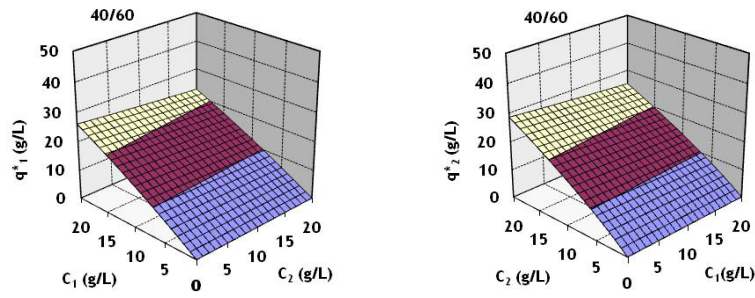


Figura 4.14 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de 40%etanol/60%n-hexano, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

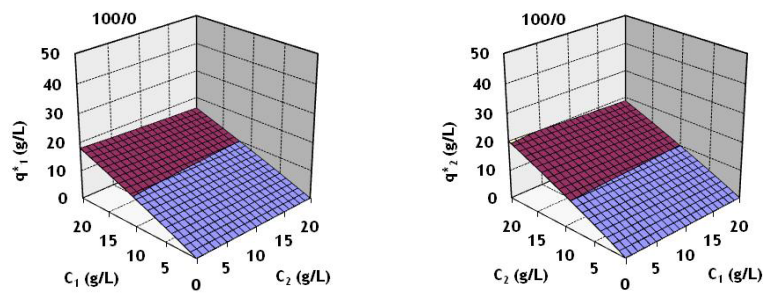


Figura 4.15 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de etanol puro, modelo bi-Langmuir (BLG6). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

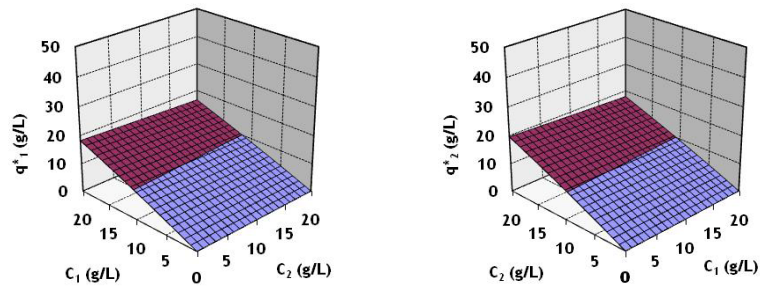


Figura 4.16 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de metanol puro, modelo Langmuir (LG3). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

A Figura 4.17 (para composições de solvente etanol/n-hexano) e a Figura 4.18 (para solvente 100% metanol) apresentam a previsão do factor de selectividade, a três dimensões, e a sua dependência relativamente à concentração de cada enantiómero na solução de alimentação. Nestas figuras observam-se três situações distintas. Para 100% metanol, a selectividade é baixa e constante (modelo de Langmuir), o que significa que a separação dos enantiómeros de cetoprofeno dificilmente poderá ser conseguida utilizando metanol puro como fase móvel (Figura 4.18). Os resultados representados na Figura 4.17 mostram que, apesar de uma elevada selectividade para baixas concentrações, as fases móveis tradicionais 10/90 e 20/80 apresentam uma forte diminuição de selectividade com o aumento da concentração dos enantiómeros de cetoprofeno.

A melhor situação é conseguida para uma fase móvel de etanol puro, na qual os valores de selectividade se mantêm elevados mesmo para valores elevados de concentração de enantiómeros. Por exemplo, para uma mistura racémica de 20 g/L em cada enantiómero, a selectividade em etanol puro é 1.17 enquanto em 20 /80 é apenas de 1.06.

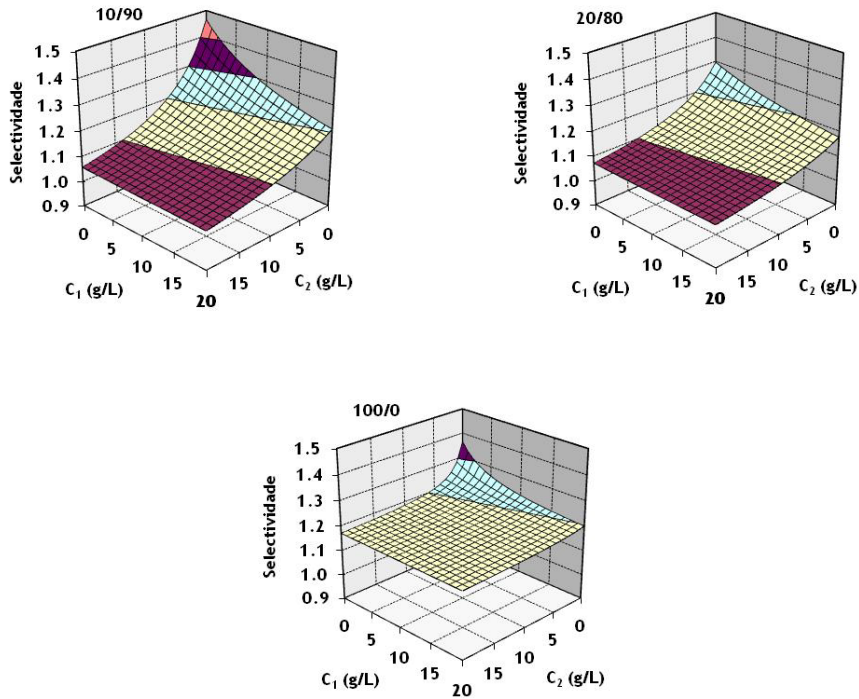


Figura 4.17 Influência da concentração dos enantiómeros de cetoprofeno no factor de selectividade, utilizando o modelo bi-Langmuir (BLG6) para as composições etanol/n-hexano: 10/90; 20/80; e 100/0.

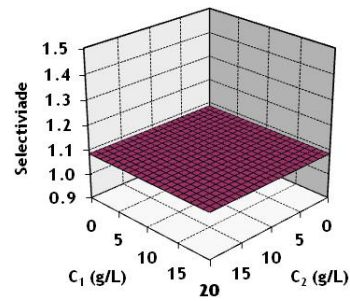


Figura 4.18 Influência da concentração dos enantiómeros de cetoprofeno no factor de selectividade, utilizando uma fase móvel de metanol puro e o modelo Langmuir (LG3).

Estas conclusões não resultam apenas da interpretação dos resultados teóricos (modelos), sendo também confirmadas experimentalmente. A Figura 4.19 apresenta os valores experimentais da selectividade (e respectivos modelos teóricos) para as diferentes fases móveis, reforçando as conclusões previamente apresentadas.

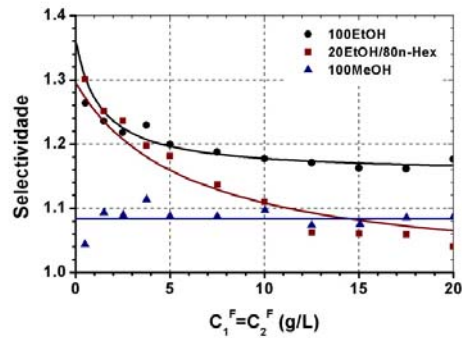


Figura 4.19 Comparação entre selectividades experimentais (pontos) e previsão da selectividade obtida com o modelo (linhas) BLG6 para 100%etanol e 20%etanol/80%n-hexano e o modelo LG3 para 100%metanol, para misturas racémicas de cetoprofeno. Quadrados para 20%etanol/80%n-hexano, círculos para etanol puro e triângulos para metanol puro. Coluna “leito fixo”.

Em conclusão, pode utilizar-se etanol puro na separação dos enantiómeros de cetoprofeno, apresentando desempenhos superiores aos obtidos com a fase móvel tradicional 10/90 ou 20/80 de álcool/hidrocarboneto. A utilização de uma fase polar de etanol puro permite valores de solubilidade significativamente superiores, menores tempos de retenção e valores de selectividade significativamente superiores para valores de concentração enantiomérica elevados. Todos estes aspectos são bastante relevantes para o desempenho da separação preparativa dos enantiómeros de cetoprofeno.

4.2.4 Experiências de cromatografia frontal e sua simulação

Com o objectivo de testar o modelo seleccionado para as isotérmicas de adsorção determinadas experimentalmente, realizou-se a medição experimental de curvas de saturação e regeneração numa fase móvel de etanol puro, em toda a gama de concentrações da solução de alimentação (misturas racémicas de

cetoprofeno de 10, 20, 30 e 40 g/L). Na Figura 4.20 apresentam-se os resultados experimentais obtidos (através da recuperação e análise de amostras em diferentes tempos) e os resultados obtidos pela previsão do modelo de força motriz linear (LDF) aplicado a um sistema de leito fixo (Secção 3.3, Tabela 3.2). Considerou-se um valor de porosidade interparticular de $\varepsilon=0.4$ e estimou-se, através de experiências de cromatografia frontal com um composto não retido, um valor de Peclet de 3500. Nestas figuras observa-se uma boa concordância entre os valores experimentais e os valores previstos pelo modelo, em toda a gama de concentrações estudada.

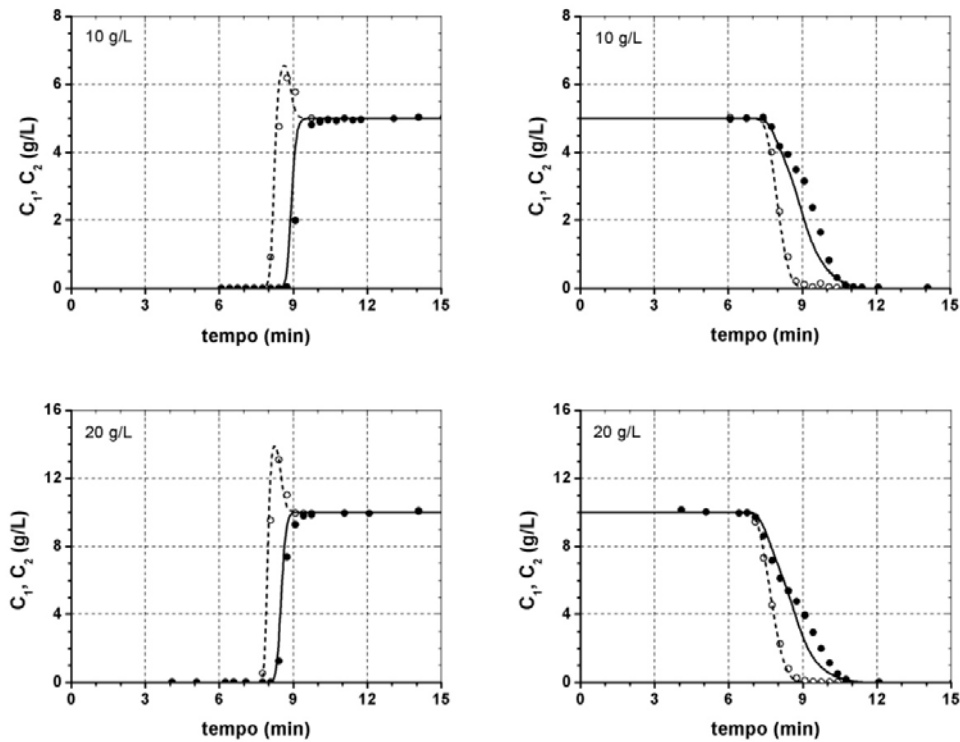


Figura 4.20 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) na coluna “leito fixo”, para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e a simulação (linhas) numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo bi-Langmuir (BLG6) (ver Tabela 4.2).

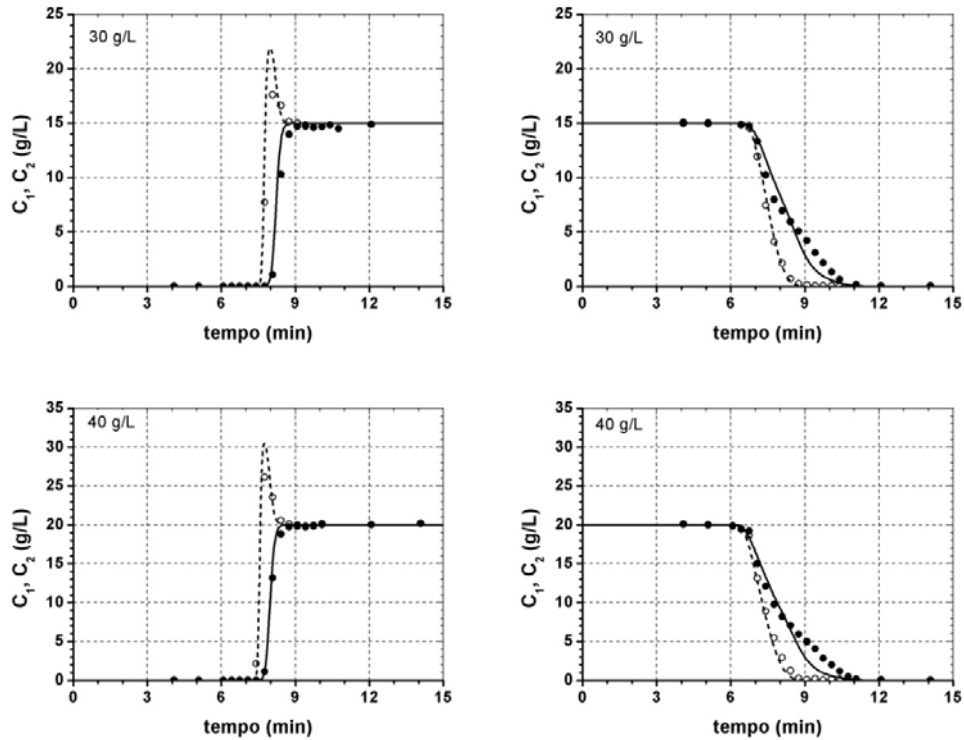


Figura 4.20 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) na coluna “leito fixo”, para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e a simulação (linhas) numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo bi-Langmuir (BLG6) (ver Tabela 4.2).

De modo a confirmar que não existem diferenças significativas entre os vários modelos, apresenta-se na Figura 4.21 o comportamento de adsorção em leito fixo para as concentrações de alimentação de 10, 20, 30 e 40 g/L numa fase móvel de etanol puro, previsto com os quatro modelos estudados (LG3, LLG4, LLG5 e BLG6).

Nesta figura observa-se, novamente, que existe uma ligeira diferença entre o modelo Langmuir e os restantes para concentrações baixas (ver concentração de 10 g/L). À medida que a concentração da alimentação aumenta, as diferenças entre os modelos vão sendo cada vez menores, podendo afirmar-se que para

uma concentração de alimentação de 40 g/L não existem diferenças observáveis entre os quatro modelos estudados.

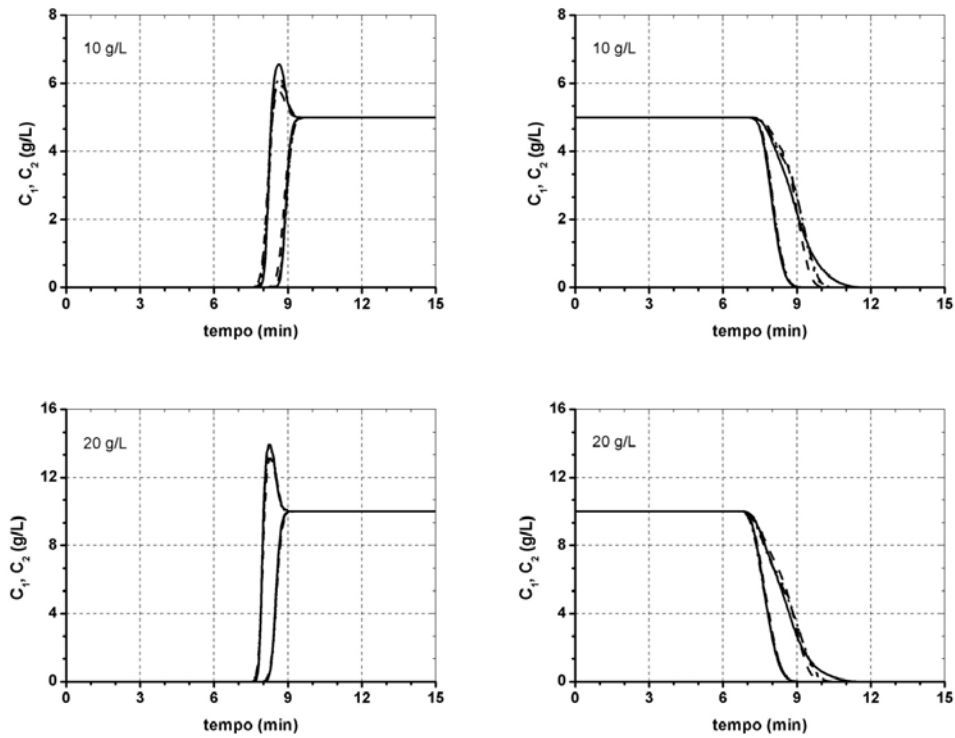


Figura 4.21 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) na coluna “leito fixo”, para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 4.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5.

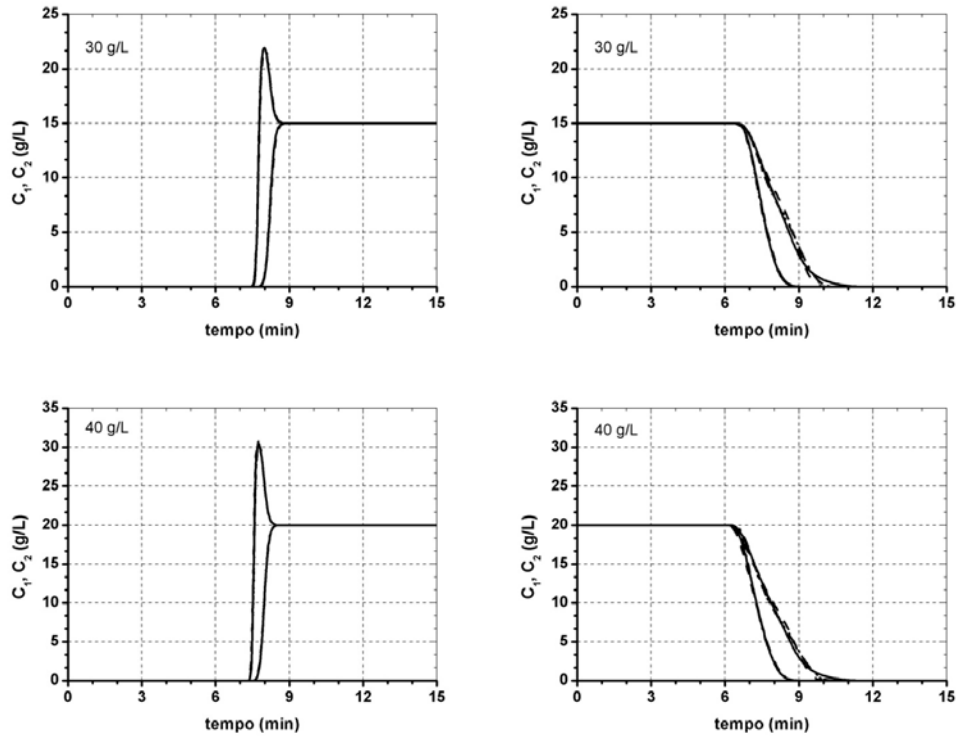


Figura 4.21 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) na coluna “leito fixo”, para diferentes concentrações da solução de alimentação: 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de etanol puro; caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 4.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5.

4.2.5 Previsão do desempenho de separação à escala preparativa (SMB)

A previsão e comparação do desempenho da operação em SMB para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno foram realizadas para três das fases móveis em estudo (20%etanol/80%n-hexano, etanol puro e metanol puro), considerando o modelo simplificado da Teoria de Equilíbrio e modelo de isotérmicas de equilíbrio linear+Langmuir (LLG4), desenvolvido por Morbidelli e seus colaboradores (ver Tabela 3.7).

A Figura 4.22 apresenta as regiões de separação obtidas para as três composições de fase móvel estudadas e para diferentes concentrações de alimentação. As regiões de separação para 20% etanol/80% n-hexano (no canto superior direito) possuem condições de operação consideravelmente diferentes das obtidas com as fases móveis de álcool puro (no canto inferior esquerdo), devido aos tempos de retenção serem significativamente mais elevados. Esta fase móvel implica também uma forte dependência com a concentração da alimentação. De facto, comparando as regiões de separação para as três composições, pode ser concluído que, para 20%etanol/80%n-hexano, a região de separação completa fica rapidamente mais pequena com o aumento da concentração de alimentação. Tal evidência um forte comportamento não-linear do processo de adsorção e uma das razões para a reduzida produtividade. A comparação do desempenho de SMB nas duas fases móveis de álcool puro é também evidente: ambas possuem condições operatórias idênticas devido à semelhança dos tempos de retenção; contudo, o uso de etanol puro apresenta desempenhos consideravelmente superiores (regiões de separação superiores) devido a maiores valores de selectividade, como ficou demonstrado nas Figuras 4.17 a 4.19.

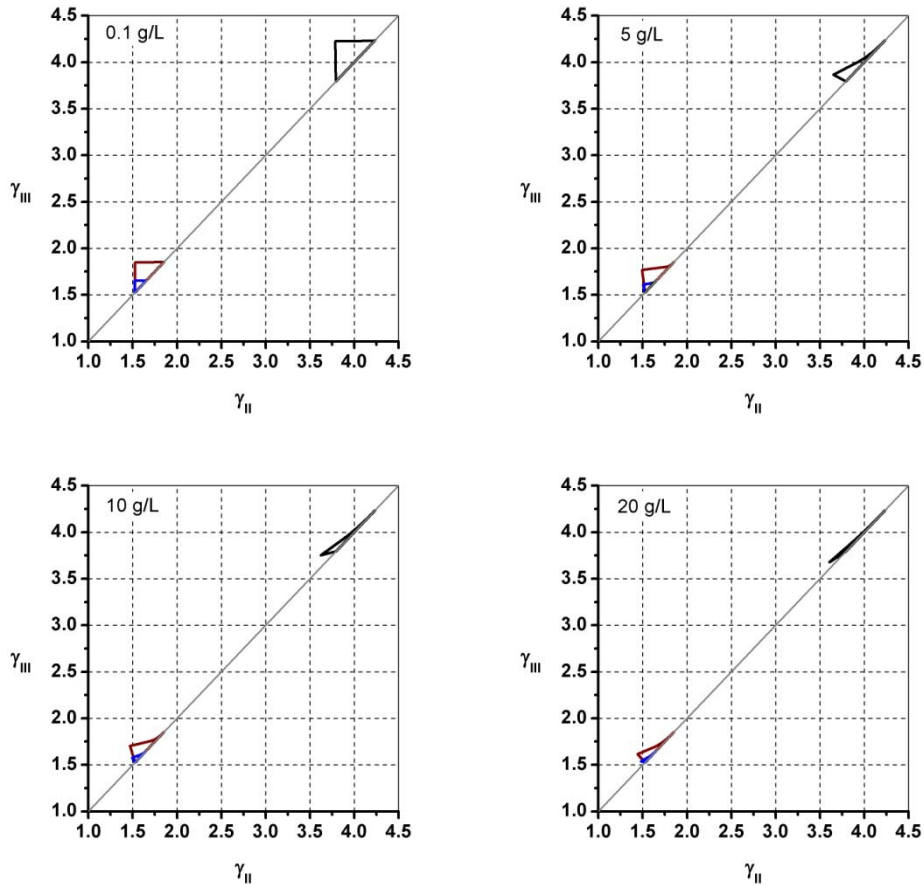


Figura 4.22 Regiões de separação para operação em SMB, considerando a Teoria de equilíbrio (dispersão axial e resistência à transferência de massa desprezáveis) para diferentes composições de fase móvel, em função da concentração da alimentação ($C_1^F + C_2^F$): 0.1 g/L (gama linear), 5, 10 e 20 g/L. As regiões de separação para 20%etanol/80%n-hexano encontram-se localizadas no canto superior direito; as regiões de separação para etanol puro (regiões de separação maiores) e para metanol puro (regiões de separação menores) estão localizadas no canto inferior esquerdo.

As Figuras 4.23 e 4.24 reforçam as conclusões deduzidas pela análise da Figura 4.22. Na Figura 4.23 representam-se as razões entre a produtividade obtida com etanol puro e a produtividade obtida com as outras duas composições (20%etanol/80%n-hexano e metanol puro), em função da concentração de alimentação. Na Figura 4.24 representam-se os correspondentes valores de razão dos consumos de solvente. Estes resultados de simulação mostram que a

fase móvel de etanol puro é a melhor opção para a separação dos enantiômeros de cetoprofeno através da operação em SMB: para valores elevados de concentração (por exemplo 40 g/L de mistura racêmica; 20 g/L de cada enantiômero) a produtividade utilizando etanol puro é cerca de três vezes a produtividade obtida com os outros dois solventes; o consumo de solvente correspondente é de apenas 75% e 25% do necessário com metanol puro e com 20% etanol/80% n-hexano, respectivamente. Este último resultado mostra igualmente que, para além da selectividade, os tempos de retenção influenciam significativamente o consumo de solvente na operação em SMB.

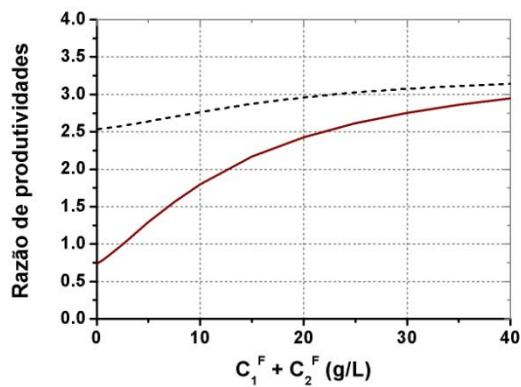


Figura 4.23 Previsão da produtividade da operação em SMB admitindo resistências à transferência de massa desprezáveis, em função da concentração de alimentação: razão entre a produtividade obtida com etanol puro e a produtividade obtida com 20%etanol/80%n-hexano (linha contínua) e a razão entre a produtividade obtida com etanol puro e a obtida com metanol puro (linha a tracejado).

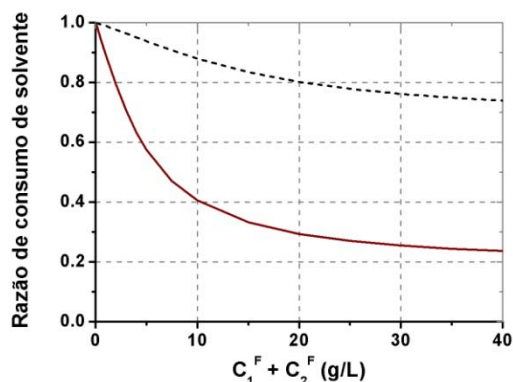


Figura 4.24 Previsão do consumo de solvente na operação em SMB sob condições de transferência de massa desprezáveis em função da concentração de alimentação: razão entre o consumo de solvente com 100%etanol e o consumo de solvente com 20%etanol/80%n-hexano (linha contínua) e a razão entre o consumo de solvente com etanol puro e o consumo de solvente com metanol puro (linha a tracejado).

4.3 Conclusões

Os estudos de solubilidade realizados mostram que os enantiômeros de cetoprofeno apresentam valores de solubilidade mais elevados em solventes com composições de etanol puro, o que constitui uma vantagem à escala preparativa.

Nas experiências de cromatografia de eluição verificou-se que o tempo de retenção dos dois enantiômeros de cetoprofeno aumenta consideravelmente com o aumento da composição em hidrocarboneto da fase móvel. Uma composição elevada em hidrocarboneto significa igualmente caudas cromatográficas mais longas, o que representa um comportamento não desejado em condições preparativas. Apesar de apresentar valores elevados de solubilidade, a fase móvel de metanol puro conduz a valores de selectividade muito baixos, impossibilitando a separação.

A melhor situação é conseguida quando se utiliza uma fase móvel constituída por etanol puro, uma vez que esta permite obter, para além de valores elevados de solubilidade, valores elevados de selectividade, mesmo em situações de concentração elevada.

A determinação experimental e consequente modelização das isotérmicas de adsorção conduz à obtenção de ajustes bastante razoáveis, utilizando os modelos linear+Langmuir e bi-Langmuir. A realização de experiências de cromatografia frontal em leito fixo e a sua modelização, permitiu confirmar a boa concordância entre modelo e os valores experimentais.

Finalmente, a análise dos parâmetros de desempenho da operação em leito móvel simulado (SMB) permitiu concluir que as condições de separação mais favoráveis são obtidas com uma composição de etanol puro. Esta composição possibilita obter regiões de separação maiores, valores de produtividade superiores e um consumo de solvente menor relativamente às outras composições de fase móvel estudadas.

A optimização de um processo de cromatografia líquida em SMB para separação de enantiómeros depende da selecção de uma fase móvel apropriada. Nesta escolha, uma resolução elevada (ou selectividade) dos enantiómeros não deve ser o único objectivo a atingir, como normalmente é usual em cromatografia de eluição (HPLC). Outros factores como, por exemplo, a obtenção de valores elevados de solubilidade e baixos tempos de retenção devem também ser considerados.

4.4 Referências

Aboul-Enein, H.; El-Awady, M.; Heard, C.; "Thin layer chromatographic resolution of some 2-arylpropionic acid enantiomers using L(-)-serine, L(-)-threonine and a mixture of L(-)-serine and L(-)-threonine-impregnated silica gel as stationary phases", **Biomed. Chromatogr.** 17 (2003) 325-334.

Blanco, M.; González, J.; Torras, E.; Valverde, I.; "Enantiomeric purity determination of ketoprofen by capillary electrophoresis: development and validation of the method", **Anal. Bioanal. Chem.** 375 (2003) 157-163.

- Booth, T.; Wainer, I.; "Investigation of the enantioselective separations of α -alkylarylcarboxylic acids on an amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase using quantitative structure-enantioselective retention relationships. Identification of a conformationally driven chiral recognition"; **J. Chromatogr. A** 737 (1996) 157-169.
- Burke, D.; Bannister, J.; "Dexketoprofen trometamol in post-operative pain management"; **Acute Pain** 5 (2003) 57-62.
- Carr, R.; Caillé, G.; Ngoc, A.; Foster, R.; "Stereospecific high-performance liquid chromatographic assay of ketoprofen in human plasma and urine"; **J. Chromatogr. B**, 668 (1995) 175-181.
- Fiori, M.; Farnè, M.; Civitareale, C.; Nasi, A.; Serpe, L.; Gallo, P.; "The use of bovine serum albumin as a ligand in affinity chromatographic clean-up of non-steroidal anti-inflammatory drugs from bovine plasma", **Chromatographia** 60 (2004) 253-257.
- Francois, J.; Sepúlveda, M.; Chartron, F.; Quinones, I.; Guiochon, G.; "Determination of binary competitive equilibrium isotherms from individual chromatographic band profiles"; **Chem. Eng. Sci.** 54 (1999) 1677-1696.
- Gong, P.; Wu, H.; Xu, J.; Shen, D.; Liu, Y.; "Biocatalytic preparation of enantiopure (R)-ketoprofen from its racemic ester by a new yeast isolate *Citeromyces matriensis* CGMCC 0573", **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 58 (2002) 728-734.
- Gracin, S.; Rasmunson, A.; "Solubility of phenylacetic acid, p-Hydroxyphenylacetic acid, p-aminophenylacetic acid, p-Hydroxybenzoic acid, and ibuprofen in pure solvents", **J. Chem. Eng. Data** 47 (2002) 1379-1383.

- Hoke, S.; Pinkston, J.; Bailey, R.; Tanguay, S.; Eichhold, T.; "Comparison of packed-column Supercritical Fluid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for bioanalytical determination of (R)- and (S)-ketoprofen in human plasma following automated 96-well solid-phase"; **Anal. Chem.** 72 (2000) 4235-4241.
- Ju, J.; Lee, S. H.; Lee, S. B.; "Enzymatic production of enantiopure ketoprofen in a solvent-free two-phase system"; **J. Mol. Catal. B: Enzym.** 26 (2003) 209-216.
- Jamali, F.; Lovlin, R.; Aberg, G.; "Bi-directional chiral inversion of ketoprofen in CD-1 mice"; **Chirality** 9 (1997) 29-31.
- Khattabi, S.; Cox, G.; Ferraro, J.; Lee, J.; Maier, N.; "Enantioseparation of Ketoprofen on CHIRALPACK[®] AD[®] by SMB: Experimental Determination of "Best" Mobile Phase", Chiral Technologies Inc., West Chester, USA; Presented on 22nd International Symposium on Preparative and Process Chromatography, **PREP 2009**, Philadelphia, PA, USA, July 19-22 (2009).
- Kim, J.; Choi, G.; Kim, Y.; Ryu, Y.; Kim, G.; "A new isolate *Bacillus stearothermophilus* JY144 expressing a novel esterase with high enantioselectivity to (R)-ketoprofen ethyl ester: strain selection and gene cloning", **J. Mol. Catal. B: Enzym.** 18 (2002) 133-145.
- Landoni, M.; Soraci, A.; "Pharmacology of chiral compounds: 2-arylpropionic acid derivatives", **Curr. Drug Metabol.** 2 (2001) 37-51.
- Long, Z.; Xu, J.; Zhao, L.; Pan, J.; Yang, S.; Hua, L.; "Overexpression of *Serratia marcescens* lipase in *Escherichia coli* for efficient bioresolution of racemic ketoprofen", **J. Mol. Catal. B: Enzym.** 47 (2007) 105-110.
- Lovlin, R.; Vakily, M.; Jamali, F.; "Rapid, sensitive and direct chiral high-performance liquid chromatographic method for ketoprofen enantiomers"; **J. Chromatogr. B** 679 (1996) 196-198.

- Maftouh, M.; Loyaux, C.; Chavana, E.; Marini, J.; Pradines, A.; Heyden, Y.; Picard, C.; "Screening approach for chiral separation of pharmaceuticals. Part III. Supercritical fluid chromatography for analysis and purification in drug discovery", **J. Chromatogr. A** 1088 (2005) 67-81.
- Marchese, S.; Perret, D.; Gentili, A.; Curini, R.; Pastori, F.; "Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in surface water and wastewater by liquid chromatography-Tandem mass spectrometry", **Chromatographia** 58 (2003) 263-269.
- Miller, L.; Orihuela, C.; Fronek, R.; Murphy, J.; "Preparative chromatographic resolution of enantiomers using polar organic solvents with polysaccharide chiral stationary phases", **J. Chromatogr. A** 865 (1999) 211-226.
- Mullangi, R.; Yao, M.; Srinivas, N.; "Resolution of enantiomers of ketoprofen by HPLC: a review", **Biomed. Chromatogr.** 17 (2003) 423-434.
- Ong, A.; Kamaruddin, A.; Bhatia, S.; "Current technologies for the production of (S)-ketoprofen: Process perspective", **Process Biochem.** 40 (2005) 3526-3535.
- Ong, A.; Kamaruddin, A.; Bhatia, S.; Long, W.; Lim, S.; Kumari, R.; "Performance of free *Candida antarctica* lipase B in the enantioselective esterification of (R)-ketoprofen", **Enzym. Microbial Technol.** 39 (2006) 924-929.
- Ossipov, M.; Jerussi, T.; Ren, K.; Sun, H.; Porreca, F.; "Differential effects of spinal (R)-ketoprofen and (S)-ketoprofen against signs of neuropathic pain and tonic nociception: evidence for a novel mechanism of action of (R)-ketoprofen against tactile allodynia", **Pain** 87 (2000) 193-199.
- Panico, A.; Cardile, V.; Gentile, B.; Garuti, F.; Avondo, S.; Ronsisvalle, S.; "In Vitro" differences among (R) and (S) enantiomers of profens in their activities related to articular pathophysiology", **Inflamm.** 29 (2005) 119-128.

- Park, T.; Yoon, T.; Kim, I.; "In Vitro" Simplist determination of operation parameters for simulated moving bed (SMB) chromatography for the separation of ketoprofen enantiomer", **Biotechnol. Bioprocess. Eng.** 10 (2005) 341-345.
- Perrin, C.; Vu, V.; Matthijs, N.; Maftouh, M.; Massart, D.; Heyden, Y.; "Screening approach for chiral separation of pharmaceuticals. Part I. Normal-phase liquid chromatography"; **J. Chromatogr. A** 947 (2002) 69-83.
- Ramminger, C.; Zim, D.; Lando, V.; Fassina, V.; Monteiro, A.; "Transition-Metal catalysed synthesis of ketoprofen", **J. Braz. Chem. Soc.** 11 (2000) 105-111.
- Ribeiro, A.; Graça, N.; Pais, L.; Rodrigues, A. "Preparative separation of ketoprofen enantiomers: Choice of mobile phase composition and measurement of competitive adsorption isotherms", **Sep. Purif. Technol.** 61 (2008) 375-383.
- Sajewicz, M.; Grygierczyk, C.; Gontarska, M.; Kowalska, T.; "Enantioseparation of *S,R*-(±)-ketoprofen on plain silica gel layers with achiral mobile phase", **J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.** 30 (2007a) 2185-2192.
- Sajewicz, M.; Gontarska, M.; Wróbel, M.; Kowalska, T.; "Enantioseparation and oscillatory transenantiomerization of *S,R*-(+)-ketoprofen, as investigated by means of thin layer chromatography with densitometric detection", **J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.** 30 (2007b) 2193-2208.
- Sádecká, J.; Čákr, M.; "Effects of non-surfactants on isotachophoretic separations of 2-arylpropionic acids", **J. Chromatogr. A** 1084 (2005) 152-159.
- Schulte, M.; Ditz, R.; Devant, R.; Kinkle, J.; Charton, F.; "Comparison of the specific productivity of different chiral stationary phases used for simulated moving-bed chromatography", **J. Chromatogr. A** 769 (1997) 93-100.

- Shah, A.; Wei, G.; Lanman, R.; Bhargava, V.; Weir, S.; "Percutaneous absorption of ketoprofen from different anatomical sites in man", **Pharm. Res.** 13 (1996) 168-172.
- Sørensen, J.; Arlt, W.; "Liquid-Liquid Equilibrium Data Collection: Binary Systems", em DECHEMA, **Chemistry Data Series**, Vol. V, Part 1 (1979).
- Svensson, L.; Owens, P.; "Enantioselective supercritical fluid chromatography using Ristocetin A chiral stationary phases", **Analyst** 125 (2000) 1037-109.
- Trejo, A.; Yañez, P.; Rincón, R.; "Liquid-Liquid coexistence curves for binary systems: Methanol+Cyclohexane+several isomers of hexane", **J. Chem. Eng. Data** 51 (2006) 1070-1075.
- Wu, J.; Chua, P.; Chow, Y.; Li, R.; Carpenter, K.; Yu, H.; "Extraction of *Candida rugosa* lipase from aqueous solutions into organic solvents by forming an ion-paired complex with AOT", **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 81 (2006) 1003-1008.
- Wu, J.; Chow, Y.; Li, R.; Carpenter, K.; "Enzyme-mediated enantioselective crystallization of racemic ketoprofen in organic solvents", **Sep. Purif. Technol.** 53 (2007) 144-147.
- Xi, W.; Xu, J.; "Preparation of enantiopure (S)-Ketoprofen by immobilized *Candida rugosa* lipase in packed bed reactor", **Process Biochem.** 40 (2005) 2161-2166.
- Yoon, T.; Kim, I.; "Chiral separation of ketoprofen racemate by using Chirex 3005 and Kromasil CHI-II chiral column", **Korean J. Chem. Eng.** 21 (2004) 521-526.
- Yoon, T.; Chung, B.; Kim, I.; "A novel design of simulated moving bed (SMB) chromatography for separation of ketoprofen enantiomer", **Biotechnol. Bioprocess. Eng.** 9 (2004) 285-291.

Yoon, S.; Kim, S.; Ryu, Y.; Kim, T.; "Identification and characterization of a novel (S)-ketoprofen-specific esterase", **Inter. J. Biol. Macrom.** 41 (2007) 1-7.

Zhuang, Y.; Song, H.; "Sensitive determination of ketoprofen using flow injection with chemiluminescence detection", **J. Pharm. Biomed. Anal.** 44 (2007) 824-828.

Capítulo 5

Separação Preparativa dos Enantiómeros de Flurbiprofeno: *Estudos em coluna de leito fixo.*

Neste capítulo pretende estudar-se a influência da composição da fase móvel na separação preparativa dos enantiómeros de flurbiprofeno. Para tal, realizaram-se os seguintes estudos para os enantiómeros do flurbiprofeno, em diferentes composições da fase móvel: determinação da solubilidade da mistura racémica, ensaios de cromatografia de eluição (pulsos) e ensaios de cromatografia frontal (breakthroughs), determinação de isotérmicas de adsorção, modelização dos dados de equilíbrio de adsorção e simulação do comportamento em leito fixo, previsão do desempenho de um sistema de separação à escala preparativa, utilizando como exemplo, a tecnologia de leito móvel simulado.

O trabalho desenvolvido e apresentado neste capítulo conduziu à seguinte publicação: António E. Ribeiro, Nuno S. Graça, Luís S. Pais, Alírio E. Rodrigues; "Optimization of the mobile phase composition for preparative chiral separation of flurbiprofen enantiomers"; Separation and Purification Technology 68 (2009) 9-23.

5.1 Introdução

O flurbiprofeno, ácido (*R,S*)-2-(2-fluoro-4-bifenil propiónico) [*flurbiprofen*, (*R,S*)-2-(2-fluoro-4-biphenyl)-propionic acid], um derivado dos ácidos 2-arylpropiónicos (profenos), é um anti-inflamatório não esteróide (AINE) de natureza quiral (Figura 5.1). Este fármaco possui uma acção farmacológica semelhante a outros fármacos desta classe, como sejam o cetoprofeno, o ibuprofeno ou naproxeno.

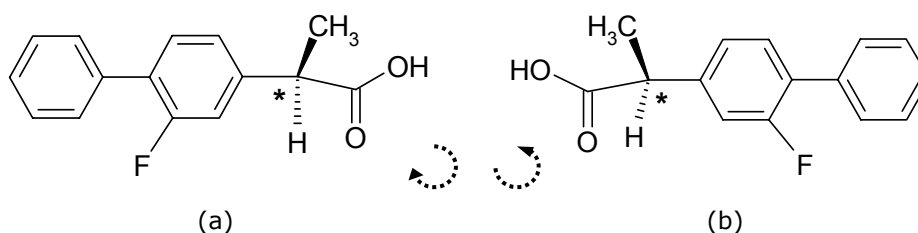


Figura 5.1 Enantiómeros do flurbiprofeno: (a) S-(+)-flurbiprofeno e (b) R-(-)-flurbiprofeno. (ver anexo G)

A molécula propiónica do flurbiprofeno (FP) contém um átomo de carbono assimétrico (carbono α), resultando por isso em dois isómeros ópticos. O flurbiprofeno continua a ser um fármaco comercializado mundialmente sob a forma de uma mistura racémica; porém, são cada vez mais os estudos que referem que os seus isómeros R(-)-FP e S(+)-FP possuem actividades farmacológicas distintas. A resolução quiral dos enantiómeros do flurbiprofeno potencia o desenvolvimento de dois novos fármacos com aplicações terapêuticas distintas e/ou com perfis farmacológicos mais seguros. Quando o fármaco FP é administrado, na forma de mistura racémica, como agente anti-inflamatório, como analgésico ou na prevenção de cancro são, por vezes, relatadas algumas situações de efeitos secundários nocivos, maioritariamente casos de toxicidade gastrointestinal. Estas situações devem-se ao facto de os enantiómeros de flurbiprofeno possuírem efeitos farmacológicos muito diferentes, sendo por isso, a sua separação bastante importante, não só para a maximização do efeito terapêutico pretendido, mas também como forma de evitar os possíveis efeitos secundários indesejáveis. Neste aspecto, os enantiómeros do flurbiprofeno são, de facto, um bom exemplo. Enquanto o enantiómero S possui um poder anti-inflamatório muito superior ao enantiómero R (Averbeck *et al.*, 2003; Panico *et al.*, 2003) o enantiómero R, por seu lado, tem uma eficácia superior no

tratamento da dor (Geisslinger *et al.*, 2000; Ishiyama *et al.*, 2001; Nishiyama, 2005; Yamashita *et al.*, 2006).

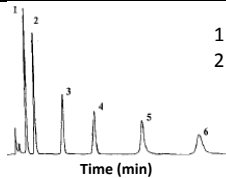
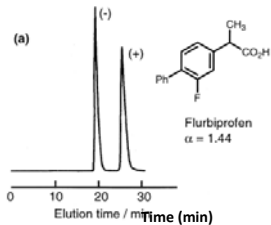
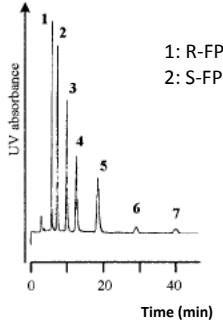
Actualmente, existe um forte interesse no estudo dos profenos, especialmente nos enantiómeros do flurbiprofeno. Este interesse deve-se ao facto do seu enantiómero R ter vindo a ser referido como promotor de inibição activa no desenvolvimento de cancro em variadas formas de células humanas (Groot *et al.*, 2007), como sejam o cancro da próstata (Zemskova *et al.*, 2006; Andrews *et al.*, 2007; Quann *et al.*, 2007) e o cancro do cólon (Wetcher *et al.*, 2000; Grösch *et al.*, 2005). A área de aplicação mais recente para o flurbiprofeno tem sido descrita em vários estudos clínicos e farmacológicos, nos quais se defende fortemente a hipótese do enantiómero R do flurbiprofeno possuir a característica de abrandar a progressão da doença de Alzheimer (Szekely *et al.*, 2004; Mohs *et al.*, 2006; Wilcock, 2006; McGeer e McGeer, 2007). De facto, tanto a estereoselectividade farmacológica mais específica, como o perfil clínico mais seguro, tornam a disponibilidade de enantiómeros dos AINEs um assunto em destaque nas áreas clínicas e farmacêuticas.

