

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
– UNESP – LICENCIATURA EM QUÍMICA**

Mayara Barbosa Santos

**REVISÃO SOBRE FÁRMACOS QUIRAIS E A SUA IMPORTÂNCIA NA MEDICINA
ATUAL**

Bauru- SP

2012

Mayara Barbosa Santos

Revisão sobre fármacos quirais e a sua importância na medicina atual

Monografia de conclusão de curso apresentada ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista, Campus Bauru, como parte do requisito para obtenção do Grau em Licenciatura em Química, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Sandra Regina Rissato.

Bauru-SP

2012

RESUMO

São discutidos aspectos sobre a quiralidade dos fármacos e a sua ação no organismo humano, os benefícios da utilização de um medicamento na forma enantiomérica pura e o motivo de, ainda hoje, mesmo diante dos riscos, muitos fármacos serem comercializados como mistura racêmica. Dentre os métodos de separação destaca-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) que pode ser apresentada de diversas maneiras utilizando-se aditivos quirais na fase móvel como no sistema de troca de ligantes, no sistema de par iônico e no sistema de cavidade ou inclusão. Destaca-se ainda a grande diversidade de fases estacionárias quirais disponíveis no mercado, que permitem alta especificidade utilizando-as de acordo com a necessidade e o objetivo do método. A revisão do tema é de extrema importância já que é um assunto de interesse público mundial que coloca em jogo questões financeiras e políticas.

Palavras chaves: enantiômeros, quiralidade, racematos

ABSTRACT

Aspects are discussed on the chirality of drugs and their action in the human body, the benefits of using a drug in enantiomerically pure form and why, even today, despite the risks, many drugs are marketed as racemic mixture. Among the methods of separation there is the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) which can be given in different ways using chiral additives in the mobile phase as in the system of ligand exchange in the ion pair system and the system of cavity or inclusion. Note also the wide variety of chiral stationary phases available in the market that allow high specificity using them according to the need and purpose of the method. The review of the topic is extremely important since it is a matter of public interest world that brings into play issues and financial policies.

Keywords: enantiomers, chirality, racemates

SUMÁRIO

1 . Introdução	05
1.1 . Definições	07
1.2 . Ações de Fármacos no Meio Ambiente	08
2 . Atividade Biológica	10
2.1 . A Estereoquímica dos Fármacos	13
3 . Métodos de Separação	16
3.1 . Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Fase Quiral (CLAE-FQ)	17
3.1.1 . Separação Cromatográfica de Diastereoisômeros	17
3.1.2 . Utilização de Aditivos Quirais na Fase Móvel	18
3.1.2.1 . Troca de Ligantes	18
3.1.2.2 . Cromatografia de Par Iônico	19
3.1.2.3 . Cavidade ou Inclusão	19
3.1.3 . Utilização de Fases Estacionárias Quirais (colunas quirais)	21
3.1.3.1 . Fases Estacionárias Quirais Derivadas de Polissacarídeos	23
3.1.3.2 . Fases Estacionárias Quirais Proteicas	27
3.1.3.3 . Fases Estacionárias Diversas	29
4 . Considerações Finais	30
Referências Bibliográficas	32

1. INTRODUÇÃO

A história dos fármacos tem início com o estudo dos produtos naturais no século XIX, á partir de alcaloides presentes em plantas medicinais. Tais alcaloides foram isolados na sua forma pura (Tabela 1).

TABELA 1- Produtos Naturais descobertos no século XIX

Produto Natural	Ano	Autor
Morfina	1817	Sertuner
Brucina	1819	Pelletier e Caventou
Atropina	1831	Hesse
Codeína	1832	Robiquet
Ácido Cinâmico	1834	Dumas e Peligot
Tirosina	1846	Liebig
Papaverina	1848	Merck
Cocaína	1859	Niemann

Fonte: QUÍMICA NOVA, 1997, p.650.

A síntese do p-aminobenzoato, utilizado como anestésico em substituição a cocaína, foi um marco na química farmacêutica. Começa-se então a refletir sobre a atividade biológica de uma determinada substância, que esta inteiramente ligada a sua estrutura molecular. Novas moléculas, que possuíam a subunidade estrutural responsável pelo princípio ativo, foram descobertas utilizando produtos naturais como protótipos o que levou ao desenvolvimento de novas substâncias bioativas. Foi então que a química sintética passou a predominar no meio terapêutico onde hoje ocupa 75%, substituindo os produtos naturais (BARREIRO et al.,1997). A maioria dos fármacos foram produzidos para a venda na forma racêmica, as exceções devem-se aos fármacos semi-sintéticos, produzidos tomando-se como matéria prima os produtos naturais, dentre eles destacam-se antibióticos, hormônios esteroidais e glicosídeos cardíacos. Tal fato se deve a falta de tecnologia, debilitada na época, ou mesmo ao elevado custo para que se isolassem os racematos. Durante muito tempo a questão da quiralidade foi ignorada pela população terapêutica.

A talidomida foi comercializada inicialmente como sedativo hipnótico em 1957 e teve sua venda disseminada em países europeus, asiáticos, no Canadá e na América do Sul (LIMA, 2001). Posteriormente, no início da década de 60, foi indicada como agente anti-naúseas muito utilizado por gestantes, causando mais tarde deformações congênitas em milhares de crianças em todo o mundo. Estudos cromatográficos indicaram que o efeito teratogênico era causado pela presença do enantiômero de configuração (S) (figura 1). A descoberta dos efeitos teratogênicos provocados pela talidomida em gestantes nos meses iniciais marca o início da conscientização de possíveis riscos decorrentes do uso de fármacos em sua forma racêmica (LIMA, 2001).

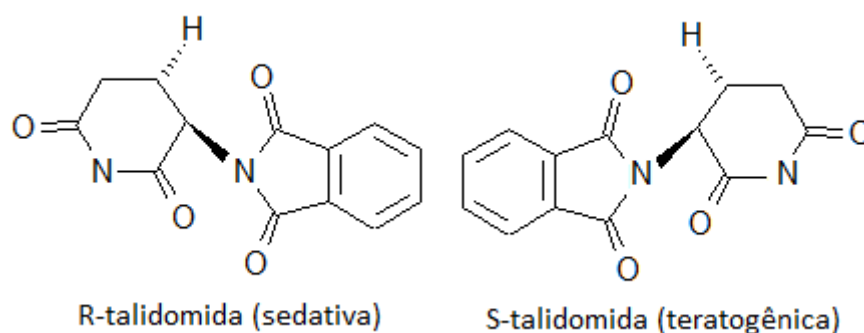


Figura 1 – Demonstração esquemática dos enantiômeros da talidomida

Hoje, sabe-se que a atividade de um fármaco está inteiramente ligada à sua disposição espacial e à existência de enantiômeros. Enquanto um de seus enantiômeros apresenta um efeito terapêutico, o outro pode apresentar um efeito totalmente contrário ou mesmo os dois apresentarem a mesma atividade, porém um deles causar um efeito indesejado. Fármacos cujos enantiômeros são puros possuem uma ação bem superior se comparados às suas respectivas misturas racêmicas. Para que uma mistura racêmica seja utilizada como medicamento, todos os ensaios químicos e toxicológicos devem ser realizados com cada enantiômero isoladamente e comparados à mistura racêmica.

Apesar do investimento em tecnologias para a concepção de fármacos enantiômericamente puros, a comercialização de misturas racêmicas ainda é muito frequente. As dificuldades encontradas nas sínteses de enantiômeros puros, que em sua maioria acontecem em várias etapas, torna o custo muito elevado sendo inviável economicamente manter este medicamento no mercado (LIMA 1997).

Cada vez mais, trabalhos são publicados em diversos campos relacionando a farmacocinética, a farmacodinâmica e o desenvolvimento de métodos analíticos o que indica o interesse cada vez maior no estudo de fármacos enantiomericamente puros.

1.1 Definições

Os isômeros são substâncias que possuem a mesma fórmula molecular, porém não são idênticos. Dividem-se em isômeros de constituição, os quais se diferem na maneira com que os átomos estão ligados, e estereoisômeros os quais estão conectados da mesma forma, porém diferem-se na maneira em os átomos estão distribuídos no espaço (BRUICE, 2006). Tais estereoisômeros dividem-se em duas classes: isômeros cis-trans e isômeros com centros quirais.

Isômeros cis-trans resultam de uma rotação limitada decorrente de uma ligação dupla ou mesmo de uma estrutura cíclica. No isômero cis os hidrogênios localizam-se do mesmo lado da ligação dupla enquanto nos isômeros trans os hidrogênios localizam-se em lados opostos (figura 2).