A enantioseparação à escala analítica pode ser realizada utilizando uma elevada diversidade de métodos analíticos existentes, baseados no princípio da cromatografia. No caso particular da separação analítica dos enantiómeros do flurbiprofeno, a maior parte dos estudos realizados estão direccionados para a indústria farmacêutica, utilizando técnicas cromatográficas analíticas como a cromatografia líquida de alta performance (Sjaeev *et al.*, 2002; Patel *et al.*, 2002 e 2003; Santoro *et al.*, 2003; Teng *et al.*, 2003; Fanali *et al.*, 2004), a cromatografia gasosa (Chao *et al.*, 2007), a cromatografia com fluidos supercríticos e técnicas relacionadas (Geiser e Shah, 2004; Maftouh *et al.*, 2005), a cromatografia em camada fina (Aboul-Enein *et al.*, 2003) e a electroforese capilar (Glówka e Karaźniewicz, 2004; Sádecká e Čakrt, 2005). A cromatografia líquida é claramente o método mais aceite e utilizado para separações quirais, quer através da separação directa utilizando fases estacionárias quirais, quer através da separação indirecta na qual se utilizam agentes derivatizantes (Bojarski *et al.*, 2005).

Na Tabela 5.1 apresentam-se alguns estudos realizados à escala analítica (HPLC) da separação dos enantiómeros de flurbiprofeno, utilizando uma coluna Chiralpack AD como fase estacionária quiral.

Em relação à separação à escala preparativa, podem ser encontrados, em referências bibliográficas recentes, alguns exemplos de resolução enzimática de R-flurbiprofeno (Duan e Ching, 1998; Zhang *et al.*, 2007; Qian *et al.*, 2007) e de S-flurbiprofeno (Lee *et al.*, 2003; Shin *et al.*, 2005a-b). Existe uma patente (Huang *et al.*, 2008) para a separação dos enantiómeros de ácidos carboxílicos, na qual é referida a separação preparativa por cromatografia líquida dos enantiómeros de flurbiprofeno.

Tabela 5.1 Separação dos enantiómeros de flurbiprofeno à escala analítica, utilizando uma coluna Chiralpack AD. α =Selectividade; R_s =Resolução; ND=Não disponível.

Composição da Fase Móvel	α	R_s	Cromatograma	Referência
Hex/EtOH/TFA (90/10/0.05)	1.71	1.67		Patel <i>et al.</i> , 2002
Hex/IPA/TFA (95/5/1)	1.48	ND	ND	Booth <i>et al.</i> , 1996
ND	1.44	ND		Okamoto <i>et al.</i> , 1989
n-Hex/IPA/HAc (90/10/0.05)	ND	ND		Patel <i>et al.</i> , 2003

Analogamente ao realizado no capítulo 4 para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno, na secção seguinte apresentam-se e analisam-se os resultados obtidos em coluna de leito fixo. O objectivo principal consiste na selecção da composição do solvente para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno por cromatografia líquida preparativa. Estes estudos foram realizados numa coluna (ver Figura 5.2, designada por coluna “leito fixo”) de dimensões analíticas (250 mm L x 4.6 mm ID) com um enchimento Chiralpack AD cujo tamanho de partícula é de 20 μm .



Figura 5.2 Coluna “leito fixo” utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo para a separação dos enantiômeros de flurbiprofeno (Chiralpack AD 20 μm ; 250 mm L x 4.6 mm ID).

5.2 Apresentação e análise de resultados

5.2.1 Solubilidade da mistura racêmica de flurbiprofeno

Inicialmente determinou-se a solubilidade dos enantiômeros de flurbiprofeno em três solventes puros, todos contendo 0.01%TFA: n-hexano, etanol e metanol. As medições de solubilidade, utilizando o método descrito na seção 3.1.2, foram realizadas em duplicado, à temperatura de 23°C (temperatura ambiente) e a uma temperatura de 35°C. Os resultados obtidos, apresentados na Tabela 5.2, mostram, como esperado, que os enantiômeros de flurbiprofeno possuem uma solubilidade crescente com o aumento da temperatura. Pode também ser observado que a solubilidade aumenta quando se muda o solvente de n-hexano para etanol e deste para metanol.

Tabela 5.2 Solubilidade da mistura racêmica de flurbiprofeno em três composições puras de solvente e para duas temperaturas diferentes, expressa em g/kg solvente em base livre de soluto.

Composição do solvente		100%n-hexano	100%etanol	100%metanol
Solubilidade, S	T=23°C	7.2	538.7	685.1
	T=35°C	9.7	795.5	991.8

Numa segunda etapa, estudou-se a dependência da solubilidade com a composição alcoólica num solvente constituído por misturas de etanol em n-hexano com composições crescentes de etanol. Os resultados ilustrados na Figura 5.3 confirmam os resultados anteriores apresentados na Tabela 5.2.

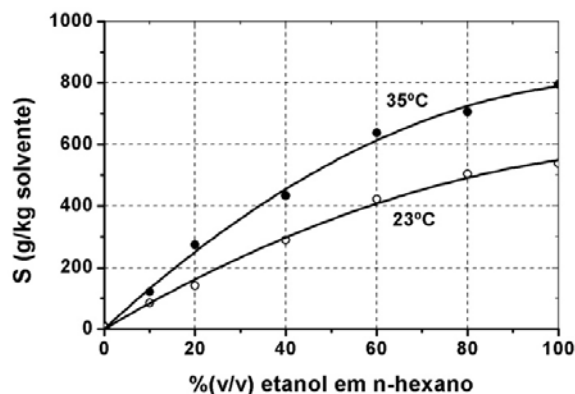


Figura 5.3 Influência da composição alcoólica da fase móvel etanol/n-hexano na solubilidade dos enantiômeros de flurbiprofeno a duas temperaturas diferentes (círculos fechados para T=35°C; círculos abertos para T=23°C) expressa em g/kg solvente numa base livre de soluto.

Os enantiômeros de flurbiprofeno possuem valores de solubilidade elevados em solventes com uma composição polar elevada. Para o etanol puro, a uma temperatura de 23°C, o valor de solubilidade é de 538.7 g/kg solvente (em base livre de soluto). Este resultado é da mesma ordem de grandeza dos resultados apresentados para o ibuprofeno, por Gracin e Rasmunson (2002) e dos resultados apresentados no capítulo 4 para o cetoprofeno (Ribeiro *et al.*, 2008).

A utilização de uma fase móvel com elevada percentagem polar tem sido referida como uma vantagem em cromatografia preparativa, quer por permitir elevados valores de solubilidade dos racematos, quer por possibilitar baixos tempos de retenção (Lynam e Stringham, 2006). Contudo, este comportamento não é observado para qualquer composto, sendo necessário um estudo individualizado em cada caso, em particular, analisando o efeito da composição da fase móvel na selectividade da fase estacionária. Não se realizou um estudo semelhante de solubilidade utilizando misturas de metanol em n-hexano, devido à larga gama de imiscibilidade que esta mistura apresenta a 23°C, entre 6% e 60% de metanol em n-hexano (Sørensen e Arlt, 1979; Trejo *et al.*, 2006).

5.2.2 Cromatografia de eluição

Realizou-se uma série de experiências de cromatografia de eluição (pulsos) em diversas misturas de solventes de etanol/n-hexano e metanol/n-hexano, a 23°C, com o objectivo de caracterizar a selectividade dos enantiómeros de flurbiprofeno em condições preparativas. Utilizou-se para estas determinações uma coluna preparativa, com um enchimento de tamanho de partícula de 20 μm . Foram injectadas várias soluções com 6 concentrações de flurbiprofeno: 0.05, 0.20, 0.50, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L, utilizando um *loop* de injeccção com o volume de 100 μL e um *loop* com um volume de 1 mL. Na Figura 5.4 (volume de injeccção de 100 μL) e na Figura 5.5 (volume de injeccção de 1 mL) apresentam-se os resultados obtidos para as misturas etanol/n-hexano. Na Figura 5.6 (volume de injeccção de 100 μL) e na Figura 5.7 (volume de injeccção de 1 mL) estão representados os resultados obtidos para as misturas metanol/n-hexano. Podem observar-se valores elevados de selectividade nas Figuras 5.4 e 5.5, para composições de 5%etanol/95%n-hexano. Porém, esta composição de fase móvel apresenta valores substancialmente elevados de tempo de retenção e valores de solubilidade bastante reduzidos, o que representa uma clara desvantagem para a obtenção de produtividades elevadas. A fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano representa, como veremos à frente, um compromisso razoável entre selectividade, tempo de retenção e solubilidade.

Para as misturas metanol/n-hexano, devido à gama de imiscibilidade referida anteriormente, a enantioseparação de flurbiprofeno, na gama 6% a 60% de etanol em n-hexano, não é possível. Não se realizaram experiências com teores inferiores a 6% em metanol, uma vez que representam baixos valores de solubilidade, os quais, como já foi referido, não são atractivos do ponto de vista preparativo. Apesar dos elevados valores de solubilidade, a utilização de uma fase móvel com uma composição elevada em metanol apresenta valores de selectividade reduzidos, como os observados para as misturas 70/30 e 100/0 de metanol/n-hexano, para um volume de injeccção de 1 mL (Figura 5.7).

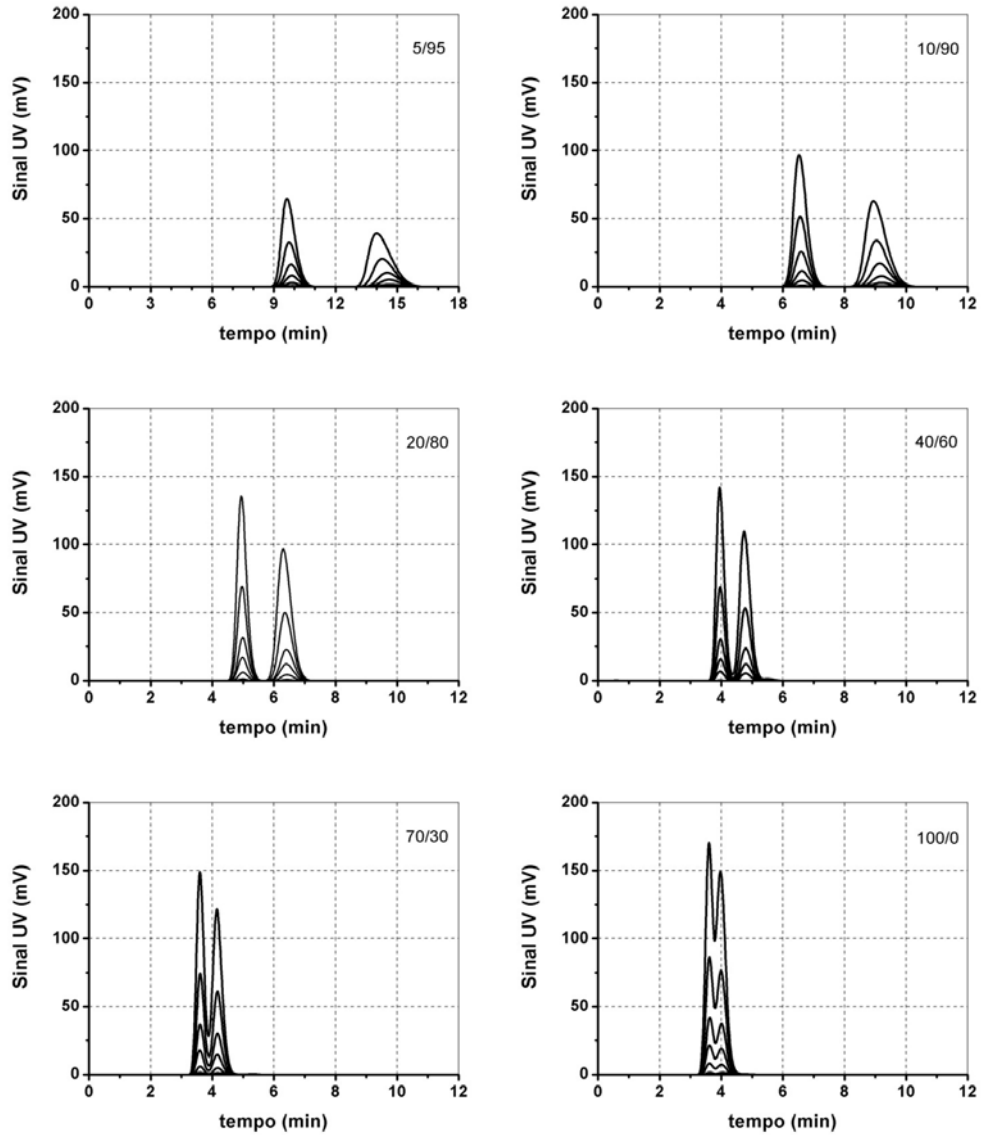


Figura 5.4 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em seis composições de etanol em n-hexano: 5/95, 10/90, 20/80, 40/60, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 100 μL ; temperatura de 23°C.

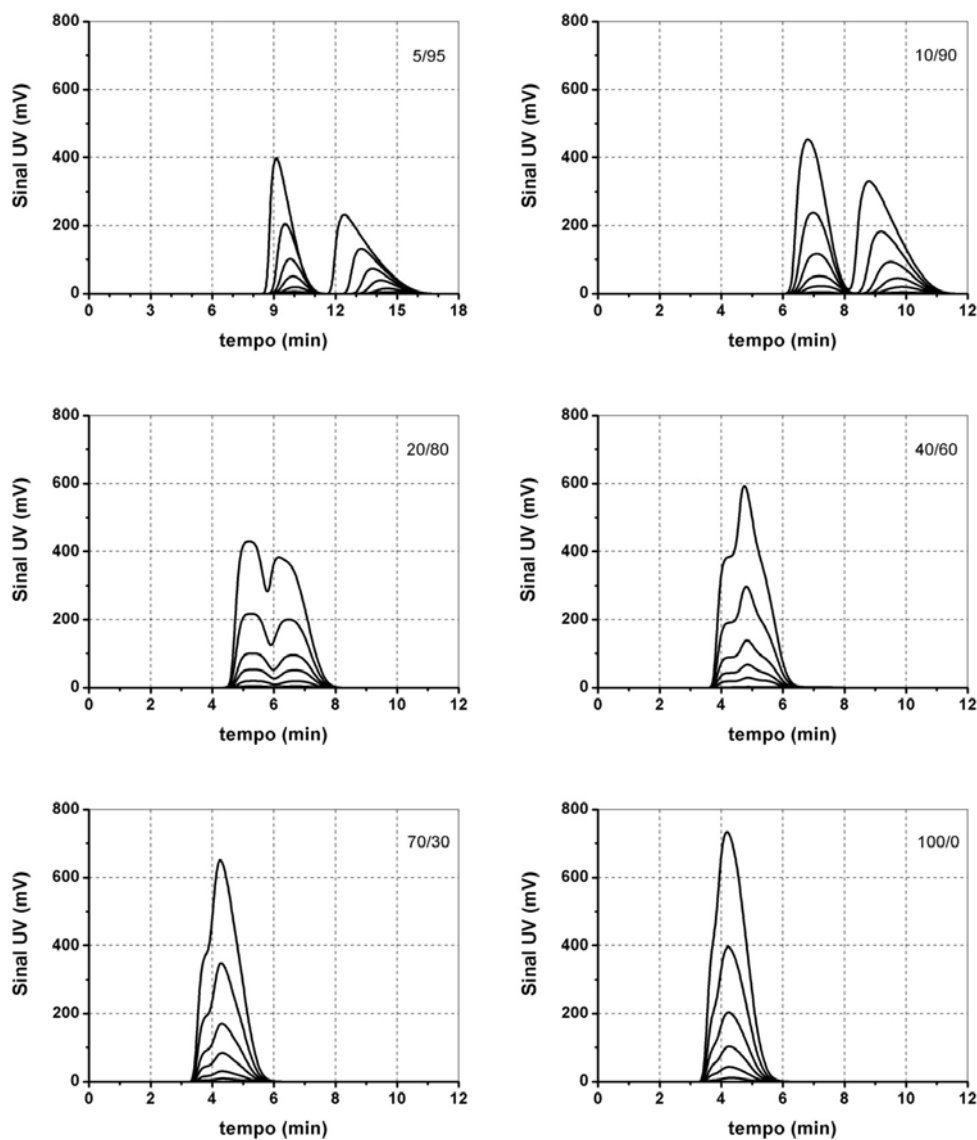


Figura 5.5 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em seis composições de etanol em n-hexano: 5/95, 10/90, 20/80, 40/60, 70/30 e 100/0. Utilização de seis níveis crescentes de concentração da mistura racémica de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; Coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 1 mL; temperatura de 23°C.

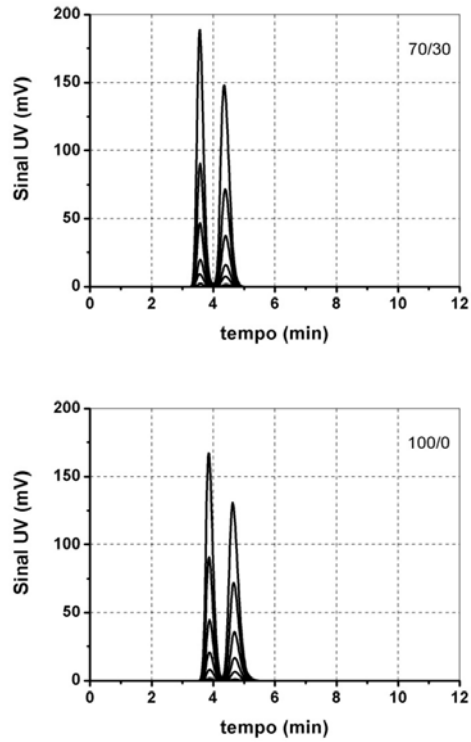


Figura 5.6 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em duas composições de metanol em n-hexano: 70/30 e 100/0. Concentrações de mistura racémica de flurbiprofeno utilizadas: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 100 μL ; temperatura de 23°C.

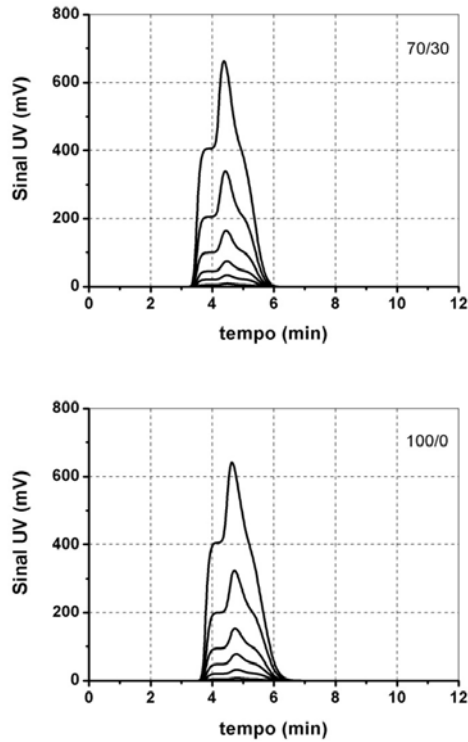


Figura 5.7 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno em duas composições de metanol em n-hexano: 70/30 e 100/0. Concentrações de mistura racémica de flurbiprofeno utilizadas: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume injectado de 1 mL; temperatura de 23°C.

5.2.3 Determinação experimental de isotérmicas de adsorção multicomponente e sua modelização

O método de adsorção-dessorção descrito na secção 3.1.3, foi utilizado na determinação experimental das isotérmicas de adsorção competitivas dos enantiómeros de flurbiprofeno em quatro composições etanol/n-hexano diferentes (10/90, 20/80, 40/60 e 100/0) e para uma composição de metanol puro. Os resultados experimentais obtidos foram ajustados com os quatro modelos de isotérmicas de adsorção apresentados no capítulo 3 (Equações 3.3 a 3.6). Os parâmetros destas equações obtidos com o método de Levenberg-Marquardt estão apresentados na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 Parâmetros estimados do modelo para as isotérmicas de adsorção do flurbiprofeno, na coluna “leito fixo” para as cinco composições da fase móvel estudadas. M é o número de pontos experimentais; N é o número de parâmetros estimados; m_1 , m_2 , Q, b_1 e b_2 são os parâmetros correspondentes para os três modelos de isotérmicas: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definido nas Equações 3.7 e 3.8, respectivamente.

10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	22	3	-	-	216.6	9.461×10^{-3}	1.291×10^{-2}	1.7393	0.3026
LLG4		4	0.6117		100.2	1.429×10^{-2}	2.295×10^{-2}	1.3314	0.2720
LLG5		5	0.3296	8.038×10^{-5}	183.1	9.003×10^{-3}	1.564×10^{-2}	1.1245	0.2572
20%etanol/80%n-hexano/0.01%TFA									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	22	3	-	-	176.2	7.584×10^{-3}	9.846×10^{-3}	0.7305	0.1961
LLG4		4	0.6201		45.53	1.569×10^{-2}	2.701×10^{-2}	0.3767	0.1447
LLG5		5	0.7178	0.8341	25.91	2.603×10^{-2}	4.130×10^{-2}	0.3014	0.1331
40%etanol/60%n-hexano/0.01%TFA									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	22	3	-	-	241.1	4.132×10^{-3}	5.069×10^{-3}	0.7268	0.1956
LLG4		4	0.1747		164.3	4.992×10^{-3}	6.407×10^{-3}	0.7252	0.2007
LLG5		5	0.2630	2.935×10^{-5}	183.7	3.863×10^{-3}	6.782×10^{-3}	0.6484	0.1953
100%etanol/0.01%TFA									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	22	3	-	-	287.3	2.906×10^{-3}	3.283×10^{-3}	0.4948	0.1614
LLG4		4	0.6284		15.75	1.307×10^{-2}	2.271×10^{-2}	0.4411	0.1565
LLG5		5	0.6826	0.7460	4.895	3.876×10^{-2}	5.613×10^{-2}	0.4033	0.1540
100%metanol/0.01%TFA									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	22	3	-	-	159.6	6.713×10^{-3}	8.214×10^{-3}	0.5705	0.1733
LLG4		4	0.3531		67.38	1.066×10^{-2}	1.467×10^{-2}	0.5396	0.1731
LLG5		5	0.2703	1.241×10^{-5}	120.9	6.307×10^{-3}	1.118×10^{-2}	0.3714	0.1478

Na Figura 5.8, para quatro composições de etanol em n-hexano (10/90, 20/80, 40/60 e 100/0) e na Figura 5.9 (para metanol puro), pode ser observado um bom ajuste entre o modelo e os dados experimentais obtidos para as isotérmicas de equilíbrio de adsorção. Para todas as composições etanol/n-hexano, apesar dos modelos Langmuir (LG3) e linear+Langmuir (LLG4) descreverem já razoavelmente bem o comportamento de adsorção, o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) é o que apresenta menores valores de SQ e SD. A utilização do modelo bi-Langmuir (BLG6) não conduziu à obtenção de melhores resultados. A Figura 5.8 mostra também claramente um aumento de selectividade com o

aumento do teor do hidrocarboneto (n-hexano), uma vez que se verifica uma maior diferença entre os valores de q_1^* e q_2^* .

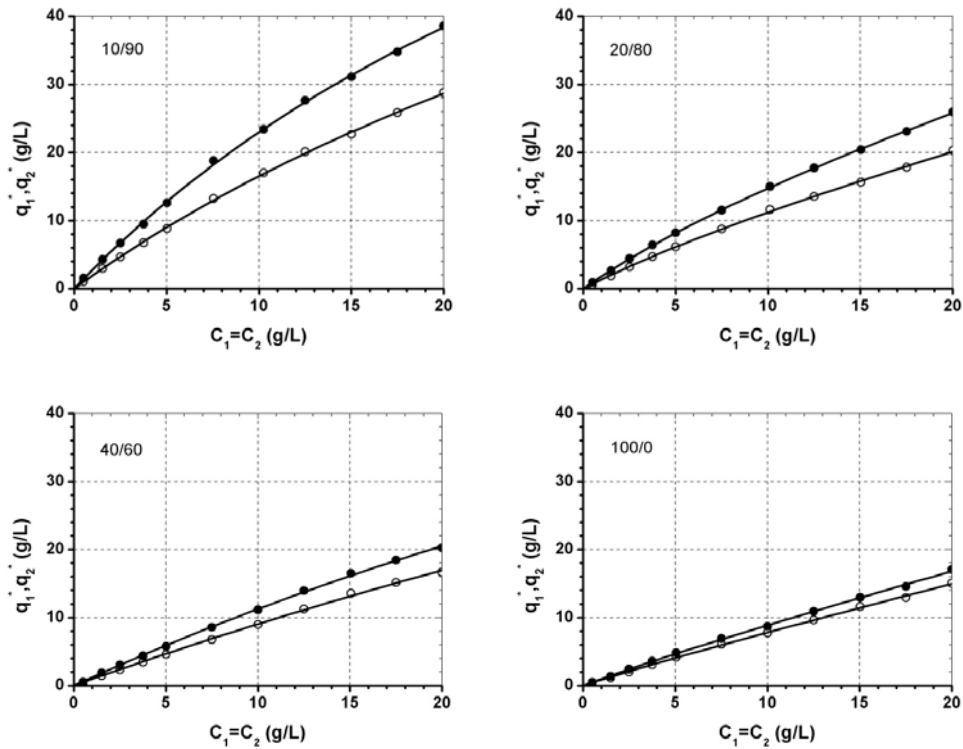


Figura 5.8 Comparação entre o modelo e os resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção a 23°C, do flurbiprofeno na coluna “leito fixo” utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para as fases móveis: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0 de etanol em n-hexano. Círculos abertos para concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas para o modelo da isotérmica de adsorção.

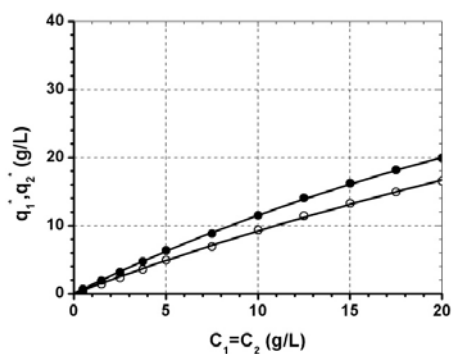


Figura 5.9 Comparação entre o modelo e os resultados experimentais para as isotérmicas de adsorção a 23°C, do flurbiprofeno na coluna “leito fixo” numa fase móvel de metanol puro utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5). Círculos abertos para as concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido; linhas para o modelo da isotérmica de adsorção.

A comparação entre os ajustes obtidos com os vários modelos estudados (LG3, LLG4 e LLG5) para cada composição da fase móvel encontra-se apresentada na Figura 5.10 para misturas etanol/n-hexano e na Figura 5.11 para metanol puro.

Pode verificar-se, pela observação destas figuras, que não existem diferenças entre os três modelos estudados, em toda a gama de composições, quer misturas álcool/n-hexano quer metanol puro. Apenas através da observação dos (menores) valores de SQ e SD apresentados na Tabela 5.3 é que se consegue verificar que o modelo LLG5 é aquele que descreve melhor o comportamento de adsorção experimental.

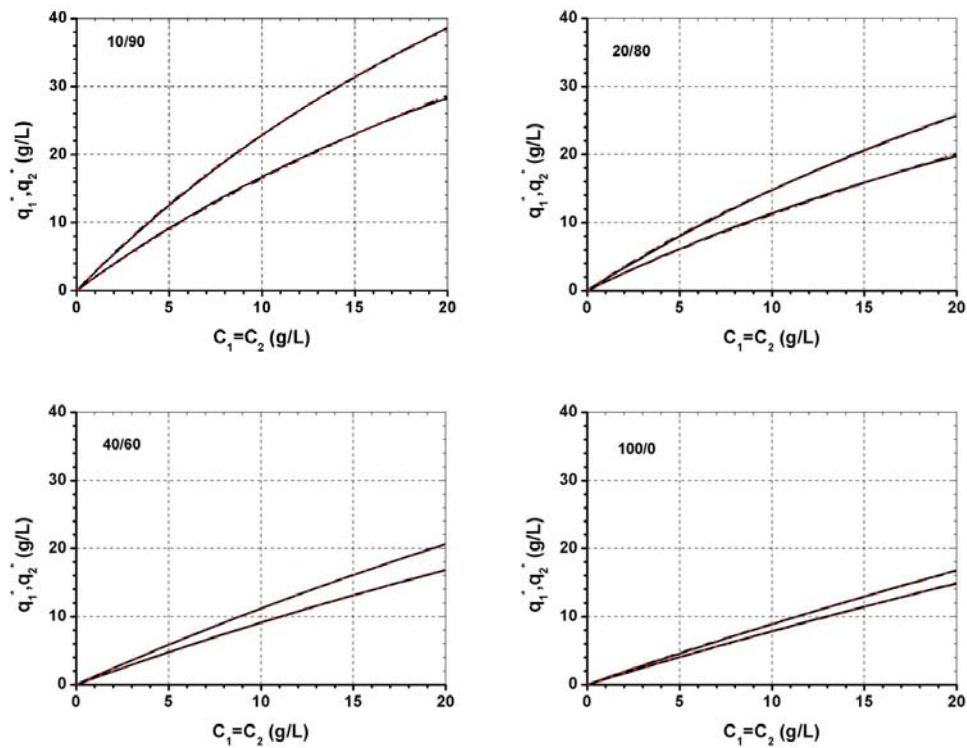


Figura 5.10 Comparação entre os três modelos das isotérmicas de adsorção a 23°C, dos dois enantiómeros de flurbiprofeno na coluna “leito fixo” para cada composição etanol/n-hexano da fase móvel: 10/90 20/80, 40/60 e 100/0. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4 e Linha pontuada: LLG5.

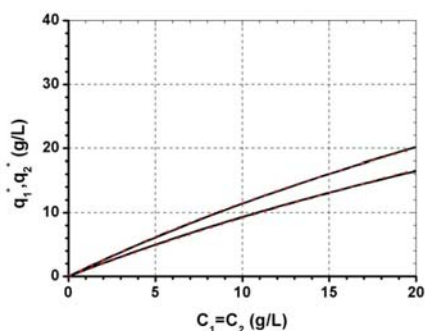


Figura 5.11 Comparação entre os três modelos das isotérmicas de adsorção a 23°C, dos dois enantiômeros de flurbiprofeno na coluna “leito fixo” para uma composição de metanol puro da fase móvel. Linha contínua: LG3; Linha tracejada: LLG4 e Linha pontilhada: LLG5.

Na Figura 5.12 apresentam-se as representações tridimensionais das isotérmicas de adsorção multicomponente e a sua dependência com a concentração para misturas etanol/n-hexano previstas com o modelo LLG5.

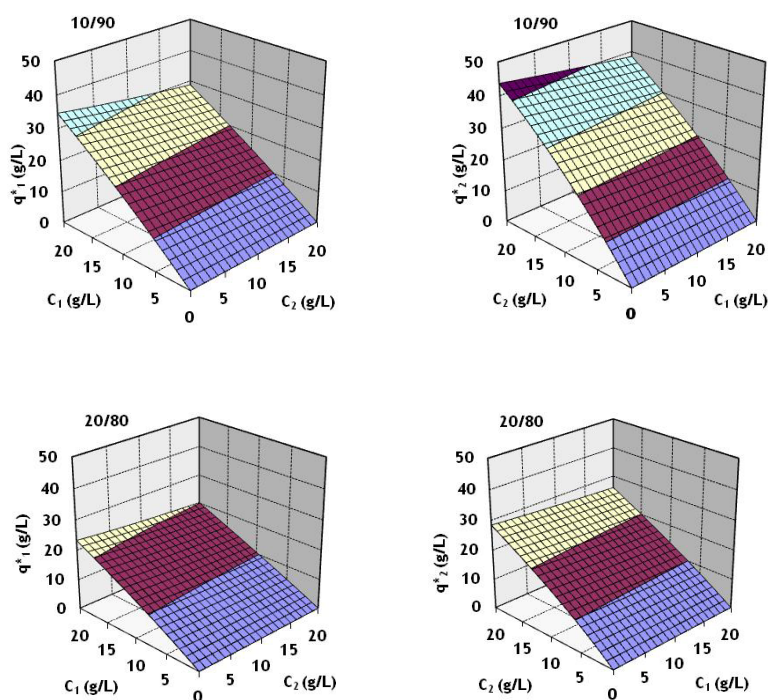


Figura 5.12 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para diferentes composições de etanol em n-hexano: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0. Modelo linear+Langmuir modificado (LLG5). Enantiômero menos retido à esquerda e mais retido à direita.

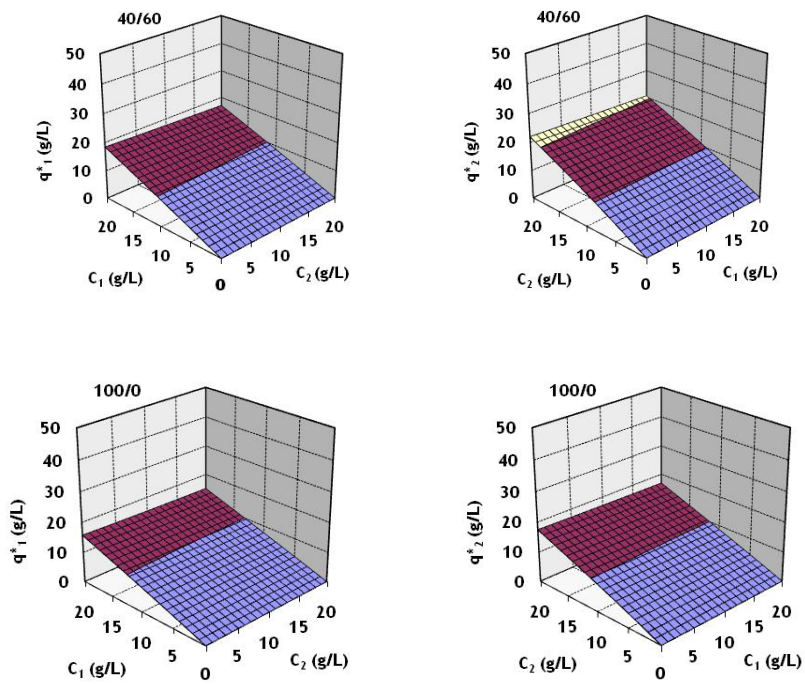


Figura 5.12 (Cont.) Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para diferentes composições de etanol em n-hexano: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0. Modelo linear+Langmuir modificado (LLG5). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

Na Figura 5.13 encontram-se apresentadas tridimensionalmente as isotérmicas de adsorção para a fase móvel com a composição de metanol puro previstas igualmente pelo modelo LLG5.

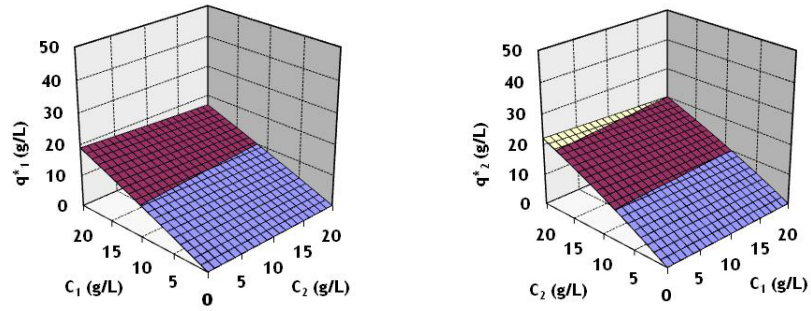


Figura 5.13 Isotérmicas de equilíbrio de adsorção para uma composição de metanol puro, modelo Langmuir (LG3). Enantiómero menos retido à esquerda e enantiómero mais retido à direita.

As representações tridimensionais da dependência do factor de selectividade com a variação da concentração de ambos os enantiómeros, obtidas com o modelo LLG5, são apresentadas na Figura 5.14 (para composições de etanol em n-hexano) e Figura 5.15 (metanol puro).

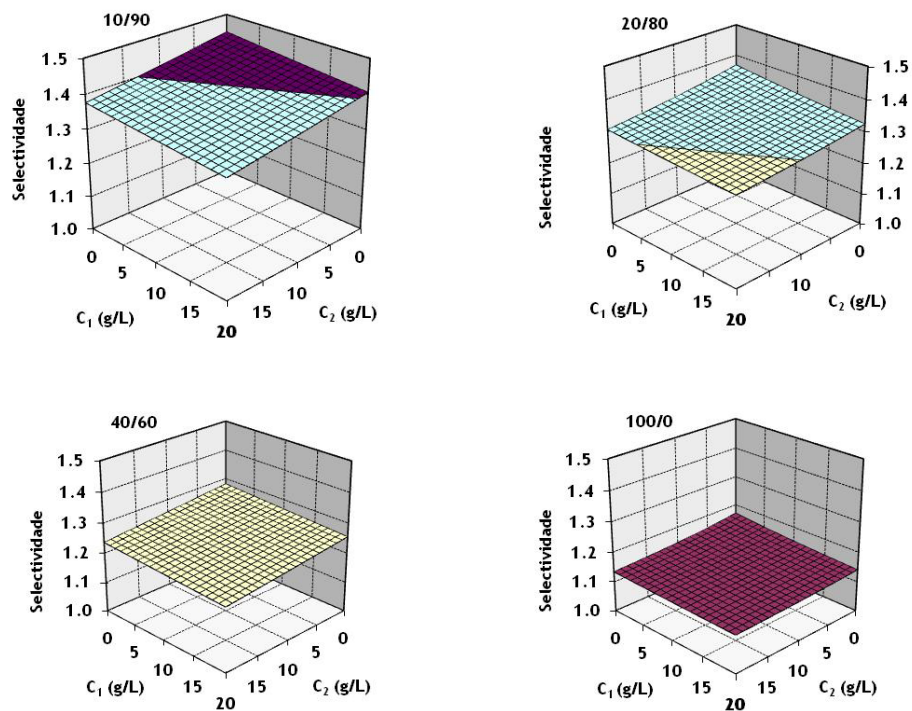


Figura 5.14 Influência da concentração dos enantiómeros de flurbiprofeno no factor de selectividade utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para as composições da fase móvel: 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0.

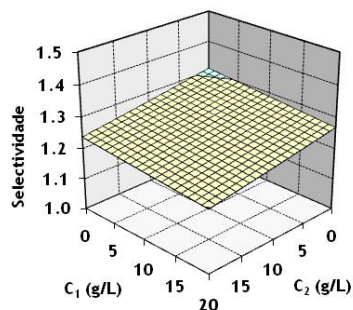


Figura 5.15 Influência da concentração dos enantiómeros de flurbiprofeno no factor de selectividade, utilizando uma fase móvel de metanol puro e o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5).

Os resultados apresentados na Figura 5.14 confirmam uma vez mais a diminuição da selectividade com o aumento da percentagem de álcool na fase móvel. Por exemplo, para uma mistura racémica de 20 g/L de cada enantiómero, a selectividade apresenta valores de 1.34, 1.28, 1.25 e 1.12 para as composições 10/90, 20/80, 40/60 e 100/0 etanol/n-hexano, respectivamente. Para metanol puro (ver Figura 5.15) o valor de selectividade correspondente é 1.20 similar à obtida com a fase móvel com uma composição de 40%etanol/60%n-hexano.

Estas conclusões podem ser obtidas pela interpretação não só dos modelos, mas também pela análise dos valores de selectividade obtidos experimentalmente e que se encontram representados na Figura 5.16 (para composições de etanol/n-hexano) e na Figura 5.17 para metanol puro.

Para este sistema existe, contudo, uma divergência entre modelo e valores experimentais de selectividade para a gama de concentrações baixas (menores que 5 g/L de cada enantiómero). O ajuste é, no entanto, muito razoável para concentrações elevadas, o que constitui um resultado relevante para a simulação do desempenho do processo de separação à escala preparativa.

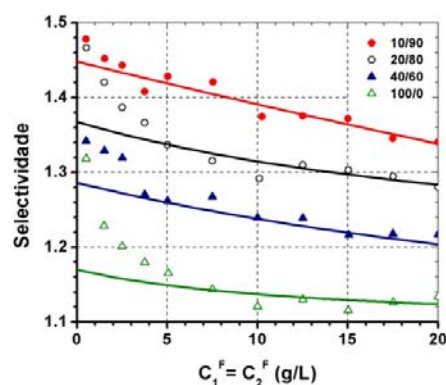


Figura 5.16 Comparação entre valores de selectividade experimentais (pontos) e valores de selectividade obtidos com o modelo LLG5 (linhas) em quatro composições de etanol em n-hexano da fase móvel, a uma temperatura de 23°C. Círculos fechados para 10/90, círculos abertos para 20/80, triângulos fechados para 40/60 e triângulos abertos para etanol puro. Coluna “leito fixo”.

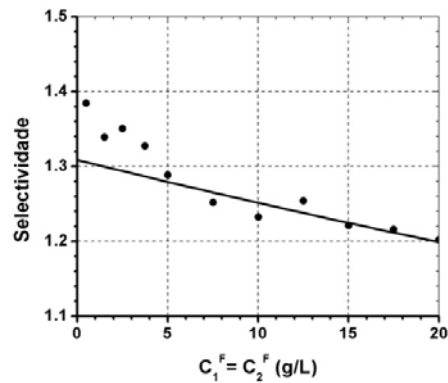


Figura 5.17 Comparação entre valores de selectividade experimentais (pontos) e valores de selectividade obtidos com o modelo LLG5 (linha) numa composição da fase móvel de metanol puro, a uma temperatura de 23°C. Coluna “leito fixo”.

Os resultados apresentados anteriormente permitem concluir que, do ponto de vista preparativo, a melhor solução para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno é conseguida com uma composição de 10%etanol/90%n-hexano. Esta composição de fase móvel permite um bom compromisso entre valores elevados de selectividade, com valores aceitáveis de tempo de retenção e sem grandes limitações na solubilidade dos enantiómeros.

5.2.4 Experiências de cromatografia frontal e sua modelização

Realizaram-se experiências de cromatografia frontal (*breakthroughs*) como forma de testar os resultados experimentais e correspondentes modelos para as isotérmicas de adsorção. Com este propósito, testaram-se três composições de fase móvel: 10/90, 40/60 e 100/0, todas com 0.01%TFA, para uma concentração de alimentação de 40 g/L de mistura racémica de flurbiprofeno. Na Figura 5.18 são apresentados os pontos experimentais para as etapas de saturação e de regeneração (através da recolha e análise de amostras em tempos diferentes). Representam-se igualmente os perfis obtidos pela previsão do modelo de força motriz linear (LDF) aplicado a um sistema de leito fixo (Secção 3.3, Tabela 3.2) utilizando o modelo LLG5. Os resultados apresentados mostram um bom ajuste entre os valores experimentais e o modelo em toda a gama de concentrações e composições da fase de fase móvel. Realizaram-se também experiências de cromatografia frontal nas quais se utilizaram cinco

concentrações diferentes de alimentação (1, 10, 20, 30 e 40 g/L de mistura racémica) na mesma composição de 10%etanol/90%n-hexano. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 5.19.

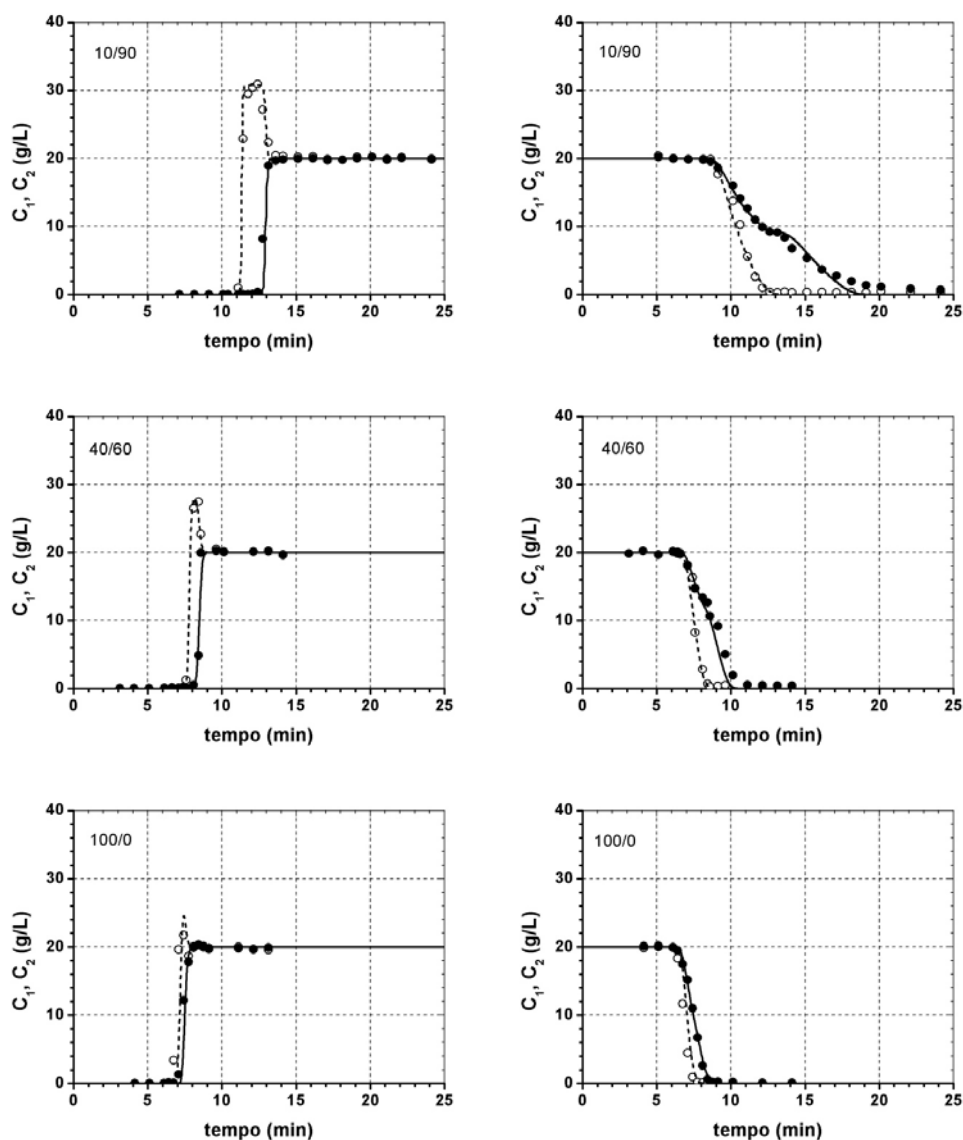


Figura 5.18 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para uma concentração total de 40 g/L (mistura racémica) em três composições de etanol em n-hexano da fase móvel: 10/90, 40/60 e 100/0. Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas). Círculos fechados e círculos abertos para os enantiómeros menos e mais retido, respectivamente. Coluna “leito fixo”, $Q=0.5$ mL/min, $T=23^\circ\text{C}$. Parâmetros do modelo utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo LLG5 (ver Tabela 5.2).

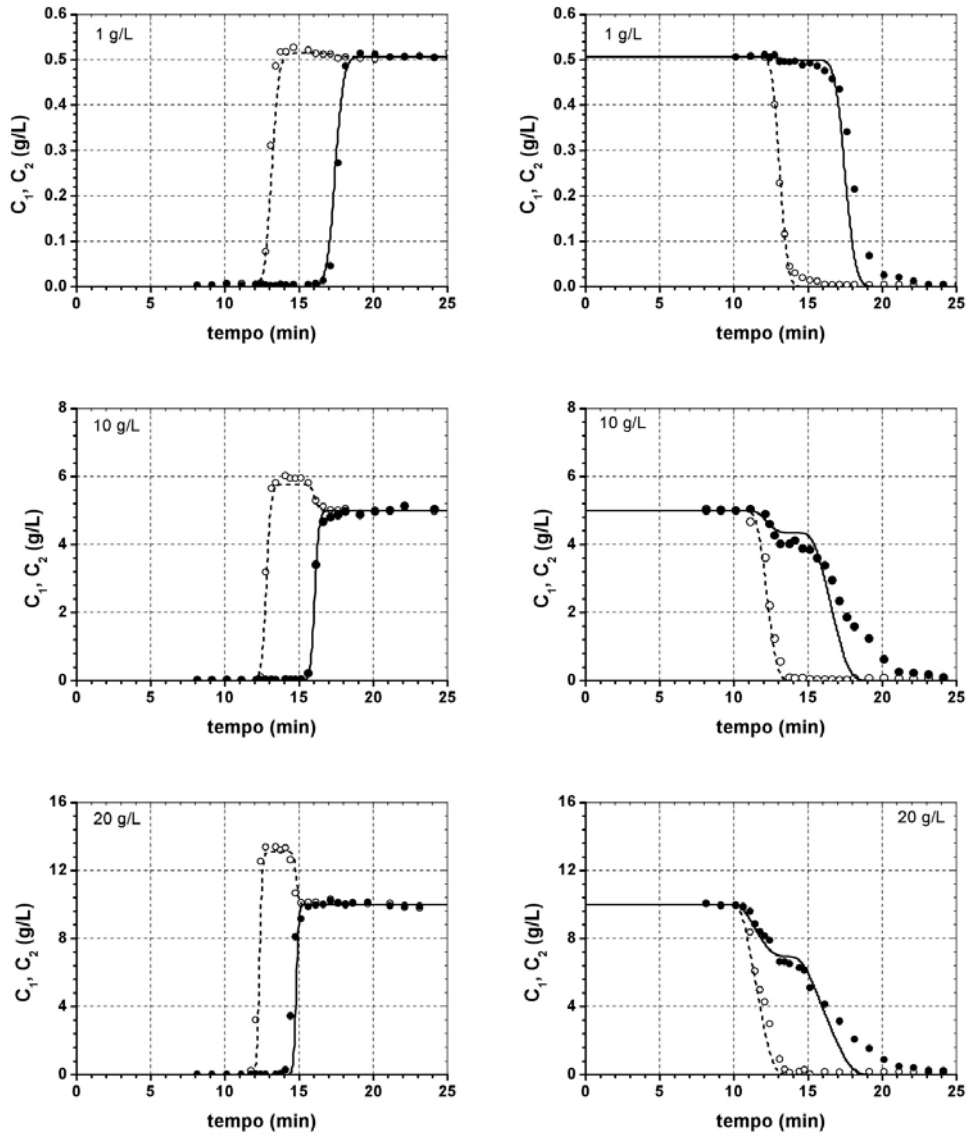


Figura 5.19 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Temperatura: 23°C. Coluna “leito fixo”. Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizado: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.2).

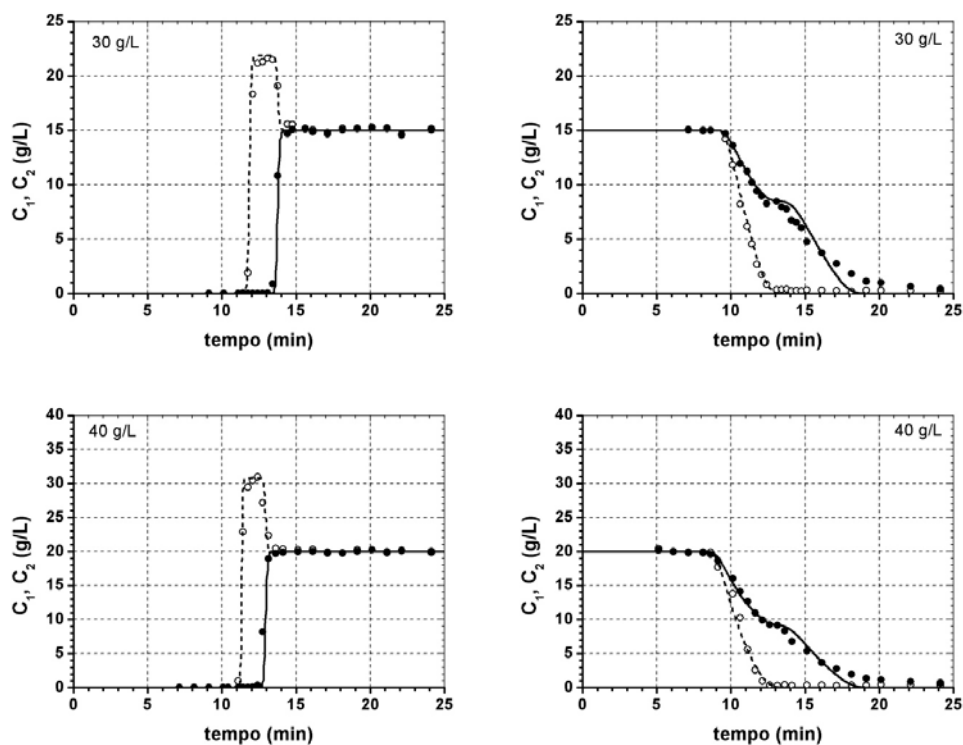


Figura 5.19 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Temperatura: 23°C. Coluna “leito fixo”. Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros do modelo utilizado: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.2).

Os resultados obtidos confirmam igualmente um bom ajuste entre valores experimentais e previsão, embora com um desfasamento no ajuste da cauda da curva de dessorção do componente mais retido (curva de dessorção para concentrações de $C_2 < 4 \text{ g/L}$)

Na Figura 5.20 encontra-se representado o comportamento de adsorção em sistema de leito fixo, previsto com os modelos estudados, LG3, LLG4 e LLG5, para diferentes concentrações de alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L. Pode dizer-se que existe alguma discrepância entre o modelo LLG5 (linha contínua) e os modelos LG3 e LLG4. Esta diferença entre os modelos é apenas ligeira para concentrações mais baixas e desaparece para concentrações mais elevadas.

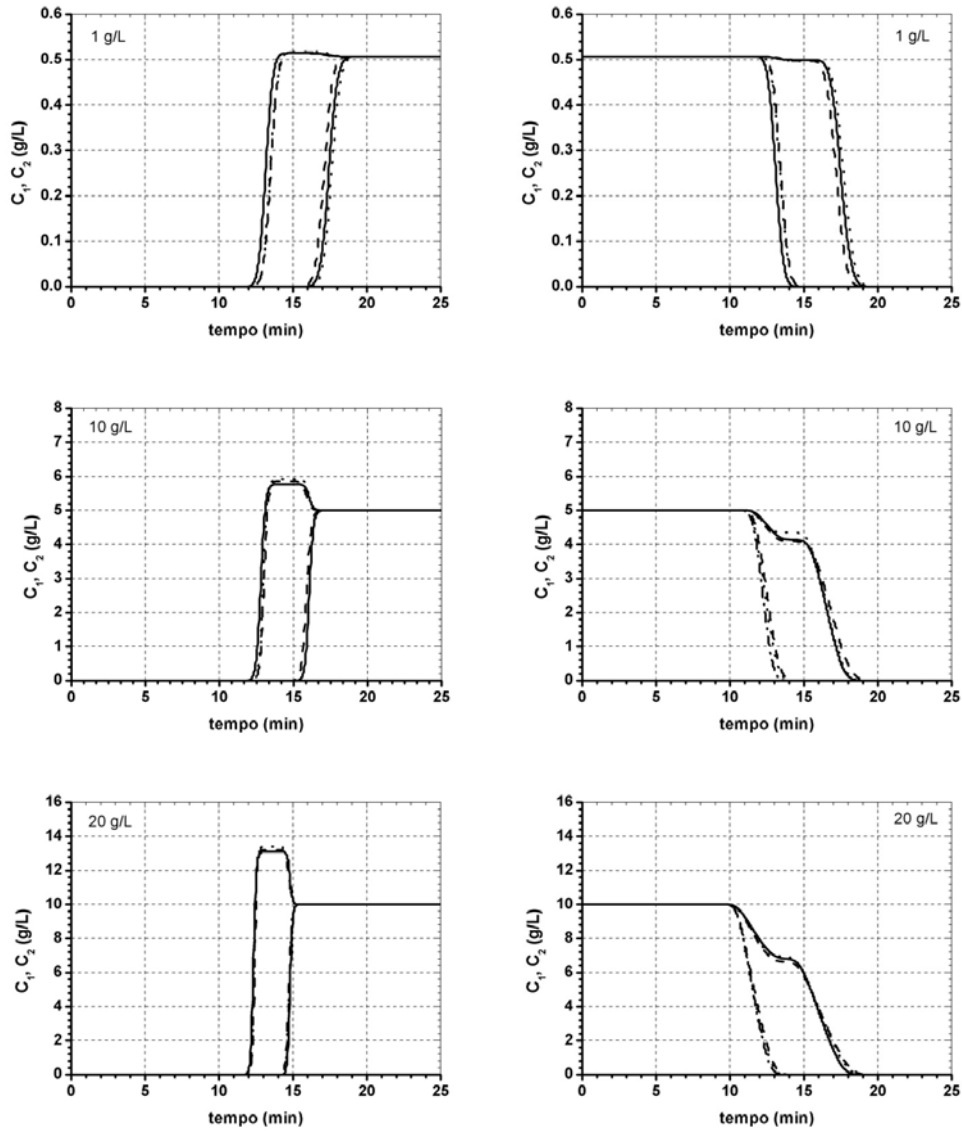


Figura 5.20 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 1, 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Coluna “leito fixo”. Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 5.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontilhada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5.

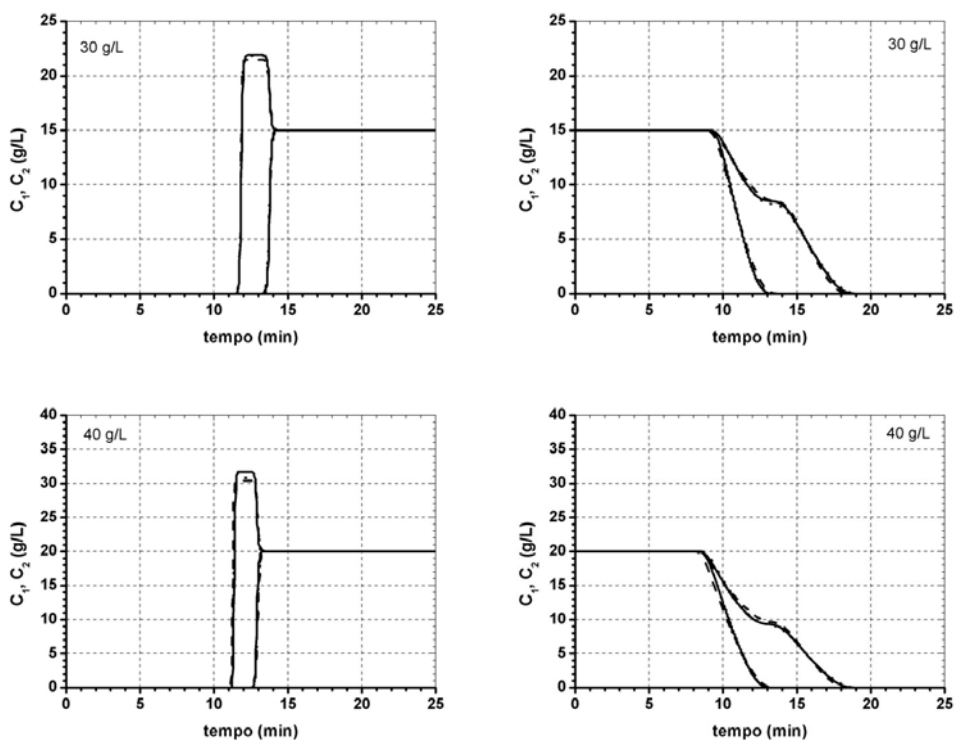


Figura 5.20 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para diferentes concentrações da solução de alimentação: 1, 10, 20, 30, e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre os modelos estudados numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Coluna “leito fixo”. Caudal: 0.5 mL/min. Parâmetros dos modelos utilizados: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros dos modelos de isotérmica de adsorção estudados (ver Tabela 5.2). Linha tracejada: modelo LG3; Linha pontuada: modelo LLG4; Linha contínua: modelo LLG5.

5.2.5 Previsão do desempenho de separação à escala preparativa (SMB)

Na Figura 5.21 compara-se o desempenho da operação de um SMB na separação dos enantiómeros de flurbiprofeno para as quatro composições da fase móvel de etanol em n-hexano (10/90, 20/80, 40/60 e 100/0) e utilizando os correspondentes modelos linear+Langmuir (LLG4) para as isotérmicas de adsorção. Estas previsões foram efectuadas para 0.1 g/L (gama de concentrações baixas, comportamento quase linear) e 25 g/L (comportamento não-linear).

Da observação da Figura 5.21 verifica-se a existência de maiores tempos de retenção para composições de fase móvel com maior teor de hidrocarboneto (n-hexano), isto é, as regiões de separação deslocam-se progressivamente para valores mais elevados de γ_{II} e γ_{III} (do canto inferior esquerdo para o canto superior direito, no plano $\gamma_{III} \times \gamma_{II}$ com o aumento do teor de n-hexano.

Contudo, e o que constitui um resultado diferente quando comparado com o obtido para o sistema de enantiómeros de cetoprofeno, as regiões de separação vão diminuindo a sua dimensão com a diminuição do teor de n-hexano (correspondente aumento do teor de etanol). Esta previsão pode facilmente ser explicada e corroborada pelos resultados obtidos experimentalmente para as isotérmicas de adsorção e correspondentes selectividades nas diferentes composições de fase móvel.

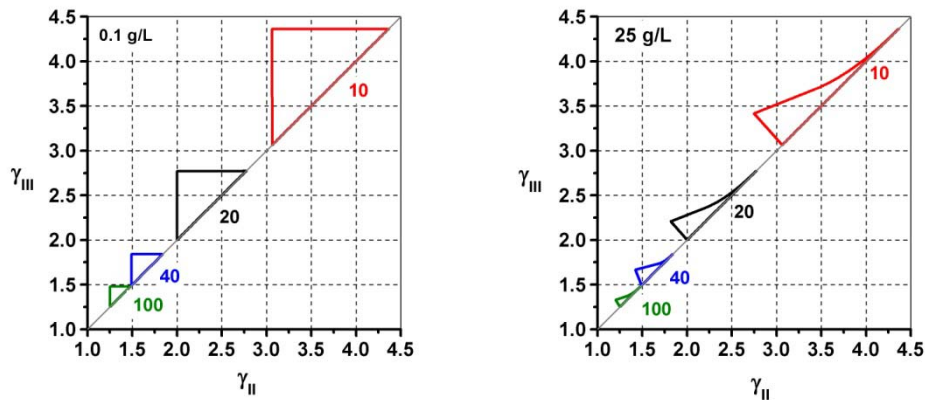


Figura 5.21 Regiões de separação completa em SMB previstas com a Teoria de Equilíbrio para as quatro composições da fase móvel %etanol/%n-hexano: 10/90; 20/80, 40/60 e 100/0, e para duas concentrações da alimentação ($C_1^F + C_2^F$): 0.1 g/L (gama linear) e 25 g/L. As regiões de separação para 10/90 (regiões de separação maiores) estão localizadas no canto superior direito; as regiões de separação para etanol puro (regiões de separação menores) estão localizadas no canto inferior esquerdo. Temperatura: 23°C.

Assim, o melhor desempenho (região de separação maior) é obtido com uma composição de 10%etanol/90%n-hexano. Este resultado é obtido em toda a gama de concentrações de alimentação.

Na Figura 5.22 representa-se a produtividade e na Figura 5.23 a previsão do consumo de solvente para as quatro fases móveis etanol/n-hexano, em função da concentração da solução de alimentação.

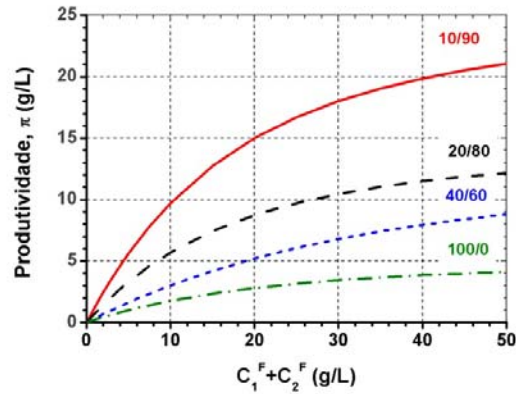


Figura 5.22 Previsão da produtividade da operação SMB, utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida para as quatro composições da fase móvel %etanol/%n-hexano.

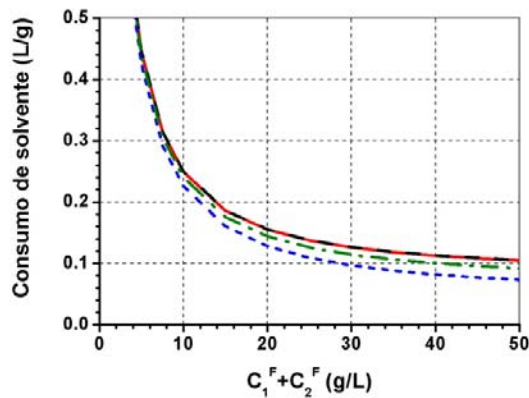


Figura 5.23 Previsão do consumo de solvente da operação SMB, utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida para as quatro composições da fase móvel %etanol/%n-hexano (linhas contínuas para 10/90; linhas tracejadas para 20/80; linhas pontilhadas para 40/60 e linhas semi-pontilhadas para etanol puro).

Estes resultados vêm confirmar as conclusões anteriores. Em condições preparativas, a produtividade máxima é obtida com uma composição de 10/90, não sendo o consumo de solvente significativamente diferente das outras composições estudadas. Por exemplo, pode observar-se na Figura 5.22 que a produtividade com 10%etanol/90%n-hexano para concentrações elevadas (por exemplo, 50 g/L de mistura racémica; 25 g/L de cada enantiómero) chega a ser cerca de 5 vezes superior à produtividade obtida com uma fase móvel de etanol puro.

5.2.6 Estudo da influência da composição em modificador ácido

A adição de modificador ácido à fase móvel é uma prática comum em cromatografia líquida com fases estacionárias quirais. Nas situações em que os compostos a analisar contêm um grupo funcional básico é usual adicionar à fase móvel um modificador básico, como a dietilamina, DEA, (Booth *et al.*, 1996; Tang, 1996; Lynam e Stringham, 2006) de forma a reduzir a cauda cromatográfica. O ácido trifluoracético, TFA, é geralmente usado para diminuir a retenção dos analitos ácidos na fase estacionária, a qual é significativa em condições de cromatografia em fase normal (elevado teor de hidrocarboneto) e em fases estacionárias quirais (Blackwell, 1999; Ye e Stringham, 2001; Ye *et al.*, 2002a-b; Matthijs *et al.*, 2006). Existem também aplicações que referem a utilização de outros modificadores ácidos como o ácido etanosulfônico, ESA, (Ye *et al.*, 2004) ou o ácido acético, HAc, (Santoro *et al.*, 2003). A utilização de modificadores básicos ou de modificadores ácidos tem sido referida como uma forma de aumentar significativamente a selectividade e a resolução, diminuindo o tempo de retenção.

Os resultados experimentais apresentados na Figura 5.19 (pontos) relativos às experiências de cromatografia frontal para uma composição da fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano evidenciam a existência de uma cauda cromatográfica na etapa de dessorção (regeneração). Para tentar ultrapassar este problema, foi realizado um conjunto de experiências de cromatografia de eluição e de cromatografia frontal (saturação e regeneração) em que se aumentou a composição em modificador ácido na fase móvel de 0.01% para 0.1%. De referir

que, de acordo com o fabricante, o teor máximo de TFA a utilizar com o enchimento Chiralpack AD é de 0.5%.

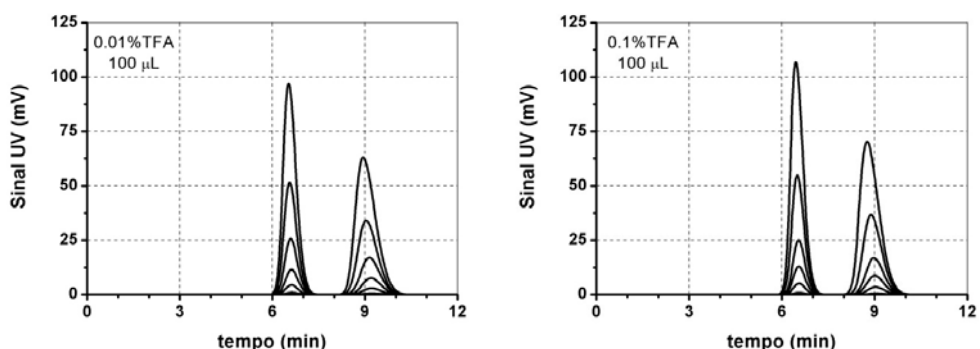


Figura 5.24 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano para duas composições de modificador ácido diferentes: 0.01%TFA e 0.1%TFA Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 µm); detecção por UV a 256 nm; caudal: 1 mL/min; temperatura: 23°C; volume de injeção de 100 µL.

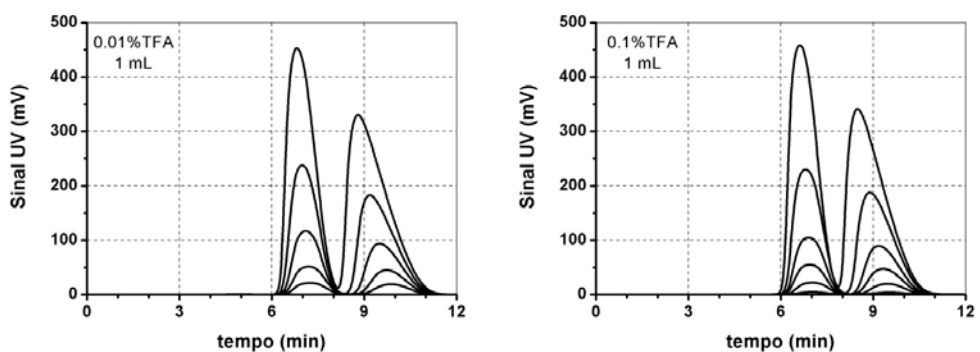


Figura 5.25 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano para duas composições de modificador ácido diferentes: 0.01%TFA e 0.1%TFA Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 µm); detecção por UV a 256 nm; caudal: 1 mL/min; temperatura: 23°C; volume de injeção de 1 mL.

Os resultados experimentais obtidos apresentam-se nas Figuras 5.24 a 5.27. Da análise destas figuras conclui-se que a utilização de um teor superior de TFA diminui apenas ligeiramente os tempos de retenção, quer a nível analítico, quer a

nível preparativo. No entanto, esta ligeira diminuição do tempo de retenção não elimina a existência de cauda cromatográfica, não havendo diferenças significativas a este respeito entre os dois teores de TFA (ver curva de regeneração das Figuras 5.26 e 5.27). Conclui-se, assim, ser desnecessário a utilização de um teor superior de TFA.

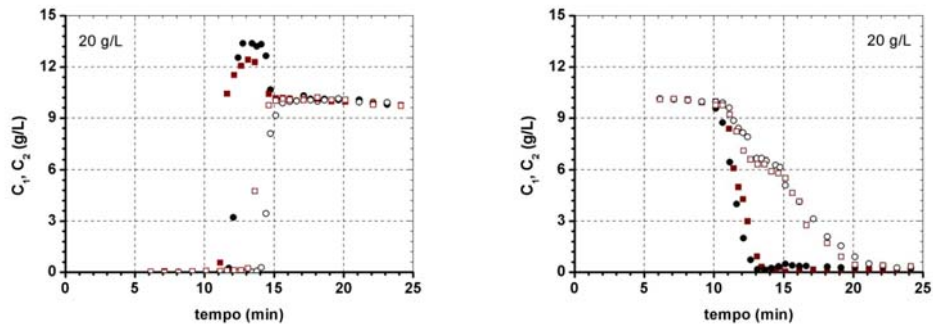


Figura 5.26 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para uma concentração total da alimentação de 20 g/L (mistura racémica de flurbiprofeno) e uma temperatura de 23°C em duas composições de TFA numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Círculos para 0.01%TFA e quadrados para 0.1%TFA. Círculos e quadrados fechados para o enantiómero menos retido e círculos e quadrados abertos para o mais retido. Coluna “leito fixo”. $Q = 0.5$ mL/min. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5).

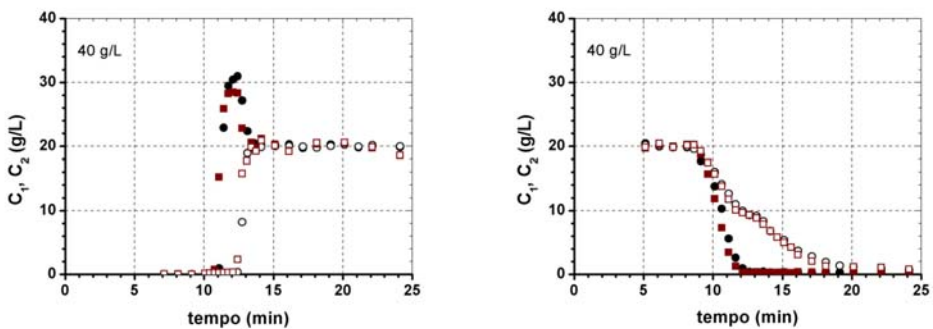


Figura 5.27 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção) para uma concentração total da alimentação de 40 g/L (mistura racémica de flurbiprofeno) a uma temperatura de 23°C em duas composições de TFA numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano. Círculos para 0.01%TFA e quadrados para 0.1%TFA. Círculos e quadrados fechados para o enantiómero menos retido e círculos e quadrados abertos para o mais retido. Coluna “leito fixo”. $Q = 0.5$ mL/min. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5).

5.2.7 Estudo da influência da temperatura no equilíbrio de adsorção

Até esta secção, todas as experiências foram realizadas a uma temperatura ambiente de 23°C. De modo a prever e comparar o desempenho de um sistema de SMB a uma temperatura mais elevada, foram realizadas, para além das análises de solubilidade já apresentadas, experiências de eluição (pulsos) e de cromatografia frontal (degraus), determinações experimentais de isotérmicas de adsorção e simulações do desempenho de operação por SMB a uma temperatura de 35°C.

Na Tabela 5.2 e na Figura 5.3 podem ser observados, tal como esperado, valores de solubilidade superiores para uma temperatura de 35°C quando comparados com os valores de obtidos a 23°C.

As experiências de eluição foram realizadas utilizando a composição de fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Nestas experiências, utilizaram-se misturas racémicas de flurbiprofeno com concentrações de 0.05 a 4 g/L. A comparação dos resultados experimentais obtidos a 35°C com os resultados obtidos à temperatura de 23°C, encontra-se representada na Figura 5.28 (volume injectado de 100 µL) e na Figura 5.29 (volume injectado de 1 mL).

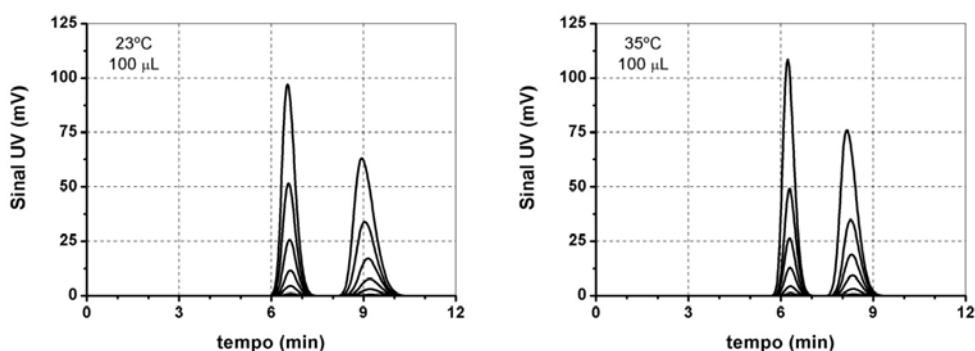


Figura 5.28 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA em duas temperaturas diferentes: 23°C e 35°C. Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 µm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 100 µL.

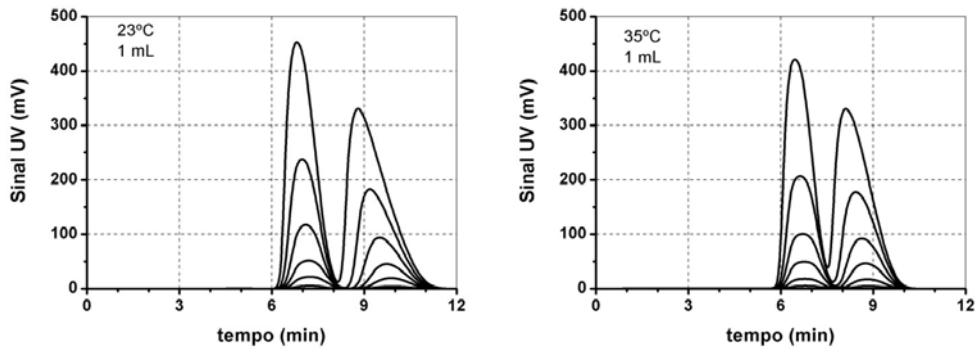


Figura 5.29 Histórias de eluição experimentais para os enantiómeros de flurbiprofeno numa composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA em duas temperaturas diferentes: 23°C e 35°C. Utilização de seis níveis crescentes de concentração de flurbiprofeno: 0.05, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 e 4.0 g/L; coluna “leito fixo” (diâmetro de partícula de 20 μm); detecção por UV a 256 nm; caudal de 1 mL/min; volume de injeção de 1 mL.

A análise dos resultados obtidos para ambos os volumes de injeção permite concluir que, para a temperatura de 35°C, como esperado, existe uma diminuição do tempo de retenção dos dois enantiómeros e uma diminuição da resolução (selectividade).

Para se compreender, com maior profundidade, qual o efeito do aumento de temperatura no processo de adsorção, realizou-se a determinação experimental das isotérmicas de adsorção multicomponente da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando uma fase móvel com uma composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA à temperatura de 35°C. Os parâmetros estimados, utilizando os modelos LG3, LLG4 e LLG5 (Equações 3.3 a 3.5), são apresentados na Tabela 5.4. Na Figura 5.30 representam-se as isotérmicas de adsorção experimentais e as previstas com o modelo linear+Langmuir modificado, LLG5.

Tabela 5.4 Parâmetros estimados do modelo para as isotérmicas de adsorção do flurbiprofeno, na coluna “leito fixo” para a composição da fase móvel 10%etanol/90%n-hexano para as temperaturas de 23°C e 35°C. M é o número de pontos experimentais; N é o número de parâmetros estimados; m_1 , m_2 , Q, b_1 e b_2 são os parâmetros correspondentes para os três modelos de isotérmicas: LG3 – Langmuir; LLG4 – linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 – linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definido nas Equações (3.6) e (3.7), respectivamente.

10%etanol/90%n-hexano (T=35°C)									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3		3	-	-	250.3	6.950×10^{-3}	9.284×10^{-3}	0.9223	0.2203
LLG4	22	4	0.5926		106.0	1.072×10^{-2}	1.699×10^{-2}	0.7334	0.2019
LLG5		5	0.6086	0.5638	107.5	1.034×10^{-2}	1.709×10^{-2}	0.7221	0.2061

A análise dos resultados apresentados na Tabela 5.3 e na Figura 5.30 permite-nos concluir que existe um bom ajuste com os modelos LLG4 e LLG5.

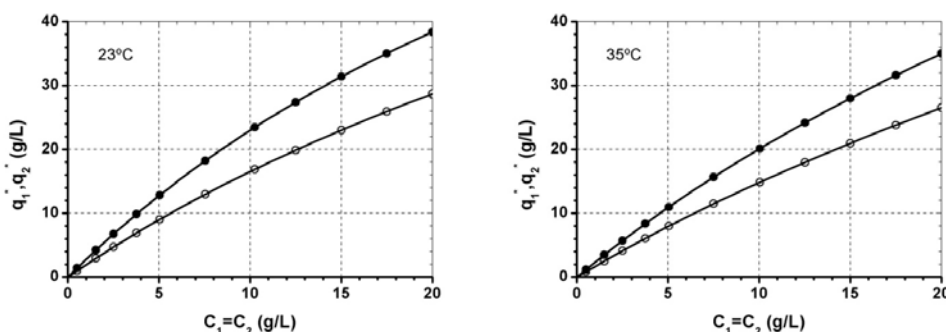


Figura 5.30 Comparação entre o modelo e os resultados experimentais para as isotérmicas de equilíbrio de adsorção do flurbiprofeno na coluna “leito fixo”, utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para 23°C e 35°C, numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Círculos abertos para a concentração experimental do enantiómero menos retido; círculos fechados para a concentração experimental do enantiómero mais retido e linhas para o modelo.

A Figura 5.30 confirma igualmente a diminuição da capacidade de retenção da fase estacionária e a diminuição da selectividade com o aumento da temperatura, tal como o atesta a previsão apresentada na Figura 5.31 a partir do modelo LLG5.

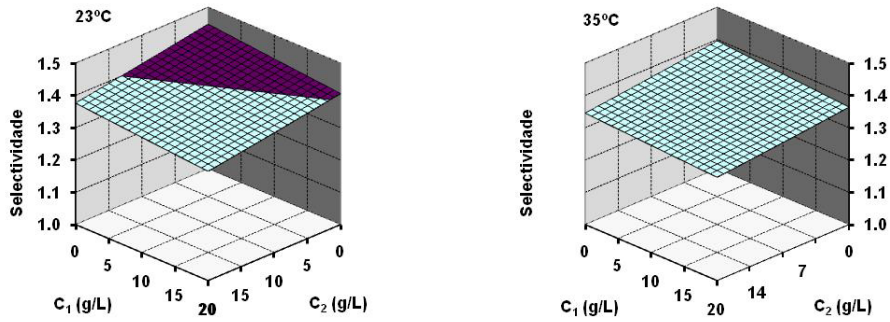


Figura 5.31 Comparação tridimensional entre o factor de selectividade previsto utilizando o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) às temperaturas de 23°C e 35°C, em função das concentrações dos enantiómeros de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA.

Realizaram-se também experiências de cromatografia frontal a uma temperatura de 35°C como forma de testar o modelo de isotérmica de adsorção obtido. Nestas experiências utilizaram-se concentrações de alimentação de 1, 10, 20, 30 e 40 g/L de mistura racémica de flurbiprofeno, numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Os resultados experimentais obtidos, assim como a correspondente previsão, encontram-se apresentados na Figura 5.32. A generalidade do ajuste é equivalente ao obtido para a temperatura de 23°C (Figura 5.20).

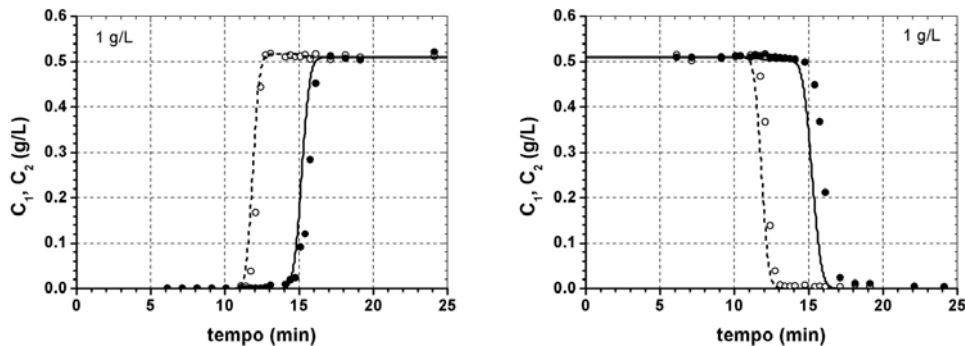


Figura 5.32 Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção), para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. $Q=0.5$ mL/min, $T=35^\circ\text{C}$. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.3). Coluna “leito fixo”.

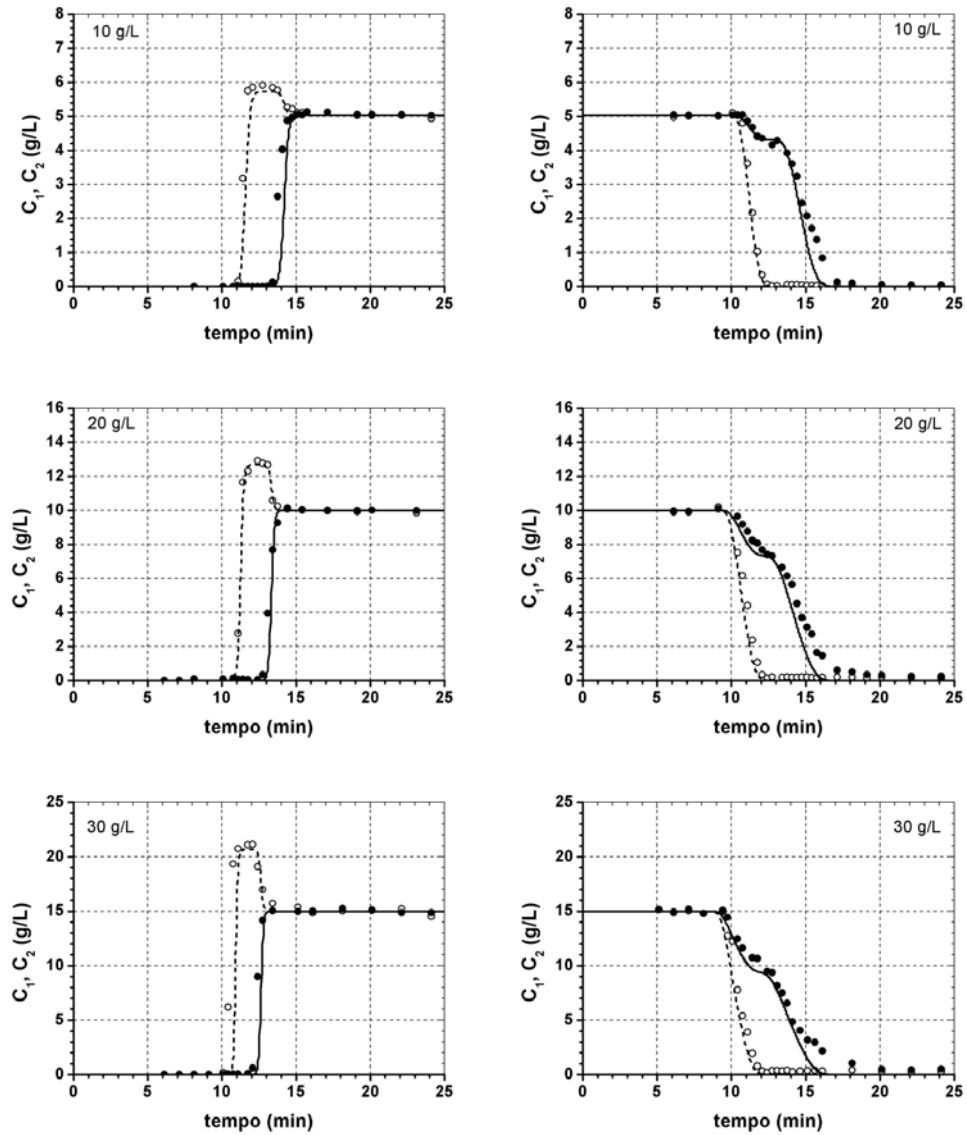


Figura 5.32 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção), para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racêmicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Caudal: 0.5 mL/min, $T = 35^\circ\text{C}$. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.3). Coluna “leito fixo”.

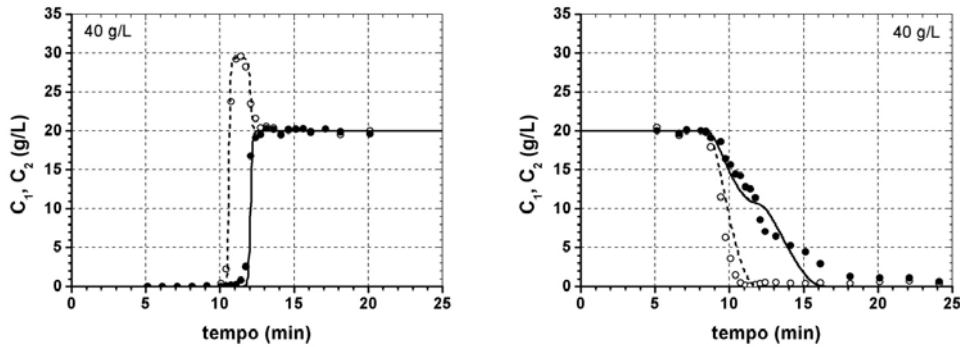


Figura 5.32 (Cont.) Curvas de saturação (adsorção) e regeneração (dessorção), para diferentes concentrações da alimentação: 1, 10, 20, 30 e 40 g/L (misturas racémicas). Comparação entre resultados experimentais (pontos) e simulação (linhas) numa fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Caudal: 0.5 mL/min, $T=35^{\circ}\text{C}$. Parâmetros do modelo: $\varepsilon = 0.4$, $Pe = 3500$, $k = 5.0 \text{ s}^{-1}$ ($St = k\tau = 1000$), e parâmetros do modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) (ver Tabela 5.3). Coluna “leito fixo”.

Os resultados experimentais obtidos a 23°C e a 35°C e correspondentes modelos de isotérmica de adsorção, permitem a simulação do desempenho da operação em SMB a estes dois valores de temperatura. Os resultados apresentados na Figura 5.33, permitem concluir que a temperatura de 23°C é a melhor escolha. A região de separação obtida à temperatura de 23°C é superior à obtida à temperatura de 35°C , tanto na gama linear, como a concentrações elevadas (gama não-linear).

Esta conclusão é comprovada pelas Figuras 5.34 e 5.35, no que se refere à produtividade e consumo de solvente da operação em SMB.