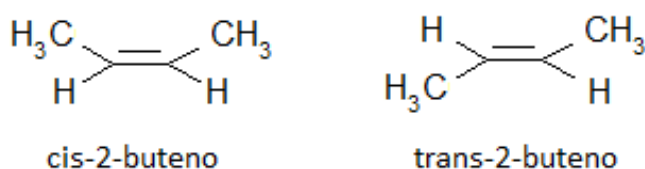


Figura 2 – Representação dos isômeros do 2-buteno

O centro quiral é caracterizado pelo carbono assimétrico, um carbono ligado a quatro grupos diferentes. Entretanto, outros átomos como o fósforo e o nitrogênio também podem ser centros quirais desde que possuam quatro ligantes diferentes. Substâncias com carbonos assimétricos distinguem-se em dois estereoisômeros cujas moléculas possuem imagens especulares não sobreponíveis e são chamadas de enantiômeros. A molécula 2-butanol possui um centro quiral e conseqüentemente dois enantiômeros (figura 3).

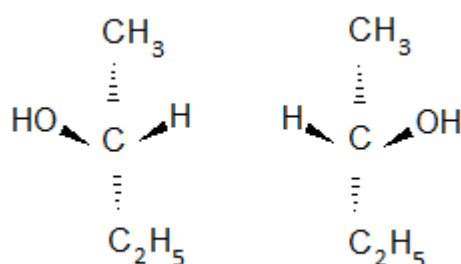


Figura 3 - Representação dos enantiômeros do 2-butanol

As misturas racêmicas ou os racematos possuem a mesma proporção de enantiômeros (50:50) e inatividade ótica uma vez que um de seus enantiômeros desvia o plano da luz para um certo valor o outro ira desviar para o sentido oposto anulando o anterior (LIMA, 1997). O sistema de Cahn-Ingold-Prelog determina dois enantiômeros de configurações distintas R e S as quais representam a disposição dos átomos, ou grupos de átomos ao redor do centro quiral.

1.2 Ações de fármacos no meio ambiente

Até o início dos anos 90, os metais pesados e os poluentes orgânicos persistentes eram as maiores preocupações em relação à degradação ambiental, entretanto, novos contaminantes como produtos farmacêuticos e de higiene pessoal também estão sendo incluídos. As principais características destes contaminantes é que não precisam de um acúmulo para que os efeitos negativos ocorram já que o seu despejo é contínuo (VANZOLINI, 2009). Contaminantes polares, assim como os fármacos, são nocivos devido às suas propriedades físico-químicas (elevada solubilidade em água e difícil degradação), aparecem em todas as etapas de

filtração natural e tratamento de esgotos. Fármacos possuem um tempo de meia vida reduzido em ambiente aquático, cerca de poucos dias, em alguns casos até horas, entretanto o despejo contínuo pode ocasionar níveis consideráveis de contaminação.

O crescente uso de medicamentos utilizados na medicina humana e veterinária os torna uma das maiores fontes de contaminação. Águas contendo resíduos de fármacos são despejadas diretamente, ou mesmo nas estações de tratamento de esgotos. A remoção incompleta dessas substâncias leva a um grande número de fármacos originais e seus metabólitos despejados no ambiente.

Os fármacos seguem uma trajetória até chegarem ao meio ambiente, são administrados, absorvidos, metabolizados e excretados pelo organismo. Na estação de tratamento de esgoto o fármaco pode ser mineralizado a gás carbônico e água, se degradar parcialmente através de um processo metabólico ou se acumular no meio (VANZOLINI, 2009).

Uma boa parte dos fármacos é absorvida pelo lodo nos tanques de tratamento de esgoto e quando este lodo for utilizado como fertilizante agrícola ocorrerá a contaminação do meio. Animais que tiveram a administração de fármacos podem contaminar o solo através das fezes já que as mesmas podem escoar atingindo águas subterrâneas ou mesmo águas superficiais através da chuva.

2. ATIVIDADE BIOLÓGICA

Quando os fármacos são absorvidos pelo organismo, passam por diferentes fases e em cada uma delas são discriminados. Os sistemas biológicos são dotados de quiralidade e formam complexos ao interagirem com um par de enantiômeros (FRAGA, 2001). Esse par é denominado complexo diastereoisomérico que possui a mesma quiralidade no sistema biológico e diferentes propriedades físico-químicas (figura 4).

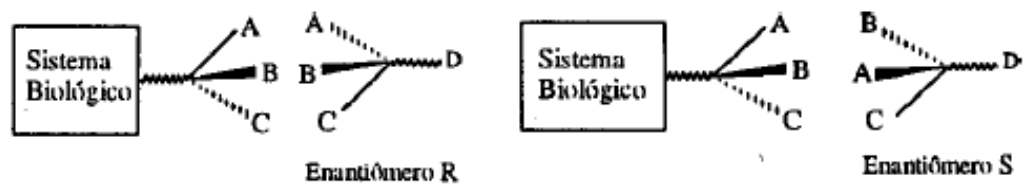


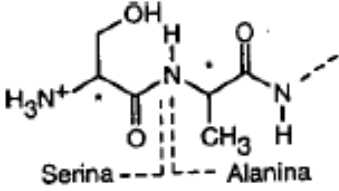
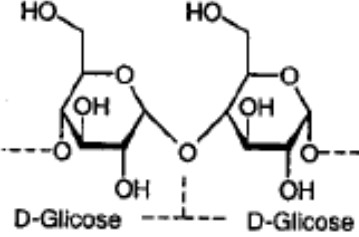
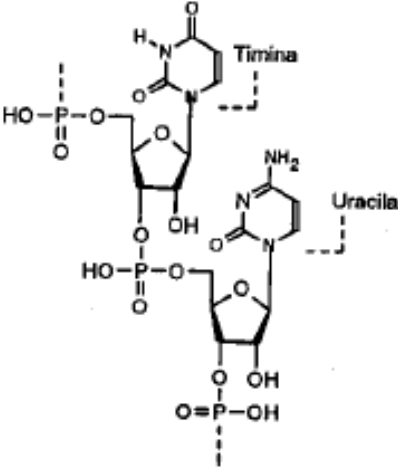
Figura 4 - Complexos diastereoisômeros formados pela interação entre um receptor quiral e um par de enantiômeros

Fonte: QUÍMICA NOVA, 1997, p648.

Uma glicoproteína presente na membrana celular e responsável pelo transporte ativo de substâncias para o meio interno da célula, pode possuir permeabilidades distintas. Se o transporte é feito por uma substância quiral, a absorção de cada enantiômero apresentará velocidades diferentes. Os complexos diastereoisoméricos modificam a biomembrana resultando em permeabilidades distintas, assim como a distribuição na biofase já que os complexos apresentam estabilidades também distintas (BARREIRO et al.,1997).

A especificidade de enantiômeros está presente em vários níveis de interação com o sistema biológico. Tal fato explica as diferenças elevadas na toxicidade e nas propriedades farmacoterapêuticas dos enantiômeros de fármacos quirais. Alguns destes fármacos são apresentados na tabela 2.

TABELA 2 - Quiralidade resultante do arranjo tridimensional de monômeros quirais

Monômero Quiral	Estrutura Simplificada do Polímero	Estrutura Terciária do Polímero
α -Amino-ácido	 <p style="text-align: center;">Serina --- Alanina</p>	Proteínas Estruturas enoveladas
Monossacarídeo	 <p style="text-align: center;">D-Glicose --- D-Glicose</p>	Polissacarídeos, glicoproteínas, glicoconjugados, etc Estruturas enoveladas
Ribonucleosídeo	 <p style="text-align: center;">Timina Uracila</p>	RNA(s) Estruturas em dupla hélice

Fonte: QUÍMICA NOVA, 1997, p649.

Para explicar este fenômeno podemos utilizar o reconhecimento de aroma e sabor do organismo. Propriedades organolépticas são totalmente dependentes da quiralidade, enquanto a (R)-carvona tem um odor de hortelã, a (S)-carvona cheira alcavária, enquanto o (S,S) aspartame tem sabor adocicado o (S, R) aspartame tem sabor amargo (Figura 5).

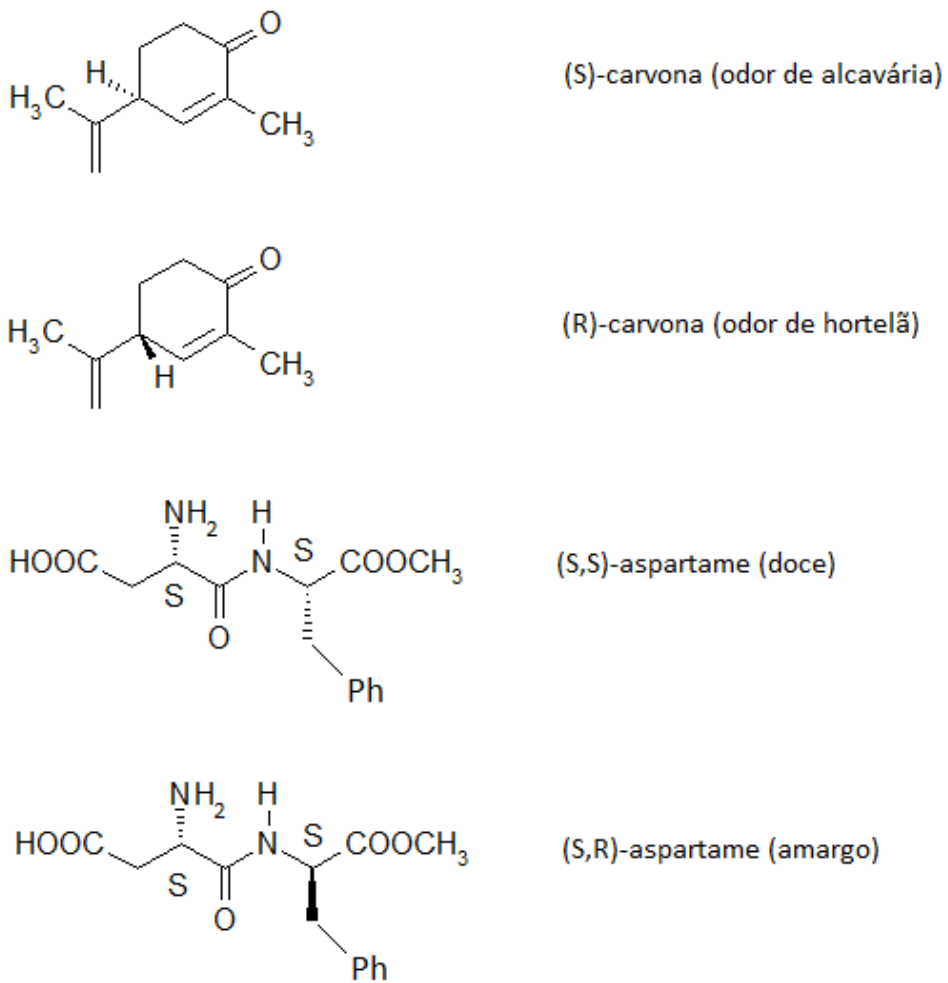


Figura 5 - Configuração absoluta e resposta biológica

As interações supramoleculares baseadas nas forças de van de Waals, interações dipolo-dipolo, interações eletrônicas e pontes de hidrogênio do fármaco com o receptor biológico são os motivos desta diferenciação no reconhecimento das moléculas (BARREIRO et al.,1997).

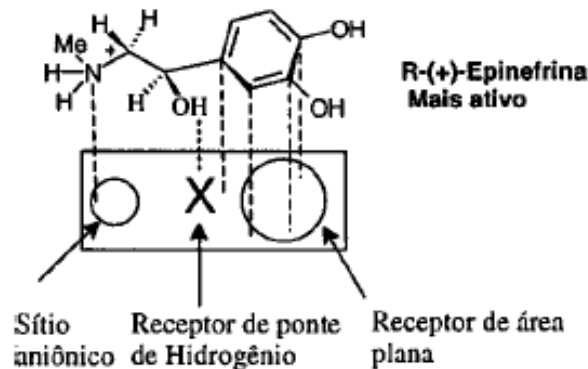


Figura 6 - Receptor da epinefrina

Fonte: QUÍMICA NOVA, 1997, p649.

A (R)-epinefrina, um dos nossos neurotransmissores, exibe três tipos de interações com o bioreceptor (orbitales, dipolo-dipolo e ponte de hidrogênio) enquanto que no enantiômero (S)-epinefrina a interação de ponte de hidrogênio não ocorre, o que torna o isômero (R) mais ativo. Vale ressaltar que nem sempre os enantiomêros apresentarão o mesmo número de interações com os respectivos bioreceptores.

2.1 A estereoquímica dos fármacos

Vários pesquisadores brasileiros alertam sobre a importância da quiralidade dos fármacos (SANTOS et al,2007; COELHO, 2001; BARREIRO et al, 1997; LIMA, 1997; BERMUDEZ & BARRAGAT, 1996). São visíveis diferenças estereosseletivas em muitos fármacos, tanto na potência, toxicidade, absorção e metabolismo (Tabela 3).

TABELA 3 – Diferenças farmacocinéticas e farmacodinâmicas de alguns fármacos quirais

Fármaco quiral	Diferenças farmacocinéticas e ou farmacodinâmicas dos enantiômeros
Praniquantel (anti-helmíntico)	A atividade anti-helmíntica é associada principalmente ao (-)-(R)-enantiômero, que também é preferencialmente metabolizado (Andrews,1985).
Varfarina (anticoagulante)	A potência da (-)-(S)-varfarina é 2 a 5 vezes maior que a da (+)-(R)-varfarina (Hyneck et al., 1990).
Propafenona (antiarrítmico)	O (+)-(S)-enantiômero possui efeito β -bloqueador cerca de 100 vezes maior que o (-)-(R)-enantiômero (Kroemer et al., 1989). A propafenona possui metabolismo polimórfico (Kroemer et al., 1989) e com inibição competitiva no metabolismo da (+)-(S)-propafenona pela (-)-(R)- propafenona (Kroemer et al., 1994).
Propoxifeno (analgésico e antiinflamatório)	O enantiômero (+)-(2S, 3R)-propoxifeno tem propriedade analgésica, enquanto o seu isômero óptico (-)-(2R, 3S)-propoxifeno possui propriedade antitussígena (Magoon et al., 2002).
ácidos 2-arilpropiónico (AINE)	Alguns derivados sofrem inversão metabólica do enantiômero inativo (R)- ao enantiômero ativo (S)- (Soglowek et al., 1992).

Fonte: REVISTA ELETRÔNICA DE FARMÁCIA, 2007, p.12.

Com isso, as agências mundiais regulamentadores de saúde exigem o estudo dos enantiômeros isolados, incluindo a avaliação de racemização do centro quiral além de preconizar a comercialização de fármacos quirais na forma de enantiômeros puros (SHINDO & CALDWELL, 1995). Muitos países tem a sua própria legislação referente ao desenvolvimento e comercialização de fármacos, entretanto, é notável que muitos pontos são convergentes em relação a importância do tema e as normas exigidas, em especial aos ensaios de bioequivalência (NOEL et al.,2004). A Anvisa é que regulamenta as legislação vigentes no Brasil através da RE nº896 e RDC nº135, ambas de 29 de maio de 2003.

Se dois enantiômeros possuírem potência de ação diferente, recomenda-se pela IUPAC que aquele que tiver a maior ação farmacológica e afinidade pelo receptor deve ser denominado eutômero, por sua vez, o enantiômero de ação indesejada deve ser denominado distômero. Além disso, a proporção da atividade

do eutômero em relação ao distômero recebe a denominação de razão audísmica e representa a eficácia ou estereoespecificidade do enantiômero mais ativo (ORLANDO et al., 2007).

A denominação utilizada para o estudo, desenvolvimento, produção e comercialização de um enantiômero puro de um racemato original é “chiral switching”, desta forma muitas empresas estendem o período de patente do fármaco. A tabela 4 indica medicamentos que, após a modificação de patentes, foram produzidos na forma pura. Somente em 2011 o mercado com fármacos enantioméricos puros foi superior a 147 bilhões de dólares (RAMACHANDRAN & SINGLA, 2002).

TABELA 4 – Exemplos de racematos que atualmente existem também na forma de enantiômeros puros.