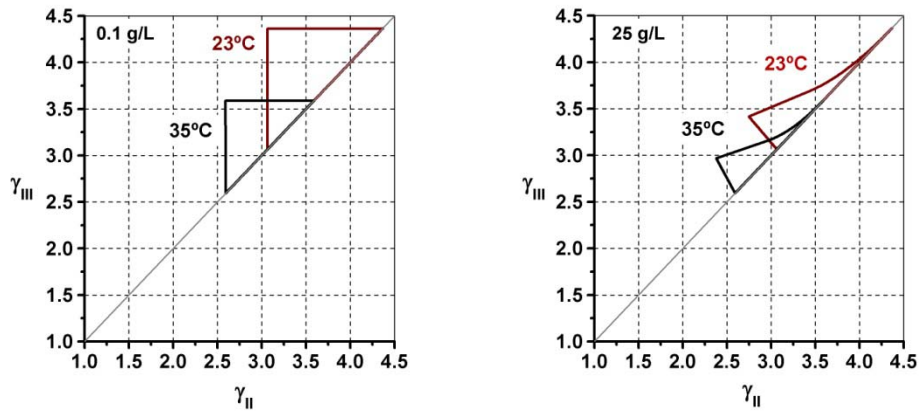


Figura 5.33 Regiões de separação em SMB previstas com a Teoria de Equilíbrio, numa composição da fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA para 23°C e 35°C e as concentrações da alimentação de 0.1 g/L e 25 g/L.

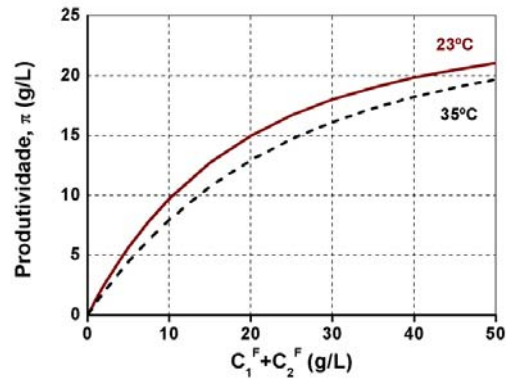


Figura 5.34 Previsão da produtividade em operação SMB utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida a duas temperaturas diferentes, a 23°C e a 35°C numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (linha contínua para 23°C e linha tracejada para 35°C).

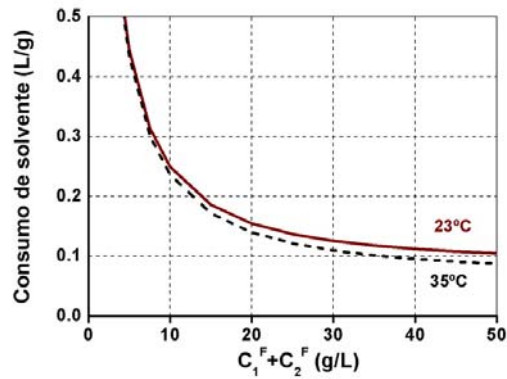


Figura 5.35 Previsão do consumo de solvente em operação SMB utilizando a Teoria de Equilíbrio, em função da concentração da solução de alimentação, obtida a duas temperaturas diferentes, a 23°C e a 35°C numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (linha contínua para 23°C e linha tracejada para 35°C).

Em conclusão, não existem vantagens, para além de uma maior solubilidade, em operar a valores de temperatura superiores. A temperatura ambiente, além dos benefícios práticos directos de um menor consumo energético, permite obter uma produtividade superior como se observa nas simulações da operação utilizando a tecnologia de leito móvel simulado.

5.3 Conclusões

Os resultados experimentais obtidos no estudo da solubilidade dos enantiómeros de flurbiprofeno mostraram valores elevados de solubilidade para fases móveis hidrocarboneto/álcool, constituídas por elevados teores de álcool. O valor de solubilidade em n-hexano puro é muito reduzido, podendo-se concluir que os enantiómeros de flurbiprofeno são praticamente insolúveis neste solvente.

As experiências de cromatografia de eluição realizadas permitiram verificar a existência de elevados valores de selectividade em composições de fase móvel com baixas composições de álcool (etanol e metanol). A utilização de baixas composições de álcool significa porém elevados valores de tempo de retenção e valores de solubilidade mais reduzidos.

A utilização de metanol na fase móvel, em misturas com n-hexano, não representa uma vantagem comparativamente à utilização de etanol, uma vez que existe uma larga gama de imiscibilidade (6-60%), impossibilitando a utilização de misturas álcool/hidrocarboneto em que as condições de operação são frequentemente mais vantajosas.

Para o sistema de enantiómeros de flurbiprofeno, uma fase móvel constituída por 10%etanol/90%n-hexano representa a melhor escolha, já que constitui um bom compromisso entre selectividade, tempo de retenção e solubilidade.

Os modelos linear+Langmuir com 4 parâmetros (LLG4) ou linear+Langmuir modificado com 5 parâmetros (LLG5) descrevem bem o comportamento experimental observado nas isotérmicas de equilíbrio de adsorção. Estes modelos representam igualmente uma boa tradução do comportamento de adsorção em cromatografia em leito fixo, conforme observado nas experiências de cromatografia frontal a vários níveis de concentração (linear e preparativa).

O aumento da composição de modificador ácido (TFA) de 0.01% para 0.1% permitiu diminuir ligeiramente o tempo de retenção de ambos os enantiómeros. Contudo, não significa uma melhoria significativa na qualidade de separação, sendo o comportamento de adsorção muito semelhante nas duas situações, como o demonstram as experiências de cromatografia frontal realizadas.

Apesar de uma temperatura de 35°C possibilitar valores de solubilidade superiores aos obtidos a 23°C, à escala preparativa, a utilização de uma temperatura ambiente (23°C) é mais vantajosa, já que permite um melhor desempenho de separação, além dos evidentes benefícios energéticos que representa.

Este estudo demonstra que a escolha da composição da fase móvel é uma decisão de elevada importância para uma optimização adequada das separações de enantiómeros por cromatografia líquida preparativa e leito móvel simulado. Esta selecção afecta directamente a produtividade do processo de separação, uma vez que a solubilidade, os tempos de retenção e a selectividade são parâmetros muito sensíveis a variações na composição da fase móvel. Numa

separação preparativa, elevados valores de resolução (selectividade) não constituem o único objectivo a ser atingido. Outros critérios, como sejam, a solubilidade do racemato e baixos tempos de retenção, devem ser considerados.

A análise conjunta dos resultados obtidos para os dois sistemas de profenos (cetoprofeno no capítulo 4 e flurbiprofeno no capítulo 5), mostram igualmente não existirem regras gerais para a optimização do sistema de separação, devendo ser efectuado um estudo individualizado.

De facto, enquanto para o sistema de flurbiprofeno, o solvente indicado é o usualmente utilizado em cromatografia analítica (10%etanol/90%n-hexano), para o sistema de cetoprofeno o etanol puro constitui a melhor solução.

5.4 Referências

Aboul-Enein, H.; El-Awady, M.; Heard, C.; "Thin layer chromatographic resolution of some 2-arylpropionic acid enantiomers using L(-)-serine, L(-)-threonine and a mixture of L(-)-serine and L(-)-threonine-impregnated silica gel as stationary phases", **Biomed. Chromatogr.** 17 (2003) 325-334.

Andrews, P.; Zhao, X.; Allen, J.; Li, F.; Chang, M.; "A comparison of the effectiveness of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs and their derivatives against cancer cells in vitro", **Cancer Chemother. Pharmacol.** March (2007).

Averbeck, B.; Peisler, M.; Izydorczyk, I.; Reeh, P.; "Inflammatory mediators do not stimulate CGRP release if prostaglandin synthesis is blocked by S(+)-flurbiprofen in isolated rat skin", **Inflammation Research** 52 (2003) 519-523.

Blackwell, J.; "Effect of acidic mobile phase additives on chiral selectivity for phenylalanine analogs using subcritical fluid chromatography", **Chirality** 11 (1999) 91-97.

- Bojarski, J.; Aboul-Enein, H.; Ghanem, A.; "What's new in chromatographic enantioseparations", **Cur. Anal. Chem.** 1 (2005) 59-77.
- Booth, T.; Wainer, I.; "Mechanistic investigation into the enantioselective separation of mexiletine and related compounds, chromatographed on an amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase", **J. Chromatogr. A** 741 (1996) 205-211.
- Chao, S.; Ho, H.; Chen, F.; Lin, P.; Yu, Y.; Wu, A.; "Identification of flurbiprofen and its photoproducts in methanol by gas chromatography-mass spectrometry", **Biomed. Chromatogr.** 21 (2007) 527-533.
- Duan, G.; Ching, C.; "Preparative scale enantioseparation of flurbiprofen by lipase-catalysed reaction", **Biochem. Eng. J.** 2 (1998) 237-245.
- Fanali, S.; D'Orazio, G.; Quaglia, M.; "Separation of aryl propionic acids by capillary liquid chromatography", **Chromatographia** 60 (2004) S239-S243.
- Geiser, F.; Shah, R.; "Enantioseparation of hydrochloride salts using carbon dioxide-based mobile phases with on-line polarimetric detection", **Chirality** 16 (2004) 263-266.
- Geisslinger, G.; Selbach, U.; Coste, O.; Vetter, G.; Schrodter, A.; Schaible, H.; Brune, K.; Tegeder, I.; "Inhibition of noxious stimulus-induced spinal prostaglandin E₂ release by flurbiprofen enantiomers: a microdialysis study", **J. Neurochem.** 74 (2000) 2094-2100.
- Glówka, F.; Karaźniewicz, M.; "Resolution of indobufen enantiomers by capillary electrophoresis. Pharmacokinetic studies of human serum", **J. Chromatogr. A** 1032 (2004) 219-225.
- Gracin, S.; Rasmunson, A.; "Solubility of phenylacetic acid, p-hydroxyphenylacetic acid, p-aminophenylacetic acid, p-hydroxybenzoic acid, and ibuprofen in pure solvents", **J. Chem. Eng. Data** 47 (2002) 1379-1383.

- Groot, D.; Vries, E.; Groen, H.; Jong, S.; "Non-steroidal anti-inflammatory drugs to potentiate chemotherapy effects: From lab to clinic", **Crit. Rev. Oncol. Hematol.** 61 (2007) 52-69.
- Grösch, S.; Schilling, K.; Janssen, A.; Maier, T.; Niederberger, E.; Geisslinger, G.; "Induction of apoptosis by R-Flurbiprofen in human colon carcinoma cells: involvement of p53", **Biochem. Pharmacol.** 69 (2005) 831-839.
- Huang, D.; Dapremont, O.; Berget, P.; Xa, H.; Sanchez, D.; "Preparative-Scale Separation of enantiomers of chiral carboxylic acids", **Patent N.:** US 2008/0287704 A1, Pub. Date: Nov. 20, 2008.
- Ishiyama, T.; Yamagushi, T.; Kashimoto, S.; Kumazawa, T.; "Effects of epidural fentanyl and intravenous flurbiprofen for visceral pain during cesarean section under spinal anesthesia", **J. Anesth.** 15 (2001) 69-73.
- Lee, E.; Won, H.; Ro, H.; Ryu, Y.; Chung, B.; "Preparation of enantiomerically pure (S)-flurbiprofen by an esterase from *Pseudomonas sp. KCTC 10122BP*", **J. Mol. Catal. B: Enzymat.** 26 (2003) 149-156.
- Lynam, K.; Stringham, R.; "Chiral Separations on Polyssaccharide Stationary Phases Using Polar Organic Mobile Phases", **Chirality** 18 (2006) 1-9.
- Maftouh, M.; Loyaux, C.; Chavana, E.; Heyden, Y.; Picard, C.; "Screening approach for chiral separation of pharmaceuticals. Part III. Supercritical fluid chromatography for analysis and purification in drug discovery", **J. Chromatogr. A** 1088 (2005) 67-81.
- Matthijs, N.; Maftouh, M.; Heyden, Y.; "Screening approach for chiral separation of pharmaceuticals IV. Polar organic solvent chromatography", **J. Chromatogr. A** 1111 (2006) 48-61.
- McGeer, P.; McGeer, E.; "NSAIDs and Alzheimer's disease: Epidemiological, animal model and clinical studies", **Neurobiol. Aging** 28 (2007) 639-647.

- Mohs, R.; Kawas, C.; Carrillo, M.; "Optimal design of clinical trial for drugs designed to slow the course of Alzheimer's disease", **Alzheimer's & Dementia** 2 (2006) 131-139.
- Nishiyama, T.; "How to decrease pain at rapid injection of propofol: effectiveness of flurbiprofen", **J. Anesth.** 19 (2005) 273-276.
- Okamoto, Y.; Aburatani, R.; Kaida, Y.; Hatada, K.; Inotsume, N.; Nakano, M.; "Direct chromatographic separation of 2-arylpropionic acid enantiomers using tris(3,5-dimethylphenylcarbamate)s of cellulose and amylose as chiral stationary phases"; **Chirality** 1 (1989) 239-242.
- Panico, A.; Cardile, V.; Vittorio, F.; Ronsisvalle, G.; Scoto, G.; Parenti, C.; Gentile, B.; Morrone, R.; Nicolosi, G.; "Different in vitro activity of flurbiprofen and its enantiomers on human articular cartilage", **Il Farmaco** 58 (2003) 1339-1344.
- Patel, B.; Valentova, J.; Hutt, A.; "Chromatographic separation and enantiomeric resolution of flurbiprofen and its major metabolites", **Chromatographia** 55 (2002) 135-142.
- Patel, B.; Valentova, J.; Hutt, A.; "Stereospecific analysis of flurbiprofen and its major metabolites in plasma and urine by chiral-phase liquid chromatography", **Chromatographia** 57 (2003) 7-18.
- Qian, L.; Chen, S.; Shi, B.; "Preparation of enantiopure (R)-flurbiprofen catalysed by a newly isolated *Bacillus cereus* C71", **Biocatal. Biotransf.** 25, 1 (2007) 29-34.
- Quann, E.; Khawaja, F.; Zavitz, K.; Djakiew, D.; "The aryl propionic acid R-flurbiprofen selectivity induces p75^{NTR}-dependent decreased survival of prostate tumor cells", **Cancer Res.** 67 (2007) 3254-3262.

- Ribeiro, A.; Graça, N.; Pais, L.; Rodrigues, A.; "Preparative separation of ketoprofen enantiomers, choice of mobile phase composition and measurement of competitive adsorption isotherms", **Sep. Purif. Technol.** 61 (2008) 375-383.
- Sádecká, J.; Čákr, M.; "Effects of non-ionic surfactants on isotachophoretic separations of 2-arylpropionic acids", **J. Chromatogr. A** 1084 (2005) 152-159.
- Sajeev, C.; Jadhav, P.; RaviShankar, D.; Saha, R.; "Determination of flurbiprofen in pharmaceutical formulations by UV spectrophotometry and liquid chromatography", **Anal. Chim. Acta** 463 (2002) 207-217.
- Santoro, M.; Singh, A.; Hackman, E.; "Direct separation and quantitative determination of flurbiprofen enantiomers in pharmaceutical formulations", **J. Liq. Chrom. & Relat. Techn.** 26, 4 (2003) 517-527.
- Shin, G.; Lee, K.; Kim, T.; Shin, H.; Lee, Y.; "Lipase-catalyzed production of optically active (S)-flurbiprofen in aqueous phase reaction system containing chiral succinyl β -cyclodextrin", **J. Mol. Catal. B: Enzymat.** 33 (2005a) 93-98.
- Shin, G.; Lee, K.; Lee, Y.; "Fed-batch production of (S)-flurbiprofen in lipase-catalysed dispersed aqueous phase reaction system induced by succinyl β -cyclodextrin and its extractive purification", **J. Mol. Catal. B: Enzymat.** 37 (2005b) 109-111.
- Sørensen, J.; Arlt, W.; "Liquid-Liquid Equilibrium Data Collection: Binary Systems", em DECHEMA, **Chemistry Data Series**, Vol. V, Part 1 (1979).
- Stringham, R.; Lynam, K.; Lord, B.; "Equilibrium theory based design of simulated moving bed processes for a generalized Langmuir isotherm", **J. Chromatogr. A** 1126 (2006) 311-322.

- Szekely, C.; Thorne, J.; Zandi, P.; Ek, M.; Messias, E.; Breitner, J.; Goodman, S.; "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: A systematic review", **Neuroepidemiol.** 23 (2004) 159-169.
- Tang, X.; Wang, S.; Davies, N.; "Significance of mobile phase composition in enantioseparation of chiral drugs by HPLC on a cellulose-based chiral stationary phase", **Chirality** 8 (1996) 136-142.
- Teng, X.; Wang, S.; Davies, N.; "Stereospecific high-performance liquid chromatographic analysis of flurbiprofen: application to pharmacokinetic studies", **J. Pharm. Biomed. Anal.** 33 (2003) 95-100.
- Trejo, A.; Yañez, P.; Rincón, R.; "Liquid-Liquid coexistence curves for binary systems: methanol+cyclohexane+several isomers of hexane", **J. Chem. Eng. Data** 51 (2006) 1070-1075.
- Wetcher, W.; Murray, E.; Kantoci, D.; Quiggle, D.; Leipold, D.; Gibson, K.; McCracken, J.; "Treatment and survival study in the C57BL/6J-APC^{Min}/+ (Min) mouse with R-flurbiprofen", **Life Sci.** 66 (2000) 745-753.
- Wilcock, G.; "Disease-modifying treatments for Alzheimer's disease: A perspective based on experience with R-flurbiprofen", **Alzheimer's & Dementia** 2 (2006) 150-152.
- Yamashita, K.; Fukuski, M.; Ando, Y.; Fujinaga, A.; Tanabe, T.; Terao, Y.; Sumikawa, K.; "Preoperative administration of intravenous flurbiprofen axetil reduces postoperative pain for spinal fusion surgery", **J. Anesth.** 20 (2006) 92-95.
- Ye, Y.; Stringham, R.; "Effect of a mobile phase acidic additives on enantioselectivity for phenylalanine analogs", **J. Chromatogr. A** 927 (2001) 47-52.

Ye, Y.; Lord, B.; Stringham, R.; "Memory effect of mobile phase additives in chiral separations on a Chiralpak AD column", **J. Chromatogr. A** 945 (2002a) 139-146.

Ye, Y.; Lord, B.; Yin, L.; Stringham, R.; "Enantioseparation of amino acids on a polysaccharide-based chiral stationary phase", **J. Chromatogr. A** 945 (2002b) 147-159.

Ye, Y.; Stringham, R.; Wirth, M.; "Origin of enhanced chiral selectivity by acidic additives for a polysaccharide-based stationary phase", **J. Chromatogr. A** 1057 (2004) 75-82.

Zemskova, M.; Wetcher, W.; Bashkirova, S.; Chen, C.; Reiter, R.; Lilly, M.; "Gene expression profiling in R-flurbiprofen-treated prostate cancer: R-flurbiprofen regulates prostate stem cell antigen through activation of AKT kinase", **Biochem. Pharmacol.** 72 (2006) 1257-1267.

Zhang, H.; Wang, X.; Ching, C.; "R-stereopreference analysis of Lipase Novozym 435 in kinetic resolution of flurbiprofen", **Chirality** 19 (2007) 245-249.

Capítulo 6

Separação Preparativa dos Enantiómeros de Cetoprofeno: Operação em leito móvel simulado.

Os estudos realizados no capítulo 4, relativos à selecção preliminar da composição de eluente a utilizar para a separação por cromatografia líquida da mistura racémica de cetoprofeno, permitiram concluir que a composição 100%etanol/0.01%TFA é aquela que, de entre todas as estudadas, prevê melhores desempenhos do processo de separação do ponto de vista preparativo.

O principal objectivo neste capítulo 6 consiste na separação preparativa da mistura racémica de cetoprofeno utilizando um sistema de leito móvel simulado. Na parte inicial, apresentam-se estudos semelhantes aos apresentados no capítulo 4, como forma de validar a escolha do eluente. Nestes estudos utiliza-se uma coluna com as mesmas dimensões e tipo de enchimento que as colunas montadas na instalação de leito móvel simulado. Outra diferença importante deste capítulo em relação ao capítulo 4 reside no procedimento utilizado para determinar as previsões do desempenho do processo de separação utilizando a tecnologia de leito móvel simulado. Utiliza-se não apenas a Teoria de Equilíbrio (a qual despreza os efeitos de dispersão e de resistência à transferência de massa) mas também os modelos de leito móvel verdadeiro e de leito móvel simulado. Com estes novos modelos pretende-se que as previsões efectuadas sejam mais realistas do comportamento de adsorção durante o processo de separação preparativo.

O trabalho desenvolvido e apresentado neste capítulo foi apresentado sob a forma de comunicação oral na conferência "13th Symposium on Preparative and Industrial Chromatography and Allied Techniques" (SPICA) que decorreu de 12 a 15 de Setembro de 2010, em Estocolmo, Suécia. Encontra-se igualmente em fase de preparação a sua publicação em revista científica internacional.

6.1 Introdução

Com base nas conclusões retiradas nos estudos preliminares apresentados nos capítulos 4 e 5, os resultados experimentais relativos a esta secção são apresentados de uma forma comparativa entre dois sistemas distintos: sistema "C100": separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de eluente de 100%etanol/0.01%TFA e sistema "C10": separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando um eluente cuja composição é 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (Ribeiro *et al.*, 2008 e 2009). A comparação entre os dois sistemas permitirá retirar conclusões sobre as vantagens e/ou desvantagens de um sistema relativamente a outro e assim, realizar de uma forma mais objectiva a selecção da composição do eluente a utilizar nesta separação. Como o principal objectivo consiste na separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando uma instalação de leito móvel simulado, os estudos preliminares referentes à selecção da fase móvel, são efectuados utilizando uma coluna igual às colunas montadas na instalação experimental FlexSMB-LSRE[®] (designada por "Coluna SMB" no capítulo 3). Esta coluna (ver Figura 6.1) tem o comprimento de 100 mm, diâmetro interno de 20 mm e um enchimento do tipo Chiralpack AD com um tamanho de partícula de 20 µm.



Figura 6.1 Coluna "SMB", utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo e leito móvel simulado para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno. (Chiralpack AD 20 µm; 100 mm L x 20 mm ID).

A metodologia utilizada previamente descrita no capítulo 3 é semelhante à utilizada no capítulo 4 com a coluna "leito fixo". Inicialmente apresentam-se experiências de cromatografia de eluição (pulsos) da mistura racémica, os quais permitem comparar a retenção e analisar a selectividade. De seguida, determina-se experimentalmente as isotérmicas de equilíbrio de adsorção da mistura racémica, procedendo à escolha do modelo que melhor descreve o seu

comportamento de adsorção. A validação do modelo escolhido é conseguida através da realização de experiências de cromatografia frontal (degraus) da mistura racémica utilizando condições preparativas (ou seja, concentrações elevadas) e da sua comparação com o comportamento em leito fixo, descrito pelo modelo de isotérmica de adsorção escolhido. Os degraus efectuados permitem estimar experimentalmente os valores de Peclet (degraus de *tracer*) e os valores dos coeficientes de resistência à transferência de massa (degraus da mistura racémica). Posteriormente realiza-se uma previsão, sempre de uma forma comparativa entre os dois sistemas ("C10" e "C100"), das regiões de separação, do consumo de solvente e da produtividade obtida à escala preparativa utilizando o modelo de equilíbrio. De forma a realizar previsões mais realistas utilizam-se adicionalmente os modelos mais complexos de leito móvel verdadeiro e de leito móvel simulado. Deste modo passam a ser considerados os efeitos relativos à dispersão axial e à resistência à transferência de massa. Finalmente, realiza-se a separação preparativa da mistura racémica utilizando diferentes valores de concentração na corrente de alimentação.

A separação dos enantiómeros de cetoprofeno por cromatografia líquida preparativa utilizando a tecnologia de leito móvel simulado é abordada em três trabalhos já referidos no capítulo 4 (Yoon *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005; Khattabi e Cox, 2009).

No primeiro estudo (Yoon *et al.*, 2004) apresenta-se um sistema de leito móvel simulado constituído por 6 colunas (100 mm L x 10 mm ID, Alltech, USA) empacotadas com um enchimento quiral do tipo *O,O-bis(4-tert-butylbenzoyl)-N,N'-diallyl-L-tartar diamide* em sílica (Kromasil, 10 µm, Eka Chemical, Suécia). O sistema de SMB é operado a 40°C utilizando uma configuração de 6 colunas (1,2,2,1). Nesse trabalho estuda-se a separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando como solvente uma mistura de 85/15/0.1 (n-hexano/metil-*tert*-butil éter (MtBE)/ácido acético %v/v). A corrente de alimentação tem uma concentração de 1 g/L conseguindo-se obter uma pureza de 96% para o enantiómero de S-cetoprofeno, o qual é descrito como sendo o enantiómero menos retido na referida fase estacionária quiral (ver capítulo 4, última figura da Tabela 4.2).

No segundo trabalho referido (Park *et al.* 2005), realizado pelo mesmo grupo, apresenta-se um estudo para a determinação sistemática dos caudais de operação do SMB, fazendo uso da mistura racémica de cetoprofeno como exemplo de separação quiral. A fase estacionária e fase móvel utilizada são os mesmos já referidos no primeiro trabalho (Yoon *et al.*, 2004). Com o método apresentado e com os caudais “ótimos” propostos refere-se uma separação em que se obtém uma pureza máxima de 87% na corrente de refinado (para o enantiómero S-cetoprofeno).

No trabalho mais recente (Khattabi e Cox, 2009) estuda-se a validade das conclusões retiradas no capítulo 4 e que foram publicadas em revista científica internacional (Ribeiro *et al.*, 2008). Este estudo desenvolveu-se devido ao facto de nas conclusões apresentadas no capítulo 4 não se ter tido em conta o importante impacto da viscosidade nas quedas de pressão, as quais poderiam constituir um factor limitativo em termos operacionais e mesmo em termos da fragilidade da partícula de adsorvente. Nesse estudo os autores realizam a separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando um sistema de leito móvel simulado. O sistema apresentado é constituído por 8 colunas (100 mm x 4.6 mm) cada uma contendo 4.5 g de adsorvente do tipo Chiralpack AD e utilizando como solvente três composições distintas: 20, 50% etanol em n-hexano e 100% etanol. As conclusões obtidas nesse trabalho reforçam as conclusões apresentadas no capítulo 4, uma vez que a composição de 100% etanol é apresentada, uma vez mais, como sendo a melhor escolha para a separação preparativa dos enantiómeros de cetoprofeno.

6.2 Apresentação e análise de resultados

6.2.1 Cromatografia de eluição

Na Figura 6.2 apresentam-se os pulsos realizados, na coluna SMB, com uma mistura racémica de cetoprofeno de concentração 20 g/L, nas duas composições de fase móvel. Os resultados mostram que a utilização de uma composição 100%etanol/0.01%TFA permite obter tempos de retenção bastante mais baixos do que quando se utiliza a composição 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA

(cerca de 4 vezes menos). Por outro lado, a selectividade apresentada é bastante maior com 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Contudo, a selectividade apresentada em etanol puro evidencia alguma potencialidade na separação preparativa, uma vez que existe uma razoável separação dos dois enantiómeros.

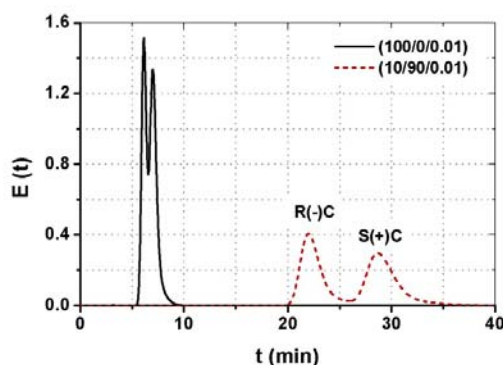


Figura 6.2 Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, na coluna “SMB”, utilizando duas composições de fase móvel diferentes: 100/0/0.01 (Linha sólida) e 10/90/0.01 (Linha tracejada) de etanol/n-hexano/TFA. Concentração da mistura racémica de 20.70 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μ L. Enantiómero menos retido: R(-)Cetoprofeno; enantiómero mais retido: S(+).Cetoprofeno.

6.2.2 Determinação experimental de isotérmicas de adsorção multicomponente e sua modelização

As isotérmicas de equilíbrio de adsorção da mistura racémica de cetoprofeno foram determinadas experimentalmente, na coluna SMB, utilizando o método de adsorção-dessorção (Nicoud e Seidel-Morgenstern, 1993), descrito no capítulo da metodologia experimental. Foram utilizados 7 valores diferentes para a concentração de alimentação na gama compreendida entre 1 e 20 g/L para o sistema C10 e entre 1 e 40 g/L para o sistema C100 (soma das concentrações dos dois enantiómeros). Após a determinação experimental e utilizando o método de Levenberg-Marquardt (Garbow *et al.*, 1980) ajustaram-se os 4 modelos de isotérmicas mais comuns em cromatografia líquida multicomponente e que foram previamente apresentados no capítulo 3 (modelos LG3, LLG4, LLG5 e BLG6). Na Tabela 6.1 são apresentados os resultados numéricos obtidos no ajuste a cada um dos modelos e para os dois sistemas (C10 e C100). Refira-se

que não se apresentam os parâmetros referentes ao ajuste obtido com o modelo BLG6, uma vez que, apesar de se obter convergência, os parâmetros correspondentes não possuíam qualquer significado físico.

Tabela 6.1 Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do cetoprofeno, na coluna “SMB”, para uma temperatura de 23°C, nas duas composições de fase móvel. M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q, b_1 , e b_2 são os parâmetros estimados para os três modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.

10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (Sistema C10)									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	14	3	-	-	101.3	4.191×10^{-2}	4.632×10^{-2}	5.124	0.6825
LLG4		4	1.646		18.68	2.241×10^{-1}	2.928×10^{-1}	0.7537	0.2745
LLG5		5	1.700	1.465	20.63	1.725×10^{-1}	2.707×10^{-1}	0.1969	0.1479
100%etanol/0.01%TFA (Sistema C100)									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	18	3	-	-	113.0	6.936×10^{-3}	7.916×10^{-3}	0.7332	0.2211
LLG4		4	0.6597		9.526	4.329×10^{-2}	7.648×10^{-2}	0.2498	0.1336
LLG5		5	0.6613	0.6680	9.122	4.613×10^{-2}	7.981×10^{-2}	0.2490	0.1384

Analisando os parâmetros apresentados na Tabela 6.1, pode verificar-se que para o sistema C10 o modelo LLG5 é aquele que melhor descreve o comportamento dos valores experimentais, já que apresenta menor valor de SQ e SD. Para o sistema C100, o modelo LLG5 continua a ser o que melhor ajusta os valores experimentais utilizando o parâmetro SQ como critério de comparação. Contudo, verifica-se que quando se comparam os valores de SD dos três modelos apresentados, o modelo LLG4 é o que ajusta melhor. Apesar disso, pode verificar-se que a diferença entre os modelos LLG4 e LLG5 é muito pouco significativa (apenas diferem na 3ª casa decimal). De forma a poder-se comparar os dois sistemas de uma forma coerente, decidiu utilizar-se o modelo LLG5 para ambos.

A representação gráfica das isotérmicas de equilíbrio de adsorção, para ambos os sistemas é apresentada na Figura 6.3.

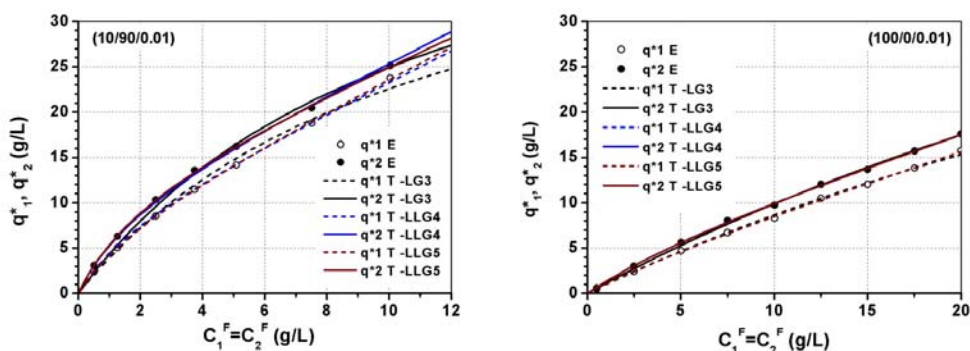


Figura 6.3 Comparação entre modelos e resultados experimentais das isotérmicas de adsorção obtidas na coluna “SMB”. À esquerda: sistema C10 e à direita: sistema C100, a uma temperatura de 23°C. Utilizam-se os três modelos estudados; Linha preta: Langmuir (LG3), Linha azul: linear+Langmuir (LLG4), Linha vermelha: linear+Langmuir modificado (LLG5). Círculos abertos e linhas a tracejado para as concentrações experimentais e modelos do enantiómero menos retido; círculos fechados e linhas sólidas para as concentrações experimentais e modelos do enantiómero mais retido.

Verifica-se que para o sistema C10, o modelo LG3 não descreve satisfatoriamente o comportamento dos valores experimentais. Este facto pode ser confirmado pelo valor de $SQ=5.124$ ou $SD=0.6825$ (ver Tabela 6.1), exageradamente elevados comparativamente com os outros dois modelos. Os modelos LLG4 e LLG5 são muito semelhantes, apesar do modelo LLG5 ser aquele que possui o melhor ajuste. Em relação ao sistema C100, verifica-se que todos os três modelos descrevem bem o comportamento dos valores experimentais. Comparando as duas composições de fase móvel verifica-se que o sistema C100 permite obter valores de capacidade de saturação bastante mais elevados.

Na Figura 6.4 apresentam-se os valores experimentais de selectividade e a sua previsão para os dois sistemas e utilizando os três modelos de isotérmicas de equilíbrio de adsorção considerados. A interpretação dos resultados apresentados nesta figura permite uma vez mais confirmar a forte dependência da selectividade com a concentração da mistura racémica. Existe uma diminuição significativa do valor de selectividade com o aumento da concentração de alimentação. Pode verificar-se que para o sistema C10 apenas o modelo LLG5 é aquele que descreve bem o comportamento dos valores experimentais, enquanto

para o sistema C100 ambos os modelos LLG4 e LLG5 descrevem satisfatoriamente esse comportamento.

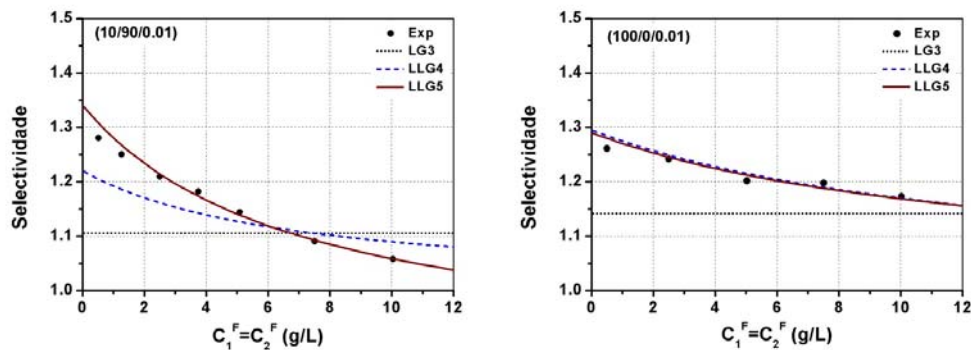


Figura 6.4 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) de selectividade para mistura racémica de cetoprofeno na coluna “SMB”, em duas fases móveis distintas. À esquerda: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e à direita: 100%etanol/0.01%TFA. Modelo Langmuir (LG3): linha pontuada, linear+Langmuir (LLG4): linha tracejada e linear+Langmuir modificado (LLG5): Linha sólida.

Como exemplo, para o sistema C10 e para uma concentração de alimentação (soma das concentrações de ambos os enantiómeros) de 1 g/L, verifica-se uma diminuição do valor de selectividade de $\alpha=1.28$ para $\alpha=1.06$ para uma concentração de alimentação de 10 g/L. Para o sistema C100, apesar de o valor ser ligeiramente mais baixo para uma concentração de 1 g/L ($\alpha=1.26$), o valor de selectividade é superior ($\alpha=1.17$) para a concentração de 10 g/L (zona de concentrações mais importante em termos preparativos). Em conclusão, estes dados permitem prever que o sistema C100 seja mais vantajoso do ponto de vista de cromatografia líquida preparativa, já que para além de permitir menores tempos de retenção, maiores valores de solubilidade, permitem igualmente valores de selectividade elevados em condições de cromatografia não-linear.

Finalmente, na Figura 6.5, realiza-se a comparação entre o comportamento de adsorção da mistura racémica de cetoprofeno obtido com uma coluna de dimensões analíticas (coluna 2, designada por “leito fixo”) com o comportamento obtido com uma coluna de dimensões preparativas (coluna 3, designada por “SMB”). Na coluna “leito fixo”, utiliza-se o modelo de isotérmica de adsorção bi-

Langmuir (ver capítulo 4), na coluna "SMB", utiliza-se o modelo linear+Langmuir modificado.

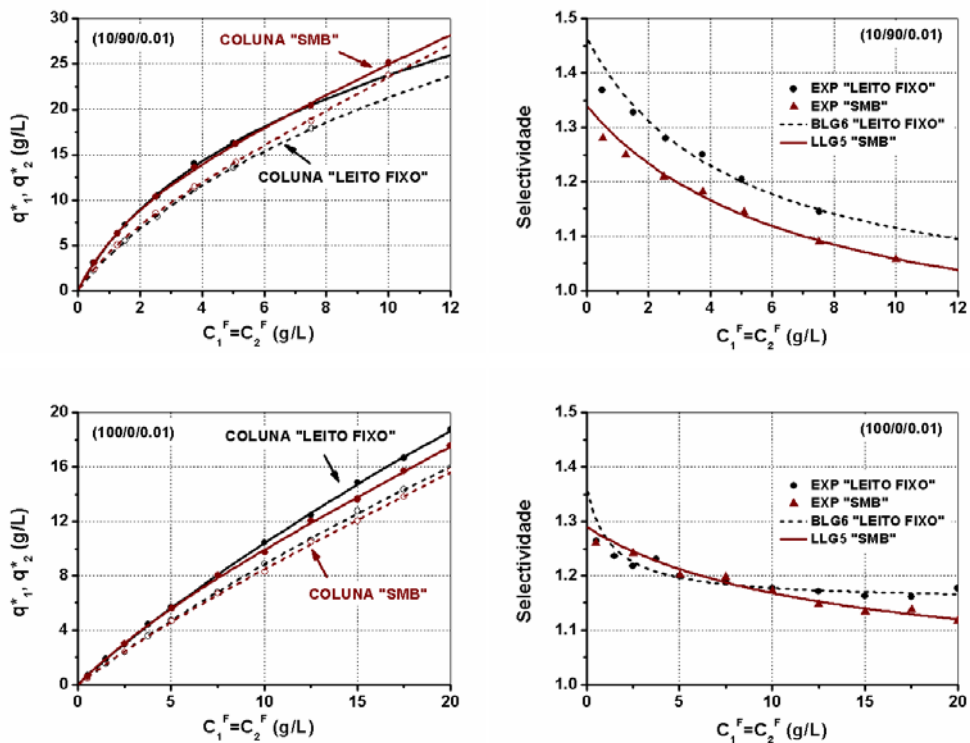


Figura 6.5 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) das isotérmicas de equilíbrio de adsorção (à esquerda) e das selectividades (à direita), para a mistura racémica de cetoprofeno em duas fases móveis distintas e a uma temperatura de 23°C. Em cima: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e em baixo: 100%etanol/0.01%TFA. Em ambas as fase móveis utiliza-se o modelo bi-Langmuir para a coluna PREP e o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para a coluna "SMB".

Comparando os resultados obtidos nas duas colunas para a fase móvel fortemente apolar (10/90/0.01) verifica-se que a coluna "SMB" permite obter valores de capacidade de saturação ligeiramente superiores apenas a partir de uma concentração de mistura racémica de 10 g/L. Abaixo deste valor as capacidades de saturação das colunas são idênticas. Por outro lado, com a coluna "leito fixo" obteram-se valores de selectividade significativamente superiores e em toda a gama de concentrações estudada. Em relação às comparações efectuadas na fase móvel polar (100/0/0.01) verifica-se que até uma

concentração de mistura racémica de cerca 10 g/L, as capacidades das duas colunas são idênticas, situação semelhante à ocorrida com a fase móvel apolar. Contudo a partir desse valor agora é a coluna "leito fixo" que permite valores de saturação superiores, ainda que apenas de uma forma ligeira. Finalmente, em relação à comparação dos valores de selectividade, verifica-se que ambas as colunas permitem valores muito idênticos até uma concentração de alimentação de aproximadamente 20 g/L, a partir do qual a coluna "leito fixo" permite valores de selectividade superiores.

6.2.3 Experiências de cromatografia frontal e sua modelização

Para se confirmar que o modelo escolhido (modelo LLG5) traduz bem o comportamento de adsorção em leito fixo, realizaram-se experiências de cromatografia frontal na coluna "SMB" e fez-se a sua comparação com o comportamento previsto pelo modelo de isotérmica de adsorção.

Na modelização efectuada utilizou-se o modelo de força motriz linear (LDF). Como já foi referido no capítulo 3, este modelo considera que as partículas de adsorvente são homogéneas, o escoamento na coluna é caracterizado por um termo convectivo e um termo dispersivo e a resistência à transferência de massa na partícula de adsorvente, é descrita por um modelo de força motriz linear. Para a simulação do comportamento de adsorção em leito fixo utilizando o modelo referido torna-se necessário fornecer estimativas iniciais para os valores de Peclet (Pe) e do coeficiente de resistência à transferência de massa (k).

O ajuste do valor de Peclet foi realizado através de experiências de cromatografia frontal utilizando um composto não retido (1,3,5-tri-*tert*-butylbenzeno) com uma concentração de 10 g/L, nas duas composições de fase móvel. Esses resultados apresentam-se nas Figuras 6.6 e 6.7, para as composições de fase móvel 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e 100%etanol/0.01%TFA, respectivamente. Ajustou-se um valor de Peclet igual ($Pe=2500$) para ambas as fases móveis. Com estas experiências determinou-se também o valor de porosidade total (ε_T) para ambas as fases móveis: $\varepsilon_T=0.69$ para a fase móvel com elevado teor de alceno e $\varepsilon_T=0.71$ para fase móvel polar.

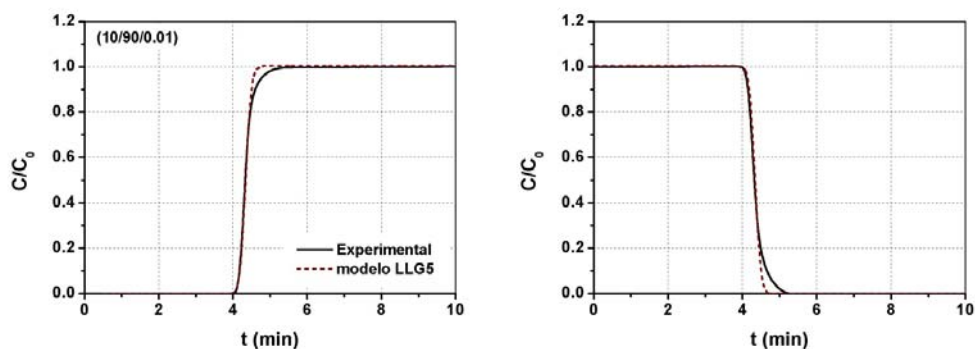


Figura 6.6 Curvas de saturação (adsorção, à esquerda) e regeneração (dessorção, à direita) na coluna “SMB”, para uma concentração total de 10 g/L de um composto não retido, a uma temperatura de 23°C. Comparação entre a previsão obtida com o modelo LLG5 (linha tracejada) e os valores experimentais (linha sólida) para uma fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. ($\varepsilon_T=0.69$; $Pe=2500$; $Q=5$ mL/min)

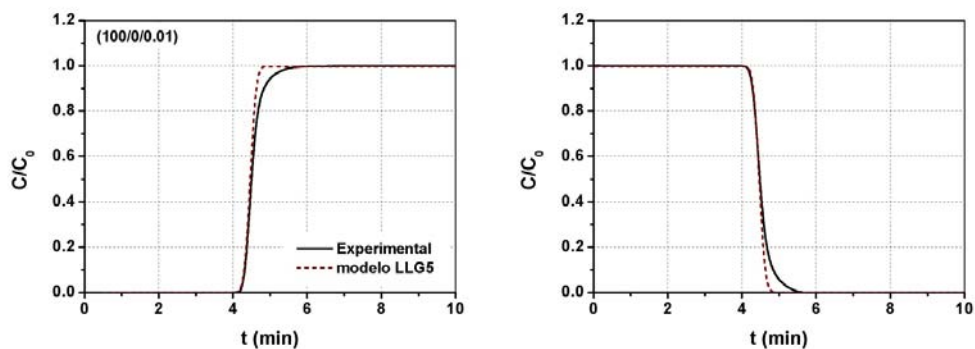


Figura 6.7 Curvas de saturação (adsorção, à esquerda) e regeneração (dessorção, à direita) na coluna “SMB”, para uma concentração total de 10 g/L de um composto não retido, a uma temperatura de 23°C. Comparação entre a previsão obtida com o modelo LLG5 (linha tracejada) e os valores experimentais (linha sólida) para uma fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA. ($\varepsilon_T=0.71$; $Pe=2500$; $Q=5$ mL/min)

As diferenças observadas entre o modelo e os valores experimentais, registadas tanto no passo de saturação como no de regeneração, nas Figuras 6.6 e 6.7, poderão ser justificadas pela existência de um pequeno volume morto na coluna cromatográfica.