Mistura racêmica	Enantiômero puro	Nome comercial
Omeprazol (R + S-omeprazol)	Esomeprazol ((-)-(S)-omeprazol)	Nexium
Citalopran (R + S-citalopran)	Escitalopram ((+)-(S)-citalopram)	Cipraxel
Albuterol (R + S-albuterol)	Levalbuterol ((-)-(R)-albuterol)	Xopenex
Ofloxacino (R+S-ofloxacino)	Levofloxacino ((-)-(S)-ofloxacino)	Cravit
Ibuprofeno (R+S-ibuprofeno)	Dexibuprofeno ((+)-(S)-ibuprofeno)	Seractil

Fonte: REVISTA ELETRÔNICA DE FARMÁCIA, 2007, p.12

Sabe-se que há muitas vantagens do enantiômero puro em relação ao racemato, porém nem sempre isso pode ser considerado como regra. O anti-hipertensivo labetalol teve o desenvolvimento do seu enantiômero puro, dilevalol, cancelado devido a hepatotoxicidade causada pelo mesmo. A mirtazapina é comercializada na forma de racemato, a (+)-(S)-mirtazapina possui 10 vezes mais afinidade por receptores α_2 -pós-sinápticos e cerca de 37 vezes mais potente para inibir autorreceptor α_2 se comparada a (-)-(R)-mirtazapina (DE BOER et al., 1995). Por outro lado, a (-)-R-mirtazapina é um inibidor do receptor 5-hifroxitriptamina cerca de 140 vezes mais potente. Sendo o racemato específico para cada objetivo não seria favorável à comercialização de um dos enantiômeros puro. Cada caso deve ser estudado minuciosamente para que a aplicação do fármaco seja a mais favorável.

3. MÉTODOS DE SEPARAÇÃO

A partir da década de 60, a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência começaram a ser empregadas para a separação de enantiômeros. As colunas de pequenas partículas para cromatografia líquida foram responsáveis pelo desenvolvimento das fases estacionárias quirais e como consequência o isolamento de misturas racêmicas de fármacos.

As técnicas cromatográficas empregando fases estacionárias permitem a identificação, separação e quantificação de uma boa parte das misturas racêmicas, em várias matrizes, em especial no controle de qualidade de fármacos quirais, tal fato incentivou ainda mais o crescimento e desenvolvimento desta área (ABOUL-ENEIN e ABOU-BASHA, 1996).

A cromatografia líquida inclui dois modos para a separação destes enantiômeros, o método direto e o indireto. No método indireto os enantiômeros são transformados em diastereoisômeros covalentes por reação com um agente quiral e estes diastereoisômeros, que possuem propriedades físico-químicas distintas, são separados utilizando fase estacionária quiral de rotina. O método direto, assim como o próprio nome diz, implica na injeção direta dos enantiômeros ou seus derivados na coluna que possui a fase estacionária quiral, ou utiliza-se uma fase móvel contendo aditivos quirais ou um solvente quiral (SINGH, 2002).

Outros métodos podem ainda ser utilizados para a separação, identificação e quantificação de enantiômeros tais como a eletroforese capilar (EC), a cromatografia gasosa (CG), a cromatografia em camada delgada (CCD), a cromatografia com fluído supercrítico (CFS) e a cromatografia em papel. Entretanto, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode ser considerada a técnica mais eficiente e mais utilizada, sendo que o sucesso da determinação vai depender da utilização da fase estacionária quiral (FEQ) adequada (BOBBITT e LINDER, 2001).

Um método analítico só é considerado seguro na análise de fármacos quirais se for submetido a um processo de validação, que visa a comprovação da precisão, exatidão e aplicabilidade. A Farmacopéia Americana diz que para que esta validação ocorra deve-se obter um processo comprovado por meio de estudos laboratoriais. Vários órgãos reguladores como a "Association of Official Analytical

Chemists International” e a “International Conference on Harmonization” promovem orientação e métodos para que tal validação seja efetiva.

Para que novos fármacos quirais sejam desenvolvidos há a necessidade da quantificação e validação de ensaios analíticos cujo principal objetivo é demonstrar se tal método é adequado para a aplicação. O enantiômero não desejado pode ser considerado como impureza. A liberação do medicamento no mercado só acontece após a comprovação de um método analítico adequado o que garantirá a segurança e qualidade do produto (SANTORO, 2001).

3.1 Cromatografia líquida de alta eficiência de fase quiral (CLAE-FQ)

A separação cromatográfica de enantiômeros necessita de algum discriminador ou seletor quiral, como por exemplo: uma fase estacionária quiral ou um aditivo quiral na fase móvel.

Abaixo segue a descrição de alguns métodos empregados e respectivos mecanismos de separação:

3.1.1 Separação cromatográfica de diastereoisômeros

É um dos métodos mais antigos e foi vastamente utilizado. A habilidade de derivação da molécula alvo é o que determina a derivatização em uma pré-coluna de uma substância opticamente ativa com outra molécula opticamente ativa. A utilização da técnica se deu com uma grande variedade de colunas, fase normal e reversa, e fases móveis. Tem como vantagens a utilização de acessório padrão da CLAE e fases móveis facilmente encontradas, detecção do soluto com baixa absorção em ultravioleta e uma facilidade de aplicação o que torna o acesso mais fácil. Entretanto, esse método pode apresentar algumas limitações já que o composto a ser analisado necessita ser isolado o que dificulta a automatização para uma grande quantidade de amostras. Falsos resultados também podem ocorrer já que os agentes derivantes podem se contaminar além das diferentes velocidades de reação que ocasionam dois produtos diastereoisôméricos em proporções diferentes da composição inicial (SINGH, 2002).

3.1.2 Utilização de aditivos quirais na fase móvel

Neste método há a formação de complexos diastereoisômeros com um composto quiral adicionado a fase móvel. A resolução é o resultado da diferença de estabilidade dos complexos diastereoisoméricos na ligação destes ao suporte sólido ou na solvatação da fase móvel. Contudo, a escolha do aditivo deve ser minuciosa e alguns fatores devem ser levados em consideração: a fase móvel deve ser de fácil manipulação, os reagentes instáveis devem ser evitados, o reagente quiral deve formar diastereoisômeros estáveis e com solutos de enantiômeros que possam ser removidos sem derivatização, que se possa utilizar colunas de uso frequente e de fácil acesso no mercado e que as impurezas não enantioméricas sejam determináveis (SINGH, 2002).

O método apresenta certas limitações já que a adição de aditivos torna a fase móvel mais complexa e o detector necessita de uma alta sensibilidade e especificidade. Os três principais caminhos resultantes na formação de complexos diastereoisoméricos estão baseados na formação de complexos reversíveis, eles podem ser transitórios com metais iônicos, pares iônicos e de inclusão.

3.1.2.1 Troca de ligantes

Baseia-se na formação de complexos diastereoisoméricos com um íon metálico transitório (M), o soluto racêmico (d e l) e o enantiômero individual da molécula quiral (L).

Os complexos diastereoisoméricos podem ser mistos, tal como L-M-d e L-M-l. Um dos mais utilizados íons metálicos transitórios é o Cu^{2+} e o aminoácido L-prolina o seletor. Estes complexos diastereoisoméricos são estabilizados por interações dipolo-dipolo, estéricas e ligações de hidrogênio (LOURENÇO e CASS, 2010). A coluna normalmente utilizada é não quiral, assim como na CLAE tradicional, porém com os aditivos quirais adicionados na fase móvel.

É uma técnica satisfatória que assim como as outras, apresenta várias vantagens e limitações, dentre as vantagens destacam-se a fase móvel aquosa, o que a torna mais econômica, adição do íon metálico e do seletor ligante como modificadores na fase móvel, seletor ligante ligado a fase estacionária, excelente

técnica para isolamento enantiomérico de aminoácidos sem a necessidade de pré-derivatização. Entretanto, o método é muito seletivo e poucos compostos podem ser determinados com esta técnica já que apenas moléculas capazes de formar complexos com íon metálico podem ser analisadas.

3.1.2.2 Cromatografia de par iônico

Nesta técnica prevalece a utilização de solutos carregados. Formam-se complexos neutros (SC) entre soluto carregado, (S^+) e seu contra íon de carga oposta, (C^-). Quando o soluto e o contra-íon são opticamente ativos, há a constituição de um par iônico diastereoisomérico que pode ser separado pela diferença de solvatação na fase móvel ou na ligação entre a fase estacionária (SINGH 2002).

Compostos como aminoálcoois, ácidos carboxílicos e aminoácidos podem ser separados por essa técnica, entretanto, algumas restrições impedem o melhor emprego do método. Verifica-se que o sistema de par iônico não é estável, assim como o sistema cromatográfico que pode alterar-se pela fase móvel, modificando a temperatura e o pH. Não apresenta sensibilidade, pois os contra-íons absorvem na região UV sendo indispensável a utilização de outro detector.

3.1.2.3 Cavidade ou inclusão

O uso da coluna do tipo cavidade ou inclusão permite o encaixe das moléculas nas cavidades desenvolvidas além da formação de interações de hidrogênio, mais comuns em colunas à base de carboidratos. Para que se possa utilizar o método, as amostras não podem possuir grupos funcionais polares ou devem apresentar apenas um e de tamanho similar ao da cavidade. Quando as funcionalidades polares são limitadas as colunas mais adequadas são as poliméricas onde a mais utilizada é a de ciclodextrinas. Ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos que podem apresentar-se na forma de α , β e γ -ciclodextrina sendo a β -ciclodextrina a de maior aplicação. Elas apresentam cavidade hidrofóbica de dimensões 15 nm x 0,7 nm x 0,8 nm e superfície hidrofílica

devido à presença de grupos – OH. Devido a tal estrutura ocorre a formação de complexos de inclusão estáveis onde as moléculas complexadas são encapsuladas de maneira total ou parcial sendo a ciclodextrina a molécula receptora (RAMA et al., 2005). A figura 7 apresenta as dimensões moleculares da ciclodextrina.

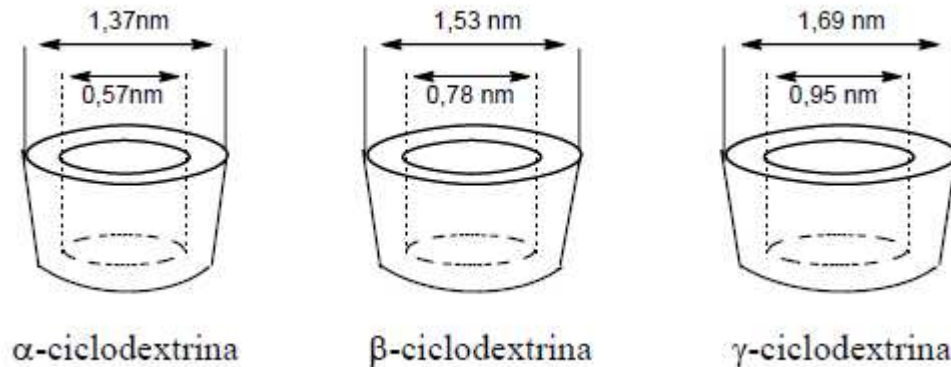


Figura 7 – Dimensões da ciclodextrina

Fonte: B.CEPPA, 1999, p23

Neste método cromatográfico a forma, o tamanho e a geometria espacial do soluto é o que determina a formação de complexos de inclusão, bem como o diâmetro da cavidade da β -ciclodextrina (DRUNKLER et al., 1999). O processo de reconhecimento quiral envolve vários tipos de ligações não-covalentes para a formação da complexação entre o soluto e as moléculas de ciclodextrina, assim como as moléculas do modificador orgânico e a cavidade da ciclodextrina. Podem envolver forças de interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, forças de “van der Waals, interação dipolo-dipolo, interação hidrofóbica e interação π - π .

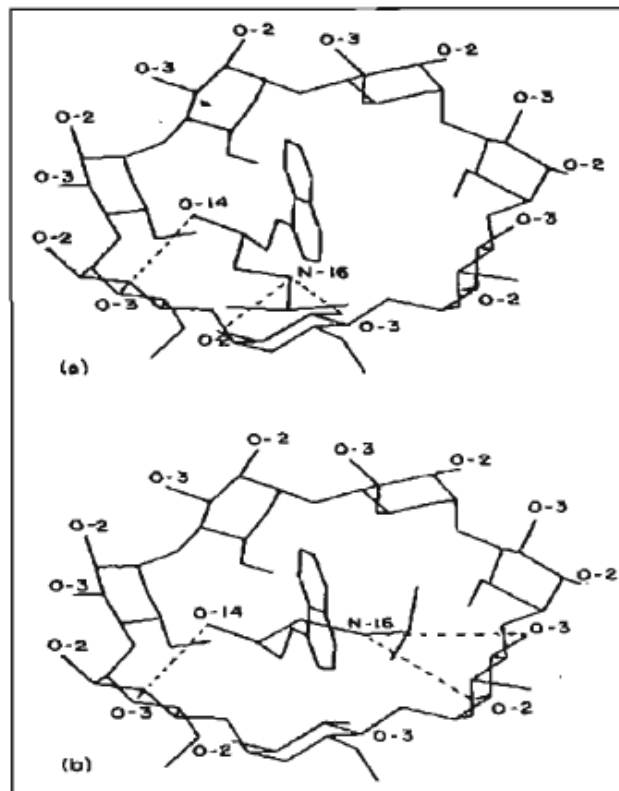


Figura 8 – Projeções computadorizadas da estrutura dos complexos de inclusão, a) d-propranolol e b) l-propranolol em β -ciclodextrinas resultantes da cristalografia de raio X.

Fonte: SINGH, 2002, p12.

Podemos encontrar certas limitações na técnica já que compostos de uma mesma classe não podem ser analisados. Pode-se indicar como exemplos o hexobarbital e o metilfenobarbital que são resolvidos enquanto o secobarbital e o pentobarbital não apresentam resolução.

3.1.3 Utilização de fases estacionárias quirais (colunas quirais)

A chave para o sucesso na resolução de racematos deve-se em grande parte às fases estacionárias quirais utilizadas (SILVA et al., 2006). A cromatografia líquida de alta eficiência com fase estacionária quiral (CLAE-FEQ) é um dos métodos mais empregados para análises de enantiômeros. É aplicada para determinar-se compostos isoméricos de medicamentos, matérias primas, produtos farmacêuticos e fluidos biológicos, determinação do metabolismo de fármacos e estudos de racemização, epimerização e enantiomerização de medicamentos. A

análise é feita a partir da formação de complexos diastereoisoméricos entre o soluto que se movimenta pela coluna e as moléculas quirais que se encontram ligadas à fase estacionária (penetradas do interior da coluna). A fase estacionária é denominada fase estacionária quiral (FEQ) e hoje esta disponível comercialmente em grande escala (SINGH et al., 2006).

O mecanismo de separação sobre o reconhecimento enantiomérico pela fase estacionária quiral esta baseado na teoria de três pontos de ligação. Três pontos de interações ou de ligações são necessários entre a fase estacionária quiral e a molécula quiral para que a análise seja efetiva, uma destas interações deve ser estereoespecífica. Tais pontos de ligações devem-se a presença de ácidos e bases doadores ou receptores de ligações de hidrogênio ou diferentes grupos funcionais. Podem existir outros pontos que também contribuirão para as interações, sejam elas atrativas ou mesmo repulsivas contribuindo também com a enantiosseletividade (ORLANDO et al.; 2007).

Um exemplo de FEQ é derivado da L-arginina e é utilizada na separação dos enantiômeros da diidroxifenilalanina onde duas interações iônicas e uma interação dipolar estão presentes.

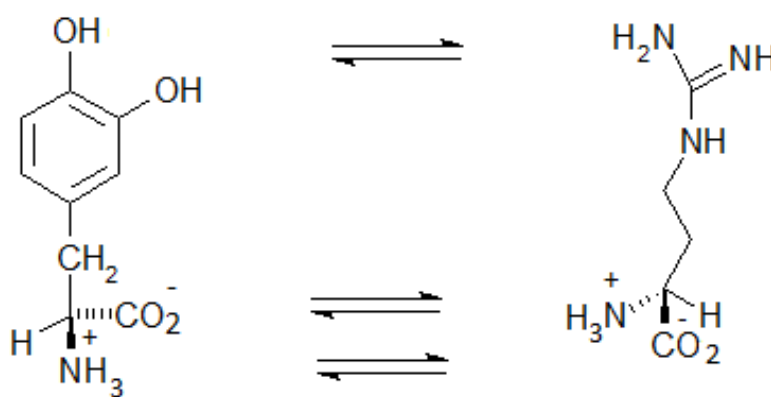


Figura 9 – Interações em três pontos propostas por BACZUK e colaboradores para explicar a separação dos enantiômeros da diidroxifenilalanina em uma FEQ derivada da L-arginina.

Há ainda a proposta de um modelo alternativo, baseado na teoria de quatro pontos de interações, entre o discriminador quiral e o soluto isomérico para que o reconhecimento quiral ocorra. A estrutura cristalina do racemato do mandelato sugere que esta proteína também se enquadra no modelo de quatro pontos. Através

da figura 10 se observa as quatro ligações aproximando-se pela direção oposta, sugerindo além das ligações convencionais A-A', B-B' e C-C', uma quarta ligação D-D'.