O valor do coeficiente de resistência à transferência de massa foi ajustado através de um processo de “tentativa e erro” de forma a ajustar o modelo aos pontos experimentais resultantes das experiências realizadas com a mistura racémica de cetoprofeno em ambas as composições de fase móvel. A previsão do comportamento em leito fixo é realizada através da resolução do sistema de equações às derivadas parciais (Sincovec e Madsen, 1979), com modelo de força motriz linear (LDF) no qual se utiliza o modelo LLG5 para caracterizar a cinética na partícula. As medições experimentais foram realizadas utilizando uma mistura racémica de cetoprofeno com uma concentração de 20 g/L, considerada suficientemente elevada para caracterizar a região não-linear, a mais importante em termos preparativos. Recuperaram-se e analisaram-se várias amostras a tempos diferentes nos passos de saturação e de regeneração. Os resultados obtidos, para os sistemas C10 e C100, assim como as respectivas previsões obtidas com os respectivos modelos, estão representados nas Figura 6.8 e 6.9.

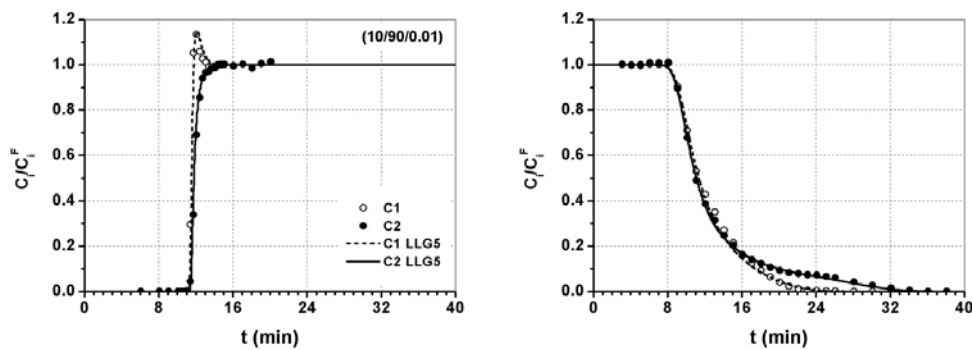


Figura 6.8 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção) na coluna “SMB”, para uma solução de alimentação de 20.01 g/L da mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.3\text{ s}^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5\text{ mL/min}$)

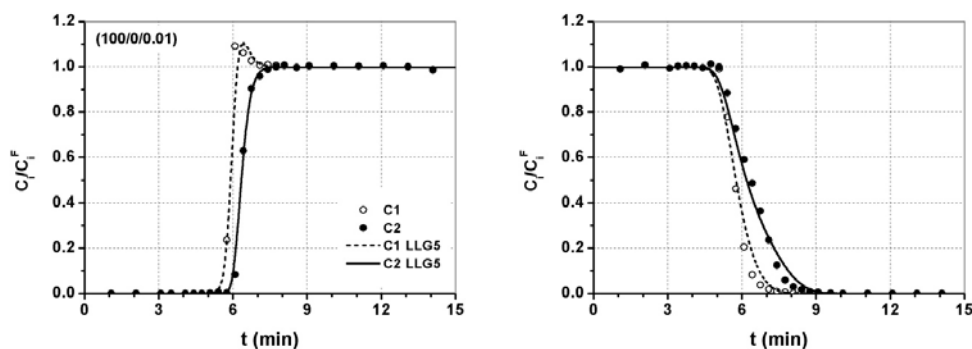


Figura 6.9 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção) na coluna “SMB”, para uma solução de alimentação de 20.08 g/L da mistura racêmica de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 100%etanol/0.01%TFA. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiômero menos retido e círculos fechados para o enantiômero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6 \text{ s}^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5 \text{ mL/min}$)

Comparando os valores experimentais com o comportamento de adsorção previsto pelo modelo LLG5 em leito fixo, verifica-se que existe uma boa concordância utilizando qualquer das duas composições de eluente. O valor de Peclet ajustado foi de $Pe=2500$ para ambos os sistemas, enquanto que o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa ajustado para a composição 100/0/0.01 foi de $k_1=k_2=0.6 \text{ s}^{-1}$ e de $k_1=k_2=0.3 \text{ s}^{-1}$ para a composição 10/90/0.01.

Foram realizadas simulações em que se verificou que a utilização de valores de k diferentes para cada enantiômero não conduz a diferenças significativas entre os dois valores, pelo que se decidiu utilizar o mesmo valor para ambos. Refira-se que foram também realizadas estimativas dos valores de Pe e k utilizando correlações (*apresentadas no Anexo D*). Contudo, os valores estimados são significativamente diferentes ($k_1=5.4 \text{ s}^{-1}/k_2=4.2 \text{ s}^{-1}$ para o sistema “C100” e $k_1=3.5 \text{ s}^{-1}/k_2=2.6 \text{ s}^{-1}$ para o sistema “C10”) dos valores experimentais tendo-se optado por utilizar os valores experimentais.

Depois das experiências de cromatografia frontal e do ajuste dos valores de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa, realiza-se uma previsão do processo de separação por cromatografia líquida preparativa,

recorrendo à tecnologia de leito móvel simulado. Este estudo, prévio à separação propriamente dita, serve para realizar a selecção final da composição do eluente, através de uma comparação dos valores de desempenho obtidos para cada composição.

6.2.4 Previsão do desempenho de separação à escala preparativa

Adoptando a metodologia descrita no capítulo 3, realiza-se uma comparação entre a previsão do desempenho de separação dos enantiómeros de cetoprofeno para os dois sistemas referidos (C10 e C100). Utilizam-se três modelos: o modelo da Teoria de Equilíbrio (TE) que despreza os efeitos de dispersão axial e de resistência à transferência de massa; o modelo de Leito Móvel Verdadeiro (TMB) que considera os dois efeitos referidos e ainda o fluxo em contracorrente entre as fases móvel e estacionária (modelo ideal); por fim, modelo de Leito Móvel Simulado (SMB) que representa a situação mais real uma vez que considera as mudanças periódicas das correntes de entrada e de saída da unidade de separação preparativa.

Utilizando estes três modelos, realizaram-se várias simulações para determinar previsões das regiões de separação, dos parâmetros de produtividade e do consumo de solvente. Este estudo, à semelhança do que foi apresentado nas secções anteriores, é feito de uma forma comparativa entre as duas composições da fase móvel. Uma explicação mais detalhada sobre as simulações realizadas utilizando os três modelos pode ser consultada no capítulo 3. Na Tabela 6.2, apresentam-se as condições operatórias, assim como os parâmetros utilizados nos três modelos.

Como já foi referido no capítulo 3, estas simulações baseiam-se num valor máximo de caudal na secção I de 30 mL/min para a composição de eluente de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (sistema C10) e de 20 mL/min para a composição de eluente de 100%etanol/0.01%TFA (sistema C100). Este procedimento tem como fundamento principal o facto de se pretender utilizar quedas de pressão semelhantes dentro da unidade de SMB para as duas composições de eluente. Desta forma, a comparação entre o desempenho do

processo de separação será feita em condições de quedas de pressão internas semelhantes (cerca de 35 bar).

Tabela 6.2 Condições operatórias e parâmetros utilizados nos modelos Teoria de Equilíbrio (TE), Leito Móvel Verdadeiro (TMB) e Leito Móvel Simulado (SMB) para determinar as regiões de separação dos enantiômeros de cetoprofeno, em duas composições de fase móvel diferentes.

Fase Móvel: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (Sistema C10)	
Condições Operatórias:	
Dc = 2.0 cm; Lc = 10.0 cm	
Configuração clássica: [1,2,2,1]	
Concentração da mistura racémica: 2, 20 e 40 g/L	
Caudal máximo na secção I: 30 mL/min	
Razão entre volume de sólido/volume de líquido = $(1 - \varepsilon)/\varepsilon = 1.5$	
Margem de segurança: 25% ($\beta = 1.25$)	
Parâmetros do Modelo TE	Parâmetros dos Modelos TMB e SMB
Modelo de isotérmica: LLG4	Modelo de isotérmica: LLG5
Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 13.342$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 6.999$	Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 13.218$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 6.310$
Pureza: 100%	Critério de pureza: PUX, PUR \geq 99.0%
Número de Peclet: $Pe \rightarrow \infty$	Número de Peclet: $Pe = 2500$
Coef. de resist. à transferência de massa: $k \rightarrow \infty$	Coef. de resist. à transferência de massa: $k = 0.3 \text{ s}^{-1}$
	Tempo de rotação, $t^* = 357.3 \text{ s}$
Fase Móvel: 100%etanol/0.01%TFA (Sistema C100)	
Dc = 2.0 cm; Lc = 10.0 cm	
Configuração clássica: [1,2,2,1]	
Concentração da mistura racémica: 2, 20 e 40 g/L	
Caudal máximo na secção I: 20 mL/min	
Razão entre volume de sólido/volume de líquido = $(1 - \varepsilon)/\varepsilon = 1.5$	
Margem de segurança: 25% ($\beta = 1.25$)	
Parâmetros do Modelo TE	Parâmetros dos Modelos TMB e SMB
Modelo de isotérmica: LLG4	Modelo de isotérmica: LLG5
Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 2.603$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 1.286$	Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 2.618$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 1.299$
Pureza: 100%	Critério de pureza: PUX, PUR \geq 99.0%
Número de Peclet: $Pe \rightarrow \infty$	Número de Peclet: $Pe = 2500$
Coef. de resist. à transferência de massa: $k \rightarrow \infty$	Coef. de resist. à transferência de massa: $k = 0.6 \text{ s}^{-1}$
	Tempo de rotação, $t^* = 136.4 \text{ s}$

Utilizando a Teoria de Equilíbrio, o modelo de leito móvel verdadeiro e o modelo de leito móvel simulado, estimam-se as regiões de separação correspondentes à separação da mistura racémica de cetoprofeno. Estas estimativas são realizadas para ambas as composições de eluente, ou seja para ambos os sistemas C10 e C100 e para as concentrações de cetoprofeno na corrente de alimentação de 2, 20 e 40 g/L. A ideia fundamental em utilizar estes três valores diferentes de concentração da corrente de alimentação, baseia-se no facto de experimentalmente se iniciar a separação em condições teoricamente mais favoráveis (concentrações mais baixas) e depois ir progressivamente aumentando o grau de dificuldade ao aumentarmos o valor da concentração alimentada ao sistema SMB.

As regiões de separação estimadas baseiam-se num critério de pureza adoptado de +99.0% (e apresentado na Tabela 6.2) para as correntes de extracto (PUX) e de refinado (PUR). Refira-se que o modelo que utiliza a Teoria de Equilíbrio (TE) define regiões de separação completa, isto é, separações para as quais as duas correntes de saída possuem uma pureza de 100%.

Apresentam-se nas Figuras 6.10 e 6.11, as regiões de separação estimadas para a composição de eluente de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e para a composição de eluente de 100%etanol/0.01%TFA, respectivamente.

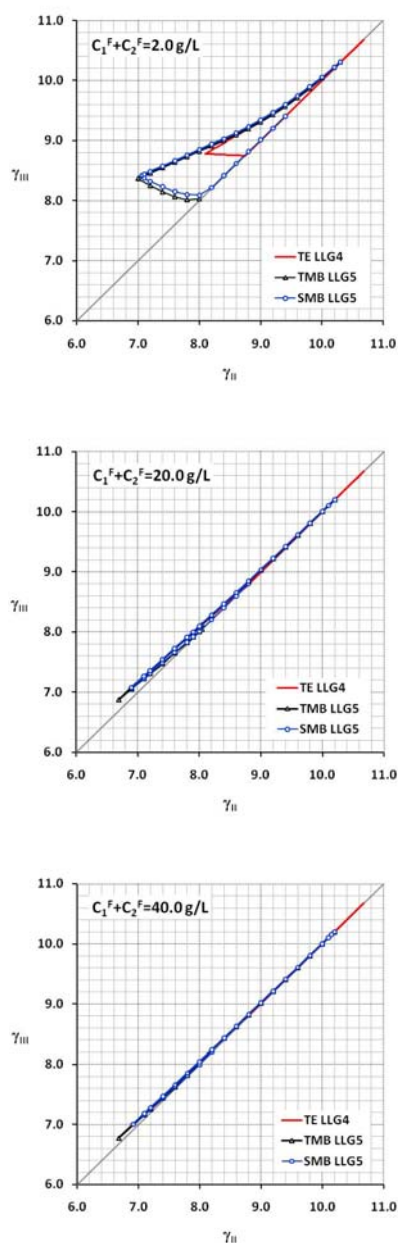


Figura 6.10 Regiões de separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de eluente de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racémica: $C = 2 \text{ g/L}$, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos).

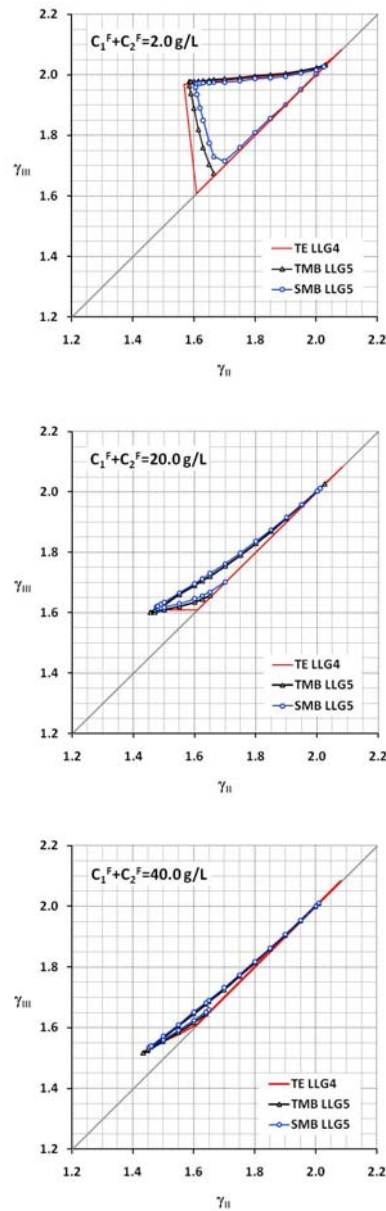


Figura 6.11 Regiões de separação da mistura racêmica de cetoprofeno numa composição de eluente de 100%etanol/0.01%TFA, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racêmica: $C=2 \text{ g/L}$, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leite móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leite móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos).

Teoricamente, seria de esperar que o modelo baseado na TE definisse regiões de separação maiores do que aquelas que são previstas utilizando o modelo TMB ou o modelo SMB. A análise das regiões de separação apresentadas nas Figuras 6.11 para o sistema C10 e na Figura 6.12 para o sistema C100 (para uma concentração de alimentação de 40 g/L) permite verificar exactamente o contrário. Estes resultados devem-se ao facto de que as previsões feitas com a TE utilizam o modelo de isotérmica LLG4 enquanto os modelos TMB e SMB utilizam os modelos de isotérmica LLG5. Consequentemente, as regiões ($\gamma_{II} \times \gamma_{III}$) estimadas com base na TE não são directamente comparáveis com as regiões definidas com os modelos TMB e SMB. Por outro lado, verifica-se que, para os dois sistemas (C10 e C100) as áreas definidas pelo modelo SMB são ligeiramente inferiores às obtidas com o modelo TMB, teoricamente espectável.

O modelo TMB baseia-se no movimento teórico (ideal) em contracorrente do sólido relativamente ao líquido. Por seu lado, o modelo SMB representa o modelo real, em que se simula esse movimento em contracorrente através da alteração do posicionamento físico das correntes de entrada e de saída, em intervalos de tempo discretos. Evidentemente, para a separação do mesmo sistema, as duas áreas aproximam-se quanto mais o processo descontínuo se aproximar do processo contínuo, como por exemplo aumentando-se o número de colunas por secção. De qualquer forma como se pode verificar pelos resultados apresentados na Figuras 6.10 e 6.11, no caso da separação dos enantiómeros de cetoprofeno, as simulações utilizando o modelo TMB e SMB prevêem regiões de separação muito próximas, pelo que pode afirmar-se que são praticamente equivalentes.

Analisando cada sistema separadamente, observa-se uma forte diminuição das áreas obtidas com o aumento da concentração da corrente de alimentação, o que implica maiores dificuldades na separação experimental da mistura racémica devido à redução significativa dos caudais das correntes de entrada e saída. Este fenómeno torna-se crítico para a separação do sistema C10, uma vez que a região de separação para concentrações da corrente de alimentação elevadas (por exemplo 40 g/L), torna-se praticamente coincidente com a diagonal $\gamma_{II} = \gamma_{III}$. Para o sistema C100, apesar de existir também uma diminuição significativa das áreas com o aumento da concentração da mistura racémica, essa diminuição não

é tão forte e, por consequência, a separação passa a ser experimentalmente mais favorável.

Finalmente pode observar-se que as áreas definidas para o sistema C10 se encontram definidas para uma gama de valores entre $\gamma_{II} \times \gamma_{III} = 6.0$ e 11.0 , consideravelmente mais elevados que para o sistema C100, onde a variação é entre os valores 1.2 e 2.2 . Esta diferença explica-se pelo facto de uma fase móvel polar representar de tempos de retenção consideravelmente menores do que os obtidos com uma fase móvel apolar. Como, à escala preparativa, a tempos de retenção menores correspondem ciclos de operação mais curtos, o desempenho do processo de separação preparativo será maior com a utilização de uma fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA.

Estas conclusões são corroboradas com as previsões de consumo de solvente e de produtividade, obtidas utilizando o modelo SMB, e apresentadas na Figura 6.12. Cada ponto nestas curvas corresponde ao vértice do triângulo definido no plano $\gamma_{II} \times \gamma_{III}$ o qual corresponde à distância máxima da diagonal e consequentemente ao valor óptimo em termos de produtividade e de consumo de solvente (Equações 3.109 e 3.110 do capítulo 3).

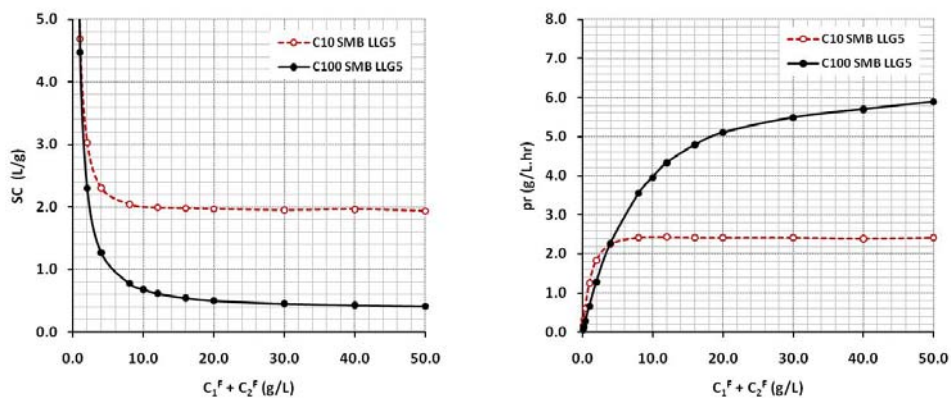


Figura 6.12 Comparação dos valores de consumo de solvente (à esquerda) e produtividade (à direita) da separação dos enantiómeros de cetoprofeno em função da concentração de alimentação, em duas fases móveis de composição diferentes; (sistema C10: 10/90/0.01, linha tracejada e círculos abertos; sistema C100: 100/0/0.01, linha sólida e círculos fechados). A previsão de produtividade é obtida utilizando o modelo SMB (com modelo de isotérmica LIG5).

A diferença de desempenho previsto pelo modelo SMB é bastante significativa. Para uma concentração de alimentação de 50 g/L, a fase polar permite um valor de consumo de solvente (0.4 L/g) cerca de cinco vezes menor do que a fase móvel com elevado teor apolar (2.0 L/g). A diferença das produtividades também é considerável, já que a fase constituída por etanol puro prevê para a mesma concentração de alimentação de 50 g/L um valor de produtividade de 6.0 g/(L.hr) enquanto a fase móvel constituída por apenas 10% de etanol prevê um valor de 2.2 g/(L.hr). Finalmente, pode concluir-se que para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno a fase móvel composta por 100%etanol/0.01%TFA é a que representa condições mais favoráveis sob o ponto de vista preparativo e como tal foi escolhida para a separação utilizando a instalação à escala laboratorial de leito móvel simulado que existe no LSRE (Sá Gomes, 2009 e 2010). Os resultados obtidos são apresentados na secção seguinte.

6.2.5 Separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando a unidade FlexSMB-LSRE®

Para a separação experimental da mistura racémica de cetoprofeno, na instalação à escala laboratorial FlexSMB-LSRE® (ver Figura 6.13) utiliza-se a metodologia previamente apresentada no capítulo 3 (secção 3.7).



Figura 6.13 Pormenor da instalação experimental FlexSMB-LSRE® configurada para operar em modo convencional constituída por 6 colunas: 1 coluna nas secções I e IV e 2 colunas nas secções II e III.

Foram efectuadas separações para concentrações de alimentação de 2, 10, 20 e 40 g/L. Os resultados obtidos encontram-se apresentados nesta secção com a

excepção da concentração de 10 g/L que se encontra apresentada apenas no Anexo E. Na Tabela 6.3 apresenta-se um resumo dos principais valores experimentais obtidos para a separação das misturas racémicas a 2.0, 20.1 e 40.2 g/L utilizando um eluente de 100%etanol/0.01%TFA. Todas as separações foram realizadas utilizando um tempo de rotação de 2.60 min.

Os parâmetros de desempenho apresentados na Tabela 6.3 foram determinados com base na média dos resultados obtidos nos cinco ciclos prévios à recolha dos perfis internos de concentração nas colunas.

Tabela 6.3 Condições operatórias experimentais obtidas na separação de uma mistura racémica de cetoprofeno para as concentrações de alimentação de 2, 20 e 40 g/L, utilizando a instalação de Leito Móvel Simulado.

C₁+C₂=2.0 g/L; T=25°C; 28 ciclos				
Caudais (mL/min)		Pressões locais (bar)	Razões TMB	Parâmetros de desempenho
Operação SMB	Internos SMB			
$Q_E = 9.15$	$Q_I^* = 19.90$	$\Delta P_F = 10$	$\gamma_I = 3.117$	$\bar{C}_2^X = 0.163 \text{ g/L}$
$Q_F = 1.10$	$Q_{II}^* = 13.00$	$\Delta P_E = 26$	$\gamma_{II} = 1.690$	$\bar{C}_1^R = 0.337 \text{ g/L}$
$Q_X = 6.90$	$Q_{III}^* = 14.10$	$\Delta P_{REC} = 27$	$\gamma_{III} = 1.917$	$P_{UX} = 99.6\%$
$Q_R = 3.35$	$Q_{IV}^* = 10.75$	$\Delta P_X = 35$	$\gamma_{IV} = 1.224$	$P_{UR} = 100.0\%$
$Q_{REC} = 10.75$				$SC = 4.61 \text{ L/g}$ $pr = 0.71 \text{ g/(L.hr)}$
C₁+C₂=20.1 g/L; T=24°C; 36 ciclos				
Caudais (mL/min)		Pressões locais (bar)	Razões TMB	Parâmetros de desempenho
Operação SMB	Internos SMB			
$Q_E = 9.14$	$Q_I^* = 19.56$	$\Delta P_F = 8$	$\gamma_I = 3.047$	$\bar{C}_2^X = 0.667 \text{ g/L}$
$Q_F = 0.51$	$Q_{II}^* = 12.45$	$\Delta P_E = 22$	$\gamma_{II} = 1.576$	$\bar{C}_1^R = 1.95 \text{ g/L}$
$Q_X = 7.11$	$Q_{III}^* = 12.96$	$\Delta P_{REC} = 24$	$\gamma_{III} = 1.681$	$P_{UX} = 98.7\%$
$Q_R = 2.54$	$Q_{IV}^* = 10.42$	$\Delta P_X = 36$	$\gamma_{IV} = 1.156$	$P_{UR} = 100.0\%$
$Q_{REC} = 10.42$				$SC = 0.94 \text{ L/g}$ $pr = 3.26 \text{ g/(L.hr)}$
C₁+C₂=40.2 g/L; T=24°C; 42 ciclos				
Caudais (mL/min)		Pressões locais (bar)	Razões TMB	Parâmetros de desempenho
Operação SMB	Internos SMB			
$Q_E = 9.16$	$Q_I^* = 19.13$	$\Delta P_F = 7$	$\gamma_I = 2.958$	$\bar{C}_2^X = 0.756 \text{ g/L}$
$Q_F = 0.30$	$Q_{II}^* = 12.10$	$\Delta P_E = 22$	$\gamma_{II} = 1.504$	$\bar{C}_1^R = 2.45 \text{ g/L}$
$Q_X = 7.03$	$Q_{III}^* = 12.40$	$\Delta P_{REC} = 24$	$\gamma_{III} = 1.566$	$P_{UX} = 98.6\%$
$Q_R = 2.43$	$Q_{IV}^* = 9.97$	$\Delta P_X = 36$	$\gamma_{IV} = 1.063$	$P_{UR} = 99.8\%$
$Q_{REC} = 9.97$				$SC = 0.78 \text{ L/g}$ $pr = 3.84 \text{ g/(L.hr)}$

Nas Figuras 6.14, 6.15 e 6.16 apresenta-se a comparação entre evolução dos pontos experimentais referentes às concentrações dos dois enantiómeros de cetoprofeno nas correntes de refinado e de extracto assim como os perfis internos nas seis colunas no estado estacionário cíclico, para as concentrações de alimentação de 2, 20 e 40 g/L, respectivamente.

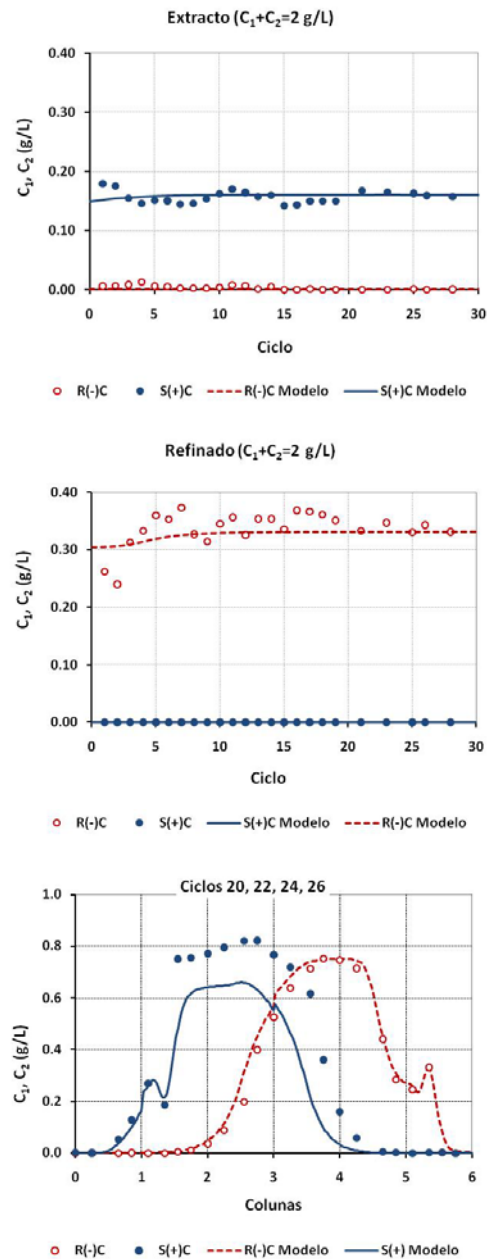


Figura 6.14 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de cetoprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 2 g/L.

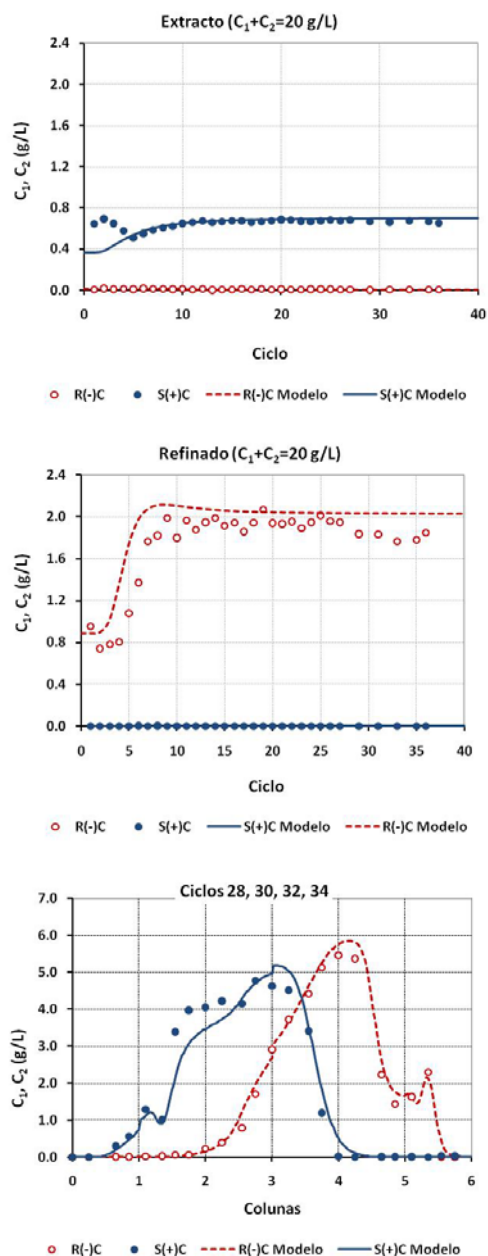


Figura 6.15 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de cetoprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 20 g/L.

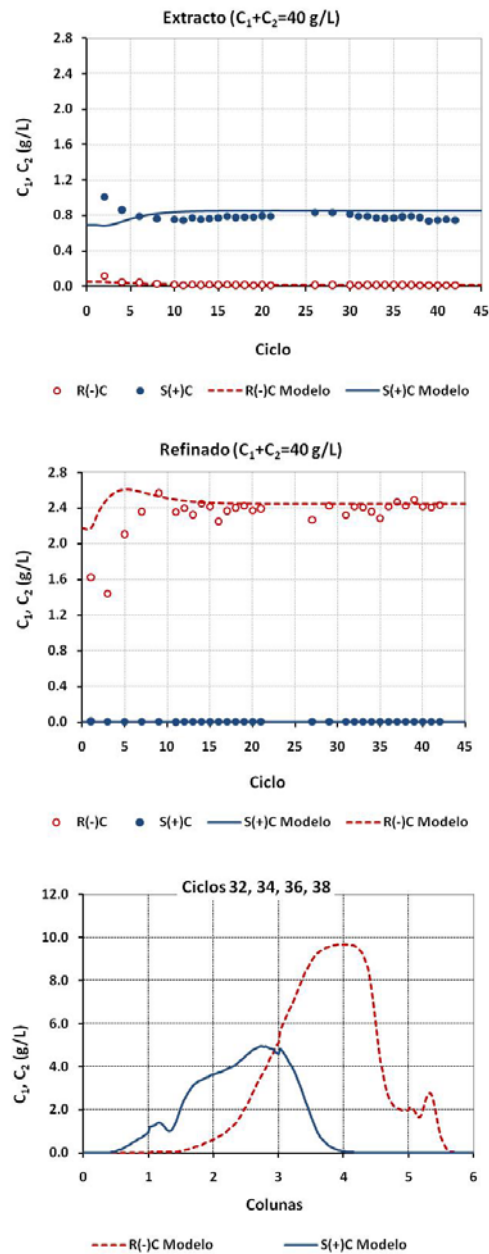


Figura 6.16 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo, apenas perfis) para os dois enantiómeros de cetoprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 40 g/L.

A análise destes resultados revela uma boa concordância entre valores experimentais e a previsão feita com o modelo. Pode observar-se, nos perfis de extracto e de refinado, uma ligeira discrepância nos primeiros 5 ciclos entre pontos experimentais e o modelo. Esta discrepância inicial, geralmente comum a todas as separações realizadas, deve-se ao facto de se ter iniciado a experiência seguinte partindo das condições experimentais finais da separação anterior o que não foi tido em conta nas simulações. No arranque de uma nova separação, foram necessários pelo menos 5 a 10 ciclos sucessivos de forma a ajustar correctamente os valores dos caudais pretendidos/estimados para as correntes de saída e de reciclo. Observa-se ainda na Figura 6.12, nos perfis internos das colunas, uma discrepância entre os valores experimentais e o modelo para o enantiómero mais retido (linha sólida). Esta diferença poder-se-á dever a uma discrepância da isotérmica de adsorção para baixas concentrações.

Refira-se que na Figura 6.16, devido à impossibilidade de se recolheram os perfis internos das colunas no estado estacionário cíclico, apresentam-se apenas os perfis internos previstos pela simulação utilizando o modelo SMB. No anexo E encontram-se resumidos os valores experimentais e principais parâmetros de desempenho obtidos em todas as experiências realizadas para a separação da mistura racémica de cetoprofeno com FlexSMB. Apresentam-se também a localização dos valores experimentais de γ_{III} e γ_{II} comparativamente às regiões de separação previstas com o modelo SMB (previamente apresentadas na secção 6.2.4).

Pela observação dos resultados experimentais verifica-se que à semelhança das previsões efectuadas dos parâmetros de desempenho (ver Figura 6.12) o valor de consumo de solvente diminui e aumenta o valor de produtividade.

6.3 Conclusões

Nas experiências prévias de cromatografia de eluição utilizou-se uma solução com a concentração de 20 g/L de mistura racémica nas duas composições de eluente. Nestas experiências de pulsos, deve considerar-se um compromisso entre tempo de retenção, resolução e solubilidade, uma vez que o objectivo final

consiste em utilizar a fase móvel não para fins analíticos mas para separações em condições preparativas. Por um lado, interessam solubilidades elevadas de forma a aumentar a concentração de alimentação, interessam tempos de retenção reduzidos de forma a diminuir os tempos de ciclo do processo de leito móvel simulado e finalmente que a separação não seja tão baixa que impossibilite a separação mesmo em termos preparativos. Seguindo estes critérios verifica-se que os pulsos obtidos com a composição 100%etanol/0.01%TFA permitem obter previsões de separação da mistura racémica de cetoprofeno mais favoráveis do que a composição 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Estes novos resultados são muito semelhantes aos obtidos nas experiências de eluição realizadas no capítulo 4 e por isso vêm reforçar as conclusões previamente realizadas.

Após a realização de pulsos da mistura racémica utilizando uma solução com concentração elevada, de forma a estabelecer condições não lineares, procedeu-se à determinação experimental das isotérmicas de equilíbrio de adsorção. Tendo-se de seguida realizado a sua modelização fazendo uso dos modelos normalmente utilizados em cromatografia líquida preparativa multicomponente e que foram apresentados no capítulo 3. Do processo de modelização concluiu-se que o modelo LLG5 é aquele que ajusta melhor os resultados experimentais para ambas as composições da fase móvel. Realizou-se uma comparação entre as isotérmicas e os valores de selectividade correspondentes (valores experimentais e respectivos modelos) obtidos com a coluna de dimensões analíticas utilizada no capítulo 4 e os obtidos com a coluna de dimensões preparativas utilizada neste capítulo. Verificou-se desta comparação que a coluna de dimensões preparativas permite valores de capacidade de saturação superiores enquanto a coluna de dimensões analíticas permite valores de selectividade consideravelmente superiores.

A validação do modelo de isotérmica escolhido (modelo linear+Langmuir) foi realizada através de experiências de cromatografia frontal em leito fixo (em condições não lineares) e com a comparação com o comportamento de adsorção descrito pelo modelo LLG5. Nesta parte experimental do trabalho realizam-se inicialmente degraus com um composto não retido utilizando uma concentração de 10 g/L em ambas as composições de eluente. Estes degraus de adsorção-

dessorção de *tracer* foram utilizados para estimar um valor de Peclet de 2500, semelhante em ambas as composições de eluente. Depois utilizando uma mistura racêmica de cetoprofeno a 20 g/L, realizaram-se experiências de cromatografia frontal semelhantes às realizadas com o composto não retido. Neste caso, utilizando o modelo de isotérmica LLG5 e o valor de Peclet ajustado com as experiências com o composto não retido, procurou estimar-se o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa fazendo coincidir o modelo com os pontos experimentais. Para a fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA estimou-se um valor de $k=0.6s^{-1}$ e para a fase móvel 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA estimou-se um valor de $k=0.3s^{-1}$. Em ambos os casos considerou-se que o valor de k seria igual para ambos os enantiômeros ($k=k_1=k_2$). Após este processo de ajuste, verificou-se a utilização do modelo de isotérmica de adsorção LLG5 juntamente com os parâmetros de $Pe=2500$ e $k=0.6s^{-1}$ para o sistema C100, e $k=0.3s^{-1}$ para o sistema C10 os quais traduzem de uma forma bastante boa o comportamento experimental observado.

Antes da realização experimental da separação da mistura racêmica de cetoprofeno é necessário escolher definitivamente a composição do eluente a utilizar na instalação laboratorial. Esta decisão é tomada analisando as conclusões retiradas das experiências de eluição, de cromatografia em leito fixo e ainda através as estimativas das regiões de separação e dos principais parâmetros de desempenho do processo de separação preparativo o qual utiliza a tecnologia de leito móvel simulado. As previsões são realizadas utilizando três modelos de complexidade crescente: modelo TE, modelo TMB e modelo SMB. O modelo SMB é aquele que permite obter resultados de simulação que melhor traduzem o comportamento global de adsorção, uma vez que é o único que considera os efeitos de dispersão, de resistência à transferência de massa e a natureza discreta do movimento das correntes de entrada e de saída da unidade de SMB. Das simulações efectuadas pode concluir-se que a composição de 100%etanol/0.01%TFA é aquela que permite operar a instalação laboratorial com condições operatórias mais favoráveis (regiões de separação maiores) assim como permite obter valores estimados de consumo de solvente menores e de produtividade maiores. Deste modo procedeu-se à separação propriamente dita, utilizando a instalação laboratorial FlexSMB-LSRE®. Com a instalação de SMB foi possível separar a mistura racêmica de cetoprofeno utilizando uma concentração

da solução de alimentação de 40.2 g/L. Nesta separação, em termos de valores médios dos primeiros ciclos do estado estacionário cíclico, obtiveram-se purezas de 98.6% e de 99.8% para as correntes de extracto e de refinado, respectivamente. A produtividade obtida foi de 3.84 g/(L.hr) com um consumo de solvente de 0.78 L/g. Nesta experiência considerou-se que se atingiu o estado estacionário cíclico após se terem realizado 31 ciclos completos.

Por fim pode referir-se que como complemento à separação preparativa seria útil realizar um estudo relativo à purificação final das correntes de refinado e de extracto (acoplando o processo com um sistema de cristalização, por exemplo) e de forma a recuperar e reciclar o solvente utilizado. Deste modo, todo o processo de separação tornar-se-ia mais eficiente e por isso economicamente mais rentável. O facto de se utilizar uma fase móvel constituída por 100%etanol/0.01%TFA torna este processo posterior bastante mais simples do que se fosse utilizado um eluente constituído por uma mistura de dois ou mais solventes.

6.4 Referências

Garbow, B.; Hillstrom, K.; More, J.; MINPACK subroutine LMDER, double precision version, Argonne National Laboratory, March 1980, disponível em "Netlib Repository at UTK and ORNL", (<http://www.netlib.org/minpack/>).

Park, T.; Yoon, T.; Kim, I.; "In Vitro" Simplist determination of operation parameters for simulated moving bed (SMB) chromatography for the separation of ketoprofen enantiomer", **Biotechnol. Bioprocess Eng.** 10 (2005) 341-345.

Khattabi, S.; Cox, G.; Ferraro, J.; Lee, J.; Maier, N.; "Enantioseparation of Ketoprofen on CHIRALPACK® AD® by SMB: Experimental Determination of "Best" Mobile Phase", Chiral Technologies Inc., West Chester, USA; Presented on 22nd International Symposium on Preparative and Process Chromatography, **PREP 2009**, Philadelphia, PA, USA, July 19-22 (2009).

- Nicoud, R.; Seidel-Morgenstern, A.; "Adsorption Isotherms: Experimental Determination and application to preparative chromatography" in "Simulated Moving Bed: Basics and Applications", **Institut National Polytechnique de Lorraine**, Nancy, France (1993) 4-34.
- Ribeiro, A.; Graça, N.; Pais, L.; Rodrigues, A. "Preparative separation of ketoprofen enantiomers: Choice of mobile phase composition and measurement of competitive adsorption isotherms", **Sep. Purif. Technol.** 61 (2008) 375-383.
- Ribeiro, A.; Graça, N.; Pais, L.; Rodrigues, A. "Optimization of the mobile phase composition for preparative chiral separation of flurbiprofen enantiomers", **Sep. Purif. Technol.** 68 (2009) 9-23.
- Sá Gomes, P.; "Advances in Simulated Moving Bed: New Operating Modes; New Design Methodologies; and Product (FlexSMB-LSRE[®]) Development", **PhD Thesis**, University of Porto, 2009.
- Sá Gomes, P.; Zabkova, M.; Zabka, M.; Minceva, M.; Rodrigues, A.; "Separation of Chiral Mixtures in Real SMB Units: The FlexSMB-LSRE[®]", **AIChE J.** 56(1) (2010) 125-142.
- Sincovec, F.; Madsen, K.; "Algorithm 540. PDECOL, general collocation software for partial differential equation", **ACTM Trans. Math. Softw.** 5 (1979) 326-351.
- Yoon, T.; Chung, B.; Kim, I.; "A novel design of simulated moving bed (SMB) chromatography for separation of ketoprofen enantiomer", **Biotechnol. Bioprocess Eng.** 9 (2004) 285-291.

Capítulo 7

Separação Preparativa dos Enantiómeros de Flurbiprofeno: Operação em leito móvel simulado.

No capítulo 5, utilizando uma coluna de dimensões analíticas, de entre vários solventes e misturas de solventes, estudou-se qual a composição da fase móvel mais apropriada para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno por cromatografia líquida preparativa. A fase móvel mais apropriada para a separação quiral é uma mistura constituída por 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA.

Neste capítulo 7, pretende verificar-se se a escolha da composição da fase móvel continua válida no caso de se utilizar o mesmo tipo de enchimento mas agora colocado-o numa coluna de dimensões preparativas. Por outro lado, a previsão do desempenho do processo de separação será apresentada utilizando não só o modelo da Teoria de Equilíbrio (TE) mas também outros modelos mais realistas do processo de separação. Esses modelos são o modelo de leito móvel verdadeiro em estado estacionário (TMB) e o modelo de leito móvel simulado em estado transiente (SMB). Deste modo, será possível comparar de uma forma expedita se existem diferenças significativas nas conclusões que se podem retirar quando se utilizam modelos que traduzem condições de adsorção e condições operatórias mais próximas das utilizadas numa unidade real de SMB. Finalmente, utilizando a fase móvel escolhida, realiza-se a separação da mistura racémica de flurbiprofeno numa unidade de SMB à escala laboratorial (o FlexSMB-LSRE®).

O trabalho desenvolvido e apresentado neste capítulo foi apresentado sob a forma de comunicação oral na conferência "13th Symposium on Preparative and Industrial Chromatography and Allied Techniques" (SPICA) que decorreu de 12 a 15 de Setembro de 2010, em Estocolmo, Suécia. Encontra-se igualmente em fase de preparação a sua publicação em revista científica internacional.

7.1 Introdução

Apresentam-se e discutem-se os resultados experimentais obtidos para a separação preparativa dos enantiómeros de flurbiprofeno numa fase móvel com duas composições distintas e experimentalmente opostas em termos de polaridade: a primeira, bastante menos polar, é composta por 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (sistema designado por "F10"); e outra, bastante polar, é composta por 100%etanol/0.01%TFA (sistema designado por "F100"). Esta selecção teve por base as conclusões retiradas nos capítulos 4 e 5, ou seja, a escolha de etanol puro para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno (Ribeiro *et al.*, 2008) e a escolha de uma mistura de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno (Ribeiro *et al.*, 2009).

Analogamente ao apresentado no capítulo 6 para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno, apresentam-se e analisam-se na secção seguinte os resultados obtidos numa coluna preparativa igual às colunas montadas na instalação experimental FlexSMB-LSRE[®] (designada por coluna "SMB" no capítulo 3). Esta coluna (ver Figura 7.1) tem o comprimento de 100 mm, diâmetro interno de 20 mm e um enchimento do tipo Chiralpack AD com um tamanho de partícula de 20 µm.



Figura 7.1 Coluna preparativa "SMB" utilizada nas experiências de cromatografia líquida em leito fixo e leito móvel simulado para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno. (Chiralpack AD 20 µm; 100 mm L x 20 mm ID).