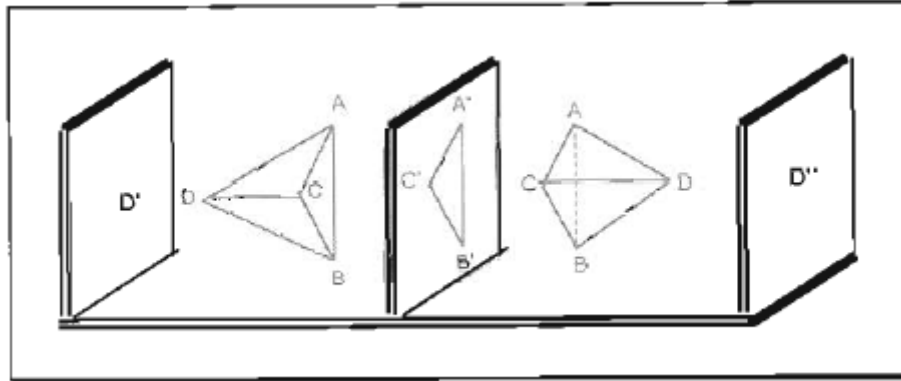


Figura 10 – Teoria de quatro pontos de ligação

Fonte: SINGH, 2002, p15.

Entretanto, o processo de reconhecimento quiral envolve várias etapas e não há como descrevê-lo com uma simples teoria, além do que, há especificidades para cada tipo de FEQ. O processo pode ser visto de forma geral como: formação de complexo seletante-seletor, reposicionamento do complexo para otimizar a interação (ajuste conformacional), formação de interações secundárias (ativação do complexo) e reconhecimento quiral.

3.1.3.1 Fases estacionárias quirais derivadas de polissacarídeos

O primeiro derivado de polissacarídeo amplamente utilizado foi o triacetato de celulose (CTA-I) que foi sintetizado pela acetilação da celulose microcristalina em benzeno. Outra fase estacionária com capacidade de reconhecimento quiral diferenciado foi desenvolvida através do revestimento de partículas de sílica com a fase CTA-I o que demonstrou que o reconhecimento quiral não é dependente da microcristalinidade (BONATO et al., 2005).

Foi a partir destas descobertas que novas fases foram elaboradas recobrando partículas de sílica macroporosas com derivados de polissacarídeos. Colunas mais eficientes e estáveis foram obtidas pelo suporte de sílica que gerou uma maior resistência mecânica através de modificações na fase móvel. A tabela 5

indica as principais fases estacionárias quirais derivadas de polissacarídeos hoje comercializadas.

TABELA 5 – Principais fases estacionárias quirais disponíveis no mercado

Polissacarídeo	Derivado	Nome comercial
Celulose	Benzoato	CHIRALCEL OB, CHIRALCEL OB-H
	3,5-dimetilfenil carbamato	CHIRALCEL OD, CHIRALCEL OD-H, CHIRALCEL OD-R, CHIRALCEL OD-RH
	4-metilbenzoato	CHIRALCEL OJ, CHIRALCEL OJ-H, CHIRALCEL OJ-RH
	4-metilfenil carbamato	CHIRALCEL OG
	4-clorofenil carbamato	CHIRALCEL OF
	Cinimato	CHIRALCEL OK
	Fenil carbamato	CHIRALCEL OC
	Amilose	3,5-dimetilfenil carbamato
(S)- α -metilbenzil carbamato		CHIRALPAK AS, CHIRALPAK AS-H, CHIRALPAK AS-RH

Fonte: QUÍMICA NOVA, 2005, p684

Através de estudos utilizando métodos cromatográficos, espectroscópicos (ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas) e cálculos computacionais, foi possível explorar o mecanismo de discriminação quiral destas fases estacionárias. Os estudos indicaram que derivados de celulose e amilose apresentam uma estrutura de “calha” helicoidal com grupos carbamatos e benzoatos no interior e grupos aromáticos hidrofóbicos na parte externa. O ajuste dos enantiômeros nessa “calha” do polissacarídeo juntamente com os grupos carbamato e benzoato é o que determinara o reconhecimento quiral.

Os grupos carbonila polares dos ésteres dos tris-benzoatos poderão interagir com os enantiômeros através de ligações de hidrogênio e interações dipolo-dipolo. A substituição de um grupo fenil do tris-benzoato pode alterar a sua capacidade de reconhecimento quiral, se substituídos por grupos doadores de elétrons, como o metil, por exemplo, a sua capacidade de reconhecimento aumentara se comparados com substituintes receptores de elétrons, como os halogênios.

Nos derivados tris-fenilcarbamatos os solutos quirais poderão interagir por interações dipolo-dipolo com grupos C=O ou por ligações de hidrogênio com os grupos NH e C=O. O reconhecimento quiral também pode ser alterado pelos substituintes do grupo fenil que possuem interações π - π . A entrada de um grupo doador de elétrons, como o metil, ou receptores de elétrons como os halogênios nas posições 3 ou 4 melhora o reconhecimento de vários racematos. Derivados de fenilcarbamatos de celulose quando substituídos na posição 2 possuem um baixo grau de resolução graças ao impedimento estérico de grupos metil que impedem a formação de uma estrutura regular do fenilcarbamato. Substituintes polares como o NO₂ ou o OCH₃ quando inseridos ao anel aromático diminuem o reconhecimento quiral (BONATO et al., 2005).

Três modos de eluição podem ser propostos para fases estacionárias derivadas de polissacarídeos. A fase normal, que utiliza fases móveis constituintes de hexano-álcool, geralmente isopropanol ou etanol e pequenas quantidades de uma base orgânica ou de um ácido orgânico, adicionadas a fim de reduzir a interação de analitos básicos e ácidos presentes na sílica que é empregada como suporte nestas fases estacionárias. A retenção não quiral nesta fase se dá pela polaridade do composto em análise. No geral, os metabólitos mais polares que o fármaco irão eluir com uma velocidade menor. Exceções a este caso podem ocorrer devido às interações enantiosseletivas que ocorrem concomitantemente. No caso do omeprazol, o enantiômero (S)-omeprazol possui um tempo de retenção intermediário ao seu metabolito hidroximeprazol. Mudanças na ordem de retenção dos enantiômeros podem recorrer também pela mudança do álcool empregado na composição da fase móvel que causa alterações na cavidade quiral da fase estacionária.

A fase reversa possui colunas com fases móveis constituídas de uma solução aquosa e um solvente orgânico miscível, os mais usuais são a acetonitrila ou o metanol. Os analitos ácidos são mantidos na forma não ionizada, pois a enantioseparação ocorre em meio ácido. No caso dos solutos básicos se deve levar em consideração dois parâmetros: o pH e o tipo de solução tampão empregados. O suporte de sílica possui algumas limitações em relação a sua estabilidade, necessitando de uma fase móvel com pH menor que 7. Entretanto, a tais valores de pH, a maioria dos solutos básicos encontram-se positivamente carregados o que

impede que a interação com a fase estacionária seja significativa. Ânions como o perclorato, por exemplo, podem ser adicionados a fase móvel resultando na formação de pares iônicos que são praticamente neutros, desta forma a soluto se torna adequado à fase estacionária. A retenção dos solutos básicos dependerá em grande escala do contra-íon usado. A formação dos pares iônicos e consequentemente a retenção e a separação, será proporcional a concentração do ânion. Uma maior concentração ocasiona uma eficácia maior. A concentração adequada dependerá da solubilidade do reagente de pareamento na fase móvel (OLIVEIRA, 2007).

No caso da fase estacionária baseada em amilose tris (3,5-dimetilfenilcarbamato) o uso de tais ânions não foi eficaz em meio alcalino. Novos tratamentos foram dados a superfície da sílica a fim de resolver tais problemas, tal fato tornou as colunas estáveis a pH 9.

O último modo de eluição é o modo polar que se caracteriza pelas suas fases móveis compostas exclusivamente de solventes orgânicos polares como acetonitrila, etanol, metanol ou mesmo o propanol. O uso destas fases móveis traz muitas vantagens como a possibilidade de uma inversão na retenção, uma maior solubilidade de alguns compostos e uma maior facilidade de remoção e reutilização. Tais fatos tornam este método muito utilizado principalmente em separações em grande escala. A separação dependerá além das fases móveis e estacionárias, dos tipos de compostos separados. É recomendado o uso de coluna específica para modo de eluição para que a faixa de erro seja reduzida ao máximo e que os resultados obtidos sejam efetivos.