Ao longo do capítulo realizam-se vários estudos comparativos entre os dois sistemas F10 e F100 de forma a evidenciar as vantagens e/ou desvantagens da utilização de uma fase móvel relativamente à outra. Apresentam-se experiências de cromatografia de eluição, utilizando o método de adsorção-dessorção, determinam-se experimentalmente as isotérmicas de adsorção multicomponente

e de seguida efectua-se a escolha dos modelos que melhor descrevem os equilíbrios de adsorção nas duas fases móveis. Os modelos escolhidos são, então, validados pela comparação entre as previsões que realizam do comportamento de adsorção em experiências de cromatografia frontal em leito fixo e os pontos experimentais obtidos pela análise das amostras recolhidas em tempos definidos. Para cada composição de fase móvel, com os valores experimentais obtidos e com o modelo de isotérmica que melhor descreve o comportamento de adsorção, estimam-se os valores de dispersão axial (experiências com um composto não retido) e de resistência à transferência de massa (experiências com a mistura racémica). De seguida, realiza-se uma última comparação entre os dois sistemas (F10 e F100) através da previsão da eficiência do processo de separação à escala preparativa, estimando os valores dos principais parâmetros de desempenho utilizando a tecnologia de leito móvel simulado: regiões de separação, consumo de solvente e produtividade. Finalmente, com a fase móvel escolhida realiza-se a separação experimental da mistura racémica com a instalação experimental recentemente construída no LSRE: o FlexSMB-LSRE® (Sá Gomes, 2009).

Tanto quanto é possível saber, existe apenas publicada uma referência relativa à separação dos enantiómeros de flurbiprofeno por cromatografia líquida preparativa utilizando a tecnologia de leito móvel simulado já referida no capítulo 5 (Huang *et al.*, 2008). A referência é relativa a uma patente para a separação dos enantiómeros de compostos pertencentes à classe dos ácidos carboxílicos e como exemplo apresenta a separação dos enantiómeros do flurbiprofeno. Nesse trabalho, refere-se que após a separação da mistura racémica deve proceder-se à concentração das correntes de extracto e de refinado (utilizando por exemplo técnicas convencionais de evaporação), de forma a evitar a provável reacção de esterificação entre o modificador ácido e o álcool da fase móvel. Os autores referem ser aconselhável a utilização de um álcool terciário, i.e., aqueles nos quais o átomo de carbono está ligado ao grupo hidroxilo está completamente substituído, como sejam o caso do *t*-butanol, 2-metil-2-butanol, 3-metil-3-pentanol e o 2,3-dimetil-2-butanol.

Relativamente a este ponto, deve referir-se que todas as experiências realizadas (pulsos, degraus, determinação de isotérmicas de adsorção e separações em

leito móvel simulado) foram sempre utilizadas soluções preparadas no próprio dia, sendo estas guardadas a 4°C até ao momento da sua utilização. Por este facto, e provavelmente por se ter utilizado uma quantidade de modificador ácido (0.01%TFA) bastante inferior à quantidade referida por outros autores (0.1 a 0.5%TFA), não se observou esterificação em nenhuma das análises efectuadas.

No estudo referido (Huang *et al.*, 2008) realiza-se a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno utilizando um solvente constituído por uma mistura 85/15/0.1 n-hexano/álcool t-butílico/ácido acético (percentagens em volume). Apresenta-se a separação de uma corrente de alimentação com a concentração da mistura racémica de 34.2 g/L utilizando um sistema de leito móvel simulado equipado com 8 colunas (2 colunas por secção) com as dimensões de 100 mm x 4.6 mm e com um enchimento do tipo Chiralpack AD (tamanho de partícula de 20 µm). As purezas finais após concentração das correntes de extracto e de refinado após evaporação do solvente foram de 99% na corrente de extracto (enantiómero R-flurbiprofeno) e de 98% na corrente de refinado (enantiómero S-flurbiprofeno). Esta designação de R-flurbiprofeno como sendo o enantiómero mais retido e de S-flurbiprofeno como sendo o enantiómero menos retido não é concordante com as análises efectuadas com os enantiómeros apresentadas no anexo G.

7.2 Apresentação e análise de resultados

7.2.1 Cromatografia de eluição

No capítulo 4, verificou-se que existem grandes vantagens em utilizar uma fase móvel constituída apenas por etanol puro para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno. Para testar estas conclusões, agora com uma coluna de dimensões bastante superior, realizaram-se experiências de cromatografia de eluição, na coluna "SMB", para os dois sistemas previamente referidos: sistemas F10 e F100. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 7.2.

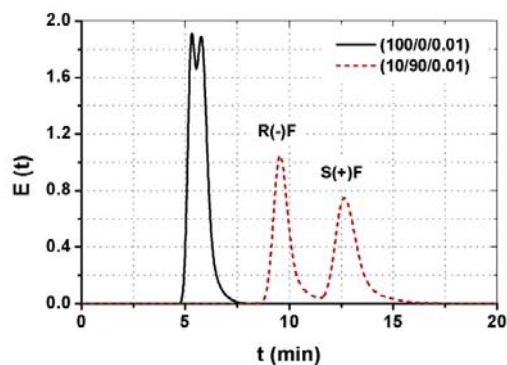


Figura 7.2 Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de flurbiprofeno, na coluna “SMB”, utilizando duas composições de fase móvel diferentes: 100/0/0.01 (Linha sólida) e 10/90/0.01 (Linha tracejada) de etanol/n-hexano/TFA. Concentração da mistura racémica de 20.05 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado 100 μ L. Enantiómero menos retido: R(-)Flurbiprofeno; enantiómero mais retido: S(+)-Flurbiprofeno.

Uma vez mais, os resultados experimentais obtidos, mostram que uma fase móvel fortemente apolar permite uma resolução bastante superior comparada com a resolução obtida quando se utiliza uma fase móvel polar. Por outro lado, uma fase móvel fortemente apolar representa valores de retenção elevados, situação que normalmente prejudica a separação em condições preparativas, uma vez que representa tempos de ciclo mais longos.

A separação cromatográfica obtida com etanol puro, apesar de apresentar uma resolução muito baixa para cromatografia linear (analítica), poderá contudo ser suficiente em cromatografia não-linear (preparativa) e permitir um melhor desempenho do processo de separação. Os resultados obtidos nas experiências de eluição neste capítulo, permitem retirar conclusões semelhantes às obtidas com a coluna de dimensões analíticas, apresentadas no capítulo 4.

7.2.2 Determinação experimental de isotérmicas de adsorção multicomponente e sua modelização

A determinação experimental das isotérmicas de adsorção multicomponente da mistura racémica de flurbiprofeno, na coluna “SMB”, segue o método de adsorção-dessorção (Nicoud e Seidel-Morgenstern, 1993), descrito previamente

no capítulo 3. Utilizaram-se, neste caso, 7 níveis diferentes de concentração da mistura racêmica (soma das concentrações dos dois enantiômeros): 1.5, 3, 5, 7.5, 10, 15 e 20 g/L nas duas composições: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e 100%etanol/0.01%TFA.

Ajustaram-se os resultados experimentais, utilizando o algoritmo de Levenberg-Marquardt (Garbow *et al.*, 1980), a três dos cinco modelos de isotérmicas de adsorção previamente descritos no capítulo 3: modelo Langmuir (LG3), modelo linear+Langmuir (LLG4) e modelo linear+Langmuir modificado (LLG5), Equações 3.3 a 3.5. A utilização do modelo bi-Langmuir (BLG6) não conduziu à obtenção de melhores resultados, apesar de se ter obtido convergência da simulação, os parâmetros estimados (não apresentados) não tinham significado físico. Na Tabela 7.1 são apresentados os resultados numéricos obtidos no ajuste a cada um dos modelos e para as duas fases móveis.

Tabela 7.1 Parâmetros estimados para o modelo das isotérmicas de adsorção do flurbiprofeno, na coluna “SMB”, para uma temperatura de 23°C, nas duas composições de fase móvel. M representa o número de pontos experimentais, N o número de parâmetros estimados, m_1 , m_2 , Q, b_1 , b_2 e b_3 são os parâmetros estimados para os três modelos de isotérmicas de adsorção: LG3 - Langmuir; LLG4 - linear+Langmuir ($m_1=m_2$); LLG5 - linear+Langmuir modificado ($m_1 \neq m_2$); SQ é a soma dos quadrados dos resíduos e SD é o desvio padrão, definidos nas equações (3.7) e (3.8), respectivamente.

10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (Sistema F10)									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	14	3	-	-	113.0	1.699×10^{-2}	2.373×10^{-2}	0.1805	0.1281
LLG4		4	0.5862		52.45	2.521×10^{-2}	4.189×10^{-2}	0.1186	0.1089
LLG5		5	0.2372	3.945×10^{-7}	100.0	1.635×10^{-2}	2.724×10^{-2}	0.09828	0.1045
100%etanol/0.01%TFA (Sistema F100)									
Modelo	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
LG3	14	3	-	-	109.5	7.139×10^{-3}	8.510×10^{-3}	0.03490	0.05633
LLG4		4	0.4752		17.03	1.906×10^{-2}	2.836×10^{-2}	0.03022	0.05497
LLG5		5	0.1760	1.243×10^{-5}	87.09	7.028×10^{-3}	1.085×10^{-2}	0.02941	0.05716

Pela observação dos resultados apresentados na Tabela 7.1, verifica-se que quando se utiliza uma fase móvel de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA, o modelo LLG5 é o modelo que apresenta menor valor de SQ e simultaneamente menor valor de SD. Contudo, com uma fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA o modelo LLG4 é o que apresenta menor valor de SD, apesar de o modelo LLG5 continuar a ser o que apresenta menor valor de SQ. Por uma questão de

coerência na comparação entre os dois sistemas estudados, e uma vez que as diferenças são muito pouco significativas, decidiu utilizar-se sempre o modelo LLG5.

Na Figura 7.3 apresentam-se as comparações entre os valores experimentais e os modelos obtidos para as isotérmicas de adsorção e na Figura 7.4 apresentam-se as comparações entre os valores experimentais de selectividade e respectivos modelos para os sistemas F10 e F100.

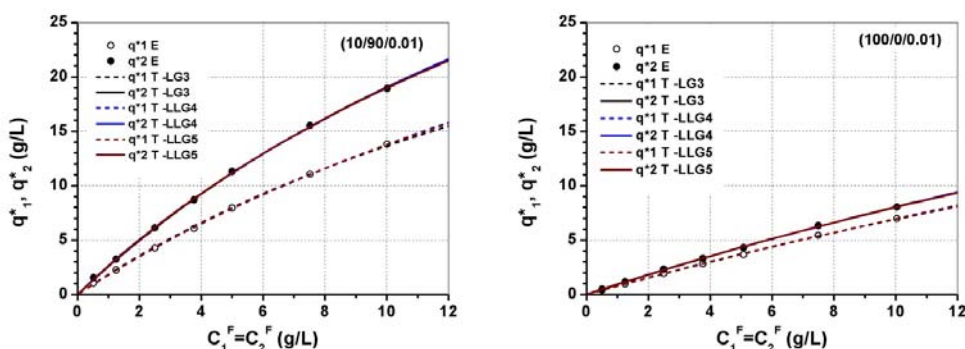


Figura 7.3 Comparação entre modelos e resultados experimentais das isotérmicas de adsorção na coluna “SMB”. À esquerda: sistema F10 e à direita: sistema F100, a uma temperatura de 23°C. Utilizam-se os três modelos estudados; Linha pontuada: Langmuir (LG3), Linha tracejada: linear+Langmuir (LLG4), Linha sólida: linear+Langmuir modificado (LLG5). Círculos abertos para as concentrações experimentais do enantiómero menos retido; círculos fechados para as concentrações experimentais do enantiómero mais retido.

Observando as isotérmicas de adsorção, verifica-se que todos os três modelos descrevem razoavelmente bem o comportamento dos pontos experimentais. Torna-se necessário recorrer aos valores de SQ e SD apresentados na Tabela 7.1 para verificar qual o modelo de isotérmica que melhor descreve o comportamento dos pontos experimentais. Pode verificar-se que o sistema F10 representa valores de capacidade de saturação e de selectividade maiores.

Para uma completa análise dos resultados experimentais obtidos com a coluna preparativa, representam-se na Figura 7.4 as comparações dos valores experimentais de selectividade e a sua previsão utilizando cada um dos modelos para os dois solventes. Destaca-se da observação destes resultados que, à

semelhança do que já tinha sido observado no capítulo 5, existe uma forte dependência da selectividade experimental com o valor da concentração da mistura racémica na alimentação. Observa-se, para ambas as composições de fase móvel, a existência de uma diminuição dos valores de selectividade com o aumento da concentração da alimentação.

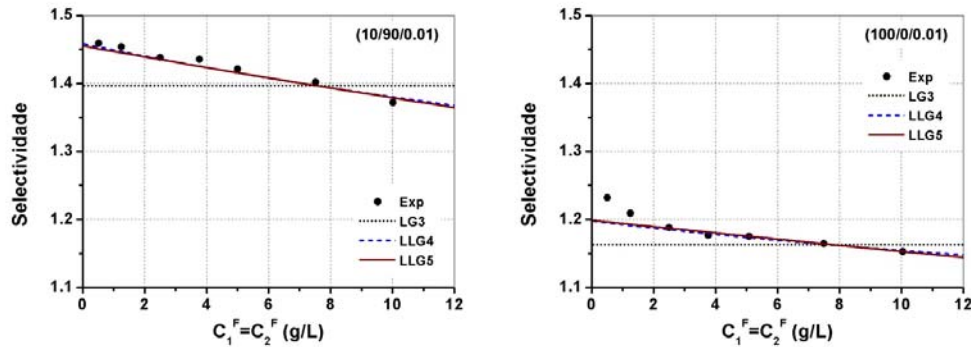


Figura 7.4 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) de selectividade para mistura racémica de flurbiprofeno em duas fases móveis distintas. À esquerda: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e à direita: 100%etanol/0.01%TFA. Modelo Langmuir (LG3): linha pontuada, linear+Langmuir (LLG4): linha tracejada e linear+Langmuir modificado (LLG5): Linha sólida.

A fase móvel com elevado teor em alceno possui uma selectividade bastante superior tanto em condições lineares como em condições preparativas. Por exemplo, para o sistema F10 e com uma concentração de mistura racémica de 0.5 g/L o valor da selectividade experimental é de $\alpha=1.46$ e para uma concentração de mistura racémica de 20 g/L, o valor de selectividade diminui significativamente para $\alpha=1.37$. Para o sistema F100 e com uma concentração de mistura racémica de 0.5 g/L o valor da selectividade experimental é de $\alpha=1.23$ e para uma concentração de mistura racémica de 20 g/L, o valor de selectividade diminui para $\alpha=1.15$. Em termos de isotérmica de adsorção e selectividade, os resultados mostram que a utilização da fase móvel mais apolar é mais vantajosa que a utilização da fase móvel polar.

Concluindo, ao comparar os dois sistemas, pode verificar-se que a utilização de uma fase móvel com um teor elevado de hidrocarboneto apesar de não permitir valores elevados de solubilidade (como foi apresentado no capítulo 5, com uma coluna de dimensões analíticas) e representar tempos de retenção superiores esta composição possibilita a obtenção de valores de selectividade bastante mais elevados para concentrações elevadas.

Na Figura 7.5 apresenta-se uma comparação entre os valores experimentais e respectivos modelos (linear+Langmuir modificado, LLG5, para ambas as colunas) obtidos nas colunas de dimensão analítica e preparativa (coluna "leito fixo" no capítulo 5 e coluna "SMB" no capítulo 7).

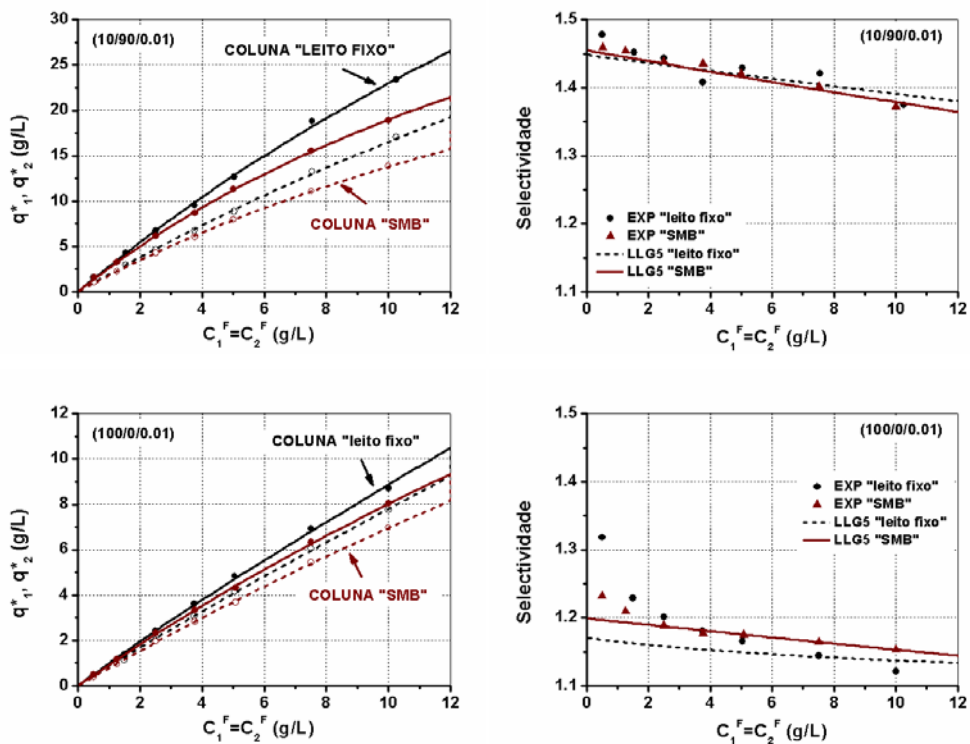


Figura 7.5 Comparação entre modelos (linhas) e valores experimentais (pontos) das isotérmicas de equilíbrio de adsorção (à esquerda) e das selectividades (à direita), para a mistura racémica de flurbiprofeno em duas fases móveis distintas e a uma temperatura de 23°C. Em cima: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e em baixo: 100%etanol/0.01%TFA. Em ambas as fase móveis e para as duas colunas ("leito fixo" e "SMB") utiliza-se o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5).

As experiências de determinação de isotérmicas de adsorção foram realizadas nas colunas "leito fixo" e "SMB" (ver Tabela 3.1), ambas utilizando um enchimento Chiralpack AD com diâmetro de partícula de 20 μm . Seria, assim, expectável que conduzissem aos mesmos valores experimentais de isotérmicas de adsorção. As diferenças observadas poderão ser justificadas por diferenças no enchimento (diferentes lotes) e/ou pela diferença de valores de porosidade interparticular nas duas colunas. Relembre-se que ao longo deste trabalho a porosidade interparticular foi considerada sempre a mesma e igual a $\varepsilon=0.4$ (ver anexo A).

7.2.3 Experiências de cromatografia frontal e sua simulação

A validação do modelo de isotérmica que melhor ajusta os valores experimentais das isotérmicas de adsorção (modelo linear+Langmuir modificado: LLG5) é realizada através de experiências de cromatografia frontal em leito fixo na coluna "SMB".

A metodologia adoptada é a mesma que a utilizada no capítulo anterior. Ou seja, o valor de Peclet foi ajustado através de degraus utilizando um composto não retido. Essas experiências, cujos resultados foram já apresentados no capítulo anterior, permitiram ajustar um valor de Peclet de 2500. De seguida, realizaram-se degraus com a mistura racémica de flurbiprofeno com uma concentração de 20 g/L de forma a simular condições de cromatografia não-linear.

A modelização destas experiências em leito fixo foi realizada utilizando o modelo de força motriz linear. Este modelo, como foi descrito previamente, considera que as partículas de adsorvente como homogéneas, que existe um termo convectivo e outro dispersivo para caracterizar o tipo de escoamento na coluna e ainda que a resistência à transferência de massa é descrita por um modelo de força motriz linear. A simulação é realizada considerando o valor de Peclet ajustado com as experiências de tracer ($Pe=2500$) e fazendo variar o valor do coeficiente de transferência de massa (k) de forma a ajustar o modelo com os pontos experimentais.

Os resultados obtidos após otimização do processo de modelização em leito fixo estão apresentados nas Figuras 7.6 e 7.7 para a composição 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e 100%etanol/0.01%TFA, respectivamente.

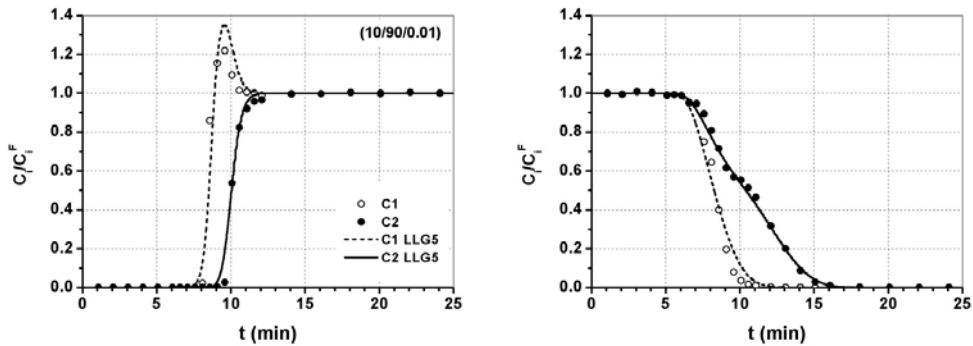


Figura 7.6 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção), na coluna “SMB”, para uma solução de alimentação de 20.02 g/L da mistura racémica de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.3 \text{ s}^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5 \text{ mL/min}$)

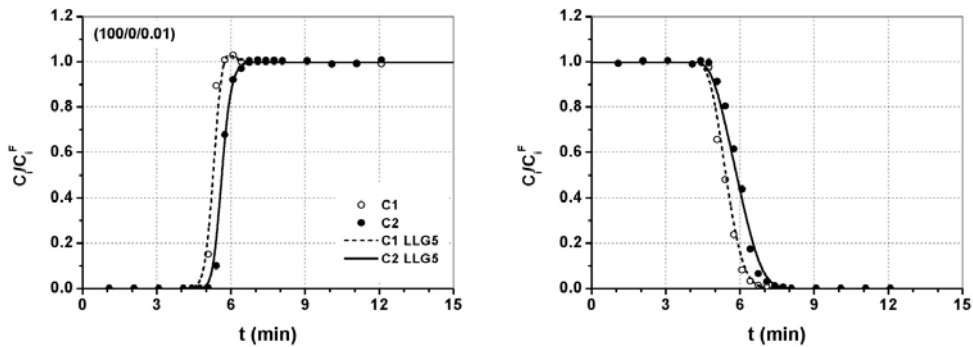


Figura 7.7 Curvas de saturação (adsorção) e de regeneração (dessorção), na coluna “SMB”, para uma solução de alimentação de 20.02 g/L da mistura racémica de flurbiprofeno numa fase móvel com a composição de 100%etanol/0.01%TFA. Comparação entre valores experimentais (pontos) e simulação obtida com o modelo LDF (linhas). Círculos abertos para o enantiómero menos retido e círculos fechados para o enantiómero mais retido. (modelo LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6 \text{ s}^{-1}$; $\varepsilon=0.4$; $Q=5 \text{ mL/min}$)

Analisando os resultados apresentados, verifica-se que o modelo LGG5 descreve bem o comportamento dos resultados experimentais, tanto no passo de saturação como no passo de dessorção, para ambas as composições de fase móvel. Os valores de Peclet e do coeficiente à resistência de massa estimados são iguais aos valores apresentados no capítulo 6. Ou seja, $Pe=2500$ para ambos os sistemas F100 e F10 e $k_1=k_2=0.6 \text{ s}^{-1}$ para o sistema F100 e $k_1=k_2=0.3 \text{ s}^{-1}$ para o sistema F10. Analogamente ao apresentado no capítulo 6, determinaram-se estimativas do valor de Pe e k nas duas fases móveis (ver anexo D). Contudo, os valores encontrados ($k_1=7.6\text{s}^{-1}/k_2=6.4\text{s}^{-1}$ para o sistema "F100" e $k_1=10.2\text{s}^{-1}/k_2=7.0\text{s}^{-1}$ para o sistema "F10") são muito diferentes dos valores experimentais, tendo-se optado por utilizar os valores experimentais.

Finalmente, para se decidir qual a composição de eluente a utilizar, procedeu-se à previsão dos principais parâmetros de desempenho da separação à escala preparativa para os dois sistemas. Este estudo é apresentado na secção seguinte.

7.2.4 Previsão do desempenho da separação à escala preparativa

Analogamente ao que foi apresentado no capítulo 6 para a mistura racémica de cetoprofeno, nesta secção utiliza-se a mesma metodologia na qual se realiza a comparação entre as duas fase móveis descritas ou seja, a separação da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando uma composição de eluente de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (designado por sistema "F10") e a separação da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando uma composição de eluente de 100%etanol/0.01%TFA (designado por sistema "F100").

A previsão do desempenho de separação é realizada utilizando três modelos de complexidade crescente: o modelo da Teoria de Equilíbrio (TE) no qual não se consideram os efeitos de dispersão axial e de resistência à transferência de massa; o modelo de Leito Móvel Verdadeiro (TMB) que considera estes dois efeitos limitadores e ainda a natureza do processo em contracorrente entre as fases móvel e estacionária (modelo ideal); por último, o modelo de Leito Móvel Simulado (SMB) o qual considerando as mudanças periódicas das correntes de entrada e de saída da unidade de separação representa a situação mais real.

Com estes três modelos estimam-se por simulação as regiões de separação a 100% de pureza das correntes de entrada e de saída (modelo TE) ou a +99.0% (modelo TMB e modelo SMB), para três valores de concentração da corrente de alimentação e para ambas as fases móveis. Na Tabela 7.2, apresentam-se os parâmetros utilizados nos três modelos assim como um resumo das principais condições operatórias.

Com já foi referido no capítulo 3 e também no capítulo 6, estas simulações baseiam-se num valor máximo de caudal na secção I de 30 mL/min para o sistema F10 e de 20 mL/min para o sistema F100. Estes valores de caudais internos permite trabalhar com valores de queda de pressão semelhantes (cerca de 35 bar) para os dois sistemas e desta forma a sua comparação torna-se coerente.

Nas Figuras 7.8 e 7.9, representam-se as regiões de separação para os sistemas F10 e F100, respectivamente. Estas previsões foram determinadas pela Teoria de Equilíbrio, pela simulação com o modelo TMB, e pela simulação com o modelo SMB. As regiões de separação são apresentadas para três níveis diferentes de concentração da mistura racémica: região linear ($C=2$ g/L), região intermédia ($C=20$ g/L) e região não-linear ($C=40$ g/L). As regiões (interior dos triângulos) definidas pela Teoria de Equilíbrio (modelo de isotérmica LLG4), definem as condições onde tanto as correntes de extracto como de refinado possuem uma pureza de 100%, e as regiões obtidas pela simulação com os modelos TMB e SMB (modelo de isotérmica LLG5) definem as condições onde as correntes de saída possuem uma pureza de pelo menos 99.0%.

Tabela 7.2 Condições operatórias e parâmetros utilizados nos modelos Teoria de Equilíbrio (TE), Leito Móvel Verdadeiro (TMB) e Leito Móvel Simulado (SMB) para determinar as regiões de separação dos enantiómeros de flurbiprofeno, em duas composições de fase móvel diferentes.

Fase Móvel: 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA (Sistema F10)	
Condições Operatórias:	
Dc = 2.0 cm; Lc = 10.0 cm	
Configuração clássica: [1,2,2,1]	
Concentração da mistura racémica: 2, 20 e 40 g/L	
Caudal máximo na secção I: 30 mL/min	
Razão entre volume de sólido/volume de líquido = $(I - \varepsilon)/\varepsilon = 1.5$	
Margem de segurança: 25% ($\beta = 1.25$)	
Parâmetros do Modelo TE	Parâmetros dos Modelos TMB e SMB
Modelo de isotérmica: LLG4	Modelo de isotérmica: LLG5
Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 4.175$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 2.813$	Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 5.108$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 2.247$
Pureza: 100%	Critério de pureza: PUX, PUR \geq 99.0%
Número de Peclet: $Pe \rightarrow \infty$	Número de Peclet: $Pe = 2500$
Coef. de resist. à transferência de massa: $k \rightarrow \infty$	Coef. de resist. à transferência de massa: $k = 0.3 \text{ s}^{-1}$
	Tempo de rotação, $t^* = 153.5 \text{ s}$
Fase Móvel: 100%etanol/0.01%TFA (Sistema F100)	
Dc = 2.0 cm; Lc = 10.0 cm	
Configuração clássica: [1,2,2,1]	
Concentração da mistura racémica: 2, 20 e 40 g/L	
Caudal máximo na secção I: 20 mL/min	
Razão entre volume de sólido/volume de líquido = $(I - \varepsilon)/\varepsilon = 1.5$	
Margem de segurança: 25% ($\beta = 1.25$)	
Parâmetros do Modelo TE	Parâmetros dos Modelos TMB e SMB
Modelo de isotérmica: LLG4	Modelo de isotérmica: LLG5
Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 1.437$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 1.190$	Valores críticos: $\gamma_I > \gamma_I^{\min} = 1.772$ $\gamma_{IV} < \gamma_{IV}^{\max} = 0.946$
Pureza: 100%	Critério de pureza: PUX, PUR \geq 99.0%
Número de Peclet: $Pe \rightarrow \infty$	Número de Peclet: $Pe = 2500$
Coef. de resist. à transferência de massa: $k \rightarrow \infty$	Coef. de resist. à transferência de massa: $k = 0.6 \text{ s}^{-1}$
	Tempo de rotação, $t^* = 104.5 \text{ s}$

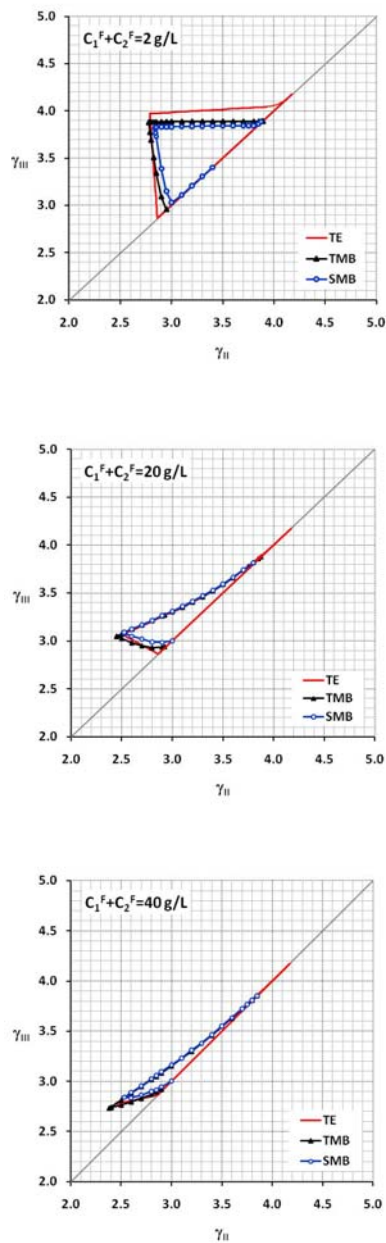


Figura 7.8 Regiões de separação da mistura racêmica de flurbiprofeno numa composição de eluente de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racêmica: $C = 2 \text{ g/L}$, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos).

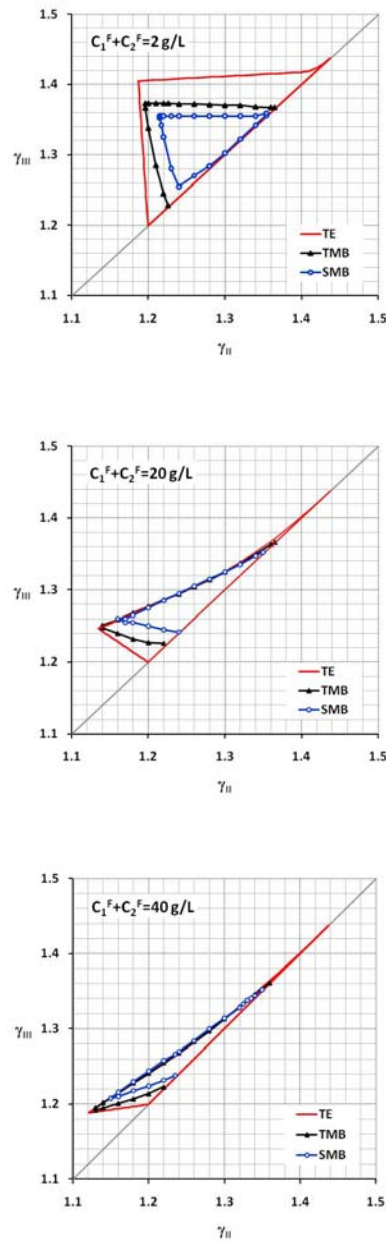


Figura 7.9 Regiões de separação da mistura racêmica de flurbiprofeno numa composição de eluente de 100%etanol/0.01%TFA, utilizando a operação em SMB. Regiões de separação obtidas para três valores de concentração da alimentação da mistura racêmica de flurbiprofeno: $C=2 \text{ g/L}$, 20 g/L e 40 g/L e considerando a teoria de equilíbrio (TE, linha contínua), o modelo de leito móvel verdadeiro (TMB, linha contínua/triângulos) e o modelo de leito móvel simulado (SMB, linha contínua/círculos).

A análise dos resultados apresentados nestas Figuras, permite verificar igualmente uma forte diminuição do tamanho das regiões de separação com o aumento da concentração da alimentação. A região de separação diminui, tornando-se mais estreita e deslocando-se simultaneamente para próximo da diagonal $\gamma_{II}=\gamma_{III}$. Estes resultados permitem observar uma diferença significativa entre os valores dos eixos de $\gamma_{II} \times \gamma_{III}$ para os dois solventes. Para o sistema F10, a gama de valores está compreendida entre 2.5 e 4.5 enquanto para o sistema F100, a gama de valores é bastante mais estreita, estando compreendida entre 1.1 e 1.5. Simultaneamente verifica-se que as regiões de separação se deslocam para uma zona mais para a esquerda e mais para baixo (γ_{II} e γ_{III} inferiores). Este facto deve-se a que, para a fase móvel 10/90/0.01, sejam necessários tempos de retenção significativamente mais elevados do que os necessários com a fase móvel 100/0.01 (γ_{II} e γ_{III} superiores). Este efeito, já observado com a coluna de dimensões analíticas, prejudica fortemente a separação do ponto de vista preparativo, uma vez que provoca uma diminuição da produtividade e um aumento do consumo de solvente.

As observações são confirmadas uma vez mais com os resultados de produtividade e consumo de solvente apresentados na Figura 7.10. Nesta Figura, apresenta-se de uma forma comparativa as previsões dos parâmetros de desempenho para os dois solventes. Estas previsões foram elaboradas utilizando o modelo de SMB e são apresentadas em função do valor da concentração da alimentação da mistura racémica até 50 g/L. Os pontos apresentados são obtidos a partir dos valores do vertex de cada triângulo (maior distância à diagonal, $\gamma_{II}=\gamma_{III}$) que define a região de separação para um dado valor da concentração de alimentação.

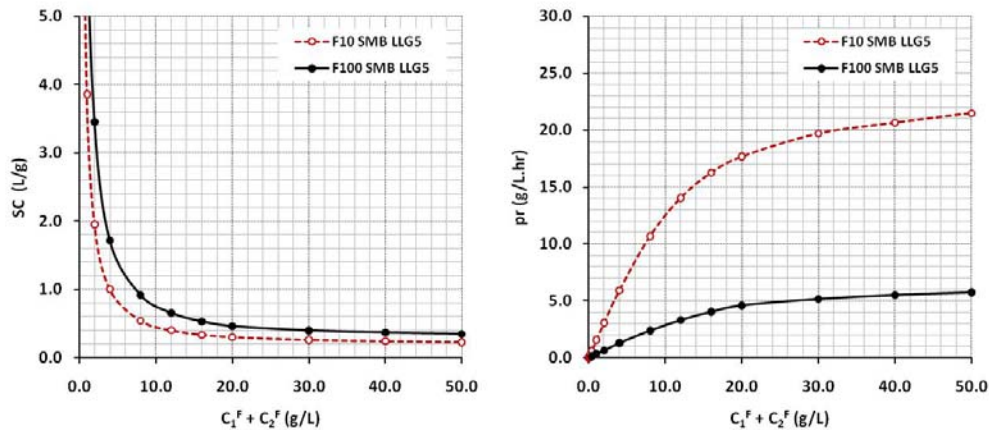


Figura 7.10 Comparação dos valores de consumo de solvente (à esquerda) e produtividade (à direita) da separação dos enantiómeros de flurbiprofeno em função da concentração de alimentação, em duas fases móveis de composição diferentes; (sistema F10: 10/90/0.01, linha tracejada e círculos abertos; sistema F100: 100/0/0.01, linha sólida e círculos fechados). A previsão de produtividade é obtida utilizando o modelo SMB (com modelo de isotérmica LIG5).

Verifica-se que apesar de não existirem grandes diferenças no consumo de solvente, a produtividade prevista para o sistema F10 é significativamente superior à obtida com o sistema F100 (cerca de quatro vezes superior). As regiões de separação para o sistema F10 são também significativamente maiores conduzindo por isso a condições operatórias mais favoráveis para a separação da mistura racémica de flurbiprofeno.

Em conclusão, a fase móvel composta por 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA é a que representa condições mais favoráveis para separação preparativa da mistura racémica de flurbiprofeno. Esta separação foi realizada numa unidade de SMB à escala laboratorial existente no LSRE. Os resultados obtidos são apresentados na secção seguinte.

7.2.4 Separação da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando a unidade FlexSMB-LSRE®

A separação da mistura racémica de flurbiprofeno foi realizada na instalação à escala laboratorial FlexSMB-LSRE® (ver Figura 7.11).



Figura 7.11 Pormenor da instalação experimental FlexSMB-LSRE® configurada para operar em modo convencional constituída por 6 colunas: 1 coluna nas secções I e IV e 2 colunas nas secções II e III.

A metodologia utilizada para iniciar a operação da instalação laboratorial, e para estimar as condições iniciais de operação, encontra-se descrita no capítulo da metodologia experimental (capítulo 3, secção 3.7). A separação é realizada, à semelhança do que foi apresentado na secção anterior, para três valores diferentes de concentração da mistura racémica (2, 20 e 40 g/L).

Na Tabela 7.3 apresentam-se os principais resultados experimentais obtidos para a separação da mistura de flurbiprofeno utilizando três valores distintos para a concentração de alimentação (2.07, 20.1 e 40.0 g/L) e uma composição de eluente de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. As separações foram realizadas utilizando um tempo de rotação de 2.60 min.

Como foi referido no capítulo anterior, os parâmetros de desempenho apresentados na Tabela 7.3 correspondem ao valor médio obtido nos cinco ciclos prévios à recolha dos perfis internos de concentração nas colunas.

Tabela 7.3 Condições operatórias experimentais obtidas na separação de uma mistura racémica de flurbiprofeno para as concentrações de alimentação de 2, 20 e 40 g/L, utilizando a instalação de Leito Móvel Simulado.

C₁+C₂=2.07 g/L; T=23°C; 27 ciclos				
Caudais (mL/min)		Pressões locais (bar)	Razões TMB	Parâmetros de desempenho
Operação SMB	Internos SMB			
$Q_E = 15.83$	$Q_I^* = 30.95$	$\Delta P_F = 17$	$\gamma_I = 5.404$	$\bar{C}_2^X = 0.290$ g/L
$Q_F = 3.23$	$Q_{II}^* = 19.75$	$\Delta P_E = 24$	$\gamma_{II} = 3.086$	$\bar{C}_1^R = 0.418$ g/L
$Q_X = 11.20$	$Q_{III}^* = 22.98$	$\Delta P_{REC} = 24$	$\gamma_{III} = 3.755$	$P_{UX} = 99.7\%$
$Q_R = 7.86$	$Q_{IV}^* = 15.12$	$\Delta P_X = 34$	$\gamma_{IV} = 2.128$	$P_{UR} = 99.7\%$
$Q_{REC} = 15.12$				$SC = 2.85$ L/g $pr = 2.13$ g/(L.hr)
C₁+C₂=20.1 g/L; T=24°C; 23 ciclos				
Caudais (mL/min)		Pressões locais (bar)	Razões TMB	Parâmetros de desempenho
Operação SMB	Internos SMB			
$Q_E = 15.90$	$Q_I^* = 31.00$	$\Delta P_F = 16$	$\gamma_I = 5.414$	$\bar{C}_2^X = 1.22$ g/L
$Q_F = 1.45$	$Q_{II}^* = 19.00$	$\Delta P_E = 23$	$\gamma_{II} = 2.931$	$\bar{C}_1^R = 2.72$ g/L
$Q_X = 12.00$	$Q_{III}^* = 20.45$	$\Delta P_{REC} = 24$	$\gamma_{III} = 3.231$	$P_{UX} = 99.6\%$
$Q_R = 5.35$	$Q_{IV}^* = 15.10$	$\Delta P_X = 34$	$\gamma_{IV} = 2.124$	$P_{UR} = 99.7\%$
$Q_{REC} = 15.10$				$SC = 0.59$ L/g $pr = 9.29$ g/(L.hr)
C₁+C₂=40.0 g/L; T=24°C; 28 ciclos				
Caudais (mL/min)		Pressões locais (bar)	Razões TMB	Parâmetros de desempenho
Operação SMB	Internos SMB			
$Q_E = 16.00$	$Q_I^* = 30.73$	$\Delta P_F = 14$	$\gamma_I = 5.333$	$\bar{C}_2^X = 1.50$ g/L
$Q_F = 0.97$	$Q_{II}^* = 17.88$	$\Delta P_E = 22$	$\gamma_{II} = 2.704$	$\bar{C}_1^R = 4.45$ g/L
$Q_X = 12.84$	$Q_{III}^* = 18.85$	$\Delta P_{REC} = 23$	$\gamma_{III} = 2.937$	$P_{UX} = 99.4\%$
$Q_R = 4.12$	$Q_{IV}^* = 14.73$	$\Delta P_X = 34$	$\gamma_{IV} = 2.056$	$P_{UR} = 99.8\%$
$Q_{REC} = 14.73$				$SC = 0.41$ L/g $pr = 13.1$ g/(L.hr)

Nas Figuras 7.12, 7.13 e 7.14 encontram-se representadas as evoluções das concentrações dos dois enantiómeros nas correntes de saída (extracto e refinado) e também os perfis internos das colunas no estado estacionário cíclico, para as concentrações da corrente de alimentação de 2, 20 e 40 g/L, respectivamente. Nas três representações comparam-se os pontos experimentais obtidos por análise no sistema de HPLC das amostras recolhidas com o comportamento previsto pelo modelo de leito móvel simulado no qual se consideram os volumes mortos específicos da instalação laboratorial do LSRE. Verifica-se que, pela análise destes resultados, existe uma boa correlação entre pontos experimentais e o comportamento previsto por simulação.

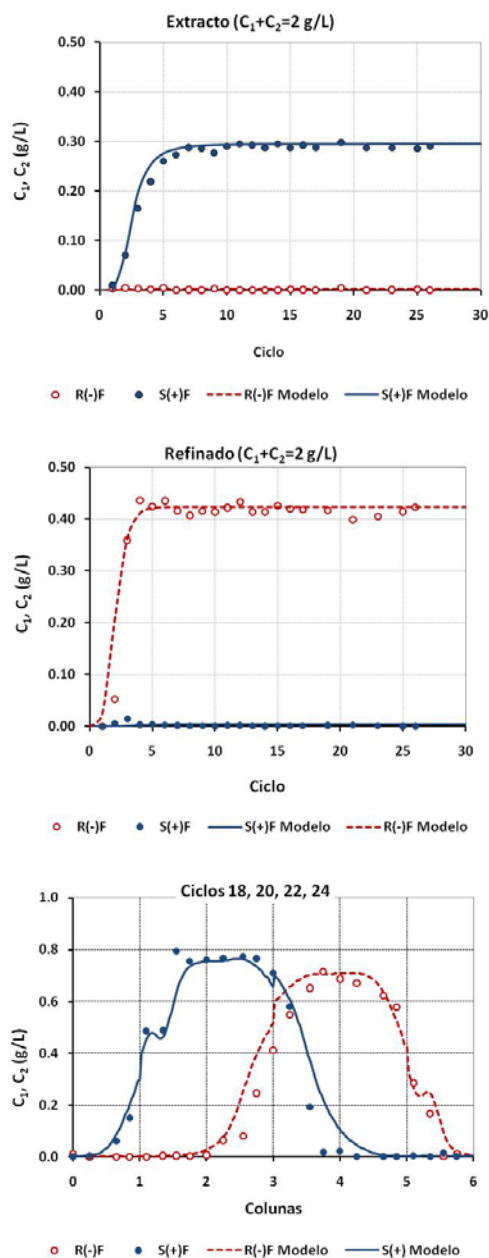


Figura 7.12 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de flurbiprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 2 g/L.

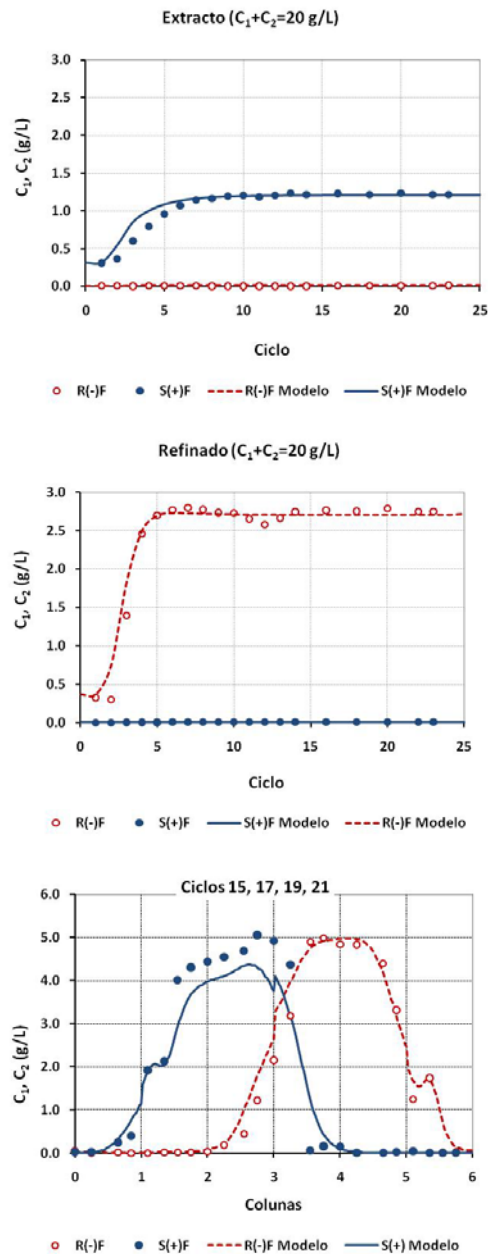


Figura 7.13 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de flurbiprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 20 g/L.

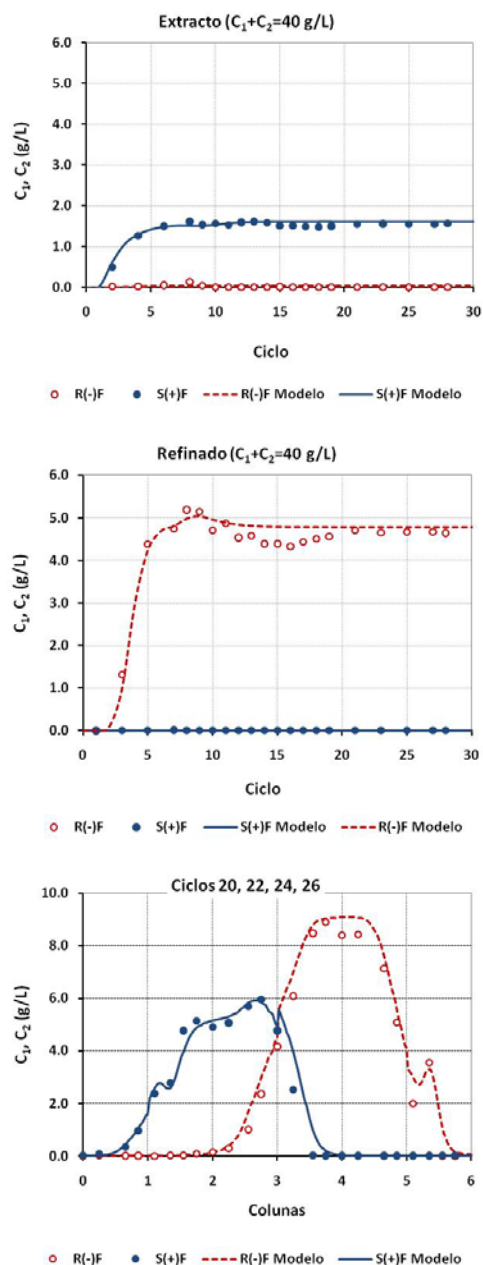


Figura 7.14 Comparação entre os perfis experimentais das concentrações nas correntes de extracto (em cima), de refinado (ao centro) e no interior das colunas no estado estacionário cíclico (em baixo) para os dois enantiómeros de flurbiprofeno (pontos) e a sua previsão obtida por simulação (linhas). Círculos abertos e linha tracejada para o enantiómero menos retido e círculos fechados e linha sólida para o enantiómero mais retido. Utilização de uma mistura racémica de concentração total de 40 g/L.

Verifica-se uma boa concordância entre o modelo e o comportamento dos valores experimentais tanto para concentrações baixas como para concentrações altas da corrente de alimentação.

Pela observação dos resultados experimentais verifica-se que à semelhança das previsões efectuadas dos parâmetros de desempenho (ver Figura 7.10) o valor de consumo de solvente diminui e aumenta o valor de produtividade.

No anexo E apresenta-se um resumo dos valores experimentais obtidos em todas as experiências que foram realizadas para a separação da mistura racémica de flurbiprofeno com a unidade FlexSMB-LSRE[®]. Apresentam-se também os pontos experimentais obtidos relativamente às regiões de separação previstas por simulação com o modelo SMB.

7.3 Conclusões

Os pulsos realizados na primeira fase do estudo confirmaram também as conclusões retiradas, relativamente à escolha da composição da fase móvel, quando se utilizou uma coluna com dimensões analíticas. Ou seja, a utilização de uma fase móvel com elevado teor de hidrocarboneto (tradicionalmente usada com fins analíticos) permite obter maior resolução, mas implica valores de retenção bastante mais elevados, o que representa uma grande desvantagem para fins preparativos. Por outro lado, a utilização de uma fase móvel fortemente apolar permite obter valores de selectividade bastante mais elevados do que um fase móvel polar quer para condições lineares, quer não-lineares, em toda a gama estudada (0 a 20 g/L). Realizando um compromisso entre solubilidades (capítulo 5), tempos de resolução e selectividades, a fase móvel 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA é a melhor escolha para a separação da mistura racémica de flurbiprofeno.

A modelização das isotérmicas de adsorção experimentais, permitiu observar uma boa concordância entre todos os modelos propostos e os valores experimentais, em toda a gama de concentrações. Quando se utiliza uma fase móvel de 10/90/0.01 o modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) é o que ajusta melhor os resultados experimentais. Quando se utiliza a fase móvel

100/0/0.01 obtém-se um menor desvio (SD) com o modelo linear+Langmuir (LLG4). Com a exceção do modelo mais simples de Langmuir (LG3), todos os outros três modelos estudados descrevem bem o comportamento de adsorção dos enantiômeros de cetoprofeno. Assim, como o modelo LLG5 descreve igualmente bem os resultados experimentais nas duas composições de fase móvel, optou-se por utilizar este modelo de forma a ser mais simples a comparação entre as duas fases móveis estudadas.

Realizaram-se experiências de cromatografia frontal com a finalidade de testar o modelo de isotérmica escolhido. O valor de Peclet foi estimado, para as duas fases móveis, através da realização de degraus de um composto não retido. O ajuste do modelo aos valores experimentais permitiu obter um valor de $Pe=2500$ para ambas as fases móveis.

A simulação do comportamento de adsorção da mistura racêmica de flurbiprofeno em leito fixo, utilizando o modelo de força motriz linear e o modelo de isotérmica linear+Langmuir modificado, permitiu por um lado validar o modelo de isotérmica escolhido (LLG5) e simultaneamente ajustar o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa. Este procedimento foi realizado fazendo ajustar o modelo aos valores experimentais. Os ajustes permitiram ajustar valores de $k=0.3s^{-1}$ e $k=0.6s^{-1}$ para as fases móveis 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA e 100%etanol/0.01%TFA, respectivamente. Verifica-se que existe uma boa concordância entre os valores experimentais e a simulação para uma concentração de alimentação de 20 g/L (condições preparativas).

As simulações do processo de separação preparativo foram realizadas utilizando três modelos: a Teoria de Equilíbrio, o modelo de leito móvel verdadeiro e o modelo de leito móvel simulado. A utilização dos três modelos, permite por comparação dos resultados de simulação verificar a importância dos parâmetros de dispersão axial, do coeficiente de resistência à transferência de massa, da natureza do processo contínuo em contracorrente e do movimento em instantes de tempo discretos das correntes de entrada e de saída numa caracterização mais realista da tecnologia de SMB. As simulações foram realizadas paralelamente para as duas fases móveis estudadas de forma a se proceder

definitivamente à escolha da composição considerada mais favorável para realizar a separação da mistura racémica numa instalação de SMB à escala laboratorial.

As simulações efectuadas permitiram concluir, para os dois solventes, que as regiões de separação diminuem fortemente com o aumento da concentração da corrente de alimentação. Comparando as regiões de separação estimadas para as duas fases móveis, verifica-se que as obtidas com o eluente fortemente apolar são consideravelmente maiores, pelo que representam condições operatórias significativamente mais favoráveis sob o ponto de vista experimental.

Em relação à comparação dos dois solventes utilizando a produtividade obtida e o consumo de solvente necessário, para condições preparativas, verifica-se que a melhor escolha é uma fase móvel constituída por 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Com esta composição, para uma concentração de alimentação de 50 g/L em mistura racémica, é possível obter um valor de produtividade quatro vezes superior com aproximadamente o mesmo consumo de solvente.

As conclusões obtidas pela análise dos resultados das experiências realizadas neste capítulo permitem confirmar e completar os resultados experimentais obtidos com os estudos apresentados no capítulo 5, no qual se utiliza uma coluna de dimensões analíticas. A combinação de todos estes resultados com as conclusões previamente obtidas no capítulo 4, permitem verificar que a fase móvel composta por 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA é a mais favorável para a separação da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando a tecnologia de leito móvel simulado.

Utilizando um eluente com esta composição, realizaram-se separações na unidade de leito móvel simulado (à escala laboratorial) existente no LSRE. Verificou-se uma boa concordância entre os perfis de concentração (das correntes de extracto, refinado, e no interior das colunas no estado estacionário cíclico) e o comportamento traduzido do modelo utilizado. Nestas experiências de SMB, utilizaram-se três valores diferentes de concentração da corrente de alimentação: 2, 20 e 40 g/L. Em todos os três níveis de concentração da corrente

de alimentação obtiveram-se valores de purezas nas correntes de saída superiores a 99.0%. Para a separação mais representativa do processo de separação à escala preparativa ($C_1^F + C_2^F = 40.0$ g/L) obteve-se um valor de produtividade de 13.1 g/(L.hr) com um consumo de solvente de 0.41 L/g, tendo sido necessários 19 ciclos completos para se considerar o estado estacionário cíclico.

Finalmente deve referir-se que, normalmente, a utilização de uma fase móvel caracterizada por uma mistura de três solventes, representa à escala industrial uma desvantagem. Este facto, pressupõe a existência de uma unidade a montante do sistema cuja finalidade será cristalizar os enantiómeros separados nas duas correntes, separar a mistura dos três solventes existentes no eluente (etanol, n-hexano e TFA) de forma a recuperar e reciclar e assim otimizar o processo de separação reduzindo os custos que lhe estão associados.

7.4 Referências

- Garbow, B.; Hillstrom, K.; More, J.; MINPACK subroutine LMDER, double precision version, Argonne National Laboratory, March 1980, disponível em "Netlib Repository at UTK and ORNL", (<http://www.netlib.org/minpack/>).
- Huang, D.; Dapremont, O.; Berget, P.; Xia, H.; Sanchez, D.; "Preparative-Scale Separation of enantiomers of chiral carboxylic acids", **Patent N.:** US 2008/0287704 A1, Pub. Date: Nov. 20, 2008.
- Nicoud, R.; Seidel-Morgenstern, A.; "Adsorption Isotherms: Experimental Determination and application to preparative chromatography" in "Simulated Moving Bed: Basics and Applications", **Institut National Polytechnique de Lorraine**, Nancy, France (1993) 4-34.
- Ribeiro, A.; Graça, N.; Pais, L.; Rodrigues, A. "Preparative separation of ketoprofen enantiomers: Choice of mobile phase composition and measurement of competitive adsorption isotherms", **Sep. Purif. Technol.** 61 (2008) 375-383.

Ribeiro, A.; Graça, N.; Pais, L.; Rodrigues, A. "Optimization of the mobile phase composition for preparative chiral separation of flurbiprofen enantiomers", **Sep. Purif. Technol.** 68 (2009) 9-23.

Sá Gomes, P.; "Advances in Simulated Moving Bed: New Operating Modes; New Design Methodologies; and Product (FlexSMB-LSRE[®]) Development", **PhD Thesis**, University of Porto, 2009.

Sá Gomes, P.; Zabkova, M.; Zabka, M.; Minceva, M.; Rodrigues, A.; "Separation of Chiral Mixtures in Real SMB Units: The FlexSMB-LSRE[®]", **AIChE J.** 56(1) (2010) 125-142.

Sincovec, F.; Madsen, K.; "Algorithm 540. PDECOL, general collocation software for partial differential equation", **ACTM Trans. Math. Softw.** 5 (1979) 326-351.

Capítulo 8

Conclusões e Sugestões para Trabalho Futuro

8.1 Conclusões

O Cetoprofeno (R,S)-2-(3-benzoylphenylpropionic acid) e o Flurbiprofeno (R,S)-2-(2-fluoro-4-biphenylpropionic acid) são ambos exemplos dos profenos, actualmente a classe mais importante dos anti-inflamatórios não esteróides. Estes fármacos são frequentemente prescritos mundialmente no alívio da dor e no tratamento de diversas formas de inflamação e da maior parte das doenças relacionadas com o aparelho locomotor, como sejam a artrite reumatóide e a osteoartrite.

Encontram-se frequentemente na literatura actual diversos estudos que indicam propriedades farmacológicas distintas para ambos os enantiómeros R e S dos profenos. Partindo deste ponto de vista, a resolução quiral dos enantiómeros de alguns profenos pode contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos que possuam aplicações terapêuticas diferenciadas e/ou novas acções farmacológicas mais seguras.

A cromatografia líquida preparativa quiral fazendo uso da tecnologia de leito móvel simulado (SMB) é uma tarefa complexa, que requer uma selecção apropriada da composição da fase móvel. Esta selecção afectará directamente o desempenho do processo de separação uma vez que a solubilidade, a retenção e a selectividade são parâmetros que dependem fortemente das variações na composição da fase móvel.

Neste trabalho, são apresentadas e discutidas as principais conclusões relativas à selecção criteriosa da composição da fase móvel mais apropriada para separação preparativa dos enantiómeros da mistura racémica de cetoprofeno e da mistura racémica de flurbiprofeno. Após a selecção da composição da fase móvel, as

duas separações são realizadas utilizando uma instalação à escala laboratorial de leito móvel simulado, o FlexSMB-LSRE[®]. A configuração utilizada para a operação SMB é a configuração clássica [1,2,2,1], ou seja uma coluna na secção I, duas colunas na secção II, duas colunas na secção III e uma coluna na secção IV.

Os estudos realizados podem dividir-se em dois grupos principais. O primeiro refere-se aos estudos desenvolvidos para as duas misturas racémicas utilizando uma coluna de dimensões analíticas (250 mm x 4.6 mm), o segundo utilizando uma coluna de dimensões preparativas (100 mm x 20 mm). Ambas as colunas com o mesmo tipo de adsorvente (Chiralpack AD) e o mesmo tamanho de partícula (20 μm). As conclusões retiradas com ambas as colunas são concordantes e complementam-se mutuamente.

Relativamente à separação dos enantiómeros de cetoprofeno, a melhor situação é prevista utilizando uma fase móvel 100%etanol/0.01%TFA. Este solvente permite solubilidades elevadas juntamente com valores altos de selectividade, além de representar tempos de retenção baixos, mesmo em condições consideradas preparativas (ou seja, concentrações elevadas).

Após a determinação experimental das isotérmicas de adsorção multicomponente utilizando várias composições de fase móvel, realizaram-se experiências de cromatografia frontal as quais confirmaram um bom ajuste entre os modelos e os valores experimentais numa gama de concentrações de alimentação elevada (até cerca de 40 g/L). As experiências de cromatografia frontal, utilizando um composto não retido, permitiram estimar um valor de Peclet (Pe) e posteriormente utilizando a mistura racémica, estimar o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa (k).

De seguida, utilizaram-se ferramentas de simulação para realizar uma previsão do desempenho da separação à escala preparativa. Esta previsão foi decisiva para confirmar os dados obtidos em leito fixo e decidir definitivamente a composição do eluente a utilizar na separação preparativa com o SMB. As previsões feitas através da simulação reforçam a escolha da composição da fase móvel mais apropriada, uma vez que com etanol puro se obtêm regiões de

separação maiores, produtividades mais elevadas e também consumos de solvente menores quando comparados com as outras composições estudadas.

Finalmente, para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno foram realizadas separações com diferentes valores de concentração da mistura racémica na corrente de alimentação (2, 10, 20 e 40 g/L). Verificou-se uma boa concordância entre os perfis obtidos por simulação e os perfis obtidos experimentalmente resultantes da recolha de amostras ao longo do processo de separação em SMB: perfis concentração na corrente de refinado e de extracto assim como os perfis internos recolhidos de cada uma das seis colunas no estado estacionário cíclico. Finalmente, para a concentração de alimentação de 40.2 g/L obtiveram-se purezas de 98.6% para a corrente de extracto e de 99.8% para a de refinado. A produtividade obtida foi de 3.84 g/(L.hr) com um consumo de solvente de 0.78 L/g.

Os resultados experimentais obtidos para a separação dos enantiómeros de flurbiprofeno permitiram obter conclusões bastante diferentes das obtidas para a separação dos enantiómeros de cetoprofeno.

As isotérmicas de adsorção experimentais indicam que os valores de selectividade são mais elevados quando se utilizam composições de fase móvel com baixos teores de álcool (etanol ou metanol). Contudo, para a mesma fase estacionária, baixos teores em álcool significam retenções mais elevadas e valores de solubilidades mais reduzidos, factores que prejudicam o desempenho do processo de separação preparativo. Uma composição da fase móvel 10%etanol/90%n-hexano representa a melhor escolha, uma vez que proporciona um bom compromisso entre selectividade, retenção e solubilidade.

De seguida, à semelhança do sistema de cetoprofeno, realizaram-se experiências de cromatografia frontal. Estas experiências permitiram caracterizar a dispersão axial e a resistência à transferência de massa. As experiências de cromatografia frontal permitiram validar o modelo obtido, já que se verificou uma boa concordância entre valores experimentais e o comportamento de adsorção descrito pelo modelo.

Na separação quiral do flurbiprofeno estudou-se ainda a influência do valor da concentração de modificador ácido (TFA) na fase móvel e da temperatura na qualidade da separação cromatográfica. Relativamente ao modificador, a sua não utilização implica que a separação se torna praticamente impossível de realizar já que se verifica a sobreposição completa dos dois picos cromatográficos referentes aos dois enantiómeros (resolução nula). Realizaram-se experiências em que se comparou um teor de TFA de 0.1% (valor comum na literatura) com o valor de 0.01% (adoptado neste trabalho) tendo-se verificado que a utilização de 0.1% de TFA não conduz a valores de selectividade significativamente superiores. Um valor elevado de TFA significa também um custo bastante mais elevado (maior quantidade de solvente) caso se pretenda regenerar as colunas cromatográficas. Em relação à temperatura, verificou-se que a utilização de um valor de temperatura de 35°C, superior à temperatura ambiente utilizada de 23°C, significa uma ligeira diminuição do valor do consumo de solvente, contudo significa também uma ligeira diminuição no valor de produtividade. Se a estas conclusões adicionarmos os custos energéticos associados com o aumento de temperatura, verifica-se que a operação à temperatura ambiente é a mais apropriada.

Posteriormente, foram realizadas simulações para estimar o comportamento de adsorção do processo de separação à escala preparativa. Nestas simulações fez-se uso do modelo baseado na Teoria de Equilíbrio, no modelo de leito móvel verdadeiro e no modelo de leito móvel simulado. As previsões confirmaram as previsões obtidas em sistema de leito fixo, nas quais se concluiu que a melhor composição de solvente é a de 10%etanol/90%n-hexano/0.01%TFA. Com esta composição obtém-se regiões de separação maiores, produtividades mais elevadas e consumos de solvente praticamente iguais relativamente aos obtidos com as outras composições estudadas.

Por último, realizaram-se várias separações da mistura racémica de flurbiprofeno utilizando concentrações da corrente de alimentação de 2, 20 e 40 g/L. As previsões efectuadas para a evolução das concentrações dos dois enantiómeros nas correntes de saída (extracto e refinado) e no interior de cada uma das colunas de SMB em estado estacionário cíclico prevêm bastante bem o comportamento dos valores experimentais. Para uma concentração de

alimentação de 40.0 g/L da mistura racémica de flurbiprofeno, obtiveram-se purezas de 99.4% e de 99.8% para as correntes de extracto e refinado, respectivamente. Com esta concentração, obteve-se uma produtividade de 13.1 g/(L.hr) com um consumo de solvente de 0.41 L/g.

Em conclusão final, pode dizer-se que não existe uma regra geral para prever o comportamento de adsorção dos profenos. O estudo apresentado demonstra que dois compostos da mesma família (AINEs) e na mesma classe (profenos) possuem comportamentos de adsorção bastante distintos. Um estudo individualizado a cada fármaco desta família deve ser realizado caso se pretenda realizar a separação dos seus enantiómeros por cromatografia líquida preparativa.

8.2 Sugestões para trabalho futuro

Relativamente à separação dos enantiómeros de profenos poder-se-iam realizar diversos estudos complementares, entre os quais podemos enumerar:

(a) Estudar se existe um aumento de produtividade ao utilizar os novos adsorventes propostos para separações quirais (Chiralpack IA, IB, IC, entre outros) comparativamente com o adsorvente utilizado neste trabalho (Chiralpack AD);

(b) Estudar a influência do diâmetro de partícula do adsorvente no desempenho do processo de separação. Ou seja, estudar qual o compromisso entre o diâmetro da partícula e o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa. Se por um lado a utilização de um adsorvente com diâmetro de partícula superior representa valores de quedas de pressão menores e consequentemente caudais maiores ("condições favoráveis"), por outro lado implica a diminuição do valor do coeficiente de resistência à transferência de massa ("condições desfavoráveis").

(c) Realizar a separação em SMB utilizando outros modos descritos na literatura como sendo modos de operação capazes de aumentar o desempenho do processo de separação (*Varicol, Power Feed, Modicon*, entre outros);

(d) Estudar a possibilidade e as vantagens da operação de leito móvel simulado em modo de gradiente; ou seja, a variação da composição de solvente (misturas n-hexano/etanol) no interior da unidade. Composições de eluente ricas em etanol significam tempos de retenção menores (maior poder de dessorção), enquanto misturas ricas em n-hexano significam, em geral, valores de selectividade mais elevados, embora à custa de tempos de retenção maiores. Deste modo, na zona I (zona de dessorção) poder-se-ia utilizar um solvente forte (100%etanol) e na zona III (zona de separação da alimentação) poderia ser útil a utilização de um solvente rico em n-hexano já que este permite valores de selectividade mais elevados.

ANEXOS

Nesta secção apresentam-se os seguintes anexos:

A. O valor da porosidade interparticular e o modelo de partícula homogénea;

B. Utilização de TFA na fase móvel para separação cromatográfica;

C. Pesquisa de um padrão para determinar a porosidade interparticular;

D. Utilização de correlações para estimar o valor de Peclet e o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa;

E. Resultados experimentais resumidos de todas as experiências de leito móvel simulado;

F. Especificações do adsorvente Chiralpack AD (Daicel Technologies Europe);

G. Identificação dos enantiómeros R e S do Cetoprofeno.

Anexo A

O valor da porosidade interparticular e o modelo de partícula homogénea

O procedimento experimental utilizado na determinação experimental das isotérmicas de adsorção encontra-se descrito no capítulo 3. No método utilizado (método de adsorção-dessorção) considerou-se que q_i^* representa a concentração total retida no adsorvente, tendo em conta a massa de enantiómero retida no adsorvente e a massa de enantiómero contida nos poros da partícula. Este valor (q_i^*) representa a concentração total de cada componente retida na partícula que está em equilíbrio com a concentração da alimentação (C_i^F). Esta concentração total representa o somatório da concentração retida no adsorvente e a concentração contida nos poros dentro da partícula. Deste modo o balanço global, em leito fixo, pode ser descrito pela equação (a.1), na qual se utiliza a porosidade interparticular do leito, ε .

$$C_i^d V^d = \varepsilon V_c C_i^F + (1 - \varepsilon) V_c q_i^* \quad (\text{a.1})$$

Este modelo é consistente com o modelo de força motriz linear no qual se considera igualmente a partícula como homogénea. Para o cálculo da concentração retida na partícula estipulou-se um valor de porosidade interparticular de $\varepsilon=0.4$. A porosidade total (ε_T) do enchimento pode ser estimada através de experiências de um composto não retido (*tracer*). Deste modo, sabendo a porosidade da partícula, poder-se-ia estimar a porosidade interparticular (através da equação (a.2):

$$\varepsilon_T = \varepsilon + (1 - \varepsilon)\varepsilon_p \quad (\text{a.2})$$

O valor da porosidade da partícula é um parâmetro conhecido pelo fabricante do enchimento, contudo, quando se solicitou o valor deste parâmetro, a resposta obtida foi negativa, uma vez que o consideram como segredo de indústria. Assim, restou apenas a possibilidade de se conseguir um composto que, para além de não ser retido, possui um volume suficientemente elevado de forma a

não passar dentro dos poros da partícula e, dessa forma, possibilita a determinação directa da porosidade interparticular do enchimento.

Contudo, os compostos normalmente utilizados para este fim, como seja o caso dos compostos blueextrano, polimetacrilatos e poliestirenos, não são solúveis nos solventes escolhidos para a separação das misturas racémicas de cetoprofeno e flurbiprofeno (misturas de hidrocarbonetos e álcoois).

Ficaria, deste modo, a questão pertinente de qual seria a consequência no comportamento de adsorção e conseqüentemente, no desempenho do processo de separação se, em vez de inicialmente se ter utilizado um valor de porosidade interparticular de $\varepsilon=0.40$ (Zabka e Rodrigues, 2007; Sá Gomes, P., 2009), se tivesse utilizado um valor ligeiramente inferior ou ligeiramente superior. Este anexo pretende responder a esta questão.

Decidiu-se, neste sentido, realizar um estudo comparativo entre três valores de porosidade interparticular diferentes ($\varepsilon=0.3, 0.4$ e 0.5). Deve referir-se que a utilização de valores, mesmo que sem significado físico, tem apenas como base a verificação da robustez do método.

Para este estudo escolheu-se o sistema constituído pela separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando uma fase móvel com a composição de 100%etanol/0.01%TFA (sistema C100). Determinaram-se as isotérmicas de adsorção e correspondentes valores de selectividade aos quais se ajustou o modelo que melhor descreve os pontos experimentais (modelo LIG5). Com as isotérmicas obtidas, realizou-se uma previsão do comportamento de adsorção em leito fixo, ajustando para cada modelo LIG5 de isotérmica, o valor do coeficiente de transferência de massa.

Finalmente, com os respectivos modelos e coeficiente de transferência de massa ajustados, comparou-se a previsão dos perfis da separação em SMB obtida com cada modelo relativamente aos valores experimentais. Na Tabela A1 apresentam-se os valores de porosidade da partícula estimada a partir dos valores de porosidade total para os três valores de porosidade interparticular referidos.

A.2

Tabela A1. Valores calculados para a porosidade da partícula, obtidos para diferentes valores de porosidade interparticular utilizando o valor experimental da porosidade total na fase móvel com a composição de 100%etanol/0.01%TFA (ver Equação a.2).

Composição do solvente (%etanol/%n-hexano/%TFA)	Porosidade total, ε_T (experimental)	Porosidade interparticular, ε (estipulada)	Porosidade da partícula, ε_p (calculada com Eq. a.2)
100/0/0.01	0.71	0.3	0.59
		0.4	0.52
		0.5	0.42

Utilizando a Equação a.1 e considerando os três valores de porosidade interparticular estipulados, obtiveram-se três séries de pontos experimentais distintos aos quais se aplicou o método de Levenberg-Marquardt para estimar os parâmetros do modelo que melhor descreve o seu comportamento experimental. Os coeficientes obtidos para os três modelos de isotérmica de adsorção linear+Langmuir modificado:

$$q_1^* = m_1 C_1 + \frac{Q b_1 C_1}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} \quad ; \quad q_2^* = m_2 C_2 + \frac{Q b_2 C_2}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} \quad (\text{a.3})$$

estão apresentados na Tabela A2.

Tabela A2. Parâmetros estimados para o modelo LLG5, obtidos pela modelização das isotérmicas de adsorção da mistura racêmica de cetoprofeno numa composição de fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA, a uma temperatura de 23°C e para três valores de porosidade interparticular.

Sistema C100 e modelo LLG5									
Porosidade interparticular, ε	M	N	m_1	m_2	Q	b_1	b_2	SQ	SD
0.3	18	5	0.7097	0.7155	7.817	4.613×10^{-2}	7.983×10^{-2}	0.1830	0.1186
0.4			0.6613	0.6680	9.122	4.613×10^{-2}	7.981×10^{-2}	0.2490	0.1384
0.5			0.5936	0.6017	10.95	4.613×10^{-2}	7.983×10^{-2}	0.3586	0.1661

A Figura A1 apresenta os valores calculados para q_i^* , bem como as isotérmicas obtidas pelo modelo linear+Langmuir modificado (LLG5) para os diferentes valores de porosidade interparticular.

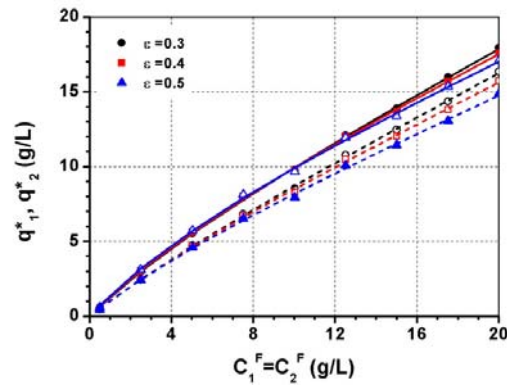


Figura A1. Comparação entre pontos experimentais e respectivos modelos (LLG5) das isotérmicas de equilíbrio de adsorção obtidas utilizando três valores diferentes de porosidade interparticular ($\epsilon=0.3/0.4/0.5$), para a mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel de composição 100%etanol/0.01%TFA, a $T=23^{\circ}\text{C}$.

A Figura A2 apresenta os valores correspondentes de selectividade. Em todos os casos, se obtém um bom ajuste entre os dados experimentais calculados e o modelo de isotérmica ajustado.

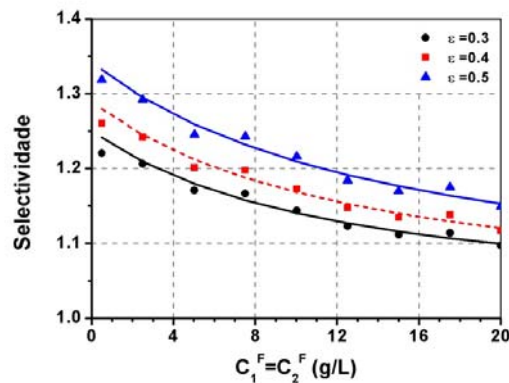


Figura A2. Comparação entre pontos experimentais e respectivos modelos das selectividades obtidas para o sistema C100, com o modelo LLG5, utilizando valores diferentes de porosidade interparticular ($\epsilon=0.3/0.4/0.5$).

No capítulo 6, apresentaram-se experiências de cromatografia em leito fixo e a correspondente simulação utilizando o modelo de força motriz linear. Nas simulações realizadas para o sistema C100 (mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA), utilizou-se um valor de porosidade

interparticular de $\varepsilon=0.4$, conduzindo a um valor de coeficiente de transferência de massa ajustado de $k=0.6s^{-1}$. Estes resultados são apresentados, novamente, na Figura A3.

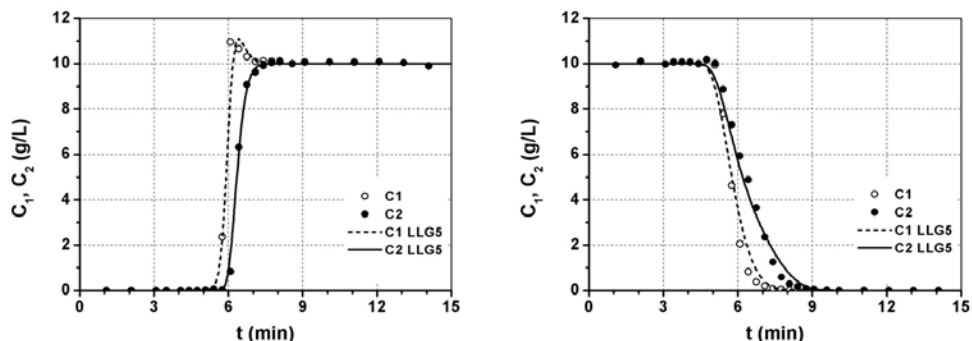


Figura A3. Comparação entre valores experimentais e modelo LLG5, do comportamento de adsorção da mistura racêmica de cetoprofeno numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA. ($Q=5.0$ mL/min; isotérmica LLG5; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6 s^{-1}$; $\varepsilon=0.40$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$)

A Figura A4 apresenta as simulações obtidas, para o mesmo sistema, utilizando os valores de porosidade interparticular de $\varepsilon=0.3$, 0.4 e 0.5. Nestas simulações utiliza-se o mesmo valor de coeficiente de transferência de massa, $k=0.6 s^{-1}$.

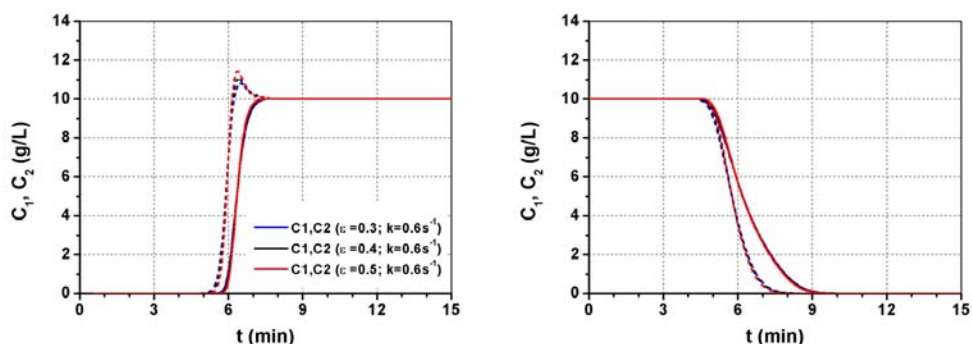


Figura A4. Comparação entre valores experimentais e modelo LLG5, do comportamento de adsorção da mistura racêmica de cetoprofeno numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA, utilizando três valores diferentes de porosidade interparticular ($\varepsilon=0.3/0.4/0.5$). $Q=5.0$ mL/min; $Pe=2500$; $k_1=k_2=0.6 s^{-1}$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$).

Concluí-se que existe uma ligeira diferença nos históricos obtidos. Estas diferenças poderão ser anuladas através da estimativa do valor do coeficiente de resistência à transferência de massa, k , que melhor ajusta cada um dos valores de porosidade interparticular. Os resultados são apresentados na Figura A5, concluindo-se que um valor de porosidade interparticular menor conduz à estimativa de um valor de coeficiente de resistência à transferência de massa maior.

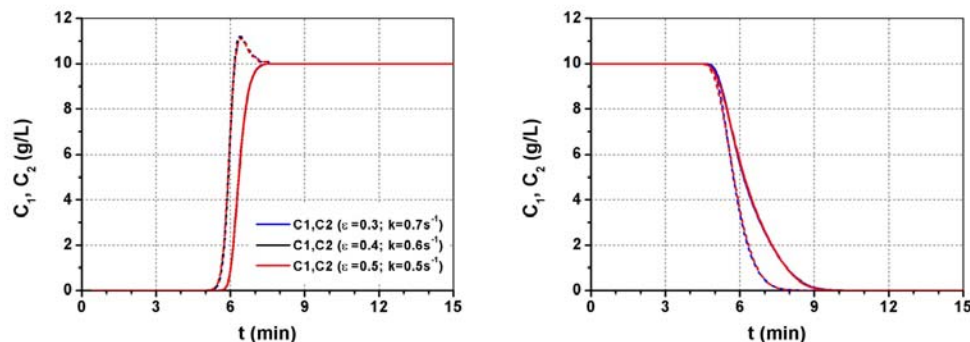


Figura A5. Comparação entre o comportamento de adsorção da mistura racémica de cetoprofeno numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA, utilizando três valores diferentes de porosidade interparticular ($\epsilon=0.3/0.4/0.5$) e três valores diferentes de coeficiente de transferência de massa ($k=0.7/0.6/0.5s^{-1}$). ($Q=5.0$ mL/min; isotérmica LLG5; $Pe=2500$; $C_1^F+C_2^F= 20.08$ g/L; $T=23^\circ C$).

De seguida, foram também simulados os perfis internos das colunas de SMB em regime estacionário cíclico, para o mesmo sistema: separação da mistura racémica de cetoprofeno numa composição de eluente e 100%etanol/0.01%TFA (sistema C100), sendo utilizada uma concentração de alimentação de 20 g/L (mistura racémica).

Na Figura A6, comparam-se as previsões obtidas utilizando os três valores de porosidade interparticular e os correspondentes valores de coeficiente de transferência de massa ajustados.

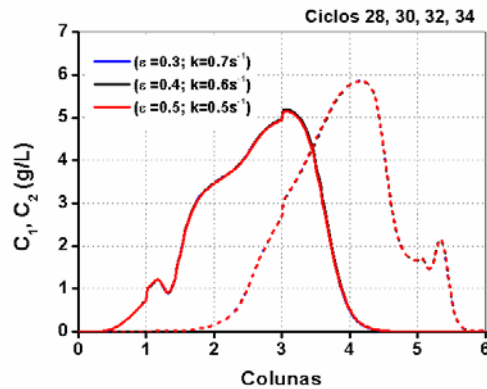


Figura A6. Comparação entre as previsões dos perfis internos nas colunas SMB no estado estacionário, utilizando os valores de coeficiente de resistência à transferência de massa ajustados para cada valor de porosidade interparticular. ($Q=5.0$ mL/min; isotérmica LLG5; $Pe=2500$; $C_1^F+C_2^F=20.08$ g/L; $T=23^\circ\text{C}$).

Verifica-se que todas as simulações realizam a mesma previsão de operação em SMB para todos os valores de porosidade interparticular, desde que sejam utilizadas as isotérmicas de adsorção obtidas com os diferentes valores de porosidade interparticular e as correspondentes valores dos coeficientes de resistência à transferência de massa ajustados.

Este anexo mostra, assim, que o modelo de partícula homogênea utilizado nesta tese, embora não seja minuciosamente realista, por não considerar a existência simultânea de porosidade inter e intraparticular, conduz a previsões robustas, quer do comportamento de adsorção-dessorção (isotérmicas de equilíbrio de adsorção) quer dos processos de separação em leito fixo e em leito móvel simulado.

Referências

Sá Gomes, P.; "Advances in Simulated Moving Bed: New Operating Modes; New Design Methodologies; and Product (FlexSMB-LSRE[®]) Development", **PhD Thesis**, University of Porto, 2009.

Zabka, M.; Rodrigues, A.; "Thermodynamic and Kinetic Study of Adsorption of *R,S*- α -Tetralol Enantiomers on the Chiral Adsorbent CHIRALPAK AD", **Sep. Sci. Technol.** 42 (2007) 739-768.

Anexo B

Utilização de TFA na fase móvel para a separação cromatográfica

No final da parte experimental foi necessário limpar a instalação de SMB e as colunas utilizadas nos estudos prévios (pulsos, isotérmicas, degraus, análises). De acordo com o indicado pelo fabricante do adsorvente, a fase estacionária Chiralpack AD deve ser acondicionada num solvente composto por uma mistura 10%isopropanol/90%n-hexano.

Como os estudos efectuados no capítulo 4 permitiram concluir a necessidade de se utilizar um modificador ácido (TFA) na separação por cromatografia líquida dos profenos, aproveitou-se o facto de se ter que acondicionar as colunas para primeiro fazer a sua limpeza, eliminando o efeito do TFA e testar a reversibilidade da sua utilização. Este procedimento (limpeza/acondicionamento) foi efectuado para a coluna "analítica" ($d_p=10\ \mu\text{m}$), a coluna "leito fixo" com dimensões analíticas ($d_p=20\ \mu\text{m}$) e para a coluna "SMB" com dimensões preparativas ($d_p=20\ \mu\text{m}$).

Na Tabela B1 apresentam-se as fases móveis iniciais e as fases móveis de limpeza utilizadas em cada coluna, antes do seu acondicionamento final com uma fase móvel composta por 10%isopropanol/90%n-hexano.

Tabela B1. Fases móveis iniciais e fases móveis utilizadas na limpeza das colunas "analítica", "leito fixo" e "SMB".

Coluna	Fase móvel inicial (t=0)	Fase móvel de limpeza
"analítica" (100mm x 20mm, 20 μm)	100/0/0.01 (Etanol/n-Hexano/TFA)	100/0/0 (Etanol/n-Hexano/TFA)
"leito fixo" (250mm x 4.6mm, 20 μm)	100/0/0.01 (Etanol/n-Hexano/TFA)	100/0/0 (Etanol/n-Hexano/TFA)
"SMB" (250mm x 4.6mm, 10 μm)	10/90/0.01 (Etanol/n-Hexano/TFA)	10/90/0 (Etanol/n-Hexano/TFA)

A limpeza do efeito do modificador ácido foi monitorizada através da realização de pulsos sucessivos em intervalos de tempo regulares a partir do momento

(instante inicial, $t=0$) em que se substituiu a fase móvel inicial pela fase móvel de limpeza. Utilizando um caudal de 5 mL/min, injectou-se 100 μ L de uma solução de mistura racémica de cetoprofeno com a concentração de 20 g/L. Nas Figuras B1 a B3 representa-se os resultados experimentais obtidos para as três colunas.

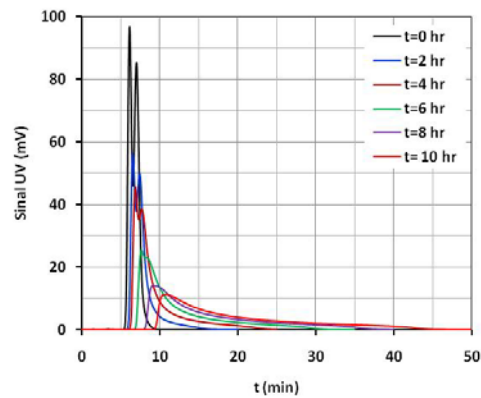


Figura B1. Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, obtidos no procedimento de eliminação do efeito do TFA na coluna “SMB”. Fases móveis (ver Tabela A1); Concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 20 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal: 5 mL/min; volume injectado: 100 μ L.

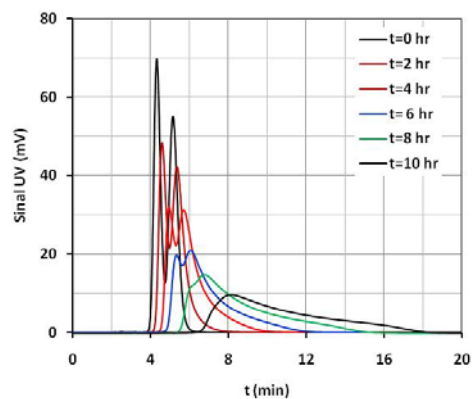


Figura B2. Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, obtidos no procedimento de eliminação do efeito do TFA na coluna “leito fixo”. Fases móveis (ver Tabela A1); Concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 20 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal: 1 mL/min; volume injectado: 100 μ L.

B.2

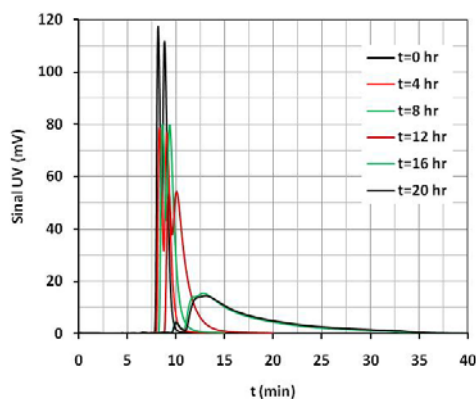


Figura B3. Histórias experimentais de eluição da mistura racémica de cetoprofeno, obtidos no procedimento de eliminação do efeito do TFA na coluna “analítica”. Fases móveis (ver Tabela A1); Concentração da mistura racémica de cetoprofeno: 20 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal: 0.5 mL/min; volume injectado: 100 μ L.

Para a coluna “SMB” foram necessários cerca de 3000 mL de solvente para eliminar o efeito do TFA, cerca de 90 vezes o volume da coluna. Para a coluna “leito fixo” e a coluna “analítica” foram necessários cerca de 600 mL de solvente para eliminar o efeito do TFA, cerca de 150 vezes o volume de cada coluna.

Verifica-se que a utilização do TFA tem uma influência decisiva na separação cromatográfica. Diminuindo a quantidade de TFA na fase móvel a resolução diminui e o tempo de análise aumenta, ambos de uma forma muito acentuada.