Atualmente as fases estacionárias disponíveis no mercado são constituídas de sílica como suporte com recobrimento de derivados de polissacarídeos, restringindo a seleção da fase móvel a poucos solventes aos quais seus derivados são insolúveis (LOURENÇO e CASS, 2010). Para minimizar tais limitações os derivados de polissacarídeos são modificados regiosseletivamente. Substituintes são introduzidos em posições particulares das unidades da glicose o que formara uma nova fase. Nos derivados de amilose e celulose pode-se obter as seguintes alterações: derivados de polissacarídeos substituídos com benzoatos nas posições 2 e 3 e carbamato na posição 6, polissacarídeos substituídos por éster ou carbamato nas posições O-C(2,3) e O-C(6).

3.1.3.2 Fases estacionárias quirais proteicas

A cromatografia por afinidade para a resolução quiral teve início em 1973 utilizando uma coluna de albumina bovina sobre agarose na separação dos enantiômeros do triptofano. Em seguida, a albumina bovina foi imobilizada em sílica gel o que tornou o método ainda mais abrangente. Proteínas são acopladas por ligações covalentes às partículas de sílica modificadas com grupos aminopropil ou glicidoxipropil o que resulta em uma maior estabilidade e eficiência da coluna (BONATO et al., 2005). As principais colunas quirais baseadas em proteínas, disponíveis comercialmente hoje são descritas na tabela 6.

TABELA 6 – Fases estacionárias proteicas disponíveis comercialmente

Proteína	Origem	Massa Molar	Carboidrato	Ponto isoelétrico	Nome comercial	Fabricante
Soralbumina	Soro bovino	66.000	-	4,7	RESOLVOSIL BSA-7 ULTRONES- BSA	MACHERY NAGEL SHINWA CHEM. IND.
Soralbumina	Soro humano	65.000	-	4,7	CHIRAL BSA CHIRAL HSA CHIRAL HSA	SHANDON SHANDON CHROMTECH AB
α -glicoproteína ácida	Soro humano ou bovino	41.000	45	2,7	CHIRAL-AGP	CHROMTECH AB
Ovomucóide	Clara de ovo	28.000	30	4,1	ULTRON ES- OVM	SHINWA CHEM. IND.
Avidina	Clara de ovo	66.000	7	10,0	BIOPTIC AV-I	GL SCIENCES
Celobiodrolase I	Fungo	64.000	6	3,9	CHIRAL-CBH	CHROMTECH AB
Pepsina	Estômago suíno	34.600	-	<1,0	ULTRON ES- PEPSIN	SHINWA CHEM. IND.

Fonte: QUÍMICA NOVA, 2005, p686

Devido a grande enantiosseletividade destas fases para uma grande variedade de compostos, a análise não necessita de derivação acontecendo de forma direta. Entretanto há algumas limitações já que as colunas possuem uma menor capacidade, elevada instabilidade e os seus mecanismos de reações, devido à elevada complexidade, ainda hoje não são totalmente compreendidos. A cromatografia com fases quirais é sustentada pela seletividade das interações de certas moléculas e das proteínas no sistema biológico. Estão envolvidos no mecanismo quiral interações hidrofóbicas e eletrostáticas, interações por transferências de carga, ligações de hidrogênio e fatores etéreos (BONATO et al., 2005). O reconhecimento quiral dependera diretamente do pH, da força iônica, da concentração e tipo de modificador orgânico, da presença de aditivos carregados e da temperatura.

Para exemplificar como o pH afeta a retenção e a enantiosseletividade utiliza-se a separação de enantiômeros de um composto básico com uma coluna baseada na proteína ovomucóide. Conforme se aumenta o pH na fase móvel (intervalo de 3 a 6) aumenta-se também a interação eletrostática entre o soluto carregando positivamente e a proteína, a qual aumenta a densidade de cargas negativas com o aumento do pH. Isto ocasionara um aumento na retenção dos enantiômeros resultando em uma maior separação. A enantiosseletividade da proteína é alterada devido a distribuição de cargas que se modifica com o pH da fase móvel ocorrendo conseqüentemente a modificação nos sítios de discriminação quiral. Pode-se chegar a tal ponto em que haverá uma inversão na ordem de retenção. A concentração do tampão utilizado na fase móvel também altera as interações eletrostáticas entre a proteína e o soluto.

As interações hidrofóbicas com os sítios apolares são modificadas pela porcentagem de solvente orgânico e o tipo de solvente associado á fase móvel. Quanto maior é a polaridade da fase móvel há um aumento na retenção dos enantiômeros, compatível com o modo de eluição na fase reversa. A mudança de polaridade ocorre pela modificação no tipo de solvente orgânico ou na quantidade utilizada. A conformação da proteína também pode ser alterada ocasionando mudança da disposição dos sítios de reconhecimento quiral.

Modificadores catiônicos como os sais de amônio quaternário e as alquilaminas, reduzem a enantiosseletividade e a retenção de fármacos básicos, uma

vez que há um efeito competidor entre o aditivo e o fármaco pelos sítios carregados negativamente da proteína. Alterações na conformação da proteína também podem ocorrer alterando mais uma vez a enantiosseletividade. Entretanto a separação de compostos ácidos pode ser aprimorada com tais aditivos já que há a formação de pares iônicos (OLIVEIRA, 2007).

Na maioria dos casos o aumento na temperatura da coluna cromatográfica causa uma redução na retenção e na enantiosseletividade, salvo algumas exceções onde podem ocorrer inversões na ordem de retenção.

3.1.3.3 Fases estacionárias diversas

Outras fases estacionárias são utilizadas além das mencionadas anteriormente, porém em uma escala bem menor. A tabela 7 indica as principais disponíveis comercialmente (BONATO et al., 2005).

TABELA 7 – Diversas fases estacionárias disponíveis no mercado

Tipo	Seletor quiral	Nome Comercial	Fabricante
Seletor de baixa massa molar	D-dinitrobenzoilfenilglicina	CHIRAL 2	MACHEREY-NAGEL
	L-dinitrobenzoilfenilglicina	CHIRAL 3	MACHEREY-NAGEL
	(3R,4R)-4-(3,5-dinitrobenzamido) 1, 2, 3, 4-tetraidrofenantreno	(S,S)-Whelk-OI	REGIS TECHNOLOGIES
	(3S,4S)-4-(3,5-dinitrobenzamido) 1, 2, 3, 4-tetraidrofenantreno	(R,R)-Whelk-OI	REGIS TECHNOLOGIES
Troca de Ligante	N,N dioctil-L-alanina	CHIRALPAK MA(+)	DIACEL
	L-hidroxi prolina - cobre	CHIRAL 1	MACHEREY - NAGEL
Antibióticos macrocíclicos	Vancomicina	CHIROBIOTIC V	ADVANCED SEPARATION TECHNOLOGIES
	Teicoplanin	CHIROBIOTIC T	
	Ristocetin	CHIROBIOTIC R	
Éter coroa	(S)-18-coroa—6-éter	CROWNPAK CR (+)	DIACEL
	(R)-18-coroa—6-éter	CROWNPAK CR (-)	DIACEL
Ciclodextrinas	β -ciclodextrina	NUCLEODEX β -OH	MACHEREY NAGEL
	β -ciclodextrina permetilada	NUCLEODEX β -PM	MACHEREY NAGEL
	β -ciclodextrina fenilcarbamato	ULTRON ES-PhCD	SHINWA CHEM.IND.

Fonte: QUÍMICA NOVA, 2005, p688

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se hoje que a maioria dos fármacos enantiomericamente puros são muito mais seguros e eficazes que suas misturas racêmicas, entretanto vários fatores estão envolvidos para que tais fármacos sejam comercializados. Os medicamentos precisam ser econômicos, possuir baixo custo de produção, baixa toxicidade e alta lucratividade. Quanto maior é o investimento em tecnologias e técnicas para a separação dos enantiômeros, maior será o valor investido, e conseqüentemente maior será o valor repassado para o mercado, chegando a preços absurdos se comparado ao fármaco original. A tabela 8 indica os principais fatores para a escolha da produção de um fármaco puro ou de uma mistura racêmica.

TABELA 8 – Considerações entre a produção de um enantiômero puro ou de uma mistura racêmica

Motivos que determinam a produção do enantiômero puro	Motivos para o desenvolvimento do racemato
Ser o enantiômero o único isômero ativo	Ação sinérgica dos isômeros
Baixo índice terapêutico da mistura	Alto índice terapêutico da mistura
Maior toxicidade do distômero	Pouca ou nula toxicidade do distômero
Não haver bioinversão de quiralidade	Ocorrência de bioinversão de quiralidade
Acessibilidade econômica	Inovação terapêutica
	Uso em quadros crônicos
	Baixo custo de produção em relação ao eutômero

Fonte: QUÍMICA NOVA, 1997, p.656.