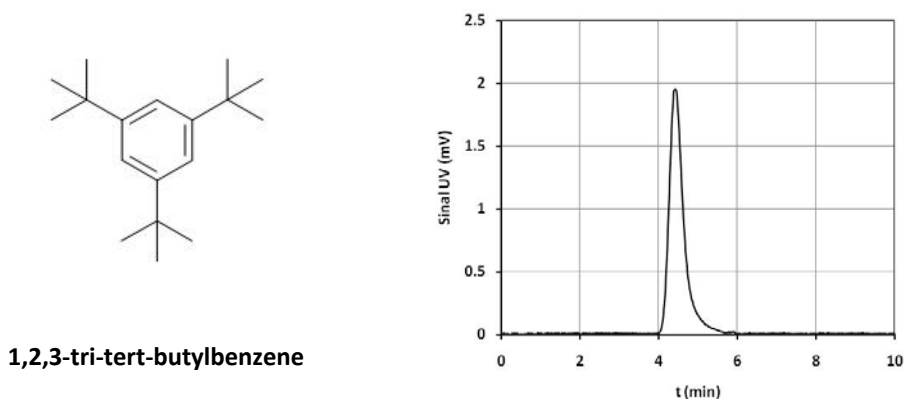
Anexo C

**Pesquisa de um padrão
para determinar a porosidade interparticular**

Neste anexo apresentam-se os pulsos realizados, de compostos de elevada massa molar: 1,2,3-Tri-tert-butylbenzene, polimetilacrilato de metilona (mistura de vários padrões), polimetilacrilato de metilona (massa molar, MW=3000) e poliestireno (mistura de vários padrões). Os pulsos foram realizados na coluna "SMB" (coluna igual às montadas na instalação de SMB) utilizando uma fase móvel de 100%etanol. O objectivo destas análises consistiu em encontrar um composto que fosse útil na determinação da porosidade interparticular.

Por um lado este composto não deveria ser retido e por outro lado o seu elevado volume não lhe devia permitir passar dentro dos poros da partícula.

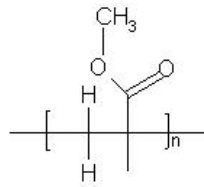
Os pulsos realizados e que se apresentam nesta secção, não permitiram encontrar esse composto, uma vez que os compostos apresentados como alternativa ao composto utilizado como não retido (Figura C1), não são solúveis no tipo de solventes utilizado (álcool e/ou hidrocarboneto).



1,2,3-tri-tert-butylbenzene

Figura C1. Pulso do composto não retido (1,2,3-tri-tert-butylbenzene) na coluna

“SMB” (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA; (Concentração de 10 g/L; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL).



Polimetilacrilato de metilona
(MW variáveis)

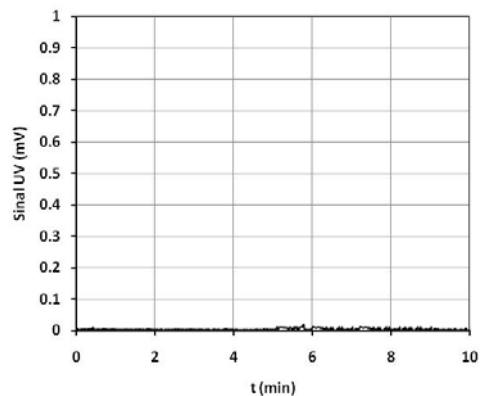
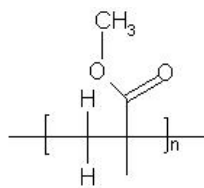


Figura C2. Pulso de uma mistura de padrões de polimetilacrilato de metilona coluna “SMB” (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA; (Massas molares variáveis; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL).



Polimetilacrilato de metilona
(MW=3000)

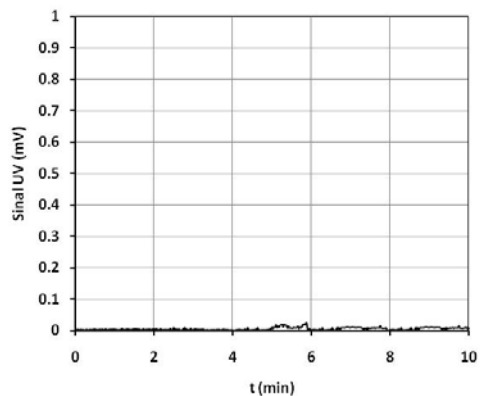
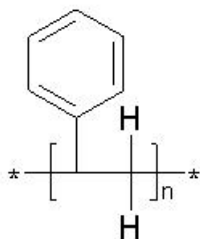


Figura C3. Pulso de uma mistura de um padrão de polimetilacrilato de metilona com MW=3000 na coluna “SMB” (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA; (Massas molar de 3000; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL).



Padrões de Poliestireno
(MW variáveis)

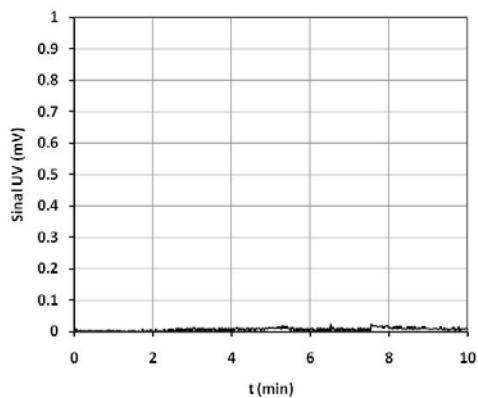


Figura C4. Pulso de uma mistura de padrões de poliestireno de massa molar variáveis na coluna "SMB" (dimensões preparativas, enchimento Chiralpack AD, tamanho de partícula de 20 μm) numa fase móvel de 100%etanol/0.01%TFA; (Massas molar de 3000; detecção por UV a 260 nm; caudal de 5 mL/min; volume injectado de 100 μL).

Anexo D

Utilização de correlações para estimar o valor de Peclet e o valor do coeficiente de resistência à transferência de massa

Na modelização da separação cromatográfica em leito fixo e em leito móvel simulado, como se pode confirmar no capítulo 3, nas Tabela 3.3 e 3.4, torna-se necessário fornecer através dos parâmetros do modelo, o coeficiente de transferência de massa (k), a porosidade interparticular do leito (ε), e o número de Peclet mássico (Pe). Nestas simulações, consideram-se as partículas de adsorvente como sendo homogéneas e a porosidade interparticular do leito constante e igual a $\varepsilon=0.4$. Em relação aos valores do coeficiente de transferência de massa e do número de Peclet mássico adoptou-se por fornecer estimativas iniciais e ir progressivamente adaptando os valores que melhor ajustassem as curvas de saturação/regeneração aos valores experimentais.

Uma forma alternativa de estimar o valor da resistência à transferência de massa e do valor da dispersão axial consiste em recorrer à equivalência entre o modelo utilizado neste trabalho (modelo de força motriz linear, LDF) para partículas homogéneas, e o mesmo modelo LDF, mas considerando as partículas de adsorvente como partículas porosas, através da seguinte equação (Rodrigues, 2009):

$$k = \frac{k_{pp}}{\varepsilon_p + K_i} = \frac{k_{pp}}{K} \quad (d.1)$$

em que k representa o coeficiente de transferência de massa utilizado no modelo LDF para partículas homogéneas, k_{pp} o coeficiente de transferência de massa para partículas porosas, ε_p a porosidade da partícula, K_i o declive inicial da isotérmica de adsorção, obtida considerando apenas o sólido (excluindo os poros) e K o declive inicial da isotérmica obtida considerando o adsorvente como partículas homogéneas, como neste estudo. O valor de k_{pp} pode ser estimado recorrendo à equação,

$$k_{PP} = \frac{\psi D_{PP}}{R_p^2} \quad (d.2)$$

onde ψ é um coeficiente entre 10 e 15, D_{PP} representa a difusividade efectiva e R_p é o raio da partícula. Normalmente, a difusividade efectiva pode ser determinada por,

$$D_{PP} = \frac{\varepsilon_p D_m}{\tau} \quad (d.3)$$

em que D_m é a difusividade molecular (cm^2/s) e τ o factor de tortuosidade e que representa essencialmente um factor geométrico que varia entre 2 e 8. Em relação à difusividade molecular recorre-se em geral ao método de Wilke-Chang (Poling *et al.*, 2001),

$$D_m = \frac{7.4 \times 10^{-8} \sqrt{(\phi M) T}}{\eta V^{0.6}} \quad (d.4)$$

em que ϕ é um factor associativo do solvente (adimensional), M a massa molecular do solvente (g/mol), T a temperatura absoluta (K), η a viscosidade do solvente (cP) e V o volume molar do soluto à sua temperatura normal de ebulição (cm^3/mol). Wilke-Chang recomenda um valor de ϕ igual a 2.6 se o solvente for água, 1.9 se for metanol, 1.5 se for etanol e 1.0 para outros solventes. A viscosidade do solvente pode ser determinada utilizando o método para misturas binárias de solventes, proposto por Grunberg e Nissan (Poling *et al.*, 2001),

$$\ln \eta = x_1 \ln \eta_1 + x_2 \ln \eta_2 + x_1 x_2 G_{12} \quad (d.5)$$

Sendo x_i a fracção molar do líquido e G_{ij} um parâmetro de interacção que é função dos componentes e da temperatura. O volume molar do soluto à sua temperatura normal de ebulição pode ser estimado através do método de incrementos de volume publicado por Le Bas (Poling *et al.*, 2001). Combinando as Equações d.1 a d.4, o coeficiente de transferência de massa utilizado no modelo LDF para partículas homogéneas, pode ser estimado pela equação:

D.2

$$k = \frac{\psi \varepsilon_p D_m}{K \tau R_p^2} \quad (d.6)$$

Em relação ao valor de Peclet, pode recorrer-se à correlação proposta por Edwards e Richardson (1970) para estimar a dispersão axial (D_{ax}), supondo condições de regimes intermédios:

$$D_{ax} = 0.73D_m + 0.5U_i d_p \quad (d.7)$$

em que U_i representa a velocidade intersticial do líquido e d_p o diâmetro da partícula. Deste modo, para determinar o valor de Peclet, poder-se-á utilizar a seguinte expressão:

$$Pe = \frac{U_i L_C}{D_{ax}} = \frac{U_i L_C}{0.73D_m + 0.5U_i d_p} \quad (d.8)$$

sendo L_C o comprimento da coluna cromatográfica.

Os valores obtidos experimentalmente que melhor ajustam o modelo aos resultados experimentais estão apresentados na Tabela D1 para a mistura racémica de cetoprofeno e de flurbiprofeno. São também apresentados os valores obtidos para Pe e k , obtidos pelas correlações teóricas e os valores de Pe e de ε_τ encontrados através de experiências de pulsos e degraus de *tracer*.

Tabela D1. Parâmetros obtidos experimentalmente (por ajuste) e estimados (por correlações) para as misturas racémicas de cetoprofeno e de flurbiprofeno.

Composição	Valores Experimentais (por ajuste)					Valores estimados (por correlações)				
	Tracer				Racémica Degraus	Eq. (d.5)	Eq. (d.4)	Eq. (d.6)		Eq. (d.8)
	Pulsos		Degraus					k (s ⁻¹)	η (cP)	
	Pe	ε_τ	Pe	ε_τ	Pe					
Mistura racémica de Cetoprofeno										
(10/90/0.01)	1900	0.68	2500	0.69	0.30	0.3480	1.902x10 ⁻⁵	3.50	2.61	8269
(100/0/0.01)	1400	0.70	2500	0.71	0.60	1.0804	5.617x10 ⁻⁶	5.36	4.16	9406
Mistura racémica de Flurbiprofeno										
(10/90/0.01)	1900	0.68	2500	0.69	0.30	0.3480	1.973x10 ⁻⁵	10.20	6.99	8216
(100/0/0.01)	1400	0.70	2500	0.71	0.60	1.0804	5.827x10 ⁻⁶	7.62	6.41	9397

Nas tabelas seguintes apresenta-se a descrição pormenorizada do cálculo destes valores para cada um dos quatro sistemas estudados.

Tabela D2. Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema C100.

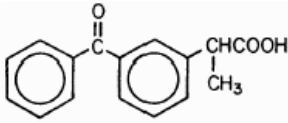
Soluto = Cetoprofeno		FM=	$C_{16}H_{14}O_3$	
	MW (g/mol) =	254.3		
	Volume Molar	Increment, mL/mol		
	Vb (mL/mol) =	290	C	14.8
	(Le Bas, Poiling et al)		H	3.7
			C=O	9.1
		COOH	12	
		6 ring	-15	
Solvente: 100EtOH				
ρ (g/mL)=	0.7894			
MW (g/mol)=	46.07			
%(v/v)=	100			
Fracção molar, x =	1.000			
Viscosidade (cP, a 25C)	1.0804	(Tabela, Poiling et al)		
Massa molar do solvente, M =	46.07	g/mol		
Temperatura, T =	296.2	K		
Viscosidade do solvente, η =	1.0804	cP		
Volume molar soluto, Vb =	290	mL/mol		
Factor associativo do solvente, ϕ =	1.5			
Difusividade molar, Dm =	5.617E-06	cm²/s	(Wilke-Chang, Poiling et al)	
Coeficiente entre 10 e 15	Ψ =	10		
Porosidade total	ϵT =	0.71		
Porosidade interparticular	ϵ =	0.40		
Porosidade da partícula	ϵP =	0.52		
Declive inicial da isotérmica	$K_1 = m_1 + Qb_1 =$	1.08		
	$K_2 = m_2 + Qb_2 =$	1.40		
Tortuosidade entre 2 e 8	τ =	5		
Raio da partícula	R_p =	1E-03 cm		
Coeficiente de transferência de massa	k1 =	5.36 s⁻¹		
	k2 =	4.16 s⁻¹		
Estimativa de Peclet	$Ac = \pi * r^2$	3.1416 cm ²		
(Equação de Edwards e Richardson)	$U_i = Q / (\epsilon Ac)$	0.066 cm/s		
	$D_{ax} = 0.73 D_m + 0.5 U d_p$	7.04E-05 cm ² /s		
	Pe = $U_i \cdot L_c / (D_{ax})$	9418		

Tabela D3. Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema C10.

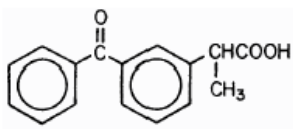
Soluto = Cetoprofeno		FM=	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	
	MW (g/mol) =	254.3		
	Volume Molar	Increment, mL/mol		
	Vb (mL/mol) =	290	C	14.8
	(Le Bas, Poiling et al)		H	3.7
			C=O	9.1
		COOH	12	
		6 ring	-15	
Solvente: mistura 10EtOH/90C6/0.01TFA (10/90/0.01)				
	EtOH	nC6		
ρ (g/mL)=	0.7894	0.6548		
MW (g/mol)=	46.07	86.18		
%(v/v)=	10	90		
Fracção molar, x =	0.2004	0.7996		
Viscosidade (cP, a 25C)	1.0804	0.2973		
Delta	-0.4470	0.1840		
G12	-0.6310			
Viscosidade da mistura: (cP, 25C)	0.3480	(Grunberg, Poiling et al)		
Massa molar do solvente, M=	82.17	g/mol		
Temperatura, T =	296.2	K		
Viscosidade do solvente, η =	0.3480	cP		
Volume molar soluto, Vb =	290	mL/mol		
Factor associativo do solvente, φ =	1			
Difusividade molar, Dm =	1.902E-05	cm²/s	(Wilke-Chang, Poiling et al)	
Coefficiente entre 10 e 15	Ψ =	10		
Porosidade total	εT=	0.69		
Porosidade interparticular	ε =	0.40		
Porosidade da partícula	εP=	0.48		
Declive inicial da isotérmica	K ₁ = m ₁ + Qb ₁ =	5.26		
	K ₂ = m ₂ + Qb ₂ =	7.05		
Tortuosidade entre 2 e 8	τ =	5		
Raio da partícula	Rp =	1E-03 cm		
Coefficiente de transferência de massa	k1 =	3.50 s⁻¹		
	k2 =	2.61 s⁻¹		
Estimativa de Peclet	Ac=π*r ²	3.1416 cm ²		
(Edwards e Richardson)	Ui=Q/(εAc)	0.066 cm/s		
	Dax=0.73Dm+0.5Udp	8.02E-05 cm ² /s		
	Pe=Ui.Lc/(Dax)	8269		

Tabela D4. Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema F100.

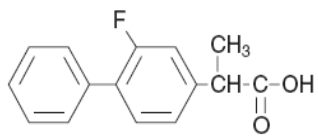
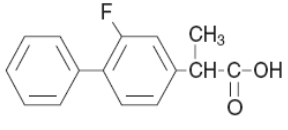
Soluto = Flurbiprofeno		FM=	C ₁₅ H ₁₃ FO ₂		
		MW (g/mol) =	244.27		
		Volume Molar	Increment, mL/mol		
		Vb (mL/mol) =	272.8	C	14.8
		(Le Bas, Poiling et al)		H	3.7
			F	8.7	
			COOH	12	
			6 ring	-15	
<hr/>					
Solvente: 100EtOH					
ρ (g/mL)=	0.7894				
MW (g/mol)=	46.07				
%(v/v)=	100				
Fracção molar, x =	1.000				
Viscosidade (cP, a 25C)	1.0804		(Tabela, Poiling et al)		
<hr/>					
Massa molar do solvente, M =	46.07	g/mol			
Temperatura, T =	296.2	K			
Viscosidade do solvente, η =	1.0804	cP			
Volume molar soluto, Vb =	272.8	mL/mol			
Factor associativo do solvente, φ =	1.5				
<hr/>					
Difusividade molar, Dm =	5.827E-06	cm²/s	(Wilke-Chang, Poiling et al)		
Coeficiente entre 10 e 15	Ψ =	10			
Porosidade total	εT =	0.71			
Porosidade interparticular	ε =	0.40			
Porosidade da partícula	εP =	0.52			
Declive inicial da isotérmica	K ₁ = m ₁ + Qb ₁ =	0.79			
	K ₂ = m ₂ + Qb ₂ =	0.94			
Tortuosidade entre 2 e 8	τ =	5			
Raio da partícula	Rp =	1E-03	cm		
<hr/>					
Coeficiente de transferência de massa	k1 =	7.62 s⁻¹			
	k2 =	6.41 s⁻¹			
<hr/>					
Estimativa de Peclet	Ac = π * r ²	3.1416 cm ²			
(Equação de Edwards e Richardson)	Ui = Q / (εAc)	0.066 cm/s			
	Dax = 0.73Dm + 0.5Udp	7.06E-05 cm ² /s			
	Pe = Ui.Lc / (Dax)	9397			

Tabela D5. Determinação das estimativas do valor de Peclet e do coeficiente de resistência à transferência de massa para o sistema F10.

Soluto = Flurbiprofeno		FM=	C ₁₅ H ₁₃ FO ₂
	MW (g/mol) =	244.27	
	Volume Molar		
	Vb (mL/mol) =	272.8	Increment, mL/mol
	(Le Bas, Poiling et al)		C 14.8 H 3.7 F 8.7 COOH 12 6 ring -15
Solvente: mistura 10EtOH/90C6/0.01TFA (10/90/0.01)			
	EtOH	nC6	
ρ (g/mL)=	0.7894	0.6548	
MW (g/mol)=	46.07	86.18	
%(v/v)=	10	90	
Fracção molar, x =	0.2004	0.7996	
Viscosidade (cP, a 25C)	1.0804	0.2973	
Delta	-0.4470	0.1840	
G12	-0.6310		
Viscosidade da mistura (cP, 25C)	0.3480	(Grunberg Method, Prausnitz pg 474)	
Massa molar do solvente, M =	82.17	g/mol	
Temperatura, T =	296.2	K	
Viscosidade do solvente, η =	0.3480	cP	
Volume molar soluto, Vb =	272.8	mL/mol	
Factor associativo do solvente, φ =	1		
Difusividade molar, Dm =	1.973E-05	cm²/s	(Wilke-Chang, Poiling et al)
Coeficiente entre 10 e 15	Ψ =	10	
Porosidade total	εT =	0.69	
Porosidade interparticular	ε =	0.40	
Porosidade da partícula	εP =	0.48	
Declive inicial da isotérmica	K ₁ = m ₁ + Qb ₁ =	1.87	
	K ₂ = m ₂ + Qb ₂ =	2.73	
Tortuosidade entre 2 e 8	τ =	5	
Raio da partícula	Rp =	1E-03 cm	
Coeficiente de transferência de massa	k1 =	10.20 s⁻¹	
	k2 =	6.99 s⁻¹	
Estimativa de Peclet	Ac = π * r ²	3.1416 cm ²	
(Equação de Edwards e Richardson)	Ui = Q / (ε Ac)	0.066 cm/s	
	Dax = 0.73 Dm + 0.5 Udp	8.07E-05 cm ² /s	
	Pe = Ui.Lc / (Dax)	8216	

Referências

Edwards M. F. and Richardson J. F.; "*The Correlation of Axial Dispersion Data*";
Can. J. Chem. Eng. 48 (1970) 466-467.

Poling B.; Prausnitz J.; O'Connell J.; "*The Properties of Gases and Liquids*"; Fifth
Edition, Mc Graw Hill, 2001.

Rodrigues, A.; Apontamentos das lições teóricas da unidade curricular de
Processos de Separação II do curso de Mestrado Integrado em Engenharia
Química, ano lectivo 2009/2010, FEUP.

Tabela E1. Valores experimentais obtidos em todas as experiências de SMB realizadas para a separação da mistura racêmica de flurbiprofeno.

Exp.	C_F^T (g/L)	Nº Total Ciclos	Caudais SMB (mL/min)								Gamas TMB				Quedas de Pressão (bar)				Parâmetros de Desempenho						
			Q_E	Q_X	Q_F	Q_R	Q_{REC}	Q^*_I	Q^*_{II}	Q^*_{III}	Q^*_{IV}	γ_I	γ_{II}	γ_{III}	γ_{IV}	E	X	R	REC	RCX (%)	RCR (%)	PUX (%)	PUR (%)	SC (L/g)	pr (g/(L.hr))
1	2.07	27	15.83	11.20	3.23	7.86	15.12	30.95	19.75	22.98	15.12	5.404	3.086	3.755	2.128	24	34	17	24	97.7	98.2	99.7	99.7	2.85	2.13
2	20.1	23	15.90	12.00	1.45	5.35	15.10	31.00	19.00	20.45	15.10	5.414	2.931	3.231	2.124	23	34	16	24	99.4	100.1	99.6	99.7	0.59	9.29
3	40.0	28	15.84	12.61	1.03	4.26	14.77	30.61	18.00	19.03	14.77	5.333	2.724	2.937	2.056	22	34	14	23	92.4	99.4	99.4	99.8	0.41	13.1

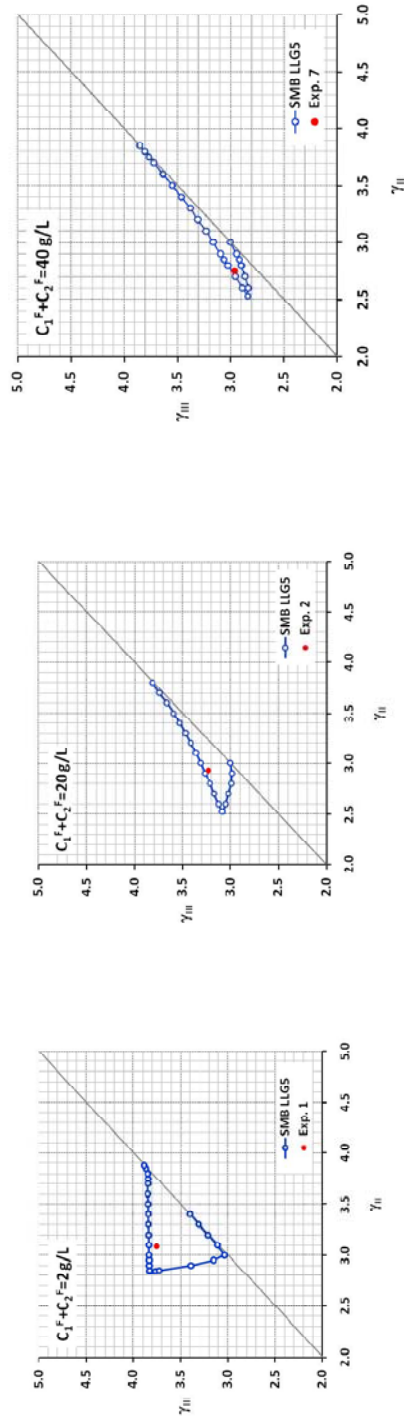


Figura E1. Comparação entre os perfis internos experimentais no estado estacionário cíclico e respectiva previsão obtida por simulação da unidade de SMB para a separação da mistura racêmica de flurbiprofeno utilizando uma concentração da corrente de alimentação de 2 g/L, 20 e 40 g/L.

Tabela E2. Valores Experimentais obtidos em todas as experiências de SMB realizadas para a separação da mistura racêmica de cetoprofeno.

Exp.	C _F ^T (g/L)	Nº Total Ciclos	Caudais SMB (mL/min)										Gamas TMB					Quedas de Pressão(bar)					Parâmetros de Desempenho				
			Q _E	Q _X	Q _F	Q _R	Q _{REC}	Q ₁	Q ₂	Q ₃	Q ₄	Q _{IV}	γ _I	γ _{II}	γ _{III}	γ _{IV}	E	X	F	RE C	RCX (%)	RCR (%)	PUX (%)	PUR (%)	SC (L/g)	pr (g/L.hr)	
3.4	2.03	122	9.36	6.32	0.34	3.38	10.56	19.92	13.60	13.94	10.56	3.121	1.814	1.884	1.185	26	35	14	26	108.9	91.4	100.0	99.7	14.0	0.22		
3.5	2.10	30	9.26	6.27	0.48	3.47	10.76	20.02	13.75	14.23	10.76	3.142	1.845	1.944	1.226	25	35	14	26	99.5	94.9	99.6	100.0	9.66	0.32		
3.6	2.11	28	8.99	6.40	0.64	3.23	10.71	19.70	13.30	13.94	10.71	3.077	1.753	1.884	1.216	25	34	14	26	97.1	95.4	99.4	99.9	7.17	0.43		
3.7	2.02	28	9.21	6.69	0.77	3.29	10.63	19.84	13.15	13.92	10.63	3.105	1.721	1.880	1.199	25	35	14	26	99.2	99.0	100.0	100.0	6.42	0.50		
3.8	2.03	28	9.13	6.79	1.00	3.34	10.56	19.69	12.90	13.90	10.56	3.074	1.669	1.876	1.185	23	34	8	24	102.7	98.9	98.3	100.0	4.99	0.65		
3.9	2.03	28	9.15	6.90	1.10	3.35	10.75	19.90	13.00	14.10	10.75	3.117	1.690	1.917	1.224	26	35	10	27	95.9	92.4	99.6	100.0	4.61	0.71		
3.10	2.02	28	9.12	7.10	1.25	3.27	10.58	19.70	12.60	13.85	10.58	3.076	1.607	1.866	1.189	23	35	8	24	97.7	97.5	93.2	100.0	4.11	0.80		
4.1	10.11	36	9.14	6.88	0.50	2.76	10.74	19.88	13.00	13.50	10.74	3.113	1.690	1.793	1.222	23	36	10	24	93.6	97.0	99.3	100.0	1.91	1.61		
4.2	10.02	32	9.15	7.10	1.00	3.05	10.75	19.90	12.80	13.80	10.75	3.117	1.648	1.855	1.224	22	36	9	24	79.9	95.6	98.7	86.0	1.01	3.19		
4.3	10.00	32	9.16	7.40	1.00	2.76	10.74	19.90	12.50	13.50	10.74	3.117	1.586	1.793	1.222	22	36	9	24	93.0	99.5	97.8	99.9	1.02	3.19		
4.4	10.03	32	9.13	7.09	0.70	2.74	10.76	19.89	12.80	13.50	10.76	3.115	1.648	1.793	1.226	22	36	8	24	95.3	96.9	98.6	100.0	1.40	2.23		
5.1	20.06	36	9.14	7.11	0.51	2.54	10.42	19.56	12.45	12.96	10.42	3.047	1.576	1.681	1.156	22	36	8	24	91.5	92.8	98.7	100.0	0.94	3.26		
5.2	20.06	32	9.20	7.39	0.47	2.28	10.29	19.49	12.10	12.57	10.29	3.033	1.504	1.601	1.129	23	37	8	24	96.7	101.5	96.8	99.9	1.03	3.00		
6.1	40.15	36	9.17	7.34	0.50	2.33	9.97	19.14	11.80	12.30	9.97	2.960	1.441	1.545	1.063	22	36	8	23	74.5	96.8	98.1	82.0	0.84	6.39		
6.2	40.09	40	9.14	7.11	0.25	2.28	9.97	19.11	12.00	12.25	9.97	2.954	1.483	1.535	1.063	22	36	8	23	99.7	91.6	98.3	99.7	0.93	3.19		
6.3	40.22	42	9.16	7.03	0.30	2.43	9.97	19.13	12.10	12.40	9.97	2.958	1.504	1.566	1.063	22	36	7	24	87.6	98.0	98.6	99.8	0.78	3.84		

Na Figura E2 apresentam-se os pontos experimentais relativamente à região de separação definida com o modelo de isotérmica LIG5 e considerando uma pureza mínima de 99.0% para as correntes de extracto e refinado.

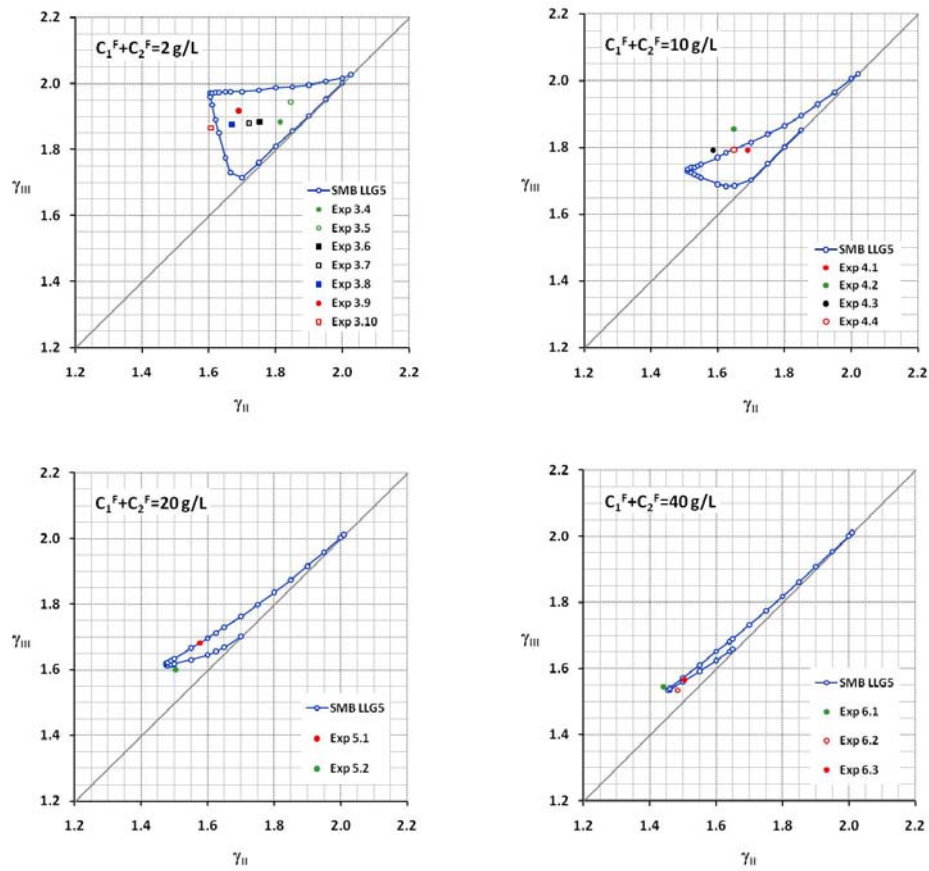


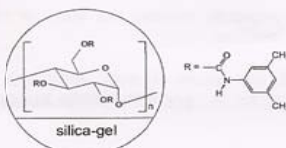
Figura E2. Comparação entre os perfis internos experimentais no estado estacionário cíclico e respectiva previsão obtida por simulação da unidade de SMB para a separação da mistura racémica de cetoprofeno utilizando uma concentração da corrente de alimentação de 2 g/L, 10, 20 e 40 g/L.

ESPECIFICAÇÕES DO ADSORVENTE (DAICEL TECHNOLOGIES EUROPE)

Instruction sheets for the use of 20 µm DAICEL CSPs

CHIRALPAK® AD

Packing composition: Amylose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate) coated on 20 µm silica-gel.



Solvent compatibility

CHIRALPAK® AD

MeOH	EtOH	IPA	ACN ⁽³⁾ (no alkane)	MTBE ⁽⁴⁾
(1)	0-100% in alkane 0-100% in MeOH or IPA ⁽²⁾	0-100% in alkane 0-100% in MeOH or EtOH ⁽²⁾	0-100% in IPA 0-15% or 85-100% in EtOH or MeOH	<20% in alkane or alkane/EtOH

- (1) No range limitation, but due to miscibility restrictions, mix MeOH with an equal volume of EtOH when using with alkane solvents. Otherwise, separation of liquid phases might be observed.
 (2) Certain alcohol mixtures have a higher viscosity. Pressure should be controlled and flow rate reduced if necessary.
 (3) To safely transfer the column from alkane or alcohol mixtures to ACN or from 15% to 85% ACN in alcohol mixtures it is essential to use 100% IPA as a transition mobile phase at a smaller flow rate, due to the higher viscosity of IPA.
 (4) Long equilibration times are usually needed for mobile phases containing MTBE in order to have reproducible results.

Operating procedure

- Samples should be dissolved in the mobile phase and should be filtered through a membrane filter (0.2-0.5µm porosity).
- For basic samples, the addition of N,N-diethylamine (DEA) or other basic modifier (i.e. triethylamine, butylamine) is required (0.01% to 0.5% MAXIMUM). For preparative purposes, 0.05% is usually enough.
- For acidic samples, the addition of trifluoroacetic acid (TFA) or acetic acid as a modifier is required (0.1% to 0.5% MAXIMUM)
- Pressure should be maintained below 50 bar (700 psi) for maximum column life.
- Temperature: 0°C to 40°C.

Notes:

1. The retention is generally shorter with ethanol than with 2-propanol.
2. The retention is generally shorter with higher alcohol content.
3. The use of other alcohols is possible, but effectiveness and compatibility cannot be guaranteed.
4. The use of more polar solvents as 100% methanol or 100% acetonitrile is possible with CHIRALPAK® AD columns (see table). Nevertheless once the column is transferred to a polar mode it might need longer equilibration times to come back to a normal phase application. To safely transfer the column from hexane to methanol or acetonitrile or between different polar solvents, it is strongly recommended to use 100% 2-propanol as a transition mobile phase at a lower flow rate (high viscosity of 2-propanol). Acetonitrile / Alcohol **other than 2-propanol** or the mentioned ranges of methanol and ethanol (see table) may destroy the column. Compatibility of such mixtures with the chiral stationary phase cannot be guaranteed.

CHIRAL TECHNOLOGIES EUROPE • Bd Gonthier d'Andermach • BP 80140 • 67404 Illkirch – Cedex • FRANCE
 Tel.: + 33 (0) 3 88 79 52 00 • Fax: + 33 (0) 3 88 66 71 66 • email: cte@chiral.fr • web site: <http://www.chiral.fr>

Please contact CHIRAL TECHNOLOGIES EUROPE for further assistance before trying any unusual solvents

Maintenance

For columns dedicated to polar solvents, remove the basic or acidic modifier if any by flushing with the regular mobile phase minus the modifier.

When washing is required, use pure ethanol, methanol or acetonitrile. Before flushing 100% acetonitrile use 100% 2-propanol as a transition mobile phase at a lower flow rate (high viscosity of 2-propanol).

Important Notice

- ⇒ STRONGLY BASIC solvent modifiers or sample solutions MUST BE AVOIDED, because they are likely to damage the silica gel used in this column.
- ⇒ If desired, iso-hexane or heptane may be used in place of n-hexane. Some small selectivity differences may sometimes be found, especially with iso-hexane
- ⇒ This instruction sheet is not applicable to any other DAICEL columns.
- ⇒ If you have any question about the use of this column, or encounter problems in its use please contact CHIRAL TECHNOLOGIES EUROPE for assistance (cte@chiral.fr).

Operation of this column in accordance with the guidelines outlined here will result in a long column life.

- ⇒ For guidance concerning the selection of DAICEL columns, please refer to the publication "Application Guide for Chiral Column Selection" available from CHIRAL TECHNOLOGIES EUROPE.
- CHIRALPAK® is a registered trademark of DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

Identificação dos enantiómeros R e S dos profenos

Identificação dos enantiómeros de cetoprofeno

Os enantiómeros de cetoprofeno foram identificados através de experiências de cromatografia frontal na coluna preparativa (dimensões analíticas, 20 μm) utilizando a mistura racêmica e um padrão de S-cetoprofeno. Estas experiências foram realizadas utilizando um detector ultravioleta em série com um detector polarímetro (Figura G1).



Figura G1. Montagem Experimental com o detector Ultravioleta em série com o detector Polarímetro.

Montagem Experimental:

Sistema Jasco HPLC equipado com um detector UV-1575, a 260 nm, uma célula UV com percurso óptico de comprimento 1.0 mm (preparativo) e uma válvula de injeção Rheodyne 7725(i) com um *loop* de 20 μl ; Polarímetro Chiralyser (IBZ, Messtechnik, GMBH), com um comprimento de percurso óptico de 200 mm e diâmetro de 0.5 mm (analítico).

Coluna:

Preparativa: amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) revestida num suporte de sílica-gel de 20 μm , 250 mm L x 4.6 mm ID, Chiralpak AD (Daicel Chemical Industries, Japão);

Materiais:

Etanol para HPLC, ácido trifluoracético (TFA) pureza espectrofotométrica, mistura racémica de cetoprofeno e enantiómero S-cetoprofeno (*S(+)-Ketoprofen*), (Sigma, Madrid, Espanha).

Destas experiências, apresentam-se na Figura G1 os resultados experimentais obtidos com uma mistura racémica (à esquerda) de concentração 1.10 g/L com uma solução de padrão de enantiómero S (à direita) de concentração 0.50 g/L. Utilizou-se uma fase móvel com a composição de 100%etanol/0.01%TFA, um caudal de 0.5 mL/min, e uma sensibilidade de 2.56 para o detector UV e de 512 para o detector POL.

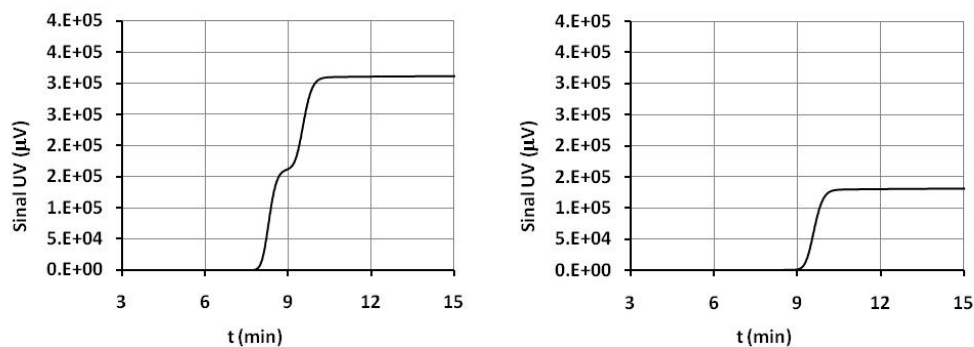


Figura G2. Resposta do detector Ultravioleta (UV) nas experiências de cromatografia frontal da mistura racémica de cetoprofeno (à esquerda) e do padrão de S-cetoprofeno, numa fase móvel de composição 100%etanol/0.01%TFA, a T=25°C.

Com estas experiências pretende-se identificar qual dos enantiómeros é o menos e o mais retido, respectivamente. Pode verificar-se, por comparação das duas experiências que o enantiómero S é aquele que é mais retido, sendo o enantiómero R o menos retido. A designação utilizada de (-) para o enantiómero R e (+) para o enantiómero S refere-se ao sentido de polarização sofrido num polarímetro, conforme se pode interpretar nos resultados obtidos com o detector Polarímetro (Figura G3).

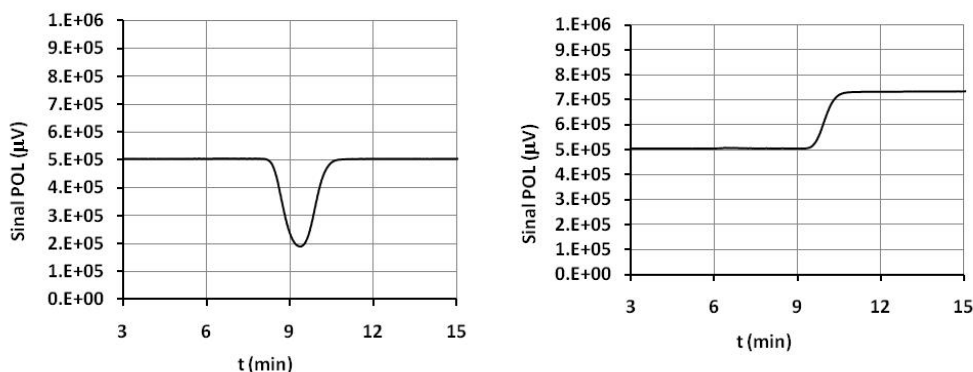


Figura G3. Resposta do detector Polarímetro (POL) nas experiências de cromatografia frontal da mistura racêmica de cetoprofeno (à esquerda) e do padrão de S-cetoprofeno, numa fase móvel de composição 100%etanol/0.01%TFA, a T=25°C.

Conclusão:

Enantiómero menos retido: R(-)-cetoprofeno

Enantiómero mais retido: S(+)-cetoprofeno

Identificação dos enantiómeros de flurbiprofeno

Os enantiómeros de flurbiprofeno foram identificados através de experiências de cromatografia de eluição na coluna preparativa (dimensões analíticas, 20 µm) utilizando a mistura racêmica e os dois padrões de R-flurbiprofeno e S-flurbiprofeno. Estas experiências foram realizadas utilizando um detector ultravioleta.

Montagem Experimental:

Sistema Jasco HPLC equipado com um detector UV-1575, a 260 nm, um célula UV com percurso óptico de comprimento 1.0 mm (preparativo) e uma válvula de injeção Rheodyne 7725(i) com um *loop* de 200 µl.

Coluna:

Preparativa: amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) revestida num suporte de sílica-gel de 20 µm, 250 mm L x 4.6 mm ID, Chiralpak AD (Daicel Chemical Industries, Japão).

Materiais:

Metanol para HPLC, ácido trifluoracético (TFA) pureza espectrofotométrica, mistura racémica de flurbuprofeno e enantiómeros R-flurbiprofeno (*R(-)-2-Fluoro- α -methyl-4-biphenylacetic acid*) e S-flurbiprofeno (*S(+)-2-Fluoro- α -methyl-4-biphenylacetic acid*), (Sigma, Madrid, Espanha).

Destas experiências, apresentam-se na Figura G4 os resultados experimentais obtidos com uma mistura racémica de concentração 5.09 g/L (em cima), com uma solução de padrão de enantiómero R de concentração 2.5 g/L (ao centro) e com uma solução de padrão de enantiómero S de concentração 2.5 g/L (em baixo). Utilizou-se uma fase móvel com a composição de 100%metanol/0.01%TFA, um caudal de 0.5 mL/min e, uma sensibilidade de 2.56 para o detector UV.

Conclusão:

Enantiómero menos retido: R(-)-Flurbiprofeno

Enantiómero mais retido: S(+)-Flurbiprofeno

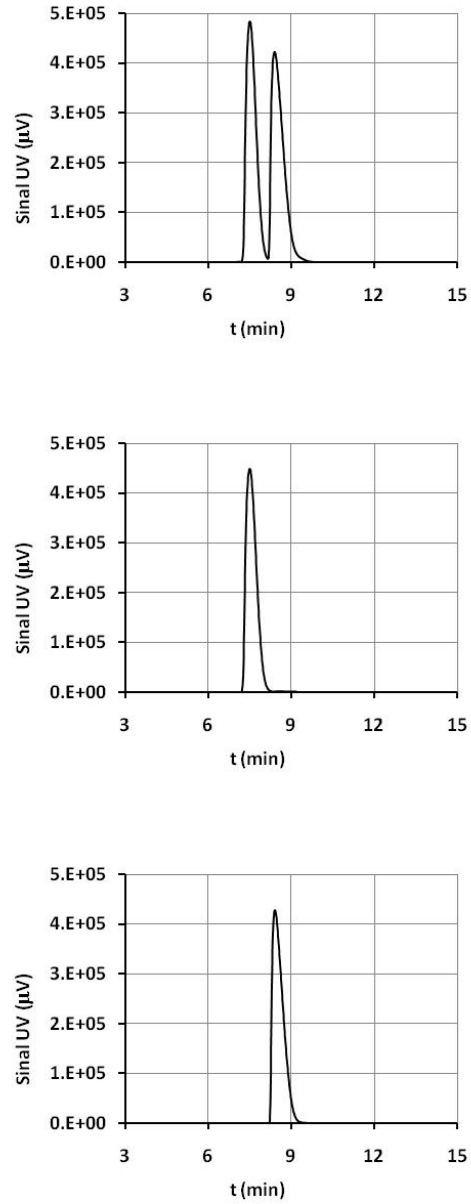


Figura G4. Resposta do detector Ultravioleta (UV) nas experiências de cromatografia de eluição da mistura racêmica de flurbiprofeno (em cima), do padrão de R-flurbiprofeno (ao centro) e do padrão de S-flurbiprofeno (em baixo), numa fase móvel de composição 100%metanol/0.01%TFA, a T=25°C.