A lei de propriedade industrial toma como relevante o critério de novidade para que uma nova patente seja concedida. Segundo o artigo 11 da Lei nº 9279/96, nova é a invenção que não está compreendida no estado da técnica (BRASIL, 2005). De acordo com o parágrafo 1º do artigo 11 da Lei nº 9279/96:

[...] o estado da técnica é constituído por tudo aquilo tornado acessível ao público antes da data do depósito do pedido da patente, por descrição escrita ou oral, por uso ou qualquer outro meio, no Brasil ou no exterior (BRASIL, 2005).

Na formulação de um fármaco, se um dos enantiômeros apresentar potência e atividades similares ao sugerido pela mistura racêmica, deve-se averiguar se houve acréscimo ou necessitou de um esforço teórico-prático, no atual estado da técnica em relação ao racemato. Se houver uma mudança, mesmo que mínima, confirma-se o incremento e esforço teórico-prático. Assim sendo, é possível autorizar-se o patenteamento, inclusive por coerência com o fundamento moral institucional, a saber, a promoção da inovação tecnológica e o desenvolvimento científico como alicerces da legislação de propriedade industrial (CUNHA e FERES, 2009). Dentre todos estes pontos entende-se que uma nova patente só poderá ser confiada se houver uma modificação significativa na mistura original, entretanto nem sempre é o que ocorre e muitas empresas lucram sobre renovações de patentes que muitas vezes seriam desnecessárias.

O avanço nos métodos cromatográficos já possibilita a separação quantitativa dos (R) e (S) enantiômeros simultaneamente de maneira rápida e adequada podendo ser utilizados tanto pelas indústrias farmacêuticas quanto pelas autoridades para a determinação concomitantemente das impurezas quirais as tornando adequadas para o controle de qualidade farmacêutico.

O acidente com a talidomida foi um marco na história da medicina e serviu principalmente como alerta para a conscientização de que os medicamentos quirais precisam de uma atenção e de um cuidado especial. Hoje vários estudos indicam que esta preocupação é frequente e o investimento em métodos de separação economicamente viáveis estão cada vez maiores. Contudo, o que realmente se almeja é que todos tenham acesso à medicação de qualidade, sem riscos, independente de suas condições financeiras e sociais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLENMARK, S; ANDERSSON, S. **Optical resolution of some biologically-active compounds by chiral liquid-chromatography on BSA-silica columns.** Chirality, New York, v.1, p.154-160, 1991.
2. BARREIRO, E. J, FERREIRA, V. F, COSTA, P. R. R. **Substâncias enantiomericamente puras (SEP): A questão dos fármacos quirais.** Revista Química Nova, Rio de Janeiro, p.647-655, 1997.
3. BELLUZO, Regina Celia Baptista; GOBBI, Maria Cristina (orgs). **Manual para apresentação de trabalho de conclusão de curso de mestrado.** Bauru: FAAC-UNESP, 2009.
4. BONATO, P. S; JABOR, V. A. P; GAITANI, C. M. **Análise enantiosseletiva de fármacos: contribuições da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Eletroforese Capilar.** Revista Química Nova, Ribeirão Preto, v.28, n.4, p.683-691, 2005.
5. BRUICE, P. Y. **Química Orgânica.** vol 1, 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006.
6. CORREIA, W. F. **TCC não é um Bicho-de-sete-cabeças.** Rio de Janeiro:Editora Ciência Moderna Ltda.,2009.
7. DRUNKLER, D. A; FETT, R; LUIZ, M.T.B. **Polímeros de ciclodextrina: característica, formação de complexos de inclusão e aplicações industriais.** Curitiba, 1999.
8. FERES, M. V. C; CUNHA, M. C. **Medicamentos Quirais: direito à patente ou pseudo-inovação?** São Paulo, novembro, 2009.
9. FRAGA, C. A. M. **Razões da atividade biológica: interações micro-e biomacro-moléculas.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, n.3, p.33-41, maio, 2001.

10. GASPAROTTO, F. S. **Fatores relacionados à sínteses de matérias-primas que podem alterar a biodisponibilidade do medicamento genérico.** Dissertação (Doutorado)- Faculdade de Farmácia Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
11. LOURENÇO, T. C; CASS, N. M. C. Q. **Fases estacionárias quirais para cromatografia líquida de alta eficiência.** Revista Química Nova, São Carlos, v.33, n. 10, p.2155-2161, 2010).
12. LIMA, V. L. E. **Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem.** Revista Química Nova, Porto Alegre, v. 20, n.6, p. 657-662, 1997.
13. LIMA, L. M; FRAGA, C. A. M; BAREIRA. E.J. **O renascimento de um fármaco: Talidomida.** Revista Química Nova, São Paulo, v.24, n.5, p. 406-421, 2001.
14. MALDANER, L; COLLINS, C. H; JARDIM, I.C.S.F. **Fases Estacionárias Modernas para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa.** Revista Química Nova, Campinas, v.33, n.7, p.1559-1568, 2010.
15. OLIVEIRA, A. R. M. **Técnicas de microextração aplicadas à análise estereosseletivas do ibuprofeno, da hidroxicloroquina e de seus metabólitos em urina.** Dissertação (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2007.
16. ORLANDO, R. M; CARDOSO FILHO, N; GIL, E.S; STRINGHETTA, J. P. S. **Importância farmacêutica de fármacos quirais.** Revista Eletrônica de Farmácia, Campo Grande, vol. 4, p. 8-14, 2007.
17. PAIVA, A. P. **O fenômeno da quiralidade- bases da estereoquímica.** Revista Química, Porto, v. 105, p. 56-61, 2006.
18. PETACCI, F; FREITAS, S.S. **Cromatografia quiral no desenvolvimento de novas drogas.** Revista Processos Químicos, p.46-51, 2008.
19. PINHEIRO, S; FERREIRA. V. F. **Abordagens em síntese assimétrica.** Revista Química Nova, São Paulo, v.21, n.3, p. 584-587, 1997.

20. PORTO, R. S. **Uso de aldeídos quirais α -oxigenados na reação de Morita-Baylis-Hillman**. Dissertação (Doutorado) – Instituto de Química Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
21. RAMA, A. C. R; VEIGA, F; FIGUEIREDO, I. V. **Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para neonatos. Fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v.41, n.3, 2005.
22. ROBBITT, S. R; LINDER, S. W. **Recent advances in chiral detection for high performance liquid chromatography**. TrAC, Trends Anal. Chem, Amsterdam, v.20, p.111-123, 2001.
23. SANTORO, M. I. R. M; SINGH. **Development and regulation of chiral drug substances: an overview on worldwide pharmaceutical guidelines**. Rev.Farm. Bioquím. Univ. São Paulo, São Paulo, v.37, n. 3, p. 259-268, 2001.
24. SILVA, I.J; VEREDAS, V; SANTOS, M.A.G. **Cromatografia em leito móvel simulado na produção de substâncias enantiomericamente puras ou enriquecidas em larga escala**. Revista Química Nova, São Paulo, v.29, n.5, p. 684-689, 2006.
25. SINGH, A. K. **Separação enantiômérica de fármacos em medicamentos por cromatografia líquida com fase estacionária quiral**. Dissertação (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
26. SINGH, A. K; HACKMANN, E. R. M. K; SANTORO, M. I. R. M. **Cromatografia líquida com fase quiral aplicada na separação enantiômérica de fármacos cardiovasculares**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v.42, n.4, p.553-566, 2006.
27. TEIXEIRA, L; FERREIRA, L. **Talidomida: da tragédia ao futuro promissor**. Porto, 2006. Disponível em: <<http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0506/talidomida/estrutur.htm>>. Acesso em: setembro de 2012.
28. TONHI, E; COLLINS, K. E; JARDIM, I. C. S. F; COLLINS, C. H. **Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados**. Revista Química Nova, São Paulo, v.25, n.4 p.685, 2002.

29. TONHI, E; COLLINS, K. E; COLLINS, C. H. **Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) baseadas em polissiloxanos com cadeias laterais C1, C8 e C14 immobilizados sobre partículas de sílica porosa.** Revista Analytica, Campinas, n.14, p. 58-61, 2005.
30. UNITED States Pharmacopeia: USP 24. **Rockville: United States Pharmacopeial Convention**, p. 949-951, 1999.
31. VANZOLINO, K. L. **Métodos para determinação enantiomérica dos fármacos omeprazol, lansoprazol e pantoprazol em águas residuais e de estuário.** Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia Departamento de Química Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.